



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113747946 B

(45) 授权公告日 2023. 08. 29

(21) 申请号 202080031534.4

(22) 申请日 2020.04.24

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113747946 A

(43) 申请公布日 2021.12.03

(30) 优先权数据
2019-086554 2019.04.26 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.10.26

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2020/017837 2020.04.24

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/218577 JA 2020.10.29

(73) 专利权人 日本纽翱医药股份有限公司
地址 日本东京
专利权人 学校法人独协学园独协医科大学

(72) 发明人 增田道明 石川知弘 河田聪史
富冈基康 和田康史

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
专利代理师 赵青

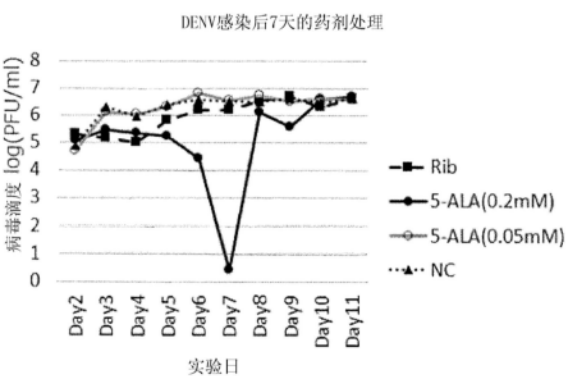
(51) Int.Cl.
A61K 33/26 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61K 31/197 (2006.01)
A61K 31/22 (2006.01)

(56) 对比文件
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,第11卷第105-111页.

审查员 康鹏程
权利要求书1页 说明书15页 附图14页

(54) 发明名称
黄病毒感染症治疗剂

(57) 摘要
本发明提供黄病毒感染症的预防和/或治疗剂、以及黄病毒感染症的预防和/或治疗方法。在黄病毒感染症的预防和/或治疗剂中使用选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)、5-ALA酯、5-ALA的盐或者5-ALA酯的盐中的至少一种。作为利用5-ALA等来预防和/或治疗的对象的黄病毒,例如,可举出登革热病毒、寨卡病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗病毒、或者黄热病毒。



1. 选自5-氨基乙酰丙酸即5-ALA或其酯、或者它们的盐中的至少一种在制造黄病毒感染症的预防和/或治疗剂中的使用。
2. 根据权利要求1所述的使用,其中,黄病毒为登革热病毒、寨卡病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗病毒、或者黄热病毒。
3. 根据权利要求1所述的使用,所述黄病毒感染症的预防和/或治疗剂含有铁化合物。
4. 根据权利要求1所述的使用,所述黄病毒感染症的预防和/或治疗剂不需要光照射。

黄病毒感染症治疗剂

技术领域

[0001] 本发明一般涉及黄病毒感染症的预防和/或治疗剂、以及黄病毒感染症的预防和/或治疗方法。

背景技术

[0002] 黄病毒科黄病毒属由以正链RNA为基因组的包膜病毒构成,其大部分由吸血性节肢动物传播。作为蚊传黄病毒,有日本脑炎病毒(参照非专利文献1)、登革热病毒(参照非专利文献2)、寨卡病毒(参照非专利文献3)、西尼罗病毒、黄热病毒等,作为蜱传黄病毒,可举出蜱传脑炎病毒等。黄病毒属包含很多病原体,其会引起日本脑炎、蜱传脑炎、登革出血热、先天性寨卡病毒感染症等成为全球公共卫生学问题的感染症。由于这些病毒以人以外的动物作为储存・扩增宿主,且难以完全隔绝与感染蚊或感染蜱的接触,所以针对这些病毒的特异性治疗药的开发是重要课题(参照非专利文献4)。并且,随着近年来的地球变暖,还担心传播黄病毒感染症的蚊的栖息时间、栖息地域的扩大而引起黄病毒感染症产生的扩大。

[0003] 近年来,随着黄病毒蛋白质的功能、结构变得清晰,逐渐开发出很多特异性抑制剂(参照非专利文献5)。例如,已知硝唑尼特(参照非专利文献6)可抑制日本脑炎病毒的复制。另外,已知氯硝柳胺等(参照非专利文献7)可抑制寨卡病毒的复制。氯化血红素(参照非专利文献8)在体外可抑制寨卡病毒的复制。另外,已知利巴韦林(参照非专利文献9和10)、赤芝酮(Lucidone)(非专利文献11)和特定的吡啶衍生物(非专利文献12)可抑制登革热病毒的复制。

[0004] 已知5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)存在于细胞的线粒体中,在动物中由线粒体生物合成,与铁成分结合成为血红素、细胞色素的原料等代谢必需的成分,在植物中,由叶绿体生物合成,与镁结合成为叶绿素,是光合成必需的成分。而且,在专利文献1中公开了5-ALA磷酸盐的制造方法,此外还记载了5-ALA盐酸盐的合成方法为人所知。另外,在专利文献2中,还公开了利用微生物制造5-ALA的方法。

[0005] 在专利文献3中,记载了含有5-ALA的流感病毒感染症的预防和/或治疗剂。另外,在专利文献4中记载了含有5-ALA的病毒感染症的预防和/或治疗剂,作为治疗对象的病毒,记载了B型肝炎病毒、C型肝炎病毒、伊波拉病毒、艾滋病毒、单纯疱疹病毒、水痘带状疱疹病毒、天花病毒。在专利文献5中记载了一种治疗受试者的病毒感染的方法,包括向受试者给予5-ALA,使感染了病毒的细胞蓄积原卟啉,对该细胞使用红色光从而破坏该细胞。在专利文献6中,记载了在用于治疗阴道腔、子宫颈部或者子宫的内层的病毒感染的面向动物的光动力疗法(PDT)所使用的组合物的制造中使用5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)己酯或其可作为药剂使用的盐。但是,在专利文献3~6中,关于5-ALA对黄病毒科黄病毒属的病毒的影响,没有任何研究。

[0006] 在非专利文献13、14和15中,揭示了并用5-ALA和柠檬酸亚铁钠(SFC)可增大细胞内的血红素加氧酶-1(HO-1)的量。另外,在非专利文献14中,揭示了5-ALA可单独诱导HO-1的表达。在非专利文献16中,报告了HO-1对以登革热病毒为首的各种病毒具有抗病毒活性。

在非专利文献8中,揭示了显示HO-1诱导活性的氯化血红素在体外可减少寨卡病毒的复制。在非专利文献11中,揭示了对登革热病毒具有抗病毒活性的赤芝酮可增加细胞内的HO-1。

[0007] 现有技术文献

[0008] 专利文献

[0009] 专利文献1:日本特开2006-182753号公报

[0010] 专利文献2:日本特开2005-333907号公报

[0011] 专利文献3:国际公开第2014/013664号公报

[0012] 专利文献4:国际公开第2016/163082号公报

[0013] 专利文献5:日本特表2000-510123号公报

[0014] 专利文献6:日本特开2014-94963号公报

[0015] 非专利文献

[0016] 非专利文献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

[0017] 非专利文献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,26August 2016,6:32000;DOI:10.1038/srep32000(2016)

[0018] 非专利文献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

[0019] 非专利文献4:石川知弘、小西英二,病毒,第61卷,第2号,2011,p.221-238

[0020] 非专利文献5:Veaceslav Boldescu,et al.,Broad-spectrum agents for flaviviral infections:dengue,Zika and beyond,NATURE REVIEWS,5May 2017,VOLUME 16,AUGUST 2017,p.565-586

[0021] 非专利文献6:Zixue Shi,et al.,Nitazoxanide inhibits the replication of Japanese encephalitis virus in cultured cells and in a mouse model,Virology Journal,2014Jan 23,2014;11:10

[0022] 非专利文献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,29August 2016,VOLUME 22,NUMBER 10,OCTOBER 2016,p.1101-1107

[0023] 非专利文献8:Hanxia Huang,et al.,Nrf2-dependent induction of innate host defense via heme oxygenase-1inhibits Zika virus replication,Virology.2017March,503,1-5

[0024] 非专利文献9:W.MARKLAND,et al.,Broad-Spectrum Antiviral Activity of the IMP Dehydrogenase Inhibitor VX-497:a Comparison withRibavirin and Demonstration of Antiviral Additivity with Alpha Interferon,ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY,Apr.2000,Vol.44,No.4,p.859-866

- [0025] 非专利文献10:Ratree Takhampunya,et al.,Inhibition of dengue virus replication by mycophenolic acid and ribavirin,Journal of General Virology (2006),87,p.1947-1952
- [0026] 非专利文献11:Wei-Chun Chen,et al.,Lucidone suppresses dengue viral replication through the induction of heme oxygenase-1,VIRULEN CE,2018,VOL.9, NO.1,p.588-603
- [0027] 非专利文献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
- [0028] 非专利文献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 Physiology Cell Physiology (2015),308:C665-C672
- [0029] 非专利文献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
- [0030] 非专利文献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
- [0031] 非专利文献16:Espinoza JA,Gonzalez PA,Kalergis AM.Modulation of Antiviral Immunity by Heme Oxygenase-1.Am J Pathol.2017 Mar;187(3):487-493

发明内容

- [0032] 随着黄病毒感染症对策的重要性的增大,需要进一步的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。尤其是需要抗黄病毒作用比赤芝酮这样的现有化合物更强的进一步的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。并且需要显示细胞毒性与药效的浓度的差(即,治疗窗(Therapeutic Window))比赤芝酮这样的现有化合物更广的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。
- [0033] 本发明人等对进一步的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂进行了深入研究,结果发现5-ALA或其酯、或者它们的盐极其有用,基于此完成了本发明。
- [0034] 即,本发明的几个实施方式如下。
- [0035] [1]一种黄病毒感染症的预防和/或治疗剂,含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种。
- [0036] [2]根据[1]所述的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂,其中,黄病毒为登革热病毒、寨卡病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗病毒、或者黄热病毒。
- [0037] [3]根据[1]所述的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂,进一步含有铁化合物。
- [0038] [4]根据[1]所述的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂,不需要光照射。
- [0039] [5]一种黄病毒感染症的预防和/或治疗方法,包括:向对象给予含有选自5-氨基

乙酰丙酸 (5-ALA) 或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。

[0040] [6]根据[5]所述的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法,其中,黄病毒为登革热病毒、寨卡病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗病毒、或者黄热病毒。

[0041] [7]根据[5]所述的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法,其中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂进一步含有铁化合物。

[0042] [8]根据[5]所述的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法,其中,不需要光照射。

[0043] 本发明的一个实施方式的含有选自5-氨基乙酰丙酸 (5-ALA) 或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂能够抑制黄病毒的复制,由此可产生能够预防和/或治疗黄病毒的感染症的效果。本发明的一个实施方式的含有选自5-氨基乙酰丙酸 (5-ALA) 或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂与认为是介由H0-1发挥抗病毒作用的赤芝酮相比,可发挥更强的抗黄病毒作用。此外,本发明的一个实施方式的含有选自5-氨基乙酰丙酸 (5-ALA) 或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂与赤芝酮相比较,起到显示细胞毒性和药效的浓度的差(即,治疗窗)更广这样有利的效果。

附图说明

[0044] 图1是表示在感染前用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。

[0045] 图2是表示与感染同时用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。

[0046] 图3是表示在感染后1天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。

[0047] 图4是表示在感染后1天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的浓度依赖性的登革热病毒复制的抑制效果的图表。

[0048] 图5是表示在感染后1天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的浓度依赖性的日本脑炎病毒复制的抑制效果的图表。

[0049] 图6是表示在感染后7天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。

[0050] 图7是表示在感染后7天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的日本脑炎病毒复制的抑制效果的图表。

[0051] 图8是表示在感染后4天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。

[0052] 图9是表示在感染后2天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。

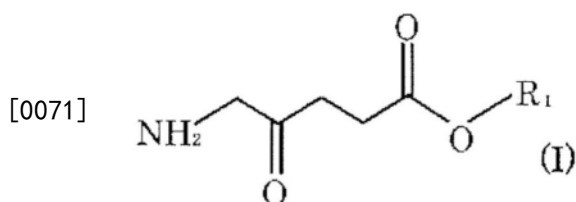
[0053] 图10是表示在感染后4天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的日本脑炎病毒复制的抑制效果的图表。

[0054] 图11是表示在感染后2天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的日本脑炎病毒复制的抑制效果的图表。

- [0055] 图12是表示用5-ALA溶液对非感染细胞处理2天时的5-ALA的细胞毒性的图表。
- [0056] 图13是表示用5-ALA溶液对非感染细胞处理4天时的5-ALA的细胞毒性的图表。
- [0057] 图14是表示用5-ALA溶液对非感染细胞处理7天时的5-ALA的细胞毒性的图表。
- [0058] 图15是表示用赤芝酮溶液对非感染细胞处理7天时的赤芝酮的细胞毒性的图表。
- [0059] 图16是表示在感染后7天用5-ALA或40 μ M赤芝酮处理细胞的情况下、5-ALA或赤芝酮带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。
- [0060] 图17是表示在感染后7天用5-ALA或40 μ M赤芝酮处理细胞的情况下、5-ALA或赤芝酮带来的日本脑炎病毒复制的抑制效果的图表。
- [0061] 图18是表示在图16和图17所示的试验中,用0.2mM 5-ALA或者40 μ M赤芝酮处理2天的时刻的细胞的光学显微镜照片的图。
- [0062] 图19是表示在感染后7天用5-ALA或低用量赤芝酮处理细胞的情况下、5-ALA或赤芝酮带来的登革热病毒复制的抑制效果的图表。
- [0063] 图20是表示在感染后7天用5-ALA或低用量赤芝酮处理细胞的情况下、5-ALA或赤芝酮带来的日本脑炎病毒复制的抑制效果的图表。
- [0064] 图21是表示各实施例中的药剂处理和病毒感染处理等的时刻的示意图。
- [0065] 图22是表示在感染后7天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒1型复制的抑制效果的图表。
- [0066] 图23是表示在感染后7天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒3型复制的抑制效果的图表。
- [0067] 图24是表示在感染后7天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的登革热病毒4型复制的抑制效果的图表。
- [0068] 图25是表示在感染后7天用5-ALA处理细胞的情况下、5-ALA带来的寨卡病毒复制的抑制效果的图表。

具体实施方式

- [0069] 本发明的一个实施方式是一种黄病毒感染症的预防和/或治疗剂,含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种。另外,本发明的一个实施方式是选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种在黄病毒感染症的预防和/或治疗剂中的使用。此外,本发明的另一实施方式是一种含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗用组合物。
- [0070] 本发明中,5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)是又被称为 δ -氨基乙酰丙酸的化合物。本发明中,“5-ALA或其酯”是指“5-ALA或5-ALA酯”,由下述式(I)表示。本发明中,“5-ALA或其酯、或者它们的盐”的记载中的“它们的盐”是指5-ALA的盐或5-ALA酯的盐。作为该盐,例如可举出盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、磷酸盐、甲基磷酸、乙基磷酸、亚磷酸盐、次磷酸盐、硝酸盐、硫酸盐、乙酸盐、丙酸盐、甲苯磺酸盐、琥珀酸盐、草酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、乙醇酸盐、甲磺酸盐、丁酸盐、戊酸盐、柠檬酸盐、富马酸盐、马来酸盐、苹果酸盐等酸加成盐,以及钠盐、钾盐、钙盐等金属盐,铵盐、烷基铵盐等,但不限于这些。



[0072] 上述式(I)中, R_1 为氢原子、直链或支链状烷基、环烷基、芳基或芳烷基。 R_1 为氢时, 上述式(I)表示5-ALA。 R_1 为直链或支链状烷基、环烷基、芳基或芳烷基时, 上述式(I)表示5-ALA酯。

[0073] R_1 中所示的直链或支链状的烷基优选碳原子数为1~18的烷基, 例如, 可举出甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、叔戊基、2-甲基丁基、正己基、异己基、3-甲基戊基、乙基丁基、正庚基、2-甲基己基、正辛基、异辛基、叔辛基、2-乙基己基、3-甲基庚基、正壬基、异壬基、1-甲基辛基、乙基庚基、正癸基、1-甲基壬基、正十一烷基、1,1-二甲基壬基、正十二烷基、正十三烷基、正十四烷基、正十五烷基、正十六烷基、正十七烷基、正十八烷基等。作为环烷基, 例如, 不仅可举出环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基等, 还可举出具有烷基取代基的环烷基, 例如, 具有碳原子数1~6的烷基取代基的环烷基, 例如, 3-甲基环己基、4-甲基环己基、4-乙基环己基、2-甲基环辛基等。作为直链或支链状的烷基, 更优选碳原子数1~16的烷基, 特别优选甲基、乙基、正丁基、正十六烷基或者2-乙基己基。

[0074] 作为 R_1 中所示的芳基, 可举出苯基、萘基等。该芳基可以被1~3个下述取代基取代, 例如: 甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、正己基、环丙基、环丁基、环己基等碳原子数1~6的烷基, 甲氧基、乙氧基、正丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等碳原子数1~6的烷氧基, 羟基、氨基、硝基、氰基、氟、氯、溴、碘等卤素原子, 羧基等。

[0075] 作为 R_1 中所示的芳烷基, 优选由碳原子数1~6的烷基和碳原子数6~20的芳基构成。作为碳原子数1~6的烷基, 例如, 可举出甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、正己基、环丙基、环丁基、环己基等, 作为碳原子数6~20的芳基, 可举出苯基、萘基等。芳烷基中, 优选苄基或者苯乙基, 特别优选苄基。该芳烷基的芳基可以被1~3个下述取代基取代: 上述记载的碳原子数1~6的烷基、甲氧基、乙氧基、正丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、叔丁氧基等碳原子数1~6的烷氧基, 羟基、氨基、硝基、氰基、氟、氯、溴、碘等卤素原子, 羧基等。

[0076] 在本发明的实施方式的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂中, 选自5-ALA或其酯、或者它们的盐中的至少一种只要作为有效成分使用即可, 该有效成分可以仅使用一种, 或者该有效成分可以为多种组合的形态。例如, 本实施方式中使用的有效成分可以为5-ALA、5-ALA酯、5-ALA盐、或者5-ALA酯的盐中的任一种。另外, 例如, 可以为5-ALA和5-ALA酯的盐的组合等。本实施方式中使用的选自5-ALA或酯或者它们的盐中的至少一种可以为经纯化的状态的物质, 也可以为经粗纯化的状态的物质、或者合成而得的混合物的状态的物质。本实施方式中优选使用5-ALA盐作为有效成分, 更优选使用5-ALA盐酸盐和/或5-ALA磷酸盐作为有效成分。本发明中使用的选自5-ALA或其酯、或者它们的盐中的至少一种可通过公知的方法制造。

[0077] 本发明中, “黄病毒”是指被分类为黄病毒科黄病毒属的病毒。作为黄病毒, 例如,

可举出登革热病毒、寨卡病毒、日本脑炎病毒、西尼罗病毒、黄热病毒、默里谷脑炎病毒、圣路易斯脑炎病毒、鄂木斯克出血热病毒和蜱传脑炎病毒等。本发明的一个实施方式中,成为预防和/或治疗的对象的黄病毒是被分类为黄病毒科黄病毒属的病毒,但成为预防和/或治疗的对象的黄病毒优选为登革热病毒、寨卡病毒、日本脑炎病毒、蜱传脑炎病毒、西尼罗病毒、或者黄热病毒,更优选为登革热病毒、寨卡病毒、或者日本脑炎病毒。

[0078] 本发明中,“黄病毒感染症”是指黄病毒感染人和人以外的动物等对象而产生的疾病。作为针对人的黄病毒感染症,例如,可举出因登革热病毒的感染而发病的登革热、登革出血热和登革休克综合症,因寨卡病毒的感染而发病的寨卡病毒病和先天性寨卡病毒感染症,因日本脑炎病毒的感染而发病的日本脑炎,因西尼罗病毒的感染而发病的西尼罗热和西尼罗脑炎,因黄热病毒的感染而发病的黄热,因默里谷脑炎病毒的感染而发病的默里谷脑炎,因圣路易斯脑炎病毒的感染而发病的圣路易斯脑炎,因鄂木斯克出血热病毒的感染而发病的鄂木斯克出血热,以及因蜱传脑炎病毒的感染而发病的蜱传脑炎等。另外,作为针对人以外的动物的黄病毒感染症,例如,可举出日本脑炎病毒感染马而产生的脑炎和感染妊娠猪而产生的流产、以及西尼罗病毒感染马而产生的脑炎和感染妊娠羊而产生的流产等,但不限于这些。

[0079] 本发明中,“黄病毒感染症的预防”例如是指抑制黄病毒感染症的发病,即完全抑制发病或者降低发病率,但不限于这些。另外,“黄病毒感染症的治疗”例如可举出黄病毒感染症的重症化的防止、缓解和完全治愈,但不限于这些。本发明中“预防和/或治疗”是指可以为以下的(1)~(3)中的任一个:(1)预防、(2)治疗、(3)预防和治疗这两者。

[0080] 本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂只要能够预防和/或治疗给予对象的感染症,则可以是所有的给药途径、剂形和组成。例如,本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂包括口服给药、静脉给药、鼻内给药、透皮给药、吸入给药、使用栓剂的给药等,但不限于这些,可以以各种途径给药。优选黄病毒感染症的预防和/或治疗剂的给药途径为口服给药。本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂可以采用适合给药途径的剂形,例如,可以为片剂、散剂、胶囊剂、酏剂、悬浮液、乳剂、溶液、糖浆、软膏、栓剂、贴膏剂等形态。另外,本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂也可以为食品的形态。此外,本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂也可以为供于人以外的动物的饲料的形态。

[0081] 本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂含有铁化合物。铁化合物没有特别限定,作为铁化合物,可举出铁的有机盐、无机盐、与蛋白质等高分子化合物的复合体。作为铁的有机盐,可举出柠檬酸亚铁、柠檬酸铁钠、柠檬酸亚铁钠、柠檬酸铁铵等柠檬酸盐,苹果酸铁、琥珀酸柠檬酸铁钠、乳酸铁、酒石酸铁、乙醇酸铁等羟基羧酸盐,琥珀酸亚铁、乙酸铁、草酸铁、葡聚糖铁、葡萄糖酸铁、乙二胺四乙酸铁钠、乙二胺四乙酸铁钾、乙二胺四乙酸铁铵、二乙烯三胺五乙酸铁钠、二乙烯三胺五乙酸铁钾、二乙烯三胺五乙酸铁铵、甘油磷酸铁等。作为铁的无机盐,可举出氧化铁、氯化铁、硝酸铁、硫酸铁、硫酸铵铁、焦磷酸亚铁、焦磷酸铁等。另外,铁化合物可以为乳铁蛋白铁、转铁蛋白铁等铁结合蛋白质、和血红素铁等。铁化合物可以为1种,也可以是组合使用多种铁化合物。铁化合物优选为柠檬酸亚铁钠。

[0082] 本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂中含有的铁化合物

的量是5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐的合计摩尔量:铁化合物中的铁原子的摩尔量为1:0.05~1:5,优选为1:0.1~1:1。

[0083] 本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂根据需要可以含有药学或食品卫生上可接受的各种载体和添加剂、或者作为人以外的动物用饲料可接受的各种载体和添加剂等。作为这些各种载体和添加剂,例如可举出赋形剂、润滑剂、稳定剂、分散剂、粘合剂、稀释剂、香料、甜味剂、调味剂、着色剂等。本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂也可以为含有这些必要成分的黄病毒感染症的预防和/或治疗用组合物。

[0084] 本发明的另一实施方式是一种黄病毒感染症的预防和/或治疗方法,包括:向对象给予含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。另外,本发明的另一实施方式是黄病毒感染症的预防和/或治疗对象中的选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种的使用。

[0085] 在本发明的实施方式的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法中,作为黄病毒感染症的预防和/或治疗的对象,没有特别限定,可举出人、人以外的哺乳类和鸟类。

[0086] 在本发明的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法中,5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐的给药量可根据病毒的种类、症状的程度等适当地决定。给药频率和给药期间没有特别限定。

[0087] 本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂是含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种、且不需要光照射的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。另一实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗剂是含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种、且不进行光照射的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。另外,本发明的一个实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗方法是包括向对象给予含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂的步骤、且不需要光照射的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法。另一实施方式中,黄病毒感染症的预防和/或治疗方法是包括向对象给予含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂的步骤、且不进行光照射的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法。作为这些实施方式中的“光照射”,例如,可举出在利用蓄积于细胞的原卟啉(原卟啉IX)的光敏性的光动力治疗(PDT)中使用的光照射。

[0088] 以下,通过实施例对本发明进行详细说明,但本发明不限于实施例的范围。

[0089] 实施例

[0090] 按照以下的步骤确认在黄病毒的感染前、与感染同时或者感染后用5-ALA等药剂处理细胞时的登革热病毒(DENV)或日本脑炎病毒(JEV)复制的抑制效果。

[0091] (1) 在感染前日(Day0),将Vero细胞接种于24孔培养板,在37℃·5%CO₂下培养。培养液为MEM+10%胎牛血清+10mM非必需氨基酸+1000U/ml青霉素+100μg/ml链霉素。在感染前用药剂处理的实验中,在此时向培养液中添加研究对象的药剂。在全部实验中,使用5-氨基乙酰丙酸盐盐酸盐作为5-ALA,使用柠檬酸亚铁钠(SFC)作为含铁化合物,使用300μM利巴韦林或各种浓度的赤芝酮作为阳性对照,使用水作为阴性对照。

[0092] (2) 在感染当日(Day1),除去准备的培养板的培养液,将登革热病毒2型New

Guinea C株(DENV2 NGC)或者日本脑炎病毒中山株(JEV Nakayama)分别以MOI(感染复数)=2、MOI=5接种于细胞(接种液量为200微升)。使病毒吸附于细胞1小时后,用磷酸缓冲液(PBS)清洗细胞,完全除去接种液。将维持用培养液(MEM+1%胎牛血清+10mM非必需氨基酸+1000U/ml青霉素+100μg/ml链霉素+1mM HEPES)1ml加入到培养板,在37℃·5%CO₂下培养细胞。与感染同时添加药剂的实验中,在此时向维持用培养液中添加研究对象的药剂。

[0093] (3)在24小时后(Day2),从培养板回收培养液,重新将维持用培养液1ml加入到培养板,在37℃·5%CO₂下培养细胞。在感染后添加药剂的实验中,在感染后规定的时刻添加研究对象的药剂。将回收的培养液以3000rpm离心5分钟,冷冻保存其上清液。

[0094] (4)以后每24小时重复进行培养液的回收和添加。应予说明,感染实验对全部条件使用2个孔。

[0095] 按照以下的步骤测定病毒的感染滴度。

[0096] (1)在实验前日,将Vero细胞接种于24孔培养板,在37℃·5%CO₂下培养。

[0097] (2)将滴度测定用试样解冻,使用维持用培养液制作10倍阶段稀释系列。

[0098] (3)除去准备的培养板的培养液,将在步骤(2)中制作的稀释系列以每种200微升接种。1小时的吸附后,从培养板除去接种液,将1%甲基纤维素(MEM+1%甲基纤维素+1%胎牛血清)1ml加入到培养板,将培养板在37℃·5%CO₂下静置(DENV为14天,JEV为10天)。

[0099] (4)从培养板除去甲基纤维素溶液,用PBS清洗后,将结晶紫(0.05%结晶紫·20%甲醇)1ml加入到培养板,在室温下静置10分钟。从培养板除去结晶紫液,用水清洗,计数干燥后噬斑数。由噬斑数计算培养液中的病毒滴度。

[0100] MTT试验

[0101] (1)在实验前日,将Vero细胞接种于96孔培养板,在37℃·5%CO₂下培养。

[0102] (2)使用维持用培养液(MEM+1%胎牛血清+10mM非必需氨基酸+1000U/ml青霉素+100μg/ml链霉素+1mM HEPES)制作5-ALA的2倍阶段稀释系列(~0.8mM)。使用水作为阴性对照。对于赤芝酮,也同样地制作2倍阶段稀释系列(~160μM)。

[0103] (3)除去准备的培养板的培养液,将(2)中制作的5-ALA溶液或赤芝酮溶液加入到培养板。每1孔为100μl,每1个条件使用3个孔。

[0104] (4)每24小时将旧的培养液从培养板除去,将新的5-ALA溶液或赤芝酮溶液加入到培养板进行培养。

[0105] (5)在用5-ALA溶液培养2天、4天或7天后,或者用赤芝酮溶液培养7天后,将细胞用PBS清洗2次,加入MTT溶液100μl,在37℃·5%CO₂下培养3小时。MTT溶液使用将噻唑蓝溴化四唑溶解于2×MEM与灭菌水的等量混合液(10mg/ml)并经过过滤灭菌而得的物质(用时制备)。

[0106] (6)从培养板除去培养液,将异丙醇100μl加入到培养板,在室温下振荡5分钟左右。

[0107] (7)测定570nm的吸光度,算出相对于0mM处理孔的吸光度的吸光度百分数。

[0108] 在图21中说明了以下各实施例中的药剂处理和病毒感染处理等的时刻。

[0109] 实施例1

[0110] 研究感染前的药剂处理中的登革热病毒复制的抑制效果。

[0111] 使用的药剂为5-ALA(1mM)、5-ALA(1mM)+SFC(0.25mM)(即5-ALA与SFC的并用)、SFC

(0.25mM)、利巴韦林(300 μ M、图中Rib)和水(图中NC)。评价从用药剂处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)(PFU:噬斑形成单位)的形式示于图1。如图1所示,5-ALA(1mM)和5-ALA(1mM)+SFC(0.25mM)在感染前给予的情况下没有显示出登革热病毒复制的抑制效果。

[0112] 实施例2

[0113] 研究与感染同时的药剂处理中的登革热病毒复制的抑制效果。

[0114] 使用的药剂为5-ALA(1mM)、5-ALA(1mM)+SFC(0.25mM)、SFC(0.25mM)、利巴韦林(300 μ M、图中Rib)和水(图中NC)。用药剂的处理与感染同时,为1天(Day1)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)(PFU:噬斑形成单位)的形式示于图2。如图2所示,5-ALA(1mM)和5-ALA(1mM)+SFC(0.25mM)在与感染同时处理的情况下显示出登革热病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂,该抑制效果随着时间的经过而消失。

[0115] 实施例3

[0116] 研究感染后的药剂处理中的登革热病毒复制的抑制效果。

[0117] 使用的药剂为5-ALA(1mM)、5-ALA(1mM)+SFC(0.25mM)、SFC(0.25mM)、利巴韦林(300 μ M、图中Rib)和水(图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的1天(Day2)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)(PFU:噬斑形成单位)的形式示于图3。如图3所示,5-ALA(1mM)和5-ALA(1mM)+SFC(0.25mM)在感染后处理的情况下显示出登革热病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂,该抑制效果随着时间的经过而消失。

[0118] 实施例4

[0119] 研究感染后的药剂处理中的登革热病毒复制的用量依赖性的抑制效果。

[0120] 使用的药剂为5-ALA(1mM)、5-ALA(0.2mM)、5-ALA(0.05mM)、利巴韦林(300 μ M、图中Rib)和水(图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的1天(Day2)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图4。如图4所示,在感染后处理的情况下,5-ALA在0.05mM到1mM的浓度下用量依赖性地显示出登革热病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂,该抑制效果随着时间的经过而消失。

[0121] 实施例5

[0122] 研究感染后的药剂处理中的日本脑炎病毒复制的抑制效果。

[0123] 使用的药剂为5-ALA(1mM)、5-ALA(0.2mM)、5-ALA(0.05mM)、利巴韦林(300 μ M、图中Rib)和水(图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的1天(Day2)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图5。如图5所示,在感染后处理的情况下,5-ALA在0.05mM~1mM的浓度下用量依赖性地显示出日本脑炎病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂,该抑制效果随着时间的经过而消失,但抑制效果比实施例4的登革热病毒的情况更持久。

[0124] 实施例6

[0125] 研究感染后7天的药剂处理中的登革热病毒复制的抑制效果。

[0126] 使用的药剂为5-ALA(0.2mM)、5-ALA(0.05mM)、利巴韦林(300 μ M、图中Rib)和水(图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的7天(从Day2到Day8结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图6。如图6所示,用5-ALA(0.2mM)的处理直至Day7为止随着处理期间的经过显示出增大的登革热病毒复制的抑制效

果。用5-ALA (0.2mM) 处理带来的登革热病毒复制的抑制效果比用利巴韦林 (300μM) 带来的效果更强。在Day8, 用5-ALA (0.2mM) 处理带来的登革热病毒复制的抑制效果下降。作为该抑制效果下降的原因之一, 认为是出现了5-ALA耐性病毒。持续用药剂处理引起的抑制效果的下降在利巴韦林处理中也发现了。

[0127] 实施例7

[0128] 研究感染后7天的药剂处理中的日本脑炎病毒复制的抑制效果。

[0129] 使用的药剂为5-ALA (0.2mM)、5-ALA (0.05mM)、利巴韦林 (300μM, 图中Rib) 和水 (图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的7天 (从Day2到Day8结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度, 以log (PFU/ml) 的形式示于图7。如图7所示, 用5-ALA (0.2mM 和0.05mM) 的处理显示出日本脑炎病毒复制的抑制效果。用5-ALA (0.2mM) 处理带来的日本脑炎病毒复制的抑制效果比用利巴韦林 (300μM) 带来的效果更强。发现持续用药剂处理, 日本脑炎病毒复制的抑制效果下降, 作为其原因之一, 认为是出现耐药性的日本脑炎病毒。基于图7的结果, 认为5-ALA与利巴韦林相比延缓了耐药性病毒的出现。

[0130] 实施例8

[0131] 研究感染后4天的药剂处理中的登革热病毒复制的抑制效果。

[0132] 使用的药剂为5-ALA (0.2mM)、5-ALA (0.05mM)、利巴韦林 (300μM, 图中Rib) 和水 (图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的4天 (从Day2到Day6结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度, 以log (PFU/ml) 的形式示于图8。如图8所示, 用5-ALA (0.2mM) 的处理显示出登革热病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂, 该抑制效果随着时间的经过而消失。

[0133] 实施例9

[0134] 研究感染后2天的药剂处理中的登革热病毒复制的抑制效果。

[0135] 使用的药剂为5-ALA (0.2mM)、5-ALA (0.05mM)、利巴韦林 (300μM, 图中Rib) 和水 (图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的2天 (从Day2到Day4结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度, 以log (PFU/ml) 的形式示于图9。如图9所示, 用5-ALA (0.2mM) 的处理显示出登革热病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂, 该抑制效果随着时间的经过而消失。根据图6、图8和图9的结果, 可知4天和2天的5-ALA处理显示出比7天的5-ALA处理低的登革热病毒复制的抑制效果。

[0136] 实施例10

[0137] 研究感染后4天的药剂处理中的日本脑炎病毒复制的抑制效果。

[0138] 使用的药剂为5-ALA (0.2mM)、5-ALA (0.05mM)、利巴韦林 (300μM, 图中Rib) 和水 (图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的4天 (从Day2到Day6结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度, 以log (PFU/ml) 的形式示于图10。如图10所示, 用5-ALA (0.2mM) 的处理显示出日本脑炎病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂, 该抑制效果随着时间的经过而消失。

[0139] 实施例11

[0140] 研究感染后2天的药剂处理中的日本脑炎病毒复制的抑制效果。

[0141] 使用的药剂为5-ALA (0.2mM)、5-ALA (0.05mM)、利巴韦林 (300μM, 图中Rib) 和水 (图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的2天 (从Day2到Day4结束为止)。评价从处理过的

细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图11。如图11所示,用5-ALA(0.2mM)的处理显示出日本脑炎病毒复制的抑制效果。通过从培养液除去药剂,该抑制效果随着时间的经过而消失。根据图7、图10和图11的结果,可知4天和2天的5-ALA处理显示出比7天的5-ALA处理低的日本脑炎病毒复制的抑制效果。

[0142] 实施例12

[0143] 按照上述的MTT试验,研究了用5-ALA溶液对非感染细胞处理2天时的细胞毒性。将用5-ALA溶液处理2天的细胞毒性的结果示于图12。

[0144] 实施例13

[0145] 按照上述的MTT试验,研究了用5-ALA溶液对非感染细胞处理4天时的细胞毒性。将用5-ALA溶液处理4天的细胞毒性的结果示于图13。

[0146] 实施例14

[0147] 按照上述的MTT试验,研究了用5-ALA溶液对非感染细胞处理7天时的细胞毒性。将用5-ALA溶液处理7天的细胞毒性的结果示于图14。

[0148] 图12、13和14中的“Cont”为阴性对照。对于非感染细胞,用量依赖性地确认了5-ALA的细胞毒性。7天的用5-ALA的处理中的CC50(50%的细胞产生细胞毒性的药剂的浓度)超过了0.8mM。该0.8mM的浓度比实施例6和7中确认病毒复制的抑制效果的5-ALA的浓度0.2mM高。由此推测5-ALA既能够抑制因细胞毒性引起的副作用,又能够预防和/或治疗黄病毒感染症。

[0149] 实施例15

[0150] 按照上述的MTT试验,研究用赤芝酮处理7天时的细胞毒性。

[0151] 将用赤芝酮对非感染细胞处理7天的细胞毒性的结果示于图15。图15中的“Cont”为阴性对照。用量依赖性地确认了赤芝酮的细胞毒性。用赤芝酮进行的7天处理中的CC50(50%的细胞产生细胞毒性的药剂的浓度)超过60μM。对于没有感染黄病毒的细胞而言,赤芝酮在40μM的浓度下未显示出细胞毒性。由此,在以下的实施例中,将研究赤芝酮的抗黄病毒活性时的浓度设定为40μM。

[0152] 实施例16

[0153] 将感染后7天的药剂处理中的5-ALA的登革热病毒复制的抑制效果与40μM的赤芝酮进行比较。

[0154] 使用的药剂为5-ALA(0.2mM)、赤芝酮(40μM)和水(图中,Cont)。用药剂的处理为从感染1日后起算的7天(从Day2到Day8结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图16。如图16所示,40μM的赤芝酮显示出比0.2mM的5-ALA强的登革热病毒复制的抑制效果。

[0155] 实施例17

[0156] 将感染后7天的药剂处理中的5-ALA的日本脑炎病毒复制的抑制效果与40μM的赤芝酮进行比较。

[0157] 使用的药剂为5-ALA(0.2mM)、赤芝酮(40μM)和水(图中,Cont)。用药剂的处理为从感染1日后起算的7天(从Day2到Day8结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图17。如图17所示40μM的赤芝酮显示出比0.2mM的5-ALA强的日本脑炎病毒复制的抑制效果。

[0158] 实施例18

[0159] 研究赤芝酮和5-ALA对感染黄病毒的细胞的细胞毒性。

[0160] 在实施例16和实施例17的试验中,用光学显微镜观察将感染了登革热病毒2型New Guinea C株(DENV2 NGC)或者日本脑炎病毒中山株(JEV Nakayama)的细胞用药剂处理2天时的细胞的状态。将显示各细胞的状态的显微镜照片示于图18。在图18中,NGC表示登革热病毒2型New Guinea C株(DENV2 NGC),Nakayama表示日本脑炎病毒中山株(JEV Nakayama)。用赤芝酮处理的感染登革热病毒的细胞和感染日本脑炎病毒的细胞均可发现大量的细胞剥离。这表明40 μ M的赤芝酮对感染登革热病毒的细胞和感染日本脑炎病毒的细胞具有细胞毒性。与此相对,0.2mM的5-ALA对感染登革热病毒的细胞和感染日本脑炎病毒的细胞未显示出剥离。即,认为0.2mM的5-ALA对于这些感染细胞不具有细胞毒性。

[0161] 由此推测实施例16(即,图16)和实施例17(即,图17)中所示的40 μ M的赤芝酮的抗黄病毒活性反映了赤芝酮对感染细胞的细胞毒性。即,赤芝酮杀死成为登革热病毒和日本脑炎病毒的宿主的感染细胞本身,该实验系统中的用于病毒繁殖的宿主细胞数减少。其结果,认为在赤芝酮的存在下,培养液中存在的病毒的量降低。换言之,可以说实施例16和实施例17的结果并非是将赤芝酮的细胞毒性以外的抗黄病毒活性正确地与5-ALA的抗黄病毒活性对比的结果。赤芝酮与5-ALA的抗黄病毒活性的对比应在各个药剂无细胞毒性的浓度下进行。因此,在以下的实施例19和实施例20中,在不产生细胞毒性的浓度下,进行赤芝酮与5-ALA的抗黄病毒活性的比较。

[0162] 实施例19

[0163] 将感染后7天的药剂处理中的5-ALA的登革热病毒复制的抑制效果与10 μ M和2.5 μ M的赤芝酮进行比较。

[0164] 使用的药剂为5-ALA(0.2mM)、赤芝酮(10 μ M)、赤芝酮(2.5 μ M)和水(图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的7天(从Day2到Day8结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图19。如图19所示,0.2mM的5-ALA显示出比10 μ M和2.5 μ M的赤芝酮强的登革热病毒复制的抑制效果。

[0165] 实施例20

[0166] 将感染后7天的药剂处理中的5-ALA的日本脑炎病毒复制的抑制效果与10 μ M和2.5 μ M的赤芝酮进行比较。

[0167] 使用的药剂为5-ALA(0.2mM)、赤芝酮(10 μ M)、赤芝酮(2.5 μ M)和水(图中NC)。用药剂的处理为从感染1日后起算的7天(从Day2到Day8结束为止)。评价从处理过的细胞所放出的后代病毒的滴度,以log(PFU/ml)的形式示于图20。如图20所示,0.2mM的5-ALA显示出比10 μ M和2.5 μ M的赤芝酮强的日本脑炎病毒复制的抑制效果。

[0168] 根据比较赤芝酮与5-ALA的实施例的结果,显示细胞毒性和药效的浓度的差(即,治疗窗)如下。

[0169] 5-ALA的抗黄病毒活性在0.2mM以上得到确认,细胞毒性至少为0.8mM(未研究超过0.8mM的5-ALA的细胞毒性)。由此,5-ALA的治疗窗为0.2mM $\leq$ 5-ALA<0.8mM以上。

[0170] 另一方面,赤芝酮的抗黄病毒活性在40 μ M得到确认,且细胞毒性也在40 μ M得到确认,因此无治疗窗。

[0171] 因此,可知5-ALA是比赤芝酮有用的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂。作为赤芝

酮的抗登革热病毒活性的作用机制之一,已知有细胞内的H0-1的增大。由此,即便作为5-ALA的抗病毒作用已知有细胞内的H0-1的增大,但作为黄病毒感染症的预防和/或治疗剂的5-ALA的有用性显然并非仅仅是由H0-1的增大而能预测到的。可以说该5-ALA的有利效果是远超过由赤芝酮所示出的仅由H0-1的增大而带来的效果的预料不到的效果。

[0172] 实施例21

[0173] 与实施例6同样地,对于登革热病毒1型望月株(DENV1)、登革热病毒3型CH53489株(DENV3)、登革热病毒4型TVP360株(DENV4)、寨卡病毒PRVABC59株(ZKV)这4种病毒,确认了在感染后7天的药剂处理中的各病毒复制的抑制效果。其中,感染当日(Day1)的接种是分别对DENV1、DENV3、DENV4、ZKV以MOI=0.2、MOI=0.01、MOI=0.01、MOI=0.05实施。另外,在上述的病毒的感染滴度测定的步骤(3)中将培养板在37℃·5%CO₂下静置的期间是DENV1、DENV3、DENV4为10天,ZKV为6天。应予说明,使用的药剂为5-ALA(0.2mM)、5-ALA(0.04mM)、利巴韦林(300μM,图中Rib)和水(图中NC)。

[0174] (实施例21-1)

[0175] 研究感染后7天的药剂处理中的登革热病毒1型复制的抑制效果

[0176] 如图22所示,用5-ALA(0.2mM)的处理直至Day9为止显示出登革热病毒1型的抑制效果。用5-ALA(0.2mM)处理带来的登革热病毒复制的抑制效果比用利巴韦林(300μM)带来的效果更强。通过从培养液除去药剂,该抑制效果随着时间的经过而消失。

[0177] (实施例21-2)

[0178] 研究感染后7天的药剂处理中的登革热病毒3型复制的抑制效果

[0179] 如图23所示,用5-ALA(0.2mM)的处理直至Day7为止显示出登革热病毒3型的抑制效果。用5-ALA(0.2mM)处理带来的登革热病毒复制的抑制效果比用利巴韦林(300μM)带来的效果更强。在Day8,用5-ALA(0.2mM)处理带来的登革热病毒复制的抑制效果下降。作为该抑制效果下降的原因之一,认为是出现了5-ALA耐性病毒。持续用药剂处理引起的抑制效果的下降在利巴韦林处理中从Day7开始也发现了。

[0180] (实施例21-3)

[0181] 研究感染后7天的药剂处理中的登革热病毒4型复制的抑制效果

[0182] 如图24所示,用5-ALA(0.2mM)的处理直至Day7为止显示出登革热病毒4型的抑制效果。用利巴韦林(300μM)带来的效果比用5-ALA(0.2mM)处理带来的登革热病毒复制的抑制效果更强。在Day8,用5-ALA(0.2mM)处理带来的登革热病毒复制的抑制效果下降。作为该抑制效果下降的原因之一,认为是出现了5-ALA耐性病毒。持续用药剂处理引起的抑制效果的下降在利巴韦林处理中也发现了。

[0183] (实施例21-4)

[0184] 研究感染后7天的药剂处理中的寨卡病毒复制的抑制效果

[0185] 如图25所示,用5-ALA(0.2mM)的处理直至Day8为止显示出寨卡病毒的抑制效果。用5-ALA(0.2mM)处理带来的寨卡病毒复制的抑制效果在Day5、6、8比利巴韦林(300μM)带来的效果更强。在Day9以后,用5-ALA(0.2mM)处理带来的登革热病毒复制的抑制效果下降。作为该抑制效果下降的原因之一,认为是出现了5-ALA耐性病毒。持续用药剂处理引起的抑制效果的下降在利巴韦林处理中也发现了。

[0186] 产业上的可利用性

[0187] 作为本发明的实施方式的含有选自5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)或其酯、或者它们的盐中的至少一种的黄病毒感染症的预防和/或治疗剂、以及作为本发明的实施方式的黄病毒感染症的预防和/或治疗方法可用于黄病毒的感染症的预防和/或治疗。

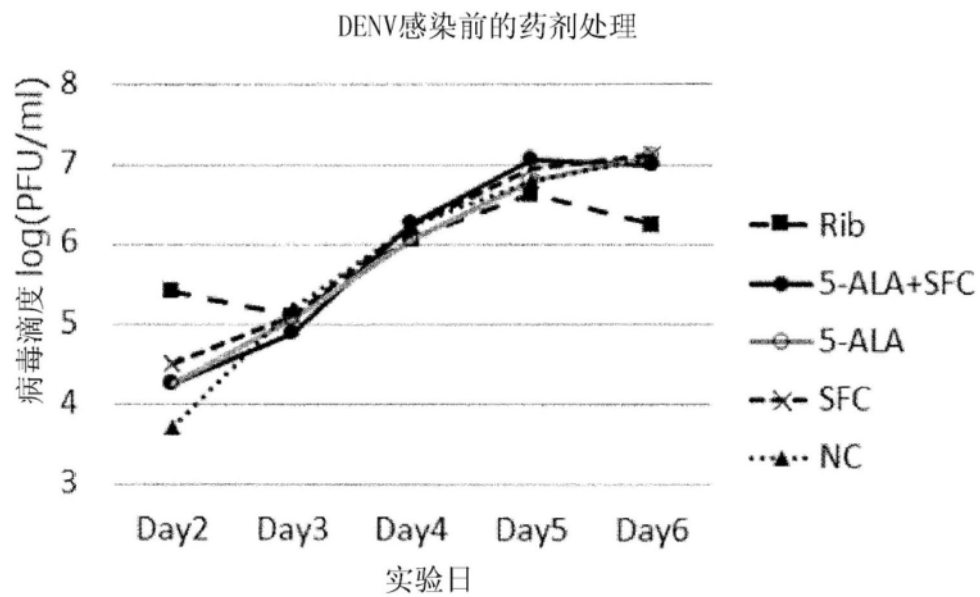


图1

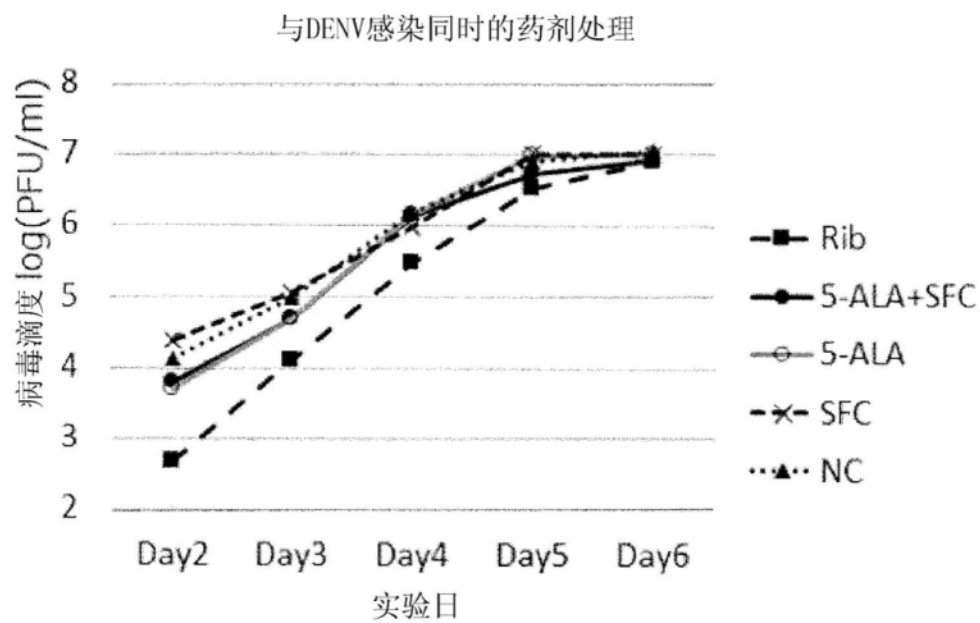


图2

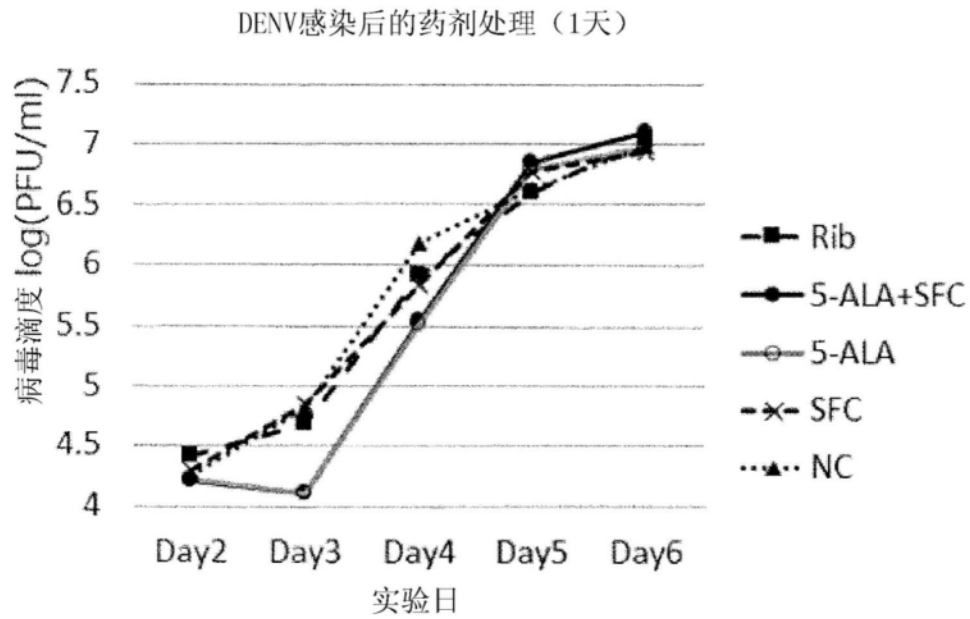


图3

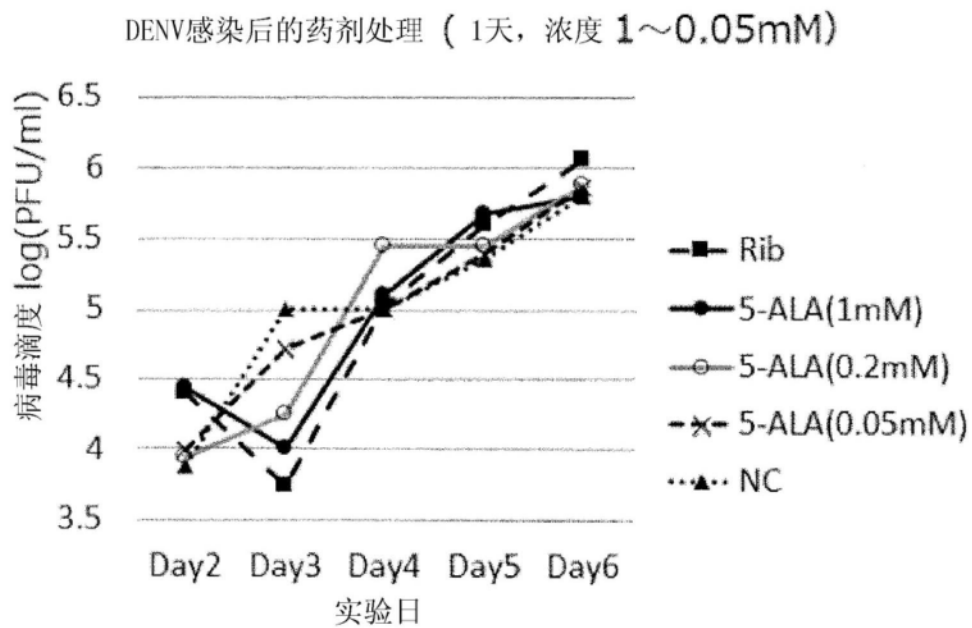


图4

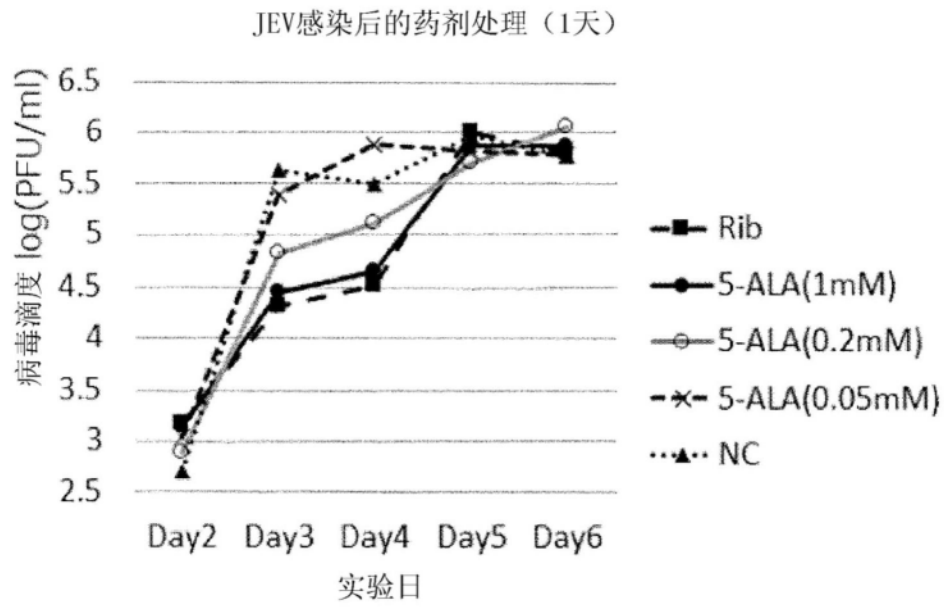


图5

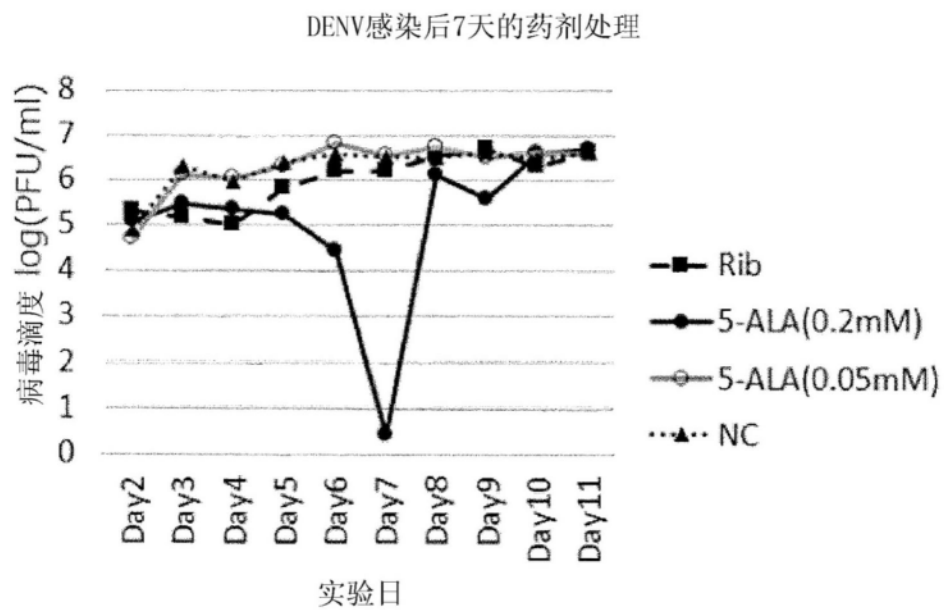


图6

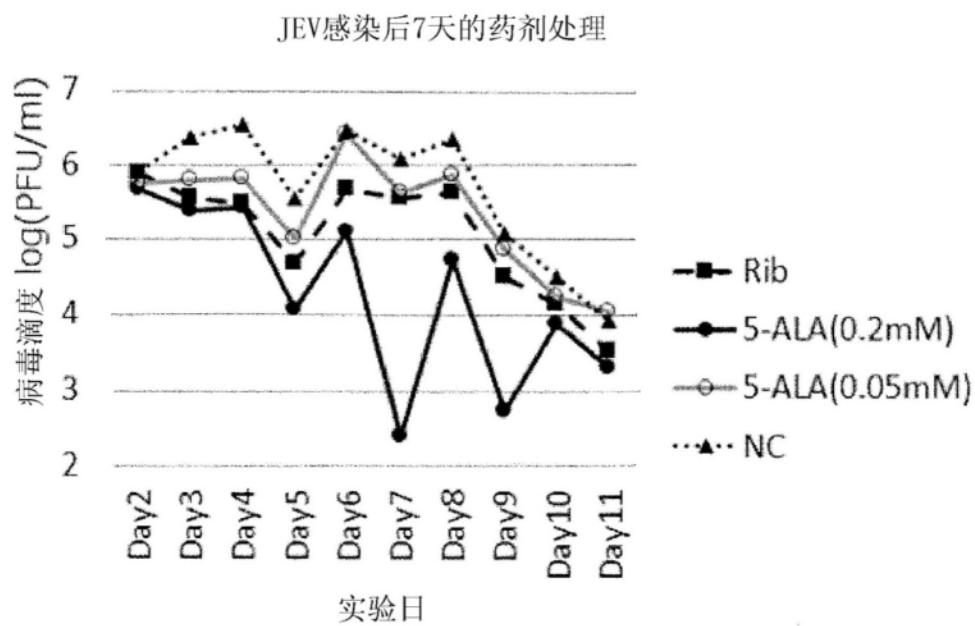


图7

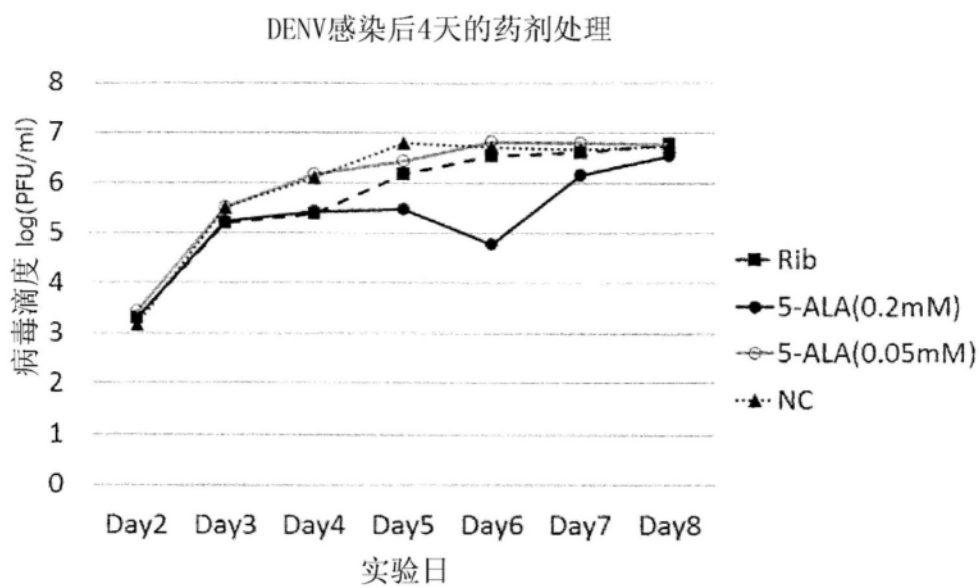


图8

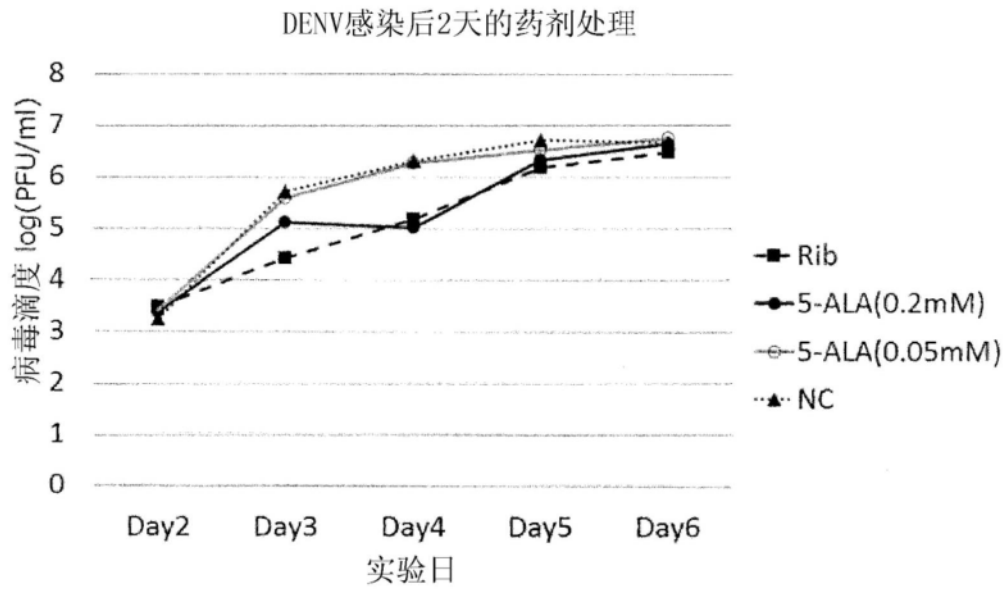


图9

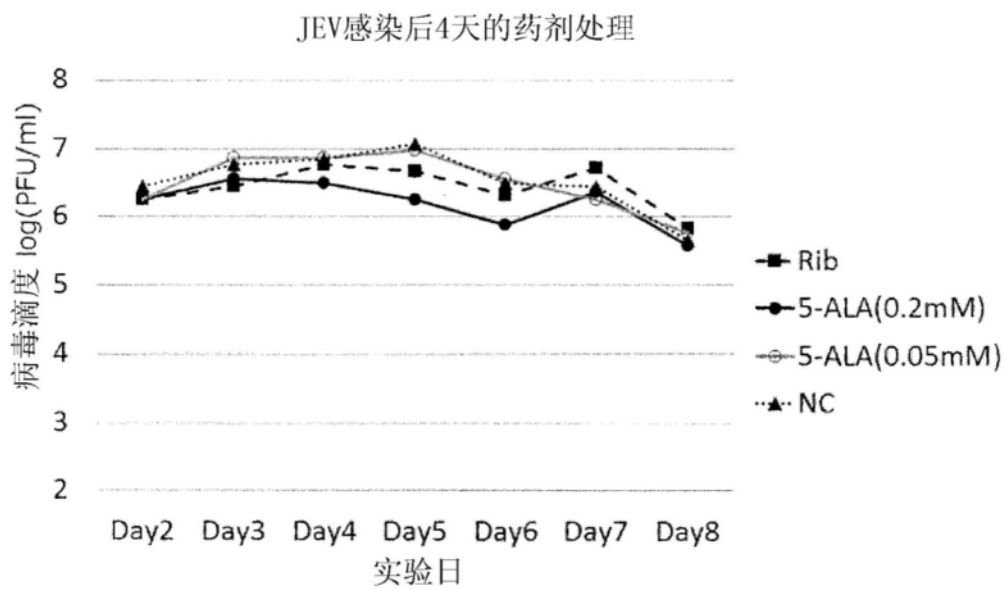


图10

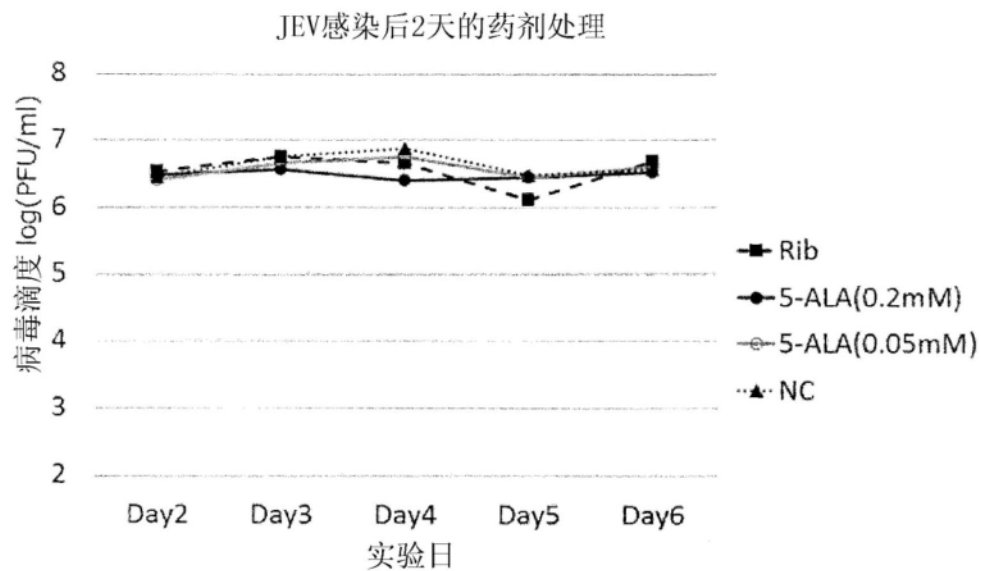


图11

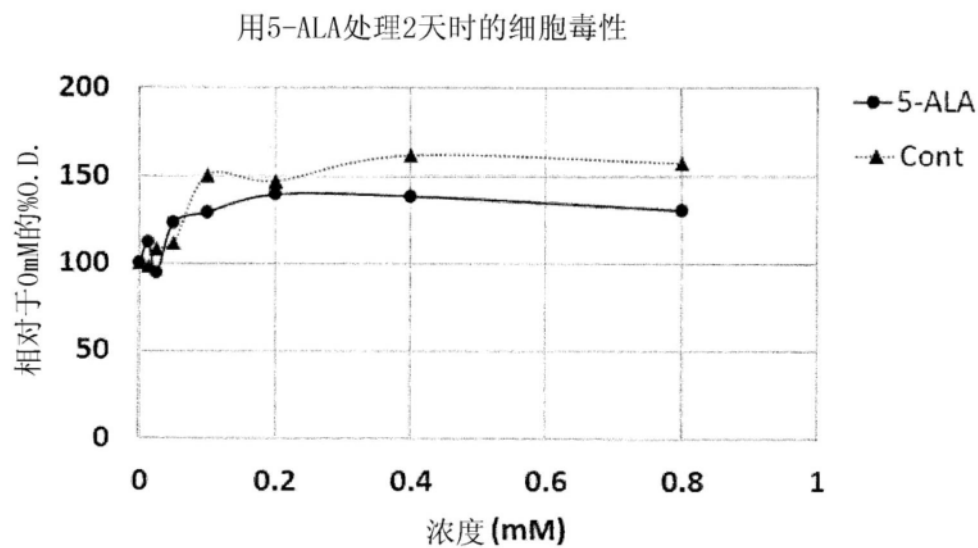


图12

用5-ALA处理4天时的细胞毒性

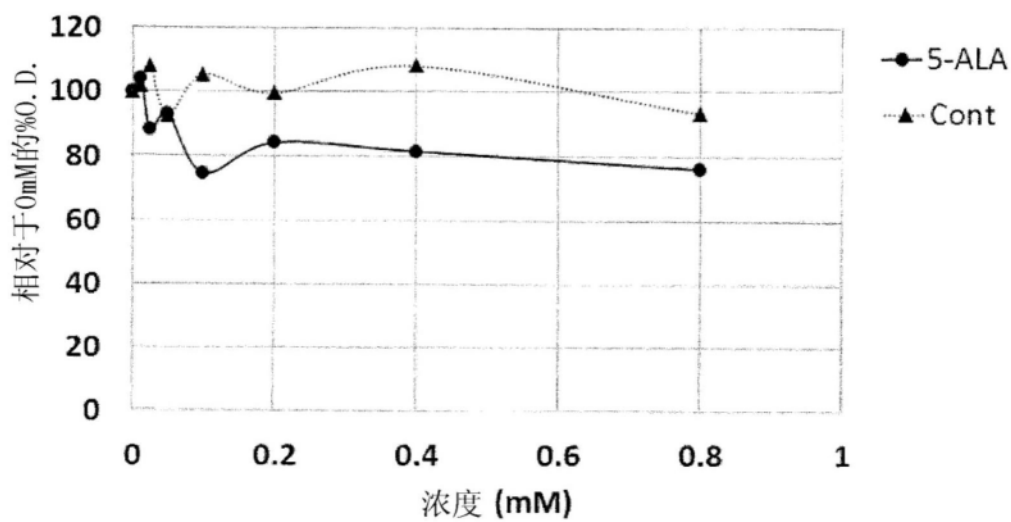


图13

用5-ALA处理7天时的细胞毒性

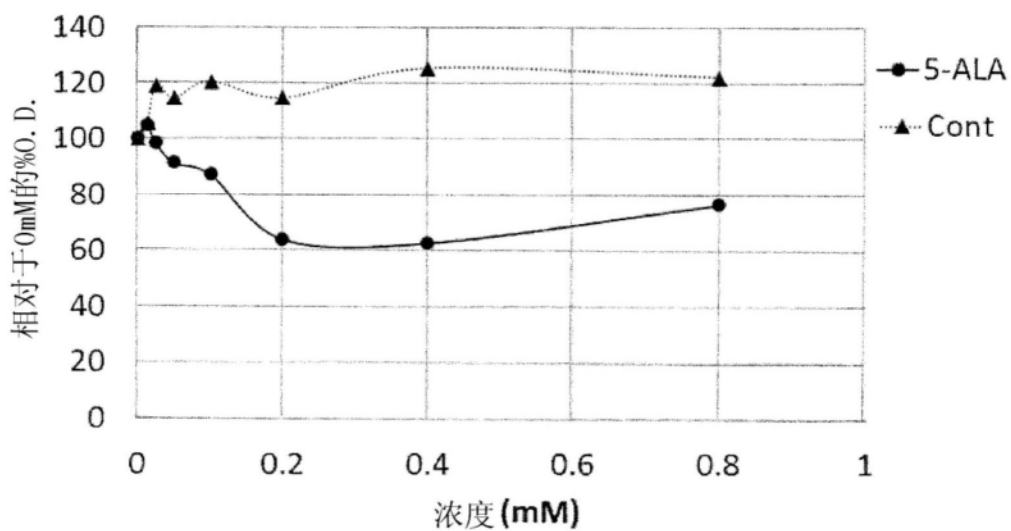


图14

用赤芝酮处理7天时的细胞毒性

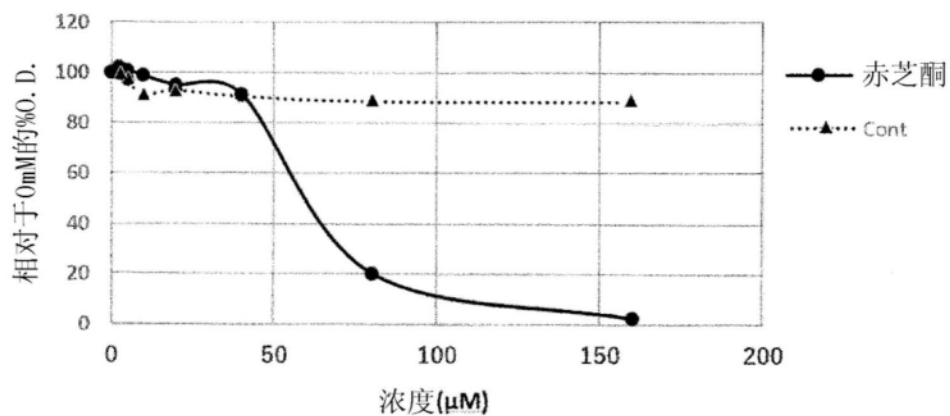


图15

5-ALA和40 μ M赤芝酮的DENV复制抑制效果

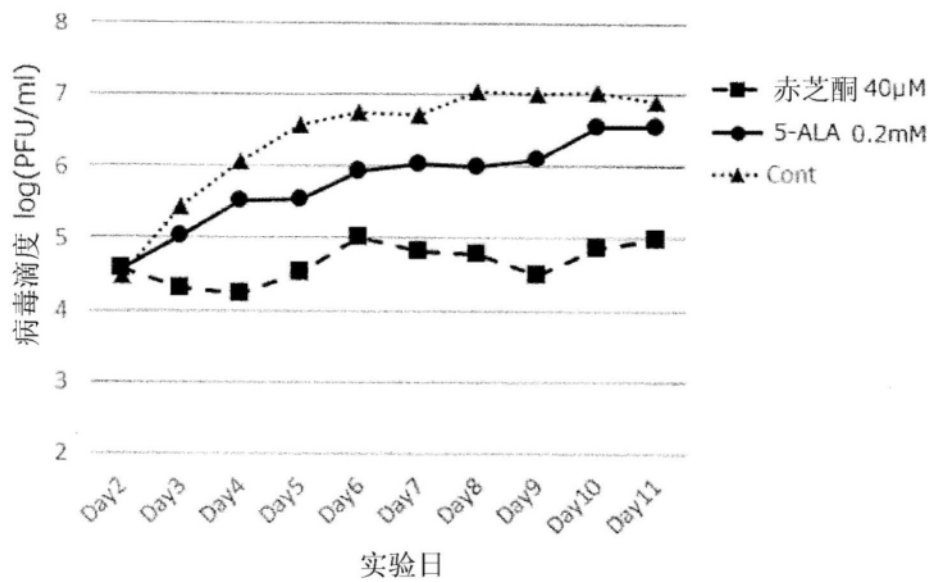


图16

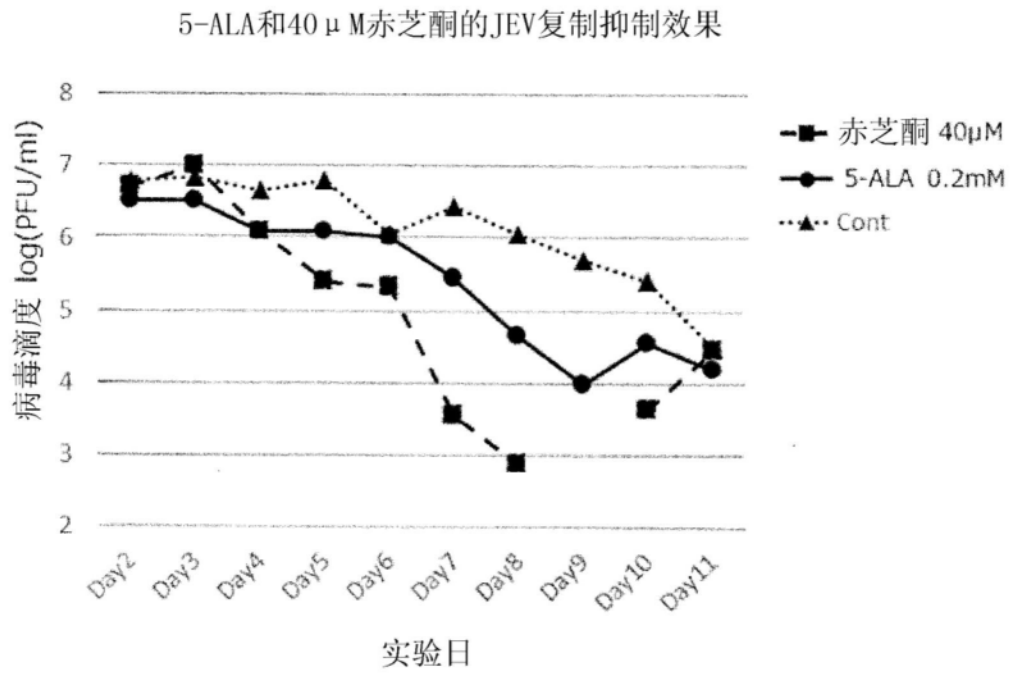
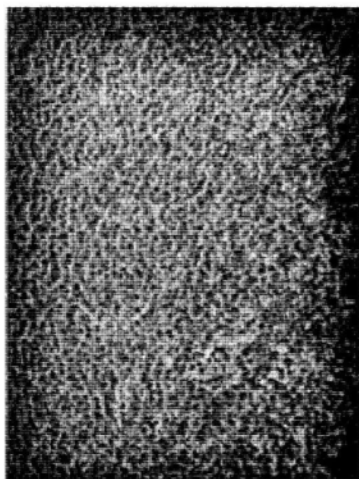
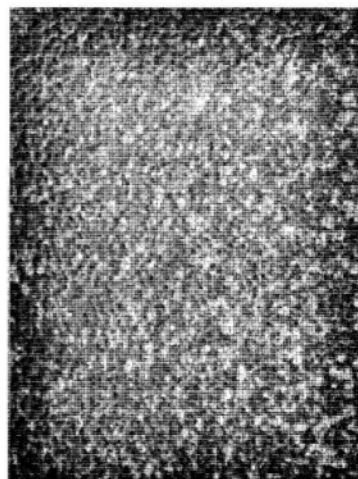


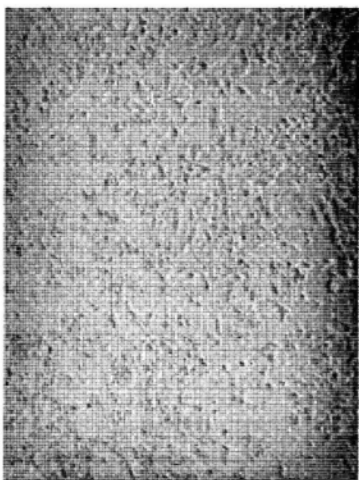
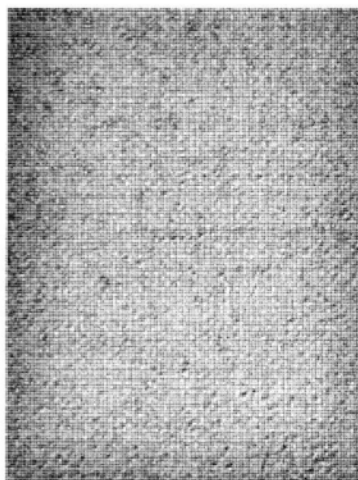
图17

赤芝酮对感染细胞的细胞毒性

5-ALA



赤芝酮



NGC
(处理2天)

Nakayama
(处理2天)

图18

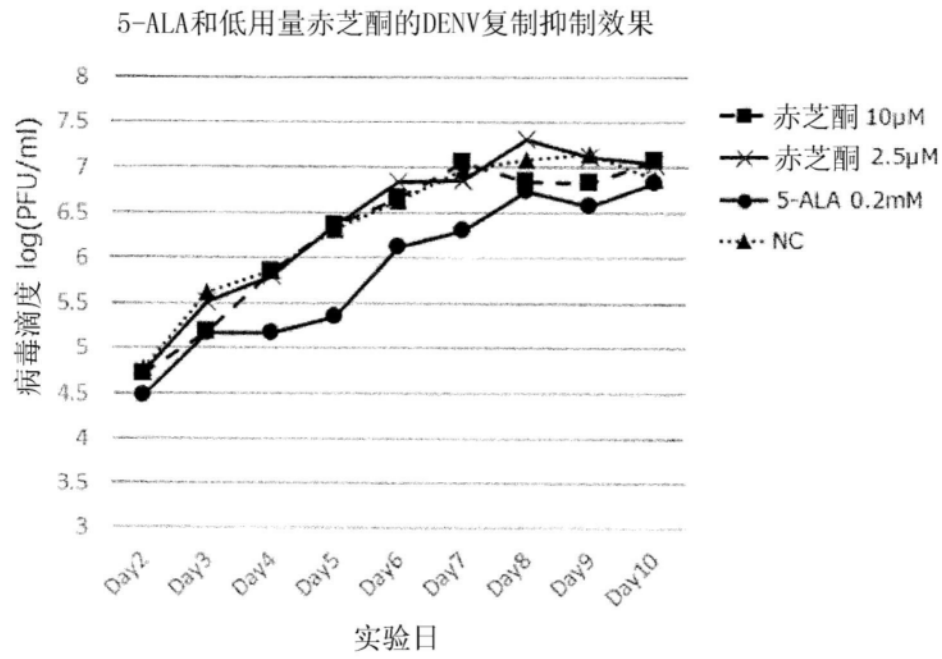


图19

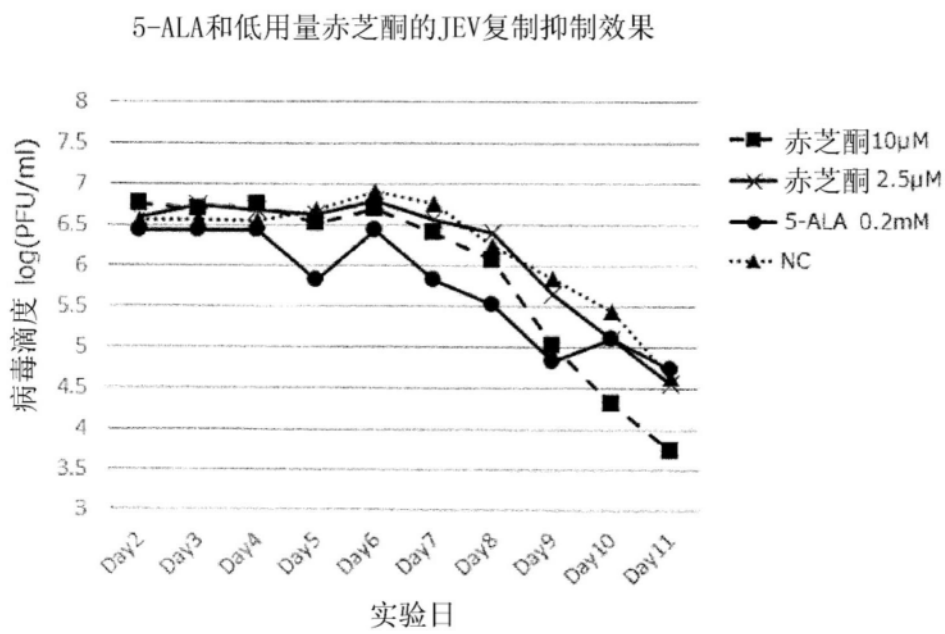


图20

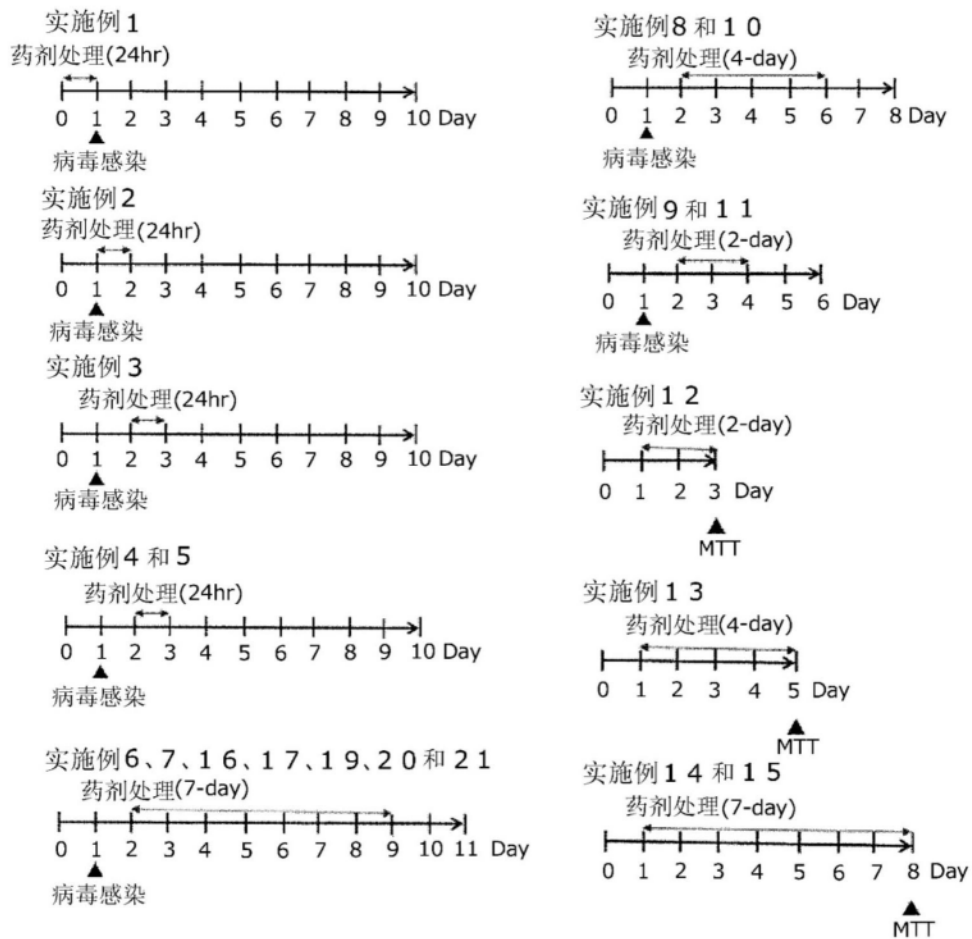


图21

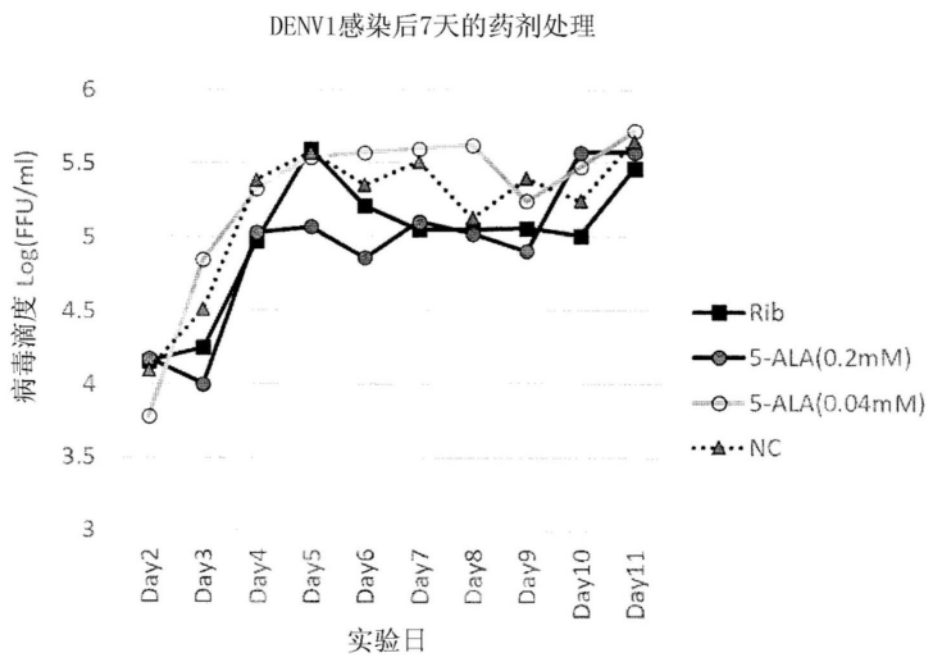


图22

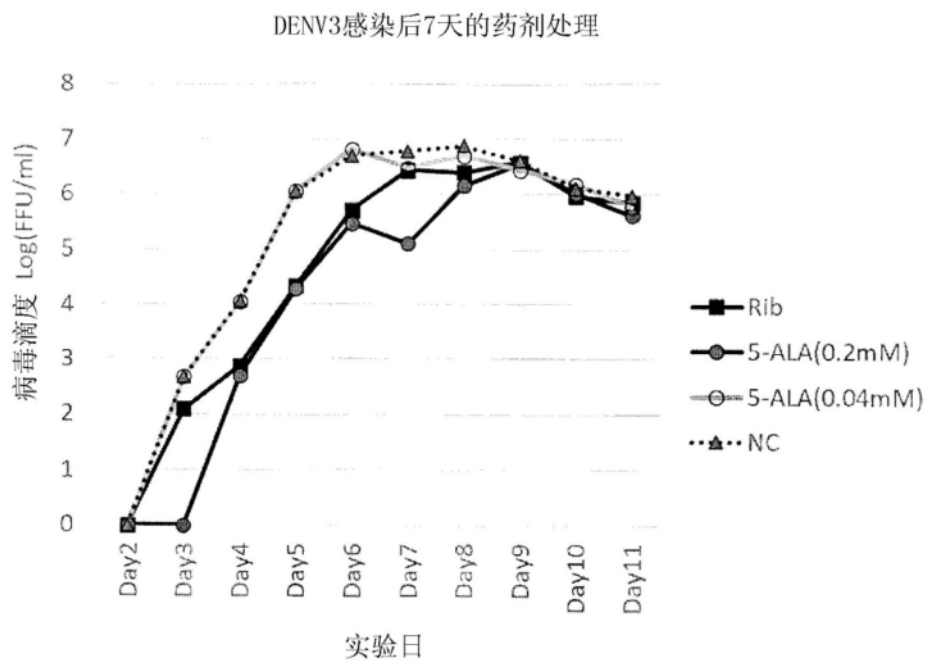


图23

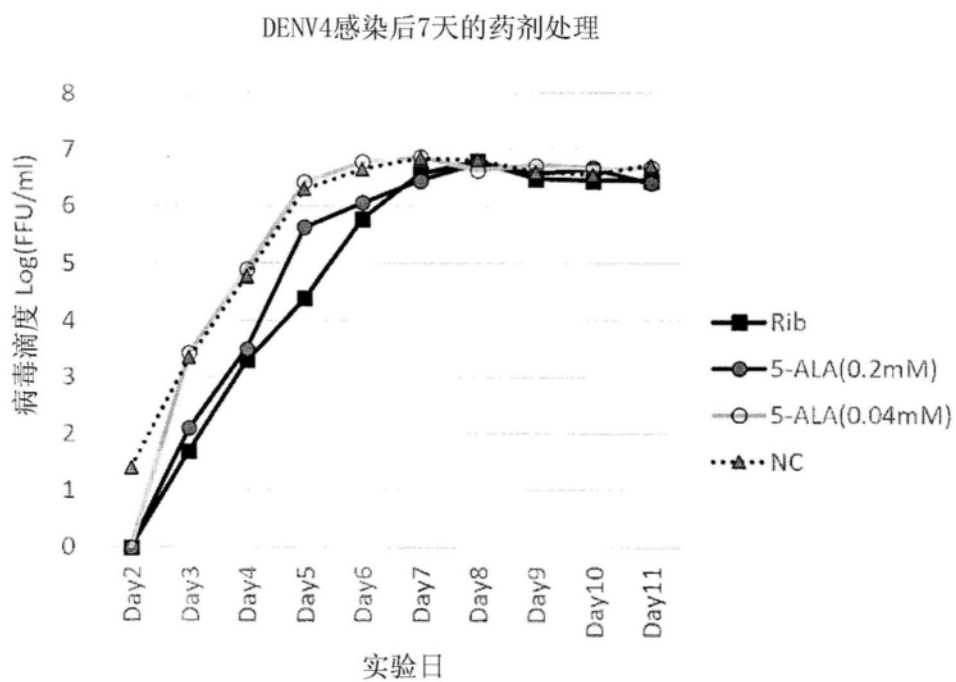


图24

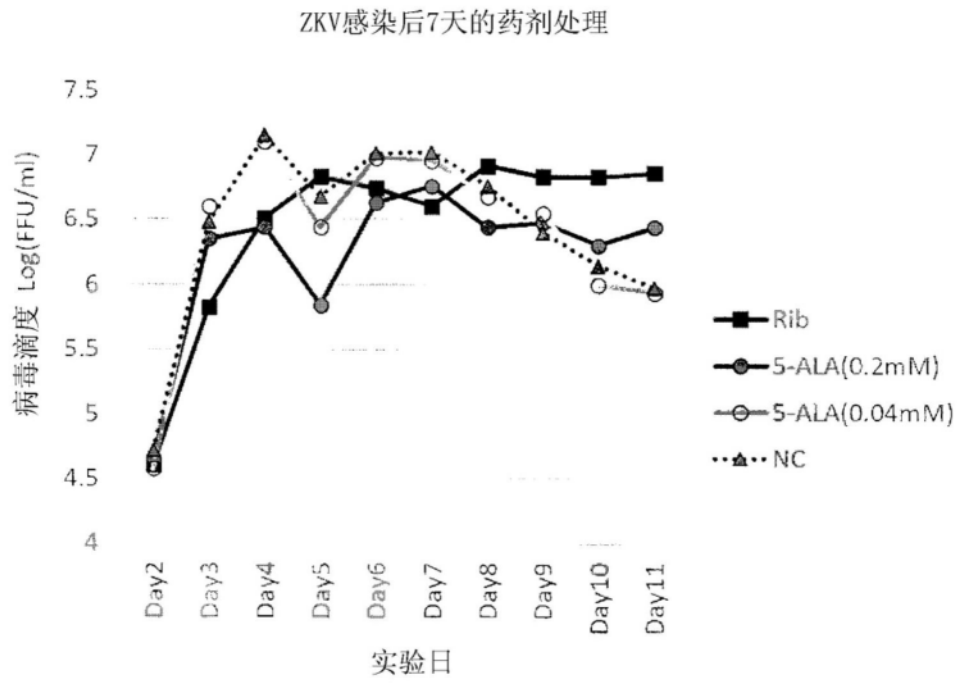


图25