(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2023-550409
(P2023-550409A)
(43)公表日　令和5年12月1日(2023.12.1)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*31/192 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/192		４Ｃ２０６
Ａ６１Ｋ	*31/196 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/196		
Ａ６１Ｐ	*31/14 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/14		
Ａ６１Ｐ	*11/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00		
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	

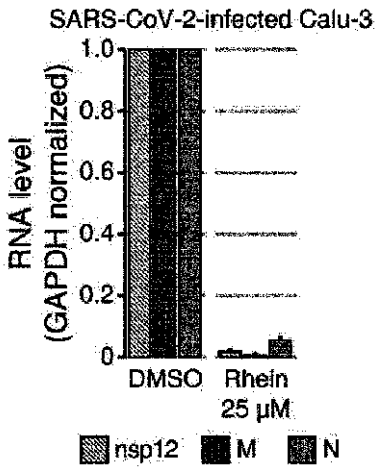
審査請求　有　予備審査請求　未請求　（全27頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-530069(P2023-530069)
(86)(22)出願日　令和3年2月1日(2021.2.1)
(85)翻訳文提出日　令和5年5月17日(2023.5.17)
(86)国際出願番号　PCT/KR2021/001312
(87)国際公開番号　WO2022/107999
(87)国際公開日　令和4年5月27日(2022.5.27)
(31)優先権主張番号　10-2020-0154110
(32)優先日　令和2年11月17日(2020.11.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
韓国(KR)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　509329800
ソウル大学校産学協力団
ＳＥＯＵＬ ＮＡＴＩＯＮＡＬ ＵＮＩＶＥＲＳＩＴＹ Ｒ＆ＤＢ ＦＯＵＮＤＡＴＩＯＮ
大韓民国 ０８８２６ ソウル クァナク－ク クァナク－ロ１
(71)出願人　521371991
インスティチュート フォア ベーシック サイエンス
大韓民国，３４１２６ デジョン ユソン－グ エキスポ－ロ，５５
(74)代理人　110000338
弁理士法人 ＨＡＲＡＫＥＮＺＯ ＷＯＲＬＤ ＰＡＴＥＮＴ ＆ ＴＲＡＤＥＭＡ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対する抗ウイル

(57)【要約】
本発明は、レイン（ｒｈｅｉｎ）及びメクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）を有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物に関する。本発明の抗ウイルス用組成物を用いる場合に、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３のウイルスＲＮＡレベルが抑制され、抗ウイルス効果を示すことによってＣＯＶＩＤ－１９及び風邪を治療又は予防できる。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物。
【請求項２】
前記ベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）は、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＯＣ４３）、ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＨＫＵ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ（Ｍｉｄｄｌｅ Ｅａｓｔ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ２（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ２）を含む、請求項１に記載の抗ウイルス用組成物。
【請求項３】
前記有効成分は、前記ベータコロナウイルスの非構造タンパク質（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ，Ｎｓｐ）、スパイク（ｓｐｉｋｅ，Ｓ）、被膜（ｅｎｖｅｌｏｐ，Ｅ）、膜（ｍｅｍｂｒａｎｅ，Ｍ）、ヌクレオカプシド（ｎｕｃｌｅｏｃａｐｓｉｄ，Ｎ）及びヘマグルチニンエステラーゼ（ｈａｅｍａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ ｅｓｔｅｒａｓｅ，ＨＥ）のタンパク質からなる群から選ばれる少なくとも一つのウイルスＲＮＡレベルを抑制することを特徴とする、請求項１に記載の抗ウイルス用組成物。
【請求項４】
前記非構造タンパク質（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ，Ｎｓｐ）は、Ｎｓｐ１、Ｎｓｐ２、Ｎｓｐ３、Ｎｓｐ４、Ｎｓｐ５、Ｎｓｐ６、Ｎｓｐ７、Ｎｓｐ８、Ｎｓｐ９、Ｎｓｐ１０、Ｎｓｐ１１、Ｎｓｐ１２、Ｎｓｐ１３、Ｎｓｐ１４、Ｎｓｐ１５及びＮｓｐ１６からなる群から選ばれる１種以上のタンパク質である、請求項３に記載の抗ウイルス用組成物。
【請求項５】
前記抗ウイルス用組成物は、薬剤学的に許容可能な担体、運搬体、賦形剤、安定剤又は希釈剤をさらに含む、請求項１に記載の抗ウイルス用組成物。
【請求項６】
請求項１～５のいずれか一項の抗ウイルス用組成物を含むＣＯＶＩＤ－１９（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ｄｉｓｅａｓｅ ２０１９）の予防又は治療用薬剤学的組成物。
【請求項７】
請求項１～５のいずれか一項の抗ウイルス用組成物を含む風邪（ｃｏｍｍｏｎ ｃｏｌｄ）、急性上気道炎（ａｃｕｔｅ ｕｐｐｅｒ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｔｒａｃｔ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）、重症急性呼吸器症候群（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）又はウイルス性肺炎（ｖｉｒａｌ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ）の予防又は治療用薬剤学的組成物。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
〔技術分野〕
本発明は、大韓民国科学技術情報通信部の支援下で課題固有番号１７１１１０１４０５によってなされたものであり、当該課題の研究管理専門機関はソウル大学校産学協力団、研究事業名は「国際科学ビジネスベルト造成（基礎科学研究院研究運営費支援）」、研究課題名は「ＲＮＡによる細胞運命調節研究」、主管機関は基礎科学研究院、研究期間は２０２０．０３．０３．～２０２０．０８．２８．である。
【０００２】
本特許出願は、２０２０年１１月１７日に大韓民国特許庁に提出された大韓民国特許出願第１０－２０２０－０１５４１１０号公報に対して優先権を主張し、当該特許出願の開

示事項は本願に参照によって組み込まれる。
【０００３】
本発明は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含む、ベータコロナウイルス（Ｂｅｔａ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）属（ｇｅｎｕｓ）のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対する抗ウイルス用組成物に関する。
【０００４】
〔背景技術〕
コロナウイルス（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ，ＣｏＶ）は、陽性センス一本鎖ＲＮＡ遺伝体を持つ外皮ウイルス（ｅｎｖｅｌｏｐｅｄ ｖｉｒｕｓ）であり、コロナウイルス科（ｆａｍｉｌｙ Ｃｏｒｏｎａｖｉｒｉｎａｅ）に属する。
【０００５】
コロナウイルス科は、アルファ、ベータ、ガンマ及びデルタコロナウイルスの４つの属（ｇｅｎｕｓ）に分類される。人に感染を起こすコロナウイルスは現在まで７種が発見されており、その５種がベータコロナウイルス（ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に属する。軽い呼吸器症状を誘発するヒトコロナウイルスＯＣ４３（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＯＣ４３，ＨＣｏＶ－ＯＣ４３）及びヒトコロナウイルスＨＫＵ１（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＨＫＵ１，ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１）と、致命的な呼吸器感染を起こす重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ，ＳＡＲＳ－ＣｏＶ、サースコロナウイルス）及び中東呼吸器症候群コロナウイルス（Ｍｉｄｄｌｅ Ｅａｓｔ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ，ＭＥＲＳ－ＣｏＶ，メルスコロナウイルス）がベータコロナウイルスに属する。
【０００６】
特に、２０１９年１２月に中国・武漢で原因不明の肺炎を誘発し始め、全世界的に大流行した急性呼吸器疾患であるコロナウイルス感染病－１９（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ｄｉｓｅａｓｅ １９，ＣＯＶＩＤ－１９）を引き起こす重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ２，ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）もベータコロナウイルスに分類される。
【０００７】
ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の感染による急性呼吸器疾患であるＣＯＶＩＤ－１９に対する新規治療剤の開発が活発に研究されており、新薬開発にかかる時間を短縮し且つ費用を節減するために、既存に開発された薬物からＣＯＶＩＤ－１９の予防及び治療効果を見出す薬物再創出（ｄｒｕｇ ｒｅｐｕｒｐｏｓｉｎｇ又はｄｒｕｇ ｒｅｐｏｓｉｔｉｏｎｉｎｇ）戦略が実行されている。
【０００８】
例えば、エボラ治療剤として開発された抗ウイルス剤レムデシビル（ｒｅｍｄｅｓｉｖｉｒ）、マラリア治療剤ヒドロキシクロロキン（ｈｙｄｒｏｘｙｃｈｌｏｒｏｑｕｉｎｅ）、ＨＩＶ治療剤ロピナビル／リトナビル（ｌｏｐｉｎａｖｉｒ／ｒｉｔｏｎａｖｉｒ）、サイトカイン暴風を抑制する免疫抑制剤トシリズマブ（ｔｏｃｉｌｉｚｕｍａｂ）、ＡＣＥ抑制剤（ａｎｇｉｏｔｅｎｓｉｎ－ｃｏｎｖｅｒｔｉｎｇ ｅｎｚｙｍｅ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ）などがＣＯＶＩＤ－１９患者に緊急使用で投与されているか、臨床試験中である。このような潜在的治療剤は、ＣＯＶＩＤ－１９の症状を緩和したり回復期間を短縮したりできるが、現在までＦＤＡの承認を受けたＣＯＶＩＤ－１９治療剤はない。
【０００９】
このため、人に流行性感染を起こして軽い風邪から致命的な重症急性呼吸器疾患までも誘発するベータコロナウイルスに対する抗ウイルス剤の開発が至急な状況である。
【００１０】
一方、レイン（ｒｈｅｉｎ）はアントラキノン（ａｎｔｈｒａｑｕｉｎｏｎｅ）誘導体で、抗炎症の効果から既存に退行性関節炎の治療に用いられており、メクロフェナム酸（

ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）はアントラニル酸（ａｎｔｈｒａｎｉｌｉｃ ａｃｉｄ）誘導体で、既存に非ステロイド性抗炎症剤（ｎｏｎ－ｓｔｅｒｏｉｄａｌ ａｎｔｉ－ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ ｄｒｕｇ，ＮＳＡＩＤ）及び解熱剤として用いられている。しかしながら、これらの化合物の、ベータコロナウイルス（ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に属するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対する抗ウイルス効果は知られたところがない。

【００１１】

〔発明の概要〕

〔発明が解決しようとする課題〕

本発明者らは、ベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物を開発するために鋭意研究努力した。その結果、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含む組成物がウイルスＲＮＡを有意に抑制することを突き止め、本発明を完成するに至った。

【００１２】

したがって、本発明の目的は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含む、ベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物を提供することである。

【００１３】

本発明の他の目的は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対する抗ウイルス用組成物を提供することである。

【００１４】

本発明の他の目的は、ＣＯＶＩＤ－１９（Ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ Ｄｉｓｅａｓｅ ２０１９）の予防又は治療用薬剤学的組成物を提供することである。

【００１５】

本発明のさらに他の目的は、風邪（ｃｏｍｍｏｎ ｃｏｌｄ）、急性上気道炎（ａｃｕｔｅ ｕｐｐｅｒ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｔｒａｃｔ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）、重症急性呼吸器症候群（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）又はウイルス性肺炎（ｖｉｒａｌ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ）の予防又は治療用薬剤学的組成物を提供することである。

【００１６】

〔課題を解決するための手段〕

本発明の一態様によれば、本発明は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物を提供する。

【００１７】

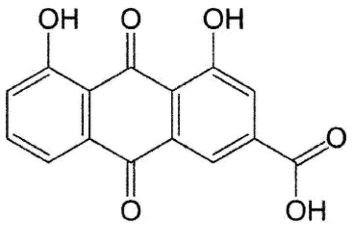
本発明者らは、ベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物を開発するために鋭意研究努力した。その結果、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含む組成物がウイルスＲＮＡを有意に抑制することを突き止めた。

【００１８】

本発明の「レイン（ｒｈｅｉｎ）」は、カス酸（ｃａｓｓｉｃ ａｃｉｄ）及び４，５－ジヒドロキシ－９，１０－ジオキソアントラセン－２－カルボン酸（４，５－ｄｉｈｙｄｒｏｘｙ－９，１０－ｄｉｏｘｏａｎｔｈｒａｃｅｎｅ－２－ｃａｒｂｏｘｙｌｉｃ ａｃｉｄ）とも知られたアントラキノン（ａｎｔｈｒａｑｕｉｏｎｅ）誘導体であり、抗炎症効果を有することから、既存に退行性関節炎の治療に用いられている、次の化学式１で表記される化合物を意味する。

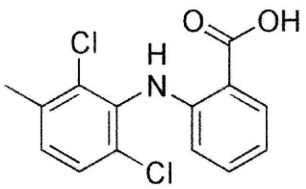
【００１９】
【化１】

［化学式１］



【００２０】
本発明の「メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ）」は、メクロフェナメート（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍａｔｅ）とも知られたアントラニル酸（ａｎｔｈｒａｎｉｌｉｃ　ａｃｉｄ）誘導体であって、ＣＯＸ（ｃｙｃｌｏｏｘｙｇｅｎａｓｅ）抑制剤であり、プロスタグランディンの形成を抑制する効果を有することから、現在、非ステロイド性抗炎症剤（ｎｏｎ－ｓｔｅｒｏｉｄａｌ　ａｎｔｉ－ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ　ｄｒｕｇ，ＮＳＡＩＤ）及び解熱剤として用いられる、次の化学式２で表記される化合物を意味する。
【００２１】
【化２】

［化学式２］



【００２２】
本明細書の用語「有効成分として含む」とは、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ）、又はそれらの組合せの薬理学的効能又は活性を達成するのに十分な量を含むことを意味し、薬物の伝達、安定化及び製剤化のために様々な成分が付加的に添加されてもよいことを意味する。
【００２３】
本発明の用語「抗ウイルス用組成物」とは、宿主細胞へのウイルス侵入、ウイルス遺伝体の複製及び合成、ウイルス遺伝体の転写、ウイルスのタンパク質合成、逆転写酵素の活性、ウイルス組立（ａｓｓｅｍｂｌｙ）又はウイルス出芽（ｂｕｄｄｉｎｇ）を抑制することによって、ウイルスの感染を予防する、ウイルスの複製を抑制する、ウイルスの伝搬を防止する、又はウイルスを死滅させる組成物、又はウイルス感染によって発病する疾病又はそれによって発現する症状を治療する組成物を意味する。
【００２４】
本明細書の用語「予防」は、疾患又は疾患状態の防止又は保護的な治療を意味する。本明細書の用語「治療」は、疾患状態の減少、抑制、鎮静、又は根絶を意味する。
【００２５】
本明細書において用語「ベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）」とは、コロナウイルス科（ｆａｍｉｌｙ　Ｃｏｒｏｎａｖｉｒｉｎａｅ）に属する４つの属（ｇｅｎｕｓ）の一つであり、動物及びヒトに感染され、無症状であるか、軽症又は重症の呼吸器症状を誘発するＲＮＡウイルスを意味する。
【００２６】

本発明の一具現例において、本発明のベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）は、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＯＣ４３）、ＨＣｏＶ－ＨＫＵ１（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＨＫＵ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）、ＭＥＲＳ－ＣｏＶ（Ｍｉｄｄｌｅ Ｅａｓｔ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ２）を含む。

【００２７】

本発明の一具体例において、本発明のベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ２）及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＯＣ４３）を含む。

【００２８】

本発明の一具現例において、本発明の有効成分は、前記ベータコロナウイルスの非構造タンパク質（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ，Ｎｓｐ）、スパイク（ｓｐｉｋｅ，Ｓ）、被膜（ｅｎｖｅｌｏｐ，Ｅ）、膜（ｍｅｍｂｒａｎｅ，Ｍ）、ヌクレオカプシド（ｎｕｃｌｅｏｃａｐｓｉｄ，Ｎ）及びヘマグルチニンエステラーゼ（ｈａｅｍａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ ｅｓｔｅｒａｓｅ，ＨＥ）のタンパク質からなる群から選ばれる少なくとも一つのウイルスＲＮＡのレベルを抑制することを特徴とする。

【００２９】

本発明の一具体例において、本発明の有効成分は、前記ベータコロナウイルスの非構造タンパク質（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ，Ｎｓｐ）、膜（ｍｅｍｂｒａｎｅ，Ｍ）タンパク質、及びヌクレオカプシド（ｎｕｃｌｅｏｃａｐｓｉｄ，Ｎ）タンパク質からなる群から選ばれる少なくとも一つのウイルスＲＮＡのレベルを抑制することを特徴とする。

【００３０】

本発明の用語「非構造タンパク質（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ，Ｎｓｐ）」とは、コロナウイルスの複製及び転写関連の非構造タンパク質を意味する。コロナウイルスの非構造タンパク質には１６個のＮｓｐ１～Ｎｓｐ１６があり、Ｎｓｐ３及びＮｓｐ５はタンパク質分解活性を有し、Ｎｓｐ７、Ｎｓｐ８及びＮｓｐ１２は複製酵素－転写酵素複合体（ｒｅｐｌｉｃａｓｅ－ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔａｓｅ ｃｏｍｐｌｅｘ，ＲＴＣ）を形成する。ＲＴＣの核心構成要素であるＮｓｐ１２は、ＲＮＡ依存性ＲＮＡ重合酵素（ＲＮＡ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ＲＮＡ ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ，ＲｄＲｐ）であり、ウイルスの複製でＲＮＡ合成を直接に媒介する。

【００３１】

本発明の一具体例において、本発明の非構造タンパク質（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ，Ｎｓｐ）は、Ｎｓｐ１、Ｎｓｐ２、Ｎｓｐ３、Ｎｓｐ４、Ｎｓｐ５、Ｎｓｐ６、Ｎｓｐ７、Ｎｓｐ８、Ｎｓｐ９、Ｎｓｐ１０、Ｎｓｐ１１、Ｎｓｐ１２、Ｎｓｐ１３、Ｎｓｐ１４、Ｎｓｐ１５及びＮｓｐ１６からなる群から選ばれる１種以上のタンパク質である。本発明の他の具体例において、本発明の非構造タンパク質は、Ｎｓｐ１２である。

【００３２】

本発明の一具現例において、本発明の抗ウイルス用組成物はさらに、薬剤学的に許容可能な担体、運搬体、賦形剤、安定剤又は希釈剤を含む。

【００３３】

本発明の薬剤学的に許容可能な担体、運搬体、賦形剤、安定剤又は希釈剤は、本発明の属する技術の分野における通常のものであって、本発明の有効成分と薬理学的に両立可能な担体、運搬体、賦形剤、安定剤、又は希釈剤を意味する。

【００３４】

本発明の薬剤学的組成物の薬剤学的に許容可能な担体又は運搬体には、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、澱粉、アカシアガム、リン酸カルシウム、アルジネート、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、シロップ、メチルセルロース、ヒドロキシ安息香酸メチル、ヒドロキシ安息香酸プロピル、滑石、ステアリン酸マグネシウム、ミネラルオイル、エタノール、ＤＭＳＯ（ｄｉｍｅｔｈｙｌ ｓｕｌｆｏｘｉｄｅ）などが含まれるが、これに限定されるものではない。本発明の薬剤学的組成物は、前記成分の他に、賦形剤、安定剤、希釈剤、潤滑剤、湿潤剤、甘味剤、香味剤、乳化剤、懸濁剤、保存剤などをさらに含むことができる。好適な薬剤学的に許容可能な担体、運搬体、賦形剤、安定剤又は希釈剤は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９ｔｈ ｅｄ．，１９９５）に詳細に記載されている。

【００３５】

本発明の薬剤学的組成物は経口又は非経口で投与でき、非経口投与である場合には、静脈内注入、皮下注入、筋肉注入、腹腔注入、経皮投与などで投与できる。

【００３６】

本発明の薬剤学的組成物の適切な投与量は、製剤化方法、投与方式、患者の年齢、体重、性別、病的状態、食べ物、投与時間、投与経路、排泄速度及び反応感応性のような要因によって様々であり、通常の熟練した医師は、希望する治療又は予防に効果的な投与量を容易に決定及び処方できる。一方、本発明の薬剤学的組成物の投与量は、好ましくは、１日当たり０．０００１～１０００ｍｇ／ｋｇ（体重）である。

【００３７】

本発明の薬剤学的組成物は、当該発明の属する技術の分野における通常の知識を有する者が容易に実施できる方法によって、薬剤学的に許容される担体及び／又は賦形剤を用いて製剤化することによって単位用量形態で製造されたり又は多回用量容器内に内入させて製造されてよい。このとき、剤形は、オイル又は水性媒質中の溶液、懸濁液又は乳化液形態であるか、エキス剤、粉末剤、顆粒剤、錠剤又はカプセル剤の形態であってもよく、分散剤又は安定化剤をさらに含んでよい。

【００３８】

本発明で用いられた哺乳動物細胞は、Ｖｅｒｏ細胞株（Ａｆｒｉｃａｎ ｇｒｅｅｎ ｍｏｎｋｅｙ ｋｉｄｎｅｙ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ）、Ｃａｌｕ－３細胞株（ｈｕｍａｎ ｌｕｎｇ ａｄｅｎｏｃａｒｃｉｎｏｍａ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ）、ＨＢＥＣ細胞株（ｈｕｍａｎ ｂｒｏｎｃｈｉａｌ ｅｐｉｔｈｅｌｉｕｍ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ）、及びＨＣＴ－８細胞株（ｃｏｌｏｎ ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ）からなる群から選ばれる少なくとも一つの哺乳動物細胞を含むが、これに限定されるものではない。

【００３９】

本発明のＶｅｒｏ細胞株は、アフリカ緑色猿（Ａｆｒｉｃａｎ ｇｒｅｅｎ ｍｏｎｋｅｙ）の腎臓上皮細胞（ｋｉｄｎｅｙ ｅｐｉｔｈｅｌｉａｌ ｃｅｌｌ）から分離された細胞株で、ウイルス培養の宿主細胞として一般に用いられる。本発明のＣａｌｕ－３細胞株は、ヒト肺癌細胞に由来する細胞株（ｈｕｍａｎ ｌｕｎｇ ａｄｅｎｏｃａｒｃｉｎｏｍａ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ）で、呼吸器感染ウイルスに対する研究に一般に用いられ、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２研究において用いられる。本発明のＨＢＥＣ細胞株は、ヒト気管支上皮細胞株（ｈｕｍａｎ ｂｒｏｎｃｈｉａｌ ｅｐｉｔｈｅｌｉｕｍ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ）であり、細胞培養研究から一段階さらに進んで、実際の呼吸器を摸倣するように細胞培養液－幹細胞（ｓｔｅｍ ｃｅｌｌ）から分化した気管支上皮細胞－空気層に培養された細胞株である。本発明のＨＣＴ－８細胞は大腸癌細胞株（ｃｏｌｏｎ ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ）で、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３研究に一般に用いられている細胞株である。

【００４０】

本発明の他の態様によれば、本発明は、上述した抗ウイルス用組成物を含むＣＯＶＩＤ－１９（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ｄｉｓｅａｓｅ ２０１９）の予防又は治療用薬剤学

的組成物を提供する。本発明の用語「ＣＯＶＩＤ－１９」とは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染による呼吸器疾患であって、コロナウイルス感染症－１９（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ｄｉｓｅａｓｅ ２０１９，ＣＯＶＩＤ－１９）を意味し、無症状であるか、発熱、倦怠感、咳、呼吸困難、肺炎、痰、咽喉痛、頭痛、喀血、むかつき、下痢などを含む軽症又は重症の呼吸器症状を示す。ＣＯＶＩＤ－１９の治療には、現在、大衆的な治療として水液補充及び／又は解熱剤の使用などの保存的治療があり、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する抗ウイルス剤はない実情である。

【００４１】

本発明のＣＯＶＩＤ－１９（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ｄｉｓｅａｓｅ ２０１９）の予防又は治療用薬剤学的組成物は、上述した本発明の他の態様である抗ウイルス用組成物を含むので、本明細書記載の過度な複雑性を避けるために重複する内容を援用し、その記載を省略する。

【００４２】

本発明のさらに他の態様によれば、本発明は、上述した抗ウイルス用組成物を含む風邪（ｃｏｍｍｏｎ ｃｏｌｄ）、急性上気道炎（ａｃｕｔｅ ｕｐｐｅｒ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｔｒａｃｔ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）、重症急性呼吸器症候群（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）又はウイルス性肺炎（ｖｉｒａｌ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ）の予防又は治療用薬剤学的組成物を提供する。

【００４３】

本発明の風邪（ｃｏｍｍｏｎ ｃｏｌｄ）、急性上気道炎（ａｃｕｔｅ ｕｐｐｅｒ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｔｒａｃｔ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）、重症急性呼吸器症候群（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）又はウイルス性肺炎（ｖｉｒａｌ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ）の予防又は治療用薬剤学的組成物は、上述した本発明の他の態様である抗ウイルス用組成物を含むので、本明細書記載の過度な複雑性を避けるために重複する内容は援用し、その記載を省略する。

【００４４】

本発明のさらに他の態様によれば、本発明は上述した本発明の他の態様に係るレイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物をそれを必要とする対象体に投与する段階を含むウイルス抑制方法を提供する。

【００４５】

本発明のさらに他の態様によれば、本発明は、上述した本発明の他の態様によるレイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物をそれを必要とする対象体に投与する段階を含むウイルス感染による疾病治療方法を提供する。

【００４６】

本発明のウイルス抑制方法及び疾病治療方法の対象になるウイルスと疾病は、上述した抗ウイルス用組成物において定義した通りである。

【００４７】

本発明の一具現例において、本発明の対象体は哺乳動物又はヒトである。前記哺乳動物は、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、マウス、ラット、チンパンジー、オランウータン、ヒヒ（ｂａｂｏｏｎ）などを含むが、これに限定されるものではない。

【００４８】

本発明の上述したウイルス抑制方法及び疾病治療方法は、上述した本発明の他の態様に係る抗ウイルス用組成物を投与することによってなされるので、重複する内容は援用し、本明細書記載の過度な複雑性を避けるためにその記載を省略する。

【００４９】

〔発明の効果〕

本発明の特徴及び利点を要約すると、次の通りである：

（ａ）本発明は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物を提供する。

【００５０】

（ｂ）本発明は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２及びＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対する抗ウイルス用組成物を提供する。

【００５１】

（ｃ）本発明は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物をそれを必要とする対象体に投与する段階を含むウイルス抑制方法を提供する。

【００５２】

（ｄ）本発明は、レイン（ｒｈｅｉｎ）、メクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ）、又はこれらの組合せを有効成分として含むベータコロナウイルス（Ｂｅｔａｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ）に対する抗ウイルス用組成物をそれを必要とする対象体に投与する段階を含むウイルス感染による疾病治療方法を提供する。

【００５３】

（ｅ）本発明の抗ウイルス用組成物を用いると、ベータコロナウイルスのＲＮＡレベルを抑制することによってＣＯＶＩＤ－１９（ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ｄｉｓｅａｓｅ ２０１９）、風邪（ｃｏｍｍｏｎ ｃｏｌｄ）、急性上気道炎（ａｃｕｔｅ ｕｐｐｅｒ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｔｒａｃｔ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）、重症急性呼吸器症候群（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）又はウイルス性肺炎（ｖｉｒａｌ ｐｎｅｕｍｏｎｉａ）を予防又は治療することができる。

【００５４】

〔図面の簡単な説明〕

〔図１〕ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２又はＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染された細胞に、レイン（ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物の処理の有無による、ｑＲＴ－ＰＣＲで測定したウイルスＲＮＡレベル（ｌｅｖｅｌ）を示す。図１ＡはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｃａｌｕ－３）、図１ＢはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）、図１ＣはＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＨＣＴ－８細胞（ＨＣｏＶ ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ ＨＣＴ－８）、及び図１ＤはＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）、においてウイルスＲＮＡレベルを示す。全てのＲＮＡレベルは、それぞれのＧＡＰＤＨのＲＮＡレベルに補正された。

【００５５】

〔図２〕ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２又はＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染された細胞にメクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物の処理の有無によるｑＲＴ－ＰＣＲで測定したウイルスＲＮＡレベルを示す。図２ＡはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｃａｌｕ－３）、図２ＢはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＨＢＥＣ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ ＨＢＥＣ）、図２ＣはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）、図２ＤはＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＨＣＴ－８細胞（ＨＣｏＶ ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ ＨＣＴ－８）、及び図２ＥはＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）、においてウイルスＲＮＡレベルを示す。全てのＲＮＡレベルは、それぞれのＧＡＰＤＨのＲＮＡレベルに補正された。

【００５６】

〔発明を実施するための形態〕
以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明する。これらの実施例は、単に本発明をより具体的に説明するためのものであり、本発明の要旨によって本発明の範囲がこれらの実施例によって限定されないことは、当業界における通常の知識を有する者にとって明らかであろう。
【００５７】
＜実施例＞
＜実施例１：抗ウイルス用組成物の製造＞
＜実施例１－１：レイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物の製造＞
レイン（Ｒｈｅｉｎ）は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（カタログ番号Ｒ７２６９）から購買し、運搬体ＤＭＳＯにおいて５μＭ、１０μＭ、２５μＭ及び５０μＭの濃度のレイン（ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を製造したし、対照群として、ＤＭＳＯのみを含む組成物、又は５０％（ｖ／ｖ）ＤＭＳＯ及び５０％（ｖ／ｖ）エタノールの混合溶液（ＤＭＳＯ＋Ｅｔｈａｎｏｌ）を製造した。
【００５８】
＜実施例１－２：メクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物の製造＞
メクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ，ＭＡ）は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（カタログ番号Ｍ４５３１）から購買し、運搬体エタノールにおいて０．５μＭ、５μＭ、１０μＭ、２５μＭ、５０μＭ及び１００μＭの濃度のメクロフェナム酸（ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物を製造したし、対照群として、エタノールのみを含む組成物、又は５０％（ｖ／ｖ）ＤＭＳＯ及び５０％（ｖ／ｖ）エタノールの混合溶液（ＤＭＳＯ＋Ｅｔｈａｎｏｌ）を製造した。
【００５９】
＜実施例２：細胞株＞
＜実施例２－１：Ｖｅｒｏ細胞株＞
Ｖｅｒｏ細胞株（Ａｆｒｉｃａｎ ｇｒｅｅｎ ｍｏｎｋｅｙ ｋｉｄｎｅｙ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ，ＡＴＣＣ（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）、カタログ番号：ＣＣＬ－８１）は、１０％ＦＢＳ（ｆｅｔａｌ ｂｏｖｉｎｅ ｓｅｒｕｍ）が添加されたＤＭＥＭ（Ｄｕｌｂｅｃｃｏ’ｓ Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｅａｇｌｅ Ｍｅｄｉｕｍ）で３７℃及び５％ＣＯ２の培養器で培養した。
【００６０】
＜実施例２－２：Ｃａｌｕ－３細胞株＞
Ｃａｌｕ－３細胞株（ｈｕｍａｎ ｌｕｎｇ ａｄｅｎｏｃａｒｃｉｎｏｍａ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ，韓国細胞株銀行（Ｋｏｒｅａｎ Ｃｅｌｌ Ｌｉｎｅ Ｂａｎｋ，ＫＣＬＢ），ＫＣＬＢ番号：３００５５）は、１０％ＦＢＳが添加されたＤＭＥＭで３７℃及び５％ＣＯ２の培養器で培養した。
【００６１】
＜実施例２－３：ＨＣＴ－８細胞株＞
ＨＣＴ－８細胞株（ｃｏｌｏｎ ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ，韓国細胞株銀行、ＫＣＬＢ番号：１０２４４）は、１０％ ＦＢＳが添加されたＲＰＭＩ（Ｒｏｓｅｗｅｌｌ Ｐａｒｋ Ｍｅｍｏｒｉａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）培養液で３７℃及び５％ＣＯ２の培養器で培養した。
【００６２】
＜実施例２－４：ＨＢＥＣ細胞株＞
ＨＢＥＣ細胞株（ｈｕｍａｎ ｂｒｏｎｃｈｉａｌ ｅｐｉｔｈｅｌｉｕｍ ｃｅｌｌ ｌｉｎｅ，ＡＴＣＣ、カタログ番号：ＰＣＳ－３００－０１０）は、ＳＴＥＭＣＥＬＬ™ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから提供するプロトコルを必要部分だけやや修正（ｍｕｔａｔｉｓ ｍｕｔａｎｄｉｓ）して培養した。
【００６３】

より詳細には、ＨＢＥＣ細胞の培養開始日から３日目までは、ｉ）培養液ＰｎｅｕｍａＣｕｌｔ^{TM}－Ｅｘ ｐｌｕｓ ｍｅｄｉｕｍ（ＳＴＥＭＣＥＬＬ^{TM} Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ＃０５０４０）に０．１μｇ／ｍｌのヒドロコルチゾン（ｈｙｄｒｏｃｏｒｔｉｓｏｎｅ，Ｓｉｇｍａ、カタログ＃Ｈ０８８８）を添加した培養液で培養した。

【００６４】

ＨＢＥＣ細胞の分化のために、培養後４日目から４５日目までは、ｉｉ）上記の３日間培養したＨＢＥＣ細胞を、３×１０^{5}細胞／ウェルずつ、１２ウェルプレート（下のＢａｓａｌ Ｃｈａｍｂｅｒと上のＡｐｉｃａｌ Ｃｈａｍｂｅｒとの間に０．４μｍ気孔膜（ｍｅｍｂｒａｎｅ）を有するＴｒａｎｓｗｅｌｌ（登録商標） ｉｎｓｅｒｔ，ＳＴＥＭＣＥＬＬ^{TM} Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ＃０５００１）のＡｐｉｃａｌ Ｃｈａｍｂｅｒにおいて０．５ｍｌの培養液ＰｎｅｕｍａＣｕｌｔ^{TM}－Ｅｘ ｐｌｕｓ ｍｅｄｉｕｍ（ＳＴＥＭＣＥＬＬ^{TM} Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で培養した。前記１２ウェルプレートのＢａｓａｌ Ｃｈａｍｂｅｒには、ウェル当たりに１ｍｌの培養液（ＰｎｅｕｍａＣｕｌｔ^{TM}－Ｅｘ ｐｌｕｓ ｍｅｄｉｕｍ，ＳＴＥＭＣＥＬＬ^{TM} Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を添加した。ＨＢＥＣ細胞を培養した前記１２ウェルプレートのＡｐｉｃａｌ Ｃｈａｍｂｅｒにおいて細胞集合度（ｃｅｌｌ ｃｏｎｆｌｕｅｎｃｙ）が１００％に到達すると、Ａｐｉｃａｌ Ｃｈａｍｂｅｒで培養液を除去して分化（ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｉｏｎ）を誘導した。前記分化培養により、ＨＢＥＣ細胞は、生体内ヒトの気道（ａｉｒｗａｙ）上皮と形態学的及び機能的に類似する偽重層上皮（ｐｓｅｕｄｏｓｔｒａｔｉｆｉｅｄ ｅｐｉｔｈｅｌｉｕｍ）を形成した。

【００６５】

前記分化培養を始めて３０日までは１２ウェルプレートのＢａｓａｌ Ｃｈａｍｂｅｒにおいて培養液を２日に１回ずつ培養液ＰｎｅｕｍａＣｕｌｔ^{TM}－ＡＬＩ ｍａｉｎｔｅｎａｎｃｅ ｍｅｄｉｕｍ（ＳＴＥＭＣＥＬＬ^{TM} Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ＃０５００２、０５００３及び０５００６、１μｇ／ｍｌのヒドロコルチゾンを添加）に交換した。その後、７日間は、１週に２回ずつ培養液を前記培養液に交換し、その次の７日間は１週に１回ずつ培養液を交換した。

【００６６】

培養後４５日目には、ｉｉｉ）前記分化して維持されたＨＢＥＣ細胞にベータコロナウイルスを感染させ、ｉＶ）培養後４７日目に、すなわち、ウイルス感染の４８時間後に、ＲＮＡ抽出のためにサンプルを得た。

【００６７】

＜実施例３：ウイルス＞

＜実施例３－１：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２＞

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（ｓｅｖｅｒｅ ａｃｕｔｅ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｓｙｎｄｒｏｍｅ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ２）は、疾病管理本部傘下国家病原体資源銀行から分譲された病原体資源であり、国際ワクチン研究所の生物安全３等級（ｂｉｏｓａｆｅｔｙ ｌｅｖｅｌ ３）研究施設で厳格な統制下に管理された。

【００６８】

＜実施例３－２：ＨＣｏＶ－ＯＣ４３＞

ＨＣｏＶ ＯＣ４３（ｈｕｍａｎ ｃｏｒｏｎａｖｉｒｕｓ ＯＣ４３）は、高麗大学校病原性ウイルス銀行から分譲され、生物安全２等級研究施設で管理した。

【００６９】

＜実施例４：ベータコロナウイルスの感染及び抗ウイルス用組成物の処理＞

＜実施例４－１：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２又はＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染された細胞株においてレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物の処理＞

１）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｃａｌｕ－３）

Ｃａｌｕ－３細胞株を１２ウェルプレート（１２－ｗｅｌｌ ｐｌａｔｅ）において１

．７５×１０^{5}細胞／ウェルずつ３個のウェル（ｗｅｌｌ）に培養した。培養１８時間後に無血清（ｓｅｒｕｍ－ｆｒｅｅ）ＤＭＥＭで各ウェルを洗浄し、生物安全３等級研究施設でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を各ウェルに０．０５のＭＯＩ（ｍｕｌｔｉｐｌｉｃｉｔｙ ｏｆ ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）で感染させたし、２％ＦＢＳを含むＤＭＥＭで培養した。ウイルス感染と同時に、２５μＭ濃度のレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物及び対照群としてＤＭＳＯを、各ウェルの細胞培養液に処理した。ウイルス感染の２４時間後に、ＲＮＡ抽出のためのサンプルを得た。

【００７０】

２）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）

Ｖｅｒｏ細胞株を１２ウェルプレートにおいて１．７５×１０^{5}細胞／ウェルずつ３個のウェルに培養した。培養１８時間後に無血清ＤＭＥＭで各ウェルを洗浄し、生物安全３等級研究施設でＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を０．０５のＭＯＩで感染させ、２％ＦＢＳを含むＤＭＥＭで培養した。ウイルス感染と同時に、２５μＭ濃度のレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物及び対照群としてＤＭＳＯを、各ウェルに（ｗｅｌｌ）の細胞培養液に処理した。ウイルス感染の２４時間後に、ＲＮＡ抽出のためのサンプルを得た。

【００７１】

３）ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＨＴＣ－８細胞（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ ＨＣＴ－８）

ＨＣＴ－８細胞株を１２ウェルプレートにおいて２×１０^{5}細胞／ウェルずつ２個のウェルに培養した。培養１８時間後に、ＰＢＳ又は３％ ＦＢＳを含むＲＰＭＩで各ウェルを洗浄した後、生物安全２等級研究施設でＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させ、３％ＦＢＳを含むＲＰＭＩで培養した。ウイルス感染と同時に、０．２５μＭ、２．５μＭ、２５μＭ及び２５０μＭ濃度のレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物、及び対照群としてＤＭＳＯ及びエタノールの混合溶液を、各ウェルの細胞培養液に処理した。ウイルス感染の２４時間後に、各ウェルをＰＢＳ又は３％ＦＢＳを含むＲＰＭＩで洗浄した後、ＲＮＡ抽出のためのサンプルを得た。

【００７２】

４）ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）

Ｖｅｒｏ細胞株を１２ウェルプレートに２×１０^{5}細胞／ウェルずつ３個のウェルに培養した。培養１８時間後に、ＰＢＳ又は３％ＦＢＳを含むＤＭＥＭで各ウェルを洗浄した後、生物安全２等級研究施設でＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させ、３％ＦＢＳを含むＤＭＥＭで培養した。ウイルス感染と同時に、５μＭ、１０μＭ、２５μＭ及び５０μＭ濃度のレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物及び対照群としてＤＭＳＯを、各ウェルに（ｗｅｌｌ）の細胞培養液に処理した。ウイルス感染の２４時間後に、ＰＢＳ又は３％ＦＢＳを含むＤＭＥＭで洗浄した後、ＲＮＡ抽出のためのサンプルを得た。

【００７３】

＜実施例４－２：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２又はＨＣｏＶ－ＯＣ４３が感染された細胞株においてメクロフェナム酸（ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物の処理＞

処理した抗ウイルス用組成物の種類とＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＨＢＥＣ細胞を除いては、前記実施例４－１に記載の条件と同一又は類似の条件にして各細胞株を培養して各ウイルスを感染させたので、本明細書記載の過度な複雑性を避けるために、重複する内容は援用し、その記載を省略する。

【００７４】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｃａｌｕ－３）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＨＢＥＣ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ ＨＢＥＣ）及びＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）に対して、５０μ

Ｍ濃度のメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物及び対照群としてエタノールを、各ウェルの細胞培養液に処理した。

【００７５】

また、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＨＴＣ－８細胞（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＣＴ－８）は、０．５μＭ、５μＭ及び５０μＭ濃度のメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物と対照群としてＤＭＳＯ及びエタノールの混合溶液（ＤＭＳＯ＋Ｅｔｈａｎｏｌ）を各ウェルの細胞培養液に処理したし、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ－ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）は、５μＭ、１０μＭ、２５μＭ、５０μＭ及び１００μＭ濃度のメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物と対照群としてＤＭＳＯを各ウェルの細胞培養液に処理した。

【００７６】

１）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＨＢＥＣ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＢＥＣ）

実施例２－４のように、培養したＨＢＥＣ細胞株を培養後３日目に分化させて維持したし、培養後４５日目に生物安全３等級研究施設においてＰＢＳで各ウェルを洗浄した後、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を３．３×10^4ｐｆｕ（ｐｌａｑｕｅ－ｆｏｒｍｉｎｇ　ｕｎｉｔ）で感染させた。前記ウイルス感染２時間前に、５０μＭ濃度のメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物と対照群としてエタノールを各ウェルの細胞培養液に処理した。培養後４７日目に、すなわちウイルス感染の４８時間後に、ＰＢＳで各ウェルを洗浄した後、ＲＮＡ抽出のためのサンプルを得た。

【００７７】

＜実施例５：ＲＮＡ分離及び精製＞

前記実施例４で得たＲＮＡ抽出のためのサンプルに核酸抽出溶解液Ｔｒｉｚｏｌ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ番号１０２９６０２８）を処理して全体ＲＮＡを分離した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染された細胞の全体ＲＮＡはＰｕｒｅＬｉｎｋ^{TM}　ＲＮＡ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ番号：１２１８３０１８Ａ）を、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染された細胞の全体ＲＮＡはＲＮｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ、カタログ番号：７４１０６）を用いてメーカーのプロトコルにしたがって精製した。精製されたＲＮＡの濃度は、分光光度計（ＮａｎｏＤｒｏｐ^{TM}２０００ｃ　Ｓｐｅｃｔｒｏｐｈｏｔｏｍｅｔｅｒ，ＮＤ－２０００Ｃ，Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を用いて測定した。

【００７８】

＜実施例６：ｑＲＴ－ＰＣＲ（ｑｕａｎｔａｔｉｖｅ　ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ　ＰＣＲ）＞

前記実施例５で得た精製されたＲＮＡは、Ｐｏｗｅｒ　ＳＹＢＲ^{TM}　Ｇｒｅｅｎ　ＰＣＲ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ^{TM}、カタログ番号：４３６７６５９）と実時間遺伝子増幅装備（Ｒｅａｌ－ｔｉｍｅ　ＱｕａｎｔＳｔｕｄｉｏ　３　Ｒｅａｌ－Ｔｉｍｅ　ＰＣＲ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ，Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ^{TM}）でｑＲＴ－ＰＣＲを行った。

【００７９】

ｑＲＴ－ＰＣＲ実験に用いられたプライマー（ｐｒｉｍｅｒ）の正方向（ｆｏｒｗａｒｄ，Ｆ）及び逆方向（ｒｅｖｅｒｓｅ，Ｒ）の配列は、次の表１に提示した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染された細胞においてＮＳＰ１２（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　ｐｒｏｔｅｉｎ　１２）、Ｍ（ｍｅｍｂｒａｎｅ）及びＮ（ｎｕｃｌｅｏｃａｐｓｉｄ）のウイルスＲＮＡレベルを測定する場合に、配列番号１～６に示したオリゴヌクレオチド配列を有するプライマーを用いた。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＣａｌｕ－３及びＨＢＥＣ細胞においてＧＡＰＤＨのＲＮＡを測定する場合に、配列番号７及び８に示したオリゴヌクレオチド配列を有するプライマーを用いた。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＶｅｒｏ及びＨＣＴ－８細胞においてＧＡＰＤＨのＲＮＡを測定する場合に、配列番号９及び１０に示したオリゴヌクレオチド配列を有するプライマーを用いた。ＨＣｏＶ－ＯＣ４

３に感染された細胞においてＮ（ｎｕｃｌｅｏｃａｐｓｉｄ）のウイルスＲＮＡレベルの測定のために、配列番号１１及び１２に示したオリゴヌクレオチド配列を有するプライマーを用いた。

【００８０】

【表１】

［表１］

遺伝子名	F/R	配列	配列番号
NSP12	F	CAG AGA GCT AGG TGT TGT AC	1
NSP12	R	AAG CAC GTA GTG CGT TTA TC	2
M	F	CGT GCC ACT CCA TGG CAC TAT	3
M	R	CGT CCT AGA TGG TGT CCA GCA A	4
N	F	GGC CAG AAG CTG GAC TTC CC	5
N	R	AGG ATT GCG GGT GCC AAT GT	6
GAPDH	F	CTC TCT GCT CCT CCT GTT CGA C	7
GAPDH	R	TGA GCG ATG TGG CTC GGC T	8
GAPDH	F	TGC CAA CGT GTC AGT GGT G	9
GAPDH	R	GCC TGC TTC ACC ACC TTC TTG	10
N	F	TAA GCA ATC CAG TAG TAG AGC G	11
N	R	TCT AAA CTG GTC GGA CTG AT	12

【００８１】

ｑＲＴ－ＰＣＲ実験の結果から得たｎｓｐ１２（ｎｏｎ－ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｐｒｏｔｅｉｎ１２）、膜（ｍｅｍｂｒａｎｅ，Ｍ）タンパク質及びヌクレオカプシド（ｎｕｃｌｅｏｃａｐｓｉｄ，Ｎ）タンパク質遺伝子のＣｔ（Ｃｙｃｌｅ ｔｈｒｅｓｈｏｌｄ）値を内因性対照群であるＧＡＰＤＨのＣｔ値に補正し（ｎｏｒｍａｌｉｚｅｄ）、$2^{-\Delta\Delta Ct}$の方法でウイルスＲＮＡレベルを分析した。

【００８２】

本発明の実験は、２回反復を行ったＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＨＣＴ－８細胞実験を除けばいずれも少なくとも３回反復され、図１Ａ～図１Ｄ及び図２Ａ～図２Ｅのグラフ上の誤差線（ｅｒｒｏｒ ｂａｒ）は、標準誤差（ｓｔａｎｄａｒｄ ｅｒｒｏｒ ｏｆ ｔｈｅ ｍｅａｎ）を表す。

【００８３】

＜実施例７：レイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物のベータコロナウイルスＲＮＡの抑制効果＞

＜実施例７－１：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対するレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物のウイルスＲＮＡ抑制効果＞

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を感染させたＣａｌｕ－３細胞及びＶｅｒｏ細胞にＤＭＳＯのみを処理した対照群と２５μＭのレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群においてｑＲＴ－ＰＣＲで測定したｎｓｐ１２、Ｍ及びＮのウイルスＲＮＡレベルをＧＡＰＤＨで補正して分析した（図１Ａ及び図１Ｂ参照）。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を感染させたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｃａｌｕ－３）においてＤＭＳＯのみを処理した対照群に比べて２５μＭのレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群においてｎｐｓ１２、Ｍ、及びＮのウイルスＲＮＡレベルがいずれも５％未満と有意に抑制され（図１Ａ参照）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を感染させたＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ Ｖｅｒｏ）においても同様、レイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群においてｎ

ｐｓ１２、Ｍ、及びＮのウイルスＲＮＡレベルがいずれも約３０％未満（図１Ｂ参照）と有意に抑制された。

【００８４】

＜実施例７－２：ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対するレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物のウイルスＲＮＡ抑制効果＞

ＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＨＣＴ－８細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＣＴ－８）にＤＭＳＯ及びエタノールの混合液（ＤＭＳＯ＋Ｅｔｈａｎｏｌ）を処理した対照群と０．２５μＭ、２．５μＭ、２５μＭ及び２５０μＭのレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群において（図１Ｃ参照）、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）にＤＭＳＯのみを処理した対照群と５μＭ、１０μＭ、２５μＭ及び５０μＭのレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群において（図１Ｄ参照）、それぞれ、ｑＲＴ－ＰＣＲで測定したＮのウイルスＲＮＡレベルをＧＡＰＤＨで補正して分析した。

【００８５】

ＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＨＣＴ－８細胞に２５０μＭ及び２５μＭのレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した場合とＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＶｅｒｏ細胞に５μＭ、１０μＭ、２５μＭ及び５０μＭのレイン（Ｒｈｅｉｎ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した場合に、ＮのウイルスＲＮＡレベルが有意に抑制された。また、図１Ｄに示すように、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＶｅｒｏ細胞において処理した抗ウイルス用組成物中のレイン（Ｒｈｅｉｎ）の濃度が増加するにつれてＮのＲＮＡレベルの抑制が増加する用量依存的効果（ｄｏｓｅ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ　ｅｆｆｅｃｔ）を確認した。

【００８６】

＜実施例８：メクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物のウイルスＲＮＡの抑制効果＞

＜実施例８－１：ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対するメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物のウイルスＲＮＡ抑制効果＞

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を感染させたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｃａｌｕ－３）、ＨＢＥＣ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＢＥＣ）及びＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）にエタノールのみを処理した対照群と５０μＭのメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群においてｑＲＴ－ＰＣＲで測定したｎｓｐ１２、Ｍ及びＮのウイルスＲＮＡレベルをＧＡＰＤＨで補正して分析した（図２Ａ、図２Ｂ及び図２Ｃ参照）。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を感染させたＣａｌｕ－３細胞とＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）では、エタノールのみを処理した対照群に比べて、５０μＭのＭＡを含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群においてｎｐｓ１２、Ｍ及びＮのウイルスＲＮＡレベルがいずれも５％未満と有意に抑制され（図２Ａ及び図２Ｃ参照）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２を感染させたＨＢＥＣ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＢＥＣ）の場合には約４０％以下と有意に抑制された（図２Ｂ参照）。

【００８７】

＜実施例８－２：ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に対するメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物のウイルスＲＮＡ抑制効果＞

ＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＨＣＴ－８細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＣＴ－８）にＤＭＳＯとエタノールを処理した対照群と０．５μＭ、５μＭ及び５０μＭのメクロフェナム酸（Ｍｅｃｌｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ，ＭＡ）を含む抗ウイルス用組成物を処理した実験群において（図２Ｄ参照）、ＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）にＤＭＳＯのみを処理した対照群と５μＭ、１０μＭ、２５μＭ、５０μＭ及び１００μＭのＭＡを含む

抗ウイルス用組成物を処理した実験群において（図２Ｅ参照）、ｑＲＴ－ＰＣＲで測定したＮのウイルスＲＮＡレベルをＧＡＰＤＨで補正して分析した。ＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＨＣＴ－８細胞に５０μＭのＭＡを含む抗ウイルス用組成物を処理した場合とＨＣｏＶ－ＯＣ４３を感染させたＶｅｒｏ細胞に１０μＭ、２５μＭ、５０μＭ及び１００μＭのＭＡを含む抗ウイルス用組成物を処理した場合に、Ｎのウイルスｒｎａレベルが有意に抑制されたことを確認した。

【図面の簡単な説明】

【００８８】

【図１Ａ】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｃａｌｕ－３）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

【図１Ｂ】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

【図１Ｃ】ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＨＣＴ－８細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＣＴ－８）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

【図１Ｄ】ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

【図２Ａ】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＣａｌｕ－３細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｃａｌｕ－３）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

【図２Ｂ】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＨＢＥＣ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＢＥＣ）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

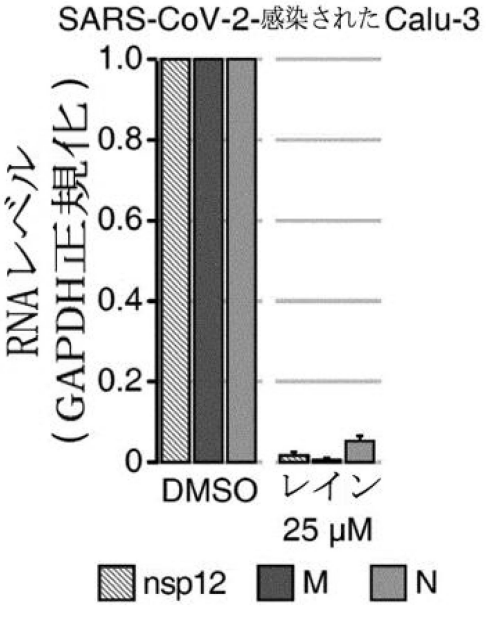
【図２Ｃ】ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

【図２Ｄ】ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＨＣＴ－８細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　ＨＣＴ－８）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

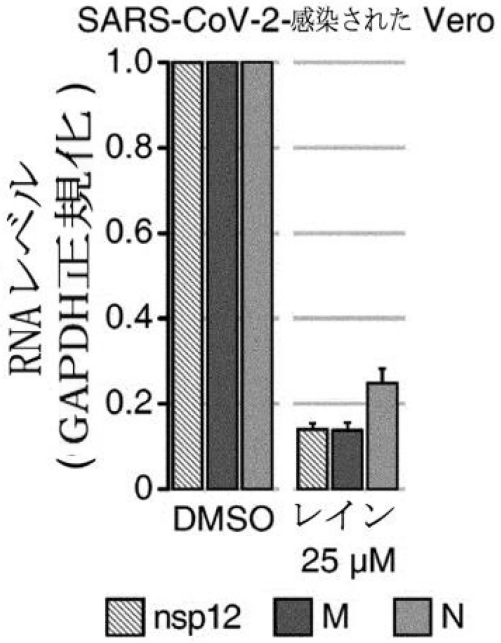
【図２Ｅ】ＨＣｏＶ－ＯＣ４３に感染されたＶｅｒｏ細胞（ＨＣｏＶ　ＯＣ４３－ｉｎｆｅｃｔｅｄ　Ｖｅｒｏ）においてウイルスＲＮＡレベルを示す。

【図面】

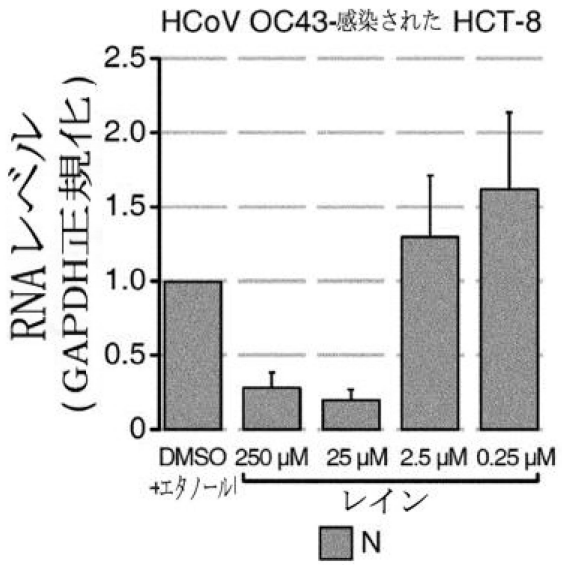
【図１Ａ】



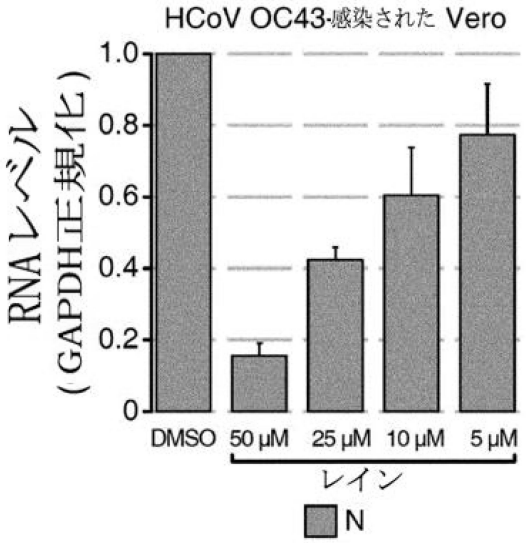
【図１Ｂ】



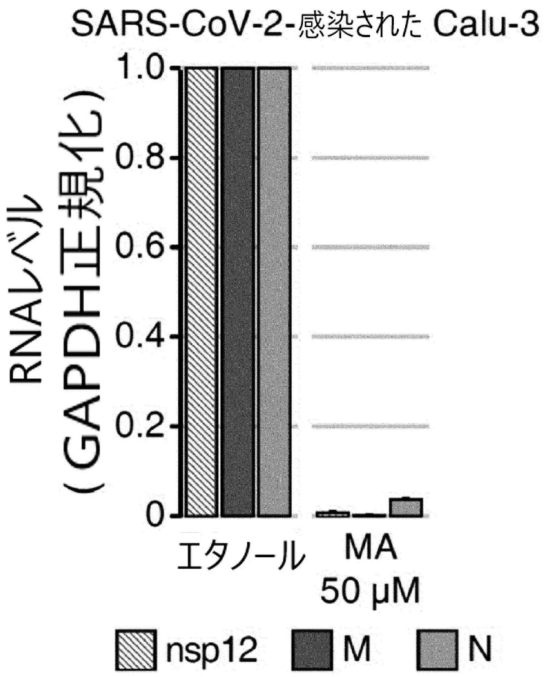
【図１Ｃ】



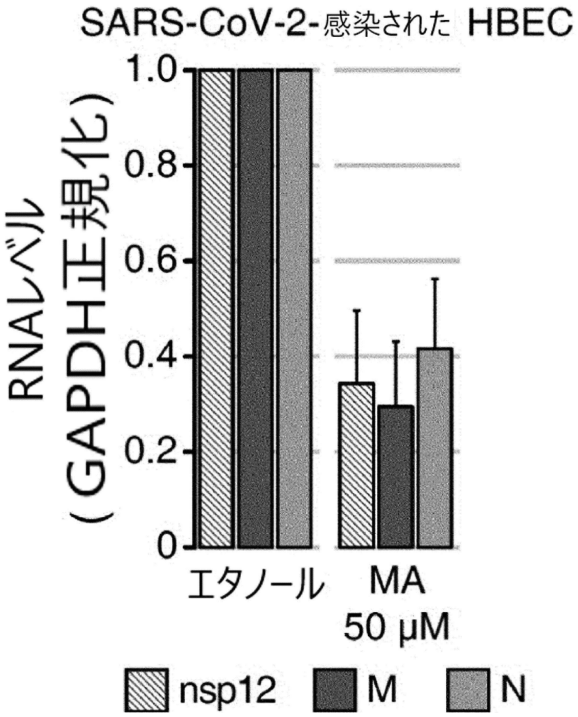
【図１Ｄ】



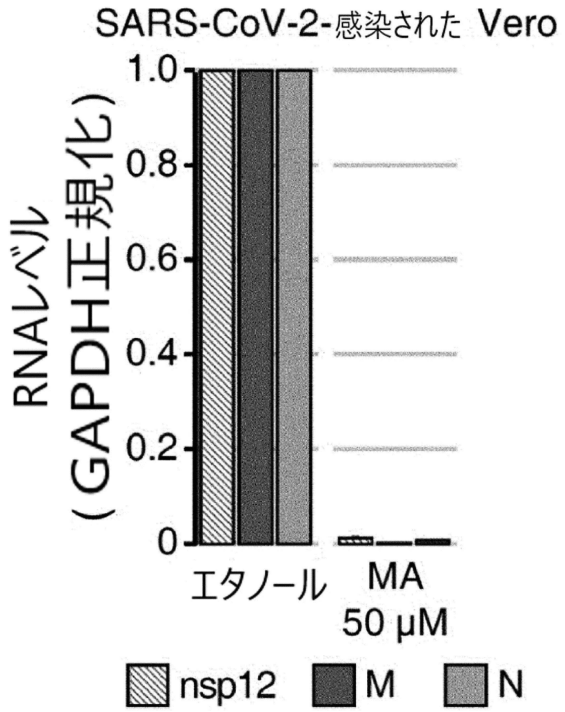
【図２Ａ】



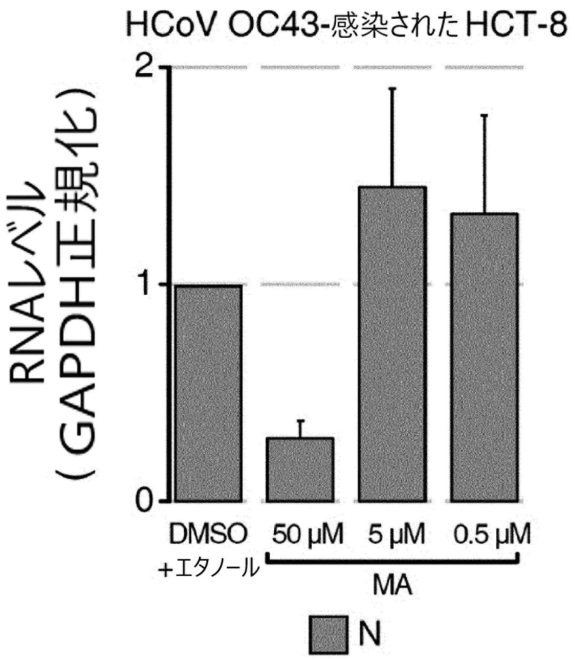
【図２Ｂ】



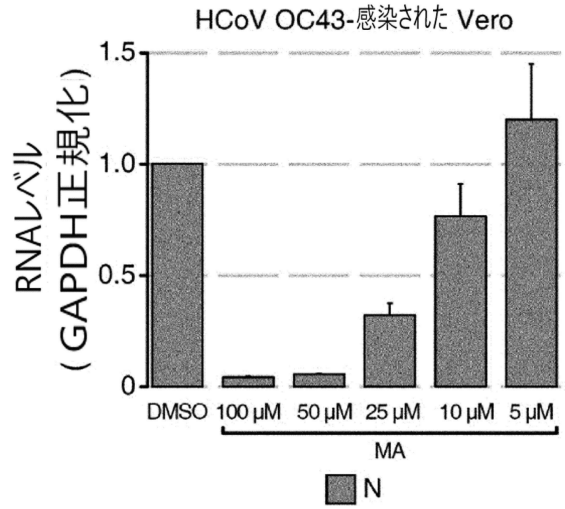
【図２Ｃ】



【図２Ｄ】



【図２Ｅ】



【配列表】

<u>20235504090000001.app</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2021/001312

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/192(2006.01)i; **A61K 31/196**(2006.01)i; **A61P 31/14**(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/192(2006.01); A61K 31/122(2006.01); A61K 31/14(2006.01); A61K 31/222(2006.01); A61K 9/00(2006.01)

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

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 레인 (rhein), 메클로페남산 (meclofenamic acid), SARS-CoV-2, HCoV-OC43, 항바이러스 (anti-viral), 베타코로나바이러스 (betacoronavirus)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHANDEL, V. et al. In silico identification of potent COVID-19 main protease inhibitors from FDA approved antiviral compounds and active phytochemicals through molecular docking: A drug repurposing approach. 2020 [publication date:23 March 2020]. <https://www.preprints.org/manuscript/202003.0349/v1>. See abstract; and pages 2, 3, 5 and 7.	1-7
A	PAREEK, R. P. Use of Mefenamic Acid as a Supportive Treatment of COVID-19: A Repurposing Drug. International Journal of Science and Research(IJSR). June 2020, vol. 9, no. 6, pp. 69-73. See entire document.	1-7
A	CN 111346075 A (SHENZHEN JINHUIQIU HIGH TECH CO., LTD. et al.) 30 June 2020 (2020-06-30) See entire document.	1-7
A	CN 111265508 A (CHINA INSPECTION SCIENCE AND TECHNOLOGY (BEIJING) GROUP CO., LTD.) 12 June 2020 (2020-06-12) See entire document.	1-7

☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
09 August 2021	**09 August 2021**
Name and mailing address of the ISA/KR **Korean Intellectual Property Office** **Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon 35208** Facsimile No. **+82-42-481-8578**	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2021/001312

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2020-0237689 A1 (BLUEWILLOW BIOLOGICS, INC.) 30 July 2020 (2020-07-30) See entire document.	1-7
A	SHAH, A. Novel coronavirus-induced NLRP3 inflammasome activation: a potential drug target in the treatment of COVID-19. Frontiers in immunology. 2020 [publication date 19 May 2020], vol. 11, thesis no. 1021, pp. 1-5. See entire document.	1-7

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2021/001312

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☐ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2021/001312

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 111346075 A	30 June 2020	None	
CN 111265508 A	12 June 2020	WO 2020-114444 A1	11 June 2020
US 2020-0237689 A1	30 July 2020	CA 3119836 A1	22 May 2020
		WO 2020-102494 A1	22 May 2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2019)

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2021/001312

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 31/192(2006.01)i; **A61K 31/196**(2006.01)i; **A61P 31/14**(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/192(2006.01); A61K 31/122(2006.01); A61K 31/14(2006.01); A61K 31/222(2006.01); A61K 9/00(2006.01)

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 레인 (rhein), 메클로페남산 (meclofenamic acid), SARS-CoV-2, HCoV-OC43, 항바이러스 (anti-viral), 베타코로나바이러스 (betacoronavirus)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	CHANDEL, V. 등, 'In silico identification of potent COVID-19 main protease inhibitors from FDA approved antiviral compounds and active phytochemicals through molecular docking: A drug repurposing approach', 2020[공개일:2020.03.23],<https://www.preprints.org/manuscript/202003.0349/v1> 요약; 페이지 2, 3, 5, 7	1-7
A	PAREEK, R. P., 'Use of Mefenamic Acid as a Supportive Treatment of COVID-19: A Repurposing Drug', International Journal of Science and Research(IJSR), 2020.06, 9권, 6호, 페이지 69-73 전체 문헌	1-7
A	CN 111346075 A (SHENZHEN JINHUIQIU HIGH TECH CO.,LTD. 등) 2020.06.30 전체 문헌	1-7
A	CN 111265508 A (CHINA INSPECTION SCIENCE AND TECHNOLOGY (BEIJING) GROUP CO.,LTD.) 2020.06.12 전체 문헌	1-7
A	US 2020-0237689 A1 (BLUEWILLOW BIOLOGICS, INC.) 2020.07.30 전체 문헌	1-7

☑ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☑ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌
"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2021년08월09일(09.08.2021)	**2021년08월09일(09.08.2021)**

ISA/KR의 명칭 및 우편주소	심사관
대한민국 특허청 **(35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)**	정다원
팩스 번호 **+82-42-481-8578**	전화번호 **+82-42-481-5373**

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2019년 7월)

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2021/001312

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	SHAH, A.,'Novel coronavirus-induced NLRP3 inflammasome activation: a potential drug target in the treatment of COVID-19', Frontiers in immunology, 2020[공개일 2020.05.19], 11권, 논문번호 1021, 페이지 1-5 전체 문헌	1-7

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2019년 7월)

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2021/001312

제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.

   a. ☑ 아래의 형태로 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
      - ☑ 부록 C/ST.25 텍스트 파일
      - ☐ 서면 혹은 이미지 파일

   b. ☐ PCT 규칙 13의3.1(a)에 따라 국제출원과 함께 국제조사만을 목적으로 부록 C/ST.25 텍스트 파일의 형태로 제출된 서열목록

   c. ☐ 국제조사만을 목적으로 국제출원일 이후에 아래 형태로 제출된 서열목록
      - ☐ 부록 C/ST.25 텍스트 파일 (규칙 13의3.1(a))
      - ☐ 서면 혹은 이미지 파일 (규칙 제13의3.1(b) 및 시행세칙 713).

2. ☐ 추가로 서열목록에 대하여 하나 이상의 버전이나 사본이 제출된 경우, 후속 버전 또는 추가된 사본에 기재되어 있는 정보가 출원시 출원의 일부를 구성하는 정보와 동일하거나 또는 출원시의 개시범위를 벗어나지 않는다는 진술서가 제출되었습니다.

3. 추가 의견:

국 제 조 사 보 고 서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2021/001312

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
CN 111346075 A	2020/06/30	없음	
CN 111265508 A	2020/06/12	WO 2020-114444 A1	2020/06/11
US 2020-0237689 A1	2020/07/30	CA 3119836 A1	2020/05/22
		WO 2020-102494 A1	2020/05/22

서식 PCT/ISA/210 (대응특허 추가용지) (2019년 7월)

フロントページの続き

(51)国際特許分類	ＦＩ		テーマコード（参考）
	Ａ６１Ｐ	43/00	ＺＮＡ

(54)【発明の名称】 ス用組成物

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),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,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,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

ＲＫ

(72)発明者 キム， ヴイ．ネリ
大韓民国，０６２９２ ソウル，ガンナムーグ，オンジューロ ３０－ギル，１３，エーードン ２７０３ホ
(72)発明者 キム，ドンワン
大韓民国，０８８１４ ソウル，グァナクーグ，シルリムーロ，３０３ホ ７７－３
(72)発明者 キム，ヒョンジュン
大韓民国，０７０１８ ソウル，ドンジャクーグ，サダンーロ １６ダーギル，２１

Ｆターム（参考） 4C206 AA01 AA02 DA18 FA33 KA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA59 ZB33 ZC75