

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-504519

(P2025-504519A)

(43)公表日 令和7年2月12日(2025.2.12)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	Z N A 4 C 0 8 6
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	4 H 0 4 5
C 0 7 K 5/06 (2006.01)	C 0 7 K 5/06	
C 1 2 N 15/50 (2006.01)	C 1 2 N 15/50	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全29頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-543838(P2024-543838)	(71)出願人	513246469
(86)(22)出願日	令和5年1月19日(2023.1.19)		インサーム(インスティテュ ナショナル
(85)翻訳文提出日	令和6年9月19日(2024.9.19)		ドゥ ラ サンテ エ ドゥ ラ ルシエルシ
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/051296		エ メディカル)
(87)国際公開番号	WO2023/139182		INSERM(INSTITUT NA
(87)国際公開日	令和5年7月27日(2023.7.27)		TIONAL DE LA SANTE ET
(31)優先権主張番号	22305072.5		DE LA RECHERCHE MED
(32)優先日	令和4年1月24日(2022.1.24)		ICALE)
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		フランス国 エフ - 7 5 0 1 3 パリ リ
	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ	(71)出願人	ユ・ド・トルビアック 1 0 1
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),		520053762
	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(ユニヴェルシテ・パリ・シテ
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,		UNIVERSITE PARIS CI
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV		TE
	最終頁に続く		フランス共和国, 7 5 0 0 6 パリ, プ
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 SARS - COV - 2 に起因する感染症の予防および/または処置における使用のための化合物

(57)【要約】

本発明は、SARS - CoV - 2 に起因するウイルス感染症の処置および/または予防の分野に関する。本発明は、SARS - CoV - 2 に起因するウイルス感染症の予防および/または処置における使用のための、N - (2 (キノリル) - パリル - O - メチルアスパルチル - (2 , 6 - ジフルオロフェノキシ)メチルケトン、または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物に関する。本発明はまた、同じ使用のための、そのような化合物を含む医薬組成物および要素のキットにも関する。

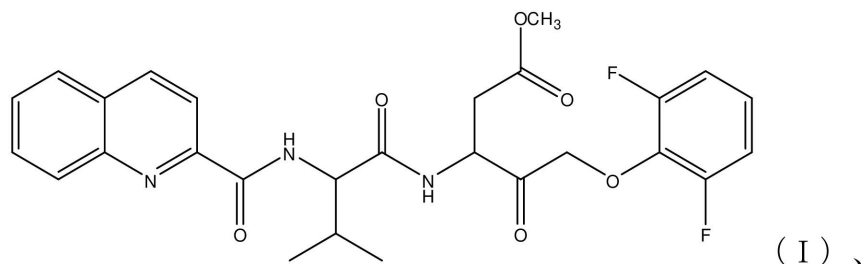
【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

予防および/または処置を必要とする患者において、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症を予防および/または処置するための方法であって、予防および/または処置を必要とする前記患者に、化学式(I)の化合物

【化 1】



10

または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物を投与するステップを含む方法。

【請求項 2】

予防および/または処置を必要とする患者において、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症を予防および/または処置するための方法であって、予防および/または処置を必要とする前記患者に、請求項 1 に記載する化学式(I)の化合物または薬学的に許容される塩もしくは溶媒和物を有効成分として含む医薬組成物を投与するステップを含む方法。

20

【請求項 3】

前記医薬組成物は、少なくとも 1 つの薬学的に許容されるビヒクルをさらに含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記医薬組成物は、少なくとも 1 つのさらなる治療剤をさらに含む、請求項 2 または 3 に記載の方法。

【請求項 5】

予防および/または処置を必要とする患者において、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症を予防および/または処置するための方法であって、予防および/または処置を必要とする前記患者に、

30

(a) 請求項 1 に記載する化学式(I)の化合物もしくはその塩もしくは溶媒和物、または請求項 2 ~ 4 のいずれか 1 項に記載する医薬組成物と、

(b) 少なくとも 1 つのさらなる治療剤、または少なくとも 1 つのさらなる治療剤を含む医薬組成物とを含む、またはそれらからなる要素のキットを投与するステップを含む方法。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つのさらなる治療剤は、抗ウイルス剤、抗炎症剤、鎮痛剤、筋弛緩剤、麻酔剤、利尿剤、および抗生物質からなる群において選択される、請求項 4 または 5 に記載の方法。

40

【請求項 7】

前記少なくとも 1 つのさらなる治療剤は、N-(2(キノリル)-バリル-グルタミル-(2,6-ジフルオロフェノキシ)メチル)ケトンまたは薬学的に許容される塩もしくはその溶媒和物である、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗ウイルス剤は、ウイルスRNA依存性RNAポリメラーゼ修飾剤または融合阻害剤である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

前記抗炎症剤はモノクローナル抗体である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 10】

50

前記方法は、SARS-CoV-2に感染した対象においてウイルス複製および/またはウイルスタンパク質合成を抑制、阻害、および/または低減するために適用される、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項11】

前記方法は、COVID-19肺炎、急性呼吸促進症候群(ARDS)、急性呼吸不全、および肝損傷または心損傷などのCOVID-19の合併症を予防するために適用される、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ウイルス感染症、特にSARS-CoV-2に起因するウイルス感染症の処置および/または予防の分野に属する。

【0002】

実際に、本発明は、SARS-CoV-2に起因する感染症の処置および/または予防における使用のための、N-(2(キノリル)-バリル-O-メチルアスパルチル-(2,6-ジフルオロフェノキシ)メチルケトンまたは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物である特定の化合物、ならびにそのような化合物を含む医薬組成物およびキットに関する。

【背景技術】

【0003】

コロナウイルスは、コロナウイルス科に属する一本鎖のエンベロープ型RNAウイルスである。

【0004】

2000年代初頭から、コロナウイルスによって引き起こされ、ヒトに影響を及ぼす重篤な感染症がいくつか出現している。実際に、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)は、2002年11月に中国で最初に同定され、ヒトに重篤で時に致死的な気道感染症を引き起こす別のコロナウイルスは、2012年6月にサウジアラビアで検出され、中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)と名付けられた。

【0005】

2019年12月には、新型コロナウイルスに起因する肺炎症例の大流行が中国の武漢で発生し、世界的に急速に広がった。世界保健機関(WHO)は、対応するコロナウイルスを最初に2019-nCoVと名付け、その後SARS-CoV-2と名付け、関連疾患をコロナウイルス疾患2019(COVID-19)と名付けた。この疾患は世界的に急速に広がったため、WHOは2020年3月11日にこれが世界的流行であると宣言した。

【0006】

ゲノム配列のレベルでは、最初に同定されたSARS-CoV-2は、SARS-CoVと約80%、およびMERS-CoVと約50%のヌクレオチド同一性を示す。さらに、SARS-CoV-2は、SARS-CoVおよびMERS-CoVよりも重篤度は低いながらも伝染性は強いと急速に考えられるようになった。

【0007】

SARS-CoV-2に感染した人の多くは、発熱、頭痛、筋肉痛、疲労、乾性咳、呼吸困難、味覚消失、および嗅覚消失の症状のうち少なくとも1つを伴う軽度から中等度の呼吸器疾患を示すが、特別な処置を必要とせずに回復する。それにもかかわらず、高齢者、および、COVID-19が例えば肥満、心血管疾患、糖尿病、慢性呼吸器疾患、およびがんなどの他の内科疾患または問題に関連している人は、深刻な病気を発症し得る。これらの場合において、病気が、COVID-19関連肺炎もしくはCOVID-19肺炎としても知られる肺炎、および/または、多臓器不全に進行し得る。COVID-19の合併症は、急性呼吸促進症候群(ARDS)、急性呼吸不全、および肝損傷または心損傷を含み得る。

10

20

30

40

50

【0008】

以上のことから、多数の企業や公的研究機関が、SARS-CoV-2に起因する感染症を予防および/または処置可能な抗ウイルス化合物を同定しようとしている。

【0009】

本発明者は、特許文献1において、可能性のある抗SARS-CoV-2化合物として、N-(2(キノリル)-バリル-グルタミル(2,6-ジフルオロフェノキシ)メチルケトン)を既に提案している。後者は、「QVE-OPh」、「キノリル-Val-Glu-OPh」、または「QVD-OPh陰性コントロール」としても知られる。実際に、QVD-OPh、すなわちN-(2(キノリル)-バリル-アスパルチル-(2,6-ジフルオロフェノキシ)メチルケトン)は、QVE-OPhと化学的に極めて近く、これは、両化合物が、QVD-OPhではアスパラギン酸(AspまたはD)、およびQVE-OPhではグルタミン酸(GluまたはE)である1つのアミノ酸の側鎖によって、互いに異なるからである。活性に関して、QVD-OPhは広範なカスパーゼ阻害剤である一方、QVE-OPhはカスパーゼ阻害活性を示さず、したがって、その陰性コントロールとして使用される。

10

【0010】

また、QVD-OPhは、メチル化形態で、より具体的にはO-メチル化形態で適用することもできる。本開示においてQVDM-OPhと呼ばれるこの形態において、アスパラギン酸側鎖におけるカルボキシル基の水素原子は、エステル化反応を介してメチル基によって置換される。QVD-OPhは、特許文献2において抗ウイルス化合物として既に提案されている。より具体的には、この公開公報において提供された実験データにより、QVD-OPhはそのカスパーゼ阻害活性のためアポトーシス表現型のHIV感染細胞を阻害し、ウイルス複製も阻害することが示されている。QVD-OPhの可能性のある抗HIV活性は、Laforgereら、2018年(J.Clin.Invest., vol. 128, pages 1627-1640)によって確認されており、長期的なウイルス複製の抑制を可能にするQVD-OPh処置のため、SIV感染したアカゲザルにおいて、AIDS疾患の進行が抑止されている。それにもかかわらず、特許文献2またはLaforgereら、2018年のいずれにも、他の種類のウイルスに対するデータは示されていない。

20

【0011】

QVE-OPhがいずれのカスパーゼ阻害活性も示さないとしても、本発明者は、特許文献1において、この化合物がウイルス複製、より具体的にはHIVウイルス複製およびSARS-CoV-2ウイルス複製を阻害できることを実証している。実際に、この化合物は、いずれの毒性もなく、細胞内で複製を阻害すること、ならびに、ウイルス産生および新たな感染を抑止することによって、SARS-CoV-2に起因するin vitroの感染を抑制することに極めて有効である。QVE-OPhの抗SARS-CoV-2活性における実験データはin vitroにおけるデータのみである。さらに、この公開公報では、HIVに関する実験においてのみ、QVE-OPhとQVD-OPhおよびQVDM-OPhとを比較していることに留意する必要がある。

30

【先行技術文献】

40

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】国際公開第2021/228846号

【特許文献2】国際公開第2009/092897号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明者は、特性が向上したさらなる抗SARS-CoV-2化合物を同定することを狙いとしている。

【課題を解決するための手段】

50

【0014】

本発明において、本発明者が設定した目的を達成することができる。

【0015】

実際に、本発明者は、*in vitro*および*in vivo*の両方において、QVDM-OPhがSARS-CoV-2に対して阻害活性を示すことを示した。より具体的には、この化合物は、いずれの毒性もなく、細胞内でウイルス複製を阻害すること、ならびに、*in vitro*のウイルス産生および新たな感染を抑止することによって、*in vitro*におけるSARS-CoV-2感染を抑制することに有効である。さらに、QVDM-OPhの抗SARS-CoV-2活性は、COVID-19に罹患したハムスターにおいて*in vivo*で確認されており、そこでは、肺におけるウイルス複製がQVDM-OPh処置によって有意に減少している。本出願時には、QVDM-OPhがそのような活性を有することはまったく明らかではなかった。特許文献1において、QVE-OPhが抗HIVおよび抗SARS-CoV-2化合物として記載されたとしても、これは、抗HIV活性で知られるQVDM-OPhが間違いなく抗SARS-CoV-2活性を有することを意味するものではない。実際に、一方では、HIVとSARS-CoV-2とは、極めて異なる2種類のウイルス、すなわちレトロウイルスおよびコロナウイルスに属し、他方では、QVD-OPhとQVDM-OPhとは、スペクトルが限定された抗ウイルス剤と定義されている（特許文献1の6頁、8～10行）。

10

【0016】

さらに驚いたことに、以下の実施例1（図5および図9）においてウイルス産生および新たな感染の抑止について示すように、QVDM-OPhがQVD-OPhよりも強い抗SARS-CoV-2活性を示し得る、という徴候はなかった。QVD-OPhとQVDM-OPhとの差に関して、特許文献2には、O-メチル化されていない化合物は疎水性が低く、これが水性媒体における使用を容易にすること（段落[057]）、および、QVD-OPhはQVDM-OPhよりも安定性が低いこと（段落[0068]）が記載されている。しかしながら、抗ウイルス活性の差は、先行技術において言及も示唆もされていない。特に、特許文献1（30頁、24～32行）において、QVE-OPh、QVD-OPh、およびQVDM-OPhについて、HIVのウイルス複製に対する同じ抗ウイルス効果が観察されている。

20

【0017】

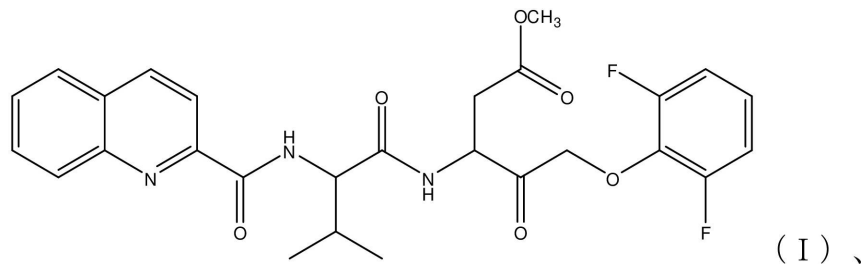
さらに、本発明者は、COVID-19に罹患したハムスターにおいて*in vivo*で、QVDM-OPhが、肺におけるウイルス量およびウイルス複製のレベルの比較によって確認されたように、QVE-OPhよりも強い抗SARS-CoV-2活性を示すことを示した（図10）。

30

【0018】

したがって、本発明は、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症の予防および/または処置における使用のための、化学式(I)の化合物

【化1】



40

または、薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物に関する。

【0019】

化学式(I)の化合物の化学名は、N-(2(キノリル)-バリル-O-メチルアスパルチル-(2,6-ジフルオロフェノキシ)メチルケトン、すなわち、QVD-OPhの

50

O - メチル化形態である Q V D M - O P h である。化学式 (I) の化合物は、B I O V 2 7 8 7 - 1 および B I O V 2 7 8 7 - 5 の参照名で、A v a n t o r (登録商標) から市販され、V W R により提供されている、汎カスパーゼ阻害剤である。

【 0 0 2 0 】

化学式 (I) の化合物の「薬学的に許容される塩」という表現は、薬学的に許容され、化学式 (I) の化合物の生物学的活性と比較して、すなわち化学式 (I) の化合物の抗 S A R S - C o V - 2 活性と比較して、実質的に同様の生物学的活性を有する塩を意味する。化学式 (I) の化合物の薬学的に許容される塩が非毒性であることは明らかである。典型的に、本発明において適用される薬学的に許容される塩は、化学式 (I) の化合物から得られる任意の酸付加塩である。この酸付加塩は、無機酸付加塩または有機酸付加塩であり得る。このような酸付加塩の説明のための非限定的な例として、塩酸塩、塩化物、臭化水素酸塩、臭化物、リン酸塩、リン酸水素塩、リン酸二水素塩、硫酸塩、硫酸水素塩、ホウ酸塩、酢酸塩、酒石酸水素塩、炭酸塩、クエン酸塩、ギ酸塩、乳酸塩、硝酸塩、シュウ酸塩、ステアリン酸塩、およびコハク酸塩を挙げることができる。より具体的には、本発明において適用される化学式 (I) の化合物の薬学的に許容される塩は、塩酸塩である。この塩は、塩化水素を使用することによって得ることができ、塩化水素は化学式 (I) の化合物の少なくとも 1 つの窒素原子と複合体を形成することができる。

10

【 0 0 2 1 】

化学式 (I) の化合物の「薬学的に許容される溶媒和物」という表現は、化学式 (I) の化合物と、化学量論的量または準化学量論的量の 1 つ以上の薬学的に許容される溶媒分子、例えばエタノールまたは水とを含む分子複合体を意味する。「水和物」という用語は、上述の溶媒が水である場合を指す。

20

【 0 0 2 2 】

化学式 (I) の化合物の薬学的に許容される塩または溶媒和物は、当該技術分野において周知の技術、例えば、沈殿工程、ろ過工程、結晶化工程、蒸発工程、凍結乾燥工程、および / またはイオン交換樹脂に関与する技術によって調製することができる。

【 0 0 2 3 】

本発明において適用される化合物、または任意の薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物は、S A R S - C o V - 2 に起因するウイルス感染症の予防および / または処置に使用される。

30

【 0 0 2 4 】

本明細書において使用されるように、「処置する」、「処置すること」、および「処置」という用語は、状態または疾患、特に S A R S - C o V - 2 に起因するウイルス感染症、ならびに / またはそれに関連する徴候、症状、および / もしくは合併症を緩和、軽減、または抑制することを含むことを意味する。状態または疾患に関連する徴候または症状は、生化学的、細胞的、組織学的、機能的または身体的、主観的または客観的なものであり得る。状態または疾患、特に S A R S - C o V - 2 に起因するウイルス感染症に関連する合併症は、C O V I D - 1 9 肺炎、急性呼吸促進症候群 (A R D S)、急性呼吸不全、および肝損傷または心損傷であり得る。

【 0 0 2 5 】

本明細書において使用されるように、「予防する」、「予防すること」、および「予防」という用語は、状態または疾患、特に S A R S - C o V - 2 に起因するウイルス感染症、ならびに / またはそれに関連する徴候、症状、および / もしくは合併症の発症を遅延または防止することだけでなく、患者が状態または疾患、特に S A R S - C o V - 2 に起因するウイルス感染症に罹患することを防ぐこと、または、患者が状態または疾患、特に S A R S - C o V - 2 に起因するウイルス感染症に罹患するリスクを低減することを含むことを意味する。

40

【 0 0 2 6 】

本明細書において使用するように、「S A R S - C o V - 2」という用語は、最初に同定された S A R S - C o V - 2 だけでなく、その任意の変異体または突然変異体であると

50

理解される。最初に同定されたSARS-CoV-2は最初に発見されたウイルス株であり、後者は2019-nCoV、HCoV-19、SARS2、COVID-19ウイルス、武漢コロナウイルス、武漢海鮮市場肺炎ウイルス、およびヒトコロナウイルス2019としても知られている。このコロナウイルスの全ゲノム(29903bps-RNA)は、NCBI(「米国立生物工学情報センター(National Center for Biotechnology Information)」)のウェブサイトで<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>から、参照配列NC_045512.2として、利用可能である。

【0027】

最初に同定されたSARS-CoV-2の「突然変異体または変異体」は、少なくとも一部の国において既に同定されている任意の突然変異体または変異体、例えば、アルファ変異体(変異体B.1.1.7としても知られる)、ベータ変異体(変異体B.1.351としても知られる)、ガンマ変異体(変異体P.1としても知られる)、デルタ変異体(変異体B.1.617.2としても知られる)、およびオミクロン変異体(変異体B.1.1.529としても知られる)およびその亜系統(変異体BA.1、BA.2、BA.3、BA.4およびBA.5としても知られる)であり得る。また、最初に同定されたSARS-CoV-2の「突然変異体または変異体」は、全ゲノムが参照配列NC_045512.2と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、またはさらに少なくとも99%の同一性を示す、任意の突然変異体または変異体を含む。

【0028】

本明細書において使用するように、「2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセント」という表現は、比較した2つの配列間の同一ヌクレオチド残基のパーセントを意味し、このパーセントは、両配列間の最良のアラインメント(最適アラインメント)を行った後に得られる。当業者には、このような同一性パーセントを得ることを可能にし、相同性アルゴリズムまたはBLASTプログラムなどのコンピュータープログラムに關与する、様々な技術が知られている。

【0029】

同一性パーセントは統計的なものであり、両配列間の差はこれらの配列に沿って無作為に分布している。両配列の差は、ヌクレオチド残基の欠失、置換、または付加という、様々な配列修飾の種類からなり得る。

【0030】

本発明において適用される化合物、または本発明において適用される任意の薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物は、医薬組成物として製剤化され得る。したがって、本発明はまた、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症の予防および/または処置における使用のための、これまでに規定したような、化学式(I)の化合物、または、薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物を有効成分として含む医薬組成物に關する。

【0031】

典型的に、本発明に適用される医薬組成物は、少なくとも1つの薬学的に許容されるビヒクルをさらに含む。

【0032】

本明細書において使用されるように、「薬学的に許容されるビヒクル」という表現は、輸送を促進し、上述の組成物中での実質的な分解を回避し、および/または半減期を増加させるように、本発明において適用される有効成分に添加される任意の物質を意味する。有利には、そのような薬学的に許容されるビヒクルは、滅菌され非発熱性であり、適切な場合に、動物、特に哺乳動物、特にヒトに投与するとき、有害な、アレルギー性の、または他の不適当な反応を生じない分子実体および組成物を指す。これは、本発明の医薬組成物の適用の種類に応じて、特にその投与方法に応じて選択される。有利には、薬学的に許容されるビヒクルは、任意の種類である、非毒性の固体、半固体、または液体の担体、充填剤、希釈剤、添加剤、賦形剤、緩衝剤、カプセル化材料、または製剤補助剤を指す。

【0033】

本発明において適用される医薬組成物は、全身経路によって、非経口経路、例えば静脈内、動脈内、腹腔内、髄腔内、脳室内、胸骨内、頭蓋内、筋肉内、または皮下経路によって、局所経路によって、眼経路によって、経口経路によって、および粘膜経路、例えば口腔、鼻、鼻腔内、直腸、および膣経路などによって投与することができる。

【0034】

本発明において適用される経口投与のための固体医薬組成物として、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、またはカプセル剤を使用することができ、有効成分は、1つ以上の従来より使用されている不活性希釈剤、例えばデンプン、炭酸カルシウム、スクロース、ラクトース、またはゼラチン、および、場合によっては他の物質、例えばステアリン酸マグネシウムまたはタルクであり得る潤滑剤、着色剤、またはコーティングと混合される。

10

【0035】

本発明において適用される経口または眼投与のための液体医薬組成物として、薬学的に許容される、懸濁剤、液剤、乳剤、シロップに、従来より使用されている不活性希釈剤、および、場合によっては他の物質、例えば湿潤剤、保湿剤、甘味料、香料、保存剤、または増粘剤を含有させたものを使用することができる。

【0036】

本発明において適用される非経口投与のための滅菌医薬組成物は、滅菌された水性または非水性の液剤、懸濁剤、または乳剤であり得る。溶媒またはビヒクルとして、水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、オレイン酸エチルのような注射用エステル、または他の適切な有機溶媒を使用することができる。この組成物はまた、湿潤剤、等張化剤、または乳化剤などのアジュバントを含むことができる。

20

【0037】

本発明において適用される局所投与のための医薬組成物は、例えば、クリーム剤、ローション剤、経口噴霧剤、点鼻剤または点眼剤、またはエアロゾルとすることができる。

【0038】

特定の実施形態において、本発明において適用される医薬組成物は、少なくとも1つのさらなる治療剤をさらに含む。

【0039】

このように、本発明において適用される医薬組成物は、(i)これまでに規定したような化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、(ii)少なくとも1つの薬学的に許容されるビヒクル、および任意で(iii)少なくとも1つのさらなる治療剤を含む、またはそれらからなる。特に、本発明において適用される医薬組成物は、(i)これまでに規定したような化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、(ii)少なくとも1つの薬学的に許容されるビヒクル、および(iii)少なくとも1つのさらなる治療剤を含む、またはそれらからなる。

30

【0040】

典型的に、本発明において適用される医薬組成物に存在するさらなる治療剤は、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症の予防および/または処置に既に使用されている治療剤、ならびに、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症において生じる症状または合併症の予防および/または処置に既に使用されている治療剤であり得る。有利には、本発明において適用される医薬組成物に存在するさらなる治療剤は、抗ウイルス剤、抗炎症剤、鎮痛剤、筋弛緩剤、麻酔剤、利尿剤、および抗生物質からなる群において選択される。

40

【0041】

本発明において適用される医薬組成物が、少なくとも1つの抗ウイルス剤である少なくとも1つのさらなる治療剤を含むとき、この少なくとも1つのさらなる抗ウイルス剤は、化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物とは異なるということが明らかである。

【0042】

50

本発明において使用可能な抗ウイルス剤の第1の例は、QVE-OPhまたは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物であり、特に、特許文献1に公開されているようなものである。QVDM-OPhの薬学的に許容される塩または溶媒和物について既に開示されていることは、QVE-OPhの薬学的に許容される塩または溶媒和物にも準用される。言い換えると、本発明において適用される医薬組成物における少なくとも1つのさらなる治療剤は、N-(2(キノリル)-バリル-グルタミル-(2,6-ジフルオロフェノキシ)メチルケトン、または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物であり得る。

【0043】

本発明において使用可能な他の抗ウイルス剤として、ウイルスRNA依存性RNAポリメラーゼ修飾剤、例えばヌクレオチド類似体および融合阻害剤などを挙げることができる。後者は、SARS-CoV-2のエンベロープと細胞膜との融合、そしてSARS-CoV-2の細胞内への侵入を抑制する。有利には、融合阻害剤はセリン/プロテアーゼ阻害剤、アンジオテンシン変換酵素2(ACE2)の阻害剤、または抗マラリア/寄生虫駆除剤である。したがって、本発明において使用可能な融合阻害剤は、レムデシビル、メシル酸カモスタット、メシル酸ナファモスタット、リン酸クロロキン、ヒドロキシクロロキン、セファランチン、セラメクチン、ならびに、メフロキンおよび塩酸メフロキンなどのその塩からなる群において選択される。

10

【0044】

本発明において使用可能な抗炎症剤として、モノクローナル抗体を挙げることができる。後者は、好ましくは、IL-6およびそのレセプターなどの炎症性インターロイキンおよびそのレセプターに対するものである。したがって、本発明において使用可能なモノクローナル抗体は、トシリズマブ、サリルマブ、およびシルツキシマブからなる群において選択される。

20

【0045】

あるいは、またはさらに、本発明において適用される医薬組成物に存在するさらなる治療剤は、ベシル酸シサトラクリウム、リン酸デキサメタゾンナトリウム、塩酸デクスメドトミジン、クエン酸フェンタニル、フロセミド、塩酸ヒドロモルホン、塩酸ケタミン、ロラゼパム、塩酸ミダゾラム、硫酸モルヒネ、酒石酸水素ノルエピネフリン、臭化ロクロニウム、塩酸バンコマイシン、および臭化ベクロニウムからなる群において選択される。

【0046】

特定の実施形態において、本発明において適用される医薬組成物は、これまでに定義されたリストの中で同じリストまたは異なるリストにおいて選択される少なくとも2つまたは少なくとも3つのさらなる治療剤を含む。

30

【0047】

さらに特定の実施形態において、本発明において適用される医薬組成物は、(i)これまでに規定したような化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、(ii)少なくとも1つの薬学的に許容されるビヒクル、(iii₁)これまでに規定したようなものなどの少なくとも1つのさらなる抗ウイルス剤、および(iii₂)これまでに規定したようなものなどの少なくとも1つの抗炎症剤を含む、またはそれらからなる。

40

【0048】

本発明において適用される医薬組成物の投与量は、薬学的有効量である必要がある。「薬学的有効量」は、医学的処置に適用可能な適切なベネフィット/リスク比で疾患を予防または処置するために十分な量を意味し、有効量のレベルは、例えば、製剤化方法や、体重、性別、および年齢を含む患者の状態、疾患の程度、薬剤の形態、投与経路、この投与において単回または分割の用量を適用する場合の投与期間、排泄率、ならびに反応感受性などの要因に従って、当業者によって種々選択され得る。有効量は、当業者が認識するように、投与経路、賦形剤の使用、および他の治療剤との使用の可能性に応じて変化し得る。

【0049】

50

本発明はまた、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症の予防および/または処置における使用のための、

(a) これまでに規定したような、化学式(I)の化合物、または、薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、または、それを含む医薬組成物と、

(b) 少なくとも1つのさらなる治療剤、特にこれまでに規定したようなもの、または、少なくとも1つのさらなる治療剤を含む医薬組成物とを含む、またはそれらからなる要素のキットに関する。

【0050】

化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物を含む医薬組成物について既に開示されていることは、少なくとも1つのさらなる治療剤を含む医薬組成物にも準用される。

10

【0051】

要素のキットは、上述のような成分(a)および(b)の組み合わせとして規定することもできる。

【0052】

このような要素のキットは、化学式(I)の化合物もしくは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、および少なくとも1つのさらなる治療剤が同じ医薬組成物に製剤化できない場合、ならびに/または、化学式(I)の化合物もしくは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、もしくはそれを含む医薬組成物、および少なくとも1つのさらなる治療剤もしくはそれを含む医薬組成物が、別個にまたは順次に投与される場合に、本発明において特に興味深い。

20

【0053】

このように、本発明において適用されるような要素のキットは、共に、別個に、または順次に、特にSARS-CoV-2に起因するウイルス感染の予防および/または処置のために使用することができる。

【0054】

本明細書において使用するように、共に使用とは、上述のような成分(a)を、上述のような成分(b)と同時に患者に投与することを意味する。患者レベルでの投与部位、したがって投与経路は同一であり得る、またはでも異なり得る。

【0055】

本明細書において使用するように、別個の使用または順次の使用とは、成分(a)が患者に対して薬理学的効果を発揮する期間と成分(b)が患者に対して薬理学的効果を発揮する期間とが少なくとも部分的に交差する場合に、上述のような成分(a)および(b)が別個にまたは順次に投与されることを意味する。

30

【0056】

本明細書において使用するように、「患者」、「必要とする患者」、「対象」、および「必要とする対象」は、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症を発症するリスクのある対象、またはSARS-CoV-2に既に汚染されている対象のいずれかを意味する。対象は、非ヒト動物またはヒトであり得る。汚染は、唾液、血液、または鼻咽頭サンプルなどの対象由来のサンプルにおけるSARS-CoV-2のタンパク質またはSARS-CoV-2に特異的な抗体の検出によって確認することができる。SARS-CoV-2に汚染された患者は、症候性、微症候性、または無症状であり得る。また、必要とする対象は、最初の病気から回復した後、中期および長期の影響を受けている対象であり得る。これらの中期および長期の影響は、「COVID-19後状態」または「long COVID」、特に「Neuro-Long COVID」と呼ばれる。

40

【0057】

さらに、これまでに規定したような使用のための化学式(I)の化合物もしくは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、これまでに規定したような使用のための医薬組成物、および/または、これまでに規定したような使用のための要素のキットは、SARS-CoV-2に感染した対象におけるウイルス複製および/またはウイルスタンパク質合

50

成の抑止、阻害、および/または低減における使用のために適用される。この実施形態において、対象はまた、非ヒト動物またはヒトであり得る。ウイルス複製および/またはウイルスタンパク質合成の抑止または阻害は、部分的または全体的のいずれかであり得る。

【0058】

本明細書において使用するように、「ウイルス複製」という表現は、ウイルスの複製サイクルのステップ全体を含む。特に、この発現は、細胞内へのウイルスの侵入、ウイルス複製および転写複合体の形成、ウイルスゲノムRNA複製、負の鋳型の転写および翻訳による構造タンパク質の形成、ならびにウイルス粒子の構築を含む、SARS-CoV-2の複製の主要ステップを含む。

【0059】

ウイルス複製および/またはウイルスタンパク質合成を抑止、阻害、および/または低減するという、これまでに規定したような化学式(I)の化合物もしくは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、医薬組成物、または、要素のキットの能力は、例えば*in vitro*において評価され得る。以下の実施例1は、ウエスタンブロット分析およびqRT-PCR分析を含むこの評価のための技術を提案している。

【0060】

さらに、これまでに規定したような使用のための化学式(I)の化合物もしくは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、これまでに規定したような使用のための医薬組成物、および/または、これまでに規定したような使用のための要素のキットは、COVID-19肺炎、急性呼吸促進症候群(ARDS)、急性呼吸不全、および肝損傷または心損傷などのCOVID-19の合併症の予防における使用のために適用される。

【0061】

本発明は、予防および/または処置を必要とする患者において、SARS-CoV-2に起因するウイルス感染症を予防および/または処置するための方法であって、これまでに規定したような化学式(I)の化合物もしくは薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、これまでに規定したような医薬組成物、または、これまでに規定したような要素のキットを、予防および/または処置を必要とする患者に投与するステップを含む方法に関する。

【0062】

医薬組成物について既に関示したように、化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、ならびに、要素のキットの成分(a)および(b)は、全身経路によって、非経口経路、例えば静脈内、動脈内、腹腔内、髄腔内、脳室内、胸骨内、頭蓋内、筋肉内、または皮下経路によって、局所経路によって、眼経路によって、経口経路によって、および粘膜経路、例えば口腔、鼻、鼻腔内、直腸、および膣経路などによって投与することができる。

【0063】

さらに、医薬組成物について既に関示したように、化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、ならびに、要素のキットの成分(a)および(b)は、薬学的有効量で投与される。医薬組成物についてこれまでに示した定義を、化学式(I)の化合物または薬学的に許容されるその塩もしくは溶媒和物、ならびに、要素のキットの成分(a)および(b)にも準用する。

【0064】

特定の実施形態において、この予防および/または処置の方法は、SARS-CoV-2に感染した対象においてウイルス複製および/またはウイルスタンパク質合成を抑止、阻害、および/または低減するために適用することができる。

【0065】

他の特定の実施形態において、この予防および/または処置の方法は、特に予防および/または処置を必要とする患者において、より具体的にはSARS-CoV-2に感染した対象において、COVID-19肺炎、急性呼吸促進症候群(ARDS)、急性呼吸不全、および肝損傷または心損傷などのCOVID-19の合併症を予防するために適用す

10

20

30

40

50

ることができる。

【0066】

本発明の他の特徴および利点は、添付の図面を参照して、限定ではなく例示として示す以下の実施例を読むことで、当業者にはさらに明らかになる。

【図面の簡単な説明】

【0067】

【図1】図1は、Vero E6/TMPRSS2細胞におけるQVDM-OPhペプチドの毒性試験を示す。Vero-E6/TMPRSS2細胞を、MOIが0.05のSARS-CoV-2で感染させ、または感染させず、25、50、100Mの濃度の様々な濃度のQVDM-OPhと各日においてインキュベートし、72時間後に採取した。細胞をPBSで2回洗浄してから、4において30分間、生存固定色素染色を行い、その後洗浄して、2%パラホルムアルデヒド(PFA)で固定し、Fortessaフラックスサイトメーターで分析した。各条件において30,000事象をトリプリケートで記録した。FlowJoソフトウェアを使用して分析を行い、生存のパーセンテージを分析レポートに従って算出した。結果は、別個に各条件について3つの独立したポイントを伴う、4回の独立した実験の平均値+/-SDを表す。

【図2】図2は、完全処理条件におけるSARS-CoV-2によって誘導した感染および死亡に対するQVDM-OPhペプチドの効果を示す。様々な化合物で処理した、または処理しなかった感染細胞におけるSars-CoV-2スパイク(S)タンパク質発現の細胞内検出のためのフローサイトメリー分析を示す。(A)MOIが0.05のSARS-CoV-2で感染させなかった、または感染させたVero-E6/TMPRSS2細胞は、感染の前に、様々な濃度のQVDM-OPh(10、25、50、100μM)、Vx765(25μM)、またはレムデシビル(10μM)と1時間のインキュベートをした。その後、ウイルスを培養物から除去することなく、実験終了まで薬剤含有培地で細胞を培養した(完全処理)。感染の72時間後、細胞を回収し、死亡率および感染率分析のために染色した。感染のパーセントを各分析プロットにおいて示す。(B)結果は、感染および未処理群と比較した、様々な感染および処理細胞におけるスパイクタンパク質染色によって検出された感染のパーセントを示す。結果は、別個に各条件について3つの独立したポイントを伴う、4回の独立した実験の平均値+/-SDを表す。統計的有意性は、GraphPad Prismソフトウェア(GraphPad Software Inc., USA)を使用して、一元配置分散分析検定、それに続いてダネットの事後検定を適用して評価した(****P<0.0001)。

【図3】図3は、完全処理条件における*in vitro*でのウイルス複製およびウイルスタンパク質発現に対するQVDM-OPhペプチドの効果を示す。様々な化合物で処理した、または処理しなかった感染細胞におけるSars-CoV-2スパイク(S)およびヌクレオカプシド(N)タンパク質の細胞内検出のためのウエスタンブロット分析を示す。(A-B)Vero E6/TMPRSS2細胞は、示した濃度のQVDM-OPhペプチドまたはレムデシビルで1時間の前処理をしてから、MOI=0.05のウイルスに感染させた。その後、実験終了まで薬剤含有培地で細胞を培養した(完全処理)。感染の陰性コントロールとして、非感染細胞を含むウェルを用いた。感染の72時間後に、細胞をRIPAバッファーで溶解し、ウエスタンブロット分析を行って、スパイクタンパク質(S)、全長およびS1ドメイン、ならびにヌクレオカプシドタンパク質(N)の発現を検出した。GAPDHをロード量コントロールとして使用した。結果は、1条件あたり3つの独立したポイントを伴う、4回の独立した実験の平均値±SDを表す。

【図4】図4は、完全処理条件における*in vitro*でのウイルス複製に対するQVDM-OPhペプチドの効果を示す。QVDM-OPHで処理した、または処理しなかった感染細胞におけるSars-CoV-2スパイク(S)、ヌクレオカプシド(N)、およびNSP6遺伝子の細胞内qRT-PCR分析を示す。(A-B-C)Vero E6/TMPRSS2細胞は、示した濃度のQVDM-OPHペプチドで1時間の前処理をしてから、MOI=0.05のウイルスに感染させた。その後、実験終了まで薬剤含有培地

で細胞を培養した（完全処理）。感染の陰性コントロールとして、非感染細胞を含むウェルを用いた。感染の72時間後に、RNA精製のため、細胞をLBPバッファーに溶解し、RT-qPCR分析を行って、スパイクタンパク質（S）、ヌクレオカプシドタンパク質（N）、およびNSP6の遺伝子発現を検出した。各遺伝子の相対mRNA量を、GAPDHのmRNA発現に対してノーマライズした。Ct法を使用して倍率変化を算出した。結果は、1条件あたり3つの独立したポイントを伴う、4回の独立した実験の平均値±SDを表す。

【図5】図5は、完全処理条件における*in vitro*でのSARS-CoV-2に対するQVDM-OPhペプチドの抗ウイルス活性を示す。感染細胞上清中のウイルス量をqRT-PCRによって定量した。(A-B)Ver o E6/TMRPSS2細胞は、示した濃度のQVD-OPh(QVD)、QVDM-OPh(QVDM)、またはレムデシビルで1時間の前処理をしてから、MOI=0.05のウイルスに感染させた。感染の陰性コントロールとして、非感染細胞を含むウェルを用いた。その後、実験終了まで薬剤含有培地で細胞を培養した（完全処理）。感染の72時間後に上清を回収し、ウイルスRNAを抽出した。SARS-CoV-2のN遺伝子またはNSP6遺伝子のいずれかに対するプローブを使用して、上清においてリアルタイムPCR分析を行った。結果は平均値+SEMを表す(n=3)。平均値間の差の比較は、一元配置分散分析検定、それに続いてダネットの事後検定を使用して検討した。未処置群と比較したとき、***p<0.001とする。

【図6】図6は、侵入後処理条件におけるSARS-CoV-2によって誘導した感染および死亡に対するQVDM-OPhペプチドの効果を示す。様々な化合物で処理した、または処理しなかった感染細胞におけるSars-CoV-2スパイク(S)タンパク質発現の検出のためのフローサイトメトリー分析を示す。(A)Ver o E6/TMPRSS2を、MOIが0.05のウイルスに2時間感染させ、その後、ウイルスを培地から除去した。その後、細胞は、様々な濃度のQVDM-OPh(10、25、50、および100μM)、Vx765(25μM)、またはレムデシビル(10μM)と72時間のインキュベーションをした（侵入後）。薬剤を、実験終了まで、様々な濃度の培地で毎日添加した。感染の72時間後、細胞を回収し、死亡率および感染率分析のために染色した。感染のパーセントを各分析プロットにおいて示す。(B)結果は、未処置コントロール群と比較して、染色したスパイクタンパク質の発現の阻害パーセントの平均値+SEMを表す(n=3)。

【図7】図7は、侵入後処理条件における*in vitro*でのウイルス複製およびウイルスタンパク質発現に対するQVDM-OPhペプチドの効果を示す。様々な化合物で処理した、または処理しなかった感染細胞におけるSars-CoV-2スパイク(S)およびヌクレオカプシド(N)タンパク質の細胞内検出のためのウエスタンブロット分析を示す。(A-B)Ver o E6/TMPRSS2細胞を、図6に記載したものと同一条件において、感染させて、その後示した濃度のQVDM-OPhまたはレムデシビルで処理した。感染の陰性コントロールとして、非感染細胞を含むウェルを用いた。感染の72時間後に、細胞をRIPAバッファーで溶解し、ウエスタンブロット分析を行って、スパイクタンパク質(S)、全長およびS1ドメイン、ならびにヌクレオカプシドタンパク質(N)の発現を検出した。GAPDHをロード量コントロールとして使用した。結果は、1条件あたり3つの独立したポイントを伴う、4回の独立した実験の平均値±SDを表す。

【図8】図8は、侵入後処理条件における*in vitro*でのウイルス複製に対するQVDM-OPhペプチドの効果を示す。QVDM-OPhで処理した、または処理しなかった感染細胞におけるSars-CoV-2スパイク(S)、ヌクレオカプシド(N)、およびNSP6遺伝子の細胞内qRT-PCR分析を示す。(A-B-C)Ver o E6/TMPRSS2細胞を、MOIが0.05のウイルスに2時間感染させ、その後、ウイルスを培地から除去した。その後、細胞は、様々な濃度のQVDM-OPhと72時間のインキュベーションをした（侵入後）。薬剤を、実験終了まで、様々な濃度の培地で毎日添

10

20

30

40

50

加した。感染の陰性コントロールとして、非感染細胞を含むウェルを用いた。感染の72時間後に、RNA精製のため、細胞をLBPバッファーに溶解し、RT-qPCR分析を行って、スパイクタンパク質(S)、ヌクレオカプシドタンパク質(N)、およびNSP6の遺伝子発現を検出した。各遺伝子の相対mRNA量を、GAPDHのmRNA発現に対してノーマライズした。Ct法を使用して倍率変化を算出した。結果は、1条件あたり3つの独立したポイントを伴う、4回の独立した実験の平均値±SDを表す。

【図9】図9は、侵入後処理条件における*in vitro*でのSARS-CoV-2に対するQVDM-OPhペプチドの抗ウイルス活性を示す。感染細胞上清中のウイルス量をqRT-PCRによって定量した。(A-B)Ver o E6/TMPRSS2細胞を、MOIが0.05のウイルスに2時間感染させ、その後、ウイルスを培地から除去した。その後、細胞は、示した濃度である様々な濃度のQVD-OPh(QVD)、QVDM-OPh(QVDM)、またはレムデシビルとインキュベートした(侵入後)。薬剤を、実験終了まで、様々な濃度の培地で毎日添加した。感染の陰性コントロールとして、非感染細胞を含むウェルを用いた。感染の72時間後に上清を回収し、ウイルスRNAを抽出した。SARS-CoV-2のN遺伝子またはNSP6遺伝子のいずれかに対するプローブを使用して、上清においてリアルタイムPCR分析を行った。結果は平均値+SEMを表す(n=3)。平均値間の差の比較は、一元配置分散分析検定、それに続いてダネットの事後検定を使用して検討した。未処置群と比較したとき、***p<0.001とする。

【図10】図10は、COVID-19ゴールデンシリアハムスターモデルにおけるSARS-CoV-2に対するQVDM-OPhおよびQVE-OPhの効果を示す。ゴールデンシリアハムスターをD-3に無作為化し、動物1匹あたり 10^5 pfu TCID50でSARS-CoV-2を接種した。すべての群に、SARS-CoV-2を0日目(D0)に鼻腔内(IN)経路で投与した。QVDM-OPhおよびQVD-OPhペプチドまたはビヒクルを、接種時点あたり、10mL/kgの総体積で、D0に、腹腔内(IP)経路において投与した。試験製品を、0日目(t+1時間)および1日目に接種させた。2日目(D2)は研究の最終日であった。(A)感染後のD0、D1、およびD2における、ビヒクル、QVE-OPH、およびQVDM-OPH処置動物群間の平均体重変化曲線(対D0)を示す。(B)2dpi、1ポイントあたりn=5における、SARS-CoV-2を接種したゴールデンシリアハムスターの肺におけるウイルスRNA発現レベル(平均値+SD)を示す。結果を 2^{-Ct} として示す。感染動物と偽(A)とを比較したマン-ホイットニー検定を示す。*P<0.05、**P<0.01。(C)SARS-CoV-2を接種し、ビヒクルと比較してQVE-OPHまたはQVDM-OPHで処理したゴールデンシリアハムスターから得た肺における、2dpiのウイルス複製減少のパーセンテージを示す。

【発明を実施するための形態】

【実施例】

【0068】

実施例1

材料および方法

細胞、ウイルス、および薬剤

アフリカミドリザルの腎臓のVer o E6/TMPRSS2細胞株を、ボルドー大学のAndreola Marie-Aline博士の好意により入手し、イーグル培地(ダルベッコ改変イーグル培地、Gibco Invitrogen、10%熱失活FBS、1%PS(ペニシリン10,000U/ml、ストレプトマイシン10,000μg/ml)(Gibco Invitrogen)を添加したもの)中で、37°Cにおいて、5%CO₂の加湿雰囲気下で維持した。BetaCoV/France/IDF0372/2020株は、パスツール研究所(Paris, France)が提供し、Sylvie van der Werf教授が責任者である呼吸器ウイルスの国立リファレンスセンターから供給された。BetaCoV/France/IDF0372/2020株を単離

10

20

30

40

50

したヒトサンプルは、仏国パリ市のビシャ病院の X. Lescure 博士および Y. Yazdanpanah 教授より提供された。さらに、BetaCoV/France/IDF0372/2020 株は、欧州連合の Horizon 2020 研究および創成プログラムから助成承諾番号 653316 のもと資金提供を受けているプロジェクトである European Virus Archive goes Global (Evag) プラットフォームを通して供給された。ウイルスストックを、 1×10^{-4} PFU の感染多重度で感染させた Vero-E6 細胞において作製した。ウイルスを感染の 3 日後に採取し、清澄化し、その後アリコートに分取してから、 -80°C で貯蔵した。半固体オーバーレイ (Avicel, RC581-NFDR080I, DuPont) を使用した従来のブランクアッセイによって、ウイルスストックを Vero-E6 細胞において滴定した。すべての感染実験は、CRC (Cordelier Research Center) のバイオセーフティーレベル 3 (BLS-3) の実験室において行われた。汎カスパーゼ阻害剤である、QVDM-OPH (カタログ番号 BIOV2787-5) として知られる Q-VD(OME)-OPH および QVE-OPH を、Avantor-VWR および Hello Bio から購入した。レムデシビルを COGER (カタログ番号 AG--CR1-3713-M005) から購入し、カスパーゼ-1 阻害剤である Vx765 (カタログ番号 BIOV2781-5) は Avantor-VWR から購入した。

10

【0069】

抗ウイルス活性、毒性、および感染阻害の評価

Vero E6 細胞における QVDM-OPH の毒性および抗ウイルス効果を評価するため、フローサイトメトリーによって死亡のパーセンテージと感染細胞のパーセンテージとを測定した。細胞を 75×10^4 細胞/ウェルの密度で 24 ウェルの細胞培養ペトリ皿において一晩培養した。翌日に、様々な濃度である示した QVDM-OPH、Vx765、またはレムデシビルの様々な用量で、細胞に 1 時間の前処理をした、またはしなかった。その後、ウイルスを 0.05 の MOI で添加し、 $250 \mu\text{l}$ /ウェルにおいて 2 時間感染させた。その後、完全培地を $500 \mu\text{l}$ /ウェルの最終容積まで細胞培養物に加えた。薬剤を同じ濃度で細胞培養物に各日において添加した。感染の 72 時間後に、ウイルス抽出および qRT-PCR 増幅のために、細胞上清を回収し、直ちに -80°C で凍結した。細胞を回収し、その一部をフローサイトメトリー分析に使用し、スパイクタンパク質に対する細胞内染色 (SARS-CoV-2 Spike Protein-Alexa647、カタログ番号 51-6490-82、eBioscience) および Cytotoxicity/permeability 固定透過処理キット (カタログ番号 554714、BD) を使用して、製造者の指示に従って、感染率を測定した。Viability 405/452 固定色素 (カタログ番号 130-109-814、Miltenyi Biotec) を使用して、製造者の指示に従って、毒性を分析した。簡潔に言うと、細胞を PBS で 2 回洗浄してから、4 において 30 分間、生存固定色素染色を行った。その後、細胞を Cytotoxicity/permeability バッファーによって 20 分間透過処理し、permawash バッファーで 2 回洗浄した後、抗スパイク-Alexa647 を細胞に 4 において 30 分間添加した。染色後、細胞を 2% パラホルムアルデヒド (FPA) で固定し、その後 Fortessa フローサイトメーターにおいて分析した。各条件において 30,000 事象をトリプレットで記録した。FlowJo ソフトウェアを使用して解析を行った。細胞の他の部分は、さらなる定量およびイムノプロットング分析のために、プロテアーゼ (Roche) およびホスファターゼ阻害剤 (Invitrogen) を含む RIPA 溶解バッファー (Invitrogen、カタログ番号 10230544) に、または、RNA 精製および RT-qPCR 分析のために LBP バッファーに溶解した。各条件を、同じ実験においてトリプレット ($n=3$) で行い、4 回の独立した実験を繰り返した。

20

30

40

【0070】

添加時間実験

QVDM-OPH (10、25、50、および $100 \mu\text{M}$)、Vx765 ($25 \mu\text{M}$)、ならびにレムデシビル (5 および $10 \mu\text{M}$) を添加時間実験に使用した。Vero E

50

6細胞(75×10³細胞/ウェル)を、ウイルス感染の異なる段階において、QVDM-OPh、Vx765、およびレムデシビルで処理した。「フルタイム」処理では、Vero E6細胞はウイルス感染前に薬剤で1時間の前処理をし、その後、実験終了まで薬剤の存在下でウイルスと2時間のインキュベーションをした。「侵入後」実験では、ウイルスを細胞に添加して2時間感染させ、その後、実験終了までウイルス含有上清を薬剤含有培地と交換した。

【0071】

Vero E6/TMPRSS2細胞におけるRNA抽出および定量リアルタイムRT-PCR(qRT-PCR)

上清からのウイルスRNA抽出

200マイクロリットルの細胞培養上清を、製造者の指示に従って、MiniBESTウイルスRNA/DNA抽出キット(Takara、カタログ番号9766)を使用して、ウイルスRNA抽出に使用した。RNAを30μLのリボヌクレアーゼ非含有水において溶出した。

【0072】

細胞内RNA精製

PBSで洗浄した後、細胞をLBPで溶解し、-80℃で貯蔵した。RNAの精製を、製造者の推奨手順に従って、「Nucleospin RNA PLUS」キットを使用して行った(Machery Nagel、参照番号740984.250)。RNAを30μLのリボヌクレアーゼ非含有水において溶出した。

【0073】

定量リアルタイムRT-PCR(qRT-PCR)

全RNAを、製造者の推奨手順に従って、gDNAイレイサーを含むPrimeScript RT試薬キット(Takara、カタログ番号RR047A)を使用して、cDNAに変換した。TB Green Premix Ex Taq II(Takara、カタログ番号RR820A)を使用して、定量PCRを行った。簡潔に言うと、各反応は、1μLの各プライマー[0.4μM/μL]、2μLのcDNA(5ng/μL)、12.5μLのTB Green Premix Ex Taq II、および8.5μLのリボヌクレアーゼ非含有水を含む、25μLの総容積からなるものであった。

【0074】

BioRadのCFX384リアルタイムシステムPCR機器を使用して、リアルタイムPCRを行った。使用したサーマルサイクル条件は、初期変性を95℃で30秒、続いて96℃で5秒、および60℃で30秒の増幅を40サイクルであった。SARS-CoV-2ヌクレオカプシド(N)、非構造タンパク質6(NSP6)、およびスパイク(S)遺伝子に使用したプライマーは、Abdel-Saterら、2021(「A Rapid and Low-Cost protocol for the detection of B.1.1.7 lineage of SARS-CoV-2 by using SYBR Green-Based RT-qPCR」、medRxiv preprint doi:https://doi.org/10.1101/2021.01.27.21250048)によって設計および記載されており、Eurofinsから購入した。細胞外ウイルスmRNAの相対定量には、陽性コントロールとしてSARS-CoV-2 cDNA(NおよびNSP6遺伝子では約20のCt)を使用した。

Ct法を使用して、算出されたCt値を、陽性コントロールと比較した処理サンプルの倍数減少に変換した(ウイルスRNAの倍数変化=2^{-Ct})。

【0075】

細胞内mRNAには、機器のソフトウェアおよび自動Ct機能を使用して、各遺伝子についてしきい値サイクル(Ct)値を得た。各遺伝子の相対mRNA量を、GAPDHのmRNA発現に対してノーマライズした。Ct法を使用して倍率変化を算出した。実験に使用した特定のSARS-CoV-2(N、NSP6、およびS)ならびにヒト(GAPDH)のプライマー配列は以下のとおりである。

10

20

30

40

50

N - q F : C G T T T G G T G G A C C C T C A G A T (配列表の配列番号 1)

N - q R : C C C C A C T G C G T T C T C C A T T (配列表の配列番号 2)

N S P 6 - q F : G G T T G A T A C T A G T T T G T C T G G T T T T (配列表の配列番号 3)

N S P 6 - q R : A A C G A G T G T C A A G A C A T T C A T A A G (配列表の配列番号 4)

S - q F : G G T T C C A T G C T A T A C A T G T C T C (配列表の配列番号 5)

S - q R : G G T C T T C G A A T C T A A A G T A G T A C C A (配列表の配列番号 6)

G A P D H - q F : A A G G T C G G A G T C A A C G G A T T T (配列表の配列番号 7) 10

G A P D H - q R : T G A A G G G G T C A T T G A T G G C A (配列表の配列番号 8)

【 0 0 7 6 】

ウエスタンブロット分析

ウエスタンブロット分析のため、各ポイントからの 40 μg のタンパク質を 4 ~ 12 % B i s - T r i s - S D S - N U P A G E ゲル (I n v i t r o g e n) において分解し、その後ニトロセルロース膜 (A m e r s h a m B i o s c i e n c e) に転写した。0 . 0 5 % T w e e n 2 0 を含む T B S バッファー中の 5 % B S A でブロッキングした後、膜をマウス抗スパイク (S 1 - N T D) (E 7 M 5 X) (O z y m e 、カタログ番号 4 2 1 7 2 S) 、ウサギ抗ヌクレオカプシド (F i s h e r S c i e n t i f i c 、カタログ番号 M A 5 3 6 0 8 6) でプローブした。等しいタンパク質ロード量を、ウサギ抗 G A P D H (P r o t e i n T e c h 、カタログ番号 6 0 0 0 4 - 1 - A P) で膜をプローブすることで評価した。膜を西洋ワサビペルオキシダーゼ連結ヤギ抗マウスまたは抗ウサギ二次抗体 (A m e r s h a m B i o s c i e n c e s) で処理した。C C D カメラ (G B O X 、 S Y N G E N E P x i - 4 、 O z y m e) を使用した増強化学発光 (P i e r c e s 、 U S A) によって、免疫反応性タンパク質を検出および定量した。

【 0 0 7 7 】

結果

様々な濃度の Q V D M - O P h ペプチドでの処理は、V e r o E 6 / T M P R S S 2 細胞が 0 . 0 5 の M O I のウイルスに感染しているかどうかにかかわらず、感染の 7 2 時間後に V e r o E 6 / T M P R S S 2 細胞に対して毒性作用を示さなかった (図 1) 。

【 0 0 7 8 】

S A R S - C o V - 2 スパイクタンパク質に対する細胞内染色、および死亡率を測定するための生存色素を使用して、フラックスサイトメトリー分析によって、様々な濃度の Q V D M - O P h の抗ウイルス効果および死亡率を評価した。試験時に、陽性コントロールとしてレムデシビル、陰性コントロールとして V x 7 6 5 を使用した。また、S A R S - C o V - 2 の複製に対する Q V D M - O P h の効果を、スパイクおよびヌクレオカプシドタンパク質についてのウイルスタンパク質発現のウエスタンブロット分析によっても評価した。フラックスサイトメトリーおよびウエスタンブロットによって得られた結果から、1 0 μ M (阻害率は約 5 0 %) および 2 5 μ M (阻害率は約 7 0 %) の用量の Q V D M - O P h によってウイルス複製を有意に阻害することを示す。5 0 μ M の濃度で完全に阻害される (阻害率は約 9 9 %) 。この効果は、培養液中にウイルスが存在し続ける状態で (完全処理条件) 、感染後 7 2 時間における毎日の用量で認められた。この減少は、レムデシビルで得られたものと同等である (図 2 および図 3) 。

【 0 0 7 9 】

次に、本発明者は、S A R S - C o V - 2 ウイルス遺伝子の m R N A 発現、より具体的には、Q V D M - O P h で処理した、または処理しなかった感染細胞内におけるスパイク (S) 、ヌクレオカプシド (N) 、および非構造タンパク質 6 またはアクセサリタンパク質 O R F 6 (N S P 6) の遺伝子発現を調べた。実際に、Q V D M - O P h 処理により、細胞内での構造タンパク質、スパイク、ヌクレオカプシド、および N S P 6 遺伝子の相

対的発現を有意に減少させることができる（図4）。

【0080】

最後に、本発明者は、QVDM-OPhが細胞から培地へのウイルスの分泌/産生を阻害したかどうかを検証した。そのため、ウイルス抽出、ならびに、ヌクレオカプシド(N)およびNSP6遺伝子発現のqRT-PCRの後、完全処理条件において様々な阻害剤で処理した、または処理しなかった感染細胞の上清を分析した。SARS-CoV-2は、レムデシビルと同様に、感染およびQVDM-OPh処理Ver o E6/TMPRSS2細胞の上清中で有意に減少した（図5）。

【0081】

これらの結果はすべて、細胞を2時間感染させ、その後ウイルスを培地から完全に除去し、新しい培地に置き換えた、侵入後処理条件において再度行われた。すべての薬剤を、様々な濃度で感染の2時間後に添加し、72時間の間、毎日添加した。侵入後条件で行われた実験は、完全処理条件でのすべての実験において記載されたものと同じ効果を示す（図6、図7、図8、および図9）。

【0082】

本発明者の知見は、QVDM-OPhが、25 μMおよび50 μMの濃度でも、いずれの毒性もなく、細胞内でウイルス複製を阻害すること、ならびに、ウイルス産生および新たな感染を抑止することによって、in vitroにおけるSARS-CoV-2感染を抑制することに極めて有効であることを示す。

【0083】

さらに、同一の濃度で使用したQVDM-OPhとQVD-OPhとを比較したとき（図5および図9）、QVDM-OPhは、同一の濃度で適用したQVD-OPhよりも、細胞から培地へのウイルスの分泌/産生をより効率的に阻害することができる。

【0084】

実施例2

材料および方法

COVID-19ゴールデンシリアハムスターモデル

1. 倫理に関する記載

動物の飼育および実験手順は、仏国および欧州の規制、ならびに国立研究評議会の実験動物の管理および使用に関する指針に従って行われた。動物施設は仏国当局の認可を受けている（承諾番号B 91 962 106）。本研究において使用した、動物に対するすべての手技（該当する場合に手術、麻酔、および安楽死を含む）は、仏国当局（CNREA承諾番号91）の承認を受けたOncoDesignの動物実験委員会（Onco met）に提出されている。

【0085】

B S L 3動物施設は仏国当局の認可を受けている（承諾番号D92-032-02）。本研究において使用した、動物に対するすべての手技（該当する場合に手術、麻酔、および安楽死を含む）は、仏国当局（CETEA DSV番号44）の承認を受けたCEAの動物実験委員会に提出されている。

【0086】

2. 飼育条件

動物を、FELASAガイドラインに従って、特定病原体のない健康状態に維持した。動物を個体識別した。動物を、環境条件が管理された、すなわち、温度：21 ± 2、湿度：55 ± 10%、光周期（12時間明期/12時間暗期）、H14フィルターを通じた空気、1時間あたり最低12回の空気交換、再循環なしの、飼育室で維持する。

【0087】

各ケージには特定のコードのラベルが付けられている。動物の囲いは、滅菌の十分な空間を提供し、床敷材料、餌および水、環境的および社会的エンリッチメント（群れでの飼育）、つまり、A3施設：IsoRat900N生物学的封じ込めシステム（Techniplast、France）、ポプラ床敷（Select fine、Safe、Fr

10

20

30

40

50

ance)、A04 SP-10飼料(Safe, France)、水道水、および、トンネルや木製スティックによる環境エンリッチメントを提供した。

【0088】

3. SARS-CoV-2

- SARS-CoV-2株「Slovakia/SK-BMC5/2020」は、当初、European Virus Archive global (EVAg) (GIS AID EPI__ISL__417879, <https://www.european-virus-archive.com/virus/sars-cov-2-strains/slovakia-sk-bmc5-2020>)から提供され、OncodesignによってVero E6/TMPRSS2細胞において産生および滴定され、ハムスター感染に使用した。この株はGHクレードに属する。

10

【0089】

- ウイルス産生は、 50×10^6 のVero E6/TMPRSS2細胞を播種したT175フラスコにおいて、40mLの最終体積で行った。細胞カウントおよび生存率は、ViCell装置による0.25%トリパンブルー排除アッセイで評価した。48時間の感染タイムフレームの後(MOIが0.001~0.005のSARS-CoV-2ウイルス)、顕微鏡観察下において細胞病原性作用を確認した。培養上清を採取し、遠心分離(5000gで5分間)し、アリコートを取(1mLのアリコート)した。

【0090】

- ウイルスストックのTCID₅₀力価を、Vero E6/TMPRSS2細胞において測定した。試験の約2時間前に、細胞を、200μLの体積の完全増殖培地(DMEM 10% FCS)において、1ウェルあたり 2×10^4 細胞の密度で、96ウェルプレートにプレATINGした。細胞を、37°Cで1時間、段階希釈のウイルスストック(8つの複製物、第1希釈1:100、5倍段階希釈)に感染させた。新しい培地を72時間添加し、その後、提供者のプロトコールに従ってMTS/PMSアッセイを行った(Promega, 参照番号G5430)。ELISAプレートリーダーを使用してプレートを読み取り、データを記録した。感染性は、スピアマン-カーバーの式に基づいてTCID₅₀/mL/72hとして表した。

20

【0091】

実験設計および処置

1. 動物

受け取り時に6~8週齢であった、12匹の健康なゴールデンシリアハムスター(雌)を、Janvier Labsから入手した。

30

【0092】

2. 無作為化

動物を、その体重を測定してから、5匹の動物の均質な2群に割り当てた。動物は尾にラベルを付けられている。

【0093】

3. 処置

処置は、接種時点あたり、10mL/kgの総体積で、腹腔内(IP)経路において行った。試験製品を、0日目(t+1時間)および1日目に接種させた。試験物質による処置を、以下に示すスケジュールに従って行った。

40

・A群動物(ビヒクル)の接種は、2.5%DMSOを添加した塩化ナトリウム0.9%を使用して、腹腔内(IP)経路(10mL/kg体積)によって行った。

・B群動物(Q-VDM-OPH)には、試験化合物(10mL/kg体積、10mg/kg投与量)を0日目(t+1時間)および1日目に2回、IP経路によって投与した。

・C群動物(Q-VE-OPH)には、試験化合物(10mL/kg体積、10mg/kg投与量)を0日目(t+1時間)および1日目に2回、IP経路によって投与した。

【0094】

50

4. SARS-CoV-2 負荷

SARS-CoV-2の投与経路はOncodesignが選択した。ウイルスを、イソフルラン麻酔した動物に、鼻腔内経路(IN)によって、70 μ L(鼻孔あたり35 μ L)の総体積で、投与した。動物1匹あたり10⁵ pfu TCID50の鼻腔内用量を投与した。すべての群に、SARS-CoV-2を0日目にIN経路で投与した。

【0095】

5. 感染後2日目(2dpi)における動物の絶命。

動物(n=12)を感染後2日目(2dpi)に絶命させた。IP経路によって注射したゾレチル(30mg/kg-0.6mL/kg)とキシラジン(10mg/kg-0.5mL/kg)とのカクテルを用いて、動物に深く麻酔した。緩やかな頸椎脱臼の後、開胸術を行って、肺を採取した。

10

【0096】

右上葉を、RNAlaterに4で一晩入れ、その後、qRT-PCRでウイルス量を定量するためにRNAを抽出するまで-80で貯蔵した。中葉、肺中葉、および右下葉を、液体窒素で急速凍結し(1つのチューブあたり1葉)、その後、さらに使用するまで-80で貯蔵する。

【0097】

Ex vivo分析

1. ゲノムRT-qPCRによる肺のウイルス量測定

RT-qPCRによるウイルス量の定量は、ウイルスORF1ab遺伝子を用いて肺において行った。ウイルスRNAの抽出は、Macherey NageleウイルスRNAキット(参照番号740452.4)を使用して行った。RNAはqRT-PCRを行うまで-80で凍結した。完全qRT-PCRは、ORF1ab遺伝子を標的とするプライマーおよびqRT-PCR条件を用いて、SuperScript(登録商標)IIIWonsstepqRT-PCRシステムキット(市販キット番号1732-020、Life Technologies)を使用して行った。増幅を、Bio-RadのCFX384および付随するソフトウェアを使用して行った。この定量に適用したプライマーおよびプローブは以下のとおりである。

20

ORF1ab__Fw: CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG(配列表の配列番号9)

30

ORF1ab__Rv: TGCTATGTTTAGTGTTCCAGTTTTTC(配列表の配列番号10)

ORF1ab__probe: Hex-AAGGATCAGTGCCAAAGCTCGTCGCC-BHQ-1(配列表の配列番号11)、5'末端位置のHexはヘキサクロロフルオレセインを表し、3'末端位置のBHQ-1はブラックホールクエンチャー-1を表す。

【0098】

2. 動物のモニタリング

臨床におけるモニタリング

SARS-CoV-2感染後、動物の生存率、挙動、および体重を毎日モニタリングした。SARS-CoV-2感染後、モデル特有の臨床経過観察を、以下に挙げたパラメーターを使用して、毎日記録した。

40

- 体重減少
- 立毛(なし-わずか-著しい)
- 挙動(正常-あまり移動しない-定まらないまたは孤立している)
- 姿勢(正常-異常-体を丸める)
- 咳(あり、または、なし)
- くしゃみ(あり、または、なし)

【0099】

人道的エンドポイント

人道的エンドポイントを以下のように設定した。

50

- 20%の体重減少（処置の初日または最大体重と比較して）が最大2日間続く
- 痛み、苦しみ、もしくは苦痛の徴候、痛みの姿勢、痛みの表情、異常な挙動、または発声
- 体調不良、やせ、悪液質、脱水
- 48時間の期間における膀胱排出閉塞または下痢
- 外的刺激に対する自発的応答が長時間にわたってないこと
- 速い努力性呼吸
- 貧血症、重大な出血
- いずれかの開口部からの血性または粘液膿性排出
- 神経学的徴候：旋回、けいれん、後肢麻痺
- 体温の持続的低下
- 腹部膨満

10

【0100】

麻酔および鎮痛

イソフルランガス麻酔を、試験製品の接種および頸静脈での採血に使用した（該当する場合）。すべての痛みを伴う手技に対して、非薬理的療法を行った。さらに、主治獣医師の勧めにより、研究に支障のない薬理的療法（局所処置）を行い得る。

【0101】

安楽死

動物の安楽死を、IP経路によって注射したゾレチル（30mg/kg - 0.6mL/kg）とキシラジン（10mg/kg - 0.5mL/kg）とのカクテルを用いて、深く麻酔して行った。緩やかな頸椎脱臼の後、開胸術および最大限の終末採血を行ってから、組織を採取した。安楽死のための物理的方法（頸椎脱臼）が必要な場合は、技術が高く熟練した技術者によって行った。

20

【0102】

統計分析

Prismソフトウェア（GraphPad, version 8, San Diego, USA）を使用して、統計分析を行った。in vitro実験では、一元配置分散分析検定、それに続いてダネットの事後検定を使用した。in vivo実験では、マン-ホイットニー検定を使用して、定量データを動物群にわたって比較した。データは平均値 ± SEMを表す。統計は一元配置分散分析検定に基づいて算出した。* p < 0.05、** p < 0.01、*** p < 0.001。

30

【0103】

結果

SARS-CoV-2に対するQVDM-OPhの抗ウイルス効果におけるin vitroで行った研究を完了するため、本発明者は、肺におけるウイルス複製を阻害するQVDM-OPhペプチドの有効性を示し、QVE-OPhと比較するための、COVID-19ゴールドスタンダードモデルにおけるin vivoアッセイを実現した。

【0104】

0日目に対する臨床スコアおよび体重の変化は、感染およびQVDM-OPh処置群、ならびに感染およびQVE-OPh処置群において、感染および未処置群と比較して、有望な結果を示す（図10A）。dpi2でアッセイを中止し、この時点で動物を安楽死させたにもかかわらず、結果は非常に有望であり、感染および処置した動物の肺において、未処置群と比較して、ウイルス量およびウイルス複製が有意に減少することを示す（それぞれ図10Bおよび図10C）。さらに、QVDM-OPhで処置した動物（70%のウイルス複製減少）では、QVE-QVE-OPhで処置した動物（52%のウイルス減少）と比較して、ウイルス量およびウイルス複製の減少がより重要である。

40

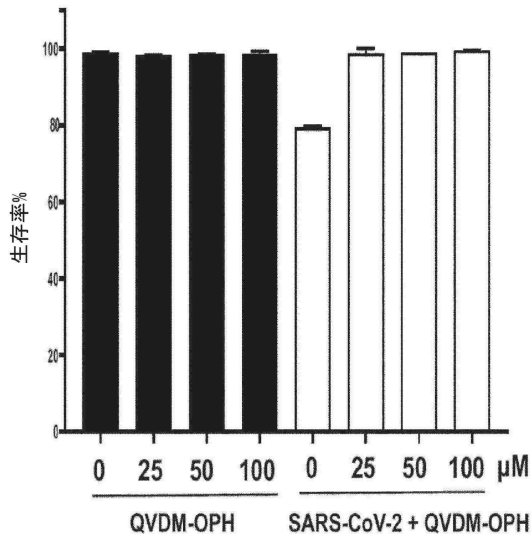
【0105】

これらのin vitroおよびin vivoのすべての結果から、SARS-CoV-2の複製に対するQVDM-OPhの抗ウイルス効果が確認される。

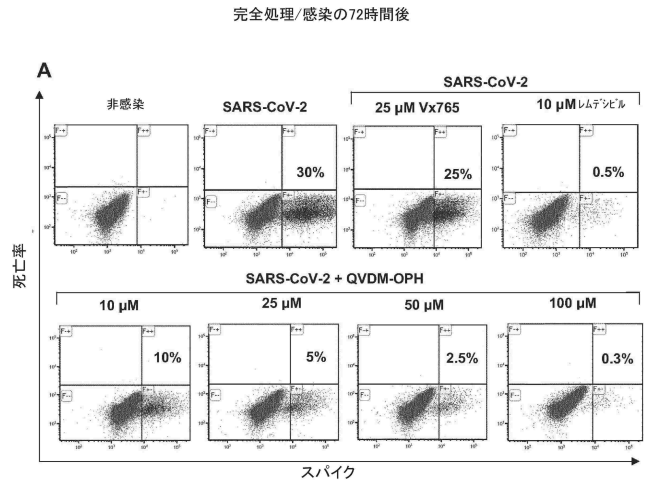
50

【 図 面 】

【 図 1 】

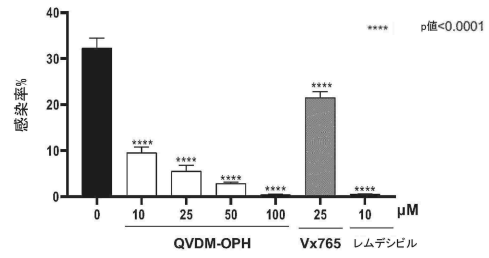


【 図 2 】



10

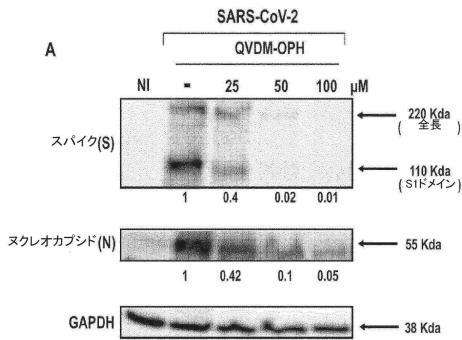
B



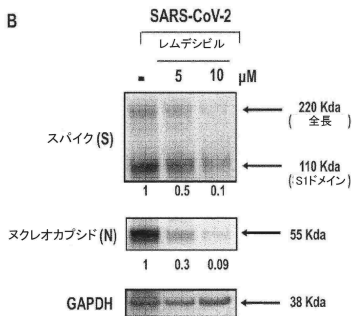
20

【 図 3 】

完全処理/感染の72時間後

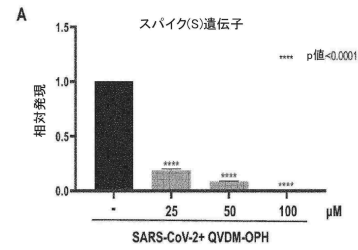


B

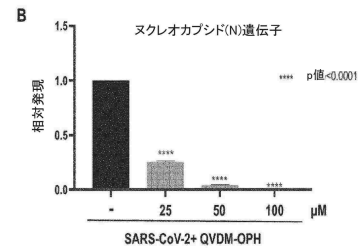


【 図 4 】

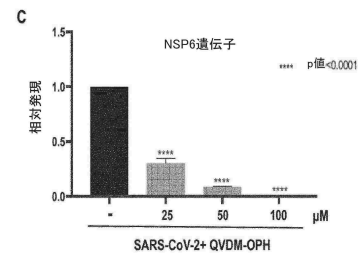
完全処理/感染の72時間後



30



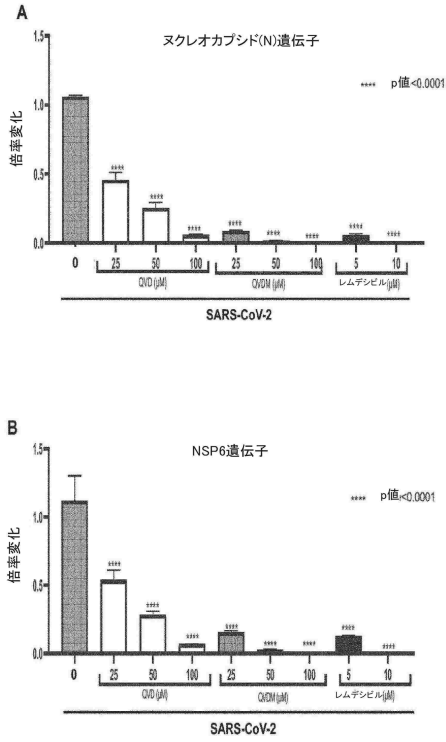
40



50

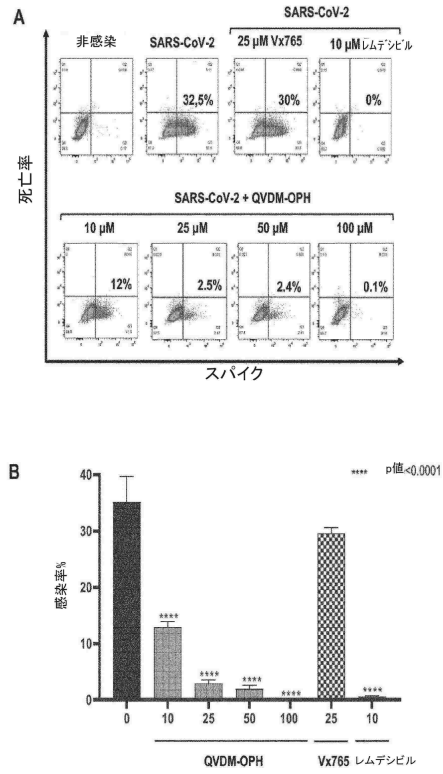
【 図 5 】

完全処理/感染の72時間後



【 図 6 】

侵入後/感染の72時間後

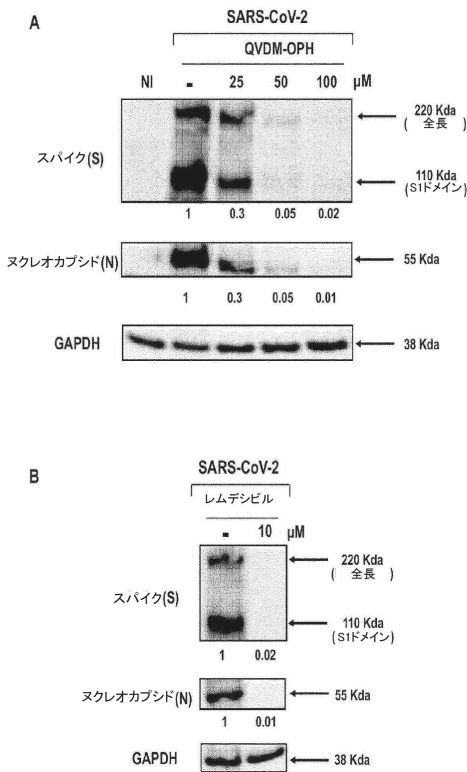


10

20

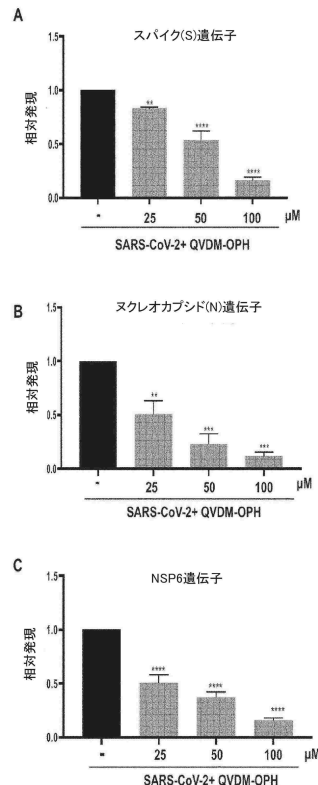
【 図 7 】

侵入後/感染の72時間後



【 図 8 】

侵入後/感染の72時間後



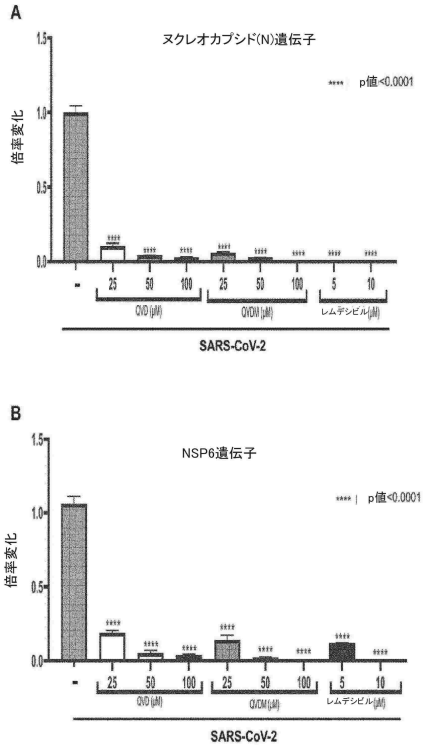
30

40

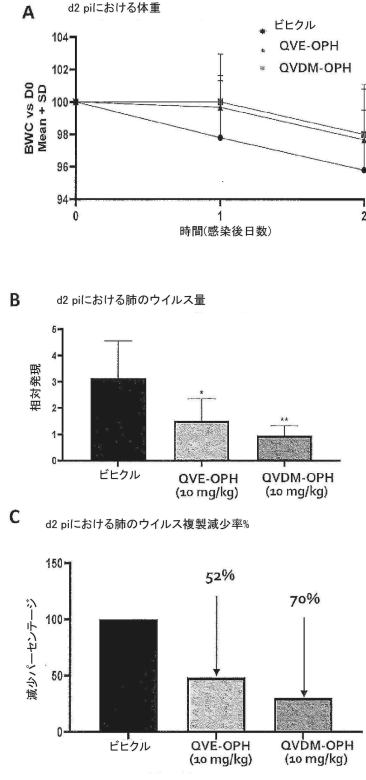
50

【 図 9 】

侵入後/感染の72時間後



【 図 10 】



10

20

【 配列表 】

202550451900001.xml

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2023/051296

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: <ul style="list-style-type: none"> a. <input checked="" type="checkbox"/> forming part of the international application as filed. b. <input type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)). <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2.	<input type="checkbox"/> With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3.	Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2023/051296
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. A61K38/05 A61K38/55 A61P31/14		
ADD.		
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 A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2021/228846 A1 (INST NAT SANTE RECH MED [FR]; UNIV PARIS [FR] ET AL.) 18 November 2021 (2021-11-18) cited in the application the whole document in particular example 1	1-11
A	WO 2009/092897 A1 (PASTEUR INSTITUT [FR]; CENTRE NAT RECH SCIENT [FR] ET AL.) 30 July 2009 (2009-07-30) cited in the application paragraphs [0003], [0033] - [0038], [0067], [0068], [0083] - [0091] Examples and figures Claims	1-11
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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	
"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)	"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	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 20 April 2023	Date of mailing of the international search report 28/04/2023	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Hornich-Paraf, E	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 2

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2023/051296

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ZAKI ADHAM M M; AHMED YASMIN MOUSTAFA; ABDELHAFEZ ELSHIMAA M N: "CANDIDATURE OF THE SYNTHETIC CASPASE INHIBITORS AS NEW ANTI-SARS- COV-2 DRUG DISCOVERY, IN-SILICO MOLECULAR DOCKING", INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH,, 1 January 2021 (2021-01-01), pages 104-119, XP055880018, in particular Results compound 3 in tables 1, 2; fig. 5 Conclusion -----</p>	1-11
A	<p>WO 2022/008597 A1 (INST NAT SANTE RECH MED [FR] ET AL.) 13 January 2022 (2022-01-13) in particular 'Summary' page 11, line 8 Claims -----</p>	1-11
X,P	<p>WO 2022/123062 A1 (INST NAT SANTE RECH MED [FR]; UNIV PARIS [FR] ET AL.) 16 June 2022 (2022-06-16) the whole document in particular 'Summary' page 6 example claims -----</p>	1-11

10

20

30

40

4

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2023/051296

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021228846 A1	18-11-2021	EP 4149468 A1 WO 2021228846 A1	22-03-2023 18-11-2021
WO 2009092897 A1	30-07-2009	EP 2214665 A1 FR 2923160 A1 US 2010298209 A1 US 2014031276 A1 US 2015246091 A1 WO 2009092897 A1	11-08-2010 08-05-2009 25-11-2010 30-01-2014 03-09-2015 30-07-2009
WO 2022008597 A1	13-01-2022	NONE	
WO 2022123062 A1	16-06-2022	NONE	

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 1 2 N 15/12

,MC,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

ールパール サン - ジェルマン 8 5

(74)代理人 100121728

弁理士 井関 勝守

(74)代理人 100165803

弁理士 金子 修平

(74)代理人 100179648

弁理士 田中 咲江

(74)代理人 100222885

弁理士 早川 康

(74)代理人 100140338

弁理士 竹内 直樹

(74)代理人 100227695

弁理士 有川 智章

(74)代理人 100170896

弁理士 寺園 健一

(74)代理人 100219313

弁理士 米口 麻子

(74)代理人 100161610

弁理士 藤野 香子

(74)代理人 100206586

弁理士 市田 哲

(72)発明者 ラフォルジュ, ミレイユ

フランス国 7 5 0 1 9 ブールパール セリュリエ 4 8 インサーム ユエムエール 1 1 4 1 / ノーロキネス / インサーム - ユニヴェルシテ ドゥ パリ

(72)発明者 グレッセン, ピエール

フランス国 7 5 0 1 9 ブールパール セリュリエ 4 8 インサーム ユエムエール 1 1 4 1 / ノーロキネス / インサーム - ユニヴェルシテ ドゥ パリ

F ターム (参考) 4C084 AA19 NA05 NA14 ZB331 ZB332 ZC751 ZC752

4C086 AA01 AA02 BC29 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZB33 ZC75

4H045 AA10 AA30 BA10 BA11 EA20