

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年10月29日(29.10.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/218577 A1

(51) 国際特許分類:

A61P 31/14 (2006.01) A61K 31/197 (2006.01)
A61K 33/26 (2006.01) A61K 31/22 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2020/017837

(22) 国際出願日: 2020年4月24日(24.04.2020)

(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 2019-086554 2019年4月26日(26.04.2019) JP

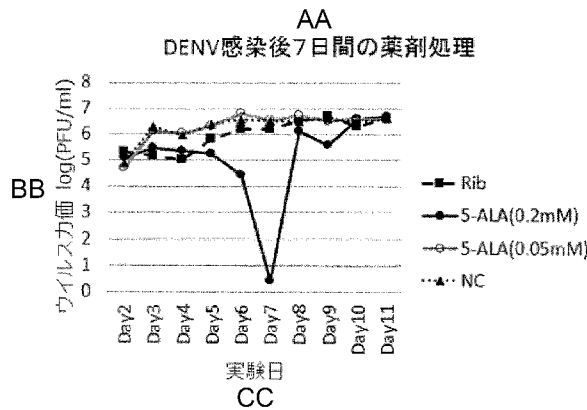
(71) 出願人: ネオファーマジャパン株式会社 (NEOPHARMA JAPAN CO., LTD.) [JP/JP];
〒1020071 東京都千代田区富士見2丁目
10番2号飯田橋グランブルーム4階
Tokyo (JP). 学校法人獨協学園獨協医科
大学(DOKKYO MEDICAL UNIVERSITY) [JP/

JP]; 〒3210293 栃木県下都賀郡壬生町大字
北小林880 Tochigi (JP).

(72) 発明者: 増田 道明 (MASUDA Michiaki);
〒3210293 栃木県下都賀郡壬生町大字北
小林880 学校法人獨協学園獨協医科
大学内 Tochigi (JP). 石川 知弘 (ISHIKAWA
Tomohiro); 〒3210293 栃木県下都賀郡壬生町
大字北小林880 学校法人獨協学園獨協医
科大学内 Tochigi (JP). 河田 聡史 (KAWATA
Satofumi); 〒1020071 東京都千代田区富士見2
丁目10番2号飯田橋グランブルーム4階
Tokyo (JP). 富岡 基康 (TOMIOKA Motoyasu);
〒1020071 東京都千代田区富士見2丁目10
番2号飯田橋グランブルーム4階 Tokyo (JP).
和田 康史 (WADA Yasufumi); 〒1020071 東京

(54) Title: THERAPEUTIC AGENT FOR FLAVIVIRUS INFECTION

(54) 発明の名称: フラビウイルス感染症治療剤



AA Seven-day drug treatment after DENV infection

BB Viral titer log(PFU/ml)

CC Experiment days

(57) Abstract: Provided are a prophylactic and/or therapeutic agent for flavivirus infection, and a prophylactic and/or therapeutic method for flavivirus infection. At least one of 5-aminolevulinic acid (5-ALA), 5-ALA ester, a salt of 5-ALA, and a salt of 5-ALA ester is used for this prophylactic and/or therapeutic agent for flavivirus infection. Examples of flavivirus targeted for prophylactic and/or therapeutic treatment where 5-ALA, etc. are used are: dengue virus, Zika virus, Japanese encephalitis virus, tick-borne encephalitis virus, West Nile virus, and yellow fever virus.

(57) 要約: フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤、並びにフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法を提供する。5-アミノレブリン酸(5-ALA)、5-ALAエステル、5-ALAの塩または5-ALAエステルの塩から選択される少なくとも一種がフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤において使用される。5-ALA等による予防および／または治療の対象となるフラビウイルスとしては、例えば、デングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、または黄熱ウイルスが挙げられうる。

都千代田区富士見 2 丁目 1 0 番 2 号飯田橋
グランブルーム 4 階 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人センダ国際特許事務所 (SENDA PATENT BUREAU); 〒1020082 東京都千代田区一番町 2 5 番地 全国町村議員会館 6 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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：フラビウイルス感染症治療剤

技術分野

[0001] 本発明は、概して、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤、並びにフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法に関する。

背景技術

[0002] フラビウイルス科フラビウイルス属は、＋鎖RNAをゲノムとするエンベロープウイルスで構成され、その殆どが吸血性節足動物により媒介される。蚊媒介性フラビウイルスとしては、日本脳炎ウイルス（非特許文献1参照）、デングウイルス（非特許文献2参照）、ジカウイルス（非特許文献3参照）、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルスなどがあり、ダニ媒介性フラビウイルスとしては、ダニ媒介性脳炎ウイルスなどが挙げられる。フラビウイルス属には、日本脳炎、ダニ媒介性脳炎、デング出血熱、先天性ジカウイルス感染症など、全世界で公衆衛生学的な問題となっている感染症を引き起こす病原体が多く含まれる。これらウイルスはヒト以外の動物が保有・増幅宿主となること、感染蚊あるいは感染ダニとの接触を完全に絶つことは困難であるため、これらウイルスに対する特異的治療薬の開発は重要課題である（非特許文献4参照）。さらに、近年の地球温暖化により、フラビウイルス感染症を媒介する蚊の生息期間、生息地域の拡大による、フラビウイルス感染症の発生拡大も懸念されている。

[0003] 近年、フラビウイルスタンパクの機能や構造が明らかになるにつれ、多くの特異的阻害薬の開発が進められている（非特許文献5参照）。例えば、ニタゾキサニド（非特許文献6参照）が日本脳炎ウイルスの複製を抑制することが知られている。また、ニクロサミド等（非特許文献7参照）がジカウイルスの複製を抑制することが知られている。ヘミン（非特許文献8参照）が *in vitro* でジカウイルスの複製を抑制することが知られている。また、リバビリン（非特許文献9および10参照）、ルシドン（Lucido

ne) (非特許文献11)、および特定のインドール誘導体(非特許文献12)がデングウイルスの複製を抑制することが知られている。

[0004] 5-アミノレブリン酸(5-ALA)は、細胞のミトコンドリアに存在し、動物においてはミトコンドリアで生合成され、鉄分と結びついてヘムやシクロクロムの原料となるなど代謝に必須の成分であり、植物においては、葉緑体で生合成され、マグネシウムと結びついてクロロフィルとなり光合成に必須の成分であることが知られている。そして、特許文献1には5-ALAリン酸塩の製造方法が開示されており、さらに5-ALA塩酸塩の合成方法がすでに知られていたことも記載されている。また、特許文献2には、微生物による5-ALAの製造方法も開示されている。

[0005] 特許文献3には、5-ALAを含むインフルエンザウイルス感染症の予防および／または治療剤が記載されている。また、特許文献4には5-ALAを含むウイルス感染症の予防および／または治療剤が記載されており、治療対象のウイルスとして、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、エボラウイルス、エイズウイルス、単純ヘルペスウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、天然痘ウイルスが記載されている。特許文献5には被験者に5-ALAを投与し、ウイルスに感染した細胞にプロトポルフィリンを蓄積させ、この細胞に赤色光を適用することによりこの細胞を破壊することを含む、被験者のウイルス感染を治療する方法が記載されている。特許文献6には、膣腔、子宮頸部または子宮の内層のウイルス感染の治療のための動物に対する光線力学的療法(PDT)に用いる組成物の製造における、5-アミノレブリン酸(5-ALA)ヘキシルエステルまたはその薬剤として使用し得る塩の使用が記載されている。しかし、特許文献3乃至6においては、フラビウイルス科フラビウイルス属のウイルスに対する5-ALAの影響については何ら検討されていない。

[0006] 非特許文献13、14および15には、5-ALAとクエン酸第一鉄ナトリウム(SFC)との併用が、細胞内でのヘムオキシゲナーゼ-1(HO-1)の量を増大させたことが示されている。また、非特許文献14には、5

－ A L A が単独で H O - 1 の発現を誘導したことが示されている。非特許文献 1 6 には、H O - 1 が、デングウイルスをはじめとする様々なウイルスに対して抗ウイルス活性を有していたことが報告されている。非特許文献 8 には、H O - 1 誘導活性を示すヘミンが *i n v i t r o* でジカウイルスの複製を低減させたことが示されている。非特許文献 1 1 には、デングウイルスに対して抗ウイルス活性を有するルシドンが細胞内の H O - 1 を増大させたことが示されている。

先行技術文献

特許文献

- [0007] 特許文献1：特開 2 0 0 6 - 1 8 2 7 5 3 号公報
特許文献2：特開 2 0 0 5 - 3 3 3 9 0 7 号公報
特許文献3：国際公開第 2 0 1 4 / 0 1 3 6 6 4 号公報
特許文献4：国際公開第 2 0 1 6 / 1 6 3 0 8 2 号公報
特許文献5：特表 2 0 0 0 - 5 1 0 1 2 3 号公報
特許文献6：特開 2 0 1 4 - 9 4 9 6 3 号公報

非特許文献

- [0008] 非特許文献1：Sang-Im Yun and Young-Min Lee, Japanese encephalitis The virus and vaccines, Human Vaccines & Immunotherapeutics, 10:2, 263.279; February 2014, p.263-279
非特許文献2：Yi-Lin Cheng, et al., Activation of Nrf2 by the dengue virus causes an increase in CLEC5A, which enhances TNF- α production by mononuclear phagocytes, Scientific Reports, 26 August 2016, 6:32000; DOI: 10.1038/srep32000 (2016)
非特許文献3：Oumar Faye, et al., Molecular Evolution of Zika Virus during Its Emergence in the 20th Century, PLOS Neglected Tropical Diseases, January 2014, Volume 8, Issue 1, e2636
非特許文献4：石川知弘, 小西英二, ウイルス, 第 6 1 巻, 第 2 号, 2011, p. 221-238

非特許文献5: Veaceslav Boldescu, et al., Broad-spectrum agents for flaviviral infections: dengue, Zika and beyond, NATURE REVIEWS, 5 May 2017, VOLUME 16, AUGUST 2017, p.565-586

非特許文献6: Zixue Shi, et al., Nitazoxanide inhibits the replication of Japanese encephalitis virus in cultured cells and in a mouse model, Virology Journal, 2014 Jan 23, 2014; 11: 10

非特許文献7: Miao Xu, et al., Identification of small-molecule inhibitors of Zika virus infection and induced neural cell death via a drug repurposing screen, NATURE MEDICINE, 29 August 2016, VOLUME 22, NUMBER 10, OCTOBER 2016, p.1101-1107

非特許文献8: Hanxia Huang, et al., Nrf2-dependent induction of innate host defense via heme oxygenase-1 inhibits Zika virus replication, Virology. 2017 March, 503, 1-5

非特許文献9: W. MARKLAND, et al., Broad-Spectrum Antiviral Activity of the IMP Dehydrogenase Inhibitor VX-497: a Comparison with Ribavirin and Demonstration of Antiviral Additivity with Alpha Interferon, ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Apr. 2000, Vol. 44, No. 4, p. 859-866

非特許文献10: Ratree Takhampunya, et al., Inhibition of dengue virus replication by mycophenolic acid and ribavirin, Journal of General Virology (2006), 87, p.1947-1952

非特許文献11: Wei-Chun Chen, et al., Lucidone suppresses dengue viral replication through the induction of heme oxygenase-1, VIRULENCE, 2018, VOL. 9, NO. 1, p.588-603

非特許文献12: Dorothee Bardiot, et al., Discovery of Indole Derivatives as Novel and Potent Dengue Virus Inhibitors, Journal of Medicinal Chemistry, August 27, 2018, 2018, 61 (18), DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00913, p. 8390-8401

非特許文献13:Mingyi Zhao, et. al., 5-Aminolevulinic acid combined with sodium ferrous citrate ameliorates H2O2-induced cardiomyocyte hypertrophy via activation of the MAPK/Nrf2/HO-1 pathway, American Journal of PhysiologyCell Physiology (2015), 308: C665-C672

非特許文献14:Kei Saito, et. al., Dynamics of absorption, metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells, Biochemistry and Biophysics Reports, 13 July 2017, 11:105-111

非特許文献15:Hidenori Ito, et. al., Oral administration of 5-aminolevulinic acid induces heme oxygenase-1 expression in peripheral blood mononuclear cells of healthy human subjects in combination with ferrous iron, European Journal of Pharmacology, 10 May 2018, 833:25-33

非特許文献16:Espinoza JA, Gonzalez PA, Kalergis AM. Modulation of Antiviral Immunity by Heme Oxygenase-1. Am J Pathol. 2017 Mar;187(3):487-493

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] フラビウイルス感染症対策の重要性の増大に伴って、さらなるフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤が求められている。特に、ルシドンのような既存の化合物よりも抗フラビウイルス作用の強い、さらなるフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤が求められている。さらに、ルシドンのような既存の化合物よりも、細胞毒性と薬効を示す濃度の差（すなわち、セラピューティックウィンドウ（Therapeutic Window））が広いフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤が求められている。

本発明者らは、さらなるフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤について鋭意検討を行ったところ、5-ALA若しくはそのエステル、またはそれらの塩が極めて有用であることを見だし、これに基づいて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、本発明のいくつかの実施形態は以下の通りである。

[1] 5-アミノレブリン酸（5-A L A）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。

[2] フラビウイルスがデングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、または黄熱ウイルスである[1]に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。

[3] 鉄化合物をさらに含む、[1]に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。

[4] 光照射を必要としない、[1]に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。

[5] 5-アミノレブリン酸（5-A L A）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤を対象に投与することを含む、フラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。

[6] フラビウイルスがデングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、または黄熱ウイルスである[5]に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。

[7] フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤が鉄化合物をさらに含む、[5]に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。

[8] 光照射を必要としない、[5]に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。

発明の効果

[0011] 本発明の一実施形態の5-アミノレブリン酸（5-A L A）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、フラビウイルスの複製を抑制

でき、よって、フラビウイルスの感染症を予防および／または治療できるという効果をもたらす。本発明の一実施形態の5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、HO-1を介して抗ウイルス作用を発揮すると考えられるルシドンよりも、より増強された抗フラビウイルス作用をもたらす。さらに、本発明の一実施形態の5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、ルシドンと比較して、細胞毒性と薬効を示す濃度の差（すなわち、セラピューティックウィンドウ）が広いという有利な効果を奏する。

図面の簡単な説明

[0012] [図1] 図1は、感染前に細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図2] 図2は、感染と同時に細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図3] 図3は、感染後1日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図4] 図4は、感染後1日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによる濃度依存的なデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図5] 図5は、感染後1日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによる濃度依存的な日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図6] 図6は、感染後7日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図7]図7は、感染後7日間にわたって細胞が5-A L Aで処理された場合における、5-A L Aによる日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図8]図8は、感染後4日間にわたって細胞が5-A L Aで処理された場合における、5-A L Aによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図9]図9は、感染後2日間にわたって細胞が5-A L Aで処理された場合における、5-A L Aによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図10]図10は、感染後4日間にわたって細胞が5-A L Aで処理された場合における、5-A L Aによる日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図11]図11は、感染後2日間にわたって細胞が5-A L Aで処理された場合における、5-A L Aによる日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図12]図12は、5-A L A溶液で非感染細胞を2日間処理した際の5-A L Aの細胞毒性を示すグラフである。

[図13]図13は、5-A L A溶液で非感染細胞を4日間処理した際の5-A L Aの細胞毒性を示すグラフである。

[図14]図14は、5-A L A溶液で非感染細胞を7日間処理した際の5-A L Aの細胞毒性を示すグラフである。

[図15]図15は、ルシドン溶液で非感染細胞を7日間処理した際のルシドンの細胞毒性を示すグラフである。

[図16]図16は、感染後7日間にわたって細胞が5-A L Aまたは40 μ M ルシドンで処理された場合における、5-A L Aまたはルシドンによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図17]図17は、感染後7日間にわたって細胞が5-A L Aまたは40 μ M ルシドンで処理された場合における、5-A L Aまたはルシドンによる日本

脳炎ウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図18]図18は、図16および図17に示された試験において、0.2 mM 5-ALA、または40 μ M ルシドンで2日間処理された時点での細胞の光学顕微鏡写真を示す図である。

[図19]図19は、感染後7日間にわたって細胞が5-ALAまたは低用量ルシドンで処理された場合における、5-ALAまたはルシドンによるデングウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図20]図20は、感染後7日間にわたって細胞が5-ALAまたは低用量ルシドンで処理された場合における、5-ALAまたはルシドンによる日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

[図21]図21は、各実施例における薬剤処理およびウイルス感染処理などのタイミングを示す概略図である。

[図22]図22は、感染後7日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるデングウイルス1型複製の阻害効果を示すグラフである。

[図23]図23は、感染後7日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるデングウイルス3型複製の阻害効果を示すグラフである。

[図24]図24は、感染後7日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるデングウイルス4型複製の阻害効果を示すグラフである。

[図25]図25は、感染後7日間にわたって細胞が5-ALAで処理された場合における、5-ALAによるジカウイルス複製の阻害効果を示すグラフである。

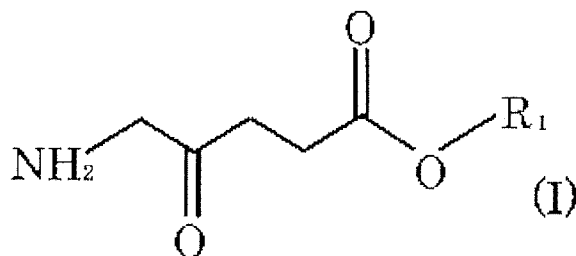
発明を実施するための形態

[0013] 本発明の一実施形態は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤である。また、本発明の一実施

形態は、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤における5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種の使用である。さらに別の本発明の一実施形態は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療用組成物である。

[0014] 本発明において、5-アミノレブリン酸（5-ALA）は δ -アミノレブリン酸とも称される化合物である。本発明において、「5-ALA若しくはそのエステル」とは、「5-ALA若しくは5-ALAエステル」であり、下記式（I）で表される。本発明において、「5-ALA若しくはそのエステル、またはそれらの塩」の記載における「それらの塩」とは、5-ALAの塩、若しくは5-ALAエステルの塩をいう。この塩としては、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、リン酸塩、メチルリン酸、エチルリン酸、亜リン酸塩、次亜リン酸塩、硝酸塩、硫酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、トルエンスルホン酸塩、コハク酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、グリコール酸塩、メタンスルホン酸塩、酪酸塩、吉草酸塩、クエン酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、リンゴ酸塩等の酸付加塩、及びナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩等の金属塩、アンモニウム塩、アルキルアンモニウム塩等が挙げられるがこれらに限定されない。

[0015] [化1]



[0016] 前記式（I）において、R₁は、水素原子、直鎖若しくは分岐状アルキル基、シクロアルキル基、アリール基又はアラルキル基である。R₁が水素の場合には前記式（I）は5-ALAを表す。R₁が直鎖若しくは分岐状アル

キル基、シクロアルキル基、アリール基又はアラルキル基である場合には、前記式 (I) は 5-A L A エステルを表す。

[0017] R 1 において示される直鎖若しくは分岐状のアルキル基は、好ましくは、炭素数が 1 ~ 18 のアルキル基であり、例えば、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ペンチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、*tert*-ペンチル基、2-メチルブチル基、*n*-ヘキシル基、イソヘキシル基、3-メチルペンチル基、エチルブチル基、*n*-ヘプチル基、2-メチルヘキシル基、*n*-オクチル基、イソオクチル基、*tert*-オクチル基、2-エチルヘキシル基、3-メチルヘプチル基、*n*-ノニル基、イソノニル基、1-メチルオクチル基、エチルヘプチル基、*n*-デシル基、1-メチルノニル基、*n*-ウンデシル基、1, 1-ジメチルノニル基、*n*-ドデシル基、*n*-トリデシル基、*n*-テトラデシル基、*n*-ペンタデシル基、*n*-ヘキサデシル基、*n*-ヘプタデシル基、*n*-オクタデシル基等が挙げられる。シクロアルキル基としては、例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロオクチル基などが挙げられるだけでなく、アルキル置換基を有するシクロアルキル基、例えば、炭素数 1 ~ 6 のアルキル置換基を有するシクロアルキル基、例えば、3-メチルシクロヘキシル基、4-メチルシクロヘキシル基、4-エチルシクロヘキシル基、2-メチルシクロオクチル基等も挙げられる。直鎖若しくは分岐状のアルキル基としては、炭素数 1 ~ 16 のアルキル基がより好ましく、メチル基、エチル基、*n*-ブチル基、*n*-ヘキサデシル基又は 2-エチルヘキシル基が特に好ましい。

[0018] R 1 において示されるアリール基としては、フェニル基、ナフチル基等が挙げられる。当該アリール基は、例えば、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロヘキシル基等の炭素数 1 ~ 6 のアルキル基、メトキシ基、エトキシ基

、*n*-プロポキシ基、*n*-ブトキシ基、イソブトキシ基、*tert*-ブトキシ基等の炭素数1～6のアルコキシ基、水酸基、アミノ基、ニトロ基、シアノ基、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素等のハロゲン原子、カルボキシ基等の置換基1～3個によって置換されていてもよい。

[0019] R₁において示されるアラルキル基としては、炭素数1～6のアルキル基と炭素数6～20のアリール基とから構成されるものが好ましい。炭素数1～6のアルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロヘキシル基等が挙げられ、炭素数6～20のアリール基としては、フェニル基、ナフチル基等が挙げられる。アラルキル基のうち、ベンジル基又はフェネチル基が好ましく、ベンジル基が特に好ましい。当該アラルキル基のアリール基は、上記記載の炭素数1～6のアルキル基、メトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、*n*-ブトキシ基、イソブトキシ基、*tert*-ブトキシ基等の炭素数1～6のアルコキシ基、水酸基、アミノ基、ニトロ基、シアノ基、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素等のハロゲン原子、カルボキシ基等の置換基1～3個によって置換されていてもよい。

[0020] 本発明の実施形態のフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤においては、5-ALA若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種が有効成分として使用されればよく、この有効成分は一種だけの使用であってもよいし、またはこの有効成分は複数種類の組み合わせの形態であってもよい。例えば、本実施形態において使用される有効成分は、5-ALA、5-ALAエステル、5-ALA塩、または5-ALAエステルの塩のいずれであってもよい。また、例えば、5-ALAと5-ALAエステルの塩の組み合わせなどであってもよい。本実施形態において使用される5-ALA若しくはエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種は精製された状態のものであっても良いし、粗精製された状態のもの、または合成されて得られた混合物の状態のものであっても良い。本実

施形態においては5-ALA塩が有効成分として使用されるのが好ましく、より好ましくは5-ALA塩酸塩および／または5-ALAリン酸塩が有効成分として使用される。本発明において使用される5-ALA若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種は公知の方法によって製造されうる。

[0021] 本発明において、「フラビウイルス」とは、フラビウイルス科フラビウイルス属に分類されるウイルスである。フラビウイルスとしては、例えば、デングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、マレー渓谷脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、オムスク出血熱ウイルス、およびダニ媒介性脳炎ウイルス等が挙げられる。本発明の一実施形態において、予防および／または治療の対象となるフラビウイルスはフラビウイルス科フラビウイルス属に分類されるウイルスであるが、好ましくは、予防および／または治療の対象となるフラビウイルスはデングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、または黄熱ウイルスであり、より好ましくは、デングウイルス、ジカウイルス、または日本脳炎ウイルスである。

[0022] 本発明において、「フラビウイルス感染症」とは、フラビウイルスがヒトおよびヒト以外の動物などの対象に感染することにより生じる疾患である。ヒトに対するフラビウイルス感染症としては、例えば、デングウイルスの感染によって発症するデング熱、デング出血熱、およびデングショック症候群、ジカウイルスの感染によって発症するジカウイルス病、および先天性ジカウイルス感染症、日本脳炎ウイルスの感染によって発症する日本脳炎、ウエストナイルウイルスの感染によって発症するウエストナイル熱およびウエストナイル脳炎、黄熱ウイルスの感染によって発症する黄熱、マレー渓谷脳炎ウイルスの感染によって発症するマレー渓谷脳炎、セントルイス脳炎ウイルスの感染によって発症するセントルイス脳炎、オムスク出血熱ウイルスの感染によって発症するオムスク出血熱、並びにダニ媒介脳炎ウイルスの感染によって発症するダニ媒介脳炎などが挙げられる。また、ヒト以外の動物に対

するフラビウイルス感染症としては、例えば、日本脳炎ウイルスがウマに感染して生じる脳炎、および妊娠ブタに感染して生じる流産、並びにウエストナイルウイルスがウマに感染して生じる脳炎、および妊娠ヒツジに感染して生じる流産などが挙げられるがこれらに限定されない。

[0023] 本発明において、「フラビウイルス感染症の予防」とは、例えば、フラビウイルス感染症の発症を抑制すること、すなわち発症を完全に抑制するかまたは発症率を低下させることをいうがこれらに限定されない。また、「フラビウイルス感染症の治療」とは、例えば、フラビウイルス感染症の重症化の防止、軽快化、および完治させることが挙げられるがこれらに限定されない。本発明において「予防および／または治療」とは、以下の（１）～（３）のいずれであってもよいことを意味する：（１）予防、（２）治療、（３）予防および治療の双方。

[0024] 本発明の一実施形態において、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、投与対象の感染症を予防および／または治療できる限りは、あらゆる投与経路、剤形および組成が可能である。例えば、本発明の一実施形態においては、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、経口投与、静脈内投与、鼻腔内投与、経皮投与、吸入投与、座薬による投与などを含むが、これらに限定されない様々な経路で投与されうる。好ましくは、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤の投与経路は経口投与である。本発明の一実施形態においては、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、投与経路に適した剤形を採ることができ、例えば、錠剤、散剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁液、乳剤、溶液、シロップ、軟膏、座薬、発布剤などの形態であり得る。また、本発明の一実施形態において、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は食品の形態であってもよい。さらに、本発明の一実施形態において、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤はヒト以外の動物に供される飼料の形態であってもよい。

[0025] 本発明の一実施形態において、フラビウイルス感染症の予防および／また

は治療剤は鉄化合物を含む。鉄化合物は特に限定されないが、鉄化合物としては鉄の有機塩、無機塩、タンパク質などの高分子化合物との複合体が挙げられうる。鉄の有機塩としては、クエン酸第一鉄、クエン酸鉄ナトリウム、クエン酸第一鉄ナトリウム、クエン酸鉄アンモニウム等のクエン酸塩、リンゴ酸鉄、コハク酸クエン酸鉄ナトリウム、乳酸鉄、酒石酸鉄、グリコール酸鉄などのヒドロキシカルボン酸塩、コハク酸第一鉄、酢酸鉄、シュウ酸鉄、デキストラン鉄、グルコン酸鉄、エチレンジアミン四酢酸鉄ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸鉄カリウム、エチレンジアミン四酢酸鉄アンモニウム、ジエチレントリアミン五酢酸鉄ナトリウム、ジエチレントリアミン五酢酸鉄カリウム、ジエチレントリアミン五酢酸鉄アンモニウム、グリセロリン酸鉄等が挙げられる。鉄の無機塩としては、酸化鉄、塩化鉄、硝酸鉄、硫酸鉄、硫酸アンモニウム鉄、ピロリン酸第一鉄、ピロリン酸第二鉄等が挙げられる。また、鉄化合物はラクトフェリン鉄、トランスフェリン鉄などの鉄結合タンパク質、およびヘム鉄などであってもよい。鉄化合物は1種類であってもよいし、複数種類の鉄化合物が組み合わせて使用されても良い。好ましくは、鉄化合物はクエン酸第一鉄ナトリウムである。

[0026] 本発明の一実施形態において、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤に含まれる鉄化合物の量は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩の合計モル量：鉄化合物中の鉄原子のモル量が1：0.05～1：5であり、好ましくは、1：0.1～1：1である。

[0027] 本発明の一実施形態において、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、必要に応じて、薬学的もしくは食品衛生上許容される各種の担体および添加剤、またはヒト以外の動物用の飼料として許容される各種の担体および添加剤などを含むことができる。これら各種の担体および添加剤としては、例えば賦形剤、滑沢剤、安定剤、分散剤、結合剤、希釈剤、香味料、甘味料、風味剤、着色剤などが挙げられうる。本発明の一実施形態においては、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、これら必要な

成分を含む、フラビウイルス感染症の予防および／または治療用組成物でもあり得る。

[0028] 本発明の別の実施形態は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤を対象に投与することを含む、フラビウイルス感染症の予防および／または治療方法である。また、本発明の別の実施形態は、フラビウイルス感染症の予防および／または治療対象における、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種の使用である。

本発明の実施形態のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法においてフラビウイルス感染症の予防および／または治療の対象となるのは、特に限定されないが、ヒト、ヒト以外の哺乳類および鳥類が挙げられる。

[0029] 本発明のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法において、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩の投与量は、ウイルスの種類、症状の程度などに応じて適宜決定される。投与頻度および投与期間は特に限定されない。

[0030] 本発明の一実施形態においては、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含み、光照射を必要としない、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤である。別の実施形態においては、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含み、光照射を行わない、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤である。また、本発明の一実施形態においては、フラビウイルス感染症の予防および／または治療方法は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤を対象に投与することを含み、光照射を必要としない、フラビ

ウイルス感染症の予防および／または治療方法である。別の実施形態においては、フラビウイルス感染症の予防および／または治療方法は、5-アミノレブリン酸（5-ALA）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤を対象に投与することを含み、光照射を行わない、フラビウイルス感染症の予防および／または治療方法である。これら実施形態における「光照射」として、例えば、細胞に蓄積したプロトポルフィリン（プロトポルフィリンIX）の光増感性を利用した光線力学的治療（PDT）において使用されるような光照射が挙げられうる。

[0031] 以下、実施例により本発明を詳述するが、本発明は実施例の範囲に限定されるものではない。

実施例

[0032] フラビウイルスへの感染前、感染と同時にまたは感染後に5-ALA等の薬剤で細胞を処理した際の、デングウイルス（DENV）または日本脳炎ウイルス（JEV）複製の阻害効果を以下の手順に従って確認した。

（1）感染前日（Day 0）、Vero細胞を24穴プレートに播種し、37℃・5%CO₂で培養した。培養液はMEM+10%ウシ胎児血清+10mM 非必須アミノ酸+1000U/ml ペニシリン+100μg/ml ストレプトマイシンであった。感染前に薬剤で処理する実験においては、この時点で培養液に検討対象の薬剤を添加した。全ての実験において、5-ALAとして5-アミノレブリン酸塩酸塩が使用され、鉄含有化合物としてクエン酸第一鉄ナトリウム（SFC）が使用され、ポジティブコントロールとして300μMリバビリンまたは様々な濃度のルシドンが使用され、およびネガティブコントロールとして水が使用された。

（2）感染当日（Day 1）、準備したプレートの培養液を除き、デングウイルス2型New Guinea C株（DENV2 NGC）または日本脳炎ウイルス中山株（JEV Nakayama）をそれぞれMOI（多重感染度）=2、MOI=5で細胞に接種した（接種液量は200マイクロリットル）。ウイルスを細胞に1時間吸

着させた後、リン酸緩衝液（PBS）で細胞を洗浄し接種液を完全に除去した。維持用培養液（MEM＋1％ウシ胎児血清＋10mM 非必須アミノ酸＋1000U／ml ペニシリン＋100μg／ml ストレプトマイシン＋1mM HEPES）を1mlプレートに加え、37℃・5％CO₂で細胞を培養した。感染と同時に薬剤を添加する実験においては、この時点で維持用培養液に検討対象の薬剤を添加した。

（3）24時間後（Day 2）、プレートから培養液を回収し、新たに維持用培養液を1mlプレートに加え、37℃・5％CO₂で細胞を培養した。感染後に薬剤を添加する実験においては、感染後所定の時点で検討対象の薬剤を添加した。回収した培養液は3000rpmで5分間遠心し、その上清を冷凍保存した。

（4）以後24時間毎に培養液の回収と添加を繰り返した。尚、感染実験は全条件につき2ウェル使用した。

[0033] ウイルスの感染力価を以下の手順に従って測定した。

（1）実験前日、Vero細胞を24穴プレートに播種し、37℃・5％CO₂で培養した。

（2）力価測定用試料を解凍し、維持用培養液を用いて10倍段階希釈系列を作製した。

（3）準備したプレートの培養液を除き、手順（2）で作製した希釈系列を200マイクロリットルずつ接種した。1時間の吸着後、接種液をプレートから除き、1％メチルセルロース（MEM＋1％メチルセルロース＋1％ウシ胎児血清）を1mlプレートに加え、プレートを37℃・5％CO₂で静置した（DENVは14日間、JEVは10日間）。

（4）プレートからメチルセルロース溶液を除き、PBSで洗浄後、クリスタルバイオレット（0.05％クリスタルバイオレット・20％メタノール）を1mlプレートに加え、室温で10分静置した。クリスタルバイオレット液をプレートから除き、水で洗浄、乾燥後プラーク数をカウントした。プラーク数より培養液中のウイルス力価を算定した。

[0034] MTTアッセイ

(1) 実験前日、Vero細胞を96穴プレートに播種し、37℃・5%CO₂で培養した。

(2) 維持用培養液(MEM+1%ウシ胎児血清+10mM 非必須アミノ酸+1000U/ml ペニシリン+100μg/ml ストレプトマイシン+1mM HEPES)を用いて5-ALAの2倍段階希釈系列が作製された(～0.8mM)。ネガティブコントロールとして水を用いた。ルシドンについても同様に、2倍段階希釈系列が作製された(～160μM)。

(3) 準備したプレートの培養液を除き、(2)で作製した5-ALA溶液もしくはルシドン溶液をプレートに加えた。1ウェル当たり100μlであり、1条件当たり3ウェルを使用した。

(4) 24時間ごとに古い培養液をプレートから除き、新しい5-ALA溶液もしくはルシドン溶液をプレートに加えて培養した。

(5) 5-ALA溶液で2日、4日、もしくは7日間培養後、またはルシドン溶液で7日間培養後、細胞をPBSで2回洗浄し、MTT溶液を100μl加え37℃・5%CO₂で3時間培養した。MTT溶液はチアゾリルブルーテトラゾリウムブロミドを2×MEMと滅菌水の等量混合液に溶解し(10mg/ml)、ろ過滅菌したものを用いた(用時調製)。

(6) 培養液をプレートから除き、イソプロピルアルコールを100μlプレートに加えて5分程度室温で振盪した。

(7) 570nmの吸光度を測定し、0mM処理ウェルの吸光度に対する%吸光度を算出した。

[0035] 以下の各実施例における薬剤処理およびウイルス感染処理などのタイミングが図21に説明される。

実施例 1

[0036] 感染前の薬剤処理における、デングウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA(1mM)、5-ALA(1mM)+SFC(0.25mM)(すなわち、5-ALAとSFCの併用)、SFC(0.2

5 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。薬剤で処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、log (PFU/ml) (PFU: プラーク形成単位) として図1に示される。図1に示されるように、5-ALA (1 mM)、および5-ALA (1 mM) + SFC (0.25 mM) は感染前投与の場合にデングウイルス複製の阻害効果を示さなかった。

実施例 2

[0037] 感染と同時の薬剤処理における、デングウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (1 mM)、5-ALA (1 mM) + SFC (0.25 mM)、SFC (0.25 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。薬剤での処理は感染と同時に1日間 (Day 1) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、log (PFU/ml) (PFU: プラーク形成単位) として図2に示される。図2に示されるように、5-ALA (1 mM)、および5-ALA (1 mM) + SFC (0.25 mM) は感染と同時処理の場合にデングウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。

実施例 3

[0038] 感染後の薬剤処理における、デングウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (1 mM)、5-ALA (1 mM) + SFC (0.25 mM)、SFC (0.25 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。薬剤での処理は感染1日後から1日間 (Day 2) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、log (PFU/ml) (PFU: プラーク形成単位) として図3に示される。図3に示されるように、5-ALA (1 mM)、および5-ALA (1 mM) + SFC (0.25 mM) は感染後処理の場合にデングウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くこと

により、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。

実施例 4

[0039] 感染後の薬剤処理における、デングウイルス複製の用量依存的な阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (1 mM)、5-ALA (0.2 mM)、5-ALA (0.05 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。薬剤での処理は感染1日後から1日間 (Day 2) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、log (PFU/ml) として図4に示される。図4に示されるように、感染後処理の場合に5-ALAは0.05 mMから1 mMの濃度で用量依存的にデングウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。

実施例 5

[0040] 感染後の薬剤処理における、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (1 mM)、5-ALA (0.2 mM)、5-ALA (0.05 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。薬剤での処理は感染1日後から1日間 (Day 2) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、log (PFU/ml) として図5に示される。図5に示されるように、感染後処理の場合に5-ALAは0.05 mMから1 mMの濃度で用量依存的に日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失したが、阻害効果は実施例4のデングウイルスの場合よりも持続していた。

実施例 6

[0041] 感染後7日間の薬剤処理における、デングウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (0.2 mM)、5-ALA (0.05 mM)

、リバビリン（ $300\mu\text{M}$ 、図中R i b）、および水（図中、N C）であった。薬剤での処理は感染1日後から7日間（D a y 2からD a y 8の終わりまで）であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、 $\log(\text{PFU}/\text{ml})$ として図6に示される。図6に示されるように、5-A L A（ 0.2mM ）での処理は、D a y 7まで、処理期間の経過と共に増大したデングウイルス複製の阻害効果を示した。5-A L A（ 0.2mM ）での処理によるデングウイルス複製の阻害効果は、リバビリン（ $300\mu\text{M}$ ）による効果よりも強力であった。D a y 8には、5-A L A（ 0.2mM ）での処理によるデングウイルス複製の阻害効果は低下した。この阻害効果の低下の原因の一つとして、5-A L A耐性ウイルスの出現が考えられる。薬剤での処理の継続による阻害効果の低下は、リバビリン処理においても認められた。

実施例 7

[0042] 感染後7日間の薬剤処理における、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-A L A（ 0.2mM ）、5-A L A（ 0.05mM ）、リバビリン（ $300\mu\text{M}$ 、図中R i b）、および水（図中、N C）であった。薬剤での処理は感染1日後から7日間（D a y 2からD a y 8の終わりまで）であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、 $\log(\text{PFU}/\text{ml})$ として図7に示される。図7に示されるように、5-A L A（ 0.2mM および 0.05mM ）での処理は、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示した。5-A L A（ 0.2mM ）での処理による日本脳炎ウイルス複製の阻害効果は、リバビリン（ $300\mu\text{M}$ ）による効果よりも強力であった。薬剤での処理の継続により、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果の低下が認められ、その原因の一つとして薬剤耐性の日本脳炎ウイルスの出現が考えられる。図7の結果から、5-A L Aはリバビリンよりも薬剤耐性ウイルスの出現を遅らせていると考えられる。

実施例 8

[0043] 感染後4日間の薬剤処理における、デングウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (0.2 mM)、5-ALA (0.05 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。薬剤での処理は感染1日後から4日間 (Day 2からDay 6の終わりまで) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、log (PFU/ml) として図8に示される。図8に示されるように、5-ALA (0.2 mM) での処理は、デングウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。

実施例 9

[0044] 感染後2日間の薬剤処理における、デングウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (0.2 mM)、5-ALA (0.05 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。薬剤での処理は感染1日後から2日間 (Day 2からDay 4の終わりまで) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、log (PFU/ml) として図9に示される。図9に示されるように、5-ALA (0.2 mM) での処理は、デングウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。図6、図8および図9の結果から、4日間および2日間の5-ALA処理は、7日間の5-ALA処理よりも低いデングウイルス複製の阻害効果を示したことが明らかとなった。

実施例 10

[0045] 感染後4日間の薬剤処理における、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA (0.2 mM)、5-ALA (0.05 mM)、リバビリン (300 μ M、図中Rib)、および水 (図中、NC) であった。

た。薬剤での処理は感染1日後から4日間（Day 2からDay 6の終わりまで）であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、 $\log$ （PFU／ml）として図10に示される。図10に示されるように、5-ALA（0.2 mM）での処理は、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。

実施例 11

[0046] 感染後2日間の薬剤処理における、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を検討した。

使用した薬剤は5-ALA（0.2 mM）、5-ALA（0.05 mM）、リバビリン（300 μ M、図中Rib）、および水（図中、NC）であった。薬剤での処理は感染1日後から2日間（Day 2からDay 4の終わりまで）であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、 $\log$ （PFU／ml）として図11に示される。図11に示されるように、5-ALA（0.2 mM）での処理は、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示した。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。図7、図10および図11の結果から、4日間および2日間の5-ALA処理は、7日間の5-ALA処理よりも低い、日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示したことが明らかとなった。

実施例 12

[0047] 上述のMTTアッセイに従って、非感染細胞を5-ALA溶液で2日間処理した際の細胞毒性を検討した。5-ALA溶液で2日間処理した細胞毒性の結果が図12に示される。

実施例 13

[0048] 上述のMTTアッセイに従って、非感染細胞を5-ALA溶液で4日間処理した際の細胞毒性を検討した。5-ALA溶液で4日間処理した細胞毒性の結果が図13に示される。

実施例 14

[0049] 上述のMTTアッセイに従って、非感染細胞を5-ALA溶液で7日間処理した際の細胞毒性を検討した。5-ALA溶液で7日間処理した細胞毒性の結果が図14に示される。

図12、13および14における「Cont」はネガティブコントロールである。非感染細胞に対して、用量依存的に5-ALAの細胞毒性が認められた。7日間の5-ALAでの処理におけるCC50（50%の細胞に細胞毒性が生じる薬剤の濃度）は0.8mMを超えていた。この0.8mMの濃度は、実施例6および7でウイルス複製の阻害効果が認められた5-ALAの濃度0.2mMよりも高かった。このことから、5-ALAは細胞毒性に起因する副作用を抑えつつ、フラビウイルス感染症を予防および／または治療できることが推察される。

実施例 15

[0050] 上述のMTTアッセイに従って、ルシドンで7日間処理した際の細胞毒性を検討した。

非感染細胞をルシドンで7日間処理した細胞毒性の結果が図15に示される。図15における「Cont」はネガティブコントロールである。用量依存的にルシドンの細胞毒性が認められた。ルシドンでの7日間の処理におけるCC50（50%の細胞に細胞毒性が生じる薬剤の濃度）は60μMを超えていた。ルシドンは、フラビウイルスに感染していない細胞に対しては40μMの濃度で細胞毒性を示さなかった。よって、以下の実施例において、ルシドンの抗フラビウイルス活性を検討する際の濃度を40μMと設定した。

実施例 16

[0051] 感染後7日間の薬剤処理における、5-ALAのデングウイルス複製の阻害効果を、40μMのルシドンと比較した。

使用した薬剤は5-ALA（0.2mM）、ルシドン（40μM）、および水（図中、Cont）であった。薬剤での処理は感染1日後から7日間（Day 2からDay 8の終わりまで）であった。処理された細胞から放出さ

れた子孫ウイルスの力価が評価され、 $\log$ (PFU/ml) として図 16 に示される。図 16 に示されるように $40 \mu\text{M}$ のルシドンは 0.2 mM の 5-A LA よりも強いデングウイルス複製の阻害効果を示した。

実施例 17

[0052] 感染後 7 日間の薬剤処理における、5-A LA の日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を、 $40 \mu\text{M}$ のルシドンと比較した。

使用した薬剤は 5-A LA (0.2 mM)、ルシドン ($40 \mu\text{M}$)、および水 (図中、Cont) であった。薬剤での処理は感染 1 日後から 7 日間 (Day 2 から Day 8 の終わりまで) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、 $\log$ (PFU/ml) として図 17 に示される。図 17 に示されるように $40 \mu\text{M}$ のルシドンは 0.2 mM の 5-A LA よりも強い日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示した。

実施例 18

[0053] フラビウイルス感染細胞に対するルシドンおよび 5-A LA の細胞毒性について検討した。

実施例 16 および実施例 17 の試験において、デングウイルス 2 型 New Guinea C 株 (DENV2 NGC) または日本脳炎ウイルス中山株 (JEV Nakayama) を感染させた細胞を薬剤で 2 日間処理した際の、細胞の状態を光学顕微鏡で観察した。それぞれの細胞の状態を示す顕微鏡写真を図 18 に示す。図 18 において、NGC はデングウイルス 2 型 New Guinea C 株 (DENV2 NGC) を示し、Nakayama は日本脳炎ウイルス中山株 (JEV Nakayama) を示す。ルシドンで処理したデングウイルス感染細胞および日本脳炎ウイルス感染細胞はいずれも、かなりの細胞に剥離が認められた。これは、デングウイルス感染細胞および日本脳炎ウイルス感染細胞に対して、 $40 \mu\text{M}$ のルシドンが細胞毒性を有していたことを示す。これに対して、 0.2 mM の 5-A LA はデングウイルス感染細胞および日本脳炎ウイルス感染細胞に対して剥離を示さなかった。すなわち、 0.2 mM の 5-A LA は、これら感染細胞に対する細胞毒性を有していないと考えられる。

[0054] このことから、実施例 16（すなわち、図 16）および実施例 17（すなわち、図 17）で示された $40\text{ }\mu\text{M}$ でのルシドンの抗フラビウイルス活性には、感染細胞に対するルシドンの細胞毒性が反映されていると推察される。すなわち、ルシドンはデングウイルスおよび日本脳炎ウイルスの宿主となる感染細胞自体を殺し、この実験系におけるウイルス増殖のための宿主細胞数が低減する。その結果、ルシドンの存在下では、培養液中に存在するウイルスの量が低下したものと考えられる。つまり、実施例 16 および実施例 17 の結果は、ルシドンの細胞毒性以外の抗フラビウイルス活性を、正確に 5-A L A の抗フラビウイルス活性と対比した結果ではないと言える。ルシドンと 5-A L A の抗フラビウイルス活性についての対比は、それぞれの薬剤が細胞毒性のない濃度で行われるべきである。そこで、以下の実施例 19 および実施例 20 においては、細胞毒性を生じさせない濃度で、ルシドンと 5-A L A との抗フラビウイルス活性の比較を行った。

実施例 19

[0055] 感染後 7 日間の薬剤処理における、5-A L A のデングウイルス複製の阻害効果を、 $10\text{ }\mu\text{M}$ 、および $2.5\text{ }\mu\text{M}$ のルシドンと比較した。

使用した薬剤は 5-A L A (0.2 mM)、ルシドン ($10\text{ }\mu\text{M}$)、ルシドン ($2.5\text{ }\mu\text{M}$) および水（図中、NC）であった。薬剤での処理は感染 1 日後から 7 日間（Day 2 から Day 8 の終わりまで）であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、 $\log(\text{PFU}/\text{ml})$ として図 19 に示される。図 19 に示されるように 0.2 mM の 5-A L A は、 $10\text{ }\mu\text{M}$ および $2.5\text{ }\mu\text{M}$ のルシドンよりも強いデングウイルス複製の阻害効果を示した。

実施例 20

[0056] 感染後 7 日間の薬剤処理における、5-A L A の日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を、 $10\text{ }\mu\text{M}$ 、および $2.5\text{ }\mu\text{M}$ のルシドンと比較した。

使用した薬剤は 5-A L A (0.2 mM)、ルシドン ($10\text{ }\mu\text{M}$)、ルシドン ($2.5\text{ }\mu\text{M}$) および水（図中、NC）であった。薬剤での処理は感染

1 日後から 7 日間 (D a y 2 から D a y 8 の終わりまで) であった。処理された細胞から放出された子孫ウイルスの力価が評価され、l o g (P F U / m l) として図 20 に示される。図 20 に示されるように 0. 2 m M の 5 - A L A は、1 0 μ M および 2. 5 μ M のルシドンよりも強い日本脳炎ウイルス複製の阻害効果を示した。

[0057] ルシドンと 5 - A L A を比較した実施例の結果から、細胞毒性と薬効を示す濃度の差 (すなわち、セラピューティックウィンドウ) は以下の通りである。

5 - A L A については、抗フラビウイルス活性は 0. 2 m M 以上で確認されており、細胞毒性は少なくとも 0. 8 m M である (0. 8 m M を超える 5 - A L A の細胞毒性は未検討である)。よって、5 - A L A のセラピューティックウィンドウは、 $0. 2 \text{ m M} \leq 5 - A L A < 0. 8 \text{ m M}$ 以上である。

一方、ルシドンの抗フラビウイルス活性は 4 0 μ M で確認され、かつ細胞毒性も 4 0 μ M で確認されたので、セラピューティックウィンドウはなしということになる。

従って、5 - A L A はルシドンよりも有用なフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤であることは明らかである。ルシドンの抗デングウイルス活性の作用メカニズムの一つとして、細胞内での H O - 1 の増大が知られている。よって、5 - A L A の抗ウイルス作用として細胞内の H O - 1 の増大が知られているとしても、フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤としての 5 - A L A の有用性は、単に H O - 1 の増大から予測されるものだけに起因するものではないのは明らかである。この 5 - A L A の有利な効果は、ルシドンによって示されるような H O - 1 の増大のみに起因する効果をはるかに越える予想外の効果であると言える。

実施例 21

[0058] 実施例 6 と同様に、デングウイルス 1 型 望月株 (DENV1)、デングウイルス 3 型 CH53489 株 (DENV3)、デングウイルス 4 型 TVP360 株 (DENV4)、ジカウイルス PRVABC59 株 (ZKV) の 4 種のウイルスに対して、感染後 7 日間の薬剤処理

における、各ウイルス複製の阻害効果を確認した。ただし、感染当日（Day 1）の接種はDENV1、DENV3、DENV4、ZKVに対してそれぞれ $MOI = 0.2$ 、 $MOI = 0.01$ 、 $MOI = 0.01$ 、 $MOI = 0.05$ で実施された。また、上述のウイルスの感染力価測定の手順（3）においてプレートを $37^{\circ}\text{C} \cdot 5\% \text{CO}_2$ で静置する期間をDENV1、DENV3、DENV4は10日間、ZKVは6日間とした。なお、使用した薬剤は5-ALA（0.2 mM）、5-ALA（0.04 mM）、リバビリン（300 μM 、図中Rib）、および水（図中、NC）であった。

[0059] （実施例 21-1）

感染後7日間の薬剤処理における、デングウイルス1型複製の阻害効果の検討

図22に示されるように、5-ALA（0.2 mM）での処理は、Day 9まで、デングウイルス1型の阻害効果を示した。5-ALA（0.2 mM）での処理によるデングウイルス複製の阻害効果は、リバビリン（300 μM ）による効果よりも強力であった。薬剤を培養液から取り除くことにより、この阻害効果は時間の経過と共に消失した。

[0060] （実施例 21-2）

感染後7日間の薬剤処理における、デングウイルス3型複製の阻害効果の検討

図23に示されるように、5-ALA（0.2 mM）での処理は、Day 7まで、デングウイルス3型の阻害効果を示した。5-ALA（0.2 mM）での処理によるデングウイルス複製の阻害効果は、リバビリン（300 μM ）による効果よりも強力であった。Day 8には、5-ALA（0.2 mM）での処理によるデングウイルス複製の阻害効果は低下した。この阻害効果の低下の原因の一つとして、5-ALA耐性ウイルスの出現が考えられる。薬剤での処理の継続による阻害効果の低下は、リバビリン処理においてもDay 7から認められた。

[0061] （実施例 21-3）

感染後 7 日間の薬剤処理における、デングウイルス 4 型複製の阻害効果の検討

図 24 に示されるように、5-ALA (0.2 mM) での処理は、Day 7 まで、デングウイルス 4 型の阻害効果を示した。5-ALA (0.2 mM) での処理によるデングウイルス複製の阻害効果より、リバビリン (300 μ M) による効果が強力であった。Day 8 には、5-ALA (0.2 mM) での処理によるデングウイルス複製の阻害効果は低下した。この阻害効果の低下の原因の一つとして、5-ALA 耐性ウイルスの出現が考えられる。薬剤での処理の継続による阻害効果の低下は、リバビリン処理においても認められた。

[0062] (実施例 21-4)

感染後 7 日間の薬剤処理における、ジカウイルス複製の阻害効果の検討

図 25 に示されるように、5-ALA (0.2 mM) での処理は、Day 8 まで、ジカウイルスの阻害効果を示した。5-ALA (0.2 mM) での処理によるジカウイルス複製の阻害効果は、Day 5、6、8 においてリバビリン (300 μ M) による効果より強力であった。Day 9 以降には、5-ALA (0.2 mM) での処理によるデングウイルス複製の阻害効果は低下した。この阻害効果の低下の原因の一つとして、5-ALA 耐性ウイルスの出現が考えられる。薬剤での処理の継続による阻害効果の低下は、リバビリン処理においても認められた。

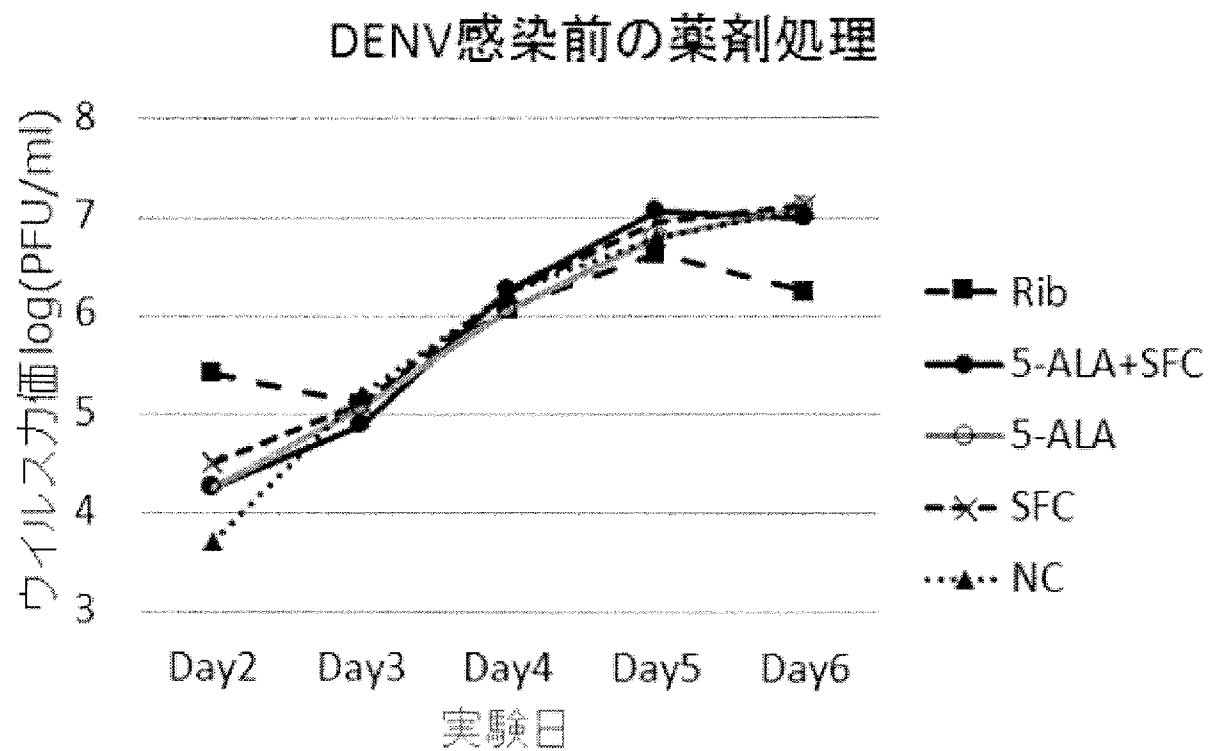
産業上の利用可能性

[0063] 本発明の実施形態である 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) 若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤、並びに本発明の実施形態であるフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法は、フラビウイルスの感染症の予防および／または治療に使用されうる。

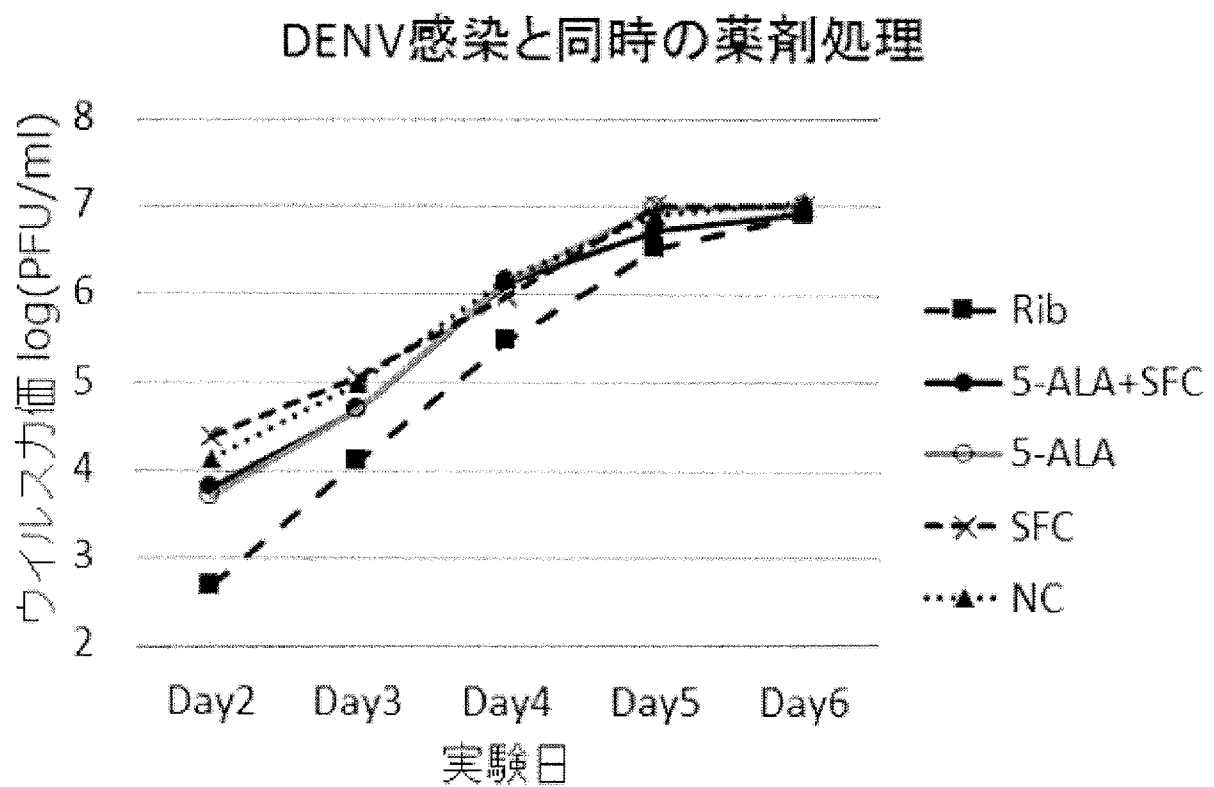
請求の範囲

- [請求項1] 5-アミノレブリン酸（5-A L A）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。
- [請求項2] フラビウイルスがデングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、または黄熱ウイルスである請求項1に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。
- [請求項3] 鉄化合物をさらに含む、請求項1に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。
- [請求項4] 光照射を必要としない、請求項1に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤。
- [請求項5] 5-アミノレブリン酸（5-A L A）若しくはそのエステル、またはそれらの塩から選択される少なくとも一種を含むフラビウイルス感染症の予防および／または治療剤を対象に投与することを含む、フラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。
- [請求項6] フラビウイルスがデングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、または黄熱ウイルスである請求項5に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。
- [請求項7] フラビウイルス感染症の予防および／または治療剤が鉄化合物をさらに含む、請求項5に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。
- [請求項8] 光照射を必要としない、請求項5に記載のフラビウイルス感染症の予防および／または治療方法。

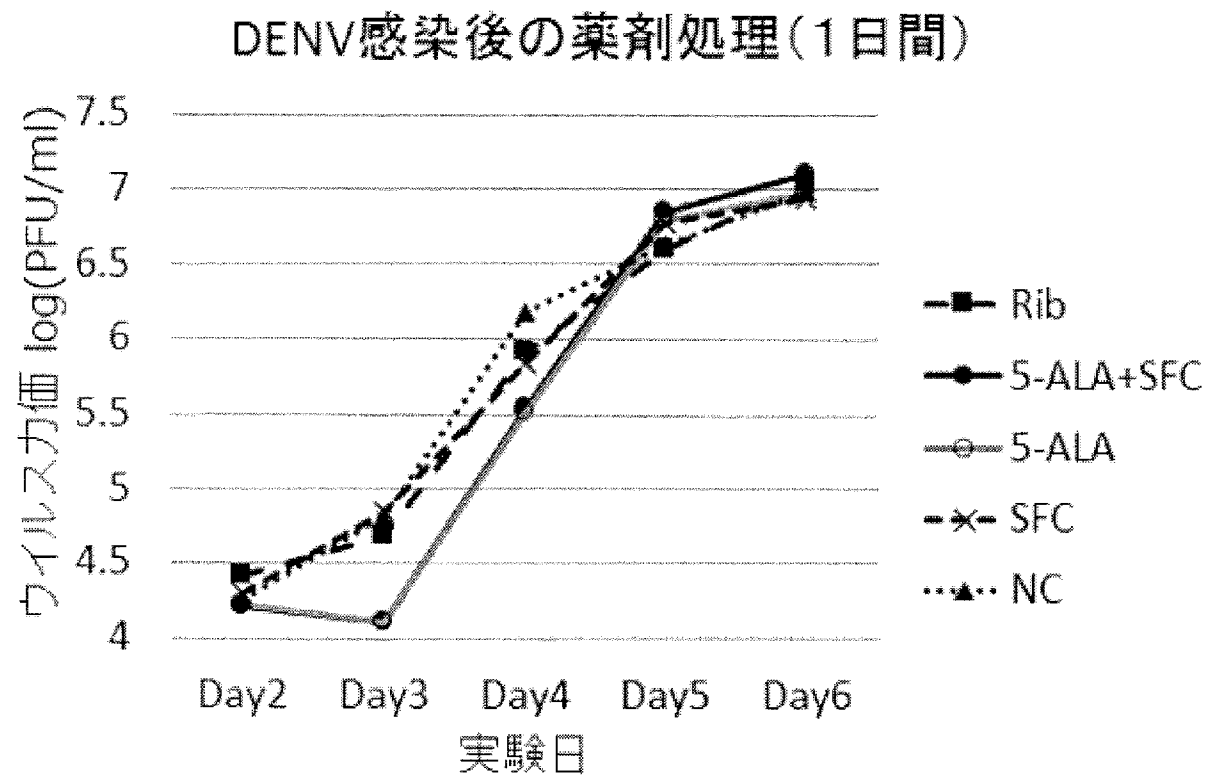
[図1]



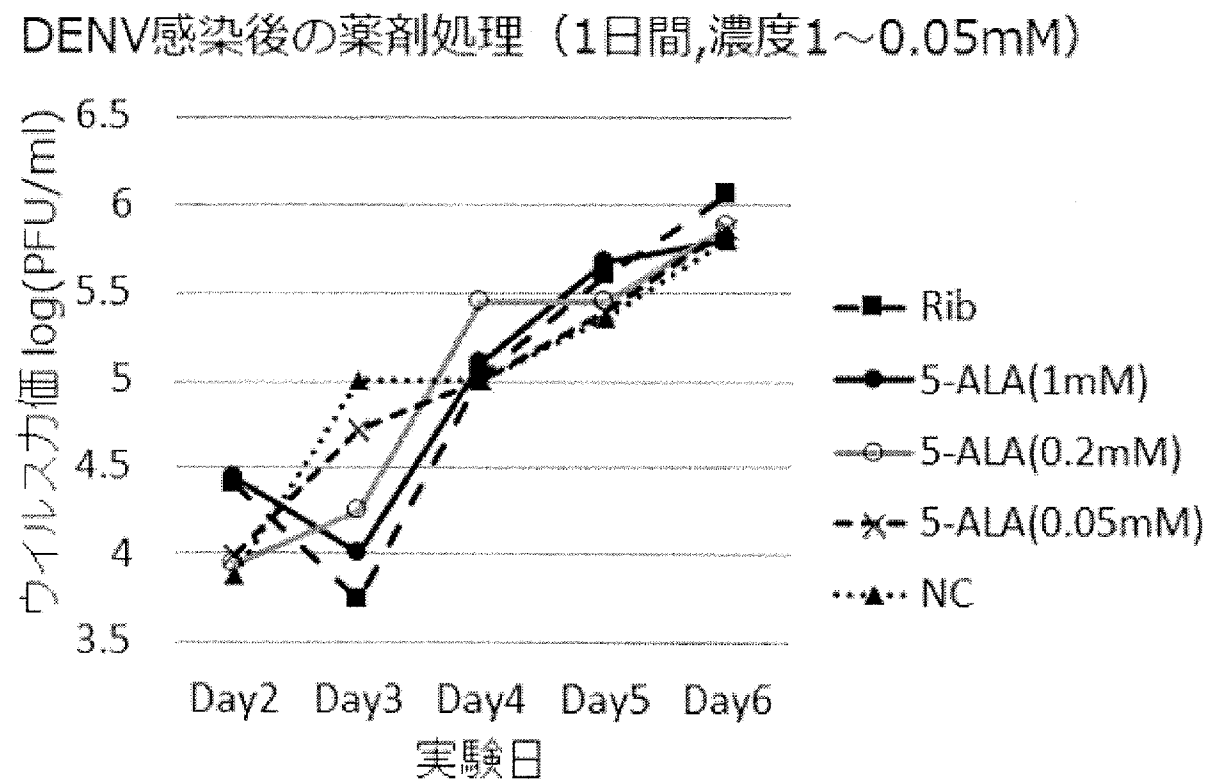
[図2]



[図3]

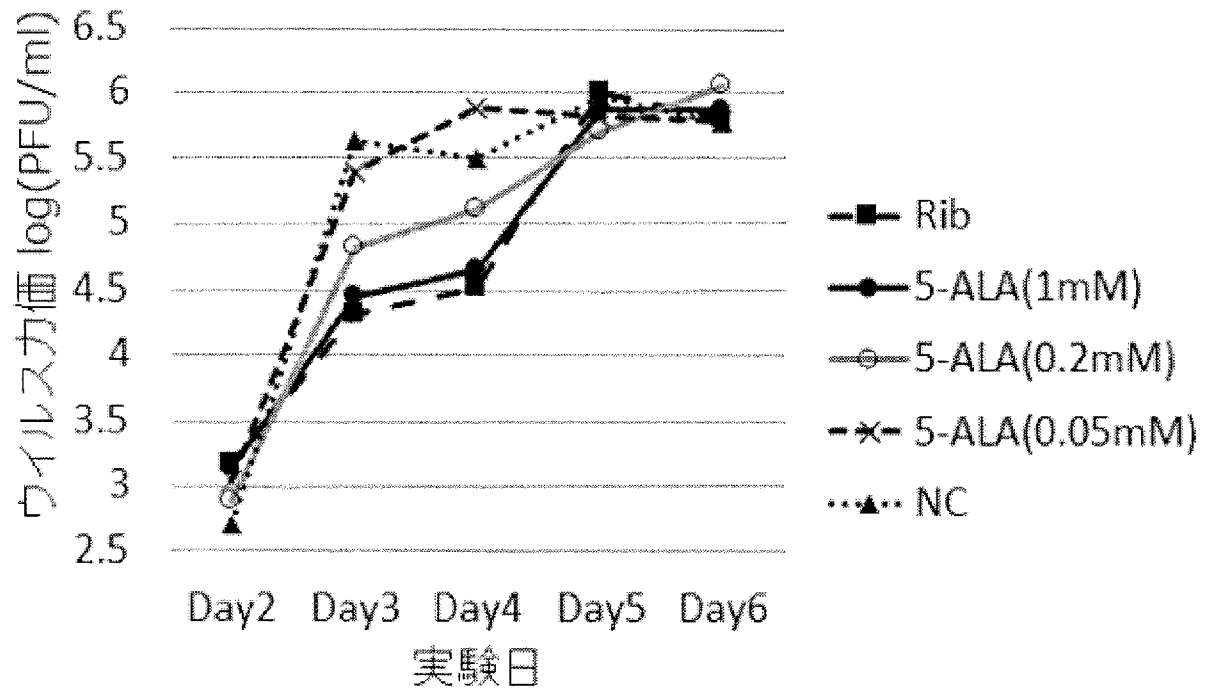


[図4]



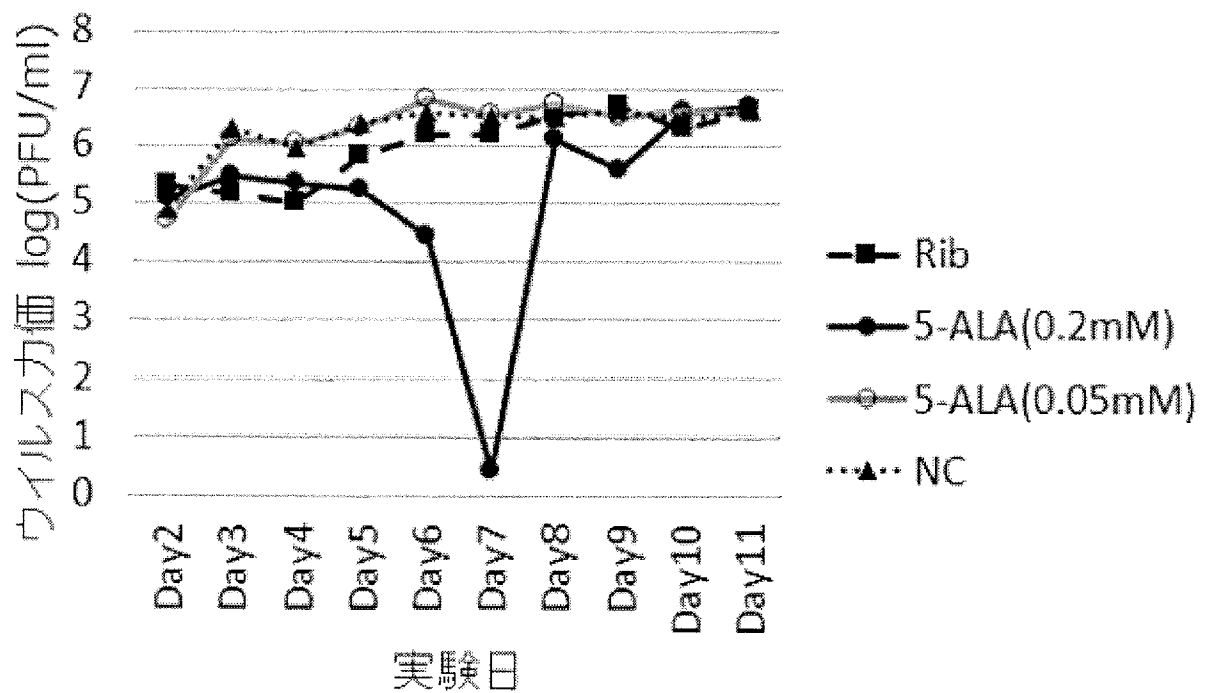
[図5]

JEV感染後の薬剤処理(1日間)



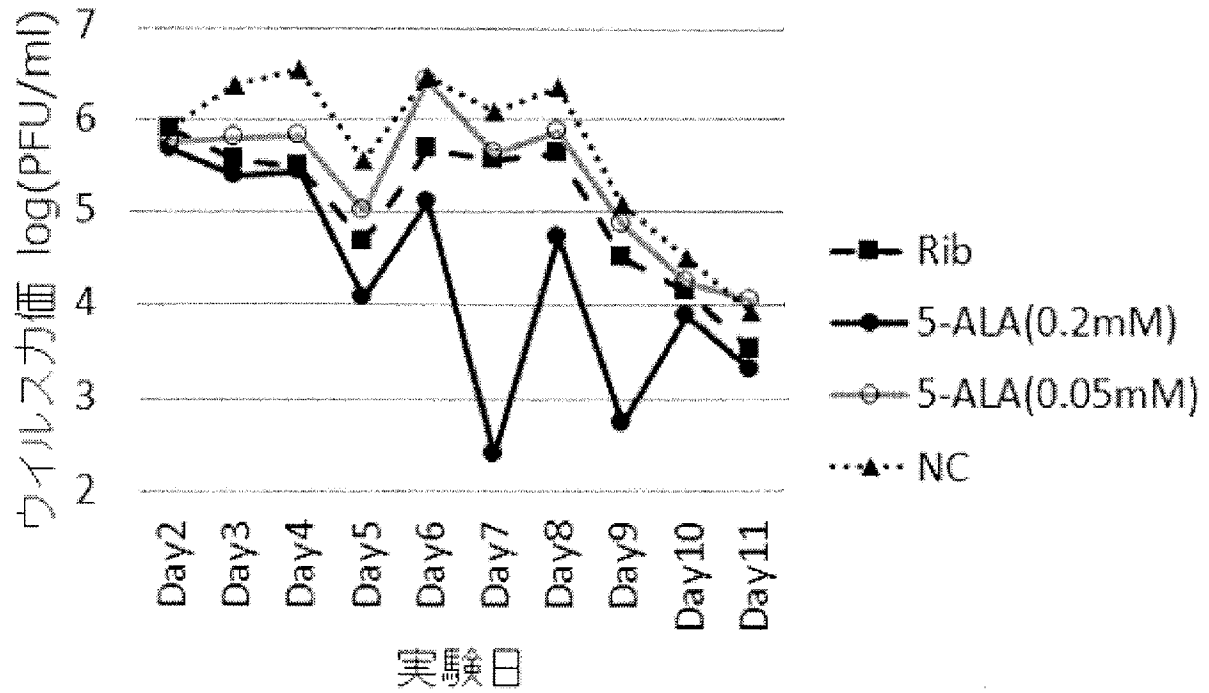
[図6]

DENV感染後7日間の薬剤処理



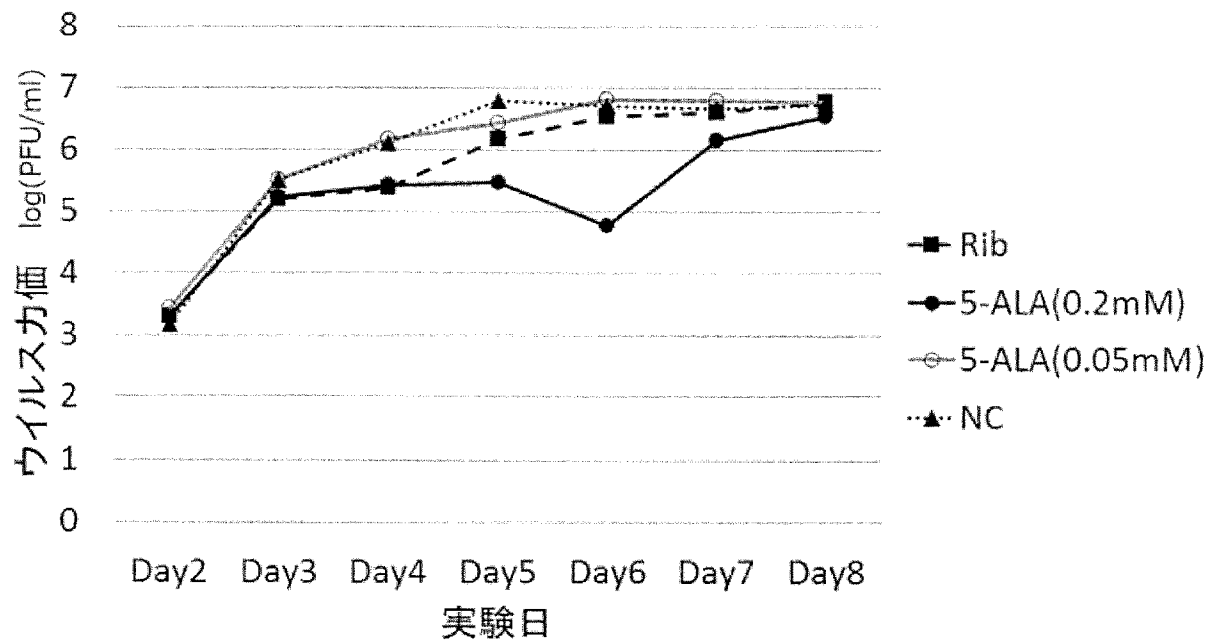
[図7]

JEV感染後7日間の薬剤処理

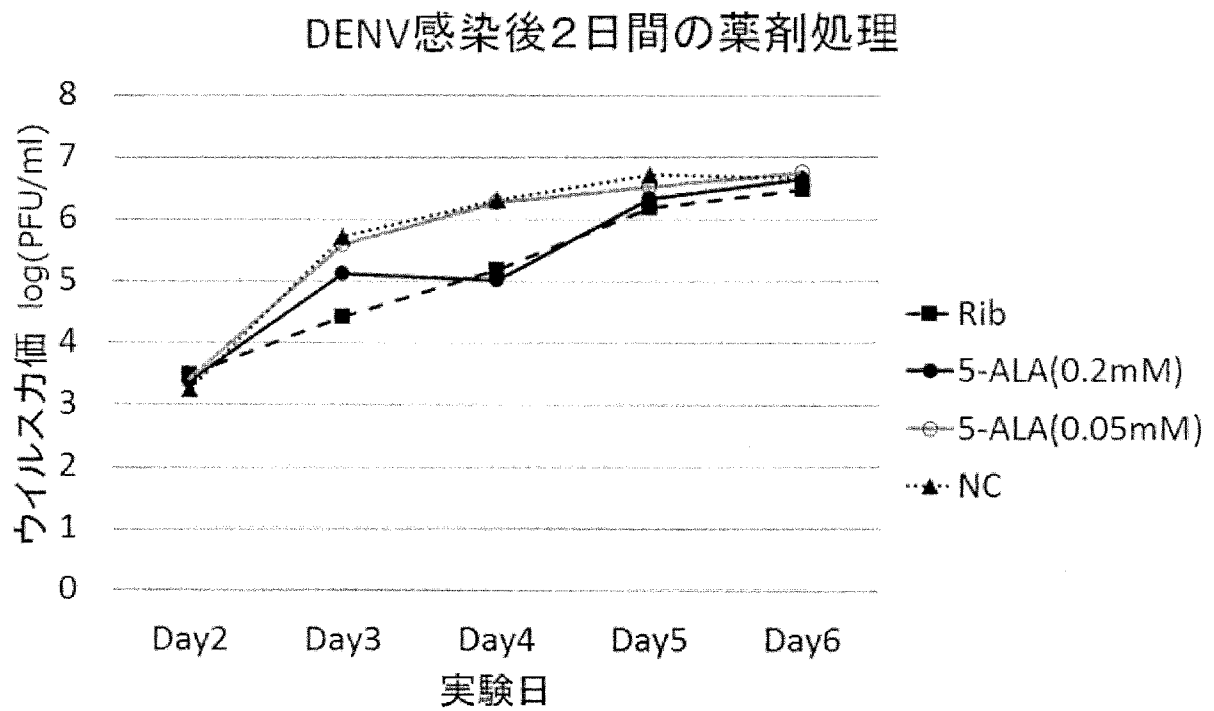


[図8]

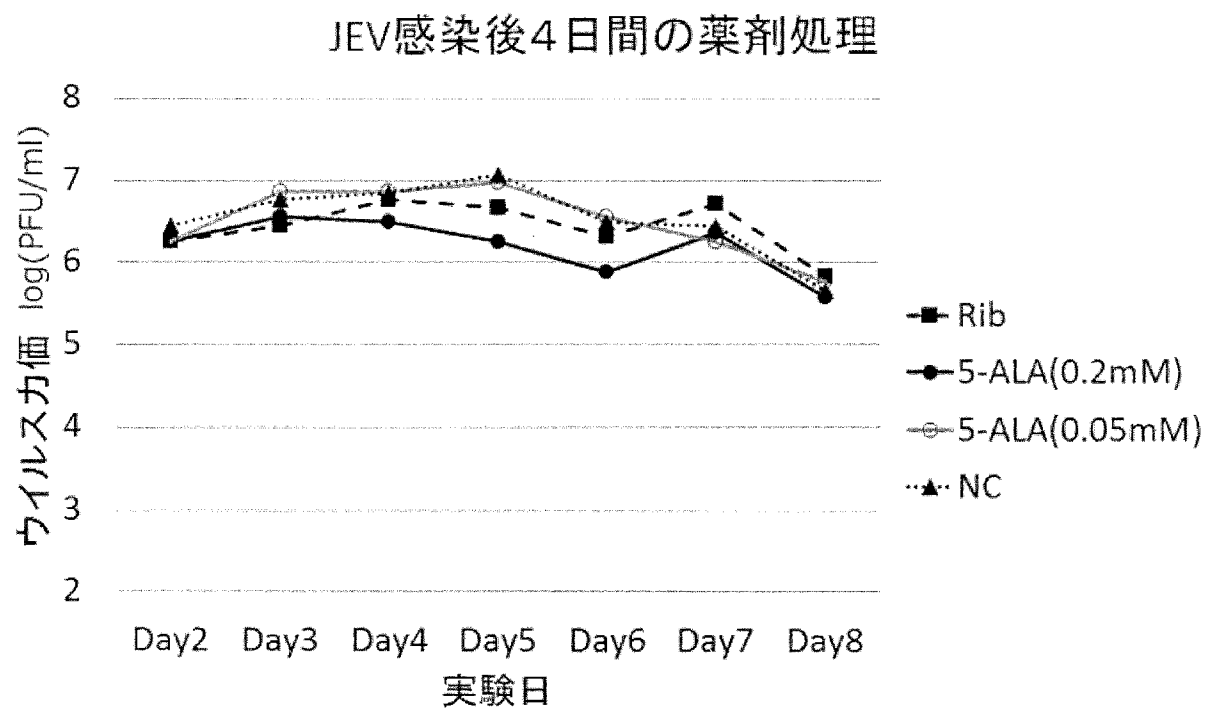
DENV感染後4日間の薬剤処理



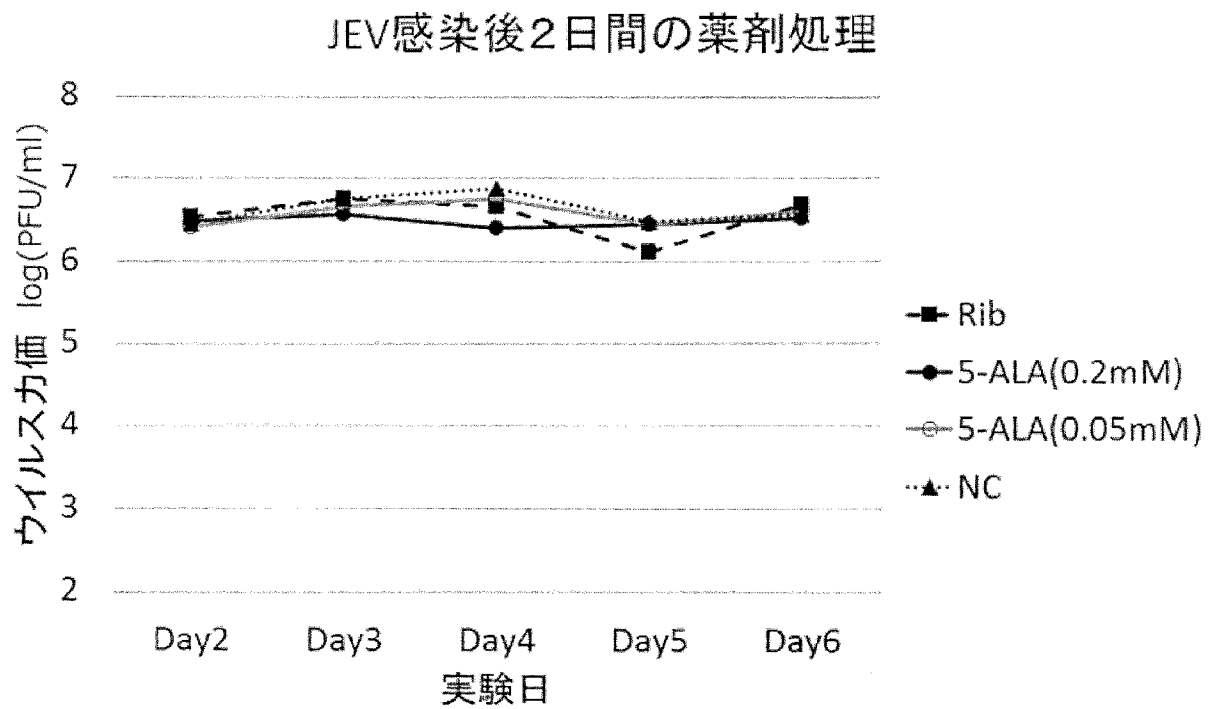
[図9]



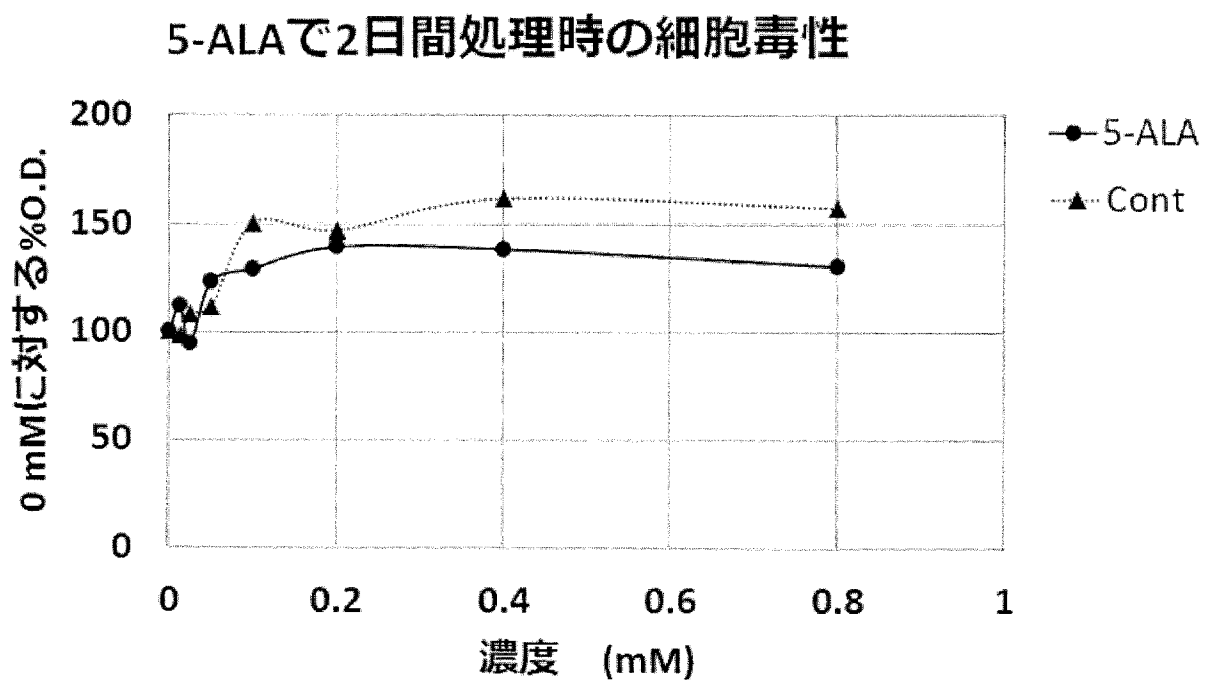
[図10]



[図11]

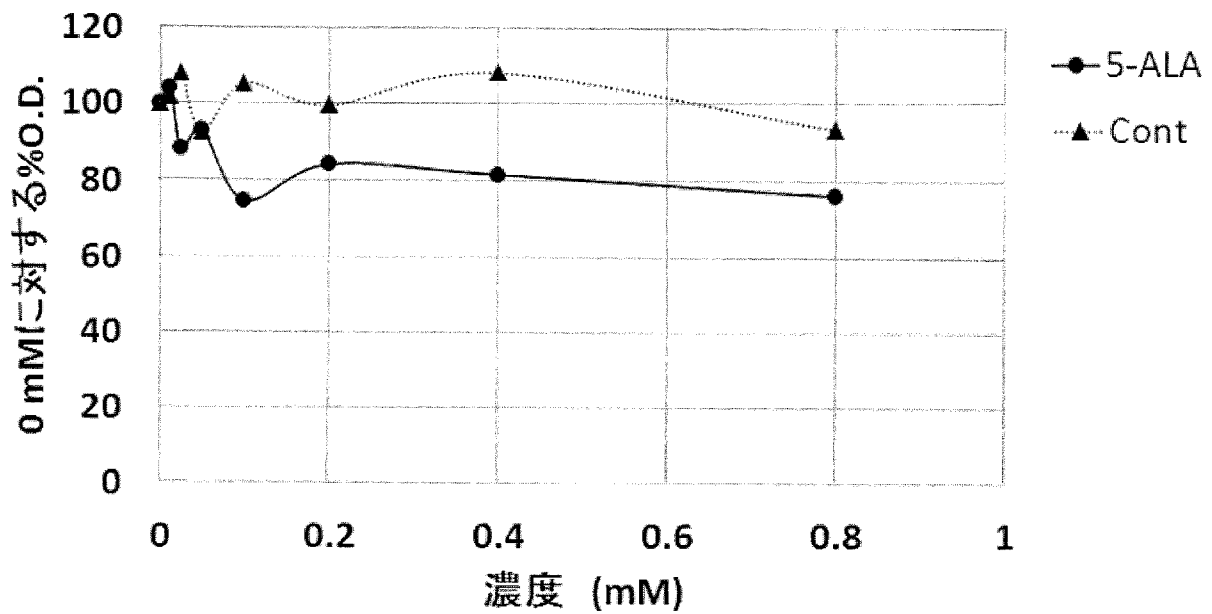


[図12]



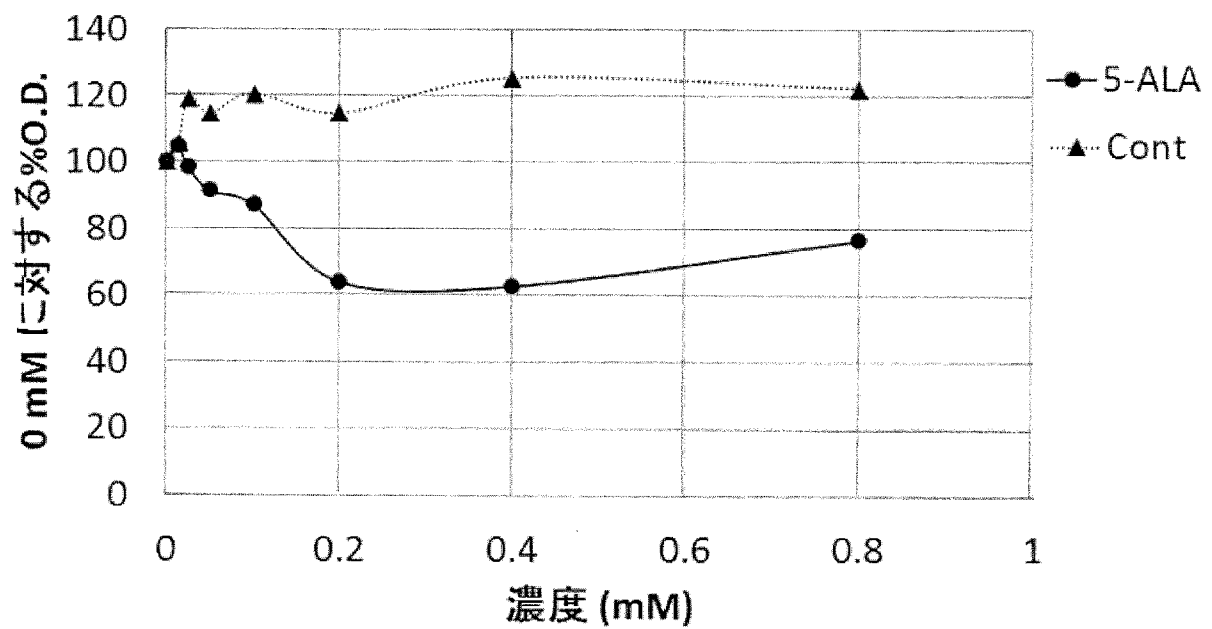
[図13]

5-ALAで4日間処理時の細胞毒性



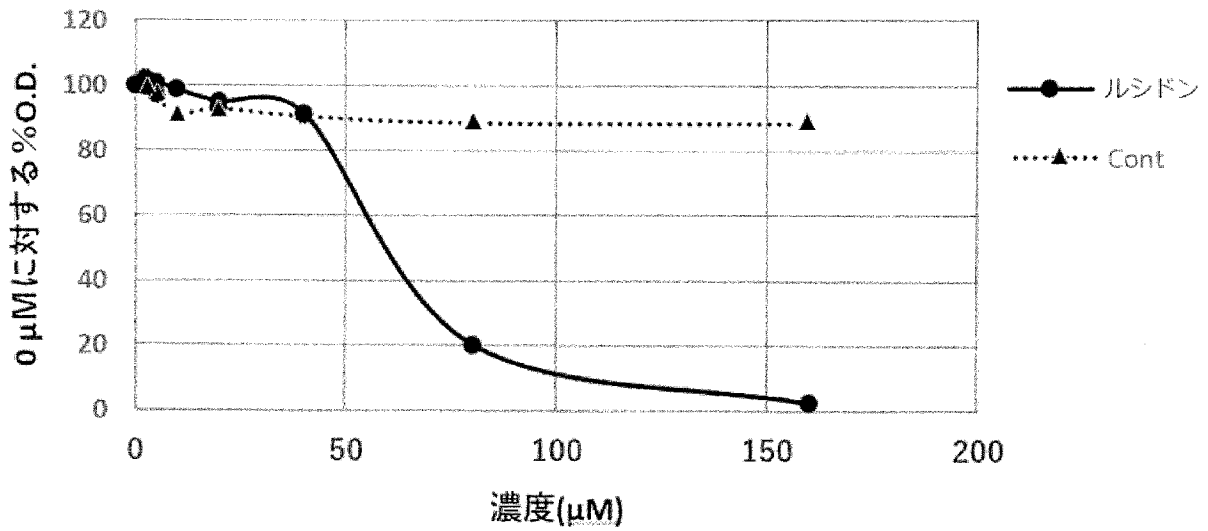
[図14]

5-ALAで7日間処理時の細胞毒性



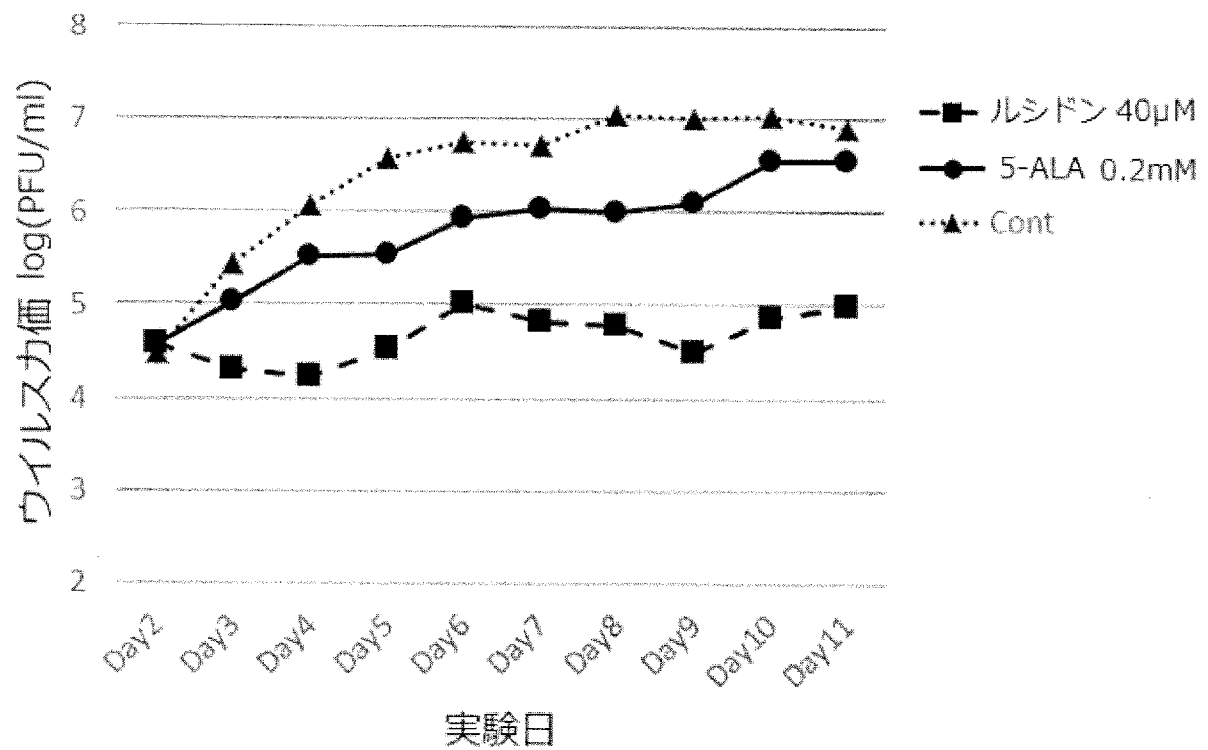
[図15]

ルシドンで7日間処理時の細胞毒性

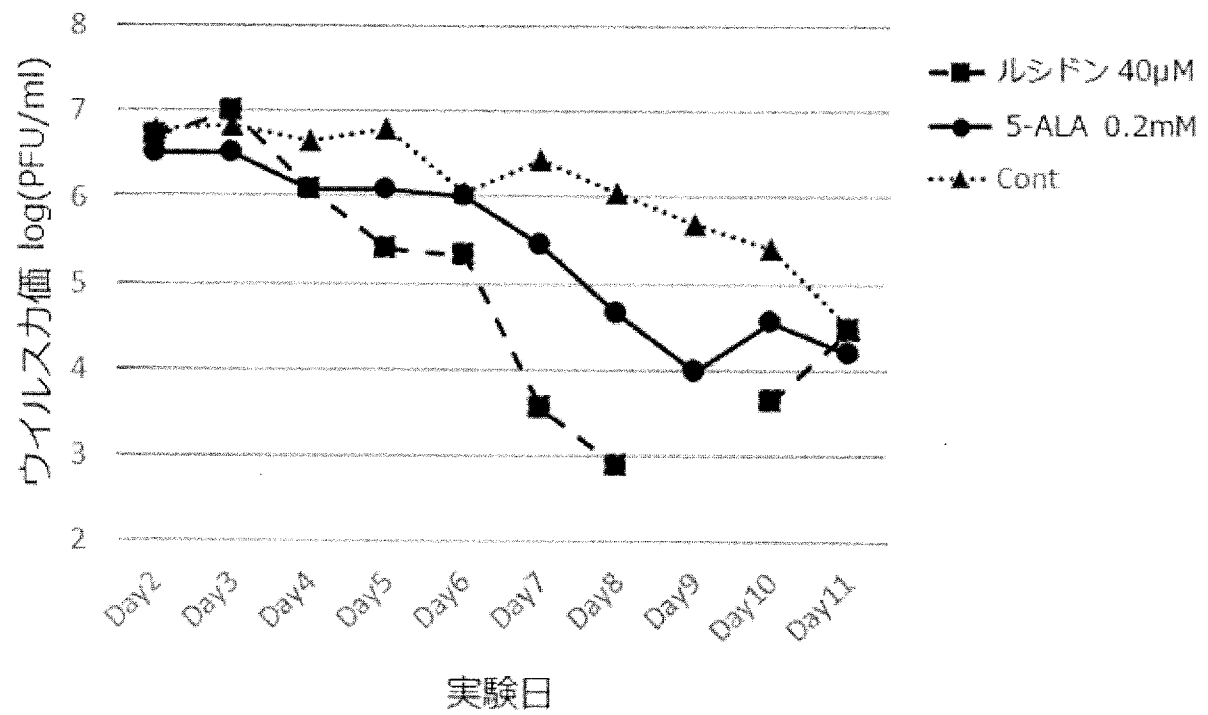


[図16]

5-ALAと40μMルシドンのDENV複製阻害効果



[図17]

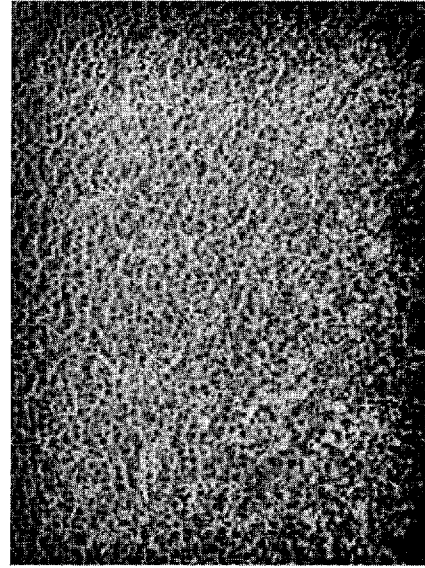
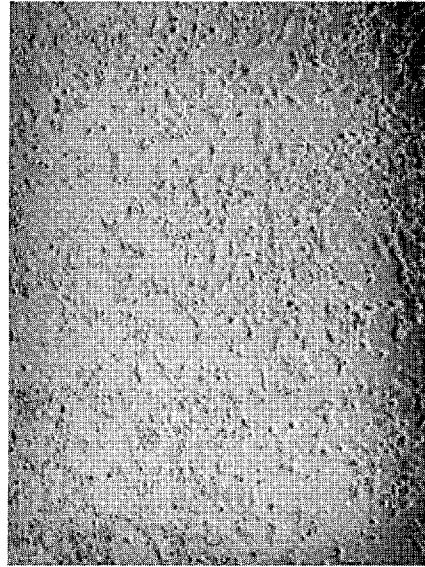
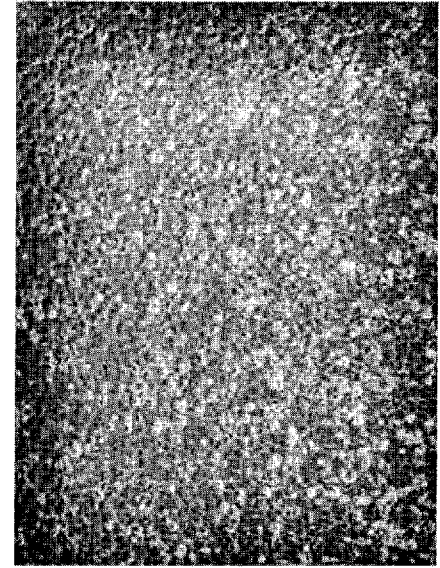
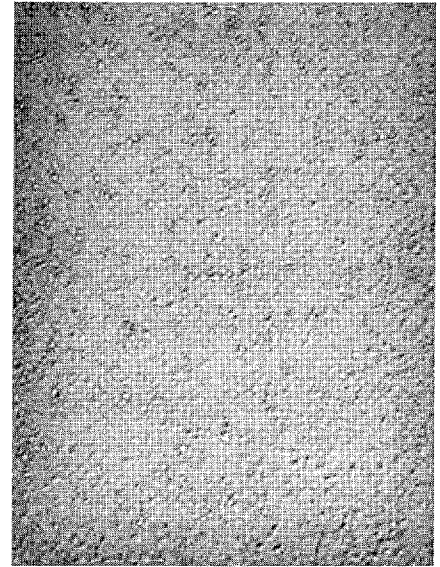
5-ALAと40 μ MルシドンのJEV複製阻害効果

[図18]

感染細胞に対するルシドンの細胞毒性

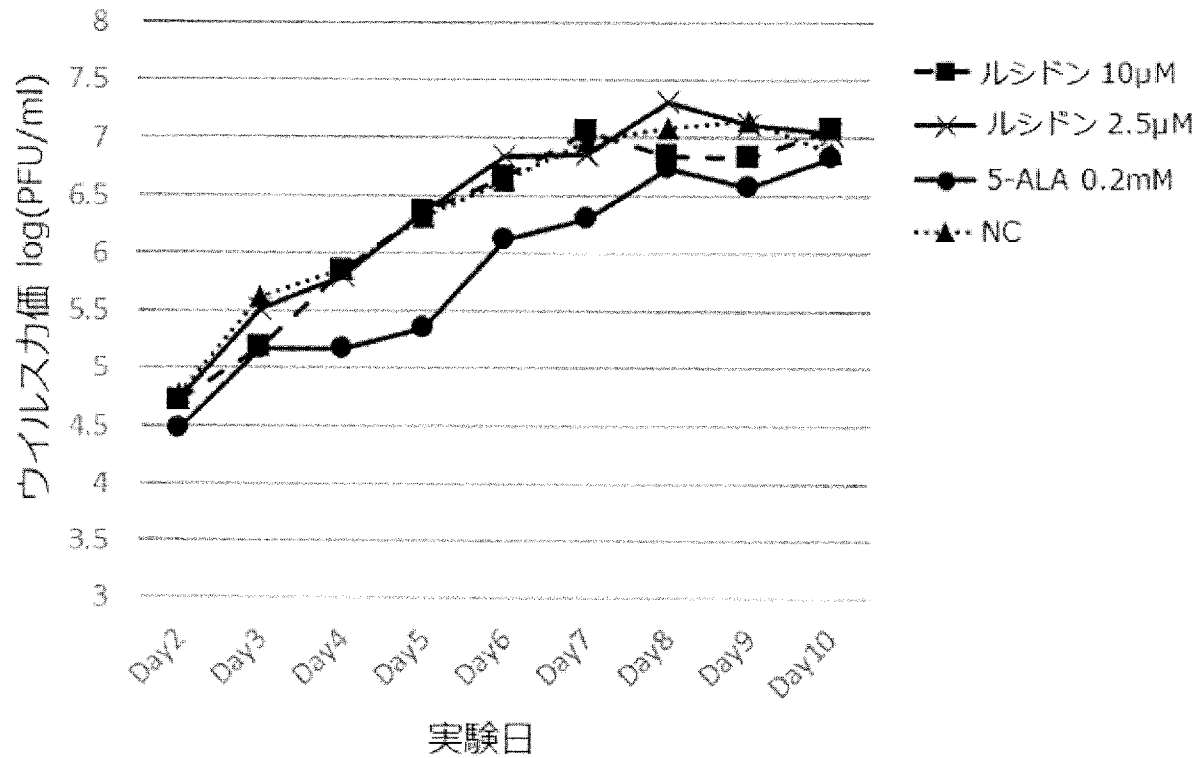
ルシドン

5-ALA

NGC
(2日間処理)Nakayama
(2日間処理)

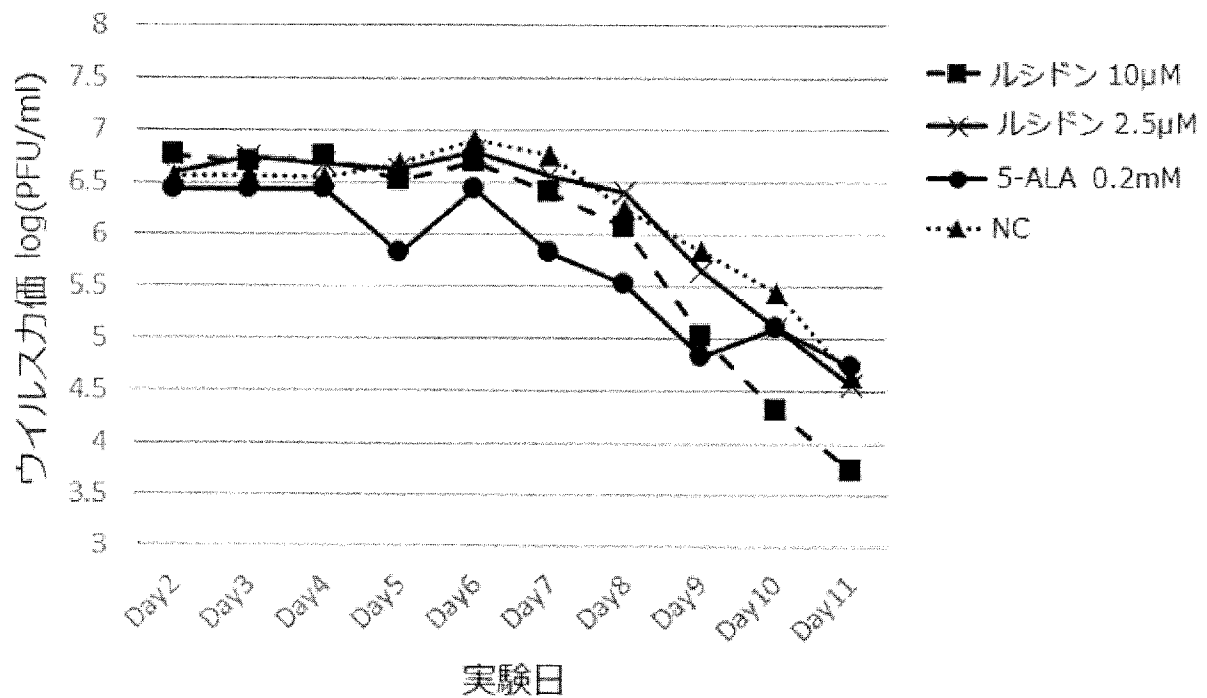
[図19]

5-ALAと低用量ルシドンのDENV複製阻害効果



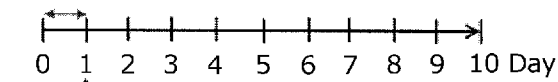
[図20]

5-ALAと低用量ルシドンのJEV複製阻害効果



[図21]

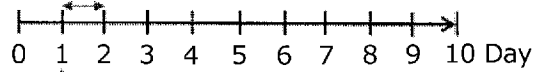
実施例 1
薬剤処理(24hr)



ウイルス感染

実施例 2

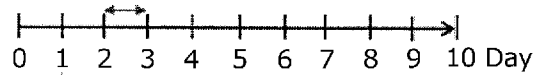
薬剤処理(24hr)



ウイルス感染

実施例 3

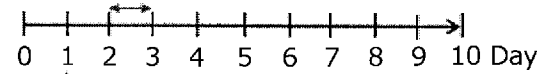
薬剤処理(24hr)



ウイルス感染

実施例 4 および 5

薬剤処理(24hr)



ウイルス感染

実施例 6、7、16、17、19、20 および 21

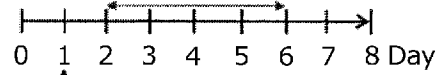
薬剤処理(7-day)



ウイルス感染

実施例 8 および 10

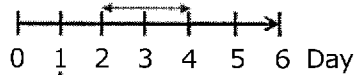
薬剤処理(4-day)



ウイルス感染

実施例 9 および 11

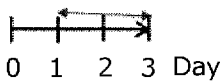
薬剤処理(2-day)



ウイルス感染

実施例 12

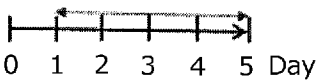
薬剤処理(2-day)



MTT

実施例 13

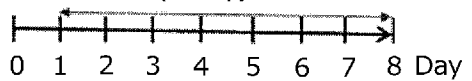
薬剤処理(4-day)



MTT

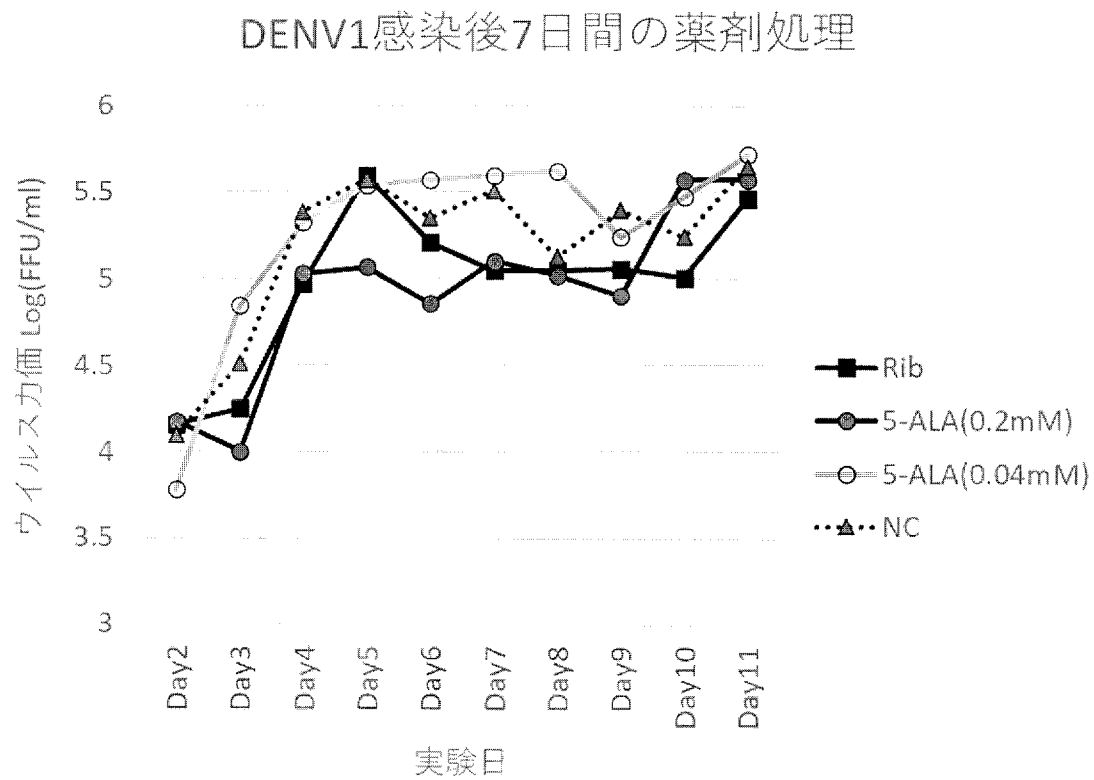
実施例 14 および 15

薬剤処理(7-day)

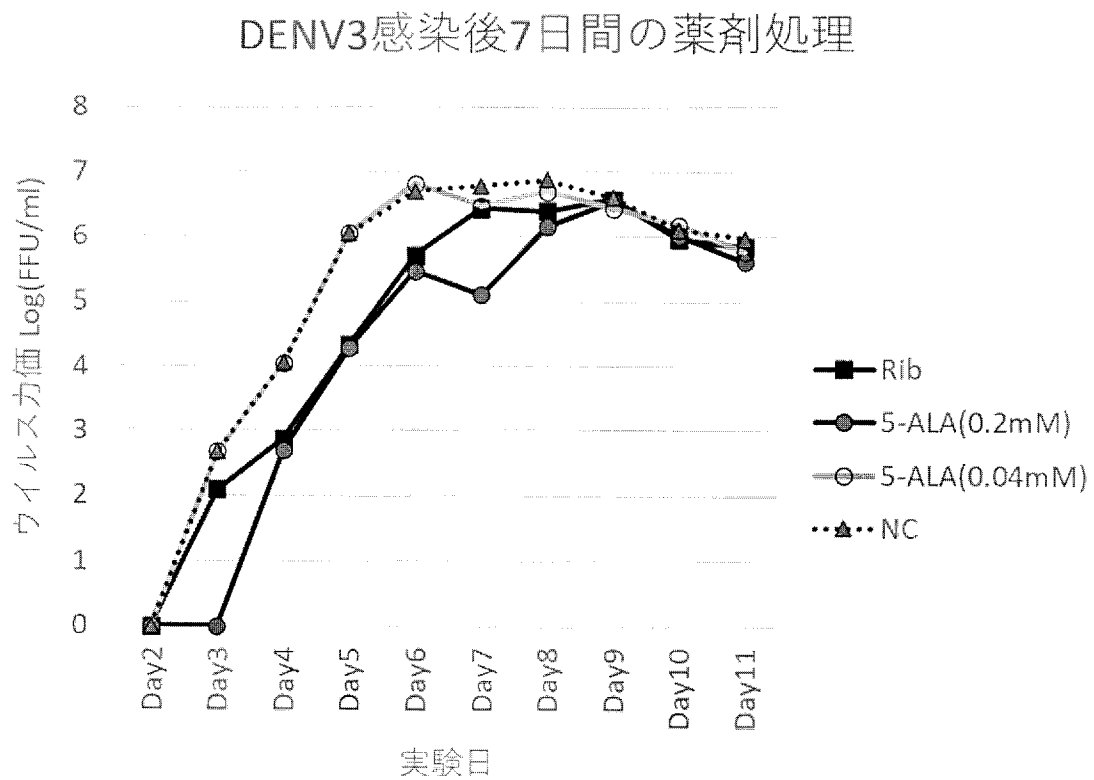


MTT

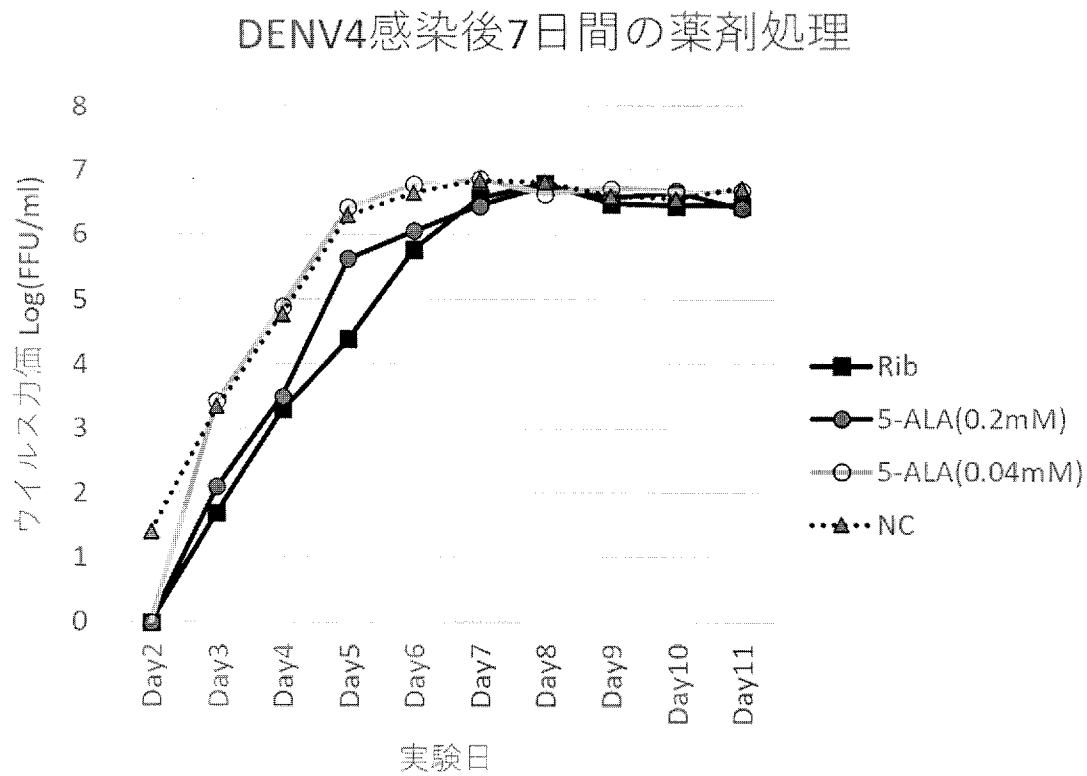
[図22]



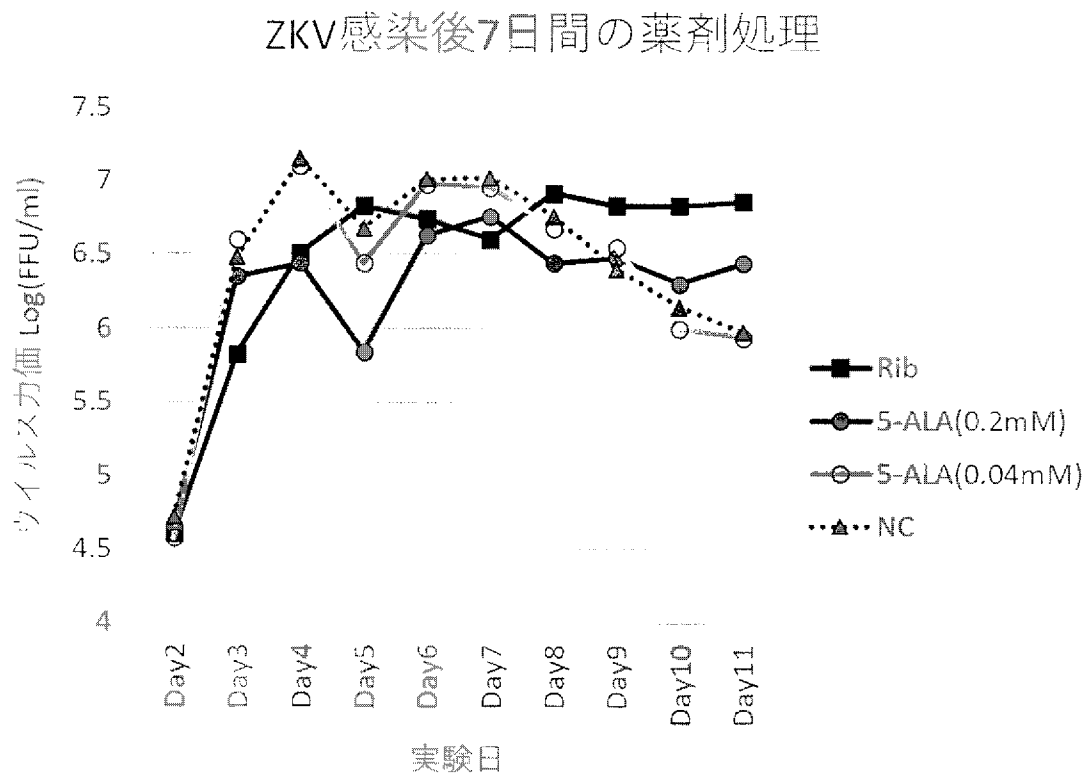
[図23]



[図24]



[図25]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/017837

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61P31/14 (2006.01) i, A61K33/26 (2006.01) i, A61K31/197 (2006.01) i, A61K31/22 (2006.01) i

FI: A61K31/22, A61K31/197, A61P31/14, A61K33/26

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)

Int.Cl. A61P31/14, A61K33/26, A61K31/197, A61K31/22

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2020

Registered utility model specifications of Japan 1996-2020

Published registered utility model applications of Japan 1994-2020

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

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ITO, H. et al., Oral administration of 5-aminolevulinic acid induces heme oxygenase-1 expression in peripheral blood mononuclear cells of healthy human subjects in combination with ferrous iron, European Journal of Pharmacology, 2018, 833, 25-33, particularly, abstract, fig. 4-6	1-8
Y	ZHAO, M. et al., 5-Aminolevulinic acid combined with sodium ferrous citrate ameliorates H2O2-induced cardiomyocyte hypertrophy via activation of the MAPK/Nrf2/HO-1 pathway, Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 308, C665-C672, particularly, fig. 3-B, 3-D, 4-C, discussion	1-8
Y	SAITO, K. et al., Dynamics of absorption, metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells, Biochemistry and Biophysics Reports, 2017, 11, 105-111, particularly, abstract, fig. 3-A	1-8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15.06.2020

Date of mailing of the international search report

23.06.2020

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,

Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/017837

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ESPINOZA, J. et al., Modulation of antiviral immunity by heme oxygenase-1, Am J Pathol, 2017, vol. 187, no. 3, 487-493, particularly, abstract, table 1, p. 491, ll. 34-49	1-8
Y	KALAMOUNI, C. et al., Subversion of the heme oxygenase-1 antiviral activity by zika virus, Viruses, 2018, 11, 2, 1-13, particularly, abstract, fig. 2, 4. Discussion and conclusions	1-8
X Y	WO 2011/003071 A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES) 06.01.2011 (2011-01-06), claims, page 14, line 13 to page 15, line 4, table 3, page 95, table S1A	1-2, 4-6, 8 1-8
A	合阪幸三, 子宮内膜症の治療 薬物療法 アドバック療法, 日本臨床, 2001, 増刊号 1, 129-132, particularly, p. 130, left column, ll. 3-11, fig. 2, (AISAKA, Kozo, Japanese Journal of Clinical Medicine), non-official translation (Treatment of endometriosis drug therapy add-back therapy, extra issue no. 1)	1-8
A	LEE, B. J. et al., Relationship of protoporphyrin IX synthesis to photodynamic effects by 5-aminolaevulinic acid and its esters on various cell lines derived from the skin, British Journal of Dermatology, 2008, 159, pp. 61-67, particularly, abstract, introduction	1-8
A	WO 2019/059027 A1 (NEOPHARMA JAPAN CO., LTD.) 28.03.2019 (2019-03-28), claims, examples	1-8
A	HUANG, H. et al., Nrf2-dependent induction of innate host defense via heme oxygenase-1 inhibits zika virus replication, Virology, 2017, 503, 1-5, abstract, entire text	1-8
A	CHEN, W. et al., Lucidone suppresses dengue viral replication through the induction of heme oxygenase-1, Virulence, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 588-603, abstract, entire text	1-8
A	WO 2016/163082 A1 (SBI PHARMACEUTICALS CO., LTD.) 13.10.2016 (2016-10-13), claims, examples	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2020/017837

WO 2011/003071 A1 06.01.2011 (Family: none)

WO 2019/059027 A1 28.03.2019 (Family: none)

WO 2016/163082 A1 13.10.2016 EP 3281629 A1
claims, examples

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61P 31/14(2006.01)i; A61K 33/26(2006.01)i; A61K 31/197(2006.01)i; A61K 31/22(2006.01)i FI: A61K31/22; A61K31/197; A61P31/14; A61K33/26														
B. 調査を行った分野														
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61P31/14; A61K33/26; A61K31/197; A61K31/22														
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2020年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2020年	日本国実用新案登録公報	1996-2020年	日本国登録実用新案公報	1994-2020年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2020年													
日本国実用新案登録公報	1996-2020年													
日本国登録実用新案公報	1994-2020年													
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)														
C. 関連すると認められる文献														
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
Y	Ito H et al., Oral administration of 5-aminolevulinic acid induces heme oxygenase-1 expression in peripheral blood mononuclear cells of healthy human subjects in combination with ferrous iron, European Journal of Pharmacology, 2018, 833, 25-33 特に、Abstract, 図4-6	1-8												
Y	Zhao M et al., 5-Aminolevulinic acid combined with sodium ferrous citrate ameliorates H2O2-induced cardiomyocyte hypertrophy via activation of the MAPK/Nrf2/HO-1 pathway, Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 308, C665-C672 特に、図3-B, 図3-D, 図4-C, DISCUSSION	1-8												
Y	Saito K et al., Dynamics of absorption, metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells, Biochemistry and Biophysics Reports, 2017, 11, 105-111 特に、Abstract, 図3-A	1-8												
Y	Espinoza J et al., Modulation of Antiviral Immunity by Heme Oxygenase-1, Am J Pathol, 2017, Vol.187, No.3, 487-493 特に、Abstract, 表1, 第491頁第34-49行	1-8												
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</td> <td>“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</td> <td>“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</td> <td>“&” 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献	“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	
* 引用文献のカテゴリー	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの													
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの													
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの													
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	“&” 同一パテントファミリー文献													
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献														
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献														
国際調査を完了した日 15.06.2020	国際調査報告の発送日 23.06.2020													
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 松村 真里 4C 5375 電話番号 03-3581-1101 内線 3452													

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	Kalamouni C et al., Subversion of the Heme Oxygenase-1 Antiviral Activity by Zika Virus, Viruses, 2018, 11,2, 1-13 特に、Abstract, 図2, 4.Discussion and Conclusions	1-8
X	WO 2011/003071 A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES) 06.01.2011 (2011 - 01 - 06) 請求の範囲, 第14頁第13行-第15頁第4行, 表3, 第95頁表S1A	1-2, 4-6, 8
Y		1-8
A	合阪幸三, 子宮内膜症の治療 薬物療法 アドバック療法, 日本臨床, 2001, 増刊号1, 129-132 特に、第130頁左欄第3-11行, 図2	1-8
A	Lee B. J. et al., Relationship of protoporphyrin IX synthesis to photodynamic effects by 5-aminolaevulinicacid and its esters on various cell lines derived from the skin, British Journal of Dermatology, 2008, 159, pp61-67 特に、Abstract, Introduction	1-8
A	WO 2019/059027 A1 (ネオファーマージャパン株式会社) 28.03.2019 (2019 - 03 - 28) 請求の範囲, 実施例	1-8
A	Huang H et al., Nrf2-dependent induction of innate host defense via heme oxygenase-1 inhibits Zika virus replication, Virology, 2017, 503, 1-5 Abstract, 全文	1-8
A	Chen W et al., Lucidone suppresses dengue viral replication through the induction of heme oxygenase-1, Virulence, 2018, Vol. 9, No. 1, p.588-603 Abstract, 全文	1-8
A	WO 2016/163082 A1 (S B I ファーマ株式会社) 13.10.2016 (2016 - 10 - 13) 請求の範囲, 実施例	1-8

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2020/017837

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO	2011/003071	A1	06.01.2011	(ファミリーなし)	
WO	2019/059027	A1	28.03.2019	(ファミリーなし)	
WO	2016/163082	A1	13.10.2016	EP 3281629 A1	
請求の範囲, 実施例					