



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



Organizacion y
Digitalizacion CSA Ltda



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

ENTRADA EN SE NACIONAL

09-9959

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TITULO AGENTE PROFILÁCTICO O TERAPÉUTICO PARA ENFERMEDAD VIRAL

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.

DOMICILIO TOKIO, JAPÓN.

74. APODERADO JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

22. SANTAFE DE BOGOTA, D.C. _____

PETITORIO

AS: 109.331


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-009959- -00000-0000

Fecha: 2009-02-03 16:36:07

Dep. 2020 NUECREACIONE

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 74

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

31 MAR. 2009

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE

Nombre: MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.

Dirección: 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-ku, Tokio,
104-8002, Japón.

Nacionalidad o Domicilio: Japón

Lugar de Constitución: Japón

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

Dirección: Cra. 7 No. 71-21 Torre B – Piso 4,
Bogotá, Colombia.

Teléfono: 744-2200

Fax: 742-2200

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual _____

Número 80.410.337 TP 57492

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: Yoichi HIASA, Hiroyuki KUZUHARA.

Dirección: c/o Ehime University Hospital, Shitsukawa, Toon-shi, Ehime 791-0295, Japón;
c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 222-
8567, Japón (Respectivamente).

Nacionalidad o Domicilio: Japón

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/JP2007/063545

Fecha 06-07-2007

Publicación Internacional No. WO 2008/004653 A1

Fecha 10-01-2008

6 Título (54): AGENTE PROFILÁCTICO O TERAPÉUTICO PARA ENFERMEDAD VIRAL

7 Clasificación Internacional (51):

8 Prioridad

SI ☒NO ☐

(33) País de Origen

JP

(32) Fecha

07-07-2006

(31) Número de Solicitud

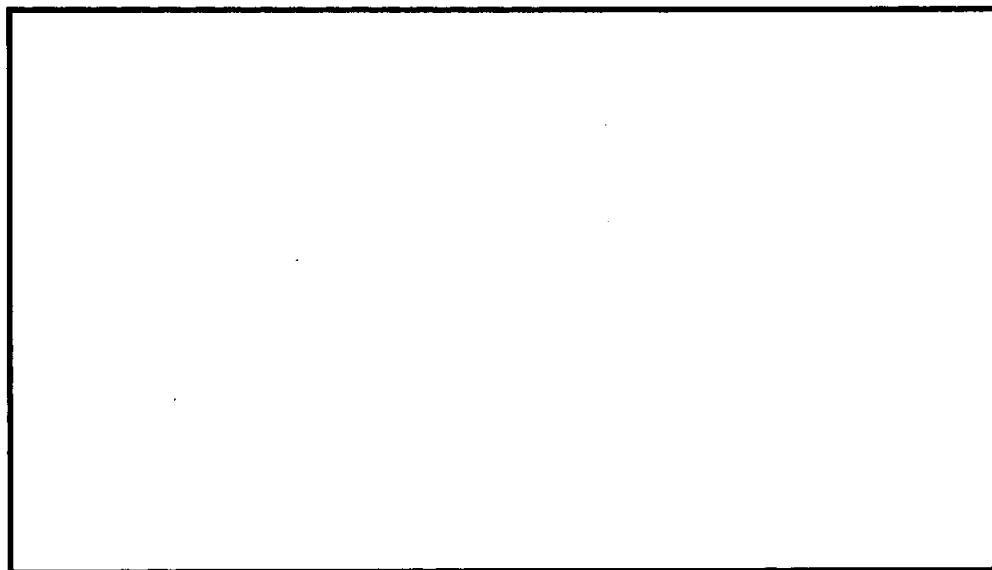
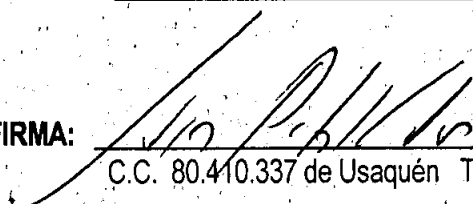
2006-187943

9 Comprobante de pago No. 08-98.207; 09-1.120

Fecha 02-02-2009

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$ 540.000
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Fotocopia autenticada**
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción de examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Tarjeta de Propietarios
Documentos PCT
Extracto para Publicación y Tarjeta de Archivo Temático

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:**12** Solicito la concesión de la patente,**NOMBRE:** JUAN PABLO CADENA SARMIENTO**FIRMA:**
C.C. 80.410.337 de Usaquén TP 57492 del C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

3
109331

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 98,207
FECHA : DICIEMBRE 17 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-009959- -00000-0000

Fecha: 2009-02-03 16:36:07 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 74

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	80854012	17/12/2008	30,330,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 1,120
FECHA : ENERO 6 DE 2009

***** CONSIGNACION

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA
-------------	-----------	-------	--------

BRIGARD & CASTRO LTDA RECIBO DE CAJA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-009959- -00000-0000

Fecha: 2009-02-03 16:36:07 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 74

1039 06/01/2009 5,012,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
-------	------------	----------	----------------

1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	998 VALOR COMPLEMENTO TARIFA A#D ANTR	39,000.00
TOTAL :				\$ 39,000.00

SON: TREINTA Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PATENTE ☒ PCT/JP2007/063545 ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

SOLICITANTE/S. RAZON SOCIAL O APELLIDOS Y NOMBRES MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.

DOMICILIO TOKIO, JAPON

APODERADO JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

TITULO AGENTE PROFILACTICO O TERAPEUTICO PARA ENFERMEDAD VIRAL

CLASIFICACION _____

EXPEDIENTE No. _____ FECHA DE SOLICITUD _____ ROLLO MICROFILM _____

CERTIFICADO No. _____ FECHA DE CONCESION _____ VIGENCIA DESDE _____ HASTA _____

PRORROGA _____ CAMBIO DE NOMBRE _____

TRASPASO A _____

INVENTOR (ES) YOICHI HIASA, HIROYUKI KUZUHARA.

OTROS _____

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO

PATENTE DE INVENCION ☒ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(21) No. de solicitud:		(22) Fecha de solicitud:		FIGURA CARACTERÍSTICA 6 x 6 cm		
(51) Clasificación Internacional :						
(71) Solicitante (s): MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.						
(72) Inventor (es): Yoichi HIASA, Hiroyuki KUZUHARA.						
(74) Agente: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO						
(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	(32)			Fecha
		2006-187943		07-07-2006		JP
(85) Fecha inicio fase nacional: 07-02-2009				(87) Publicación internacional:		
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT				Fecha: 10-01-2008		
Fecha de presentación de la solicitud: 06-07-2007				No. Publicación: WO 2008/004653 A1		
No. de solicitud: PCT/JP2007/063545						

(54) Título: AGENTE PROFILÁCTICO O TERAPÉUTICO PARA ENFERMEDAD VIRAL

(55) Resumen:

Un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral, que comprende una combinación de 22β-metoxiolean-12-eno-3β, 24(β)diol y un interferón como ingredientes activos.

CONTINUA AL RESPALDO ...

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) No. de solicitud:		(51) Int Cl:	
(22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s): MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	2006-187943	07-07-2006	JP
(85) Fecha inicio fase nacional: 07-02-2009		(74) Agente: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO	
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT		(87) Publicación internacional	
Fecha de presentación de la solicitud: 06-07-2007		Fecha: 10-01-2008	
No. de solicitud: PCT/JP2007/063545		No. publicación: WO 2008/004653 A1	
(54) Título: AGENTE PROFILÁCTICO O TERAPÉUTICO PARA ENFERMEDAD VIRAL			

(55) Resumen:

Un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral, que comprende una combinación de 22β-metoxiolean-12-eno-3β, 24(β)diol y un interferón como ingredientes activos.

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2008 年1 月10 日 (10.01.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/004653 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 38/21 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)
A61K 31/56 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/063545

(22) 国際出願日: 2007 年7 月6 日 (06.07.2007)

(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2006-187943 2006 年7 月7 日 (07.07.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 明治製菓株式会社 (MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.) [JP/JP]; 〒1048002 東京都中央区京橋二丁目4 番1 6 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 日浅 陽一 (HIASA, Yoichi) [JP/JP]; 〒7910295 愛媛県東温市志津川 国立大学法人愛媛大学医学部附属病院内 Ehime (JP). 葛原 博幸 (KUZUHARA, Hiroyuki) [JP/JP]; 〒2228567 神奈川県横浜市港北区師岡町7 6 0 明治製菓株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 森田 憲一, 外 (MORITA, Kenichi et al.); 〒1730004 東京都板橋区板橋二丁目6 7 番8 号 板橋中央ビル5 階 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, 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.

(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

— 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC AGENT FOR VIRAL DISEASE

(54) 発明の名称: ウイルス性疾患の予防又は治療剤

(57) Abstract: A prophylactic or therapeutic agent for a viral disease, comprising a combination of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and an interferon as active ingredients. The prophylactic or therapeutic agent can exert a high therapeutic effect, because 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and an interferon are administered in combination.

(57) 要約: 22 β -メトキシolean-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールとインターフェロンとを有効成分として組み合わせたことを特徴とする、ウイルス性疾患の予防又は治療剤を開示する。本発明のウイルス性疾患の予防又は治療剤は、22 β -メトキシolean-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールと、インターフェロンとを組み合わせ併用投与することにより、高い治療効果を得ることができる。

WO 2008/004653 A1

明 細 書

ウイルス性疾患の予防又は治療剤

技術分野

- [0001] 本発明は、 22β -メトキシオレアン- 12 -エン- 3β , $24(4\beta)$ -ジオールと、インターフェロンとを組み合わせたことを特徴とする、ウイルス性疾患の予防又は治療剤に関する。

背景技術

- [0002] 国内のC型肝炎ウイルス(HCV)の持続感染者は約150万～200万人と推計され、その多くは、慢性肝炎の症状を呈していると推定されている(非特許文献1参照)。B型肝炎の場合、慢性肝炎を経由しないで肝癌へ進行する例も多く見られる。一方、HCV感染者の80～90%は肝組織所見からみれば慢性肝疾患であり、感染者の50～60%は慢性肝炎から肝硬変・肝細胞癌へと進展する可能性がある(非特許文献2参照)。HCV感染症は、世界的にも重要な医療上の問題となっている。
- [0003] インターフェロン(IFN)は、ウイルス複製及び細胞増殖を阻害して免疫応答を調節する、高度に相同な種特異的タンパク質のファミリーであり、4つのクラスのインターフェロンがヒトに存在していることが知られている(非特許文献3)。

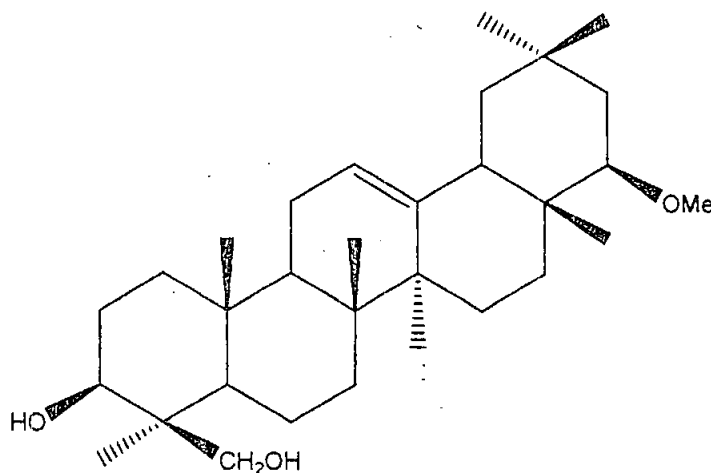
このインターフェロンの抗ウイルス作用に着目し、インターフェロンは様々なウイルス性疾患に応用されている。特に、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスの一種であるHCVの感染により引き起こされるC型慢性肝炎ではHCVの除去を目的として、治療に広く用いられている。しかしながら、IFNの治療効果を左右する因子で、我が国におけるC型慢性肝炎患者の7割以上を占めるといわれる遺伝子型(genotype) 1b、あるいは、高ウイルス量(1Meq以上)の患者では、IFNの治療効果は低いことが知られている(非特許文献4、5参照)。また副作用として発熱、脱力及び精神症状の異常などが高頻度に認められている。

- [0004] 遺伝子型1bで且つ高ウイルス量の患者の既存の治療法として、IFNとリバビリンとの併用療法、PEGインターフェロン α -2a(PEG-IFN α -2a)、PEGインターフェロン α -2b(PEG-IFN α -2b)とリバビリンとの併用療法が知られている。これらの

治療効果(完治率)は、まだ満足できるものではない。現在最も治療効果が高いPEG-IFNとリバビリンとの併用療法でも、その効果は50%程度である。また、副作用としてIFN単独療法に比し、IFNとリバビリンとの併用療法では、ヘモグロビン減少、赤血球減少、白血球減少等が高頻度に認められている。PEG-IFN α -2aでは、インフルエンザ様症状はIFNより低いものの、皮膚症状とリンパ球減少、血小板減少、赤血球減少がより多く認められている。PEG-IFN α -2bとリバビリンとの併用療法では、投与部位障害が多く発生し、血球系有害事象の検査値の回復に若干遅れが認められ、さらに高齢者で、高度の検査値異常や減量を要する頻度が高くなる傾向が認められている。従って、IFN治療によって十分な効果が得られなかった症例や遺伝子型1b又は高ウイルス量でIFN投与により有効性が期待できない症例、あるいは、高齢者や既に肝硬変へ進展している症例などに有効な治療方法の開発が期待されている。

[0005] 一方、 22β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールは、下記の構造を示す化合物であり、肝細胞障害抑制効果を有することが知られている(特許文献1、2参照)。

[0006] [化1]



[0007] また、 22β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールは、抗HCV活性を有することが報告されており(非特許文献6参照)、ウイルス性肝疾患治療剤としての開発が期待されている。しかし、他の薬剤との併用効果についてはこれまで研究されていなかった。

[0008] 特許文献1:国際公開第97/03088号パンフレット

特許文献2:特許第3279574号明細書

非特許文献1:日本肝臓学会編,「慢性肝炎の治療ガイド」,(株)文光堂,2006年,
p. 21

非特許文献2:飯野四郎,「C型肝炎治療ガイドライン」,日本臨床,2004,第62巻,
増刊号7, p. 342-346

非特許文献3:「アニュアル・レビュー・オブ・バイオケミストリー(Annual Review of
Biochemistry)」,(米国),1987年,第56巻, p. 727-777

非特許文献4:飯野四郎,「明らかにになったインターフェロンの効果と限界」,内科,19
99年,第84巻,第2号, p. 285-291

非特許文献5:「ランセット(Lancet)」,(英国),1998年,第352巻,第9138号, p.
1426-1432

非特許文献6:「ヘパトロジー(Hepatology)」,(米国),2005年,第42巻, p. 248
A

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明者は、前記のような課題を解決するため、ウイルス性疾患、特ににはプラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスによる感染症の予防又は治療に有効な薬剤について鋭意研究した結果、 22β -メトキシオレアン-12-エン- 3β , $24(4\beta)$ -ジオールと、インターフェロンとを組み合わせる併用投与することにより、HCV増殖抑制効果が増強し、上記ウイルス性疾患の予防又は治療のための優れた治療剤となり得ることを見出し、本発明を完成するに至った。

課題を解決するための手段

[0010] すなわち、本発明は、

[1] 22β -メトキシオレアン-12-エン- 3β , $24(4\beta)$ -ジオールとインターフェロンとを有効成分として組み合わせたことを特徴とする、ウイルス性疾患の予防又は治療剤、

[2]前記ウイルス性疾患が、RNAウイルスによって引き起こされる疾患である、[1]に

記載の予防又は治療剤、

[3]前記RNAウイルスが、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスである、[2]に記載の予防又は治療剤、

[4]前記RNAウイルスがC型肝炎ウイルスである、[3]に記載の予防又は治療剤、[

5]前記ウイルス性疾患が、C型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌である、[1]に記載の予防又は治療剤、

[6]22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールとインターフェロンとを、ウイルス性疾患の予防又は治療が必要な対象に、有効量で投与することを含む、ウイルス性疾患を予防又は治療する方法、

[7]前記ウイルス性疾患が、RNAウイルスによって引き起こされる疾患である、[6]に記載の予防又は治療方法、

[8]前記RNAウイルスが、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスである、[7]に記載の予防又は治療方法、

[9]前記RNAウイルスがC型肝炎ウイルスである、[8]に記載の予防又は治療方法、

[10]前記ウイルス性疾患が、C型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌である、[6]に記載の予防又は治療方法、

[11]22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールとインターフェロンの、ウイルス性疾患の予防又は治療剤を製造するための使用、

[12]前記ウイルス性疾患が、RNAウイルスによって引き起こされる疾患である、[11]に記載の使用、

[13]前記RNAウイルスが、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスである、[12]に記載の使用、

[14]前記RNAウイルスがC型肝炎ウイルスである、[13]に記載の使用、

[15]前記ウイルス性疾患が、C型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌である、[11]に記載の使用
に関する。

発明の効果

[0011] 本発明の予防又は治療剤は、22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β

）ージオールと、インターフェロンとを組み合わせ併用投与することにより、ウイルス性疾患、好ましくはRNAウイルスによって引き起こされるウイルス性疾患、より好ましくはプラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスによって引き起こされるウイルス性疾患、特に好ましくはC型肝炎ウイルスにより発症するC型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌に対して高い予防又は治療効果を得ることができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1] 22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオール単独添加、IFN単独添加、22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールとIFNとの併用添加した、Ad-T7pol感染1日後のHCV増殖抑制効果を示すグラフである。

[図2] 22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオール単独添加、IFN単独添加、22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールとIFNとの併用添加した、Ad-T7pol感染2日後のHCV増殖抑制効果を示すグラフである。

[図3] 22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオール単独添加、IFN単独添加、22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールとIFNとの併用添加した、Ad-T7pol感染3日後のHCV増殖抑制効果を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

[0013] 本明細書において「ウイルス性疾患」とは、ウイルスによって引き起こされる疾患を意味し、前記ウイルスには、DNAウイルスとRNAウイルスとの両方が含まれる。DNAウイルスとしては、例えば、B型肝炎ウイルス、ポックスウイルス、ヘルペスウイルス、アデノウイルス、パルボウイルスを挙げることができる。RNAウイルスとしては、例えば、レオウイルス、トガウイルス、コロナウイルス、ラブドウイルス、パラミクソウイルス、オルトミクソウイルス、ブニヤウイルス、アレナウイルス、レトロウイルス、ピコナウイルス、カリシウイルスを挙げることができる。

[0014] 本発明の予防又は治療剤において、前記ウイルスとしては、RNAウイルスが好ましく、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つRNAウイルスがより好ましく、C型肝炎ウイルス

が特に好ましい。プラス鎖のRNAを遺伝情報に持つRNAウイルスとしては、例えば、ポリオウイルス、コクサッキーウイルス、エコーウイルス、エンテロウイルス、ライノウイルス、A型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、風疹ウイルス、東部馬脳炎ウイルス、西部馬脳炎ウイルス、黄熱ウイルス、デング熱ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、G型肝炎ウイルス、コロナウイルス、西ナイルウイルス、水胞性口内炎ウイルスを挙げることができる。

- [0015] プラス鎖のRNAを遺伝情報に持つRNAウイルスは共通の方法により増殖する。すなわち、ウイルスが細胞に感染後、細胞内にウイルスRNAが侵入する。侵入したウイルスRNAから、直接、ウイルスタンパク質が翻訳され、ウイルスRNAが複製するために必要なRNA依存的RNAポリメラーゼなどのタンパク質が作られる。これらの発現タンパク質により、侵入したRNAを鋳型として、ウイルスRNAが複製される。複製されたウイルスRNAは、自ら作ったタンパク質に取り込まれ、ウイルスとなって細胞外に放出される(以上、特開2005-35913号公報参照)。
- [0016] 一方、インターフェロンの抗ウイルス作用機序について、例えば、特開2005-35913号公報には、以下の機構が提案されている。すなわち、インターフェロンが細胞表面上の受容体に結合した後、細胞内に抗ウイルス作用を示すタンパク質が誘導される。例えば、インターフェロンにより誘導された2'-5'アデニル酸合成酵素により、オリゴ2'-5'アデニル酸が作られる。これが、RNA依存的RNAアーゼを活性化し、活性化したRNA依存的RNAアーゼによりウイルスRNAが分解され、その結果、インターフェロンが抗ウイルス作用を示すと考えられている。以上の作用機序から、プラス鎖のRNAを遺伝情報に持つRNAウイルスに対して、本発明の予防又は治療剤は十分に効果を示すと考えられる。
- [0017] 前記ウイルス性疾患の内、肝炎ウイルス[例えば、B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)]によって引き起こされる疾患としては、例えば、急性又は慢性ウイルス性肝炎(例えば、B型肝炎、C型肝炎)の肝障害等を挙げることができ、好ましくはC型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌である。B型肝炎とは、HBV感染により発症した肝炎をいい、C型肝炎とは、HCV感染により発症した肝炎をいう。慢性肝炎とは、6ヶ月以上肝臓に炎症が持続あるいは持続していると思われる

病態をいう。肝障害とは、肝臓の炎症性疾患を意味し、症状の進行によっては脂肪肝、肝硬変、肝細胞癌をも含む概念として用いることとする。

- [0018] 本発明の予防又は治療剤の有効成分として用いることのできる 22β -メトキシオレアン-12-エン- 3β , $24(4\beta)$ -ジオールは公知化合物であり、例えば、WO97/03088号公報の実施例22(化合物27)に記載の方法により得ることができる。
- [0019] 22β -メトキシオレアン-12-エン- 3β , $24(4\beta)$ -ジオールは、通常、例えば、カプセル剤、マイクロカプセル剤、錠剤、顆粒剤、細粒剤、粉末等、慣用の医薬製剤の形で経口投与することができる。また、静注、筋注等の注射剤等、慣用の医薬製剤の形で非経口(例えば、静注、筋注、皮下投与、腹腔内投与、直腸投与、経皮投与)投与することもできる。各種製剤は、通常用いられている賦形剤、増量剤、結合剤、湿潤化剤、崩壊剤、表面活性剤、滑沢剤、分散剤、緩衝剤、保存剤、溶解補助剤、防腐剤、矯味矯臭剤、無痛化剤、安定化剤などを用いて常法により製造することができる。使用可能な無毒性の上記添加剤としては、例えば、乳糖、果糖、ブドウ糖、でん粉、ゼラチン、炭酸マグネシウム、合成ケイ酸マグネシウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース又はその塩、アラビアゴム、ポリエチレングリコール、シロップ、ワセリン、グゼリン、エタノール、プロピレングリコール、クエン酸、塩化ナトリウム、亜硫酸ソーダ、リン酸ナトリウムなどが挙げられる。
- [0020] 本発明の予防又は治療剤における 22β -メトキシオレアン-12-エン- 3β , $24(4\beta)$ -ジオールの剤形、投与方法、投与量、投与期間等は、例えば、患者の体重、年齢、症状の程度等によって適宜設定することができる。また、インターフェロンとの併用により抗ウイルス作用が増強する範囲内であれば特に制限はない。例えば、1日1~1000mgを1回あるいは複数回に分けて、経口又は非経口投与される。好ましくは1日25~800mgを2回に分けて経口又は非経口投与する。
- [0021] 本発明の予防又は治療剤の有効成分として用いるインターフェロン(IFN)は、特に限定されない。例えば、市販又は臨床開発中の任意のIFNとしては、天然型IFN α (スミフェロン:大日本住友製薬社製)、IFN α -2a、IFN α -2b(イントロンA:シエリング・プラウ社製)、ポリエチレングリコール(PEG)化天然型IFN α 、PEG化IFN α

ー2a(ペガシス:中外製薬社製)、PEG化IFN α ー2b(PEGーイントロンA)、天然型IFN β (IFN β モチダ:持田製薬社製、フェロン:東レ社製)、PEG化天然型IFN β 、天然型IFN γ 、コンセンサスIFN(アドバフェロン:アステラス製薬社製)、若しくはPEG化コンセンサスIFN、又はこれらの組み合わせ等が挙げられる。

[0022] 本発明の予防又は治療剤におけるIFNの投与量、投与期間、投与スケジュール、投与経路等は、上記ウイルス性疾患の予防又は治療に有効であれば、特に制限はない。例えばC型肝炎においては、通常、1日10万～1000万国単位を1日1回あるいは複数回に分けて、2週～48週、連日又は週3回程度の間歇投与により、皮下、筋肉内あるいは静脈内に投与されるが、ウイルスの型やウイルス量、患者の体重、年齢等によって適宜変更することができる。好ましくは、1日600～1000万単位を、2週～8週連日投与後、22週～46週間歇投与するが、投与するIFNの種類や剤形によって適宜変更することができる。

[0023] 更に、22 β ーメトキシオレアンー12ーエンー3 β , 24(4 β)ージオールと、インターフェロンとの組み合わせ比率(使用比率あるいは配合比率)は、上記ウイルス性疾患の予防又は治療に有効であれば、特に制限はない。例えば、C型肝炎においては、通常、1日1mg:10万国単位～1000mg:1000万国単位の範囲内から適宜決められるが、1日25mg:100万国単位～800mg:1000万国単位の範囲が好ましい。本発明の予防又は治療剤は、22 β ーメトキシオレアンー12ーエンー3 β , 24(4 β)ージオールと、インターフェロンとを併用投与するものであるが、「併用」とは、それぞれの単独製剤の形態で同時に又は時間差をおいて投与すること等を包含し、各成分の投与回数は同じであっても、異なってもよい。

22 β ーメトキシオレアンー12ーエンー3 β , 24(4 β)ージオールとインターフェロン各々の適切な投与量や投与間隔を設定するにあたっては、制御された臨床試験により決定され得る。

[0024] 本発明の予防又は治療剤は、上記した2種の有効成分を1つの組成物中に含む1剤系の薬剤であってもよいし、2種の有効成分を別々の組成物中に含む2剤系の薬剤であってもよい。

実施例

- [0025] 以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。
- [0026] 《実施例1: 22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールとインターフェロンとの併用によるHCV増殖抑制効果の確認》
- 本実施例では、非特許文献6に記載の全ゲノムHCV複製モデル(full-genome HCV replication model)を用いて、本発明の予防又は治療剤の評価を実施した。
- [0027] すなわち、感染性を有し、インターフェロン治療に難治性を示す遺伝子型1aのC型肝炎ウイルス(HCV) H77株[GenBank AF011751; Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U., Bukh, J. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94(16), 8738-8743(1997)]の全長クローンから作成されたcDNAの5'側にT7プロモーターを、3'側にデルタ肝炎ウイルスのリボザイム遺伝子を持つプラスミド(pT7-flHCV-Rz)を作成した。このプラスミドpT7-flHCV-Rzを、6ウェルプレートに播種したHepG2細胞(資源番号: JCRB1054)にトランスフェクション(3μg/ウェル)し、その24時間後に、T7ポリメラーゼを発現する組換えアデノウイルス(Ad-T7pol)を感染(10プラーク形成単位/細胞)させることにより、HCV遺伝子を宿主細胞に発現させた。この複製モデルでは、その結果、HCV遺伝子(プラス鎖)と全く相同なRNAが細胞に作成される。このHCVプラス鎖は、RNA依存性RNAポリメラーゼ作用を持つNS5Bタンパク質を発現し、その結果、HCVマイナス鎖が発現し、HCVの細胞内増殖が観察される。
- [0028] Ad-T7pol感染3時間後に、22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオール及び/又はIFN-α2b(イントロンA: シェリング・プラウ社製)を各々単独あるいは併用添加し、HCV増殖抑制効果を検討した。22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールは最終濃度0.1μmol/L、IFN-α2bは最終濃度100IU/mLとなるように培養液(2mL)に添加した。培養液交換(交換後の培養液にも、前記濃度の各評価用化合物を添加)はAd-T7pol感染1日後に実施した。なお、コントロールの培養液には、22β-メトキシオレアン-12-エン-3β, 24(4β)-ジオールの溶解に用いたジメチルスルホキシド(DMSO)のみを最終濃度0.1%となるように添加した。なお、本試験は細胞毒性のない濃度範囲で実施さ

れた。

[0029] Ad-T7pol感染1、2、3日後に、それぞれ、細胞を回収し、RNAを抽出した。HCV RNAの発現はrTth DNAポリメラーゼを用いて、宿主細胞側のハウスキーピング遺伝子であるグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素(GAPDH)mRNAはMuLV逆転写酵素を用いて逆転写反応を行った後、リアルタイムPCR(Light Cycler:Roche Diagnostics社製)で定量した。なお、リアルタイムPCR用のプライマーとして、HCV RNAについては、

センスプライマー:

5'-GCA GAA AGC GTC TAG CCA TGG CGT-3' (配列番号1:5'UTRの68-91nt)

アンチセンスプライマー:

5'-CTC GCA AGC ACC CTA TCA GGC AGT-3' (配列番号2:5'UTRの311-288nt)

を使用し、GAPDHについては、市販キット(Human GAPDH primer set:Search LC社)を使用した。

[0030] 結果を図1～図3に示す。図1～図3において、レーン1はコントロールの結果であり、レーン2は、22 β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオール単独添加(0.1 μ mol/L)の結果であり、レーン3は、IFN単独添加(100IU/mL)の結果であり、レーン4は、22 β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールとIFNとの併用添加の結果である。

この結果、22 β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールとIFNとを併用添加した場合、HCV増殖抑制効果は各々の単独添加に比較して有意に相乗的な増強が確認された。

産業上の利用可能性

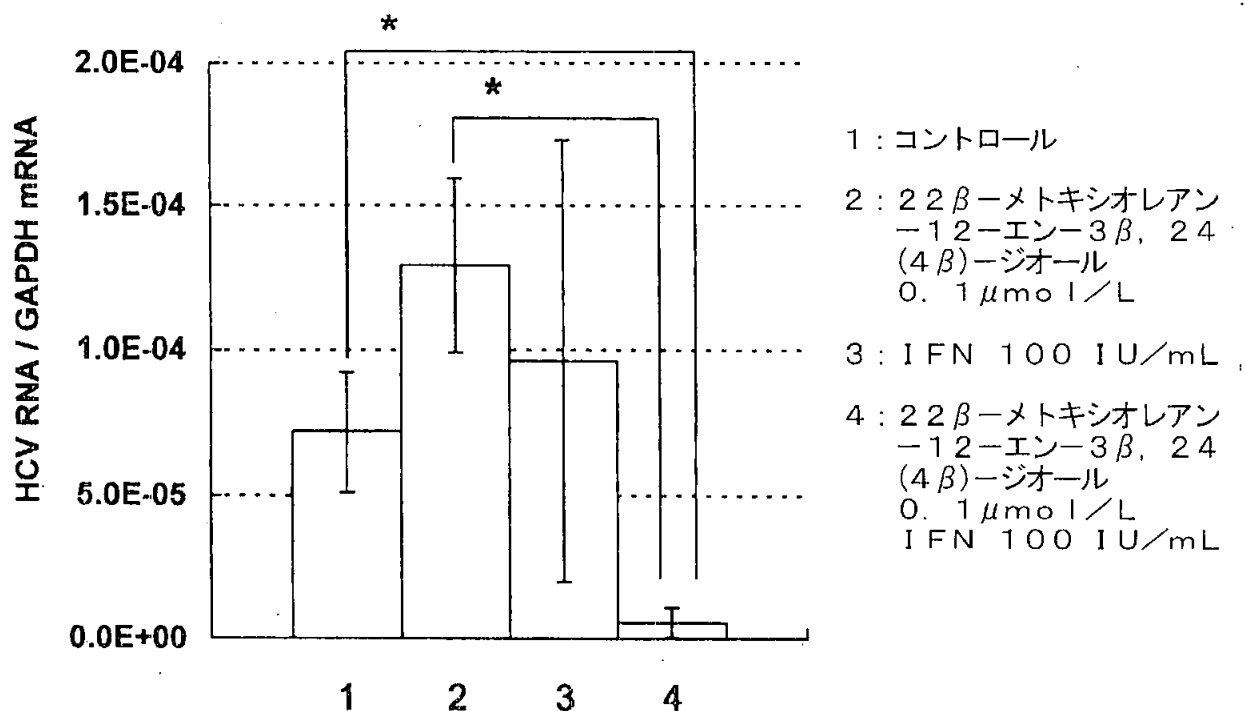
[0031] 本発明によれば、22 β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールと、インターフェロンとを組み合わせることを特徴とする、ウイルス性疾患の予防又は治療剤、好ましくは、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスによる感染症、特にC型肝炎ウイルスにより発症するC型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌に有効な薬剤を提供することができる。

請求の範囲

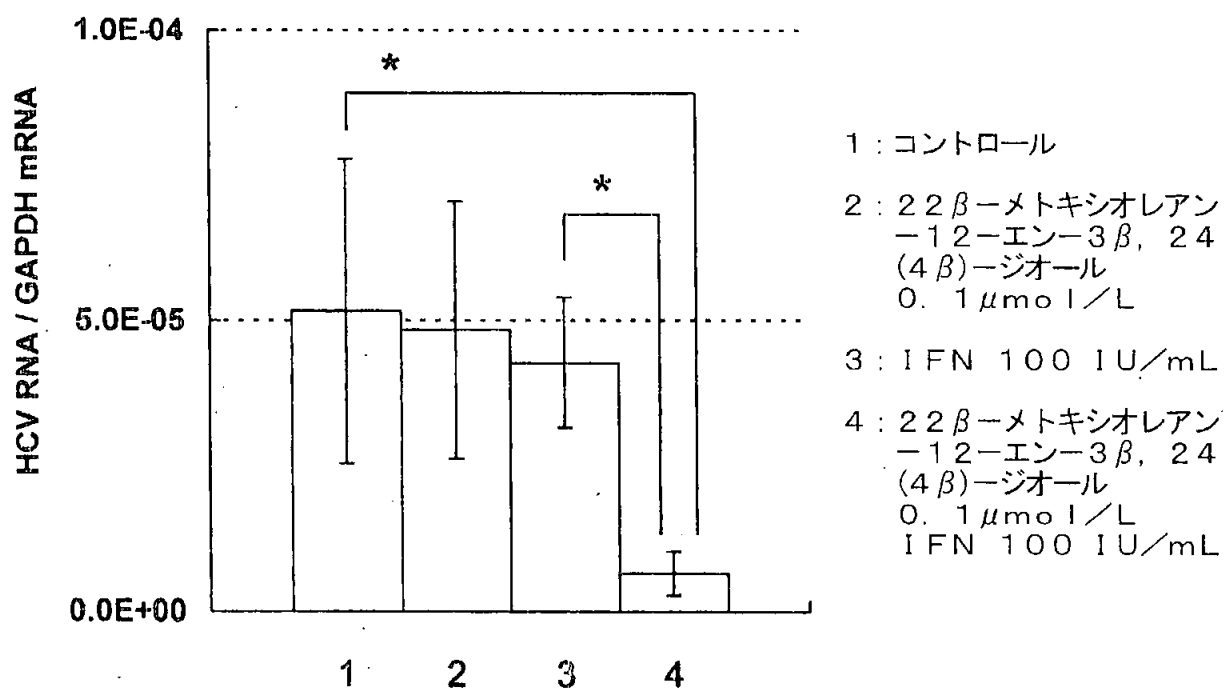
- [1] 22β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールとインターフェロンとを有効成分として組み合わせたことを特徴とする、ウイルス性疾患の予防又は治療剤。
- [2] 前記ウイルス性疾患が、RNAウイルスによって引き起こされる疾患である、請求項1に記載の予防又は治療剤。
- [3] 前記RNAウイルスが、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスである、請求項2に記載の予防又は治療剤。
- [4] 前記RNAウイルスがC型肝炎ウイルスである、請求項3に記載の予防又は治療剤。
- [5] 前記ウイルス性疾患が、C型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌である、請求項1に記載の予防又は治療剤。
- [6] 22β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールとインターフェロンとを、ウイルス性疾患の予防又は治療が必要な対象に、有効量で投与することを含む、ウイルス性疾患を予防又は治療する方法。
- [7] 前記ウイルス性疾患が、RNAウイルスによって引き起こされる疾患である、請求項6に記載の予防又は治療方法。
- [8] 前記RNAウイルスが、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスである、請求項7に記載の予防又は治療方法。
- [9] 前記RNAウイルスがC型肝炎ウイルスである、請求項8に記載の予防又は治療方法。
- [10] 前記ウイルス性疾患が、C型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌である、請求項6に記載の予防又は治療方法。
- [11] 22β -メトキシオレアン-12-エン-3 β , 24(4 β)-ジオールとインターフェロンの、ウイルス性疾患の予防又は治療剤を製造するための使用。
- [12] 前記ウイルス性疾患が、RNAウイルスによって引き起こされる疾患である、請求項11に記載の使用。
- [13] 前記RNAウイルスが、プラス鎖RNAを遺伝情報に持つウイルスである、請求項12に記載の使用。

- [14] 前記RNAウイルスがC型肝炎ウイルスである、請求項13に記載の使用。
- [15] 前記ウイルス性疾患が、C型肝炎、又はC型肝炎に起因する肝硬変若しくは肝癌である、請求項11に記載の使用。

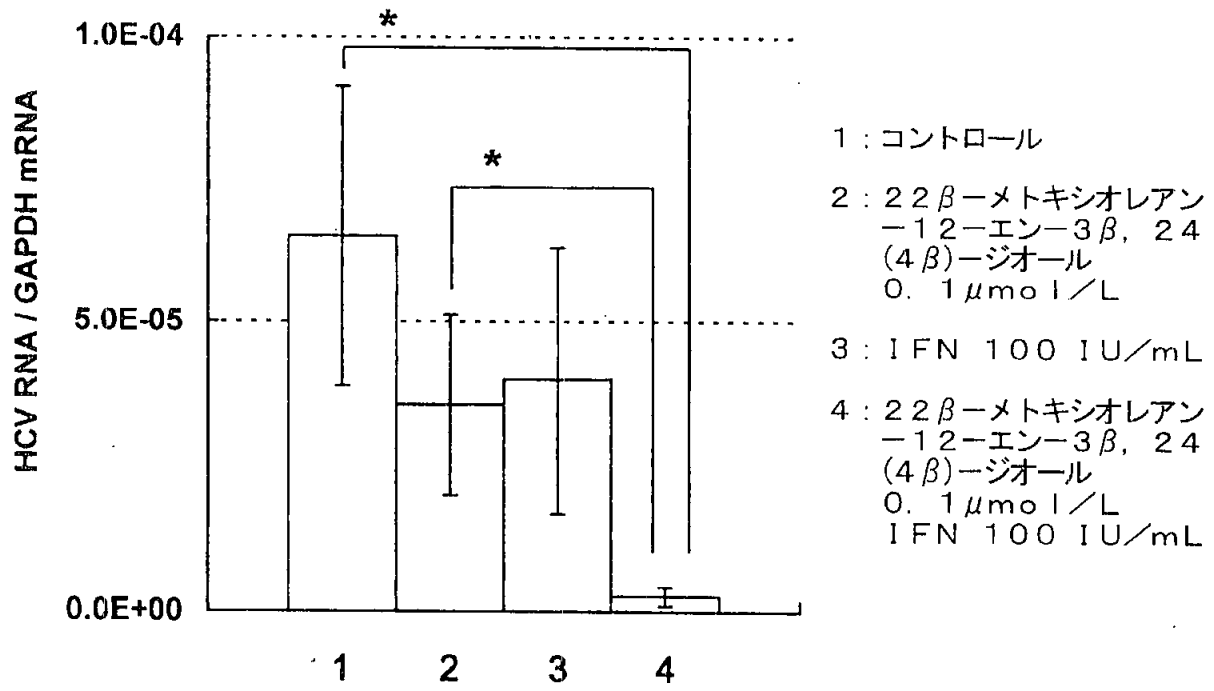
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/063545

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K38/21(2006.01)i, A61K31/56(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P31/12(2006.01)i, A61P31/14(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P43/00(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)

A61K38/21, A61K31/56, A61P1/16, A61P31/12, A61P31/14, A61P35/00, A61P43/00

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)

BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (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	HIASA, Y. et al, ME3738 effectively reduces HCV replication in a binary replication model, Hepatology, 2005, Vol.42, No.4, p.248A, full text, particularly, Results, Conclusions	1-5, 11-16.
Y	Edited by Japan Pharmaceutical Information Center, Iryoyaku Nippon Iyakuhinshu (edition of the year 2004), Jiho, Inc., 25 October, 2004 (25.10.04), pages 319 to 323, full text, particularly, the paragraph of "Adaptation" on pages 319 to 320	1-5, 11-16
Y	Hiromitsu KUMADA, separate volume "Igaku no Ayumi, "Virus-sei Kan'en no Genkyo to Tenbo", Ishiyaku Pub., Inc., 25 July, 2003 (25.07.03), pages 76 to 80, full text	1-5, 11-16

☐ 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
02 August, 2007 (02.08.07)

Date of mailing of the international search report
14 August, 2007 (14.08.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/063545

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:

- ☒ Claims Nos.: 6 - 10
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 6 to 10 pertain to "methods for treatment of the human body by therapy" and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of the PCT Rule 39.1(iv), to search.
- ☐ 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:
- ☐ 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:

- ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
- ☐ 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.:
- ☐ 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.

DESCRIPTION

PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC AGENT FOR VIRAL DISEASE

TECHNICAL FIELD

[0001]

The present invention relates to a prophylactic or therapeutic agent for a viral disease, characterized by combining 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with an interferon.

BACKGROUND ART

[0002]

In Japan, an estimated 1.5-2.0 million people are persistently infected with hepatitis C virus (HCV), and it is assumed that most carriers show the symptoms of chronic hepatitis (see non-patent reference 1). With respect to hepatitis B, there are many cases where the infection does not cause chronic hepatitis, but directly develops liver cancer. By contrast, 80 to 90% of HCV-infected persons develop chronic liver disease based on observations of liver tissue, and there is a possibility that 50 to 60% of HCV-infected persons develop cirrhosis or hepatocellular carcinoma via chronic hepatitis (see non-patent reference 2). HCV infection has become a major clinical problem worldwide.

[0003]

Interferons (IFNs) are a highly-homologous and species-specific protein family that regulates the immune response by inhibiting viral replication and cell proliferation, and it is known that there are four classes of interferons in humans (non-patent reference 3).

Interferons are applied to various viral diseases on the basis of the antiviral effects thereof. In particular, for the treatment of chronic hepatitis C that is caused by the infection of HCV, a virus having a positive-stranded RNA genome, IFNs are widely used to eliminate HCV. However, it is known that IFNs have low therapeutic effects for patients infected with HCV genotype 1b or having a high viral load (1

Meq or higher) (see non-patent references 4 and 5). This genotype and high viral load are factors that affect the therapeutic effects of IFN, and such patients account for 70% or more of those with chronic hepatitis C in Japan. In addition, side effects such as fever, weakness, and psychiatric disorders are frequently observed.

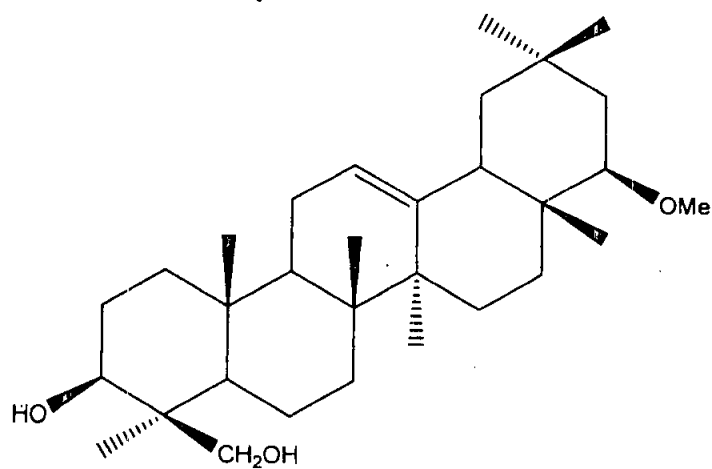
[0004]

As conventional treatments for a patient infected with genotype 1b and having a high viral load, a combination therapy of ribavirin with IFN, and a combination therapy of ribavirin with PEG-interferon α -2a (PEG-IFN α -2a) or PEG-interferon α -2b (PEG-IFN α -2b) are known. These therapeutic effects (complete response rate) are not enough. Even the most effective combination therapy of ribavirin with PEG-IFN at present shows a complete response rate of, at most, approximately 50%. Further, compared to a treatment with IFN alone, side effects such as reductions of hemoglobin, erythrocytes, and leukocytes are frequently observed in the IFN/ribavirin therapy. When PEG-IFN α -2a is used, influenza-like symptoms are milder than those caused by IFN, but skin reactions and reductions of lymphocytes, platelets, and erythrocytes are more frequently observed. In the combination therapy of ribavirin with PEG-IFN α -2b, disorders at the injection site frequently occur, recovery of laboratory test values for adverse effects on hematology slows slightly and, in elderly patients, the frequencies of highly abnormal laboratory test values and dose reduction tend to become high. Under these circumstances, the development of treatments effective for a case where sufficient effects are not obtained by IFN treatment, a case where effectiveness by IFN administration is not expected due to genotype 1b or a high viral load, a case of an elderly patient, a case where the infection develops cirrhosis, and the like, is desired.

[0005]

22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol is a compound having the following structure, and is known to have an inhibitory effect on hepatocyte disorder (see patent references 1 and 2).

[0006]



[0007]

Further, it was reported that 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol had an anti-HCV effect (see non-patent reference 6), and this compound is expected to be developed as a therapeutic agent for viral liver diseases. However, effects obtained by combining this compound with other drugs have not been studied.

[0008]

[patent reference 1] International Publication WO97/03088

[patent reference 2] Japanese Patent No. 3279574

[non-patent reference 1] The Japan Society of Hepatology, ed., "Mansei kanen no chiryo gaido (Guidelines of treatment for chronic hepatitis)", BUNKODO Co., Ltd., 2006, p.21

[non-patent reference 2] Shiro IINO, "The guideline of treatment for hepatitis C", Nippon Rinsho, 2004, vol.62, suppl.7, p.342-346

[non-patent reference 3] Annual Review of Biochemistry, U.S.A., 1987, vol.56, p.727-777

[non-patent reference 4] Shiro IINO, "Akiraka ni natta interferon no kouka to genkai (Revealed effects and limit of interferon)", Naika, 1999, vol.84, no.2, p.285-291

[non-patent reference 5] Lancet, United Kingdom, 1998, vol.352, no.9138, p.1426-1432

[non-patent reference 6] Hepatology, U.S.A., 2005, vol.42, p.248A

DISCLOSURE OF THE INVENTION

PROBLEMS TO BE SOLVED BY THE INVENTION

[0009]

To solve the above problems, the present inventors have conducted intensive studies of agents effective for preventing or treating viral diseases, particularly infectious diseases due to a virus having a positive-stranded RNA genome, and, as a result, found that a combination of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with interferon enhanced an inhibitory effect on HCV replication, and might be a useful drug for preventing or treating the viral diseases, and completed the present invention.

MEANS FOR SOLVING THE PROBLEMS

*[0010]

The present invention relates to

- [1] a prophylactic or therapeutic agent for a viral disease, characterized by combining 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with an interferon as active ingredients;
- [2] the prophylactic or therapeutic agent of [1], wherein the viral disease is caused by an RNA virus;
- [3] the prophylactic or therapeutic agent of [2], wherein the RNA virus has a positive-stranded RNA genome;
- [4] the prophylactic or therapeutic agent of [3], wherein the RNA virus is hepatitis C virus;
- [5] the prophylactic or therapeutic agent of [1], wherein the viral disease is hepatitis C, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C.
- [6] a method of preventing or treating a viral disease, comprising administering to a subject in need thereof 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon in an amount effective therefor;
- [7] the method of [6], wherein the viral disease is caused by an RNA virus;
- [8] the method of [7], wherein the RNA virus has a positive-stranded RNA genome;
- [9] the method of [8], wherein the RNA virus is hepatitis C virus;
- [10] the method of [6], wherein the viral disease is hepatitis C, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C;

- [11] a use of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon in the manufacture of a prophylactic or therapeutic agent for a viral disease;
- [12] the use of [11], wherein the viral disease is caused by an RNA virus;
- [13] the use of [12], wherein the RNA virus has a positive-stranded RNA genome;
- [14] the use of [13], wherein the RNA virus is hepatitis C virus; and
- [15] the use of [11], wherein the viral disease is hepatitis C, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C.

EFFECTS OF THE INVENTION

[0011]

The prophylactic or therapeutic agent of the present invention exhibits high prophylactic or therapeutic effects on viral diseases, preferably viral diseases caused by an RNA virus, more preferably viral diseases caused by a virus having a positive-stranded RNA genome, most preferably hepatitis C caused by hepatitis C virus, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C, by administering 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon in combination thereof.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0012]

Figure 1 is a graph showing inhibitory effects of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol alone, IFN alone, and a combination of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with IFN, on HCV replication at day 1 after Ad-T7pol infection.

Figure 2 is a graph showing inhibitory effects of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol alone, IFN alone, and a combination of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with IFN, on HCV replication at day 2 after Ad-T7pol infection.

Figure 3 is a graph showing inhibitory effects of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol alone, IFN alone, and a combination of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with IFN, on HCV replication at day 3 after Ad-T7pol infection.

BEST MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION

[0013]

The term "viral diseases" means diseases caused by a virus. Viruses which cause the diseases include DNA viruses and RNA viruses. DNA viruses may be exemplified by hepatitis B virus, poxvirus, herpes virus, adenovirus, and parvovirus. RNA viruses may be exemplified by reovirus, togavirus, coronavirus, rhabdovirus, paramyxovirus, orthomyxovirus, bunyavirus, arenavirus, retrovirus, picornavirus, and calicivirus.

[0014]

As the viruses in the prophylactic or therapeutic agent of the present invention, RNA viruses are preferable, RNA viruses having a positive-stranded RNA genome are more preferable, and hepatitis C virus is most preferable. RNA viruses having a positive-stranded RNA genome may be exemplified by poliovirus, coxsackievirus, echovirus, enterovirus, rhinovirus, hepatitis A virus, hepatitis E virus, rubella virus, Eastern equine encephalitis virus, Western equine encephalitis virus, yellow fever virus, dengue fever virus, St. Louis encephalitis virus, Hepatitis C virus, hepatitis G virus, coronavirus, West Nile virus, and vesicular stomatitis virus.

[0015]

The RNA viruses having a positive-stranded RNA genome replicate in a common fashion. That is, cells are infected with a virus, and the viral RNA enters the cells. The entered viral RNA is directly translated to viral proteins, such as RNA-dependent RNA polymerase necessary to replicate viral RNA. These translated proteins replicate viral RNA by using the entered viral RNA as a template. The replicated viral RNA is incorporated into self-produced proteins, and the resulting viruses are released to the outside of the cells (see JP 2005-35913 A).

[0016]

An anti-viral action mechanism of interferon is proposed in, for example, JP 2005-35913 A, as follows: interferon binds to a receptor on the surface of a cell, and

then, a protein having anti-viral effects is induced in the cell. For example, oligo-2'-5'-adenylate is generated by the action of 2'-5'-adenylate synthetase induced by interferon. It is considered that oligo-2'-5'-adenylate activates RNA-dependent RNAase, the activated RNA-dependent RNAase degrades the viral RNA, and as a result, interferon exhibits anti-viral effects. According to the above action mechanism, it is considered that the prophylactic or therapeutic agent of the present invention is effective for RNA viruses having a positive-stranded RNA genome.

[0017]

In the viral diseases, examples of diseases caused by hepatitis viruses [such as hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV)] include liver disorders and the like of acute or chronic viral hepatitis (such as hepatitis B and hepatitis C), preferably hepatitis C, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C. Hepatitis B is defined as hepatitis caused by HBV infection, and Hepatitis C is defined as hepatitis caused by HCV infection. Chronic hepatitis is defined as a clinical condition where inflammation in the liver persists, or appears to persist, for 6 months or more. Liver disorders are defined as inflammatory diseases in the liver, and may be used as a concept including fatty liver, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma according to the progression of symptoms.

[0018]

22 β -Methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol, which may be used as one of the active ingredients for the prophylactic or therapeutic agent of the present invention, is a known compound, and can be obtained by, for example, the method described in Example 22 (Compound 27) of WO97/03088.

[0019]

In general, 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol may be orally administered as a conventional pharmaceutical formulation, such as capsules, microcapsules, tablets, granules, fine granules, powders, and the like. Further, it may be parenterally administered (for example, intravenous injection, intramuscular injection, subcutaneous administration, intraperitoneal administration, rectal

administration, percutaneous administration) as a conventional pharmaceutical formulation, such as injections (intravenous, intramuscular, and the like) and the like. These formulations can be prepared by a conventional method using an excipient, a filler, a binder, a wetting agent, a disintegrating agent, a surfactant, a lubricant, a dispersing agent, a buffer, a preservative, a solubilizer, an antiseptic, a flavor, a soothing agent, a stabilizer, and the like. Examples of the above additives which are nontoxic and suitable for the preparations include lactose, fructose, glucose, starch, gelatin, magnesium carbonate, synthetic magnesium silicate, talc, magnesium stearate, methylcellulose, carboxymethylcellulose or a salt thereof, gum arabic, polyethylene glycol, syrup, vaseline, glycerin, ethanol, propylene glycol, citric acid, sodium chloride, sodium sulfite, sodium phosphate, and the like.

[0020]

In the prophylactic or therapeutic agent of the present invention, the form, the route of administration, the dose, the period of administration, and the like of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol may be appropriately selected in accordance with, for example, the weight, the age, the symptoms, and the like of a patient. Further, these are not particularly limited, so long as the antiviral effect of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol is enhanced when combined with interferon. For example, a daily dose of 1 to 1000 mg is orally or parenterally administered as a single dose or plural divided doses. Preferably, a daily dose of 25 to 800 mg is divided into two doses, which are orally or parenterally administered.

[0021]

An interferon (IFN), which may be used as the other active ingredient for the prophylactic or therapeutic agent of the present invention, is not limited. Commercially available IFNs or IFNs under clinical development include, for example, natural IFN α (Sumiferon: Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.), IFN α -2a, IFN α -2b (Intron A: Schering-Plough), polyethylene glycol (PEG)-natural IFN α , PEG-IFN α -2a (Pegasys: Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), PEG-IFN α -2b

(PEG-Intron A), natural IFN β (IFN β Mochida: Mochida Pharmaceutical Co., Ltd., and Feron: Toray Industries, Inc.), PEG-natural IFN β , natural IFN γ , consensus IFN (Advaferon: Astellas Pharma Inc.), PEG-consensus IFN, combinations thereof, and the like.

[0022]

In the prophylactic or therapeutic agent of the present invention, the dose, duration, schedule, route, and the like for the administration of IFN are not particularly limited, so long as it is effective in the prevention or treatment of the viral diseases. For example, with respect to hepatitis C, a daily dose of 100,000 to 10,000,000 I.U. is subcutaneously, intramuscularly, or intravenously administered as a single dose or plural divided doses continuously or intermittently (such as three times per week) for 2 to 48 weeks, in general, but this administration can be appropriately modified in accordance with the type or amount of a virus, the weight or age of a patient, and the like. Preferably, a daily dose of 6,000,000 to 10,000,000 I.U. is administered continuously for 2 to 8 weeks followed by intermittent administration for 22 to 46 weeks, but this schedule can be appropriately modified in accordance with the type or form of IFN to be used.

[0023]

The combination ratio (usage ratio or composition ratio) of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon is not particularly limited, so long as it is effective in the prevention or treatment of the viral diseases. For example, with respect to hepatitis C, the combination ratio can be appropriately selected from 1 mg:100,000 I.U. to 1000 mg:10,000,000 I.U., preferably 25 mg:1,000,000 I.U. to 800 mg:10,000,000 I.U., as a daily dose.

In the prophylactic or therapeutic agent of the present invention, 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon are administered in combination. The term "administration in combination" includes an embodiment in which a single preparation of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and another single preparation of interferon

are administered simultaneously or with an interval. In this embodiment, the number of administrations of one preparation may be the same as, or different from that of another preparation.

Appropriate doses and intervals of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon can be selected in accordance with a controlled clinical trial.

[0024]

The prophylactic or therapeutic agent of the present invention may be one dosage form comprising the two active ingredients in a composition, or two dosage forms separately comprising the two active ingredients in different compositions.

EXAMPLES

[0025]

The present invention now will be further illustrated by, but is by no means limited to, the following Example.

[0026]

Example 1: Confirmation of inhibitory effect of combination of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon on HCV replication

In this example, a full-genome HCV replication model as described in non-patent reference 6 was used to evaluate the prophylactic or therapeutic agent of the present invention.

[0027]

A cDNA was obtained from a full-length clone of infectious hepatitis C virus (HCV) H77 [GenBank AF011751; Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U., Bukh, J. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94(16), 8738-8743(1997)] of genotype 1a which was refractory to treatment with interferon, and was adapted to prepare a plasmid (pT7-flHCV-Rz) containing the cDNA with a T7 promoter and a hepatitis delta virus ribozyme gene at the 5' and 3' termini thereof, respectively. HepG2 cells (resource number: JCRB1054) inoculated on 6-well plates were transfected with plasmid pT7-flHCV-Rz (3 μ g/well). After 24 hours from the transfection, the HepG2 cells were infected with a recombinant adenovirus expressing T7 polymerase (Ad-T7pol)

(10 PFU/cell) to express the HCV gene in the host cells. In this replication model, RNA completely homologous to the HCV gene (positive strand) is transcribed in the cells. This HCV positive strand is translated to a NS5B protein having an RNA-dependent RNA polymerase activity. As a result, an HCV negative strand is transcribed, and the intracellular replication of HCV is observed.

[0028]

After 3 hours from the Ad-T7pol infection, 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and/or IFN- α 2b (Intron A: Schering-Plough) were added to the cells, alone or in combination, to examine inhibitory effects thereof on HCV replication. 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and IFN- α 2b were added to each culture medium (2 mL) at final concentrations of 0.1 μ mol/L and 100 IU/mL, respectively. Culture media were exchanged after 1 day from the Ad-T7pol infection, for new culture liquids containing the above test compound(s) at the same concentration(s). As a control, dimethyl sulfoxide (DMSO), which was used as a solvent for 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol, was added alone to the culture medium at a final concentration of 0.1%. This experiment was carried out under conditions where the cytotoxicity of each test compound was not observed.

[0029]

Cells were collected at day 1, day 2, and day 3 after the Ad-T7pol infection, and RNAs were extracted from the cells. The expression of HCV RNA was quantified by performing reverse-transcription using rTth DNA polymerase followed by real-time PCR (Light Cycler: Roche Diagnostics). The expression of mRNA of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), which was a housekeeping gene of the host cell, was quantified by performing reverse-transcription using MuLV reverse-transcriptase followed by real-time PCR. As primers for real-time PCR,

Sense primer:

5'-GCA GAA AGC GTC TAG CCA TGG CGT-3' (SEQ ID NO.: 1, 68-91 nt of 5'UTR), and

Antisense primer:

(12)

5'-CTC GCA AGC ACC CTA TCA GGC AGT-3' (SEQ ID NO.: 2, 311-288 nt of 5'UTR)

were used for HCV RNA, and a commercially available kit (Human GAPDH primer set: Search LC) was used for GAPDH. [0030]

The results are shown in Figures 1 to 3. In Figures 1 to 3, lane 1 is the result of the control, lane 2 is the result of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol (0.1 μ mol/L) alone, lane 3 is the result of IFN (100 IU/mL) alone, and lane 4 is the result of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and IFN in combination.

As a result, it was confirmed that the inhibitory effect on HCV replication was synergistically enhanced when 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol was combined with IFN, significantly, compared to single administration of each compound.

INDUSTRIAL APPLICABILITY

[0031]

According to the present invention, a prophylactic or therapeutic agent for a viral disease (preferably an agent effective for infection with a virus having a positive-stranded RNA genome, more preferably an agent effective for hepatitis C caused by hepatitis C virus, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C), characterized by combining 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with an interferon, can be provided.

Although the present invention has been described with reference to specific embodiments, various changes and modifications obvious to those skilled in the art are possible without departing from the scope of the appended claims.

CLAIMS

1. A prophylactic or therapeutic agent for a viral disease, characterized by combining 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with an interferon as active ingredients.
2. The prophylactic or therapeutic agent according to claim 1, wherein the viral disease is caused by an RNA virus.
3. The prophylactic or therapeutic agent according to claim 2, wherein the RNA virus has a positive-stranded RNA genome.
4. The prophylactic or therapeutic agent according to claim 3, wherein the RNA virus is hepatitis C virus.
5. The prophylactic or therapeutic agent according to claim 1, wherein the viral disease is hepatitis C, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C.
6. A method of preventing or treating a viral disease, comprising administering to a subject in need thereof 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon in an amount effective therefor.
7. The method according to claim 6, wherein the viral disease is caused by an RNA virus.
8. The method according to claim 7, wherein the RNA virus has a positive-stranded RNA genome.
9. The method according to claim 8, wherein the RNA virus is hepatitis C virus.
10. The method according to claim 6, wherein the viral disease is hepatitis C, or cirrhosis or hepatocellular carcinoma caused by hepatitis C.
11. Use of 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon in the manufacture of a prophylactic or therapeutic agent for a viral disease.
12. The use according to claim 11, wherein the viral disease is caused by an RNA virus.
13. The use according to claim 12, wherein the RNA virus has a positive-stranded RNA genome.
14. The use according to claim 13, wherein the RNA virus is hepatitis C virus.

ABSTRACT

A prophylactic or therapeutic agent for a viral disease, characterized by combining 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol with an interferon as active ingredients is disclosed. The prophylactic or therapeutic agent of the present invention exhibits a high therapeutic effect by administering 22 β -methoxyolean-12-ene-3 β ,24(4 β)-diol and interferon as a combination thereof.

Figure 1

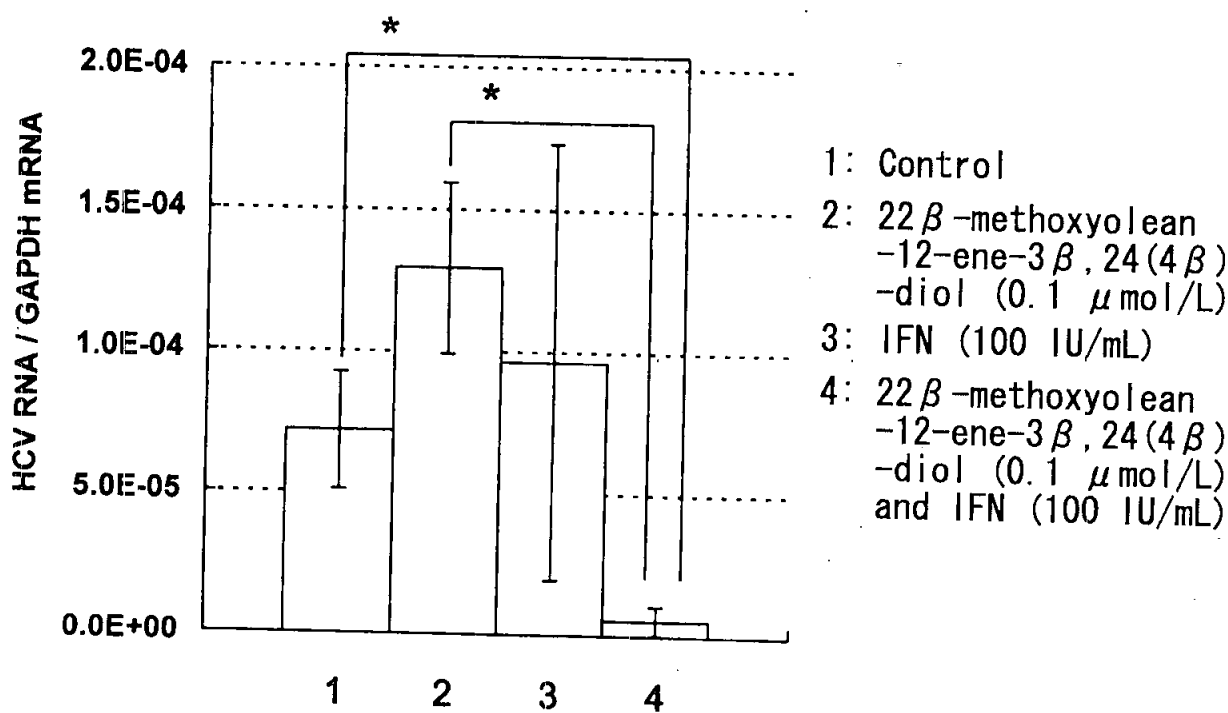


Figure 2

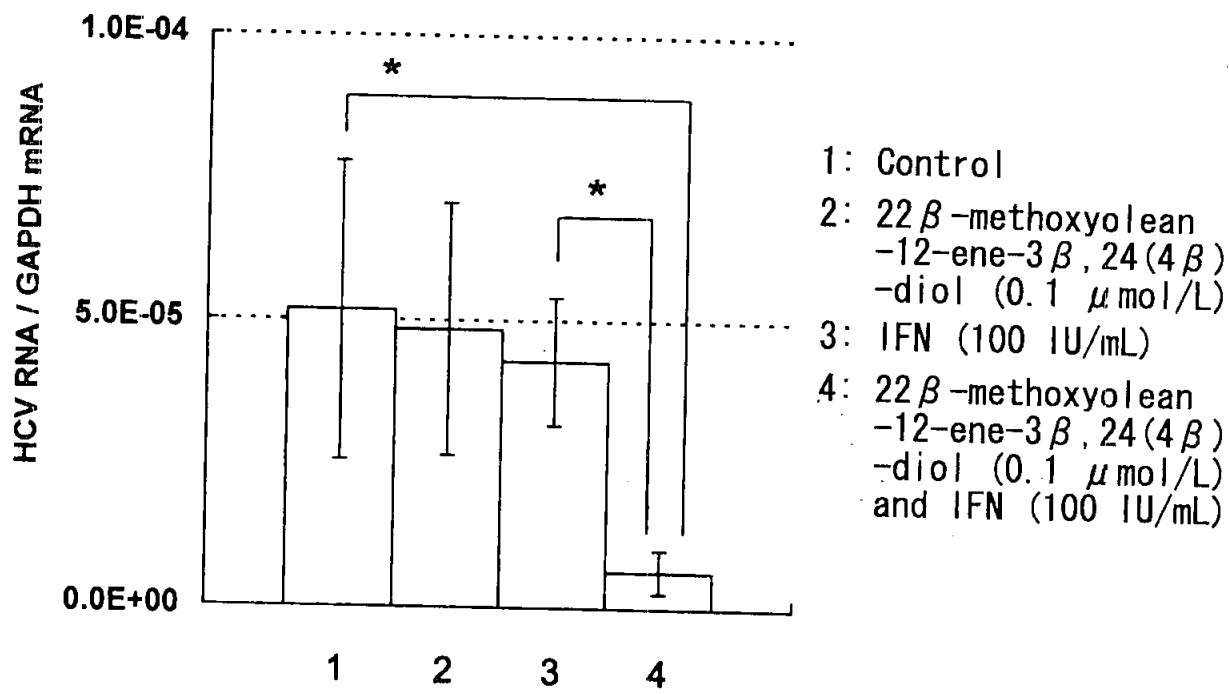
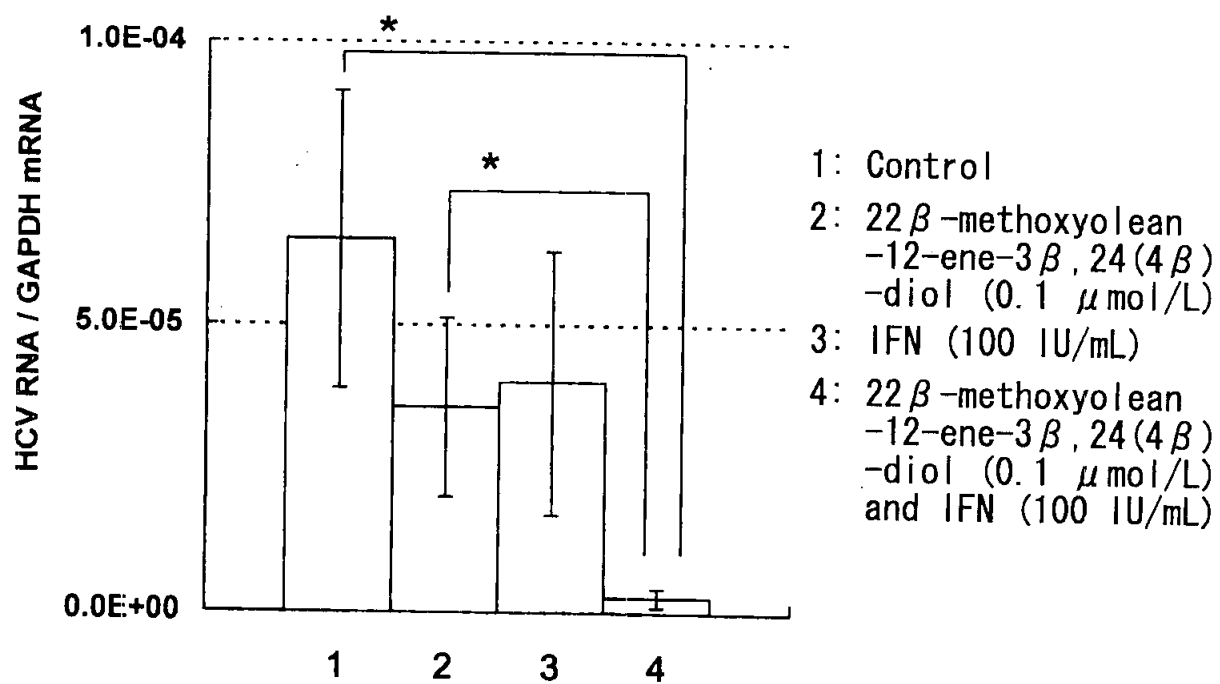


Figure 3



SEQUENCE LISTING

<110> Meiji Seika Kaisha, Ltd.

<120> Agent for preventing or treating viral diseases

<130> MEJ-786

<150> JP 2006-187973

<151> 2006-07-07

<160> 2

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

<400> 1

gcagaaagcg tctagccatg gcgt 24

<210> 2

<211> 24

<212> DNA

<213> Hepatitis C virus

<400> 2

ctcgcaagca ccctatcagg cagt 24

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA BAJO EL TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad
 Intelectual
 Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
 10 de enero de 2008 (10.01.2008)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
 WO 2008/004653 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
 A61K 38/21 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)
 A61K 31/56 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
 A61P 1/16 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
 A61P 31/12 (2006.01)

(21) Numero de Solicitud Internacional:
 PCT/JP2007/063545

(22) Fecha de Presentación Internacional:
 06 de Julio de 2007 (06.07.2007)

(25) Lenguaje de entrega: Japonés

(26) Lenguaje de Publicación: Japonés

(30) Datos de la Prioridad:
 2006-187943 07 de Julio de 2006 (07.07.2006) JP

(71) Solicitante (para todos los Estados designados
 menos los Estados Unidos):
 MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. [JP/JP]; 1048002
 Tokio (JP).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (solo para los Estados
 Unidos):
 HIASA, Yoichi [JP/JP]; 7910295 Ehime (JP).
 KUZUHARA, Hiroyuki [JP/JP]; 2228567
 Kanagawa (JP).

(74) Agente:
 MORITA, Kenichi y otros; 1730004 Tokio (JP).

(81) Estados Designados (a menos que se indique lo
 contrario, para todo tipo de protección nacional
 disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
 BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,
 DK, DM, 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, LV, LY,
 MA, MD, 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.

(84) Estados Designados (a menos que se indique lo
 contrario, para todo tipo de protección regional
 disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
 NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Euroasiática (AM,
 AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea (AT, BE,
 BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE,
 IS, IT, LT, LU, MC, 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).

Publicado:

- con el informe de búsqueda internacional
- antes del vencimiento del tiempo límite para modificar las reivindicaciones y para volverse a publicar en el caso de recibo de modificaciones.

Para códigos de dos letras y otras abreviaciones, referirse a las "Notas de guía sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada edición de la Gaceta del PCT.

(54) Título: AGENTE PROFILÁCTICO O TERAPÉUTICO PARA ENFERMEDAD VIRAL

(57) Resumen: Un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral, que comprende una combinación de 22β-metoxiolean-12-eno-3β, 24(β)diol y un interferón como ingredientes activos. El agente profiláctico o terapéutico puede ejercer un alto efecto terapéutico, debido a que 22β-metoxiolean-12-eno-3β, 24(β)diol y un interferón se administran en combinación.

AGENTE PROFILACTICO O TERAPEUTICO PARA ENFERMEDAD VIRAL**Campo de la Invención**

La presente invención se refiere a un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral, caracterizado por la combinación de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con un interferón.

Antecedentes de la Invención

En Japón, unos 1.5-2.0 millones estimados de personas están infectados persistentemente con virus de hepatitis C (HCV), y se asume que la mayoría de los portadores muestran los síntomas de hepatitis crónica (ver referencia 1 no de patente). Con respecto a la hepatitis B, hay muchos casos donde la infección no provoca hepatitis crónica, pero desarrolla directamente cáncer hepático. En contraste, de 80 a 90 % de las personas infectadas con HCV desarrollan enfermedad hepática crónica en base a observaciones de tejido hepático, y hay posibilidad que de 50 a 60 % de las personas infectadas con HCV desarrollen cirrosis o carcinoma hepatocelular mediante hepatitis crónica (ver referencia 2 no de patente). La infección con HCV ha llegado a ser un problema clínico principal a nivel mundial.

Los interferones (IFN) son una familia de proteínas altamente homólogas y específicas de la especie que regulan la respuesta inmunitaria al inhibir la replicación viral y la proliferación celular, y se conoce que hay cuatro clases de interferones en humanos (referencia 3 no de pa

REF.: 198915

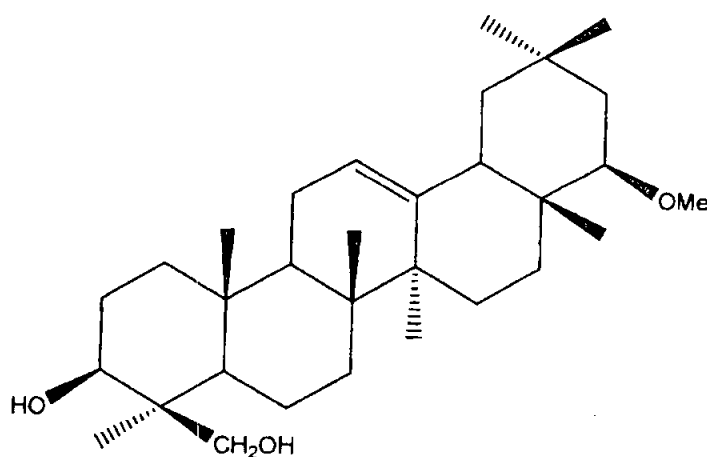
Se aplican interferones a virus virales en base a los efectos antivirales de los mismos. En particular, para el tratamiento de hepatitis C crónica que se provoca por la infección de HCV, un virus que tiene un genoma

de ARN de hebra positiva, se usan ampliamente IFN para eliminar el HCV. Sin embargo, se conoce que los IFN tienen bajos efectos terapéuticos para pacientes infectados con el genotipo 1b de HCV o que tienen una alta carga viral (1 Meq o superior) (ver referencias 4 y 5 no de patente). Este genotipo y alta carga viral son factores que afectan los efectos terapéuticos de IFN, y estos pacientes dan cuenta de 70 % o más de aquéllos con hepatitis C crónica en Japón. Además, se observan frecuentemente efectos secundarios tal como fiebre, debilidad y trastornos siquiátricos.

Como tratamientos convencionales para un paciente infectado con el genotipo 1b y que tiene una alta carga viral, se conoce una terapia de combinación de ribavirina con IFN, y una terapia de combinación de ribavirina con PEG-interferón α -2a (PEG-IFN α -2a) o PEG-interferón α -2b (PEG-IFN α -2b). Estos efectos terapéuticos (velocidad completa de respuesta) no son suficientes. Aún la terapia de combinación más efectiva de ribavirina con PEG-IFN en la actualidad muestra una velocidad de respuesta completa de, a lo mucho, aproximadamente 50 %. Adicionalmente, en comparación a un tratamiento con IFN solo, se observan frecuentemente efectos secundarios tal como reducciones de hemoglobina, eritrocitos, y leucocitos en la terapia con IFN/ribavirina. Cuando se usa PEG-IFN α -2a, los síntomas tipo influenza son más moderados que aquéllos provocados por IFN, pero se observan más frecuentemente reacciones cutáneas y reducciones de linfocitos, plaquetas, y eritrocitos. En la terapia de combinación de ribavirina con PEG-IFN α -2b, se presentan frecuentemente trastornos en el sitio de inyección, se desacelera ligeramente la recuperación

de los valores de prueba de laboratorio para efectos
adversos en hematología, y en pacientes con edad
avanzada, tienden a llegar a ser altas las frecuencias
de los valores de prueba de laboratorio altamente
5 anormales y la reducción de dosis. Bajo estas
circunstancias, se desea el desarrollo de tratamientos
efectivos para un caso donde no se obtienen efectos
suficientes para el tratamiento con IFN, un caso donde
no se espera la efectividad por la administración de
10 IFN debido al genotipo 1b o una alta carga viral, un
caso de un paciente con edad avanzada, un caso donde
la infección se desarrolla a cirrosis, y similares.

El 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol es un
compuesto que tiene la siguiente estructura, y se conoce que
15 tiene un efecto inhibidor en el trastorno de hepatocitos (ver
referencias 1 y 2 de patente).



25 Adicionalmente, se reportó que 22 β -metoxiolean-12-
eno-3 β ,24(4 β)-diol tiene un efecto anti-HCV (ver referencia 6
no de patente), y este compuesto se espera que se desarrolle
como un agente terapéutico para enfermedades hepáticas
virales. Sin embargo, no se han estudiado los efectos
30 obtenidos al combinar ese compuesto con otros fármacos.

Referencia 1 de patente.- Publicación Internacional
WO 97/03088.

Referencia 2 de patente.- Patente Japonesa número
3279574.

5 Referencia 1 no de patente.- The Japan Society of
Hepatology, ed., "Mansei kanen no chiryo gaido (Guidelines of
treatment for chronic hepatitis)", BUNKODO Co., Ltd., 2006, p.
21.

 Referencia 2 no de patente.- Shiro IINO, "The
10 guideline of treatment for hepatitis C", Nippon Rinsho, 2004,
vol. 62, suppl. 7, p. 342-346.

 Referencia 3 no de patente.- Annual Review of
Biochemistry, EUA, 1987, vol. 56, p. 727-777.

 Referencia 4 no de patente.- Shiro IINO, "Akiraka ni
15 natta interferon no kouka to genkai (Revealed effects and
limit of interferon)", Naika, 1999, vol. 84, no. 2, p. 285-
291.

 Referencia 5 no de patente.- Lancet, Reino Unido,
1998, vol. 352, no. 9138 p. 1426-1432.

20 Referencia 6 no de patente.- Hepatology EUA, 2005,
vol. 42, p. 248A

Breve Descripción de la Invención

 Para solucionar los problemas anteriores, los
presentes inventores han llevado a cabo estudios intensivos de
25 agentes efectivos para prevenir o tratar enfermedades virales,
particularmente enfermedades infecciosas debidas a un virus
que tiene un genoma de ARN de hebra positiva, y como
resultado, encontraron que una combinación de 22 β -metoxiolean-
12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con interferón mejoró un efecto
30 inhibidor en la replicación de HCV, y puede ser un fármaco

útil para prevenir o tratar las enfermedades virales, y para presentar la presente invención.

La presente invención se refiere a

(1) un agente profiláctico o terapéutico para una
5 enfermedad viral, caracterizado por combinar 22β -metoxiolean-
12-eno- 3β , $24(4\beta)$ -diol con un interferón como ingredientes
activos;

(2) el agente profiláctico o terapéutico de (1), en
donde la enfermedad viral se provoca por un virus de ARN;

10 (3) el agente profiláctico o terapéutico de (2), en
donde el virus de ARN tiene un genoma de ARN de hebra
positiva;

(4) el agente profiláctico o terapéutico de (3), en
donde el virus de ARN es virus de hepatitis C;

15 (5) el agente profiláctico o terapéutico de (1), en
donde la enfermedad viral es hepatitis C, o cirrosis o
carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C.

(6) un método para prevenir o tratar una enfermedad
viral, que comprende administrar a un sujeto en necesidad del
20 mismo 22β -metoxiolean-12-eno- 3β , $24(4\beta)$ -diol e interferón en
una cantidad efectiva para lo mismo;

(7) el método de (6), en donde la enfermedad viral
se provoca por un virus de ARN;

(8) el método de (7), en donde el virus de ARN tiene
25 un genoma de ARN de hebra positiva;

(9) el método de (8), en donde el virus de ARN es
virus de hepatitis C;

(10) el método de (6), en donde la enfermedad viral
es hepatitis C, o cirrosis o carcinoma hepatocelular provocado
30 por hepatitis C;

(11) un uso de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e interferón en la elaboración de un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral;

(12) el uso de (11), en donde la enfermedad viral se
5 provoca por un virus de ARN;

(13) el uso de (12), en donde el virus de ARN tiene un genoma de ARN de hebra positiva;

(14) el uso de (13), en donde el virus de ARN es virus de hepatitis C; y

10 (15) el uso de (11), en donde la enfermedad viral es hepatitis C, o cirrosis o carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C.

El agente profiláctico o terapéutico de la presente invención exhibe altos efectos profilácticos o terapéuticos en
15 enfermedades virales, preferentemente enfermedades virales provocadas por un virus de ARN, de manera más preferente enfermedades virales provocadas por un virus que tiene un genoma de ARN de hebra positiva, de manera más preferente hepatitis C provocada por el virus de hepatitis C, o cirrosis
20 o carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C, al administrar 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e interferón en combinación de los mismos.

Breve Descripción de las Figuras

La Figura 1 es una gráfica que muestra efectos
25 inhibidores de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol solo, IFN solo, y una combinación de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con IFN, en la replicación de HCV en el día 1 después de la infección de Ad-T7pol.

La Figura 2 es una gráfica que muestra los efectos
30 inhibidores de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol solo, IFN

solo, y una combinación de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con IFN, en la replicación de HCV en el día 2 después de la infección de Ad-T7pol.

La Figura 3 es una gráfica que muestra efectos
5 inhibidores de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol solo, IFN solo, y una combinación de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con IFN, en la replicación de HCV en el día 3 después de la infección de Ad-T7pol.

Descripción detallada de la invención

10 El término "enfermedades virales" significa enfermedades provocadas por un virus. Los virus que provocan las enfermedades incluyen virus de ADN y virus de ARN. Los virus de ADN se pueden ejemplificar por virus de hepatitis B, virus de viruela, virus de herpes, adenovirus, y parvovirus.
15 Los virus de ARN se pueden ejemplificar por reovirus, togavirus, coronavirus, rabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus, buniavirus, arenavirus, retrovirus, picornavirus, y calicivirus.

Como los virus en el agente profiláctico o
20 terapéutico de la presente invención, son preferibles los virus de ARN, los virus de ARN que tienen un genoma de ARN de hebra positiva son más preferibles, y es más preferible el virus de hepatitis C. Los virus de ARN que tienen un genoma de ARN de hebra positiva se pueden ejemplificar por
25 poliovirus, coxsackievirus, ecovirus, enterovirus, rinovirus, virus de hepatitis A, virus de hepatitis E, virus de rubéola, virus de encefalitis equina del Este, virus de encefalitis equina del Oeste, virus de fiebre amarilla, virus de fiebre de dengue, virus de encefalitis de San Luis, virus de Hepatitis
30 C, virus de hepatitis G, coronavirus, virus del Oeste del

Nilo, y virus de estomatitis vesicular.

Los virus de ARN que tienen un genoma de ARN de hebra positiva se replican de una manera común. Es decir, las células se infectan con un virus, y el ARN viral entra a las
5 células. El ARN viral completo se traduce directamente a proteínas virales, tal como ARN-polimerasa dependiente de ARN necesaria para replicar el ARN viral. Estas proteínas traducidas replican el ARN viral al usar el ARN viral completo como una plantilla. El ARN viral replicado se incorpora en
10 proteínas auto-productoras, y los virus resultantes se liberan al exterior de las células (ver JP 2005-35913 A).

Un mecanismo de acción anti-viral de interferón se propone en, por ejemplo, JP 2005-35913 A, como sigue: el interferón se une a un receptor en la superficie de una
15 célula, y entonces, se induce en la célula una proteína que tiene efectos antivirales. Por ejemplo, se genera oligo-2'-5'-adenilato por la acción de 2'-5'-adenilato-sintetasa inducida por interferón. Se considera que oligo-2'-5'-adenilato activa la ARNasa dependiente de ARN, la ARNasa
20 dependiente de ARN activada degrada el ARN viral, y como resultado, el interferón exhibe efectos anti-virales. De acuerdo al mecanismo anterior de acción, se considera que el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención es efectivo para virus de ARN que tienen un genoma de ARN de
25 hebra positiva.

En las enfermedades virales, los ejemplos de enfermedades provocadas por virus de hepatitis (tal como virus de hepatitis B (HBV) y virus de hepatitis C (HCV)) incluye trastornos hepáticos y similares de hepatitis viral aguda o
30 crónica (tal como hepatitis B y hepatitis C), preferentemente

hepatitis C, o cirrosis o carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C. La hepatitis B se define como hepatitis provocada por infección de HBV, y la Hepatitis C se define como hepatitis provocada por infección de HCV. La hepatitis

5 crónica se define como una condición clínica donde persiste la inflamación en el hígado, o parece que persiste, durante 6 meses o más. Los trastornos hepáticos se definen como enfermedades inflamatorias en el hígado, y se pueden usar como un concepto que incluye hígado graso, cirrosis, y carcinoma

10 hepatocelular de acuerdo al progreso de los síntomas.

22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol, que se puede usar como uno de los ingredientes activos para el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención, es un compuesto conocido, y se puede obtener por ejemplo para el

15 método descrito en el Ejemplo 22 (Compuesto 27) de la WO 97/03088.

En general, 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol se puede administrar de manera oral como una formulación farmacéutica convencional, tal como cápsulas, microcápsulas,

20 tabletas, gránulos, gránulos finos, polvos, y similares. Adicionalmente, se puede administrar de manera parenteral (por ejemplo, inyección intravenosa, inyección intramuscular, administración subcutánea, administración intraperitoneal, administración rectal, administración percutánea) como una

25 formulación farmacéutica convencional, tal como inyecciones (intravenosas, intramusculares, y similares) y similares. Estas formulaciones se pueden preparar por un método convencional usando un excipiente, un agente de relleno, un aglutinante, un agente humectante, un agente desintegrante, un

30 agente tensoactivo, un lubricante, un agente dispersante, un

amortiguador, un conservador, un solubilizador, un antiséptico, un sabor, un agente de ablandamiento, un estabilizador, y similares. Los ejemplos de los aditivos anteriores que son no tóxicos y adecuados para las preparaciones incluyen lactosa, fructosa, glucosa, almidón, 5 gelatina, carbonato de magnesio, silicato de magnesio sintético, talco, estearato de magnesio, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o una sal de la misma, goma arábrica, polietilenglicol, jarabe, vaselina, glicerina, etanol, 10 propilenglicol, ácido cítrico, cloruro de sodio, sulfito de sodio, fosfato de sodio, y similares.

En el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención, la forma, la ruta de administración, la dosis, el periodo de administración, y similares de 22 β - 15 metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol se puede seleccionar de manera apropiada de acuerdo con, por ejemplo, el peso, la edad, los síntomas, y similares de un paciente. Adicionalmente, éstos no se limitan de manera particular, en tanto que se mejore el efecto antiviral de 22 β -metoxiolean-12- 20 eno-3 β ,24(4 β)-diol cuando se combina con interferón. Por ejemplo, una dosis diaria de 1 a 1000 mg se administra de manera oral o parenteral como una dosis individual o dosis plurales divididas. De manera preferente, una dosis diaria de 25 a 800 mg se divide en dos dosis, que se administran de 25 manera oral o parenteral.

No se limita un interferón (IFN), que se puede usar como el otro ingrediente activo para el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención. Los IFN comercialmente disponibles o IFN bajo desarrollo clínico incluyen, por 30 ejemplo, IFN α naturales (Sumiferon: Dainippon Sumitomo Pharma

Co., Ltd.), IFN α -2a, IFN α -2b (Intron A: Schering-Ploug), polietilenglicol (PEG)-IFN α natural, PEG-IFN α -2a (Pegasys: Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), PEG-IFN α -2b (PEG-Intron A), IFN β natural (IFN β Mochida: Mochida Pharmaceutical Co., Ltd., y Feron: Toray Industries, Inc.), PEG-IFN β natural, IFN γ natural, IFN de consenso (Advaferon: Astellas Pharma Inc.), PEG-IFN de consenso, combinaciones de los mismos, y similares.

En el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención, la dosis, duración, programa, ruta, y similar para la administración de IFN no se limitan de manera particular, en tanto que sea efectivo en la prevención o tratamiento de las enfermedades virales. Por ejemplo, con respecto a hepatitis C, una dosis diaria de 100,000 a 10,000,000 I.U., se administra de manera subcutánea, de manera intramuscular o de manera intravenosa como una dosis individual o dosis plurales divididas de forma continua o intermitente (tal como tres veces por semana) durante 2 a 48 semanas, en general, pero esta administración se puede modificar de manera apropiada de acuerdo con el tipo o cantidad de un virus, el peso o edad de un paciente, y similares. De manera preferente, una dosis diaria de 6,000,000 a 10,000,000 I.U., se administra de manera continua durante 2 a 8 semanas seguido por administración intermitente durante 22 a 46 semanas, pero este programa se puede modificar de manera apropiada de acuerdo con el tipo o forma de IFN que se va a usar.

La relación de combinación (relación de uso o relación de composición) de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e interferón no se limita de manera particular, en tanto que sea efectiva en la prevención o tratamiento de las

45

enfermedades virales. Por ejemplo, con respecto a hepatitis C, la relación de combinación se puede seleccionar de manera apropiada de 1 mg: 100,000 I.U., a 1000 mg: 10,000,000 I.U., de manera preferente 25 mg: 1,000,000 I.U., a 800 mg: 10,000,000 I.U., como una dosis diaria.

En el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención, 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e interferón se administran en combinación. El término "administración en combinación" incluye una modalidad en la cual se administran de manera simultánea o con un intervalo una preparación individual de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol y otra preparación individual de interferón. En esta modalidad, el número de administraciones de una preparación puede ser el mismo como, o diferente de aquél de otra preparación.

Las dosis e intervalos apropiados de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e interferón se pueden seleccionar de acuerdo con un ensayo clínico controlado.

El agente profiláctico o terapéutico de la presente invención puede ser una forma de dosis que comprende los dos ingredientes activos en una composición, o dos formas de dosis que comprenden de manera separada los dos ingredientes activos en diferentes composiciones.

Ejemplos

La presente invención ahora se ilustrará adicionalmente por el siguiente Ejemplo, pero no se limita a éste.

Ejemplo 1: Confirmación de efecto inhibidor de la combinación de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e interferón en la replicación de HCV

En este ejemplo, se usó un modelo de replicación de HCV de genoma completa como se describe en la referencia 6 no de patente para evaluar el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención.

5 Se obtuvo un ADNc de un clon de longitud completa de virus de hepatitis C infeccioso (HCV) H77 [GenBank AF011751; Yanagi, M., Purcell, R.H., Emerson, S.U., Bukh, J. Proc. Natl. Acad. Sci. EUA 94(16), 8738-8743 (1997)] del genotipo 1a que fue refractario al tratamiento con interferón, y se adaptó
10 para preparar un plásmido (pT7-flHCV-Rz) que contiene el ADNc con un promotor T7 y un gen de ribozima de virus de hepatitis delta en los términos 5' y 3' del mismo, respectivamente. Células HepG2 (número de recurso: JCRB1054) inoculadas en placas de 6 concavidades se transfectaron con el plásmido pT7-
15 flHCV-Rz (3 µg/concavidad). Después de 24 horas de la transfección, las células HepG2 se infectaron con un adenovirus recombinante que expresa T7-polimerasa (Ad-T7pol) (10 PFU/célula) para expresar el gen de HCV en las células hospedadoras. En este modelo de replicación, el ARN
20 completamente homólogo al gen de HCV (hebra positiva) se transcribe en las células. Esta hebra positiva de HCV se traduce a una proteína de NS5B que tiene una actividad de ARN-polimerasa dependiente de ARN. Como resultado, se transcribe una hebra negativa de HCV, y se observa la replicación
25 intracelular de HCV.

Después de 3 horas de la infección con Ad-T7pol, se adicionaron 22β-metoxiolean-12-eno-3β,24(4β)-diol y/o IFN-α 2b (Intron A: Schering-Plough) a las células, solos o en combinación, para examinar los efectos inhibidores de los
30 mismos en la replicación de HCV. Se adicionaron 22β-

metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e IFN- α 2b a cada medio de cultivo (2 mL) a concentraciones finales de 0.1 μ mol/L y 100 IU/mL, respectivamente. Los medios de cultivo se intercambiaron después de 1 día desde la infección con Ad-T7pol, para nuevos líquidos de cultivo que contienen los compuestos de prueba anteriores a las mismas concentraciones. Como un control, se adicionó sulfóxido de dimetilo (DMSO), que se usó como un solvente para 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol, solo al medio de cultivo a una concentración final de 0.1 %. Este experimento se llevó a cabo bajo condiciones donde no se observó la citotoxicidad de cada compuesto de prueba.

Se recolectaron células en el día 1, día 2, y día 3 después de la infección con Ad-T7pol, y los ARN se extrajeron de las células. La expresión del ARN de HCV se cuantificó al realizar transcripción inversa usando ADN-polimerasa de rTth seguido por PCR de tiempo real (Ciclador Ligero: Roche Diagnostics). La expresión del ARNm de gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH), que fue un gen de dirección de la célula hospedadora, se cuantificó al realizar la transcripción inversa usando transcriptasa inversa de MuLV seguido por PCR de tiempo real. Como cebadores para la PCR de tiempo real,

Cebador homosentido:

5'-GCA GAA AGC GTC TAG CCA TGG CGT-3' (SEQ ID NO: 1, 68-91 nt de 5'UTR), y

Cebador antisentido:

5'-CTC GCA AGC ACC CTA TCA GGC AGT-3' (SEQ ID NO: 2, 311-288 nt de 5'UTR)

se usaron para ARN de HCV, y un kit comercialmente disponible (conjunto

de cebadores GAPDH Humanos: Search LC) se usó para GAPDH.

Los resultados se muestran en las Figuras 1 a 3. En las Figuras 1 a 3, la senda 1 es el resultado del control, la senda 2 es el resultado de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol (0.1 μ mol/L) solo, la
5 senda 3 es el resultado de IFN (100 IU/mL) solo, y la senda 4 es el resultado de 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e IFN en combinación.

Como resultado, se confirmó que el efecto inhibidor en la replicación de HCV se mejoró de manera sinérgica cuando se combinó 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con IFN, significativamente en
10 comparación a la administración individual de cada compuesto.

Aplicabilidad Industrial

De acuerdo a la presente invención, se puede proporcionar un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral (de manera preferente un agente efectivo para infección con un virus que tiene un
15 genoma de ARN de hebra positiva, de manera más preferente un agente efectivo para hepatitis C provocada por virus de hepatitis C, o cirrosis o carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C), caracterizado por combinar 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con un interferón.

Aunque la presente invención se ha descrito con referencia a
20 modalidades específicas, son posibles varios cambios y modificaciones obvias para aquellos expertos en la técnica sin apartarse del alcance de las reivindicaciones anexas.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la
25 práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

5 1. Agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral, caracterizado porque combina 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol con un interferón como ingredientes activos.

10 2. Agente profiláctico o terapéutico de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la enfermedad viral se provoca por un virus de ARN;

 3. Agente profiláctico o terapéutico de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el virus de ARN tiene un genoma de ARN de hebra positiva;

15 4. Agente profiláctico o terapéutico de conformidad con la reivindicación 3, caracterizado porque el virus de ARN es virus de hepatitis C;

20 5. Agente profiláctico o terapéutico de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la enfermedad viral es hepatitis C, o cirrosis o carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C.

25 6. Método para prevenir o tratar una enfermedad viral, caracterizado porque comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo 22 β -metoxiolean-12-eno-3 β ,24(4 β)-diol e interferón en una cantidad efectiva para lo mismo;

 7. Método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque la enfermedad viral se provoca por un virus de ARN;

30 8. Método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque el virus de ARN tiene un genoma de ARN de

hebra positiva;

9. Método de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque el virus de ARN es virus de hepatitis C.

10. Método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque la enfermedad viral es hepatitis C, o cirrosis o carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C;

11. Uso de 22β -metoxiolean-12-eno- 3β , $24(4\beta)$ -diol e interferón en la elaboración de un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral;

12. Uso de conformidad con la reivindicación 11, en donde la enfermedad viral se provoca por un virus de ARN;

13. Uso de conformidad con la reivindicación 12, en donde el virus de ARN tiene un genoma de ARN de hebra positiva;

14. Uso de conformidad con la reivindicación 13, en donde el virus de ARN es virus de hepatitis C; y

15. Uso de conformidad con la reivindicación 11, en donde la enfermedad viral es hepatitis C, o cirrosis o carcinoma hepatocelular provocado por hepatitis C.

20

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

Un agente profiláctico o terapéutico para una enfermedad viral, que comprende una combinación de 22β -metoxiolean-12-eno- 3β , $24(\beta)$ diol y un interferón como ingredientes activos. El agente profiláctico o terapéutico puede ejercer un alto efecto terapéutico, debido a que 22β -metoxiolean-12-eno- 3β , $24(\beta)$ diol y un interferón se administran en combinación.

Figura 1

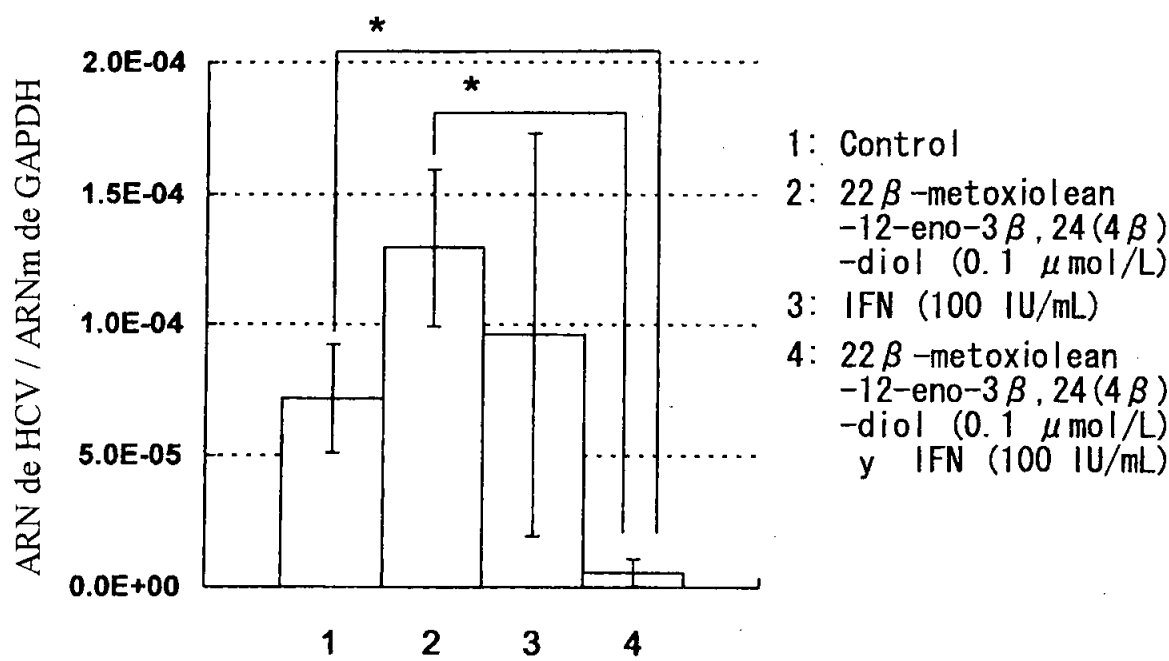


Figura 2

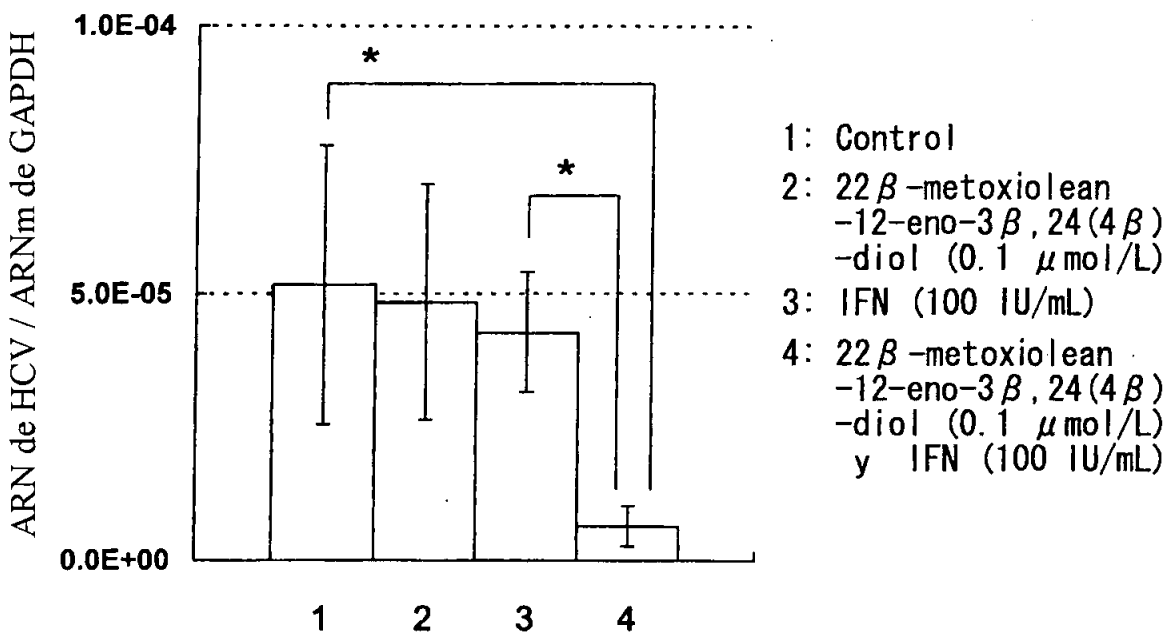
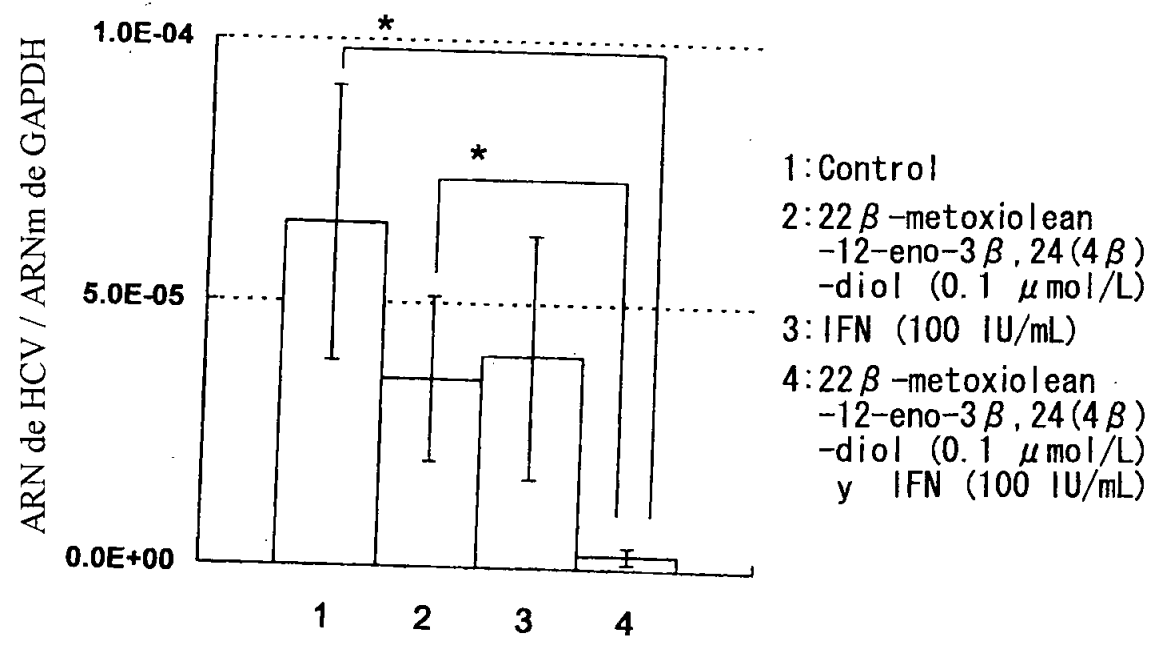


Figura 3



LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Meiji Seika Kaisha, Ltd.

<120> Agente para prevenir o tratar enfermedades virales

5 <130> MEJ-786

<150> JP 2006-187973

<151> 2006-07-07

<160> 2

<170> PatentIn version 3.1

10 <210> 1

<211> 24

<212> ADN

<213> virus de hepatitis c

<400> 1

gcagaaagcg tctagccatg gcgt 24

15 <210> 2

<211> 24

<212> ADN

<213> virus de hepatitis c

<400> 2

ctcgcaagca ccctatcagg cagt 24

20

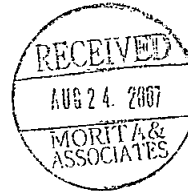
25

PCTNOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

MORITA, Kenichi
5th Fl., Itabashi-chuo Bldg.
67-8, Itabashi 2-chome
Itabashi-ku, Tokyo 1730004
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 14 August 2007 (14.08.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference MEJ-786	International application No. PCT/JP2007/063545

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

Meiji Seika Kaisha, Ltd. (for all designated States except US)
HIASA, Yoichi et al (for US)

International filing date: 06 July 2007 (06.07.2007)

Priority date(s) claimed: 07 July 2006 (07.07.2006)

Date of receipt of the record copy by the International Bureau: 20 July 2007 (20.07.2007)

List of designated Offices:

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

National: 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

ATTENTION: The applicant should carefully check the data appearing in this notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau. In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- time limits for entry into the national phase - see updated important information (as of April 2002)
- requirements regarding priority documents (if applicable)

A copy of this notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Roux Marianne e-mail pt07.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 07
Facsimile No. +41 22 338 90 90	

INFORMATION ON ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the "national phase" must be entered before each of the designated Offices indicated on the cover sheet of this notification by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by Articles 22 and 39 and the applicable national laws. In addition, the applicant may also have to comply with other special requirements applicable in certain Offices. It is the applicant's responsibility to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

The applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be 30 MONTHS from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date (see Article 39(1)), but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette* ("Section IV" part published on a weekly basis), to the *PCT Newsletter* (on a monthly basis) and to the relevant National Chapters in Volume II of the *PCT Applicant's Guide* (the paper version of which is updated usually twice a year and the Internet version of which is updated usually on a weekly basis). Finally, a cumulative table of all applicable time limits for entering the national phase is available from WIPO's Internet site, via links from various pages of the site, including those of the *Gazette*, *Newsletter* and *Guide*, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

Information about the requirements for filing a demand for international preliminary examination is set out in the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before the date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau and if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances (Rule 17.1(c)).

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit (and all other PCT time limits) is the filing date of the earliest application whose priority is claimed (Article 2(xi)(b)).

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

MORITA, Kenichi
5th Fl., Itabashi-chuo Bldg.
67-8, Itabashi 2-chome
Itabashi-ku, Tokyo 1730004
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 22 August 2007 (22.08.2007)	
Applicant's or agent's file reference MEJ-786	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP2007/063545	International filing date (day/month/year) 06 July 2007 (06.07.2007)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 07 July 2006 (07.07.2006)
Applicant Meiji Seika Kaisha, Ltd. et al	

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare, and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
07 July 2006 (07.07.2006)	2006-187943	JP	17 August 2007 (17.08.2007)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Yoshiko Kuwahara
Facsimile No. +41 22 338 82 70	e-mail Telephone No. +41 22 338 74 07

特許協力条約に基づく国際出願願書

紙面による写し (注意 電子データが原本となります)

0	受理官庁記入欄	
0-1	国際出願番号	
0-2	国際出願日	
0-3	(受付印)	
0-4	様式 PCT/RO/101 この特許協力条約に基づく国際出願願書は、	
0-4-1	右記によって作成された。	JPO-PAS 0341
0-5	申立て 出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。	
0-6	出願人によって指定された受理官庁	日本国特許庁 (RO/JP)
0-7	出願人又は代理人の書類記号	MEJ-786
I	発明の名称	ウイルス性疾患の予防又は治療剤
II	出願人	
II-1	この欄に記載した者は	出願人である (applicant only)
II-2	右の指定国についての出願人である。	米国を除く全ての指定国 (all designated States except US)
II-4ja	名称	明治製菓株式会社
II-4en	Name:	Meiji Seika Kaisha, Ltd.
II-5ja	あて名	1048002 日本国
II-5en	Address:	東京都中央区京橋二丁目4番16号 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 1048002 Japan
II-6	国籍(国名)	日本国 JP
II-7	住所(国名)	日本国 JP
II-8	電話番号	03-3273-3357
II-9	ファクシミリ番号	03-3279-3709
II-11	出願人登録番号	000006091

特許協力条約に基づく国際出願願書

紙面による写し (注意 電子データが原本となります)

III-1	その他の出願人又は発明者	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only) 日浅 陽一 HIASA Yoichi 7910295 日本国 愛媛県東温市志津川 国立大学法人愛媛大学医学部附属病院内 c/o Ehime University Hospital, Shitsukawa, Toon-shi, Ehime 7910295 Japan 日本国 JP 日本国 JP
III-1-1	この欄に記載した者は	
III-1-2	右の指定国についての出願人である。	
III-1-4ja	氏名(姓名)	
III-1-4en	Name (LAST, First):	
III-1-5ja	あて名	
III-1-5en	Address:	
III-1-6	国籍(国名)	
III-1-7	住所(国名)	
III-2	その他の出願人又は発明者	出願人及び発明者である (applicant and inventor) 米国のみ (US only) 葛原 博幸 KUZUHARA Hiroyuki 2228567 日本国 神奈川県横浜市港北区師岡町760 明治製菓株式会社内 c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760, Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 2228567 Japan 日本国 JP 日本国 JP
III-2-1	この欄に記載した者は	
III-2-2	右の指定国についての出願人である。	
III-2-4ja	氏名(姓名)	
III-2-4en	Name (LAST, First):	
III-2-5ja	あて名	
III-2-5en	Address:	
III-2-6	国籍(国名)	
III-2-7	住所(国名)	

特許協力条約に基づく国際出願願書

紙面による写し (注意 電子データが原本となります)

IV-1	代理人又は共通の代表者、通知のあて名 下記の者は国際機関において右記のごとく出願人のために行動する。	代理人 (agent)
IV-1-1ja	氏名(姓名)	森田 憲一
IV-1-1en	Name (LAST, First):	MORITA Kenichi
IV-1-2ja	あて名	1730004 日本国 東京都板橋区板橋二丁目67番8号 板橋中央ビル5階
IV-1-2en	Address:	5th Fl., Itabashi-chuo Bldg., 67-8, Itabashi 2-chome, Itabashi-ku, Tokyo 1730004 Japan
IV-1-3	電話番号	03-5248-4662
IV-1-4	ファクシミリ番号	03-5248-4663
IV-1-5	電子メール	morita-p@mars.dti.ne.jp
IV-1-6	代理人登録番号	100090251
IV-2	その他の代理人	代理人 (agent)
IV-2-1ja	氏名(姓名)	山口 健次郎
IV-2-1en	Name (LAST, First):	YAMAGUCHI Kenjiro
IV-2-2ja	あて名	1730004 日本国 東京都板橋区板橋二丁目67番8号 板橋中央ビル5階 森田国際特許事務所内
IV-2-2en	Address:	c/o MORITA & ASSOCIATES, 5th Fl., Itabashi-chuo Bldg., 67-8, Itabashi 2-chome, Itabashi-ku, Tokyo 1730004 Japan
IV-2-3	電話番号	03-5248-4662
IV-2-4	ファクシミリ番号	03-5248-4663
IV-2-5	電子メール	
IV-2-6	代理人登録番号	100139594
V	国の指定	
V-1	この願書を用いてされた国際出願は、規則4.9(a)に基づき、国際出願の時点で拘束される全てのPCT締約国を指定し、取得しうるあらゆる種類の保護を求め、及び該当する場合には広域と国内特許の両方を求める国際出願となる。	
VI-1	先の国内出願に基づく優先権主張	
VI-1-1	出願日	2006年 07月 07日 (07.07.2006)
VI-1-2	出願番号	2006-187943
VI-1-3	国名	日本国 JP
VI-2	優先権証明書送付の請求 上記の先の出願のうち、右記の番号のものについては、出願書類の認証謄本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁に対して請求している。	VI-1

特許協力条約に基づく国際出願願書

紙面による写し (注意 電子データが原本となります)

VII-1	特定された国際調査機関(ISA)	日本国特許庁 (ISA/JP)	
VIII	申立て	申立て数	
VIII-1	発明者の特定に関する申立て	-	
VIII-2	出願し及び特許を与えられる国際出願日における出願人の資格に関する申立て	-	
VIII-3	先の出願の優先権を主張する国際出願日における出願人の資格に関する申立て	-	
VIII-4	発明者である旨の申立て(米国を指定国とする場合)	-	
VIII-5	不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て	-	
IX	照合欄	用紙の枚数	添付された電子データ
IX-1	願書(申立てを含む)	5	✓
IX-2	明細書 (配列表または配列表に関連するテーブルを除く)	11	✓
IX-3	請求の範囲	2	✓
IX-4	要約	1	✓
IX-5	図面	2	✓
IX-7a	国際出願に含まれる用紙の枚数(明細書の配列表を除く)	21	
IX-6a	明細書の配列表	1	✓
IX-7	合計	22	
	添付書類	添付	添付された電子データ
IX-8	手数料計算用紙	-	✓
IX-17	PCT-SAFE 電子出願	-	-
IX-19	要約書とともに提示する図の番号		
IX-20	国際出願の使用言語名	日本語	
X-1	出願人、代理人又は代表者の記名押印	/100090251/	
X-1-1	氏名(姓名)	森田 憲一	
X-1-2	署名者の氏名		
X-1-3	権限		

受理官庁記入欄

10-1	国際出願として提出された書類の実際の受理の日	
10-2	図面	
10-2-1	受理された	
10-2-2	不足図面がある	
10-3	国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であつてその後期間内に提出されたものの実際の受理の日(訂正日)	
10-4	特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
10-5	出願人により特定された国際調査機関	ISA/JP
10-6	調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

DOCUMENT OF ASSIGNMENT OF
PATENT APPLICATION

ASSIGNMENT

The Undersigned, Yoichi HIASA and Hiroyuki KUZUHARA

acting as Inventor(s)

of the Colombian Patent Application
No.
Titled: PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC
AGENT FOR VIRAL DISEASE

with domicile in, c/o Ehime University Hospital,
Shitsukawa, Toon-shi, Ehime, 791-0295,
Japan; c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd., 760,
Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama-shi,
Kanagawa, 222-8567, Japan (respectively).

hereby declares that he/she/they assign(s) all
rights of ownership as well as all rights and
privileges relating thereto without exception
over the following patent application in
Colombia:

No.
Titled: PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC
AGENT FOR VIRAL DISEASE

to, Meiji Seika Kaisha, Ltd.

domiciled in, 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-
ku, Tokyo, 104-8002, Japan

The assignor(s) and the assignee sign this
document as proof of their acceptance of the
assignment.

Given and signed on the 7th day of
January of 2009

Yoichi Hiasa
Yoichi HIASA

Hiroyuki Kuzuhara
Hiroyuki KUZUHARA

Signature of Assignor

Naotada Sato
Naotada SATO, President

Signature of Assignee

DOCUMENTO DE TRASPASO DE
SOLICITUD DE PATENTE

CESION

El(los) Suscrito(s), Yoichi HIASA y Hiroyuki KUZUHARA

en calidad de inventor(es)

de la solicitud de patente en Colombia
No.
Titulada:

con domicilio en, c/o Ehime University
Hospital, Shitsukawa, Toon-shi, Ehime, 791-
0295, Japón; c/o Meiji Seika Kaisha, Ltd.,
760, Morooka-cho, Kohoku-ku, Yokohama-
shi, Kanagawa, 222-8567, Japón
(respectivamente).

declaran por el presente documento que
cede todos los derechos de propiedad que le
correspondan, así como las prerrogativas, sin
excepción alguna, sobre la siguiente solicitud
de patente en Colombia:

No.
Titulada:

a, Meiji Seika Kaisha, Ltd.

domiciliada en, 4-16, Kyobashi 2-chome,
Chuo-ku, Tokyo, 104-8002, Japón
El cedente y el cesionario firman este
documento como prueba de su aceptación de
la cesión.

Dado y firmado a los días del mes de
de 200

Firma del Cedente

Firma del Cesionario

認 証

東京法務局所属の本公証人は、添付の譲渡証に記載された明治製菓株式会社が日本国の法律のものに設立され存続する会社であって、東京都中央区京橋二丁目4番16号に主たる事務所を有し、譲渡証に署名した佐藤尚忠が同社の適法な代表者であって、同社のために譲渡証を作成する権限を有することを証明する。囑託人 明治製菓株式会社（東京都中央区京橋二丁目4番16号）の代表取締役佐藤尚忠及び日浅陽一並びに葛原博幸の代理人遠藤緑は、本公証人に対し、佐藤尚忠他2名が添付書類の署名につき、自らしたものであることを承認している旨陳述した。

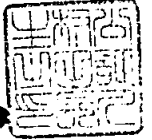
よって、これを認証する。

平成 21 年 | 月 22 日、本公証人役場において
東京都板橋区板橋2丁目67番8号 板橋公証役場

東京法務局所属

公 証 人
Notary

村田 長生



Nagao Murata

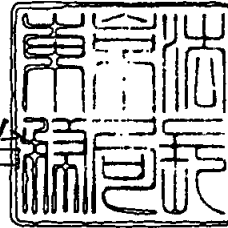
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、真実のものであることを証明する。

平成 21 年 | 月 22 日

東京法務局長

五十嵐義治



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN

This public document

2. has been signed by i Nagao Murata

3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau

4. bears the seal/stamp of Nagao Murata Notary

Certified

5. at Tokyo

6. 22 JAN 2009

7. by the Ministry of Foreign Affairs

8. 09- NO 018538

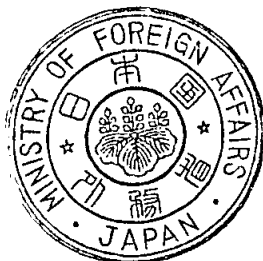
9. Seal/stamp:

10. Signature

K. Oyabe

Kazutoyo OYABE

For the Minister for Foreign Affairs

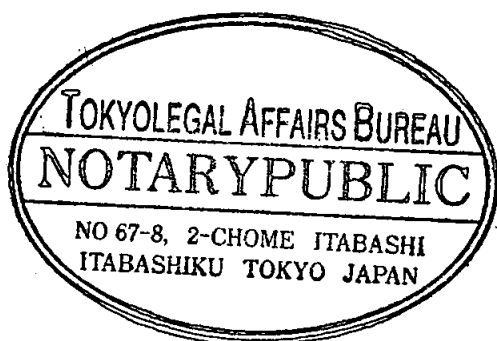


Registered No. 18 of 2009

NOTARIAL CERTIFICATE

I, Nagao Murata, the undersigned, Notary in and for Tokyo Legal affairs Bureau, do hereby certify that MEIJI SEIKA KAISHA, LTD. mentioned in the attached Assignment is a corporation legally organized and existing under the laws of Japan and having its principal office of business at 2-4-16, Kyobashi, Chuo-Ku, Tokyo, Japan, and that Naotada Sato who signed the Assignment is lawful representative of the said corporation and is authorized to execute such Assignment.

This is to certify that Midori Endo an agent of Naotada Sato a President of MEIJI SEIKA KAISHA, LTD Located at (2-4-16, Kobashi, Chuo-Ku, Tokyo, Japan), Yoichi Hiasa and Hiroyuki Kuzuhara has stated in my presence that the said Naotada Sato, Yoichi Hiasa and Hiroyuki Kuzuhara have acknowledged to have signed the attached document on this 22nd day of January, 2009.



Nagao Murata *Nagao Murata*
Notary
The Tokyo Legal Affairs Bureau
2-67-8, Itabashi, Itabashi-Ku, Tokyo, Japan

TRADUCCIÓN AL ESPAÑOL del documento de Cesión **MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.**, firmado por los cedentes y el cesionario.

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de Julio de 1961)

1. PAÍS: JAPÓN

ESTE DOCUMENTO PÚBLICO

2. HA SIDO FIRMADO POR NAGAO MURATA

3. ACTUANDO EN CAPACIDAD DE NOTARIO PÚBLICO DE LA
OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO

4. LLEVA EL SELLO/TIMBRE DE NAGAO MURATA, NOTARIO

CERTIFICADO

5. EN TOKIO

6. 22 ENERO DE 2009

7. POR EL MINISTRO DE ASUNTOS EXTERIORES

8. 09- N° 018538

9. SELLO/TIMBRE

10. FIRMA

(FIRMA)

Kazutoyo Oyabe

Por el Ministro de Asuntos Exteriores

Hay un sello que dice:

Ministerio de Asuntos Exteriores de Japón

Registrado No. 17 de 2009

CERTIFICADO NOTARIAL

Yo, Nagao Murata, el abajo firmante, Notario en y para la Oficina de Asuntos Legales de Tokio, por la presente certifico que MEIJI SEIKA KAISHA, LTD., mencionado en la cesión anexa, es una sociedad legalmente organizada y existente según las leyes de Japón, con sus oficinas principales de negocios en 2-4-16, Kyobashi, Chuo-Ku, Tokio, Japón, y que Naotada Sato, quien firmó la cesión, es el legítimo representante de dicha sociedad y está autorizado para ejecutar tal cesión.

Esto es para certificar que Midori Endo, un agente de Naotada Sato, presidente de MEIJI SEIKA KAISHA, LTD, ubicada en (2-4-16, Kobashi, Chuo-Ku, Tokio, Japón), Yoichi Hiasa y Hiroyuki Kuzuhara, ha declarado en mi presencia que los mencionados Naotada Sato, Yoichi Hiasa y Hiroyuki Kuzuhara han declarado haber firmado el documento anexo en este día 22 de enero de 2009.

Nagao Murata (Firma)
Notario
La Oficina de Asuntos Legales de Tokio
2-67-8 Itabashi, Itabashi-Ku, Tokio, Japón

Hay un sello que dice:

Oficina de Asuntos Legales de Tokio
NOTARIO PÚBLICO
No. 67-8, 2 CHOME ITABASHI
ITABASHIKU TOKIO JAPÓN

Brigard & Castro

BOGOTÁ - COLOMBIA

PODER

Yo (nosotros), **Meiji Seika Kaisha, Ltd.**

domiciliado(s) en, 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo, 104-8002, Japón

Nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** y/o **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** y/o **MARTIN E. TORRES CARDOZO**, de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales, lemas comerciales y enseñas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre, domicilio y/o dirección; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros intereses), con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** y/o **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** y/o **MARTIN E. TORRES CARDOZO**, domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 71-21, Torre B, Piso 4, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

hoy de de 200

Firma

Nombre
Cargo

POWER OF ATTORNEY

I (We), **Meiji Seika Kaisha, Ltd.**

domiciled in, 4-16, Kyobashi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo, 104-8002, Japan

Hereby appoints **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **MARTIN E. TORRES CARDOZO**, of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names, slogans and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name, domicile and/or address related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; criminal proceedings, actions for payment of damages; claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings.

To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

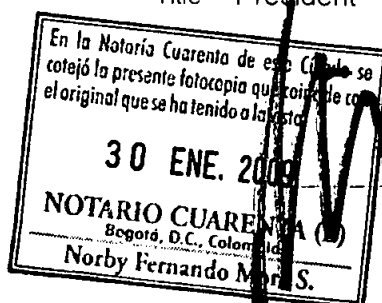
This power includes the faculty to ratify or confirm desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoint **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO** and/or **CARLOS H. PALACIO EASTMAN** and/or **MARTIN E. TORRES CARDOZO**, domiciled in Carrera 7 No. 71-21, Torre B, Piso 4, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

Granted and signed in

this 7th day January 2009

Signature *Naotada Sato*

Name Naotada SATO
Title President

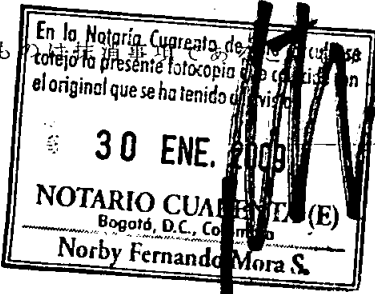


現在事項一部証明書

東京都中央区京橋二丁目4番16号
明治製菓株式会社
会社法人等番号 0199-01-034951

商号	明治製菓株式会社	
本店	東京都中央区京橋二丁目4番16号	
公告をする方法	電子公告により行う。 http://www.meiji.co.jp/ ただし事故その他やむを得ない事由によって電子公告による公告をすることができない場合は、日本経済新聞に掲載する方法により行う。	平成20年 6月27日変更
		平成20年 7月 3日登記
会社成立の年月日	大正5年10月9日	
役員に関する事項	取締役 佐藤 尚 忠	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記
	取締役 高橋 昭 男	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記
	取締役 松尾 正 彦	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記
	取締役 塚 西 治 信	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記
	取締役 松 長 政 幸	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記
	取締役 森 宏 史	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記
	取締役 矢 嶋 英 敏 (社外取締役)	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記
	取締役 工 藤 正 (社外取締役)	平成20年 6月27日重任
		平成20年 7月 3日登記

整理番号 タ885964 * 下線のあるものは持出事項である



東京都中央区京橋二丁目4番16号
明治製菓株式会社
会社法人等番号 0199-01-034951

	取締役	溝口 祥彦	平成20年 6月27日重任
			平成20年 7月 3日登記
	埼玉県朝霞市宮戸三丁目5番84号 代表取締役	佐藤 尚忠	平成20年 6月27日重任
			平成20年 7月 3日登記
	神奈川県小田原市柳新田105番地の5 代表取締役	高橋 昭男	平成20年 6月27日重任
			平成20年 7月 3日登記
	監査役	福井 利一	平成19年 6月27日就任
			平成19年 7月 3日登記
	監査役	森島 知夏男	平成19年 6月27日就任
			平成19年 7月 3日登記
	監査役	山口 健一	平成19年 6月27日就任
	(社外監査役)		平成19年 7月 3日登記
	監査役	星野 修邦	平成20年 6月27日就任
	(社外監査役)		平成20年 7月 3日登記
	会計監査人	監査法人不二会計事務所	平成20年 6月27日重任
			平成20年 7月 3日登記
取締役会設置会社 に関する事項	取締役会設置会社		平成17年法律第87号第1 36条の規定により平成18 年 5月 1日登記
監査役設置会社 に関する事項	監査役設置会社		平成17年法律第87号第1 36条の規定により平成18 年 5月 1日登記
監査役会設置会社 に関する事項	監査役会設置会社		平成18年 7月 5日登記
会計監査人設置会 社に関する事項	会計監査人設置会社		平成18年 7月 5日登記

整理番号 タ885964 * 下線のあるものは抹消事項で

En la Notaría Cuarenta de la Circulo se
cotejó la presente fotocopia con el original que se ha tenido a la vista.
30 ENE. 2009
NOTARIO CUARENTA (B)
Bogotá, D.C., Colombia
Norby Fernando Mora S.

70

東京都中央区京橋二丁目4番16号
明治製菓株式会社
会社法人等番号 6 99-01-034951

これは登記簿に記録されている現に効力を有する事項の一部であることを証明した書面である。

平成21年 1月 8日
東京法務局
登記官

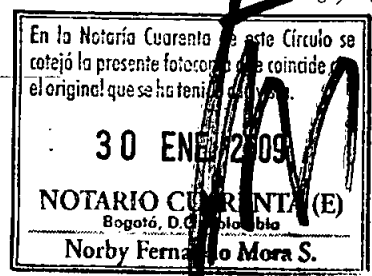
齊 藤 孝 一



整理番号 タ885964

* 下線のあるものは抹消事項であることを示す。

3/3



認 証

東京法務局所属の本公証人は、添付の委任状に記載された明治製菓株式会社が日本国の法律のものに
設立され存続する会社であって、東京都中央区京橋二丁目 4 番 1 6 号に主たる事務所を有し、委任状に署
名した佐藤尚忠が同社の適法な代表者であって、同社のために委任状を作成する権限を有することを証明
する。

よって、これを認証する。

平成 2 1 年 1 月 22 日、本公証人役場において
東京都板橋区板橋 2 丁目 6 7 番 8 号 板橋公証役場

東京法務局所属

公 証 人
Notary

村田長生

Nagao Murata

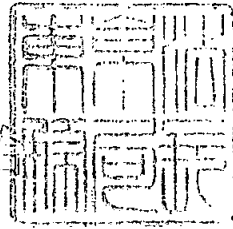
証 明

上記署名は、東京法務局所属公証人の署名に相違ないものであり、かつ、その押印は、
真実のものであることを証明する。

平成 2 1 年 1 月 22 日

東京法務局長

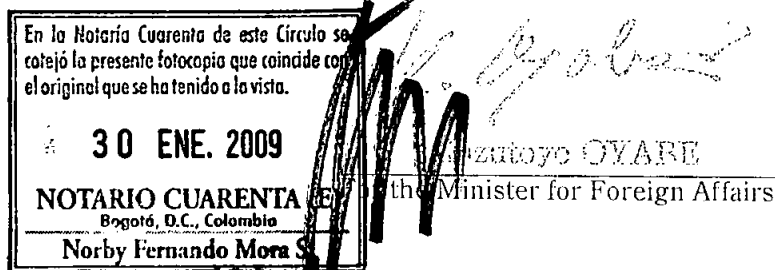
五十嵐美津子



APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: JAPAN
This public document
2. has been signed by i Nagao Murata
3. acting in the capacity of Notary of the Tokyo Legal Affairs Bureau
4. bears the seal/stamp of Nagao Murata Notary
Certified
5. at Tokyo
6. 22 JAN 2009
7. by the Ministry of Foreign Affairs
8. 09- NQ 018535
9. Seal/stamp:
10. Signature

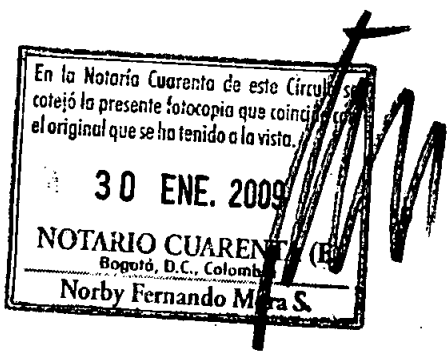
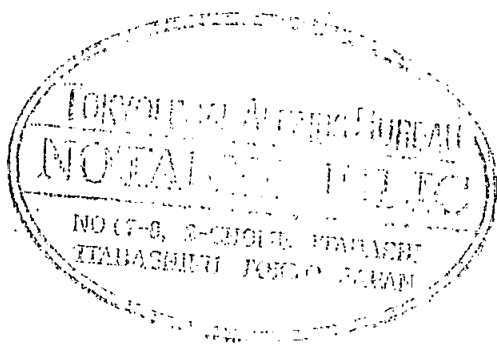


Registered No. 17 of 2009

NOTARIAL CERTIFICATE

I, Nagao Murata, the undersigned, Notary in and for Tokyo Legal affairs Bureau, do hereby certify that MEIJI SEIKA KAISHA ,LTD. mentioned in the attached Power of Attorney is a corporation legally organized and existing under the laws of Japan and having its principal office of business at 2-4-16, Kyobashi,Chuo-Ku,Tokyo,Japan, and that Naotada Sato who signed the Power of Attorney is lawful representative of the said corporation and is authorized to execute such Power of Attorney on this 22nd day of January , 2009.

Nagao Murata *Nagao Murata*
 Nortary
 The Tokyo Legal Affairs Bureau
 2-67-8 Itabashi, Itabashi-Ku
 Tokyo, Japan



TRADUCCIÓN AL ESPAÑOL del documento de Poder otorgado por **MEIJI SEIKA KAISHA, LTD.**, con domicilio en 4-16, Kyobashi 2-Chome, Chuo-ku, Tokio, 104-8002, Japón

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de Julio de 1961)

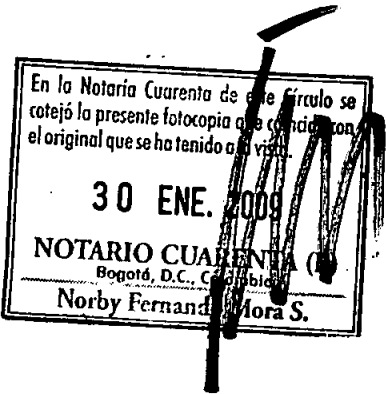
- 1. PAÍS: JAPÓN
- ESTE DOCUMENTO PÚBLICO
- 2. HA SIDO FIRMADO POR NAGAO MURATA
- 3. ACTUANDO EN CAPACIDAD DE NOTARIO PÚBLICO DE LA OFICINA DE ASUNTOS LEGALES DE TOKIO
- 4. LLEVA EL SELLO/TIMBRE DE NAGAO MURATA, NOTARIO

CERTIFICADO

- 5. EN TOKIO
- 6. ENERO 22, 2009
- 7. POR EL MINISTRO DE ASUNTOS EXTERIORES
- 8. 09- N° 018535
- 9. SELLO/TIMBRE
- 10. FIRMA

(FIRMA)
Kazutoyo Oyabe
 Por el Ministro de Asuntos Exteriores

Hay un sello que dice:
 Ministerio de Asuntos Exteriores de Japón



Registrado No. 17 de 2009

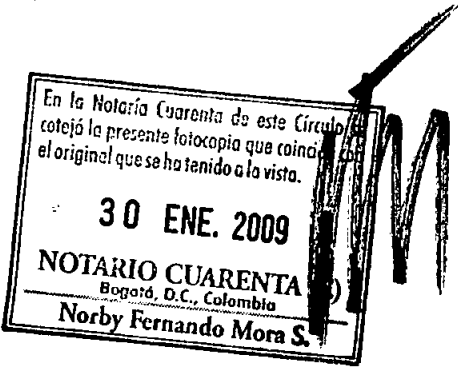
CERTIFICADO NOTARIAL

Yo, Nagao Murata, el abajo firmante, Notario en y para la Oficina de Asuntos Legales de Tokio, por la presente certifico que MEIJI SEIKA KAISHA, LTD., mencionado en el poder anexo, es una sociedad legalmente organizada y existente según las leyes de Japón, con sus oficinas principales de negocios en 2-4-16, Kyobashi, Chuo-Ku, Tokio, Japón, y que Naotada Sato, quien firmó el poder, es el legítimo representante de dicha sociedad y está autorizado para ejecutar tal poder, en este 22 de enero de 2009.

Nagao Murata (Firma)
 Notario
 La Oficina de Asuntos Legales de Tokio
 2-67-8 Itabashi, Itabashi-Ku
 Tokio, Japón

Hay un sello que dice:

Oficina de Asuntos Legales de Tokio
 NOTARIO PÚBLICO
 No. 67-8, 2 CHOME ITABASHI
 ITABASHIKU TOKIO JAPÓN





No. 09-009959- -00000-0000

Fecha: 2009-02-03 16:36:07 Dep. 2020 NUECREACION
 Tra. 11 PATENTEIYII Eva: 378 FASENACIONALI
 Act. 411 PRESENTACION Folios: 74

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE POT

PATENTE DE INVENCION

☒MODELO DE UTILIDAD ☐

- ♦ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ♦ Descripción de la invención ☒
- ♦ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☐INCOMPLETA ☐DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ♦ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐INCOMPLETA ☐ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ♦ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐INCOMPLETA ☐

Sandra Zaldarui

Firma Responsable

Fecha FEB 03 09

Carrera 13 No. 27-00 Piso 6, 7 y 10
 Corintojador. 3 82 08 40
 Fax: 350 82 20
 E-mail: info@sic.gov.co
 www.sic.gov.co
 Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 76

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
CADENA SARMIENTO JUAN PABLO
Apoderado(a) y/o Representante de
MEIJI SEIKA KAISHA LTD.

REFERENCIA	Radicación No.	9 9959
	Solicitud internacional	PCT/JP2007/063545
	Fecha inicio fase nacional	07/02/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	7966
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC,

13.1 MAR. 2009

ALIX CARMENZA CEFEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

adpall