

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 10 月 26 日(26.10.2012)



(10) 国際公開番号
WO 2012/144619 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/16 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/060762
- (22) 国際出願日: 2012 年 4 月 20 日(20.04.2012)
- (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 2011-094132 2011 年 4 月 20 日(20.04.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 味の素株式会社 (AJINOMOTO CO., INC.) [JP/JP]; 〒1048315 東京都中央区京橋 1 丁目 1 5 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 石崎 園子 (ISHIZAKI Sonoko) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素製薬株式会社内 Kanagawa (JP). 西谷 しのぶ (NISHITANI Shinobu) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素製薬株式会社内 Kanagawa (JP). 斎藤 友希 (SAITOU Yuki) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素製

薬株式会社内 Kanagawa (JP). 堀江 真弓 (HORIE Mayumi) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素製薬株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 辻居 幸一, 外 (TSUJII Koichi et al.); 〒1008355 東京都千代田区丸の内 3 丁目 3 番 1 号 新東京ビル 中村合同特許法律事務所 Tokyo (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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, 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, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

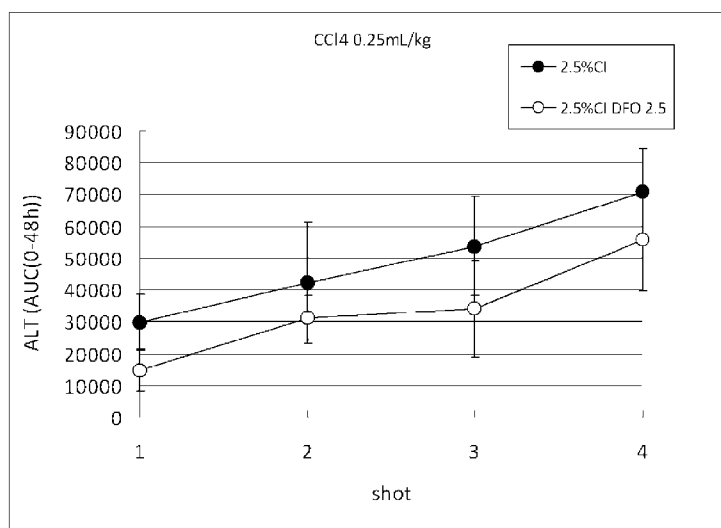
[続葉有]

(54) Title: CHRONIC HEPATIC DISEASES THERAPEUTIC AGENT FOR ORAL ADMINISTRATION

(54) 発明の名称: 経口投与用慢性肝疾患治療剤

[図10]

FIG.10



(57) Abstract: A prophylactic or therapeutic agent for oral administration for chronic hepatic diseases associated with a hepatitis-C virus (an HCV), alcoholic hepatitis or non-alcoholic steatohepatitis (NASH), which contains deferoxamine or a pharmaceutically acceptable salt thereof as an active ingredient. The prophylactic or therapeutic agent is effective as a chronic hepatic diseases therapeutic agent for oral administration.

(57) 要約: デフェロキサミン又はその医薬上許容される塩を有効成分として含有するC型肝炎ウイルス(HCV)、アルコール性肝炎、若しくは非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)に起因する慢性肝疾患の経口投与用予防若しくは治療剤。これは、経口投与用慢性肝疾患治療剤として有効である。

WO 2012/144619 A1



ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, 添付公開書類:

MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,

GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：経口投与用慢性肝疾患治療剤

技術分野

[0001] 本発明は、C型肝炎ウイルス（HCV）若しくは非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に起因する慢性肝疾患を治療するための経口投与用慢性肝疾患治療剤に関する。

背景技術

[0002] デフェロキサミンは、N-(5-aminopentyl)-N-hydroxy-N'-[5-(N-hydroxy-3-{[5-(N-hydroxyacetamido)pentyl]carbamoyl}propanamido)pentyl]butanedia mideの物質名を有する化合物であって、DFOやDFOAとも略称されている。この化合物は、体内から過剰な鉄を除去するために使用されるキレート剤の一つとして、鉄過剰症や鉄中毒の治療薬として従来から使用されている。具体的には、そのメシル酸塩が、「デスフェラル」の商品名で、注射剤形態の鉄キレート剤としてヘモクロマトーシス（鉄過剰症）を適応に上市された薬剤である。

このようにDFOは、注射剤形態で実際に用いられてきているが、経口投与形態で使用するとの試みが既に行われている。例えば、1960年頃に、健常人もしくは貧血、ヘモクロマトーシスの患者を対象とし、DFOの経口投与による食事中的除鉄が試みられている（例えば、下記非特許文献1）。DFOの物質特許に関する特許文献1にも、医薬として経口投与でも良いとの記載がある。そして、DFOの経口投与の試みは、概ね以下の3つに分けられる。

- (i) DFOで食事中的Feを除去しようとする試み（例えば、非特許文献1）
- (ii) DFOを腸から吸収させ、体内Fe量を低下させようとする試み（例えば、非特許文献2）
- (iii) DFOの無機鉄のキレーターとしての作用に基づく、食品の吸収率算出方法等の実験のポジティブコントロールとしての使用（例えば、非特許文献3）

)

上記(i)については、ヘム鉄のキレートができないので実用化は困難であると結論付けられている。又、(ii)については、DFOは腸からはわずかに吸収されないため、ネガティブな結論が多く見られる。(iii)では、鉄キレーターとして無機鉄の吸収抑制が認められているものの、用量が20～60当量と多くなっている。

このように従来の研究では、DFOの経口投与では除鉄効果が不十分であるとの結論に至っており、結果としてDFOを経口の除鉄剤として開発する試みは失敗に終わり、注射剤としてしか現在に至るまで実用化されていない。

一方、近年、C型肝炎患者において、肝内鉄を抑制することが病態の改善に好ましいと認識されており、瀉血や鉄制限食といった除鉄療法がC型慢性肝炎の治療として使用されている。そして、DFO投与(iv)をC型肝炎患者に試みたり（例えば、非特許文献4）、肝炎モデル動物を用い、肝毒性での鉄の役割を検討するためにキレーターとしてDFOを腹腔内投与する(ip)ことが行われている（例えば、非特許文献5）。しかしながら、DFOの投与については静脈内投与(iv)、筋肉内投与(im)若しくは皮下投与(sc)が常識であるため、DFOの経口投与による肝炎の治療は未だ試みられていない。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：米国特許第3247197号公報

非特許文献

[0004] 非特許文献1：Lancet 1：135：1965

非特許文献2：Lancet 316：689：1980

非特許文献3：Am. J. Clin. Nutr. 41：13：1985

非特許文献4：日消誌104：1044：2007

非特許文献5：Chem. Biol. Interactions, 55 (19

85) 327-334

発明の概要

[0005] 本発明は、C型肝炎ウイルス（HCV）、アルコール性肝炎、若しくは非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に起因する慢性肝疾患を治療するための経口投与用慢性肝疾患治療剤を提供することを目的とする。

本発明は、又、経口投与用の形態にあるヘム鉄の経腸吸収阻害剤を提供することを目的とする。

[0006] デフェロキサミンは、血流中に存在している遊離鉄（無機の鉄）とキレート結合して尿からの排せつを促進する作用を有するものであって、ポルフィリンの鉄錯体中の鉄（いわゆるヘム鉄）の除去には効果がないと考えられていたが、本発明者らは、デフェロキサミンを経口投与すると、驚くべきことに、ヘム鉄も含め、食事中的鉄の吸収を阻害することができ、肝内鉄を抑制することが病態の改善に好ましいとされているC型肝炎患者や、アルコール性肝炎患者、非アルコール性脂肪性肝炎患者に、すぐれた経口投与用慢性肝疾患治療剤を提供できることを見いだした。本発明はこの知見に基づいてなされたものである。

すなわち、本発明は、デフェロキサミン又はその医薬上許容される塩を有効成分として含有することを特徴とするC型肝炎ウイルス（HCV）、アルコール性肝炎、若しくは非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に起因する慢性肝疾患の経口投与用予防若しくは治療剤を提供する。

本発明は、又、デフェロキサミン又はその医薬上許容される塩を有効成分として含有し、経口投与用の形態にあることを特徴とするヘム鉄の経腸吸収阻害剤を提供する。

図面の簡単な説明

[0007] [図1]クエン酸鉄含有餌供与時0～4時間後の血漿鉄上昇に対するDFOの効果を示す。

[図2]クエン酸鉄含有餌供与時後の0～22時間後の血漿鉄上昇に対するDFO2.5当量の効果を示す。

[図3]豚レバー鉄含有餌供与時0～4時間後の血漿鉄上昇に対するD F Oの効果を示す。

[図4]豚レバー含有餌供与時後の0～22時間後の血漿鉄上昇に対するD F O 2.5当量の効果を示す。

[図5]正常ラットへのD F O混餌5週間後の肝内鉄量（鉄源：クエン酸鉄）を示す。

[図6]正常ラットへのD F O混餌3週間後の肝内鉄量（鉄源：豚レバー）を示す。

[図7]鉄蓄積ラットへのD F O混餌4週間後の肝内鉄量を示す。

[図8]瀉血イヌにおける食品負荷後の血漿鉄推移に対するD F O経口投与の効果を示す。

[図9]D F Oによるヘム鉄誘発血漿鉄上昇抑制効果を示す。

[図10]CCl₄投与（0.25mL/Kg）によるALT上昇に対するD F Oの効果を示す。

[図11]CCl₄投与（0.5mL/Kg）によるALT上昇に対するD F Oの効果を示す。

発明を実施するための形態

[0008] 本発明の経口投与用治療剤が対象とする疾患は、血漿鉄の上昇抑制又は肝内鉄の蓄積抑制若しくは低下が治療に望まれる疾患群であって、具体的には、C型肝炎ウイルス（HCV）、アルコール性肝炎、若しくは非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に起因する慢性肝疾患である。このうち、原発性ヘモクロマトーシス又は続発性ヘモクロマトーシスを発症していないHCV若しくはNASHに起因する慢性肝疾患を対象とするのが好ましい。又、輸血を要するような基礎疾患を有さない患者、例えば、鉄過剰症を発症していない患者を対象とするのが好ましい。又、C型肝炎ウイルス（HCV）、アルコール性肝炎、若しくは非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）のうち、C型肝炎ウイルス（HCV）に起因する慢性肝疾患を対象とするのが特に好ましい。

本発明によれば、D F Oの経口投与により、血漿鉄の上昇抑制又は肝内鉄の蓄積抑制若しくは低下が可能であり、これによって、肝障害の進展が抑制され、優れた薬効を提供することができる。

ここで、C型肝炎ウイルス（HCV）に起因する慢性肝疾患は、C型肝炎ウイルス（ウイルス、hepatitis C virus、HCV）感染して、慢性肝炎に移行したものである。HCVは肝細胞と一部のリンパ球を標的細胞としている。その治療法としては、主に2つの方法、抗ウイルス療法と肝庇護療法があり、これ以外に、血中の鉄分が肝障害を与えるとして瀉血療法を行うこともあるが、本発明によれば、DFOの経口投与により、簡易にC型肝炎ウイルス（HCV）に起因する慢性肝疾患を予防又は治療することができる。

[0009] アルコール性肝炎に起因する慢性肝疾患においては、アルコール摂取に伴う消化管からの鉄吸収の促進と、肝臓への鉄の取り込み増加により、肝臓に鉄が沈着することが知られている。動物実験でもアルコールと鉄を同時に投与すると肝線維化の増悪がみられる。アルコール肝障害での治療は飲酒を継続しないことが第一であるが、過剰に蓄積した鉄を除去する方法を併用すれば、より障害肝の改善は速やかになると予想される。

一方、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に起因する慢性肝疾患は、肝臓に脂肪が蓄積することで起こる肝炎であり、肝硬変や肝細胞癌へと進展することがある。その治療は、食生活の改善と運動療法が基本であるといわれているが、肝臓病に対する薬が投与されている。本発明の経口投与用治療剤が、血漿鉄の上昇抑制又は肝内鉄の蓄積抑制若しくは低下作用によって、NASHに起因する慢性肝疾患の治療に有効であることは新たな発見である。

また、本発明のヘム鉄の経腸吸収阻害剤は、ヘム鉄の経腸吸収抑制が望まれる各種疾患、すなわち、C型肝炎ウイルス、アルコール性肝炎、若しくは非アルコール性脂肪性肝炎に起因する慢性肝疾患の予防若しくは治療剤として有用である。

[0010] 本発明では、経口投与用慢性肝疾患治療剤及びヘム鉄の経腸吸収阻害剤の有効成分として、デフェロキサミン及び/又はその医薬上許容される塩を用いる。デフェロキサミンの医薬上許容される塩としては、塩酸、硫酸、燐酸、硝酸、臭化水素酸などの無機酸との塩、酢酸、クエン酸、トリフルオロ酢酸、マレイン酸、コハク酸、シュウ酸、メシル酸（メタンスルホン酸）、トシ

ル酸などの有機酸との塩が挙げられるが、中でもデフェロキサミンメシル酸塩を用いるのが好ましい。

本発明では、経口投与用慢性肝疾患治療剤及びヘム鉄の経腸吸収阻害剤について、一回の投与を、有効成分20mg～500mg/人の量で行うのが好ましく、より好ましくは、有効成分50mg～200mg/人の量である。又、食事毎に経口投与されるように用いられるのが好ましい。例えば、食事の30分前から食事開始までの間、食事中、又は食後60分までの間に服用するのが好ましい。

[0011] 本発明の経口投与用慢性肝疾患の予防又は治療剤及びヘム鉄の経腸吸収阻害剤は、有効成分として、上記デフェロキサミン及び/又はその医薬上許容される塩を含有するが、通常、経口投与薬剤に用いられている各種成分、例えば、医薬的や生理学的に許容される固体又は液体の担体、添加物等を含有させてもよい。

上記担体としては、例えば、グルコース、乳糖、ショ糖、澱粉、マンニトール、デキストリン、脂肪酸グリセリド、ポリエチレングリコール、ヒドロキシエチルデンプン、エチレングリコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ゼラチン、アルブミン、アミノ酸、水、生理食塩水等が挙げられる。また、必要に応じて、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、結合剤、等張化剤等の慣用の添加剤を適宜添加することもできる。

上記添加物としては、目的に応じて当該目的に対して通常用いられるものであれば特に制限されないが、具体的には、例えば、香料、糖類、甘味料、食物繊維類、ビタミン類、グルタミン酸ナトリウム（MSG）などのアミノ酸類、イノシンーリン酸（IMP）などの核酸類、塩化ナトリウムなどの無機塩類、水などが挙げられる。

本発明の経口投与用慢性肝疾患治療剤及びヘム鉄の経腸吸収阻害剤は、乾燥粉末、ペースト、溶液などの物性に制限なしに経口投与可能な形態で用いることができる。

このような経口投与可能な形態としては、例えば、錠剤、顆粒剤、散剤、

カプセル剤等の固形剤の形態、溶液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤の形態、凍結乾燥剤等の形態が挙げられる。これらの製剤は製剤上の常套手段により調製することができる。

[0012] また、本発明の経口投与用慢性肝疾患の予防又は治療剤及びヘム鉄の経腸吸収阻害剤は、他の肝庇護剤（例えば、ウルソ、強力ネオミノファーゲン、小柴胡湯等）や、他の鉄吸収を抑制する薬剤の投与（例えば、プロトンポンプ阻害剤、タンニン、フチン酸等）、さらに、瀉血療法とも併用することができる。瀉血療法と併用する場合には、DFOによる食事中的鉄吸収抑制作用によって、瀉血回数、瀉血量を軽減することができる。

[0013] また、本発明のヘム鉄の経腸吸収阻害剤は、食品、飲料、調味料等の各種飲食品に上記デフェロキサミン及び/又はその医薬上許容される塩を配合した形態で用いることができる。これらの各種飲食品に上記デフェロキサミン及び/又はその医薬上許容される塩を配合した形態で用いてもよい。

さらに、サプリメントなどで用いられている顆粒や錠剤、又はゼラチンカプセルなどに上記デフェロキサミン及び/又はその医薬上許容される塩を収納した形態でもちいてもよい。

[0014] 次に実施例により本発明を具体的に説明する。

実施例1：正常ラットにおけるDFOの経口投与による単回血漿鉄薬効評価
(A)正常ラットの餌からの鉄の吸収をDFOがどのくらい抑制できるかを、下記の方法により、餌供与後の血漿鉄の推移から評価した。

方法：

使用動物は7～10週令のWistar rat（オス）を用い、22時間絶食後、体重を測定して群分けし、1群5匹構成とした。完食可能な4gの餌を1時間自由摂食させた。DFO量は各餌の鉄量に対する当量換算とし、各餌に混ぜて混餌投与した。Positive controlとして鉄不含食FeO餌（AIN93G組成（オリエンタル酵母（株））、クエン酸鉄0.029 mg/100g dietを含む）を作製し試験に用いた。又、鉄源として、クエン酸鉄をFeO餌に14 mg/100g dietとなるように混合したFe14食を

供与した。餌終了後、尾静脈より経時的にヘパリン管を用いて採血し、血漿分離後、血漿鉄テストワコー（和光純薬）を用いて血漿鉄を測定した。

結果：

Fe量14mg/100gに対して0.625, 1.25又は2.5当量のDFOを混ぜた餌を作製し、1群Fe0食、2群Fe14食、3群Fe14食+DFO0.625当量、4群Fe14食+DFO1.25当量、5群Fe14食+DFO2.5当量で1時間給餌した後、0、1、2、4時間後の血漿鉄の総面積AUC（0～4h）として計算し、2群の値を100%として表示した。結果を図1に示す。

[0015] また、鉄源としてクエン酸鉄をFe0餌に14mg/100g dietとなるように混合したFe14に対してDFOを2.5当量混ぜた餌を1時間供与し、供与後0、1、2、4、6、8、10、22時間後に尾静脈から採血し血漿鉄を測定した結果を図2に示す。

これらの試験結果から、鉄源としてクエン酸鉄を用いた場合、DFOの血漿鉄抑制作用は0.625当量から認められ、2.5当量においては、鉄不含食と同等の効果を示すことがわかった。

[0016] (B)次に鉄源として豚レバーを用いて同様の試験を行った。

豚レバーは食用のものを茹でた後、粉碎し、凍結乾燥して、Fe0餌に、鉄量として14mg/100g dietとなるように添加した(Liver Fe)。1群Fe0食、2群Liver Fe食、3群Liver Fe食+DFO0.625当量、4群Liver Fe食+DFO1.25当量、5群Liver Fe食+DFO2.5当量で1時間給餌した後、0、1、2、4時間後の血漿鉄の総面積AUC（0～4h）として計算し、2群の値を100%として表示した。結果を図3に示す。

また、鉄源として豚レバーをFe0餌に14mg/100g dietとなるように混合して供与したLiver Feに対してDFOを2.5当量混ぜた餌を1時間供与し、供与後0、1、2、4、6、8、10、22時間後に尾静脈から採血し血漿鉄を測定した結果を図4に示す。

これらの結果から、鉄源としてクエン酸鉄を用いた場合だけでなく、通常ヒトが食する豚レバーを鉄源とした場合にも、DFOの血漿鉄抑制作用は0.625当量から認められ、2.5当量においては、鉄不含食と同等の効果を示すことがわかった。

なお、2.5当量を人に換算すると、人の1回の食事に含まれる鉄含量は、約3.3mg（平成22年国民栄養調査より）であることから、1回のDFO投与量は約100mgである。

[0017] 実施例2：正常ラットにおけるDF0の経口投与による長期肝内鉄蓄積への薬効評価

(A)正常ラットの餌からの鉄の吸収をDF0が抑制して肝臓の鉄蓄積量を減少させることができるかどうかを下記の方法で評価した。

方法：

使用動物は7週令のWistar rat（オス）を用い、体重を測定して群分けし、1群8匹構成とした。1群Fe0食、2群Fe14食、3群Fe14食+DFO0.625当量、4群Fe14食+DFO1.25当量、5群Fe14食+DFO2.5当量の餌を調整し、5週間自由摂食させた。5週間後、麻酔下で下大静脈より放血後、肝臓を摘出し、粉碎後凍結乾燥させた。灰化处理後、AES-ICP（日立）にてFe量を測定し結果を図5に示す。

以上の結果から、クエン酸鉄を鉄源とした場合DFO混餌供与5週間の場合、0.625当量から有意に肝内鉄の蓄積を抑制できることがわかった。またその程度は、2.5当量でFe0食と同程度であることがわかった。

[0018] (B)また鉄源を豚レバーにした試験では、1群6匹構成とし、豚レバー食はFe0食調製の際、蛋白成分であるカゼインを全て豚レバーに置換して作製した（鉄含量は11mg/100g diet）。群構成は1群Fe0食、2群レバー食、3群レバー食+DFO2.5当量、4群レバー食+DFO5当量、5群レバー食+DFO7.5当量とし、3週間自由摂食させた。3週間後、麻酔下で下大静脈より放血後、肝臓を摘出し、粉碎後凍結乾燥させた。

灰化处理後、AES-ICP（日立）にてFe量を測定し結果を図6に示す。

その結果、DFOは3週間の投与で有意に肝内鉄を減少させることがわかり、DFO経口投与を、好ましくは長期続けることにより鉄源がクエン酸鉄であっても食品（豚レバー）であっても、鉄の吸収を抑制することで肝内鉄含量を低下することができることが明らかになった。

[0019] 実施例3：肝内鉄蓄積ラットにおけるDFOの経口投与による長期肝内鉄蓄積への薬効評価

C型慢性肝炎患者は肝臓内に軽度の鉄蓄積が認められることが報告されている。そこで、肝臓内に鉄を軽度蓄積させたラットを用いて、DFOを長期混餌投与し、その肝内鉄蓄積抑制効果を下記の方法により検討した。

方法：

7週令のWistar rat（オス）を用いて実験を行った。

1群は、動物用飼料CRF-1（オリエンタル酵母（株））を2週間供与したラットに、4週間クエン酸鉄を14mg/100g diet含む餌（Fe14）を供与した。2～5群は2週間2.5% Carbonyl ironを含む餌を供与し、肝内鉄を軽度蓄積させた。2～5群は2週間2.5% Carbonyl ironを含む餌を供与した後、体重、血漿鉄で群分けし、2群はFe14食を3群は鉄不含食（Fe0）を4群はFe14食+DFO5当量を5群はFe14食を4週間自由摂食させた。また5群は、1週間に1回尾静脈から無麻酔下で5ml/kgの血液を採取し、瀉血した。

試験開始から6週間後、麻酔下で下大静脈より放血後、肝臓を摘出し、粉碎後凍結乾燥させた。灰化处理後、AES-ICP（日立）にてFe量を測定した。

結果：

結果を図7に示した。2週間2.5%のCarbonyl ironを混餌供与することにより、その後4週間後においても有意な肝内鉄の蓄積が認められた（1群vs2群）。一方、本モデルにおいて、Fe0食4週間投与

(3群)は有意な肝内鉄の抑制を認めなかったが、D F O 5 当量 4 週間混餌投与(4群)は有意な肝内鉄の抑制が認められた。またその程度は、瀉血群(5群)と同等であった。

[0020] 実施例 4：瀉血イヌにおける D F O 経口投与による食後血漿鉄の上昇抑制作用

上記実施例では、鉄源としてはクエン酸鉄や豚レバーを用いてきたが、よりヒトに近い食事という観点から、鉄を多く含む複数の食品を鉄源とし、イヌに供与した場合の血漿鉄の上昇を経口投与の D F O が抑制できるかどうかを検討した。正常イヌにおいては、鉄を多く含む食品 2 0 0 g (鉄量 1 7 . 3 m g) 供与後血漿鉄の上昇が認められなかったため、2 週間に 1 回 5 m l / k g の瀉血を 7 回行い、鉄吸収を亢進させた状態で試験を行った。

方法：

体重 1 6 ~ 1 8 K g のビーグル犬に表 1 の組成の餌を 2 0 0 g 自由摂取させ、食後 1 , 2 , 4 , 6 , 8 時間後上腕静脈より採血し血漿分離後、血漿鉄テストワコー(和光純薬)を用いて血漿鉄を測定した。D F O 1 当量は摂食 1 時間後に蒸留水に溶解して胃内ゾンデをもちいて強制経口投与、あるいはゼラチンカプセルに粉末を入れ少量の水と共に経口投与した。

[0021] 表 1、イヌ餌組成

	食品名	量(g)	イヌ餌中無機鉄
1	ライ麦パン	50	0.93
2	きな粉	20	1.38
3	いりこ	20	1.84
4	あさり	20	2.68
5	豚レバー	30	5.84
6	青海苔	10	4.51
7	豆乳	35	0.14
8	牛脂	15	0.00
合計		200	17.33

結果：

瀉血したイヌに表 1 に記載の組成の餌を 2 0 0 g 供与した後の血漿鉄の推移を図 8 に示す。瀉血により鉄吸収は亢進し、食事負荷後の顕著な血漿鉄の上昇が認められた。D F O 1 当量を経口投与した場合、粉末投与においても

溶液投与においても血漿鉄の上昇を有意に抑制できることがわかる。

[0022] 実施例 5：正常ラットにおけるヘム鉄負荷による血漿鉄上昇の D F O 経口投与による抑制作用

上記実施例では、鉄源として無機鉄であるクエン酸鉄や、無機鉄及びヘム鉄を含む豚レバーなどの食品を用い、D F O の薬効を示してきた。

D F O は無機鉄をキレートすることは知られているが、ヘム鉄はキレートできないことが報告されている。しかしながら、上記試験結果において、無機鉄を鉄源とした時だけでなく食品を鉄源とした場合においても D F O が非常に強い薬効を示すことがわかったので、ヘム鉄を鉄源とした場合の血漿鉄の抑制に対する D F O の効果を下記の方法により検証した。

方法：

使用動物は 7 ～ 10 週令の W i s t a r r a t （オス）を用い、22 時間絶食後、体重を測定して群分けし、1 群 5 匹構成とした。1 群は F e O 食、2 群、3 群は F e O 餌にクエン酸鉄 25 m g / 100 g d i e t となるように混合した F e 25 食、4 群、5 群はヘモグロビンを F e O 餌に鉄として 25 m g / 100 g d i e t 添加した H e m 25 食、とし、餌はそれぞれ完食可能な 4 g とし 1 時間自由摂食させた。餌終了直後、5 当量の D F O を水に溶解させ 2 m l / 1 匹を強制経口投与した。投与 4 時間後に尾静脈よりヘパリン管を用いて採血し、血漿分離後、血漿鉄テストワコー（和光純薬）を用いて血漿鉄を測定した。

結果：

結果を図 9 に示した。ヘモグロビンによる血漿鉄上昇はクエン酸鉄による血漿鉄上昇とほぼ同程度であった。D F O の投与により、ヘム鉄による 4 時間後の血漿鉄上昇は F e O 同等レベルまで抑制され、クエン酸鉄起因の血漿鉄上昇抑制と同じ効果を示すことが明らかになった。

[0023] 実施例 6：四塩化炭素誘発肝炎モデルにおける D F O 経口投与による肝炎抑制作用

四塩化炭素（C C l₄）は肝炎誘発物質として非常に良く使われている起炎

物質であるが、 CCl_4 腹腔内投与による肝炎モデルを作製し、DFOの薬効を下記の方法により確認した。

方法：

7週令wistar rat（オス）に2.5%Carbonyl iron 2週間混餌供与後、1群6匹に群分けし、1群CRF-1（Fe量約14mg/100g diet）、2群CRF-1にDFOを2.5当量混餌で6週間自由摂食させた。混餌開始3週目より CCl_4 を0.25ml/kgまたは0.5ml/kgになるようolive oilで希釈し、週1回5ml/kgで腹腔内投与した。 CCl_4 投与前、24時間後、48時間後尾静脈から採血し、肝炎の指標である、ALTを測定した。

結果：

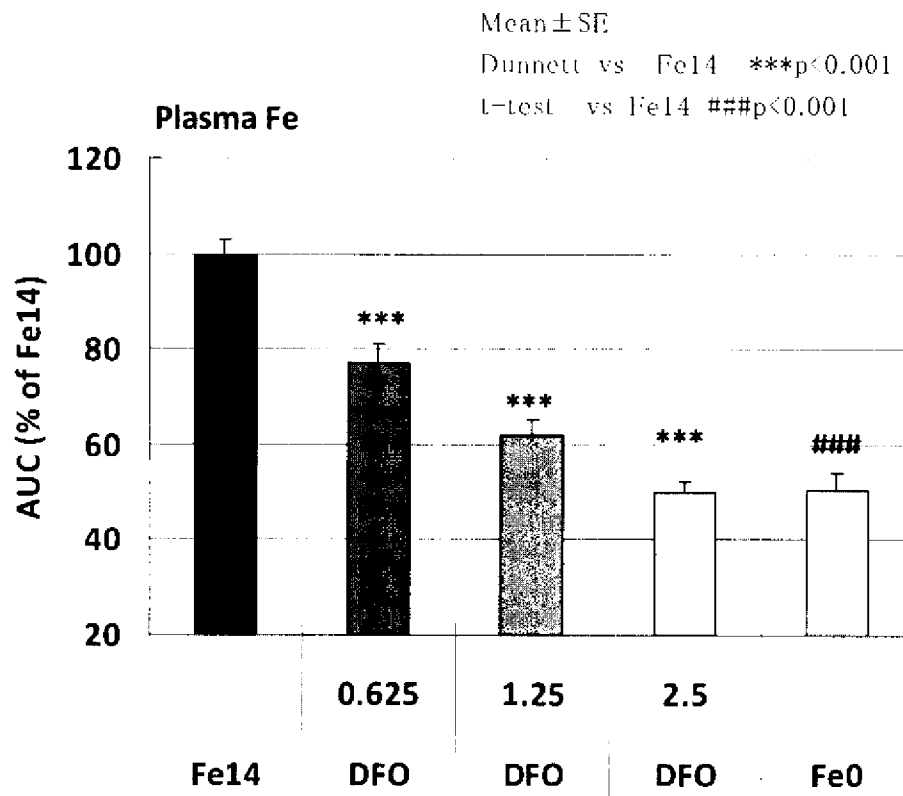
結果を図10と図11に示すが、図10の結果から、 CCl_4 0.25ml/kgで誘発された肝炎はDFO2.5当量の混餌投与で抑制できることがわかる。また図11の結果から、 CCl_4 0.5ml/kgで誘発された初期の肝炎はDFO2.5当量の混餌投与で抑制できることがわかる。

請求の範囲

- [請求項1] デフェロキサミン又はその医薬上許容される塩を有効成分として含有することを特徴とするC型肝炎ウイルス（HCV）、アルコール性肝炎、若しくは非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に起因する慢性肝疾患の経口投与用予防若しくは治療剤。
- [請求項2] 有効成分としてデフェロキサミンメシル酸塩を用いる請求項1記載のHCV、アルコール性肝炎、若しくはNASHに起因する慢性肝疾患の予防若しくは治療剤。
- [請求項3] 原発性ヘモクロマトーシス又は続発性ヘモクロマトーシスを発症していないHCV、アルコール性肝炎、若しくはNASHに起因する慢性肝疾患患者用である請求項1又は2記載の慢性肝疾患の予防若しくは治療剤。
- [請求項4] 食事毎に経口投与されるように用いられる請求項1～3のいずれか1項記載の慢性肝疾患の予防若しくは治療剤。
- [請求項5] 一回の投与を、有効成分20mg～500mg/人の量で行う請求項1～4のいずれか1項記載の慢性肝疾患の予防若しくは治療剤。
- [請求項6] 一回の投与を、有効成分50mg～200mg/人の量で行う請求項5記載の慢性肝疾患の予防若しくは治療剤。
- [請求項7] デフェロキサミン又はその医薬上許容される塩を有効成分として含有し、経口投与用の形態にあることを特徴とするヘム鉄の経腸吸収阻害剤。
- [請求項8] デフェロキサミン又はその医薬上許容される塩を有効成分として含有し、経口投与用の形態にあることを特徴とする瀉血療法の補助剤。

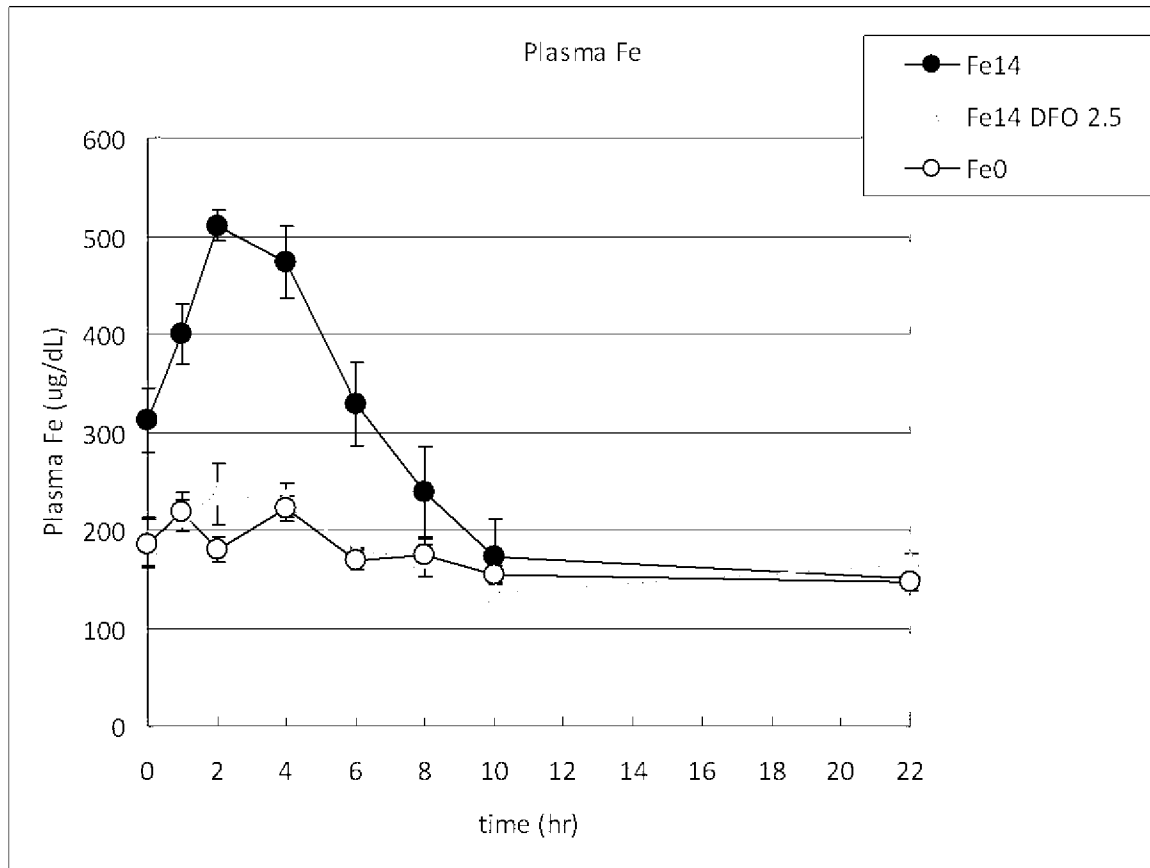
[図1]

FIG.1



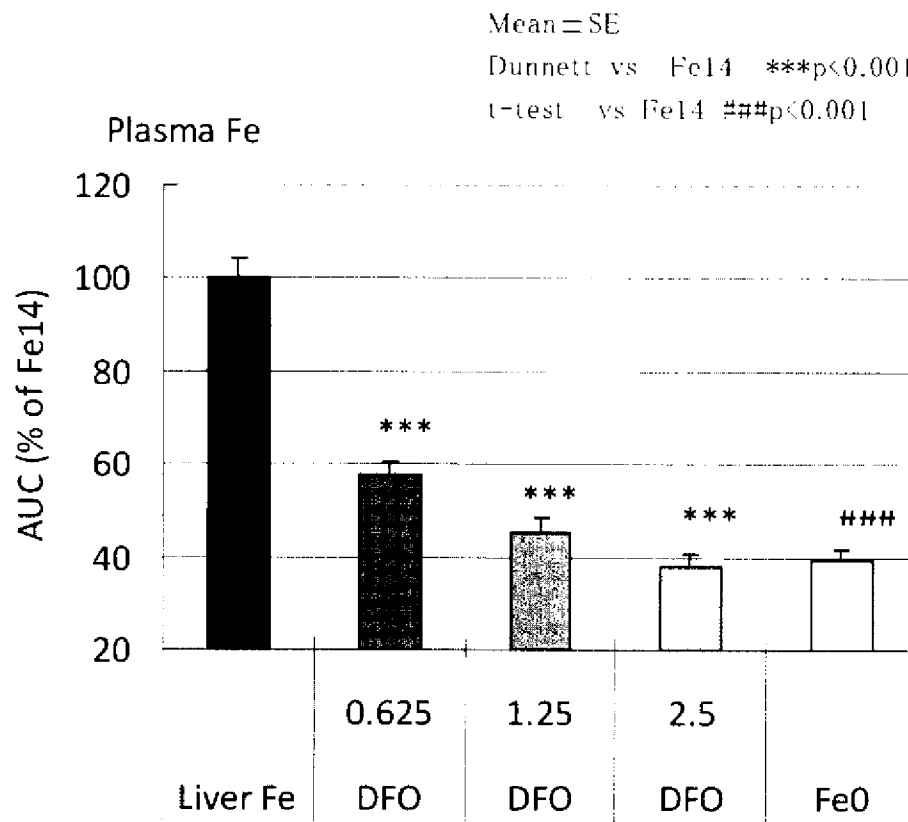
[図2]

FIG.2



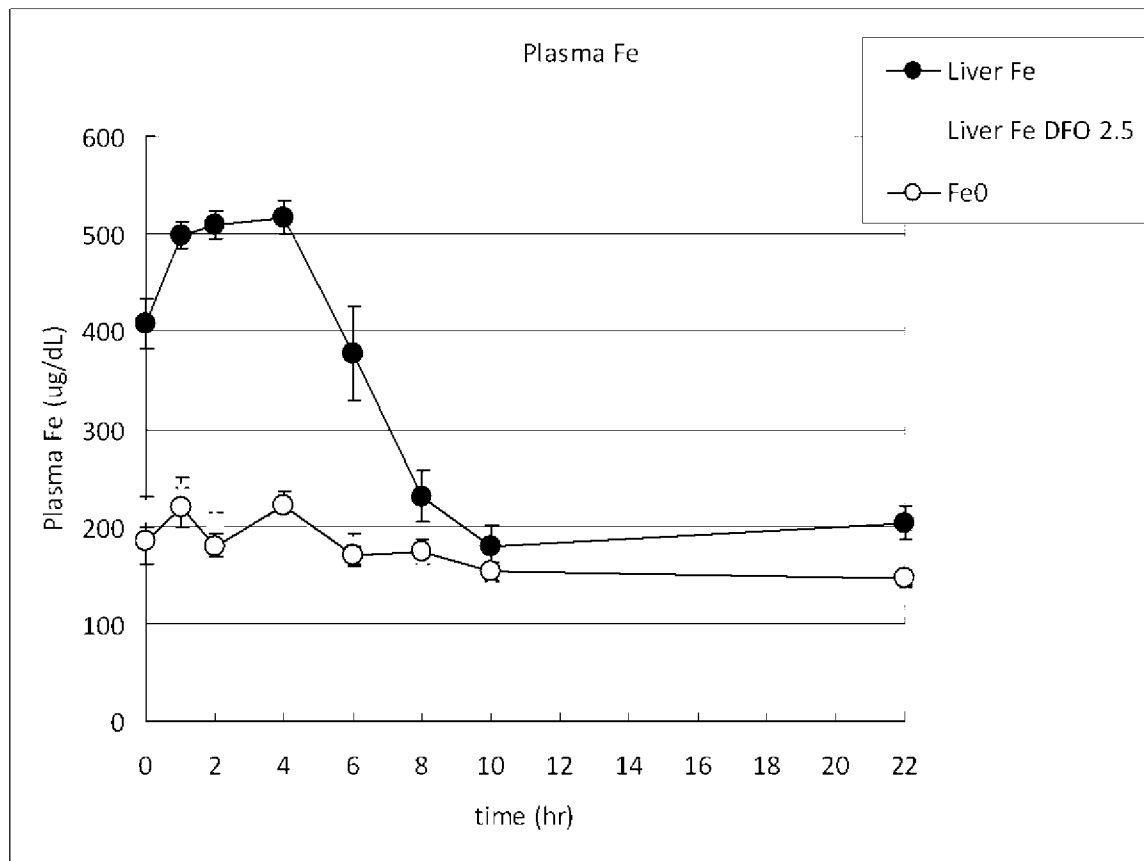
[図3]

FIG.3



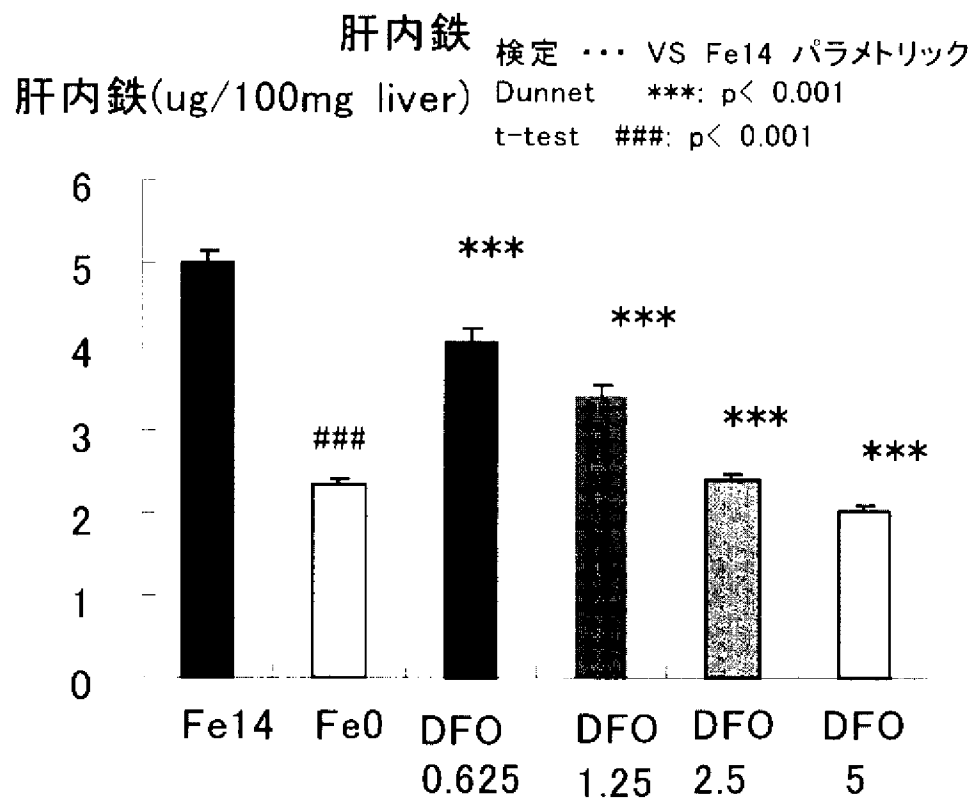
[図4]

FIG.4



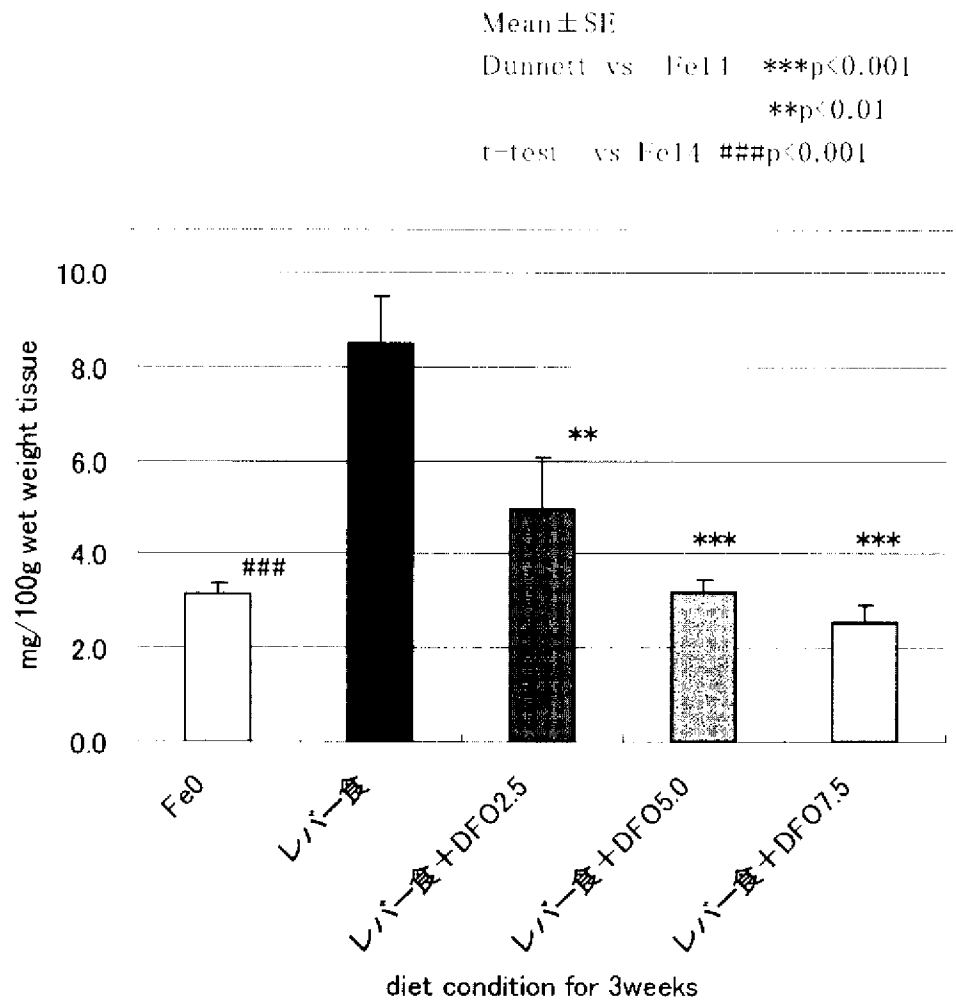
[図5]

FIG.5



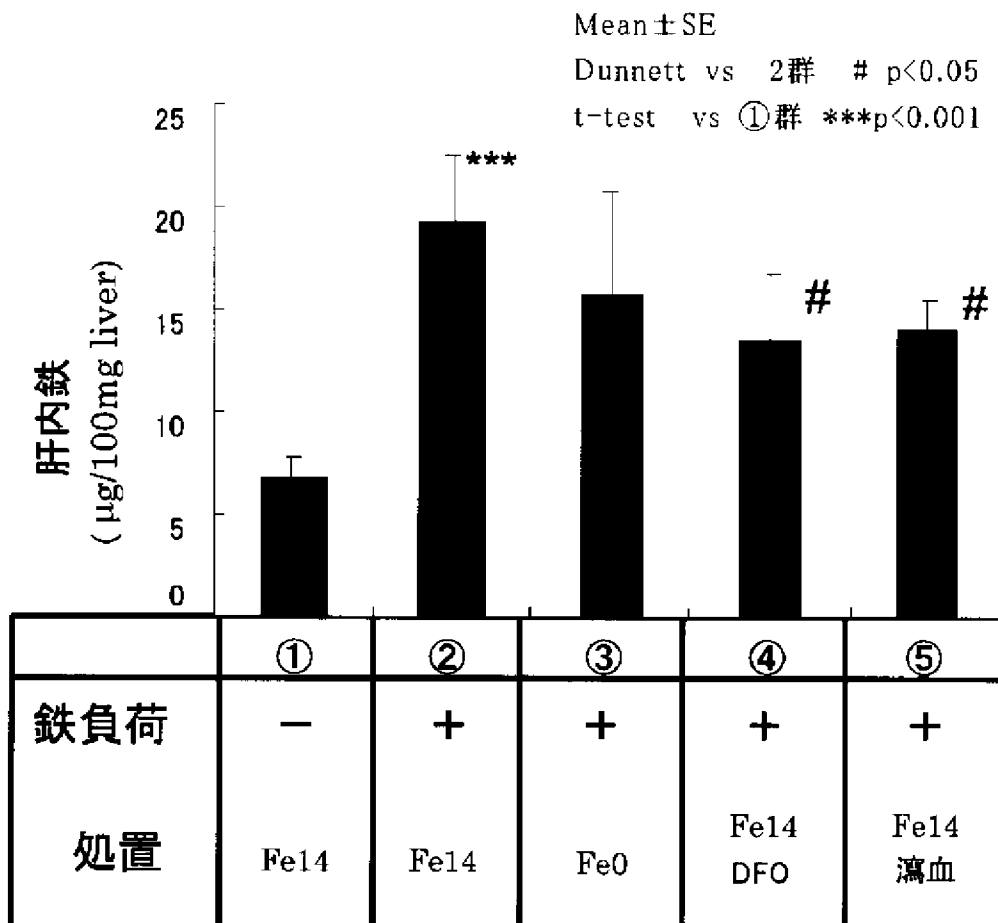
[図6]

FIG.6



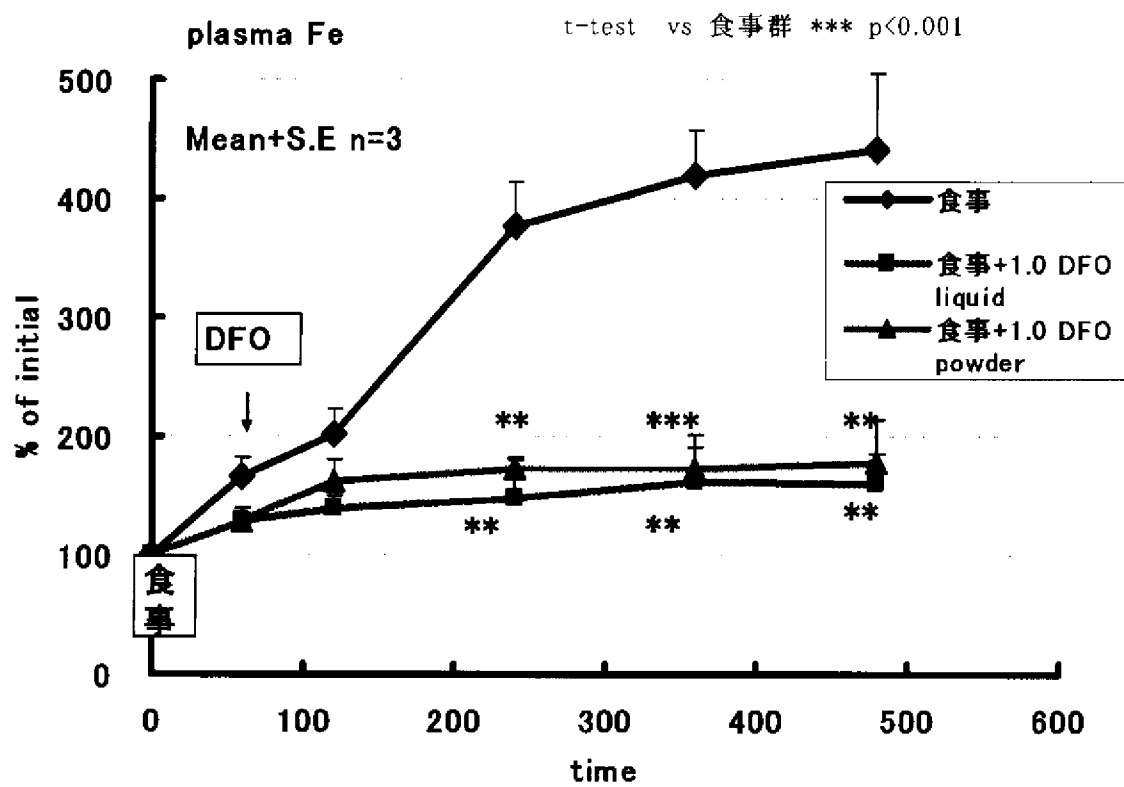
[図7]

FIG.7



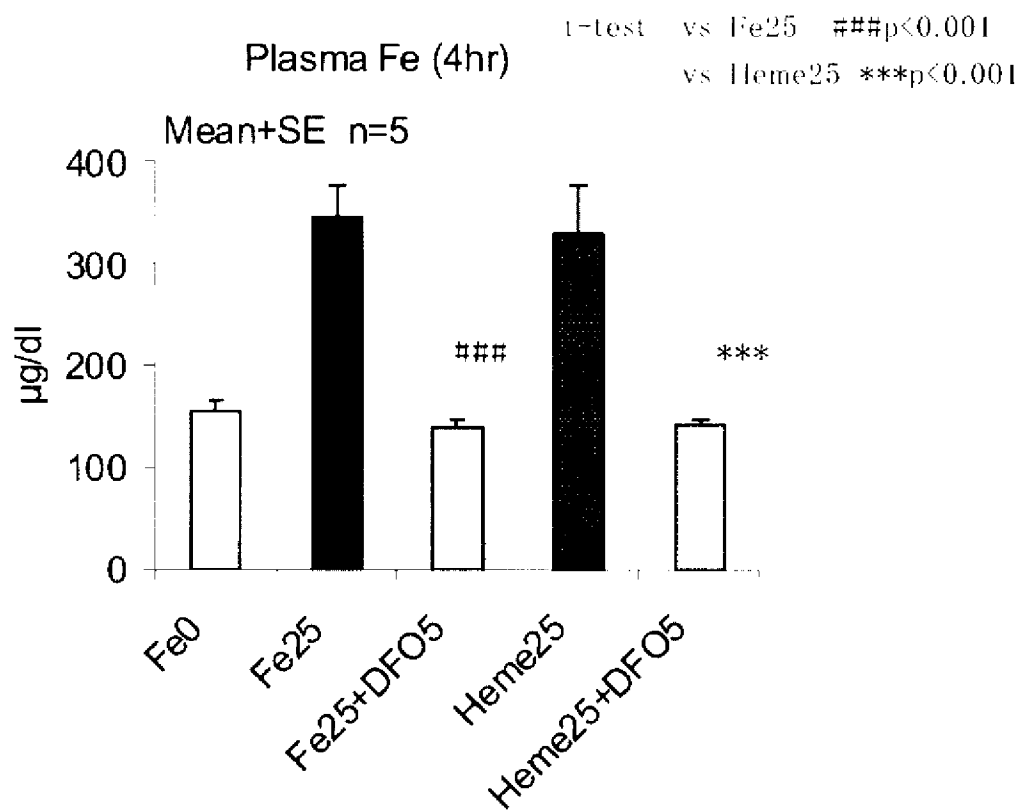
[図8]

FIG.8



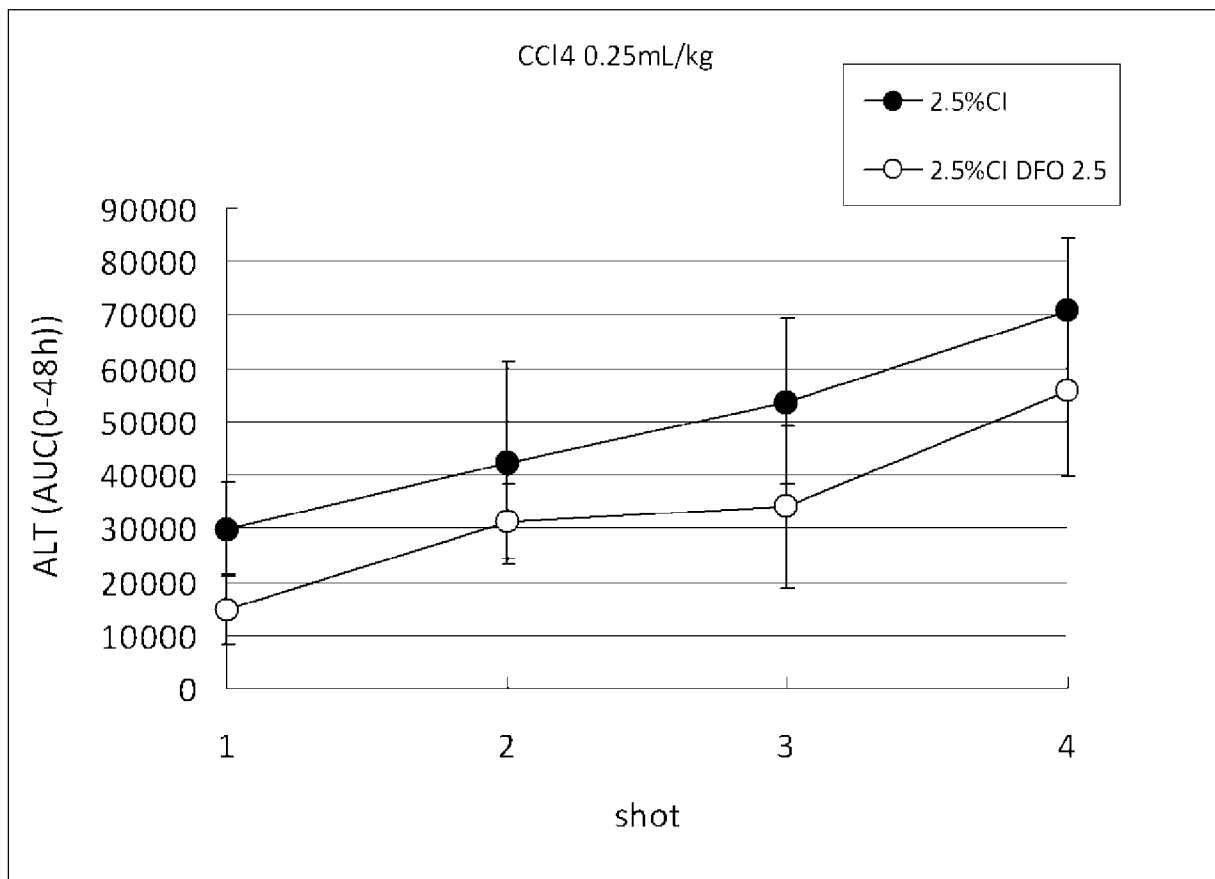
[図9]

FIG.9



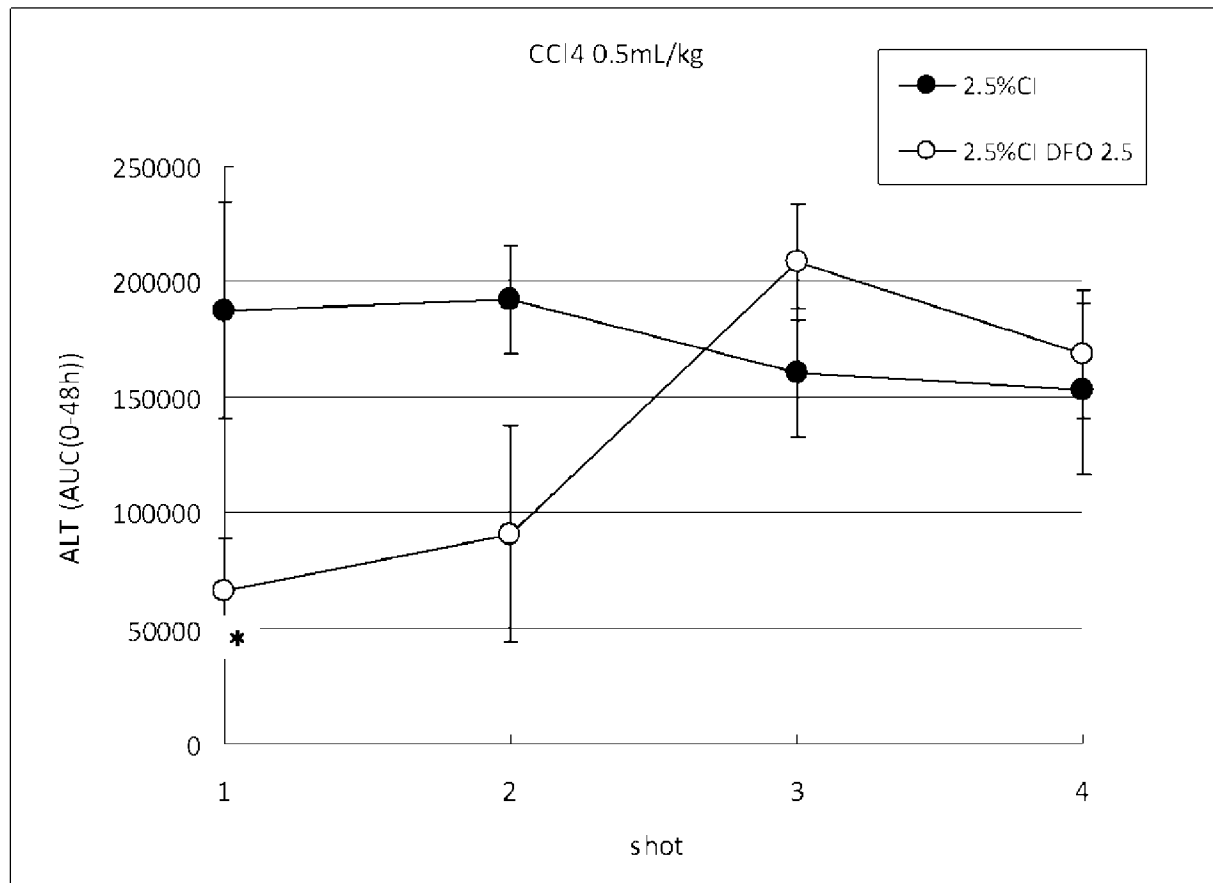
[図10]

FIG.10



[図11]

FIG.11



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/060762

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/16(2006.01) i, A61P1/16(2006.01) i, A61P31/14(2006.01) i

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)

A61K31/16, A61P1/16, A61P31/14

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 1996-2012

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012

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

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Heilmeyer, L., et al., Moderne hamochromatoseprobleme mit besonderer berucksichtigung der desferrioxaminbehandlung, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1962, Vol.87, No.52, 2661-7, See Zusammenfassung	1-7 1-6, 8
Y	Keisuke HINO et al., "Mansei Kanshogai ni Okeru Tetsu Taisha Ijo to Jotetsu Ryoho", The Journal of the Japanese Society of Internal Medicine, 2010, vol.99, no.6, 1248-54, entire text	1-6
Y	BRITTON, R.S., et. al, Iron toxicity and chelation therapy, Int J Hematol, 2002, Vol.76, No.3, p.219-28, See Abstract, Summary	8



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
13 June, 2012 (13.06.12)Date of mailing of the international search report
03 July, 2012 (03.07.12)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/060762

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Junji KATO, "Iron overload syndrome no Gen'in to Chiryo", The Cell, 2002, vol.34, no.14, 579-82, page 579, left column, 1st to 3rd paragraphs, page 582, left column, 3rd paragraph to right column, 2nd paragraph	1-8
A	ZAREIFAR, S. et al, Efficacy of combined desferrioxamine and deferiprone versus single desferrioxamine therapy in patients with major thalassemia, Arch Iran Med, 2009, Vol.12, No.5, p.488-91, See Results, Table 1	1-8
A	STEWART, A. et al, An improved animal model for studying desferrioxamine, Br J Haematol, 1996, Vol.95, No.4, p.654-9, See Summary, Table I	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/060762

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:

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:

The inventions of claims 1-7 cannot be considered to be novel as disclosed in the following document, and therefore have no special technical feature.

Note:

Heilmeyer, L., et al., Moderne hamochromatoseprobleme mit besonderer berucksichtigung der desferrioxaminbehandlung, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1962, Vol.87, No.52, 2661-7

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 additional fees, 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.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/16(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P31/14(2006.01)i

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. A61K31/16, A61P1/16, A61P31/14

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 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 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)

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

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 請求項の番号
X Y	Heilmeyer, L., et al., Moderne hamochromatoseprobleme mit besonderer berucksichtigung der desferrioxaminbehandlung, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1962, Vol.87, No.52, 2661-7 See Zusammenfassung	1-7 1-6、8
Y	日野啓輔ら, 慢性肝障害における鉄代謝異常と除鉄療法, 日本内科学会雑誌, 2010, Vol.99, No.6, 1248-54 全文参照	1-6

☒ 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

の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

1 3 . 0 6 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

0 3 . 0 7 . 2 0 1 2

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)

安藤 公祐

4 U

4 4 9 6

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 3 9

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 請求項の番号
Y	BRITTON, R. S., et. al, Iron toxicity and chelation therapy, Int J Hematol, 2002, Vol.76, No.3, p.219-28 See Abstract、Summary	8
A	加藤淳二, Iron overload syndrome の原因と治療, 細胞, 2002, Vol.34, No.14, 579-82 第 579 頁左欄 1-3 段落、第 582 頁左欄 3 段落-同頁右欄 2 段落等	1-8
A	ZAREIFAR, S. et al, Efficacy of combined desferrioxamine and deferiprone versus single desferrioxamine therapy in patients with major thalassemia, Arch Iran Med, 2009, Vol.12, No.5, p.488-91 See Results、Table 1	1-8
A	STEWART, A. et al, An improved animal model for studying desferrioxamine, Br J Haematol, 1996, Vol.95, No.4, p.654-9 See Summary、Table I	1-8

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（P C T 17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. ☐ 請求項 _____ 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、
2. ☐ 請求項 _____ 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. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってP C T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ろの国際調査機関は認めた。

請求項1-7に係る発明は、以下の文献に記載のとおり、新規性が認められないから、特別な技術的特徴を有しない。

<記>

Heilmeyer, L., et al., Moderne hamochromatoseprobleme mit besonderer berucksichtigung der desferrioxaminbehandlung, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1962, Vol.87, No.52, 2661-7

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項について作成した。
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項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ため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項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ため、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項について作成した。

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はあったが、異議申立てはなかった。