

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-510155

(P2014-510155A)

(43) 公表日 平成26年4月24日(2014.4.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/55 (2006.01)	A 6 1 K 37/64	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/341 (2006.01)	A 6 1 K 31/341	
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 162 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2014-504035 (P2014-504035)	(71) 出願人	509329970
(86) (22) 出願日	平成24年4月6日 (2012.4.6)		ザ トラスティーズ オブ プリンストン
(85) 翻訳文提出日	平成25年11月28日 (2013.11.28)		ユニバーシティ
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/032567		アメリカ合衆国, ニュージャージー 08
(87) 国際公開番号	W02012/139028		544, プリンストン, ニュー サウス
(87) 国際公開日	平成24年10月11日 (2012.10.11)		ビルディング 4, ポスト オフィス
(31) 優先権主張番号	61/472, 608		ボックス 36
(32) 優先日	平成23年4月6日 (2011.4.6)	(74) 代理人	100099759
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 青木 篤
		(74) 代理人	100077517
			弁理士 石田 敬
		(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100087413
			弁理士 古賀 哲次
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 抗ウイルス組み合わせ治療薬

(57) 【要約】

本発明は、HCV関連要素のモジュレーターと、宿主細胞酵素のモジュレーターとの組合せを使用するウイルス感染を治療するための方法及び化合物を提供する。本発明はまた、宿主細胞酵素のモジュレーターと、少なくとも部分的に宿主因子を調節することにより働く他の薬剤の組合せを使用したウイルス感染の治療用の方法及び化合物も提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i)アセチル-CoAカルボキシラーゼ(ACC)の阻害剤である化合物若しくはかそのプロドラッグ、又は当該化合物若しくはプロドラッグの医薬として許容される塩若しくはエステル及び、(ii)HCV関連要素のモジュレーターである化合物若しくはそのプロドラッグ、又は当該化合物若しくはプロドラッグの医薬として許容される塩若しくはエステルの治療有効量を投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

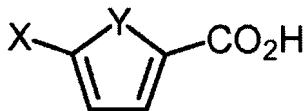
前記ACC阻害剤が、ACC1、ACC2、又はACC1とACC2の両方を抑制する、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記ACC阻害剤が、一般式XII：

【化 1】



20

{ 式中、

Xは、-(C₅~C₂₀)アルキル、-O(C₅~C₂₀)アルキル、-(C₅~C₂₀)ハロアルキル、-O(C₅~C₂₀)ハロアルキル、-ハロ、-OH、-(C₅~C₂₀)アルケニル、-(C₅~C₂₀)アルキニル、-(C₅~C₂₀)アルコキシ-アルケニル、-(C₅~C₂₀)ヒドロキシアルキル、-O(C₁~C₆)アルキル、-CO₂(C₁~C₆)アルキル、-O(C₅~C₂₀)アルケニル、-O(C₅~C₂₀)アルキニル、-O(C₅~C₂₀)シクロアルキル、-S(C₅~C₂₀)アルキル、-NH(C₅~C₂₀)アルキル、-NHCO(C₅~C₂₀)アルキル、-N(C₁~C₆)アルキルCO(C₅~C₂₀)アルキル、又は-O(C₅~C₂₀)アルコキシのいずれかであり；

30

Yは、O、S、-NH、又はN(C₁~C₆)アルキルのいずれかである }
で表される、請求項1に記載の方法。

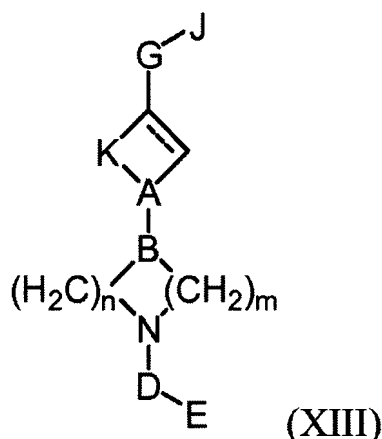
【請求項 4】

前記ACC阻害剤がTOFAである、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

前記ACC阻害剤が、一般式XIII：

【化2】



10

〔式中、

A-Bは、N-CHまたはCH-Nであり；Kは $(CH_2)_r$ であり（ただしrは2、3、4のいずれかである）；A-BがN-CHであるときには、mとnは、それぞれ独立に、1、2、3のいずれかであり、A-BがCH-Nであるときには、mとnは、それぞれ独立に、2または3であり；点線は、場合によっては二重結合の存在を表わし；

20

Dは、カルボニルまたはスルホニルであり；

Eは、a) 独立に取られた完全不飽和の5~7員の2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなる二環であるか、b) 独立に取られた完全不飽和の5~7員の2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなり、その2つの縮合環が、一部が不飽和であるか、完全に不飽和であるか、完全に飽和した第3の5~7員の環（その第3の環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）に縮合した三環であるか、c) 独立に取られた完全不飽和の5~7員の2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなる二環を含み、その2つの縮合環が、一部が不飽和であるか、完全に不飽和であるか、完全に飽和した5~7員の独立に取られた2つの単環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）に縮合するか、その二環が、一部が不飽和であるか、完全に不飽和であるか、完全に飽和した5~7員の独立に取られた2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなる第2の二環に縮合した四環であるか、d) 完全不飽和の5~7員の環（その環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）を含み、その環が、完全不飽和の5~7員の環（置換されたその各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）によって独立に二置換されてテラリール非縮合環系を形成しているテラリール環であり、二環、三環、四環、テラリール環いずれかであるそのEは、場合によっては、使用する各環上で独立に一置換、または二置換、または三置換されて、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、シアノ、ニトロ、オキソ、カルボキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルチオ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシカルボニルを持つ二環、三環、四環、テラリール環いずれかを形成し；

30

40

二環、三環、四環、テラリール環いずれかであるそのEは、場合によっては、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和の3~8員の環 R_{10} （場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）で一置換されるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和の3~8員の独立に取

50

った2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなる二環R”で一置換され、R₁₀とR”は、場合によってはさらに架橋し、R₁₀とR”は、場合によっては、完全に飽和しているか、一部が不飽和であるか、完全に不飽和の1~4員の直線状炭素鎖または分岐炭素鎖を通じて連結され、その炭素鎖中の炭素は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1個または2個のヘテロ原子で置換されていてもよいが、二環Eは、少なくとも1つの置換基を持ち、Dに結合している二環Eの原子は炭素であり；R₁₀とR”は、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、シアノ、ニトロ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニル、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニルで一置換、または二置換、または三置換され、その中の(C₁~C₆)アルキル置換基と(C₁~C₆)アルコキシ置換基も、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、(C₁~C₆)アルコキシ、アミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、1~9個のフッ素で一置換、または二置換、または三置換され；

10

Gは、カルボニル、スルホニル、CR₇R₈のいずれかであり；その中のR₇とR₈は、それぞれ独立に、H、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニルのいずれかであるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、酸素、イオウ、窒素の中から選択した1つのヘテロ原子を持つ5~7員の環であり；

20

Jは、OR’、NR₂R₃、CR₄R₅R₆のいずれかであり；その中のR’、R₂、R₃は、それぞれ独立に、H、Q、(C₁~C₁₀)アルキル、(C₃~C₁₀)アルケニル、(C₃~C₁₀)アルキニルのいずれかであり、その中の炭素は、場合によっては、酸素、窒素、イオウの中から選択した1個または2個のヘテロ原子で置換されていてもよく、イオウは、場合によってはオキソで一置換または二置換され、炭素は、場合によってはオキソで一置換され、窒素は、場合によってはオキソで二置換され、炭素は、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、カルボキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルオキシカルボニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニルで一置換、または二置換、または三置換され；鎖は、場合によってはQ₁で一置換され；QとQ₁は、それぞれ独立に、

30

一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~8員の環であるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和の3~6員の独立に取った2つの縮合環またはスピロ環からなる二環であり、その二環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持ち、その単環または二環は、場合によっては、(C₁~C₃)アルキレンと架橋し、その(C₁~C₃)アルキレンの炭素は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~2個のヘテロ原子で置換され；QとQ₁は、それぞれ独立に、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)

40

アルキニル、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルカルボニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、(C₁~C₆)アルキルオキシカルボニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノスルホニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノスルホニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニルで一置換、または二置換、または三置換、または四置換され、その中の(C₁~C₆)アルキル置換基は、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルオキシカルボニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され、その中の(C₁~C₆)アルキル置換基も、場合によっては、1~9個のフッ素で置換され；

50

または R_2 と R_3 は、これらが結合している窒素原子と合わさって、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個の追加のヘテロ原子を持つ3~8員の環になるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個の追加のヘテロ原子を持つ3~6員の独立に取られた2つの縮合環、架橋環、スピロ環のいずれかからなる二環になるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個の追加のヘテロ原子を持つ3~6員の独立に取られた3つの縮合環、架橋環、スピロ環のいずれかからなる三環になり； NR_2R_3 環は、場合によっては、独立に、R

15、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルチオ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルカルボニルアミノ、モノ-N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノ、ジ-N,N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され、その中の $(C_1 \sim C_6)$ アルキル置換基は、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルチオ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルオキシカルボニル、モノ-N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノ、ジ-N,N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され、この $(C_1 \sim C_6)$ アルキル置換基も、場合によっては1~9個のフッ素でも置換され；

3個のヘテロ原子は、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択され、前記環は、場合によっては、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルチオ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルカルボニルアミノ、モノ-N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノ、ジ-N,N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され； NR_2R_3 環は、場合によっては、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~8員の環で置換されるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~6員の独立に取られた2つの縮合環、架橋環、スピロ環のいずれかからなる二環で置換され、その単環または二環は、場合によってはさらに、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ上記環に架橋し、その中の $(C_1 \sim C_6)$ アルキルとその環は、場合によっては、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルカルボニルアミノ、ヒドロキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルチオ、モノ-N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノ、ジ-N,N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され； R_4 、 R_5 、 R_6 は、独立に、H、ハロ、ヒドロキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルであるか、 R_4 と R_5 が合わさって、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~8員の環を形成し、その中の $(C_1 \sim C_6)$ アルキルとその環は、場合によっては、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_3 \sim C_6)$ アルキニル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルカルボニルアミノ、ヒドロキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルチオ、モノ-N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノ、ジ-N,N- $(C_1 \sim C_6)$ アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換されるが、1'-(アントラセン-9-カルボニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(1-オキサ-2,3-ジアザ-シクロペンタ[a]ナフタレン-5-スルホニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(5-ジメチルアミノ-ナフタレン-1-スルホニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(9,10,10-トリオキソ-9,10-ジヒドロ-チオキサンテン-3-カルボニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(2-オキソ-2H-クロメン-3-カルボニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミドは含まれない}

で表される、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

10

20

30

40

50

前記ACC阻害剤がCP-610431である、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記ACC阻害剤がCP-640186である、請求項5に記載の方法。

【請求項8】

免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン (Pegintron)、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサー-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項8に記載の方法。

10

【請求項10】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメボジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上も前記対象に投与する、請求項1に記載の方法。

【請求項11】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i) 宿主細胞標的のモジュレータである化合物若しくはそのプロドラッグ、または当該化合物若しくはプロドラッグの医薬として許容可能な塩若しくはエステルと、(ii) HCV関連要素のモジュレータである化合物若しくはそのプロドラッグ、またはその化合物若しくはそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルの治療有効量を投与する操作を含む、前記方法。

20

【請求項12】

善意免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサー-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメボジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上を前記対象に投与する、請求項11に記載の方法。

30

【請求項15】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i) アシル-CoA : コレステロールアシル-トランスフェラーゼ (ACAT) の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、または当該化合物若しくはプロドラッグの医薬として許容可能な塩若しくはエステルと、(ii) HCV関連要素のモジュレータである化合物若しくはそのプロドラッグ、またはその化合物若しくはそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルを、治療有効量投与することを含む、方法。

【請求項16】

前記ACAT阻害剤が、ACAT1、ACAT2、又はACAT1とACAT2の両方を抑制する、請求項15に記載の方法。

40

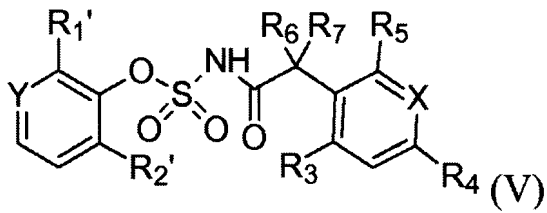
【請求項17】

前記ACAT阻害剤が、パクチミブ、化合物1、化合物21、化合物12g、SMP-797、CL-283,546、Wu-V-23、エフルシミブのいずれかである、請求項15に記載の方法。

【請求項18】

前記ACAT阻害剤が、一般式V：

【化3】



10

{ 式中、

XとYは、独立に、NCとHの中から選択され；

R₁' と R₂' は、独立に、H、C₁~₆アルキル（場合によってはF、OCH₃、OHで置換されていてもよい）、C₁~₆シクロアルキルの中から選択され；

R₆とR₇は、独立に、HとC₁~₃アルキルの中から選択されるか、R₆とR₇が合わさってC₃~₆シクロアルキルを形成してもよく；

R₃、R₄、R₅は、独立に、H、C₁~₆アルキル（場合によってはF、OCH₃、OHで置換されていてもよい）、C₁~₆シクロアルキルの中から選択され；

それに加え、またはその代わりに、R₆とR₇の一方がR₅と合わさってC₅~₁₁シクロアルキル環を形成してもよい}

20

で表される化合物である、請求項15に記載の方法。

【請求項19】

前記化合物がアバシミブである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

免疫調節剤を前記対象に投与する、請求項15に記載の方法。

【請求項21】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項20に記載の方法。

30

【請求項22】

リバピリン、又はタリバピリン、ミゾリピン、メリメポジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバピリン類似体のうちの1種類以上を前記対象に投与する、請求項15に記載の方法。

【請求項23】

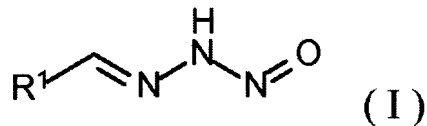
HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i)長鎖アシル-CoAシターゼ(ACSL)の阻害剤である化合物若しくはそのプロドラッグ、またはその化合物若しくはそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii)HCV関連要素のモジュレーターである化合物若しくはそのプロドラッグ、またはその化合物若しくはそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルの治療有効量を投与することを含む方法。

40

【請求項24】

前記ACSL阻害剤が、一般式I：

【化4】



{ 式中、

R¹は、3～23個の原子とヘテロ原子を有する炭素鎖であり；
その炭素鎖は、1～10個の二重結合と、0～4個のヘテロ原子を含み；
R¹の炭素原子の0～8個は場合によっては置換されている }
で表される化合物である、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

前記ACSL阻害剤がトリアクシンCである、請求項23に記載の方法。

【請求項26】

免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項23に記載の方法。

【請求項27】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメポジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上も前記対象に投与する、請求項23に記載の方法。

【請求項29】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i)エロンガーゼ(ELOVL)の阻害剤である化合物がそのプロドラッグ、またはその化合物がそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii)HCV関連要素のモジュレータである化合物がそのプロドラッグ、またはその化合物がそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルを、治療に有効な量投与する操作を含む方法。

【請求項30】

前記エロンガーゼ阻害剤が、ELOVL2、ELOVL3、ELOVL6のうちの1種類以上の阻害剤である、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項29に記載の方法。

【請求項32】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメポジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上も前記対象に投与する、請求項29に記載の方法。

【請求項34】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i)脂肪酸シンターゼ(FAS)の阻害剤である化合物がそのプロドラッグ、またはその化合物がそのプロ

10

20

30

40

50

ドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii) HCV関連要素のモジュレーターである化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルの治療有効量を投与することを含む、前記方法。

【請求項35】

前記脂肪酸シタターゼ阻害剤が、C75またはオルリスタットである、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項34に記載の方法。

【請求項37】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項36に記載の方法。

10

【請求項38】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメボジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上も前記対象に投与する、請求項34に記載の方法。

【請求項39】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i) HMG-CoAレダクターゼの阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii) HCV関連要素のモジュレーターである化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルを、治療に有効な量投与する操作を含む方法。

20

【請求項40】

前記HMG-CoAレダクターゼ阻害剤が、フルバスタチン、ロバスタチン、メバスタチン、プラバスタチン、シンバスタチン、アトルバスタチン、イタバスタチン、ピサスタチンのいずれかである、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項39に記載の方法。

【請求項42】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項41に記載の方法。

30

【請求項43】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメボジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上も前記対象に投与する、請求項39に記載の方法。

【請求項44】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i) 脂肪液滴形成の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii) HCV関連要素のモジュレーターである化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルを、治療に有効な量投与する操作を含む方法。

40

【請求項45】

前記脂肪液滴形成阻害剤が、PF-1052、スピリドン、セスペンドール、テルペンドールC、ルビマイリン、化合物7、化合物8、化合物9、ベルミスポリン、ビューベリオリド、フェノカラシン、イソビスベルチノール、K97-0239のいずれかである、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

50

免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項44に記載の方法。

【請求項47】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項46に記載の方法。

【請求項48】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメボジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上も前記対象に投与する、請求項44に記載の方法。

10

【請求項49】

HCV感染を治療または予防する方法であって、その必要がある対象に、(i)セリンバルミトイルトランスフェラーゼ(SPT)の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii)HCV関連要素のモジュレーターである化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルを、治療に有効な量投与する操作を含む方法。

【請求項50】

前記SPT阻害剤が、ミリオシン、スフィンゴフンギンB、スフィンゴフンギンC、スフィンゴフンギンE、スフィンゴフンギンF、リボキサマイシン、ビリジオフンギンA、スルファミステリン、NA255のいずれかである、請求項49に記載の方法。

20

【請求項51】

免疫調節剤も前記対象に投与する、請求項49に記載の方法。

【請求項52】

前記免疫調節剤が、ペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメボジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したリバビリン類似体のうちの1種類以上も前記対象に投与する、請求項49に記載の方法。

30

【請求項54】

HCV関連要素の前記モジュレーターが、HCVプロテアーゼ阻害剤である、請求項53に記載の方法。

【請求項55】

前記HCVプロテアーゼ阻害剤の選択が、ボセプレビル、テラプレビル、ITMN-191、SCH-900518、TMC-435、BI-201335、MK-7009、VX-500、VX-813、BMS650032、VBY376、R7227、VX-985、ABT-333、ACH-1625、ACH-2684、GS-9256、GS-9451、MK-5172、ABT-450の中からなされる、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

前記HCVプロテアーゼ阻害剤が、ボセプレビルまたはテラプレビルである、請求項54に記載の方法。

40

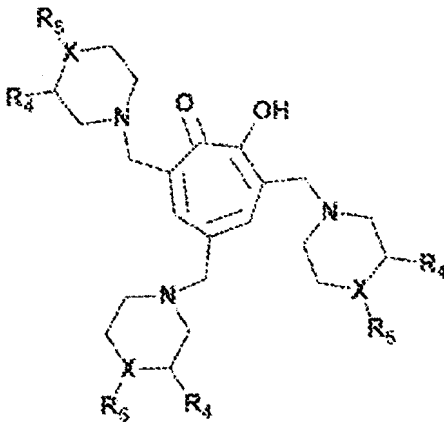
【請求項57】

HCV関連要素の前記モジュレーターが、HCVヘリカーゼ(NS3)阻害剤である、請求項1~53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項58】

HCV関連要素の前記モジュレーターが、以下の構造：

【化5】



10

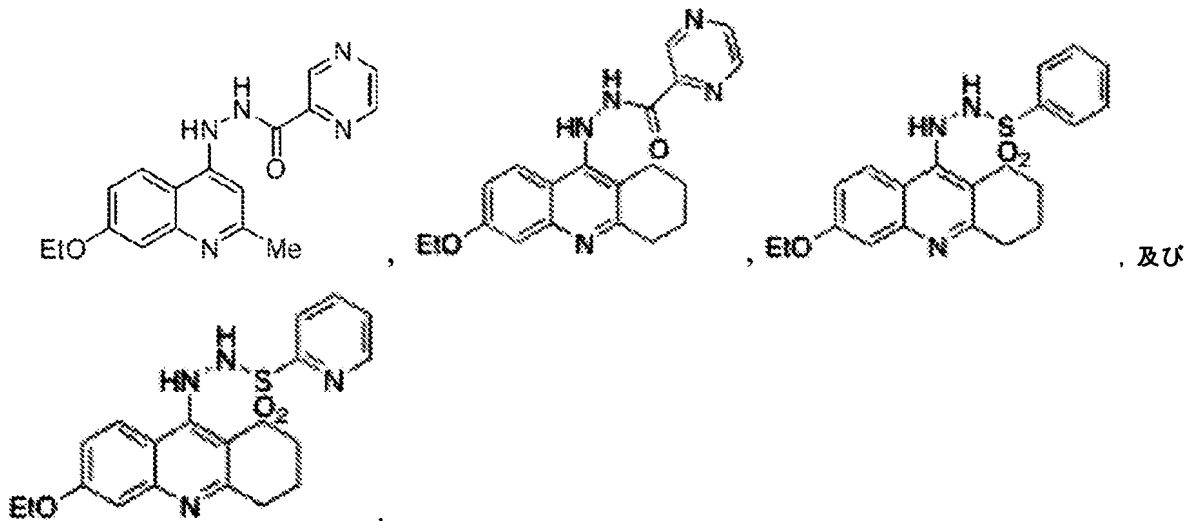
の化合物の中から選択されるHCVヘリカーゼ（NS3）阻害剤である（ただし、XはN、R₄はH、R₅はCH₃であるか；XはCH、R₄はH、R₅はCH₃であるか；XはCH、R₄はCH₃、R₅はHである）、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

20

HCV関連要素の前記モジュレータが、

【化6】



30

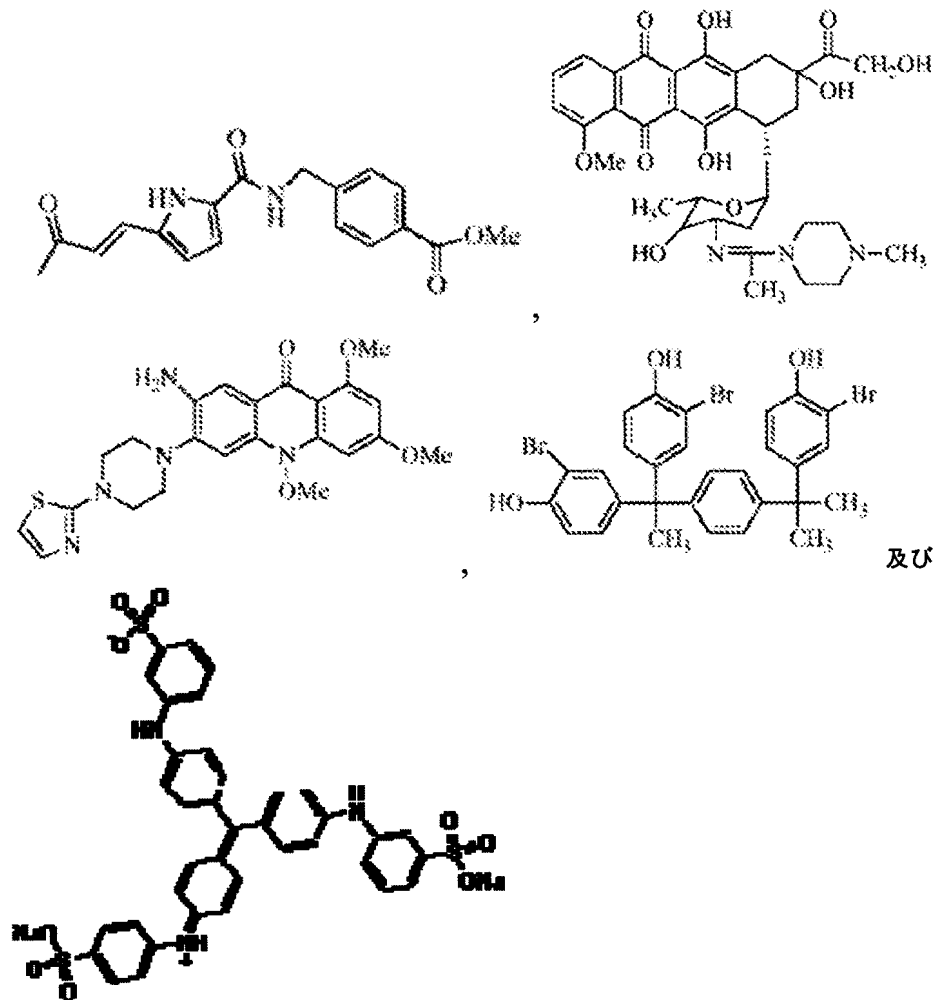
の中から選択されたHCVヘリカーゼ（NS3）阻害剤である、請求項57に記載の方法。

40

【請求項60】

HCV関連要素の前記モジュレータが、

【化7】



の中から選択されたHCVヘリカーゼ（NS3）阻害剤である、請求項57に記載の方法。

【請求項61】

HCV関連要素の前記モジュレータが、HCV非構造タンパク質4B（NS4B）の阻害剤である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項62】

前記NS4B阻害剤が、GSK-8853、クレミゾール、ベンゾイミダゾールRBI（B-RBI）、インダゾールRBI（I-RBI）のいずれかである、請求項61に記載の方法。

【請求項63】

HCV関連要素の前記モジュレータが、HCV非構造タンパク質5A（NS5A）の阻害剤である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項64】

前記NS5A阻害剤が、BMS-790052、A-689、A-831、EDP239、GS5885、GSK805、PPI-461、BMS-824393、ABT-267のいずれかである、請求項63に記載の方法。

【請求項65】

HCV関連要素の前記モジュレータが、HCVポリメラーゼ（NS5B）の阻害剤である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項66】

前記NS5B阻害剤が、ヌクレオシド類似体、ヌクレオチド類似体、非ヌクレオシド阻害剤のいずれかである、請求項65に記載の方法。

【請求項67】

10

20

30

40

50

前記NS5B阻害剤が、パロピシタピン、R1479、R1626、R7128、RG7128、TMC649128、IDX184、PSI-352938、INX-08189、GS6620、フィリブピル、HCV-796、VCH-759、VCH-916、ANA598、VCH-222 (VX-222)、BI-207127、MK-3281、ABT-072、ABT-333、GS9190、BMS791325、GSK2485852A、PSI-7851、PSI-7976、PSI-7977のいずれかである、請求項65に記載の方法。

【請求項68】

HCV関連要素の前記モジュレータがHCVウイルスの鉄チャネル形成タンパク質 (p7) の阻害剤である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項69】

前記p7阻害剤が、BIT225またはHPH116である、請求項68に記載の方法。

10

【請求項70】

HCV関連要素の前記モジュレータが、IRES阻害剤である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項71】

前記IRES阻害剤が、ミフェプリストン、ヘパザイム、ISIS14803、siRNA/shRNAである、請求項70に記載の方法。

【請求項72】

HCV関連要素の前記モジュレータが、HCV侵入阻害剤である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項73】

前記HCV侵入阻害剤が、HuMax HepC、JTK-652、PRO206、SP-30、ITX5061のいずれかである、請求項72に記載の方法。

20

【請求項74】

HCV関連要素の前記モジュレータが、シクロスポリン阻害剤である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項75】

前記シクロフィリン阻害剤が、デビオ025、NIM811、SCY-635、シクロスポリン-Aのいずれかである、請求項74に記載の方法。

【請求項76】

HCV関連要素の前記モジュレータがマイクロRNA-122のモジュレータ (miR-122) である、請求項1～53のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項77】

マイクロRNA-122の前記モジュレータがSPC3649である、請求項76に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、HCV感染を治療するための抗ウイルス薬に関する。

【0002】

関連する出願の相互参照

本出願は、2011年4月6日に出願されたアメリカ合衆国出願第61/472,608号の優先権を主張するものであり、その全体が参考としてこの明細書に組み込まれている。

40

【背景技術】

【0003】

医学において、HIVから普通のカゼまで、ウイルス感染をより安全でより効果的でより信頼性よく治療する薬に対する大きな要求が満たされないままになっている。その中には、ヒトサイトメガロウイルス (現在の薬は、大きな毒性と効果の欠如が問題になっている)、単純ヘルペスウイルス (現在の薬は有効だが、緩和が不十分である)、インフルエンザA型 (現在の薬に対する耐性が顕著である)、C型肝炎ウイルス (疾患の制御がうまくできず多くの患者が亡くなっている) を治療するためのよりよい薬に対する大きな要求が含まれる。その中にはさらに、さまざまなウイルスに効く治療薬に対する大きな要求が含ま

50

れる。そのような治療薬があれば、裏に隠れている病原を必ずしも特定する必要なしに臨床で用いることが容易になる。

【0004】

持続性C型肝炎ウイルス（HCV）感染には肝硬変と肝臓がんが伴うため、人口中で肝臓に特定した死亡率の大きな割合を占める。それに加え、HCVの感染は、輸血に関連する非A型肝炎と非B型肝炎の大半の原因であり、世界中で市中感染する肝炎の大きな割合を占める。HCVに感染した相対的にわずかな人は急性肝炎を経験するが、85%までは持続性感染となって慢性肝炎や肝硬変になることがしばしばあり、最終的には肝細胞がんになる傾向がある。現在のところ、HCVワクチンは利用できず、持続性HCV感染に対する広く有効な治療薬はない。

10

【0005】

1億7千万人を超える人がHCVに感染している。HCV感染に関する現在の標準的な治療法はリバビリンとペグ化インターフェロン- α （IFN- α ）の組み合わせだが、安全性と十分さの問題を抱えている。IFN- α 療法の一時的な副作用として、インフルエンザ様の症状と疲労、白血球と血小板（血液凝固要素）の数の減少、鬱、興奮、睡眠障害、不安のほか、人格変化などがある。リバビリンの最大の副作用は、赤血球細胞の破壊によって生じる溶血性貧血である。リバビリンを投与すると新生児に欠陥が生じるリスクもある。妊娠中または妊娠を考えている患者はリバビリンを摂取することができず、リバビリンを用いた治療中は避妊措置を取らねばならない。

20

【発明の概要】

【0006】

本発明により、HCV感染を治療または改善するための新規な方法と組成物が提供される。本発明は、投与の必要がある対象に、(i) 宿主細胞標的のモジュレーターである化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii) HCV関連要素のモジュレーターである化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルとを含む組み合わせ治療薬を、治療に有効な量投与する操作を含んでいる。このような組み合わせ治療薬により、抗ウイルス活性が改善される、および/またはこの組み合わせ治療薬で用いる薬の全体的な毒性と望ましくない副作用が減る。

30

【0007】

宿主細胞標的を変化させる本発明の有用な薬剤は、脂肪酸合成酵素または細胞の長鎖および超長鎖の脂肪酸代謝酵素とプロセスの阻害剤であり、例えば、ACSL 1、ELOVL 2、ELOVL 3、ELOVL 6、FAS、SLC27A3、ACC、HMG-CoAレダクターゼの阻害剤や、脂肪液滴形成の阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。本発明によれば、細胞酵素とプロセスのこのような阻害剤は、ウイルスの酵素を標的とする薬剤とともに投与される。

【0008】

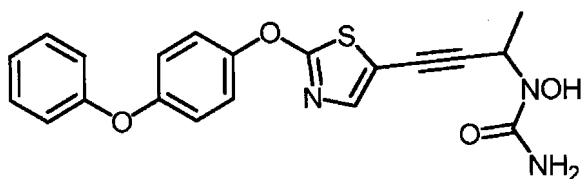
一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレーター（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレーターとともに投与される）は、アセチル-CoAカルボキシラーゼ（ACC）の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、ACC阻害剤は、ACC1とACC2の一方または両方を抑制する。一実施態様では、ACC阻害剤は、この明細書に記載した構造XIの化合物である。一実施態様では、ACC阻害剤は、この明細書に記載した構造XIIの化合物であり、例えばTOFAが挙げられるが、これらに限定されない。一実施態様では、ACC阻害剤は、この明細書に記載した構造XIIIの化合物であり、例えばCP-610431やCP-640186が挙げられるが、これらに限定されない。別の実施態様では、ACC阻害剤は、この明細書に記載した構造XIVの化合物であり、例えばソラフェンAやソラフェンBが挙げられるが、これらに限定されない。別の実施態様では、ACC阻害剤は、この明細書に記載した構造XVの化合物であり、例えばハロキシフォップが挙げられるが、これらに限定されない。別の実施態様では、ACC阻害剤は、この

40

50

明細書に記載した構造XVIIの化合物であり、例えば

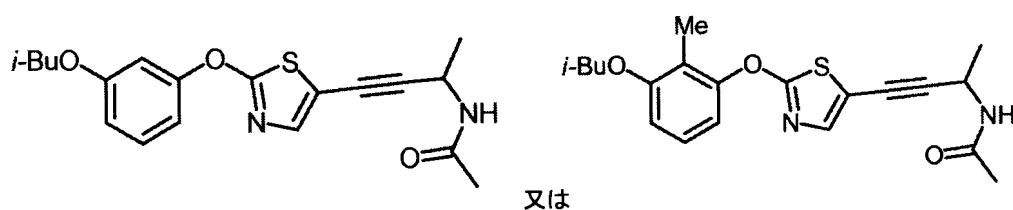
【化1】



10

や、構造XVIIaまたはXVIIbの化合物が挙げられるが、これらに限定されない。一実施態様では、構造XVIIbの化合物は、

【化2】



20

である。

【0009】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータ（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレータとともに投与される）は、アシル-CoA：コレステロールアシルトランスフェラーゼ（ACAT）の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、ACAT阻害剤は、ACAT1とACAT2の一方または両方を抑制する。一実施態様では、ACAT阻害剤は、

30

【0010】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータ（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレータとともに投与される）は、長鎖アシル-CoAシターゼ（ACSL）の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、ACSLの阻害剤は、ACSL1、ACSL3、ACSL4、ACSL5、ACSL6のうちの1種類以上の阻害剤である。一実施態様では、ACSL阻害剤は、この明細書に記載した構造Iの化合物である。一実施態様では、ACSL阻害剤は、トリアクシンA、トリアクシンB、トリアクシンC、トリアクシンDのいずれかである。一実施態様では、ACSL阻害剤は、この明細書に開示した構造II、構造III、構造IVa、構造IVbいずれかのトリアクシン類似体である。

40

【0011】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータ（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレータとともに投与される）は、エロンガーゼ（ELOVL）の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、ELOVLの阻害剤は、ELOVL2、ELOVL3、ELOVL6のうちの1種類以上を抑制する。一実施態様では、ELOVL阻害剤は、この明細書に開示した構造VI、VIa、VIb、VIIa、VIIb、VIII、IXの中から選択した化合物である。

50

【 0 0 1 2 】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータ（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレータとともに投与される）は、脂肪酸シンターゼ（FAS）の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、FASの阻害剤は、この明細書に記載した構造XVIIIの化合物であり、例えばC75が挙げられるが、それに限定されない。一実施態様では、FAS阻害剤は、この明細書に記載した構造XIXの化合物であり、例えばオルリスタットが挙げられるが、それに限定されない。別の実施態様では、FAS阻害剤は、この明細書に記載した構造XXの化合物である。一実施態様では、FAS阻害剤は、トリクロサン、エピガロカテキン-3-ガラート、ルテオリン、ケルセチン、ケンペロール、CBM-301106のいずれかである。

10

【 0 0 1 3 】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータ（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレータとともに投与される）は、HMG-CoAレダクターゼの阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤は、フルバスタチン、ロバスタチン、メバスタチン、プラバスタチン、シンバスタチン、アトルバスタチン、イタバスタチン、ピサスタチンのいずれかである。

【 0 0 1 4 】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータ（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレータとともに投与される）は、脂肪液滴形成の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、脂肪液滴形成の阻害剤は、PF-1052、スピリドン、セスペンドール、テルペンドールC、ルビマイリン、化合物7、化合物8、化合物9、ベルミスポリン、ビューベリオリド、フェノカラシン、イソビスベルチノール、K97-0239のいずれかである。

20

【 0 0 1 5 】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータ（組み合わせ治療薬の一部としてHCV関連要素のモジュレータとともに投与される）は、セリンパルミトイルトランスフェラーゼ（SPT）の阻害剤である化合物かそのプロドラッグ、またはその化合物かそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、SPTの阻害剤は、ミリオシン、スフィンゴフンギンB、スフィンゴフンギンC、スフィンゴフンギンE、スフィンゴフンギンF、リポキサマイシン、ピリジオフンギンA、スルファミステリン、NA255のいずれかである。

30

【 0 0 1 6 】

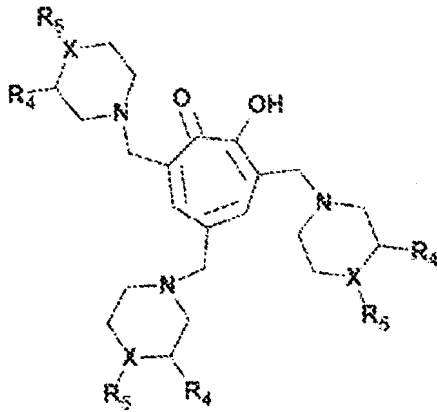
抗ウイルス組み合わせ治療薬は、(i) この明細書に記載した宿主細胞標的の1種類以上のモジュレータと、(ii) HCV関連要素の1種類以上のモジュレータの投与を含んでいる。一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、HCVプロテアーゼ阻害剤である。一実施態様では、HCVプロテアーゼ阻害剤の選択は、ボセプレビル、テラプレビル、ITMN-191、SCH-900518、TMC-435、BI-201335、MK-7009、VX-500、VX-813、BMS650032、VBY376、R7227、VX-985、ABT-333、ACH-1625、ACH-2684、GS-9256、GS-9451、MK-5172、ABT-450の中からなされる。一実施態様では、HCVプロテアーゼ阻害剤は、ボセプレビルまたはテラプレビルである。

40

【 0 0 1 7 】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、構造：

【化3】

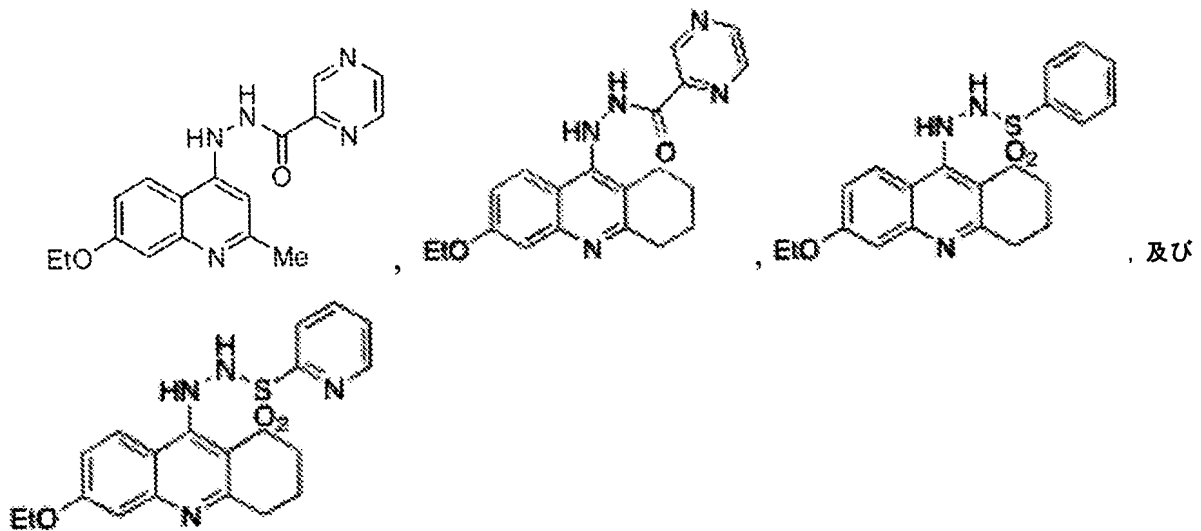


10

の化合物の中から選択したHCVヘリカーゼ（NS3）阻害剤である。ただしこの構造において、XはN、R₄はH、R₅はCH₃であるか；XはCH、R₄はH、R₅はCH₃であるか；XはCH、R₄はCH₃、R₅はHである。別の一実施態様では、HCVヘリカーゼ（NS3）阻害剤は、

【化4】

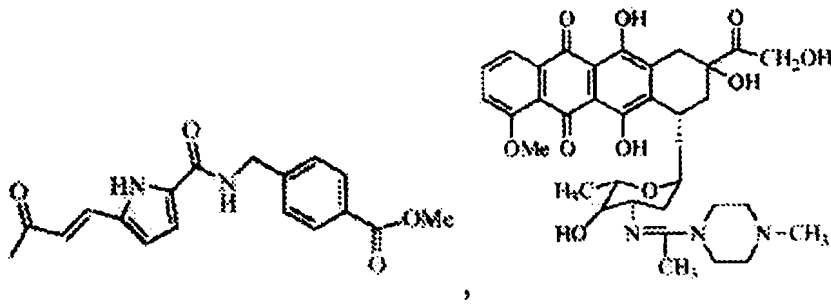
20



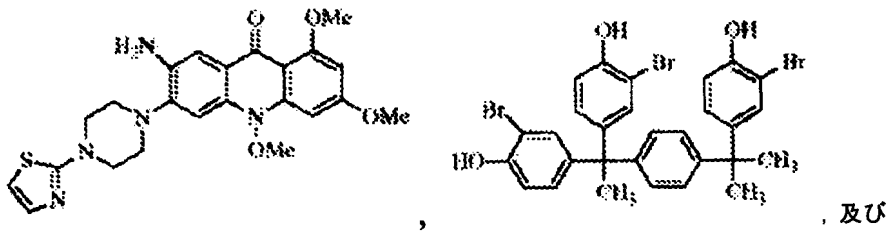
30

の中から選択される。別の一実施態様では、HCVヘリカーゼ（NS3）阻害剤は、

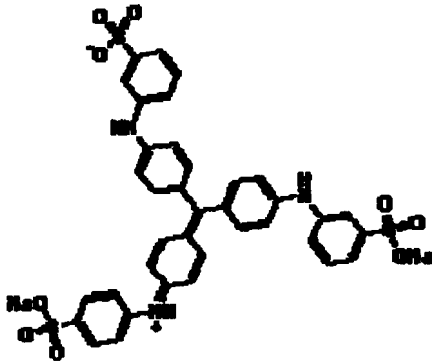
【化5】



10



, 及び



20

の中から選択される。

【0018】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、HCV非構造タンパク質4B (NS4B) の阻害剤である。一実施態様では、NS4B阻害剤は、GSK-8853、クレミゾール、ベンゾイミダゾールRBI (B-RBI)、インダゾールRBI (I-RBI) のいずれかである。

【0019】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、HCV非構造タンパク質5A (NS5A) の阻害剤である。一実施態様では、NS5A阻害剤は、BMS-790052、A-689、A-831、EDP239、GS5885、GSK805、PPI-461、BMS-824393、ABT-267のいずれかである。

【0020】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、HCVポリメラーゼ (NS5B) の阻害剤である。一実施態様では、NS5B阻害剤は、ヌクレオシド類似体、ヌクレオチド類似体、非ヌクレオシド阻害剤のいずれかである。一実施態様では、NS5B阻害剤は、パロピシタピン、R1479、R1626、R7128、RG7128、TMC649128、IDX184、PSI-352938、INX-08189、GS6620、フィリブピル、HCV-796、VCH-759、VCH-916、ANA598、VCH-222 (VX-222)、BI-207127、MK-3281、ABT-072、ABT-333、GS9190、BMS791325、GSK2485852A、PSI-7851、PSI-7976、PSI-7977のいずれかである。

40

【0021】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、HCVウイルスの鉄チャネル形成タンパク質 (p7) の阻害剤である。一実施態様では、p7阻害剤は、BIT225またはHPH116である。

50

【 0 0 2 2 】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、IRES阻害剤である。一実施態様では、IRES阻害剤は、ミフェプリストン、ヘパザイム、ISIS14803、siRNA/shRNAである。

【 0 0 2 3 】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、HCV侵入阻害剤である。一実施態様では、HCV侵入阻害剤は、HuMax HepC、JTK-652、PRO206、SP-30、ITX5061のいずれかである。

【 0 0 2 4 】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、シクロフィリン阻害剤である。一実施態様では、シクロフィリン阻害剤は、デビオ025、NIM811、SCY-635、シクロスポリン-Aのいずれかである。 10

【 0 0 2 5 】

一実施態様では、HCV関連要素のモジュレータは、マイクロRNA-122 (miR-122) のモジュレータである。一実施態様では、マイクロRNA-122のモジュレータはSPC3649である。

【 0 0 2 6 】

一実施態様では、本発明により、宿主細胞標的のモジュレータとHCV関連要素のモジュレータを含む組み合わせ治療薬に加え、免疫調節剤が対象に投与される。一実施態様では、免疫調節剤は、ペガシス、ロフェロン-A、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナのうちの1種類以上である。 20

【 0 0 2 7 】

一実施態様では、本発明により、宿主細胞標的のモジュレータHCV関連要素のモジュレータを含む組み合わせ治療薬に加え、リバビリン、又はタリバビリン、ミゾリピン、メリメポジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートの中から選択したりバビリン類似体のうちの1種類以上が対象に投与される。

【 0 0 2 8 】

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製の治療法または改善法として、宿主細胞標的のモジュレータとHCV RNAiを用いた組み合わせ治療薬を含む方法が提供される。このような抑制性ポリヌクレオチドとして、TT033、TT034、シルナ-AV34、OBP701が挙げられるが、これらに限定されない。 30

【 0 0 2 9 】

別の実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製の治療法または改善法として、上記の宿主細胞標的のモジュレータと、宿主の別の因子に少なくとも部分的に作用する1種類以上の薬剤とを含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。このような実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、HCVを減らすか抑制するのに有効な免疫調節剤を含む組み合わせ治療薬の一部として投与される。免疫調節剤の非限定的な例として、インターフェロン（例えばペガシス、ロフェロン-A、イントロンA、アルブミンINF-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン-1、ベルドナ）；カスパーゼ/パン-カスパーゼ阻害剤（例えばエムリカサン、ニボカサン、IDN-6556、GS9450）；Toll様受容体アゴニスト（例えばアクチロン、ANA773、IMO-2125、SD-101）；サイトカイン、サイトカイン・アゴニスト、サイトカイン・アンタゴニスト（例えばアクトキン-2、インターロイキン29、インフリキシマブ（サイトカインTNF 遮断剤）、IPH1101（サイトカイン・アゴニスト））；他の免疫調節剤（例えばチマルファシン、エルトロンボパグ、IP1101、SCV-07、オグルファニドニナトリウム、CYT107、ME3738、TCM-700C、EMZ702、EGS21などがあるが、これらに限定されない）がある。 40

【 0 0 3 0 】

別のこのような実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、微小管重合の阻害剤（例えばコルチシン、GI262570、ファルグリタザール、プラゾシン、ミトキノンなどがあるが、これらに限定されない）を含む組み合わせ治療薬の一部として投与される。 50

【0031】

別のこのような一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、宿主代謝阻害剤を含む組み合わせ治療薬の一部として投与される。宿主代謝阻害剤の例として、ヘパコンダ（胆汁酸とコレステロール分泌の阻害剤）、ミグルスタット（グルコシルセラミドシンターゼ阻害剤）、セルゴシビル（グルコシダーゼ阻害剤）、メチレンブルー（モノアミノオキシダーゼ阻害剤）、ピオグリタゾンとメトフォルミン（インスリン調節剤）、ニタゾキサニド（おそらくPFOR阻害剤）、NA255とNA808（セリンパルミトイルトランスフェラーゼ阻害剤）、NOV205（グルタチオン-S-トランスフェラーゼ活性剤）、ADIPEG20（アルギニンデイミナーゼ）がある。

【0032】

別のこのような一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、ラッカーゼ（漢方薬）、シリビニンとシリマリン（抗酸化剤、肝臓保護剤）、PYN17とJKB-122（抗炎症剤）、CTS-1027（マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤）、レノクタ（タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤）、バビツキシマブとBMS936558（プログラムされた細胞死の阻害剤）、ヘプタサイド-I（ナノ-殺ウイルス剤）、CF102（アデノシンA3受容体）、GNS278（オートファジーを攻撃することによってウイルス-宿主タンパク質相互作用を抑制する）、RPIMN（ニコチン受容体アンタゴニスト）、PYN18（おそらくウイルス成熟阻害剤）、ウルサとヘパコンダ（胆汁酸、おそらくファルネソイドX受容体）、タモキシフェン（抗エストロゲン）、ソラフェニブ（キナーゼ阻害剤）、KPE02001003（機構未知）の中から選択した薬剤を含む組み合わせ治療薬の一部として投与される。

【発明を実施するための形態】

【0033】

詳細な説明

【0034】

本発明は、宿主細胞標的のモジュレータを、ウイルスに直接作用する薬剤と組み合わせ、ウイルス感染を治療または予防することに関する。本発明は、宿主細胞標的のモジュレータを、宿主の因子に少なくとも部分的に作用する他の薬剤と組み合わせ、ウイルス感染を治療または予防することにも関する。

【0035】

本発明により、ウイルス感染を治療または改善するための方法および組成物が提供される。本発明は、投与を必要とする対象に対し、(i) 宿主細胞標的のモジュレータである化合物がそのプロドラッグ、またはその化合物がそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルと、(ii) HCV関連要素のモジュレータである化合物がそのプロドラッグ、またはその化合物がそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルとを含む組み合わせ治療薬を、治療に有効な量投与する操作を含んでいる。このような組み合わせ治療薬により、抗ウイルス活性が改善される、および/または薬の全体的な毒性と望ましくない副作用が減少する。一実施態様では、ウイルス感染はHCVによる。

【0036】

本発明の組み合わせ治療薬は、ウイルスの感染または複製を相乗的に抑制する効果を生み出すという利点を持ち、例えば望む治療効果を実現するのに各化合物をより少ない用量で使用することが可能になる。いくつかの実施態様では、1つの化合物の用量は、ウイルス感染の予防および/または治療に独立に使用するときが必要とされる場合の例えば実質的に1/1.5、1/2、1/3、1/5、1/7、1/10である。いくつかの実施態様では、両方の薬剤の用量は、1/1.5、1/2、1/3、1/5、1/7、1/10、またはそれよりも少なくなる。本発明の組み合わせ治療薬は、抗ウイルス活性を改善することに加え、望ましい治療効果を提供しつつ、組み合わせる化合物の1種類以上をより少ない用量で投与することにより、薬の全体的な毒性と望ましくない副作用を減らすことができる。

【0037】

本発明の組み合わせ治療薬により、例えば直接作用する抗ウイルス剤だけを用いてウイルス感染を治療するとき起こる可能性のある薬剤耐性変異体が発達する可能性を減らせ

10

20

30

40

50

る可能性もある。

【0038】

この明細書では、対象に1種類以上の治療薬を投与する文脈における“組み合わせ”という用語は、2種類以上の薬剤（例えば2種類以上の予防薬および/または治療薬）を使用することを意味する。“組み合わせ”と“共投与”という用語の使用は、ウイルスに感染している対象に治療薬を投与する順番を制限しない。第1の治療薬（例えば第1の予防薬および/または治療薬）は、ウイルスに感染している対象に第2の治療薬を投与する前（例えば5分前、15分前、30分前、45分前、1時間前、2時間前、4時間前、6時間前、12時間前、24時間前、48時間前、72時間前、96時間前、1週間前、2週間前、3週間前、4週間前、5週間前、6週間前、8週間前、12週間前）に、または第2の治療薬を投与すると同時に、

10

【0039】

本発明の組み合わせ治療薬により、個々の化合物を断続的に投与することが可能になる。例えば2種類の治療薬を同時に投与することができる。あるいは2種類の治療薬を順番に投与することができる。それに加え、2種類の治療薬を循環して投与することができる。したがって組み合わせ治療薬の2種類以上の化合物をある期間にわたって同時に投与し、その後、一方または他方を単独で投与することができる。

20

【0040】

この明細書では、対象に治療薬を投与する文脈における“有効量”という用語は、以下に示す効果、すなわち(i) ウイルス感染またはそれに付随する症状の重さを軽減または改善すること；(ii) ウイルス感染またはそれに付随する症状の期間を短縮すること；(iii) ウイルス感染またはそれに付随する症状の進行を阻止すること；(iv) ウイルス感染またはそれに付随する症状を後退させること；(v) ウイルス感染またはそれに付随する症状の進展または開始を阻止すること；(vi) ウイルス感染またはそれに付随する症状の再発を阻止すること；(vii) ウイルスが1つの細胞から別の細胞へ、または1つの組織から別の組織へと広がるのを減らすか阻止すること；(ix) ウイルスがある対象から別の対象へと広がるのを減らすか阻止すること；(x) ウイルス感染に付随する臓器不全を減らすこと；(xi) 対象の入院を減らすこと；(xii) 入院期間を短縮すること；(xiii) ウイルスに感染した対象の生存期間を延ばすこと；(xiv) ウイルス感染をなくすこと；(xv) 別の治療薬の予防効果または治療効果を増大または向上させること、のうちの1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上を実現するのに十分な治療薬の量を意味する。

30

【0041】

いくつかの実施態様では、この明細書に記載した化合物は、いくつかの互変形態で存在することができる。したがってこの明細書に示す化学構造には、提示した化合物の可能なあらゆる互変形態が含まれる。本発明の化合物は、さまざまな水和形態で存在することができる。

【0042】

非常によく現われる化学基の定義を以下に示す。この明細書に開示したさまざまなクラス化合物のいくつかの変数は、他の化学基にも当てはまる。この明細書に示してあるが具体的に定義していない化学基は、本発明の分野の化学者が知っていると考えられる通常の意味を持つ。

40

【0043】

“C_{1-x}アルキル”（または“C₁~C_xアルキル”）基は、飽和した直鎖炭化水素または分岐非環式炭化水素で、1~x個の炭素原子を有するものである。代表的な-(C₁~₈アルキル)として、-メチル、-エチル、-n-プロピル、-n-ブチル、-n-ペンチル、-n-ヘキシル、-n-ヘプチル、-n-オクチルがあり；飽和した分岐アルキルとして、-イソプロピル、-s-ブチル、-イソブチル、-t-ブチル、-イソペンチル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、4

50

-メチルペンチル、2,3-ジメチルブチルなどがある。-(C_{1-x}アルキル)基は、置換されていても置換されていなくてもよい。

【0044】

“ハロゲン”と“ハロ”という用語は、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素を意味する。

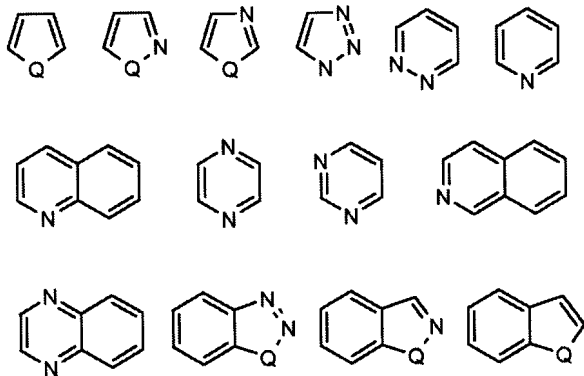
【0045】

“アリール”基は、6~14個の炭素原子を持つ芳香族炭素環基で、単環（例えばフェニル）または複数の縮合環（例えばナフチルまたはアントリル）を有するものである。具体的なアリールとして、フェニル、ピフェニル、ナフチルなどがある。アリール基は、置換されていても置換されていなくてもよい。

【0046】

“ヘテロアリール”基は、ヘテロ芳香族環系中の環の原子として1~4個のヘテロ原子を持ち、残りの原子は炭素原子であるアリール環系である。適切なヘテロ原子として、酸素、イオウ、窒素がある。いくつかの実施態様では、複素環系は、単環または二環である。非限定的な例として、以下の基：

【化6】



の中から選択された芳香族基がある。

【0047】

ただしQは、CH₂、CH=CH、O、S、NHのいずれかである。ヘテロアリール基のさらに別の代表例として、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、インドリル、ベンゾピラゾリル、クマリニル、フラニル、イソチアゾリル、イミダゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、チオフェニル、ピリミジニル、イソキノリニル、キノリニル、ピリジニル、ピロリル、ピラゾリル、1H-インドリル、1H-インダゾリル、ベンゾ[d]チアゾリル、ピラジニルなどがあるが、これらに限定されない。ヘテロアリールは、環の任意の原子（すなわちヘテロアリール環の任意の炭素原子またはヘテロ原子）に結合することができる。ヘテロアリール基は、置換されていても置換されていなくてもよい。一実施態様では、ヘテロアリール基は、C₃~₁₀ヘテロアリールである。

【0048】

“シクロアルキル”基は、飽和または不飽和の非芳香族炭素環である。代表的なシクロアルキル基として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンタジエニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、1,3-シクロヘキサジエニル、1,4-シクロヘキサジエニル、シクロヘブチル、1,3-シクロヘプタジエニル、1,3,5-シクロヘプタトリエニル、シクロオクチル、シクロオクタジエニルなどがあるが、これらに限定されない。シクロアルキル基は、置換されていても置換されていなくてもよい。一実施態様では、シクロアルキル基は、C₃~₈シクロアルキル基である。

【0049】

“ヘテロシクロアルキル”基は、環の炭素原子のうちの1~4個が、O、S、Nからなるグ

ループからのヘテロ原子で独立に置換された非芳香族シクロアルキルである。ヘテロシクロアルキル基の代表例として、モルホリニル、ピロリル、ピロリジニル、チエニル、フラニル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、ピペリジニル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、(1,4)-ジオキサソラン、(1,3)-ジオキサソラン、4,5-ジヒドロ-1H-イミダゾリル、テトラゾリルなどがあるが、これらに限定されない。ヘテロシクロアルキルは、環の任意の原子（すなわちヘテロアリアル環の任意の炭素原子またはヘテロ原子）に結合することができる。ヘテロシクロアルキル基は、置換されていても置換されていなくてもよい。一実施態様では、ヘテロシクロアルキルは、3~7員のヘテロシクロアルキルである。

【0050】

一実施態様では、この明細書に記載した基が“置換されている”場合、その基は、適切な任意の1つまたは複数の置換基で置換されていてよい。置換基の例として、この明細書に開示した化合物の例に見られるもののほか、ハロゲン（クロロ、ヨード、プロモ、フルオロ）； $C_1 \sim 6$ アルキル； $C_2 \sim 6$ アルケニル； $C_2 \sim 6$ アルキニル；ヒドロキシル； $C_1 \sim 6$ アルコキシル；アミノ；ニトロ；チオール；チオエーテル；イミン；シアノ；アミド；ホスホナト；ホスフィン；カルボキシル；チオカルボニル；スルホニル；スルホンアミド；ケトン；アルデヒド；エステル；酸素(=O)；ハロアルキル（例えばトリフルオロメチル）；炭素環であるシクロアルキル（単環、縮合した多環、縮合していない多環のいずれでもよく、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルがある）またはヘテロシクロアルキル（単環、縮合多環、非縮合多環のいずれでもよく、例えばピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニル、チアジニルがある）；炭素環またはヘテロ環で、単環、縮合多環、非縮合多環いずれかのアリアル（例えばフェニル、ナフチル、ピロリル、インドリル、フラニル、チオフェニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、ピラゾリル、ピリジニル、キノリニル、イソキノリニル、アクリジニル、ピラジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾチオフェニル、ベンゾフラニル）；アミノ（第一級、第二級、第三級）；*o*-低級アルキル；*o*-アリアル；アリアル；アリアル-低級アルキル； $C_2O_2CH_3$ ； $CONH_2$ ； OCH_2CONH_2 ； NH_2 ； SO_2NH_2 ； $OCHF_2$ ； CF_3 ； OCF_3 がある。

【0051】

この明細書では、“医薬として許容可能な塩”という用語は、医薬として許容可能な非毒性の酸または塩基（例えば無機酸と無機塩基、有機酸と有機塩基）から調製した塩を意味する。化合物の医薬として許容可能な適切な塩として、アルミニウム、カルシウム、リチウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウム、亜鉛から製造した金属塩、またはリシン、 N,N' -ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグルミン（*N*-メチルグルカミン）、プロカインから製造した有機塩が挙げられるが、これらに限定されない。適切な非毒性の酸として、無機酸または有機酸である例えば酢酸、アルギン酸、アントラニル酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、ショウノウスルホン酸、クエン酸、エテンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、フロ酸、ガラクトン酸、グルコン酸、グルクロン酸、グルタミン酸、グリコール酸、臭化水素酸、塩酸、イセチオン酸、乳酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、粘液酸、硝酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、リン酸、プロピオン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、スルファニル酸、硫酸、酒石酸、*p*-トルエンスルホン酸が挙げられるが、これらに限定されない。具体的な非毒性の酸として、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸、メタンスルホン酸がある。例えば具体的な塩の例として、ヒドロクロリドとメシレート塩がある。他のものはこの分野でよく知られており、例えば『レミントンの薬理科学』、第18版（Mack Publishing社、イーストン、ペンシルヴェニア州、1990年）または『レミントン：薬学の科学と実践』、第19版（Mack Publishing社、イーストン、ペンシルヴェニア州、1995年）を参照のこと。

【0052】

この明細書では、特に断わらない限り、“水和物”という用語は、化合物またはその塩

10

20

30

40

50

で、非共有結合分子間力によって結合した化学量論的量または非化学量論的量の水をさらに含むものを意味する。

【0053】

この明細書では、特に断わらない限り、“溶媒和物”という用語は、化合物またはその塩で、非共有結合分子間力によって結合した化学量論的量または非化学量論的量の溶媒をさらに含むものを意味する。

【0054】

この明細書では、特に断わらない限り、“プロドラッグ”という用語は、生物条件（試験管内または生体内）下で加水分解、酸化、またはそれ以外の反応をして化合物を提供することのできる化合物誘導体を意味する。プロドラッグの例として、ある化合物の誘導体と代謝産物で、生体加水分解可能な部分（例えば生体加水分解可能なアミド、生体加水分解可能なエステル、生体加水分解可能なカルバメート、生体加水分解可能なカーボネート、生体加水分解可能なウレイド、生体加水分解可能なリン酸塩類似体）を含むものがある。いくつかの実施態様では、カルボキシル基を有する化合物のプロドラッグは、カルボン酸の低級アルキルエステルである。カルボン酸エステルは、分子上に存在する任意のカルボン酸部分をエステル化することによって容易に形成される。プロドラッグは、一般に、周知の方法を利用して調製される。方法として、例えば『パーガーの医薬化学と薬発見』、第6版（Donald J. Abraham編、2001年、Wiley社）や『プロドラッグの設計と応用』（H. Bundgaard編、1985年、Harwood Academic Publishers Gmfh）に記載されている方法がある。

10

20

【0055】

この明細書では、特に断わらない限り、“立体異性体”または“ステレオマーとして純粋”という用語は、有機分子または無機分子の文脈では、ある化合物の1つの立体異性体で、その化合物の別の立体異性体とは実質的に無関係のものを意味する。例えばキラル中心を1つ持つステレオマーとして純粋な化合物は、その化合物の逆の鏡像異性体とは実質的に無関係であろう。キラル中心を2つ持つステレオマーとして純粋な化合物は、その化合物の他のジアステレオマーとは実質的に無関係であろう。ステレオマーとして純粋な典型的な化合物は、その化合物の1つの立体異性体を約80重量%超と、その化合物の他の立体異性体を約20重量%未満含むか、その化合物の1つの立体異性体を約90重量%超と、その化合物の他の立体異性体を約10重量%未満含むか、その化合物の1つの立体異性体を約95重量%超と、その化合物の他の立体異性体を約5重量%未満含むか、その化合物の1つの立体異性体を約97重量%超と、その化合物の他の立体異性体を約3重量%未満含む。化合物はキラル中心を持つことができ、ラセミ化合物として、または個別の鏡像異性体またはジアステレオマーとして、またはこれらの混合物として出現することができる。このようなあらゆる異性体形態は、その混合物も含め、この明細書に開示した実施態様に含まれる。

30

【0056】

さまざまな化合物が、1つ以上のキラル中心を含んでいて、鏡像異性体のラセミ混合物として、またはジアステレオマーの混合物として、または鏡像的または光学的に純粋な化合物として存在することができる。このような化合物のステレオマーとして純粋な形態の使用と、そのような形態の混合物の使用が、この明細書に開示した実施態様によってカバーされる。例えばある特定の化合物の複数の鏡像異性体を同じ量で、または異なる量で含む混合物を、この明細書に開示した方法と組成物で使用することができる。これら異性体は、標準的な技術（例えばキラルカラムまたはキラル分割剤）を利用して非対称に合成すること、または分割することができる。例えばJacques, J.他、『鏡像異性体、ラセミ化合物、分割』（Wiley-Interscience社、ニューヨーク、1981年）；Wilens, S.H.他、Tetrahedron, 第33巻：2725ページ（1977年）；Eliehl, E.L., 『炭素化合物の立体化学』（McGraw-Hill社、ニューヨーク、1962年）；Wilens, S.H. 『分割剤と光学的分割の表』、268ページ（E.L. Eliehl編、Univ. of Notre Dame Press、ノートルダム、インディアナ州、1972年）を参照のこと。

40

50

【0057】

有機分子と無機分子の文脈における化合物として、E異性体とZ異性体、またはその混合物、シスとトランスの異性体、またはその混合物が可能である。いくつかの実施態様では、化合物は、E異性体またはZ異性体として分離される。別の実施態様では、化合物はE異性体とZ異性体の混合物である。

【0058】

この明細書では、“小分子”は、分子量が2000原子質量単位（ダルトン）までの物質を意味する。核酸をベースとした阻害剤の例として、siRNAとshRNAがある。タンパク質をベースとした阻害剤の例として、抗体がある。別の小分子阻害剤は、化合物ライブラリをスクリーニングすることによって、および/またはこれら酵素の構造中の特定のポケットに結合する分子を設計することによって見いだすことができる。これら分子の特性は、誘導体化（その中には合成の繰り返しと実験的試験が含まれる）を通じて最適化することができる。

10

【0059】

本発明により、抗ウイルス活性を持つことが望ましい細胞培養物に関する生成物において、開示されている組み合わせ治療薬を利用することも提供される。一実施態様では、この組み合わせ治療薬を細胞培地に添加する。細胞培地で用いる化合物として、対象の治療には毒性がありすぎて細胞培地以外では使えない可能性のある化合物がある。この明細書では、“有効量”という用語は、細胞培地に関する生成物で用いる化合物の文脈では、細胞培地中のウイルスの力価を低下させるか細胞培地中のウイルスの増殖を阻止するのに十分な化合物の量を意味する。

20

【0060】

1. 宿主細胞標的酵素のモジュレータ

【0061】

本発明により、ウイルスの生成を減らすための細胞標的酵素が提供される。ウイルスの複製には、宿主細胞の代謝ネットワークに由来するエネルギーと巨大分子前駆体が必要とされる。発明者は、代謝フラックスのプロファイル解明への統合的なアプローチを利用し、いくつかの代謝産物の濃度とフラックスがウイルス感染に反応して変化することを発見した。プロファイル解明法の詳細は、PCT/US2008/006959に記載されている（その全体が参考として組み込まれている）。このアプローチを利用し、さまざまな代謝経路中のいくつかの酵素、特にカギとなる“スイッチ”として機能する酵素が、本発明の標的として、すなわち代謝フラックスをウイルスの複製にとって不利になるように仕向けて正常な代謝フラックスを回復させる標的として有用であり、抗ウイルス治療薬の標的として機能することを発見した。代謝経路の初期ステップに関与する酵素が、好ましい酵素標的である。それに加え、代謝経路中の“不可逆的な”反応または関連ステップを触媒する酵素を、抗ウイルス治療薬のための酵素標的として有利に使用できる。

30

【0062】

したがって本発明により、ウイルス分子に直接作用する抗ウイルス剤か、ウイルス分子と相互作用する宿主細胞分子に直接作用する抗ウイルス剤と組み合わせられる、抗ウイルス剤として有用な宿主標的酵素のモジュレータが提供される。本発明により、宿主の因子を変化させることによって少なくとも部分的に作用する他の薬剤と組み合わせられる、抗ウイルス剤として有用な宿主標的酵素のモジュレータも提供される。

40

【0063】

細胞代謝経路にあって、ウイルス感染に反応して代謝産物の濃度および/またはフラックスが変化する任意の酵素が、抗ウイルスへの介入のための宿主細胞標的として考えられる。特別な実施態様では、宿主標的酵素は、脂肪酸の生合成と代謝、または細胞の長鎖および超長鎖の脂肪酸の代謝とプロセスに関係しており、例えばACSL1、ELOVL2、ELOVL3、ELOVL6、FAS、SLC27A3、ACC、HMG-CoAレダクターゼや、脂肪液滴形成に関する酵素などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0064】

50

アセチル-CoAフラックス（特に細胞質アセチル-CoAを通じたフラックス）に関して観察された増大と、それに付随する新たな脂肪酸生合成の増大は、ウイルス、特にエンベロープを有するウイルスの多くの機能に役立つ。例えば新規の脂肪酸合成によりリン脂質合成のための前駆体が提供され、リン脂質は、さまざまな機能の中で特にウイルスのエンベロープの形成に寄与する。重要なことに、新たに合成される脂肪酸とリン脂質は、エンベロープの化学的組成と物理的特性の制御（例えばリン脂質脂肪アシル鎖の長さおよび/または不飽和化と、付随するエンベロープの流動性）などの目的でウイルスにとって必要である可能性がある。すでに存在している細胞リン脂質は、ウイルスの増殖と複製をサポートするには絶対量、または化学組成、または物理的特性が不十分である可能性がある。

【0065】

そのためリン脂質生合成の任意のステップの阻害剤は、抗ウイルス薬となる可能性がある。その中には、初期の脂肪酸生合成を、ウイルスのリン脂質の合成に適した脂肪アシル-CoA化合物に結び付けるステップが含まれる。これらステップには、脂肪酸の伸長と不飽和化が含まれるが、それだけに限定されない。脂肪酸の伸長には、脂肪酸シターゼ（FAS）の最終産物、パルミトイル-CoA（C16脂肪酸）が必要とされ、さらに2つの炭素ユニットが伸長（して例えばC18またはそれ以上の長さの脂肪酸を形成）する。関与する酵素はエロンガーゼである。C18またはそれ以上の長さの脂肪酸は、ウイルスのエンベロープの化学組成と物理的特性の制御のほか、ウイルスの他の機能にも必要とされるため、エロンガーゼの阻害剤はウイルスの増殖および/または複製の阻害剤として機能する可能性がある。したがって本発明には、新規な脂肪酸生合成酵素を抑制することによってウイルス感染を治療する化合物に加え、エロンガーゼおよび/または脂肪酸伸長の関連酵素を阻害することによってウイルス感染を治療する化合物も含まれる。

【0066】

脂肪酸生合成酵素の阻害剤は一般にウイルス感染の治療に役立つが、アセチル-CoAカルボキシラーゼ（ACC）は、ウイルス感染の治療のための有用な標的となる特性を有する。特に、ACCは、脂肪酸生合成を通じてフラックスを制御するというユニークな位置にある。上流の酵素（例えばピルビン酸デヒドロゲナーゼ、クエン酸シターゼ、ATP-クエン酸リアーゼ、アセチル-CoAシターゼ）は、抗ウイルスの潜在的な標的だが、多数の反応経路に関与する生成物を生成させるのに対し、ACCは、脂肪酸経路に専用の基質であるマロニル-CoAを生成させる。アセチル-CoAシターゼとATP-クエン酸リアーゼは両方とも細胞質アセチル-CoAを生成させる可能性がある。したがって状況によっては、一方が他方に一部取って代わることができる。逆にマロニル-CoAには、アセチル-CoAのカルボキシル化（ACC反応）以外に代わりとなる十分な反応経路がない。この点に関し、ACCを標的とする、上流の反応を標的とするよりも脂肪酸生合成がより完全かつより特異的に制御される。

【0067】

ACCを標的とする代わりにFASを標的として脂肪酸の新たな生合成を全体として制御することも可能である。ACCを標的とすることとFASを標的とすることのカギとなる違いは、ACCの基質（アセチル-CoA）は多数の経路で使用されることである。したがってACCを標的とすると、他の経路でアセチル-CoAが消費される可能性があるため、必ずしもアセチル-CoAの顕著な増加にはつながらない。逆に、FASの基質（マロニル-CoA）は多くがFASによって使用される。したがってFASを標的とすると、マロニル-CoAが顕著に増加する傾向がある。いくつかのケースではこのように増加するとウイルス感染の治療に役立つが、別のケースでは、副作用が起こる可能性がある。そのような副作用は、（1）マロニル-CoAには重要なシグナル伝達と代謝を変化させる機能があることと（2）哺乳動物で生体内の副作用が最少のFAS阻害剤が現在は存在していないことが理由で特に懸念される。FASを抑制する結果として細胞内マロニル-CoAが増加すると、細胞周期が停止し、細胞DNAの複製とアポトーシスの開始が阻止される可能性がある（Pizer他、Cancer Res.、第56巻：2745～2747ページ、1996年；Pizer他、Cancer Res.、第58巻：4611～4615ページ、1998年；Pizer他、Cancer Res.、第60巻：213～218ページ、2000年）。この毒性応答により、FAS阻害剤によるウイルス複製の抑制を説明できる可能性があることが示唆されている（Rassmann他、

10

20

30

40

50

Antiviral Res., 第76巻 : 150 ~ 158ページ、2007年)。

【0068】

コレステロールは、脂肪アシル鎖の長さおよび不飽和化と同様、膜ノエンベロープの物理的特性(流動性、凝固点など)の制御においてカギとなる役割を果たす。コレステロールの割合も、リン脂質の組成に関する詳細と同様、膜タンパク質の特性および/または脂質シグナル伝達の機能に影響を及ぼす可能性がある。これらイベントのいくつかまたはすべてはウイルス感染においてカギとなる役割を果たしているため、コレステロール代謝の阻害剤または他のモジュレータは抗ウイルス剤として役立つ可能性がある。例えば、酵素アセチル-CoAアセチルトランスフェラーゼ、HMG-CoAシターゼ、HMG-CoAレダクターゼ、メバロン酸キナーゼ、ホスホメバロン酸キナーゼ、イソペンチルニリン酸イソメラーゼ、ゲラニル-ニリン酸シターゼ、ファルネシル-ニリン酸シターゼ、ファルネシル-ニリン酸ファルネシルトランスフェラーゼ、スクワレンモノオキシゲナーゼ、ラノステロールシターゼや、ステロール・ファミリーの関連するデメチラーゼ、オキシダーゼ、レダクターゼ、イソメラーゼ、デサチュラーゼが、抗ウイルス剤として役立つ可能性がある。

10

【0069】

そこで宿主細胞標的酵素には、抗ウイルス標的として、長鎖と超長鎖のアシル-CoAシターゼエロンガーゼ(例えばACSL1、ELOVL2、ELOVL3、ELOVL6、SLC27A3が挙げられるが、これらに限定されない)がある。長鎖のアシル-CoAシターゼ(ASCL)(E.C.6.2.1.3)は長鎖脂肪酸のエステル化を触媒し、哺乳動物の細胞中での脂肪酸の分配を媒介する。ASCLのアイソフォーム(ACSL1、ACSL3、ACSL4、ACSL5、ACSL6)は、CoAとATPと長鎖(C₁₂~C₂₀)脂肪酸から、生物活性のある脂肪アシルCoAを生成させる。多くの場合、これら酵素は組織特異的および/または基質特異的である。例えばASCLはさまざまな組織に分布し、細胞より小さな領域に局在し、脂肪酸を好み、転写を調節する。同様に、7種類の脂肪酸縮合酵素(エロンガーゼ)がマウス、ラット、ヒトで同定されており、異なる基質特異性と発現パターンを有する。ELOVL-1、ELOVL-3、ELOVL-6は、飽和脂肪酸と一不飽和脂肪酸を伸長させるのに対し、ELOVL-2、ELOVL-4、ELOVL-5は、多不飽和脂肪酸を伸長させる。ELOVL-5は、いくつかの一不飽和脂肪酸(例えばパルミトレイン酸)も伸長させ、特に-リノレノイル-CoA(18:3,n-6 COA)を伸長させる。ELOVL-2は特に22-炭素PUFAを伸長させる。また、エロンガーゼ(ELOVL)は、哺乳動物のさまざまな組織で発現が異なる。例えば5種類のエロンガーゼ(ELOVL-1、-2、-3、-5、-6)がラットとマウスの肝臓で発現する。逆に、心臓は、ELOVL-1、-5、-6を発現するが、ELOVL-2は発現しない。

20

30

【0070】

他の宿主細胞標的酵素として、長鎖と超長鎖のアシル-CoAシターゼがある。この酵素は、トリアクシンCとその関連物質、誘導體、類似体を用いて標的とすることができる。

【0071】

別の宿主細胞標的酵素は、ロイコトリエンC4シターゼ(LTC4S)、-グルタミルトランスフェラーゼ3(GGT3)、ミクロソームのグルタチオン-S-トランスフェラーゼ3(MGST3)である。これらの酵素は、それぞれ、LTC4Sを中心的な酵素としてシステニルロイコトリエンの合成に寄与する。システニルロイコトリエンの合成の別の阻害剤は、siRNAに加え、コーヒー酸である。システニルロイコトリエン前駆体であるロイコトリエンA4の合成は、ジロイトンを用いて抑制することができる。本発明によれば、抗ウイルス剤として、ロイコトリエンとシステニルロイコトリエンのシグナル伝達の阻害剤(例えばザフィルルカスト、モンテルカストなどがあるが、これらに限定されない)もある。

40

【0072】

HCMVの複製に必要とされる宿主細胞標的酵素は、ADP-リボシルトランスフェラーゼ1と3(ART1とART3)である。どちらかの酵素を抑制すると、HCMVの複製が顕著に減少し、ART1では約1/40に、ART3では約1/10になった。特定のどれかの機構によるわけではないが、ADP-リボシルの転移それ自体は脂質代謝の反応ではないものの、ADPリボシル化は、タンパク質CtBP1/BARSを含む標的を介して脂肪の貯蔵の調節においてカギとなる役割を果たしている。このタンパク質のモノ-ADPリボシル化により、脂肪酸の劇的な流出が原因で脂肪液

50

滴が失われる。オイルレッドOで染色した脂肪液滴を顕微鏡でモニターしていると、HCMV感染によって最初は脂肪液滴が感染した宿主に蓄積し、その後（感染後72時間までに）脂肪液滴が劇的に欠乏することが明らかになる。したがってADPリボシル化は、HCMV感染中にこれら脂肪貯蔵イベントの調節においてカギとなる役割を果たしているように見える。siRNAのデータは、このような調節がHCMVの複製にとって不可欠であることを示している。これら酵素のいずれかをノックアウトすると感染性HCMVの生成が抑制されたという観察結果は、HCMVが、ウイルスの子孫を効率的に生み出すのにADPリボシルの転移活性が必要であることを示唆している。ADP-リボシルトランスフェラーゼを抑制する手段は、siRNAに加え、化合物メタ-ヨードベンジルグアニジン（MIBG）である。線維芽細胞において100 μ lのMIBGがHCMVの複製を1/13に抑制したが、宿主細胞にとって毒になる証拠はなかった。

10

【0073】

HCMV感染の間に時間的に順序だった脂肪液滴の蓄積と欠乏が観察されるというのは、HCMVが、脂肪液滴の産生と消費に關与する宿主細胞の機構を乗っ取ることを示している。したがって脂肪液滴の産生と消費に關与する宿主細胞の器官が抗ウイルス標的となる。脂肪液滴形成を抑制する別の手段として、關連する細胞機構を阻止するsiRNAに加え、スピリドン、PF-1052（フォマ属から単離された真菌天然産物）、ベルミスポリン、ビューベリオリド、フェノカラシン、イソビスベルチノール、K97-0239、ルビマイリンといった化合物がある。PF-1052（10 μ M）は、HCMVの後期タンパク質合成を大きく抑制し（99%超）、同様に、HCMVの複製を大きく抑制する。それに加え、トリアクシンCは脂質液滴を欠乏させる。100nMのトリアクシンCは、HCMV感染細胞において脂質液滴を90%超欠乏させ、250nMではオイルレッドO染色によって脂質液滴を検出できなかった。通常は、HCMVによって誘導される脂質液滴の蓄積と欠乏のパターンも100 μ MのMIBGによって阻止された。

20

【0074】

HCMV感染細胞における脂質液滴の喪失の後、隣り合った未感染の細胞において脂質液滴の形成が誘導される。これは、HCMV感染によって周囲の細胞における脂質の取り込みまたは合成が増大することを示す。HCMVの広がりには、主に生体内で細胞から細胞へと起こり、感染細胞に隣接した未感染の細胞における脂質の蓄積は、二次的感染イベントを容易にすると考えられることに注意されたい。トリアクシンCによってHCMV感染細胞と周囲の未感染細胞の両方で脂肪液滴の欠乏が起こる。100nMのトリアクシンCは、HCMV感染細胞において脂質液滴を90%超欠乏させ、250nMではオイルレッドO染色によって脂質液滴を検出できなかった。

30

【0075】

脂肪液滴の主要な構成成分はCEとTGである（マクロファージ中の推定される割合はそれぞれ約58w/wと約27w/wである）。上に示した化合物のうちでPF-1052は、CEとTG両方の合成を用量に依存して抑制するのに対し、ルビマイリン（モルギンとも呼ばれる）は、CEの合成を選択的に抑制する。ルビマイリンは、ルビア・コルディフォリアという植物から単離されたナフトヒドロキノンである。CE合成と脂質液滴形成に対するルビマイリンの抑制効果は、アシル-CoA：コレステロールアシル-トランスフェラーゼ（ACAT）に対する活性と結びついている。ルビマイリンは、酵素ACAT1とACAT2の二重阻害剤であり（Matsuda他、2009年、*Biol. Pharm. Bull.*、第32巻、1317～1320ページ）、10 μ MのルビマイリンはHCMVの複製を80%超減少させた。したがってACAT酵素は脂質液滴形成の抑制につながるため、ウイルス感染の治療に用いることができる。二重ACAT阻害剤の例として、バクチミブとアバシミブという化合物がある。

40

【0076】

両方ともHCMVの複製に必要とされる関連酵素の別のペアは、アラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ2（AGXT2）とアラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ2様1（AGXTL12）であり、AGXT2をノックアウトするとウイルスの複製に特に大きな影響がある。特定のどれかの機構によるわけではないが、アラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼそれ自体は脂質代謝の反応物ではないものの、哺乳動物におけるグリ

50

オキシル酸塩産生の主要経路は、脂質を分解している間である。したがってAGXT2とAGXTL12をノックアウトすることの抗ウイルス効果は、HCMVが、生物系において非常に反応性と毒性がある過剰なグリオキシル酸塩の産生の引き金を引くことと、脂質分解を含む経路と、ウイルスの複製が正常に進行するにはこのグリオキシル酸塩をグリシンとピルビン酸塩に変換する必要があることに由来する可能性がある。これら酵素の一方をノックアウトすると感染性HCMVの産生が抑制されるという観察結果は、ウイルスの子孫が効率的に生成するのにグリオキシル酸塩の分解および/またはグリシンの合成活性が必要であることを示しており、アラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼが抗ウイルス標的として特定される。アラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼの活性を抑制するsiRNA以外の手段は、他のアミノトランスフェラーゼにも影響を与えるが、アミノオキシ酢酸 (AOAA) という化合物を介するというものである。AOAAは、試験した異なる3種類のウイルス (HCMV、インフルエンザA、アデノウイルス) の複製をそれぞれ抑制した。

10

【0077】

関連酵素のさらに別のペアは、トランスアルドラーゼ1 (TALDO1) とトランスケトラーゼ様1 (TKTL1) である。特定のどれかの機構によるわけではないが、これらの酵素自体は脂質代謝の反応を触媒しないものの、両方とも、ペントースリン酸経路に存在する。ペントースリン酸経路は、脂肪酸の生合成に実質的に使用されるNADPHの産生を主要な機能の1つとする。ウイルスの複製にとって重要である可能性のあるペントースリン酸経路の別の機能は、リボース5-リン酸の合成である。これら酵素の一方をノックアウトすると感染性HCMVの産生が抑制されるという観察結果は、ウイルスの子孫が効率的に生成するのにペントースリン酸経路の活性が必要であることを示している。したがって抗ウイルス標的として、トランスアルドラーゼ酵素、トランスケトナーゼ酵素、トランスケトナーゼ様酵素が挙げられる。

20

【0078】

脂肪酸の伸長には、脂肪アシル-CoAとマロニル-CoAの間で縮合が起こり、長鎖と超長鎖の脂肪酸の合成速度制限ステップである β -ケトアシル-CoAが生成される必要がある。このステップは、ELOVL酵素によって触媒され、ACSLによって生成される前駆体としての脂肪-アシル-CoAと、アセチル-CoAカルボキシラーゼ (ACACA; ACC1とも呼ばれる) によって生成されるマロニル-CoAを必要とする。したがってELOVLとACSLに加え、ACACAの抑制も、ウイルス生成を抑制する別の手段を提供する。それと整合するように、ACACAは、siRNAを用いた遮蔽により、HCMVの複製に必要な酵素であることが特定されている。アセチル-CoAカルボキシラーゼの活性を抑制する別の手段は、siRNAに加え、TOFAを介するというものである。TOFAは、異なる2種類のウイルス (HCMVとHCV) のそれぞれを抑制した。

30

【0079】

HCMVの複製に必要な1つの酵素は、カルボニックアンヒドラーゼ7 (CA7) である。この酵素それ自体は脂質代謝の反応を触媒しないが、二酸化炭素の水和を触媒して、脂肪酸生合成の速度制限ステップであるアセチル-CoAからのマロニル-CoAの合成に実質的に必要な炭酸水素塩を生成させる。カルボニックアンヒドラーゼは、アセタゾールアミドによって抑制することができる。25 μ Mのアセタゾールアミドは、HCMVの複製を約80%抑制したが、宿主細胞の細胞毒性の証拠はなかった。

40

【0080】

グリコール分解流を脂肪酸の生合成の向かわせるウイルス感染は、脂肪酸の合成を阻止することによって治療できる。脂肪酸の生合成に関与するあらゆる酵素を標的として使用できるが、グルコースを脂肪酸に変換する専用のステップに関与する酵素が好ましい。そのような酵素として、例えばアセチルCoAカルボキシラーゼ (ACC)、その上流の調節要素であるAMP-活性化プロテインキナーゼ (AMPK)、ATPクエン酸リアーゼが挙げられるが、これらに限定されない。

【0081】

哺乳動物における一不飽和脂肪酸の産生の主要な経路では、主要な基質として、パルミトイル-CoA (FASの生成物であり、その産生には、アセチル-CoAカルボキシラーゼ (ACC)

50

による細胞質アセチル-CoAのカルボキシル化が必要とされる)とステアロイル-CoA(エロ
ンガーゼの第1の生成物)が利用される。主要な酵素は、ステアロイル-CoAデサチュラー
ゼ(SCD)1~5(脂肪酸デサチュラーゼ1またはデルタ-9-デサチュラーゼとしても一般に
知られる)である。SCDアイソザイム1と5は、ヒトを含む霊長類で発現しているため(Wan
g他、Biochem. Biophys. Res. Comm., 第332巻:735~742ページ、2005年)、ウイルス感
染の治療を必要とするヒト患者において治療の標的となる。他のアイソザイムは別の哺乳
動物で発現しているため、それらが発現する種におけるウイルス感染の治療の標的である
。したがって本発明には、新たな脂肪酸を生合成させる酵素(例えばアセチル-CoAカルボ
キシラーゼと脂肪酸シンターゼ)を抑制することによるウイルス感染治療用の化合物に加
え、脂肪酸の不飽和化酵素(例えばSCD1、SCD5のほか、高度に不飽和の脂肪酸の形成に関
与する酵素である例えばデルタ-6-デサチュラーゼ、デルタ-5-デサチュラーゼ)を抑制す
ることによるウイルス感染治療用の化合物も含まれる。

10

20

30

40

50

【0082】

1.1 RNAi分子

【0083】

本発明によれば、RNA干渉を利用して宿主細胞内の標的酵素の発現を低下させ、感染性
ウイルスの生成を減らす。さまざまな酵素標的の発現を抑制するsiRNAを設計した。いく
つかの実施態様では、化合物は、標的酵素の発現レベルを低下させることのできるRNA干
渉(RNAi)分子である。RNAi分子として、小さな干渉性RNA(siRNA)、短いヘアピンRNA
(shRNA)、マイクロRNA(miRNA)や、配列特異的RNAiを媒介することのできる任意の分
子がある。

【0084】

RNA干渉(RNAi)は、標的mRNAと相同な配列を有する二本鎖RNA(dsRNA)によって引き
金を引かれる配列特異的な転写後遺伝子サイレンシング機構である。RNAiは、転写後遺伝
子サイレンシングまたはPTGSとも呼ばれる。例えばCouzin、2002年、Science、第298巻:
2296~2297ページ;McManus他、2002年、Nat. Rev. Genet., 第3巻、737~747ページ;Ha
nnon, G.J., 2002年、Nature、第418巻、244~251ページ;Paddison他、2002年、Cancer
Cell、第2巻、17~23ページを参照のこと。dsRNAは、ダイサーと名付けられたRNアーゼII
I型酵素によって認識され、開裂の標的となる。このダイサー酵素は、RNAを“切断し”、
siRNAまたは短い干渉性RNA(siRNA)名付けられた約21~23個のヌクレオチドからなる短
い二本鎖にする。これらの短い二本鎖は、完全にペアになったリボヌクレオチドからなる
19個のヌクレオチドと、各鎖の3'末端に位置する約2~3個のペアになっていないヌクレ
オチドからなる。これらの短い二本鎖は、RISCと名付けられた多タンパク質複合体と会合
し、この複合体を、siRNAと似た配列を持つmRNA転写産物に向かわせる。その結果、RNA誘
導サイレンシング複合体(RISC)に存在するヌクレアーゼが標的mRNA転写産物を開裂させ
て分解することにより、遺伝子産物を発現させなくする。

【0085】

文献の多くの報告が、siRNAの特異性を主張している。これは、siRNA配列とほぼ完全に
一致する必要があることを示唆する(Elbashir他、2001年、EMBO J., 第20巻:6877~688
8ページ;Tuschl他、1999年、Genes Dev., 第13巻:3191~3197ページ;Hutvagner他、Sc
iencexpress、第297巻:2056~2060ページ)。1つの報告は、siRNAを標的とした転写産物
の開裂には完全な配列相補性が必要とされるのに対し、部分的相補性だと、マイクロRNA
のように転写産物の分解なしに翻訳抑制につながることを示唆している(Hutvagner他、S
ciencexpress、第297巻:2056~2060ページ)。

【0086】

miRNAは、ゲノムから発現する調節RNAであり、前駆体ステム-ループ(短いヘアピン)
構造(長さが約80個のヌクレオチド)からのプロセッシングにより、標的mRNAの3'UTR内の
相補的な配列に結合(またはハイブリダイズ)する一本鎖核酸(長さが約22個のヌクレオ
チド)を生合成させる(Lee他、1993年、Cell、第75巻:843~854ページ;Reinhart他、200
0年、Nature、第403巻:901~906ページ;Lee他、2001年、Science、第294巻:862~864

ページ ; Lau他、2001年、Science、第294巻 : 858 ~ 862ページ ; Hutvagner他、2001年、Science、第293巻 : 834 ~ 838ページ)。miRNAは、転写産物の配列に部分的な相補性でしか結合せず (Zeng他、2002年、Molec. Cell、第9巻 : 1327 ~ 1333ページ)、安定状態のRNAのレベルに影響を与えることなく翻訳を抑制する (Lee他、1993年、Cell、第75巻 : 843 ~ 854ページ ; Wightman他、1993年、Cell、第75巻 : 855 ~ 862ページ)。miRNAとsiRNAの両方ともダイサーによるプロセッシングによってRNA誘導サイレンシング複合体の要素と会合する (Hutvagner他、2001年、Science、第293巻 : 834 ~ 838ページ ; Grishok他、2001年、Cell、第106巻 : 23 ~ 34ページ ; Ketting他、2001年、Genes Dev.、第15巻 : 2654 ~ 2659ページ ; Williams他、2002年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第99巻 : 6889 ~ 6894ページ ; Hammond他、2001年、Science、第293巻 : 1146 ~ 1150ページ ; Mourlatos他、2002年、Genes Dev.、第16巻 : 720 ~ 728ページ)。

【 0 0 8 7 】

短いヘアピンRNA (shRNA) は、ハイブリダイズして、またはハイブリダイズが可能で、プロセッシングによってオーバーハングを有する二本鎖RNA (例えばsiRNA、miRNA) になるときRNAiを媒介するのに十分な長さの二本鎖 (二重) 構造を形成する少なくとも2つの相補的な部分を含む一本鎖RNA分子である。shRNAは、相補的な部分がハイブリダイズして二本鎖構造を形成するときにループ構造を形成する少なくとも1つの非相補的部分も含んでいる。shRNAは、miRNAおよびsiRNAの前駆体として機能する。

【 0 0 8 8 】

通常は、shRNAをコードする配列をクローニングしてベクターに入れ、そのベクターを細胞に導入し、その細胞の転写機構によって転写させる (Chen他、2003年、Biochem. Biophys. Res. Comm.、第33巻 : 33 ~ 41ページ)。その後shRNAは、ベクター内の例えばRNAポリメラーゼIII (Pol III) タイプのプロモータに応答するPol IIIによって転写が可能になる (Yuan他、2006年、Mol. Biol. Rep.、第33巻 : 33 ~ 41ページ ; Scjherer他、2004年、Mol. Ther.、第10巻 : 597 ~ 603ページ)。発現したshRNAは次に細胞質の中に出され、その場所でタンパク質 (例えばダイサー) によるプロセッシングを受けてsiRNAになり、そのsiRNAはその後RNAiのトリガーとなる (Amarzguioui他、2005年、FEBS Letter、第579巻 : 5974 ~ 5981ページ)。RNAポリメラーゼIIIによる最適な転写には新たに開始されたRNAの5'末端においてプリンを必要とすることが報告されている。より詳細な議論は、Zechele他、1996年、Mol. Cell. Biol.、第16巻 : 5801 ~ 5810ページ ; Fruscoloni他、1995年、Nucleic Acids Res.、第23巻 : 2914 ~ 2918ページ ; Mattaj他、1988年、Cell、第55巻 : 435 ~ 442ページに見いだすことができる。shRNAのコア配列は細胞内で安定に発現することができる。そのためインビトロとインビボ (例えば動物) の両方で、長期にわたる遺伝子サイレンシングが可能になる (McCaffrey他、2002年、Nature、第418巻 : 38 ~ 39ページ ; Xia他、2002年、Nat. Biotech.、第20巻 : 1006 ~ 1010ページ ; Lewis他、2002年、Nat. Genetics、第32巻 : 107 ~ 108ページ ; Rubinson他、2003年、Nat. Genetics、第33巻 : 401 ~ 406ページ ; Tiscornia他、2003年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第100巻 : 1844 ~ 1848ページ参照)。

【 0 0 8 9 】

Martinezらは、RNA干渉を利用して選択的にがん変異を標的にできることを報告した (Martinez他、2002年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第99巻 : 14849 ~ 14854ページ)。この報告では、p53のR248W変異体のその点変異を含む領域を標的とするsiRNAが、変異p53の発現を沈黙させるが、野生型p53は沈黙させないことが示された。

【 0 0 9 0 】

Wildaらは、M-BCR/ABL融合mRNAを標的とするsiRNAを用いて白血病細胞でM-BCR/ABL mRNAとM-BCR/ABLがんタンパク質を減らせることを報告した (Wilda他、2002年、Oncogene、第21巻 : 5716 ~ 5724ページ)。

【 0 0 9 1 】

アメリカ合衆国特許第6,506,559号には、細胞内の標的遺伝子の発現を抑制するRNA干渉法が開示されている。この方法は、二本鎖領域に標的遺伝子の配列と同じ配列を有する一

部または全体が二本鎖のRNAを細胞または細胞外環境に導入する操作を含んでいる。

【0092】

アメリカ合衆国特許出願公開第2002/0086356号には、長さが21~23個のヌクレオチド (nt) のRNA区画を用いたインビトロ系におけるショウジョウバエでのRNA干渉が開示されている。この特許出願公開文献は、これら21~23個のnt断片を精製してショウジョウバエの抽出液に戻して添加するとき、その断片は、長いdsRNAの不在下で配列特異的なRNA干渉を媒介することを教示している。この特許出願公開文献は、性質が同じであるか似ている化学合成したオリゴヌクレオチドを用いて哺乳動物の細胞で分解のための特定のmRNAを標的にすることも教示している。

【0093】

国際特許出願公開WO 02/44321には、インビトロ系において、ショウジョウバエで、長さ19~23個のntの二本鎖RNA (dsRNA) が、配列特異的転写後遺伝子サイレンシングを誘導することが開示されている。このPCT公開文献は、3'末端にオーバーハングを有する長いdsRNAまたは化学合成したsiRNA二本鎖からRNアーゼIII様プロセシング反応によって生成した短い干渉RNA (siRNA) が、ライセートの中で標的RNAの効率的な開裂を媒介し、開裂部位は、ガイド用siRNAによって広がった領域の中心近くに位置することを教示している。

【0094】

アメリカ合衆国特許出願公開第2002/016216号には、厳しい条件下で標的遺伝子のヌクレオチド配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む二本鎖RNA (dsRNA) を、その標的遺伝子の発現を減らすのに十分な量で細胞の中に導入することにより、培養細胞内の標的遺伝子の発現を減らす方法が開示されている。

【0095】

国際特許出願公開WO 2003/006477には、細胞内で発現させるときその細胞によるプロセシングによって標的となる小さな緩衝RNA (siRNA) を生成させる、改変されたRNA前駆体が開示されている。そのsiRNAは、細胞自身のRNA干渉 (RNAi) 経路を利用して (特定のmRNAを開裂させることにより) 標的遺伝子を選択的に沈黙させる。このPCT公開文献は、その改変されたRNA前駆体をコードする核酸分子を、適切な調節配列を有する生体内の細胞に導入することにより、その改変されたRNA前駆体の発現を時間的にも空間的にも (すなわち特定のときに、および/または特定の組織、器官、細胞内で) 選択的に制御できることを教示している。

【0096】

国際特許出願公開WO 02/44321には、インビトロ系において、ショウジョウバエで、長さ19~23個のntの二本鎖RNA (dsRNA) が、配列特異的転写後遺伝子サイレンシングを誘導することが開示されている。このPCT公開文献は、3'末端にオーバーハングを有する長いdsRNAまたは化学合成したsiRNA二本鎖からRNアーゼIII様プロセシング反応によって生成した短い干渉RNA (siRNA) が、ライセートの中で標的RNAの効率的な開裂を媒介し、開裂部位は、ガイド用siRNAによって広がった領域の中心近くに位置することを教示している。このPCT公開文献により、dsRNAプロセシングの方向が、生成したsiRNA複合体によって同じセンス標的RNAまたは同じアンチセンス標的RNAを開裂させることができるかどうかを決めている証拠も提供される。長さの効果、二次構造の効果、糖骨格の効果、siRNAのRNA干渉に対する配列特異性の効果に関する系統的分析が、siRNAの設計に役立つことがわかった。それに加え、サイレンシングの効率は、19塩基対の標的配列の5'領域と3'領域のGC含量と相関していることも示された。GCが豊富な5'とGCが乏しい3'を有するsiRNA標的配列が最高の性能であることが見いだされた。より詳細な議論は、Elbashir他、2001年、EMBO J.、第20巻：6877~6888ページ；Aza-Blanc他、2003年、Mol. Cell、第12巻：627~637ページに見いだすことができる (そのそれぞれの全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている)。

【0097】

本発明により、細胞要素を標的とする具体的なsiRNAが以下のように提供され、ウイル

10

20

30

40

50

スの複製を抑制する。

【 0 0 9 8 】

【 表 1 】

表 1. ウイルス複製抑制の標的と抑制性ポリヌクレオチド				
遺伝子名 (登録番号)	siRNA (5' → 3' センス)	配列 番号	siRNA (5' → 3' アンチセンス)	配列 番号
ACACA, 転写 変異体6 (NM_000664)	GUUUGAUUGUGCCAUACUUTT	1	AAGUAUGGCACAAUCAAACCTT	2
	CAUGUCUGGCUUGCACCUATT	3	UAGGUGCAAGCCAGACAUGTT	4
	GAUUGAGAAGGUUCUUAUUTT	5	AAUAAGAACCUUCUCAAUCTT	6
ACSL1 (NM_001995)	GUGUGAAGAAGAAAGCUCATT	7	UGAGCUUUCUUCUUCACACTT	8
	GAACAAGGAUGCUUUGCUUTT	9	AAGCAAAGCAUCCUUGUUCTT	10
	GAAAUAGAAGCCAUCACGUATT	11	UACGUGAUGGCUUCAUUUCTT	12
AGPAT7 (NM_153613)	CCCUCUAUGCCAACAAUGUTT	13	ACAUUGUUGGCAUAGAGGGTT	14
	GGGUUUGGUGGACUCCGATT	15	UCGGAAGUCCACCAAACCCTT	16
	CCAACAAUGUUCAGAGGGUTT	17	ACCCUCUGAACAUUGUUGGTT	18

10

20

【表 2】

AGXT2 (NM_031900)	CAAGCUAAAGAUCAGUAUATT	19	UAUACUGAUCUUUAGCUUGTT	20
	GUGUGAAUGGAGUUGUCCATT	21	UGGACAACUCCAUUCACACTT	22
	GUCUCAUGAUAGGCAUAGATT	23	UCUAUGCCUAUCAUGAGACTT	24
AGXT2L1 (NM_031279)	CACCUAUGUGCUUCACUGATT	25	UCAGUGAAGCACAUAGGUGTT	26
	GGAAUUGUCAGUUUAGAUUTT	27	AAUCUAAACUGACAAUUCCTT	28
	GGUAAUAGCUCUAUUUATT	29	UAUAAUAGAGCUAUUUACCTT	30
ART1 (NM_004314)	CAACUGCGAGUACAUCAAATT	31	UUUGAUGUACUCGCAGUUGTT	32
	CCAACCAGGUGUAUGCAGATT	33	UCUGCAUACACCCUGGUUGTT	34
	CAAGUCUGGGCCUUGCCAUTT	35	AUGGCAAGGCCAGACUUGTT	36
ART3 (NM_001179)	GCCAUUAUGAGUGUGCAUUTT	37	AAUGCACACUCAUAAUGGCTT	38
	GCCAAAUGGGCAGCCCGAATT	39	UUCGGGCUGCCCAUUGGCTT	40
	CUCAAUCUUUCUCCCUAUTT	41	AUAGGGAGAAAGAUUUGAGTT	42
CARM1 (NM_199141)	GUAACCUCCUGGAUCUGAATT	43	UUCAGAUC CAGGAGGUUACTT	44
	CCAGUAACCUCCUGGAUCUTT	45	AGAUC CAGGAGGUUACUGGTT	46
	CCUAUGACUUGAGCAGUGUTT	47	ACACUGCUCAAGUCAUAGGTT	48
CDY2A (NM_004825)	GUAUUUAAAGAAUGGUUATT	49	UAACCAUUUCUUUAAUUAUACTT	50
	GCUAUAACUAGAUCGACATT	51	UGUCGAUCUAGUUGAUAGCTT	52
	GAUAAUAAAUUCAUAUUTT	53	AAUAGUUGAAUUUUAUUAUUCTT	54
ELOVL2 (NM_017770)	GCUACAACUUACAGUGUCATT	55	UGACACUGUAAGUUGUAGCTT	56
	CAAAGUUUCUUUGGACCAATT	57	UUGGUCCAAGAAACUUUGTT	58
	CGUUAGUCAUCCUCUUCUUTT	59	AAGAAGAGGAUGACUAACGTT	60
ELOVL3 (NM_152310)	GGAGUAUUGGGCAACCUCATT	61	UGAGGUUGCCCAUACUCCTT	62
	GAAUGAUUAGGUUGCCUUATT	63	UAAGGCAACC UAAUCAUUCTT	64
	CACUUAUUCUGGUCCUUCATT	65	UGAAGGACCAGAAUAAGUGTT	66
ELOVL6 (NM_024090)	GGCUUAUGCAUUUGUGCUATT	67	UAGCACAAAUGCAUAAGCCTT	68
	CAAUGGACCUGUCAGCAAATT	69	UUUGCUGACAGGUCCAUUGTT	70
	CAUGUCAGUGUUGACUUUATT	71	UAAAGUCAACACUGACAUGTT	72
F13A1 (NM_000129)	CUAACAAGGUGGACCACCATT	73	UGGUGGUCCACCUUGUUAGTT	74
	CUAACCAUCCUGAGAUCATT	75	UGAUCUCAGGGAUGGUUAGTT	76
	GCCUAUAGUCUCAGAGUUATT	77	UAACUCUGAGACUAUAGGCTT	78
GATM	GAGACAUCUGAUAGUUGUTT	79	ACAACUAUCAGGAUGUCUCTT	80

10

20

30

40

【表 3】

(NM_001482)	CAAAUGGCUUCCAUGAAUTT	81	AUUCAUGGAAAGCCAUUUGTT	82
	CAUUAAGUUAACAUUCGUTT	83	ACGAAUGUUAACUUUAAUGTT	84
GGT3 (NR_003267)	CACUCAUGACUGAGGUCAUTT	85	AUGACCUCAGUCAUGAGUGTT	86
	CCUGUCUUGUGUGAGGUGUTT	87	ACACCUCACACAAGACAGGTT	88
	CCAGCAUUCACCAAUGAGUTT	89	ACUCAUUGGUGAAUGCUGGTT	90
GPAM (NM_020918)	GUUAUUAGAAUGUUACGAATT	91	UUCGUAACAUUCUAAUA ACTT	92
	GAGUGUAGCAAGAGGUGUUTT	93	AACACCUCUUGCUCACUCUCTT	94
	GCAUGUUUGCCACCAAUGUTT	95	ACAUUGGUGGCAAACAUGCTT	96
HS6ST1 (NM_004807)	GACGUCUUUGCAUAUGUGUTT	97	ACACAUUAUGCAAAGACGUCTT	98
	CUGUUCGAGCGGACGUUCATT	99	UGAACGUCCGCUCGAACAGTT	100
	CAGUACCUGUUCGAGCGGATT	101	UCCGCUCGAACAGGUACUGTT	102
HS6ST2 (NM_147175)	GCCAUUUACCCAGUAUAUUTT	103	AUUAUACUGGGUAAAUGGCTT	104
	GGUAUCAGUUUAUGAGGCATT	105	UGCCUCAUAAACUGAUACCTT	106
	CAUGAACUUUAUUUCGCCATT	107	UGGCGAAAUAAGUUCAUGTT	108
LOC541473 (NR_003602)	GUCCCUGUACGAGCGGUUATT	109	UAACCGCUCGUACAGGGACTT	110
	GCGGUUAAGUCAGAGGAUGTT	111	CAUCCUCUGACUUAACCGCTT	112
	CUGUACGAGCGGUUAAGUCTT	113	GACUUAACCGCUCGUACAGTT	114
LTC4S (NM_000897)	GCGAGUACUCCCCGUGUUTT	115	AACAGCGGGAAGUACUCGCTT	116
	GCCGGCAUCUUCUUUCAUGTT	117	CAUGAAAGAAGAUGCCGGCTT	118
	GGGUCGCCGGCAUCUUCUUTT	119	AAGAAGAUGCCGGCGACCCTT	120
MCCC2 (NM_022132)	CCAAGAUUUCUCUACAUUUTT	121	AAAUGUAGAGAAAUCUUGGTT	122
	GAUUUAUGGUUGGUAGAGATT	123	UCUCUACCAACCAUAAAUCTT	124
	CAUCAUGCCCUUCACUUAATT	125	UUAAGUGAAGGGCAUGAUGTT	126
MGST3 (NM_004528)	GUGUAUCCUCCUUCUUAUTT	127	AUAAGAAGGGAGGAUACACTT	128
	CUGGAUUGUUGGACGAGUUTT	129	AACUCGUCCAACAAUCCAGTT	130
	GUGUUUACCACCCGCUAUTT	131	AUACGCGGGUGGUAAACTT	132
PDIA6 (NM_005742)	CAUCGAAUUUCAACCGAGATT	133	UCUCGGUUGAAAUUCGAUGTT	134
	GUGAUAGUUCAGUAAGAATT	135	UUCUACUUGAACUAUACACTT	136
	CCAUCAAUGCACGCAAGAATT	137	AUCUUGCGUGCAUUGAUGGTT	138
PLA2G7 (NM_005084)	CAGAGAUUCAGAUGUGGUATT	139	UACCACAUCUGAAUCUCUGTT	140
	GCCUUAUUCGUUGGUUGUTT	141	ACAACCAACGGAAUAAGGCTT	142
	GAAAUGAGCAGGUACGGCATT	143	UGCCGUACCUGCUCAUUUCTT	144

10

20

30

40

【表 4】

PNMT (NM_002686)	CCUUCAACUGGAGCAUGUATT	145	UACAUGCUCAGUUGAAGGTT	146
	GACAUCACCAUGACAGAUUTT	147	AAUCUGUCAUGGUGAUGUCTT	148
	CCCUCAUCGACAUUGGUUCTT	149	GAACCAAUGUCGAUGAGGGTT	150
SLC27A3 (NM_024330)	GCAACGUGGCCACCAUCAATT	151	UUGAUGGUGGCCACGUUGCTT	152
	CCAGAUACCUGGGAGCGUUTT	153	AACGCUCCCAGGUAUCUGGTT	154
	CGCUGAAGUGGAUGGGCCATT	155	UGGCCCAUCCACUUCAGCGTT	156
TALDO1 (NM_006755)	CACAAGAGGACCAGAUUAATT	157	UUAAUCUGGUCCUCUUGUGTT	158
	GCAACACGGGCGAGAUCAATT	159	UUGAUCUCGCCCGUGUUGCTT	160
	CGAAUUCUUUAAAAGCUGUTT	161	ACAGCUUUUUAAGAAUUCGTT	162
TKTL1 (NM_012253)	GUCGUUUGUGGAUGUGGCATT	163	UGCCACAUCACAAACGACTT	164
	CAUGCAAAGCCAAUGCCGATT	165	UCGGCAUUGGCUUUGCAUGTT	166
	GGUAAUUCUGGCAGGCUUCUTT	167	AGAAGCCUGCCAGAAUACCTT	168
UGT3A2 (NM_174914)	GUUUCUAUUCAGUUAAGATT	169	UCUUUAACUGAAUAGAACTT	170
	GAGACAUUGGCUCUUAAGATT	171	UCUUAAGAGCCAAUGUCUCTT	172
	GAACUUCGACAUGGUGAUATT	173	UAUCACCAUGUCGAAGUUCTT	174
UST (NM_005715)	CCUAAUUUAUUCACUCGACATT	175	UGUCGAGUGAAUAAAUAGGTT	176
	GAGAUACGAGUACGAGUUUTT	177	AAACUCGUACUCGUUUCUCTT	178
	CCUUAAGGGACUAAAUAATT	179	UUAAUUUAGUCCCUAAGGTT	180
SOAT1 (NM_003101)	CGUCAUACUCCAACUAUUATT	196	UAAUAGUUGGAGUAUGACGTT	197
	CAAUUCUGCUGCCAUGUUATT	198	UAACAUGGCAGCAGAUUUGTT	199
	CGAAUUGCCUUGGCUGUUTT	200	AACAGCCAAGGCAUUAUCGTT	201
SOAT2 (NM_003578)	GCUAUACAUAUCCUACCCA	202	AUGGGUAGGAUUGUAUAGC	203
	CUGAUACUCUCCUUGUCA	204	UGACAAGGAAGAGUAUCAG	205
	CGAUCUUGGUCCUGCCAUA	206	UAUGGCAGGACCAAGAUCG	207
CA7 (NM_005182)	CCAGUUUGCUCCUUGGUCATT	208	UGACCAAGGAGCAAACUGGTT	209
	CACUGAAGGGCCGCGUGGUTT	210	ACCACGCGGCCCUUCAGUGTT	211
	GAGACUCAAGCAAUAUUATT	212	UAAUUAUUGCUUGAGUCUCTT	213
OTOP3 (NM_178233)	CCCUGAAUGUGGUGUCCUTT	214	AGGAACACCACAUUCAGGGTT	215
	GAGGCUUCCUGAUGCUCUATT	216	UAGAGCAUCAGGAAGCCUCTT	217
	GGCAAUGAGACCAACACCUTT	218	AGGUGUUGGUCUCAUUGCCTT	219
TBXAS1 (NM_001061)	CAAUAAGAACCAGACGAATT	220	UUCGUCUCGGUUCUUAUUGTT	221
	GUGAAACACUGCAAGCGUUTT	222	AACGCUUGCAGUGUUUACTT	223
	GAGACUCCUCCAAAUGGUTT	224	ACCAUUUGGAGGAAGUCUCTT	225

10

20

30

40

【表5】

TYMS (NM_001071)	CAAUGGAUCCCCGAGACUUUTT	226	AAAGUCUCGGGAUCCAUGTT	227
	GUACAAUCCGCAUCCAACUTT	228	AGUUGGAUGCGGAUUGUACTT	229
	GAGAUUGGAAUCAGAUUATT	230	UAAUCUGAUUCCAUAUCUCTT	231
TXNDC11 (NM_015914)	GCAUAGAAUGCAGCAAUUUTT	232	AAAUUGCUGCAUUCUAUGCTT	233
	GAAAGAAUUUGCGCAAUUUTT	234	AAUUGCCGCAAUUUCUUUCTT	235
	CAGAGUACGUUCGACGGGATT	236	UCCCGUCGAACGUACUCUGTT	237
PDIA5 (NM_006810)	GACGGUUCUUGUCCAGUATT	238	UACUGGAACAAGAACCGUCTT	239
	CCAUUACCAGGAUGGUGCATT	2406	UGCACCAUCCUGGUAUUGGTT	241
	CCGUUUUACCCUGACCGATT	242	UCGGUCAGGUGAUAAACGGTT	243
PTGS2 (NM_000963)	GAGUAUGCGAUGUGCUUAATT	244	UUAAGCACAU CGCAUACUCTT	245
	CAGUAUAAGUGCGAUUGUATT	246	UACAAUCGCACUUUAUCUGTT	247
	GUAUGAGUGUGGGAUUUGATT	248	UCAAAUCCACACUCAUACTT	249
STX8 (NM_004853)	GACUACUUCUGGCAUCCUUTT	250	AAGGAUGCCAGAAGUAGUCTT	251
	CAACCUAGUGGAGAACACATT	252	UGUGUUCUCCACUAGGUUGTT	253
	CAAAGCUUACCGUGACAAUTT	254	AUUGUCACGGUAAGCUUUGTT	255
OTOP2 (NM_178160)	CUGUCAGCCUCUUCGGGATT	256	UCCCGGAAGAGGCUGACAGTT	257
	CCCUUCAGACCAGCGGAATT	258	UUCCCGCUGGUCUGAAGGGTT	259
	CUGACCUGGUGUGGUCUCATT	260	UGAGACCACACCAGGUCAGTT	261
STX6 (NM_005819)	CAAGUUGUCAGGGACAUGATT	262	UCAUGUCCCUGACAACUUGTT	263
	GAAUAUACCUCCGGAGCAUTT	264	AUGCUCGGAGGUUAUUUCTT	265
	CAGUUAUGUUGGAAGAUUUTT	266	AAAUCUCCAACAUAACUGTT	267

10

20

30

【0099】

それに加え、siRNA設計アルゴリズムが、PCT公開WO 2005/018534 A2とWO 2005/042708 A2に開示されている（そのそれぞれが、全体として本明細書に組み込まれている）。具体的には、国際特許出願公開WO 2005/018534 A2には、標的遺伝子と部分的に相同な配列を有するsiRNAを用いた遺伝子サイレンシングの方法と組成物が開示されている。この出願により、siRNAの2本の鎖の相対的な活性を評価する方法が提供される。国際特許出願公開WO 2005/042708 A2により、位置特異的スコア・マトリックスのアプローチを利用して転写産物のsiRNA標的モチーフを特定する方法が提供される。また、位置特異的スコア・マトリックスのアプローチを利用してsiRNAの標的外遺伝子を特定する方法も提供される。この出願によりさらに、改善されたサイレンシングの効率と特異性を持つsiRNAを設計する方法と、siRNAの例を示したライブラリーが提供される。

40

【0100】

設計用ソフトウェアを用い、この明細書に記載した方法においてsiRNAを用いて標的にできる標的酵素mRNA内の可能性のある配列を特定することができる。例えばhttp://www/ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html（“Ambion siRNA Target Finderソフトウェア”）を参照のこと。例えばACSL1のヌクレオチド配列（GenBank登録番号NM_001995）をAmbion siRNA Target Finderソフトウェア（http://www/ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html）に入力すると、このソフトウェアは、アッセイにおいてACSL1発現の下方調

50

節によってヒトACSL1の活性を抑制するのに使用できる可能性のあるACSL1標的配列とそれに対応するsiRNA配列を特定する。この方法を用いると、ACSL1を抑制するためのACSL1標的配列(5'から3'へ)とそれに対応するセンス鎖siRNAおよびアンチセンス鎖siRNA(5'から3'へ)の非限定的な例が特定される。それを以下に示す。

【0101】

【表6】

<u>ACSL1 標的配列</u>	<u>センス鎖 siRNA</u>	<u>アンチセンス鎖 siRNA</u>
1. AAGAACCAAGGGCATATAAAG (配列番号: 181)	GAACCAAGGGCAUUAUAAAGtt (配列番号: 182)	CUUUUAUAUGCCCUUGGUUctt (配列番号: 183)
2. AACCAAGGGCATATAAAGACA (配列番号: 184)	CCAAGGGCAUUAUAAAGACatt (配列番号: 185)	UGUCUUUAUAUGCCCUUGGtt (配列番号: 186)
3. AAGGGCATATAAAGACAGATG (配列番号: 187)	GGGCAUUAUAAAGACAGAUGtt (配列番号: 188)	CAUCUGUCUUUAUAUGCCctt (配列番号: 189)
4. AAAGACAGATGGGAGGAGACC (配列番号: 190)	AGACAGAUGGGAGGAGACctt (配列番号: 191)	GGUCUCCUCCCAUCUGUCUtt (配列番号: 192)
5. AAGAAGCATCTACATAGGTAC (配列番号: 193)	GAAGCAUCUACAUAGGtactt (配列番号: 194)	GUACCUAUGUAGAUGCUUctt (配列番号: 195)

10

【0102】

同じ方法を、RNAi分子を得るためあらゆる酵素とそれに対応するsiRNA配列(センス鎖とアンチセンス鎖)の標的配列を特定するのに適用できる。

20

【0103】

いくつかの実施態様では、化合物は、標的酵素(例えばACSL1またはART1)の発現抑制に有効なsiRNAである。このsiRNAは、標的酵素のmRNAのセンス配列を含む第1の鎖と、標的酵素のセンス配列の相補配列を含む第2の鎖を備えていて、第1と第2の鎖は、長さが約21~23個のヌクレオチドである。いくつかの実施態様では、siRNAは、長さが約17、18、19、20個いずれかのヌクレオチドである標的酵素のmRNAのセンス配列と相補配列をそれぞれが含む第1と第2の鎖を含んでいる。

【0104】

RNAi分子(例えばsiRNA、shRNA、miRNA)は、両方とも、一部または全体が二本鎖になることができ、鎖一本につき、少なくとも18個、少なくとも19個、少なくとも20個、少なくとも21個、少なくとも22個、少なくとも23個、少なくとも24個、少なくとも25個、少なくとも30個、少なくとも35個、少なくとも40個、少なくとも45個、少なくとも50個、またはそれ以上のヌクレオチドの断片をカバーすることができる。RNAi分子(例えばsiRNA、shRNA、miRNA)は、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個からなる3'オーバーハングも含むことができる。RNAi分子(例えばsiRNA、shRNA、miRNA)は、標的遺伝子の発現を抑制する能力が保持されるのであれば、ユーザーが望む任意の長さにすることができる。

30

【0105】

RNAi分子は、当業者に知られている多数の技術のうちの任意のものを利用して得ることができる。一般に、RNAi分子の製造は、化学合成法または組み換え核酸法によって実施できる。dsRNAを調製する方法は、例えばAusbel他、『分子生物学における現在のプロトコル』(補56)、John Wiley & Sons社、ニューヨーク(2001年); Sambrook他、『分子クローニング: 実験室マニュアル』、第3増補版、Cold Spring Harbor Press社、コールド・スプリング・ハーバー(2001年)に記載されており、その方法を、この明細書に記載した方法で利用することができる。例えばRNAをPCR産物から転写した後、ゲル精製することができる。それは、PCR鋳型からRNAをインビトロで転写するための従来技術で知られている標準的な手続きである。例えばPCR鋳型とAmbion T7 MEGASCRIPTを用いて、または他の同様のキット(オースチン、テキサス州)を用いて、dsRNAを合成することができる。その後、LiClを用いてRNAを沈降させ、緩衝溶液の中に再び懸濁させることができる。

40

50

【0106】

細胞内におけるRNAiの活性を調べるには、当業者に知られている多数の技術のうちの任意のものを利用することができる。例えばRNAi分子を細胞内に導入し、従来から知られているアッセイ（例えばELISAやイムノプロットティング）を利用して標的酵素の発現レベルを調べることができる。また、標的酵素のmRNA転写産物のレベルは、従来から知られているアッセイ（例えばノーザンプロットアッセイや定量リアル-タイムPCR）を利用して調べることができる。さらに、標的酵素の活性は、従来から知られている方法および/またはセクション5.3に記載されている方法を利用して調べることができる。特別な一実施態様では、RNAi分子は、標的酵素のタンパク質発現レベルを少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%低下させる。一実施態様では、RNAi分子は、標的酵素のmRNA転写産物のレベルを少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%低下させる。特別な一実施態様では、RNAi分子は、標的酵素の酵素活性を少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%低下させる。

10

【0107】

1.2 小分子

【0108】

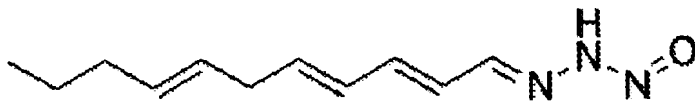
1.2.1 トリアクシン化合物

【0109】

一実施態様では、本発明により、対象のウイルス感染を治療または予防する方法が提供される。この方法は、治療または予防を必要とする対象に、トリアクシンC:

20

【化7】



トリアクシンC

30

、
またはその関連物質、類似体、誘導体を、治療に有効な量投与する操作を含んでいる。

【0110】

トリアクシンCは、以下に示す2通りの互変形態で存在する。

【化8】



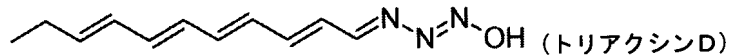
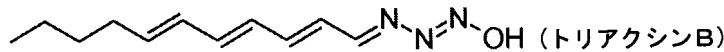
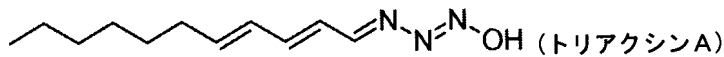
40

【0111】

トリアクシンCは、長鎖アシル-CoAシターゼ (ACSL) を抑制するとともにトリグリセリドとコレステロールエステルの生合成を抑制する真菌抗代謝産物である。トリアクシンCは、ストレプトミセス属SK-1894の培養濾液から単離された関連化合物のファミリー（トリアクシンA~D）のメンバーである（Omura他、J. Antibiot.、第39巻、1211~1218ページ、1986年；Tomoda他、Biochim. Biophys. Acta、第921巻、595~598ページ、1987年）。このファミリーのメンバーはすべて、11-炭素アルケニル鎖からなり、末端に共通のトリアゼノール部分を有する。トリアクシンA、B、Dの構造は以下の通りである。

50

【化9】



10

【0112】

本発明によれば、トリアクシンCまたはその関連化合物または類似体またはプロドラッグを、さまざまなウイルスの感染の治療または予防に使用する。ウイルスとしては、例えばDNAウイルス（二本鎖と一本鎖）、二本鎖RNAウイルス、一本鎖RNAウイルス（ネガティブ-センスとポジティブ-センス）、一本鎖RNAレトロウイルス、RNA中間体を有する二本鎖ウイルスがある。例えばナノモル濃度のトリアクシンCが、HVMV（ヘルペスウイルス；二本鎖DNAゲノムを含む）、単純ヘルペスウイルス-1（HSV-1）、インフルエンザA（オルトミクソウイルス；ネガティブ-センス一本鎖RNAウイルス）、C型肝炎ウイルス（HCV）を抑制する。さらに、トリアクシンCは、エンベロープを有するウイルスに対して広い抗ウイルス・スペクトルを示す。したがって本発明の一実施態様では、トリアクシンCを用いてエンベロープを有するウイルスによる感染を治療または予防する。また、トリアクシンCは、エンベロープがなく複製が宿主細胞の膜構造上で起こるウイルスに対してと、宿主細胞の膜の中での増殖を誘導するウイルスに対しても活性である。

20

【0113】

トリアクシンCはACSLを抑制し、アラキドノイル-CoAシターゼも抑制する。トリアクシンCは、トリアシルグリセロール（TG）とコレステロールエステル（CE）の合成を抑制し、 IC_{50} はそれぞれ100nMと190nMである。トリアクシンCは、超音波処理したラット肝臓においてACSLを抑制し、 IC_{50} は約8.7 μ Mであり、アラキドノイル-CoAシターゼも抑制する。

30

【0114】

ナノモル濃度のトリアクシンCが、試験した4種類のウイルスのうちの3種類で、すなわちHCMV、単純ヘルペスウイルス-1（HSV-1）、インフルエンザA（アデノウイルスではない）で複製を1/10未満に抑制した。HCMV、HSV-1、インフルエンザA（アデノウイルスではない）は、脂質エンベロープを有する。

【0115】

本発明のトリアクシン関連物質として、トリアクシンA、C、Dと、WS-1228A、Bがある（Omura他、J. Antibiot.、第39巻、1211～1218ページ、1986年）が、これらに限定されない。本発明のトリアクシンC類似体として、末端位置にあるトリアクシンCのトリアゼノール部分と、炭素鎖内にあるシスまたはトランスの二重結合の任意の組み合わせとを有する3～25個の非分岐（直線状）炭素鎖が挙げられるが、それに限定されることはない。本発明のいくつかの実施態様では、炭素鎖は、4、5、6、7、8、9、10、11個いずれかの長さの炭素原子よりも短くない。いくつかの実施態様では、炭素鎖は、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11個いずれかの長さの炭素原子よりも長くない。いくつかの実施態様では、炭素鎖は、正確に0、1、2、3、4個いずれかのシス二重結合を含んでいる。いくつかの実施態様では、炭素鎖は、正確に0、1、2、3、4、5、6個いずれかのトランス二重結合を含んでいる。いくつかの実施態様では、トリアクシンCにおけるように、鎖内の第2の炭素-炭素結合の位置にトランス二重結合が存在する（炭素-窒素結合を結合0とする場合の番号）。別の実施態様では、鎖内の結合3、4、5、6、7、8、9、10、11、

40

50

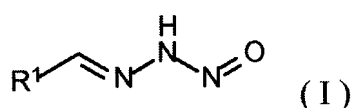
12いずれかの位置に1つ以上のトランス二重結合が存在する。いくつかの実施態様では、トリアクシンCにおけるように、鎖内の第7の炭素-炭素結合の位置にシス二重結合が存在する。別の実施態様では、鎖内の結合3、4、5、6、7、8、9、10、11、12いずれかの位置に1つ以上のシス二重結合が存在する。本発明のトリアクシンC誘導体として、炭素鎖の任意位置の水素の代わりにヘテロ原子、メチル基、エチル基いずれかが挿入されたトリアクシンまたはその類似体が挙げられるが、それらに限定されない。本発明のトリアクシンC誘導体としてさらに、炭素-炭素結合の直鎖の一部が、3、4、5、6員いずれかで飽和または不飽和の炭素原子またはヘテロ原子からなる環で置換された変異体がある。このクラスの化合物の合成経路は、Yoshidaらのアメリカ合衆国特許第4,297,096号に記載されている。

10

【0116】

いくつかの実施態様では、本発明のトリアクシン類似体として、一般式Iの化合物：

【化10】



がある。ただしR¹は、炭素原子が3~23個の炭素鎖（その中にはオプションのヘテロ原子が含まれる）であり、その鎖は、内部に

20

0~10個の二重結合と、

0~4個のヘテロ原子を含み；

R¹の0~8個の炭素原子は、場合によっては置換されている。

【0117】

オプションであるヘテロ原子が1個以上R¹鎖の中に存在する場合には、好ましい実施態様では、各ヘテロ原子は、独立に、O、S、NR²の中から選択される。ただしR²は、H、C₁~₆アルキル、C₃~₆シクロアルキルの中から選択される。

【0118】

R¹の炭素原子が置換されている場合、鎖に沿った0~8個の水素原子を、H、OR²、SR²、低級アルキル、シクロアルキルの中から選択した置換基で置換することができる。ただしR²は、H、C₁~₆アルキル、C₃~₆シクロアルキルである。いくつかの好ましい実施態様では、R¹は置換されていない（すなわちR¹は分岐しておらず、どの水素も置換基で置換されていない）。

30

【0119】

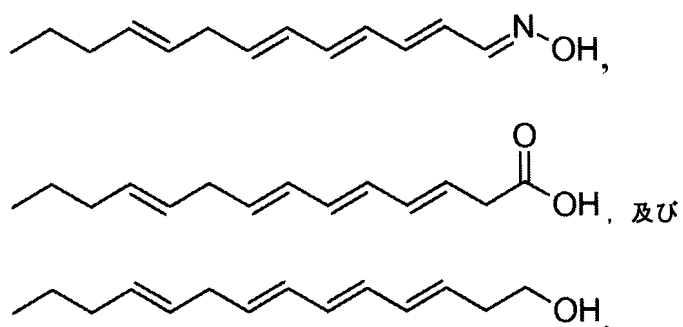
一般式Iの化合物の好ましい実施態様では、R¹は鎖の長さが8~12個の原子である。R¹は鎖の全長が9~11個の原子であることがより好ましい。R¹は鎖の長さが10個の原子であることが最も好ましい。別の好ましい実施態様では、R¹は、2~4個の二重結合を有する。

【0120】

いくつかの実施態様では、トリアクシン類似体は、

40

【化 1 1】



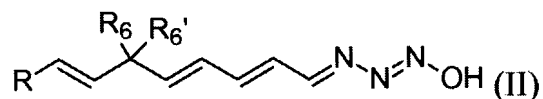
10

の中から選択される。

【 0 1 2 1】

いくつかの実施態様では、本発明のトリアクシン類似体として、一般式IIの化合物：

【化 1 2】



20

がある。ただしRはC₁~₆アルキルから選択され；

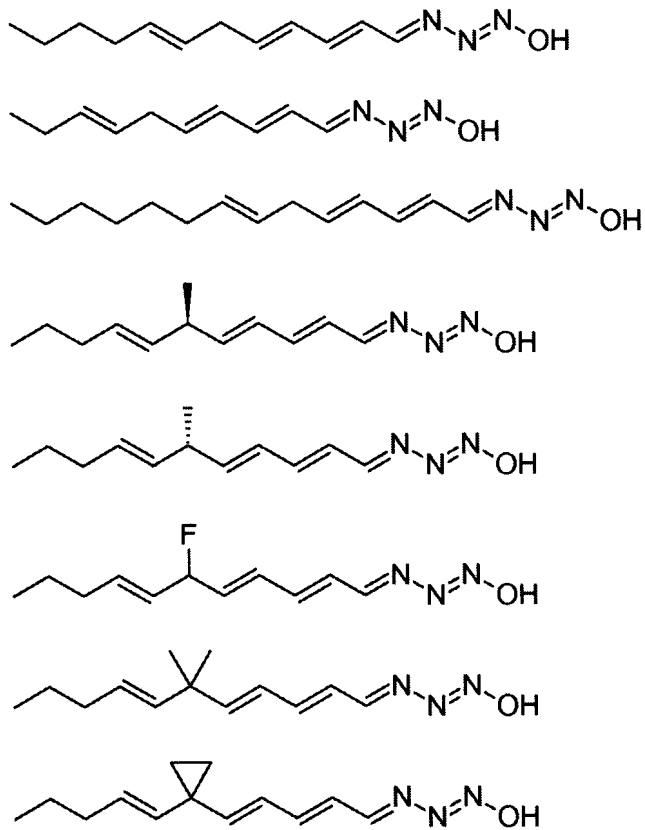
R₆とR₆'は、独立に、H、C₁~₃アルキルの中から選択されるか；R₆とR₆'が合わさって、化学式-(CH₂)_nのシクロアルキル基を形成する（nは2~6）。いくつかの実施態様では、Rは、Me、Et、n-ブチル、i-プロピル、n-ペンチル、n-ヘキシルの中から選択することができる。いくつかの実施態様では、R₆とR₆'は、独立に、MeとFの中から選択されるか；R₆とR₆'が合わさって、化学式-(CH₂)_nのシクロアルキル基を形成する（nは2、3、4、6）。

【 0 1 2 2】

例えばいくつかの実施態様では、一般式IIのトリアクシン類似体は、以下の化合物：

30

【化 1 3】



10

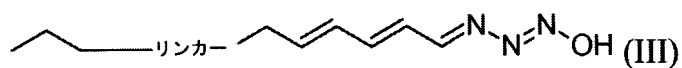
20

のうちの1つである。

【0 1 2 3】

いくつかの実施態様では、本発明のトリアクシン類似体として、一般式IIIの化合物：

【化 1 4】



30

がある。

【0 1 2 4】

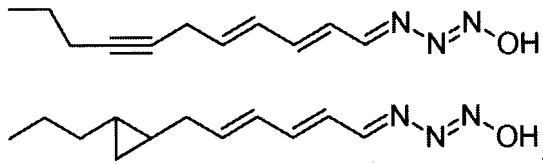
ただしリンカーは、Z-オレフィン、E-オレフィン、アルキン、場合によっては置換されたフェニル環、場合によっては置換されたヘテロアリアル環（例えばピリジン）の中から選択される。

40

【0 1 2 5】

例えば一般式IIIの化合物として

【化15】



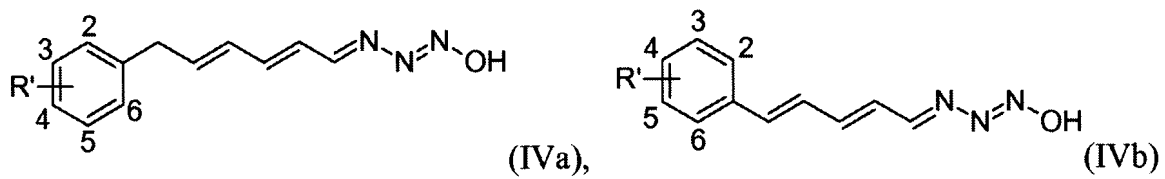
がある。

10

【0126】

別の一実施態様では、本発明のトリアクシン類似体として、一般式IVaとIVbの化合物：

【化16】



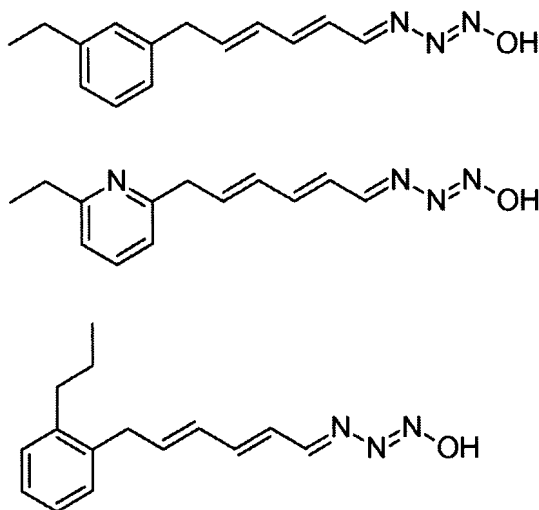
20

がある。ただしR'はC₁~₄アルキルである。いくつかの実施態様では、R'は、Me、Et、nPr、iPr、nBuである。いくつかの実施態様では、フェニルの2位~6位の炭素のうちの1つをNで置換することができる。

【0127】

例えばいくつかの実施態様では、一般式IVaの化合物として、

【化17】



30

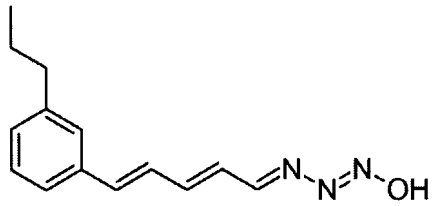
40

がある。

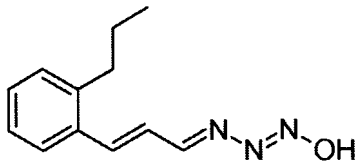
【0128】

いくつかの実施態様では、一般式IVbの化合物として、

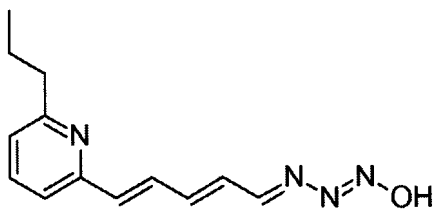
【化18】



10



20

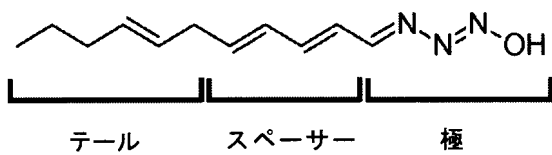


がある。

【0129】

一実施態様では、トリアクシンC類似体は、対応する親脂肪性尾部基とスペーサ基と極性基から設計される。

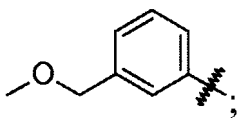
【化19】



30

ただし、親脂肪性尾部基は、トリアクシンA~Dの尾部基と

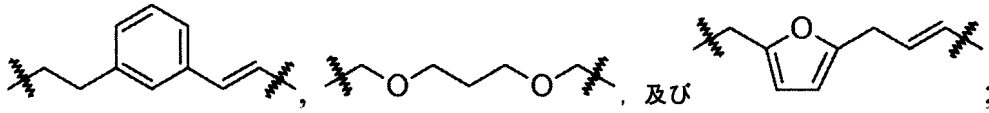
【化20】



40

から選択され、スペーサ基は、トリアクシンA~Dの尾部基と

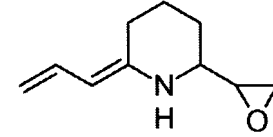
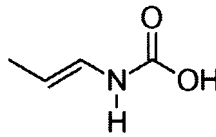
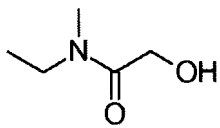
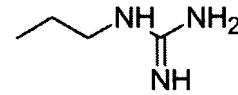
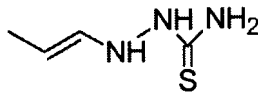
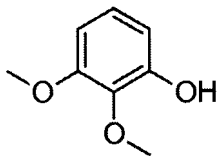
【化 2 1】



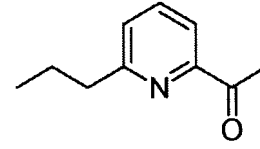
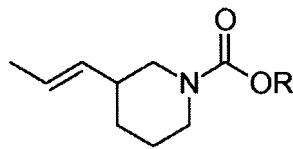
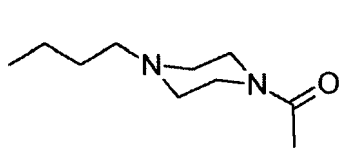
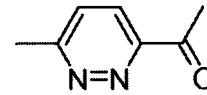
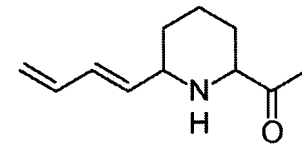
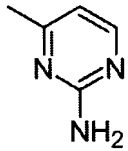
から選択され、極性基は、トリアクシンA~Dの尾部基と

【化 2 2】

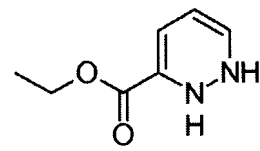
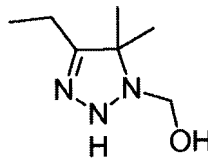
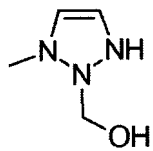
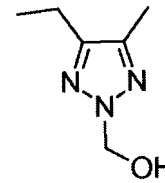
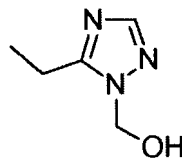
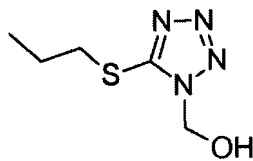
10



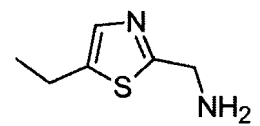
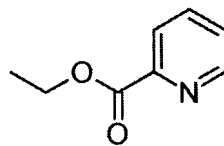
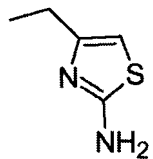
20



30



40

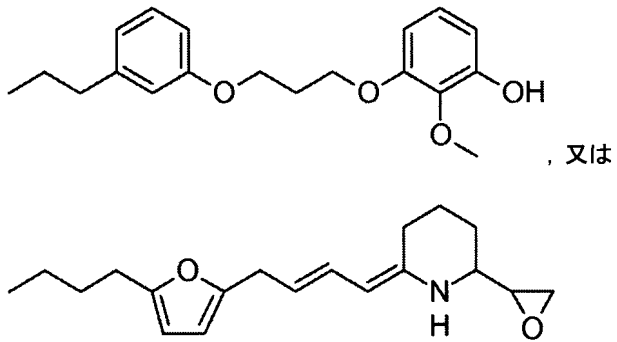


から選択される。

【0130】

一実施態様では、尾部基とスパーサ基と極性基からなるトリアクシンC類似体は、

【化 2 3】



10

である。

【 0 1 3 1】

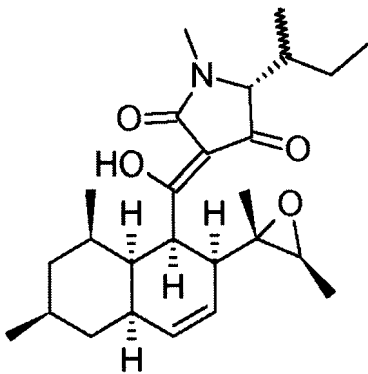
1.2.2 脂肪液滴形成の阻害剤

【 0 1 3 2】

脂肪液滴形成の阻害剤として、以下の化合物が挙げられるが、これらに限定されることはない。

20

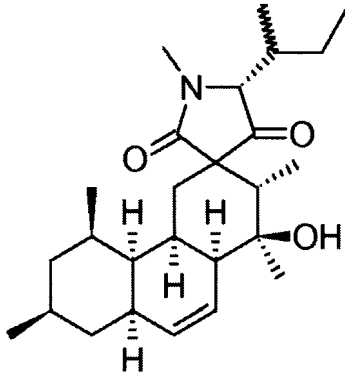
【化 2 4】



30

PF-1052 (CAS : 147317-15-5) ;

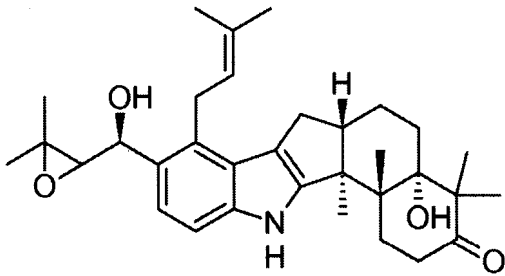
【化 2 5】



10

スピリドン（液滴抑制 IC_{50} 42 μ M）（Tomoda他、Pharmacol. Ther.、第115巻：375～389ページ）；

【化 2 6】

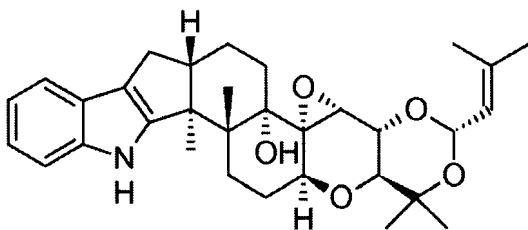


20

セスペンドール（液滴抑制 IC_{50} 4 μ M）（Tomoda他、Pharmacol. Ther.、第115巻：375～389ページ）；

30

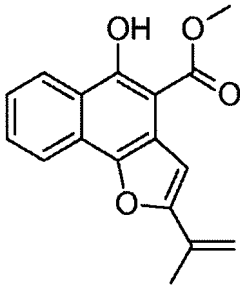
【化 2 7】



40

テルペンドールC（液滴抑制 IC_{50} 2.5 μ M）（Tomoda他、Pharmacol. Ther.、第115巻：375～389ページ）；

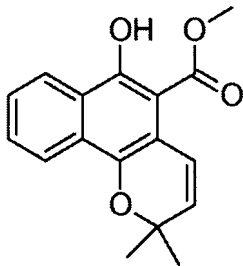
【化 2 8】



10

化合物7 (Sastry他、2010年、J. Org. Chem.、第75巻 : 2274 ~ 2280ページ) ;

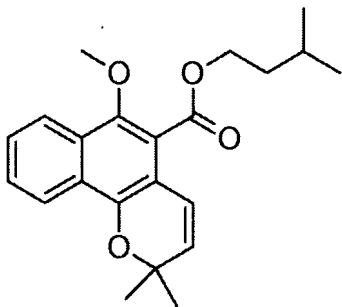
【化 2 9】



20

ルビマイリン ;

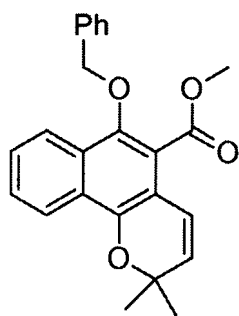
【化 3 0】



30

化合物8 (Ho, L.K.他、1996年、J. Nat. Prod.、第59巻 : 330 ~ 333ページ) ;

【化 3 1】



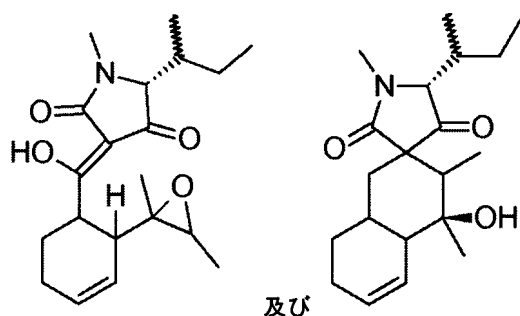
10

化合物9 (Ho, L.K. 他、1996年、J. Nat. Prod.、第59巻 : 330 ~ 333ページ)。

【 0 1 3 3】

本発明において有用なPF-1052とスピルドンの類似体として、

【化 3 2】



20

がある。

30

【 0 1 3 4】

液滴形成の別の阻害剤として、ベルミスポリン；ビューベリオリド；フェノカラシン；イソビスベルチノール；K97-0239がある。

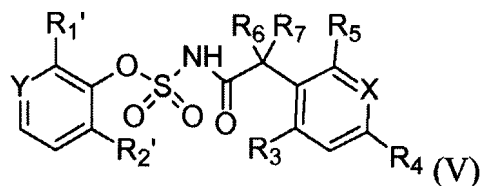
【 0 1 3 5】

1.2.3 ACAT阻害剤

【 0 1 3 6】

いくつかの実施態様では、本発明のACAT阻害剤として、一般式Vの以下の化合物：

【化 3 3】



40

がある。ただし、

XとYは、NとCHの中から独立に選択され；

R₁'とR₂'は、H、C₁~₆アルキル(場合によってはF、OCH₃、OHで置換されていてもよ

50

い)、 $C_1 \sim 6$ シクロアルキルの中から独立に選択され；

R_6 と R_7 は、H、 $C_1 \sim 3$ アルキルの中から独立に選択されるか； R_6 と R_7 は合わさって $C_3 \sim 6$ シクロアルキルを形成することができる；

R_3 、 R_4 、 R_5 は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル（場合によってはF、 OCH_3 、OHで置換されていてもよい）、 $C_1 \sim 6$ シクロアルキルの中から独立に選択され；

それに加えて、またはその代わりに、 R_6 と R_7 の一方が R_5 と合わさって $C_5 \sim 11$ シクロアルキル環を形成することができる。

【0137】

いくつかの実施態様では、 R_1' および/または R_2' は、分岐した $C_3 \sim 5$ アルキルの中から独立に選択され、特にイソプロピルである。

10

【0138】

いくつかの実施態様では、 R_3 および/または R_4 および/または R_5 は、分岐した $C_3 \sim 5$ アルキルの中から独立に選択され、特にイソプロピルである。

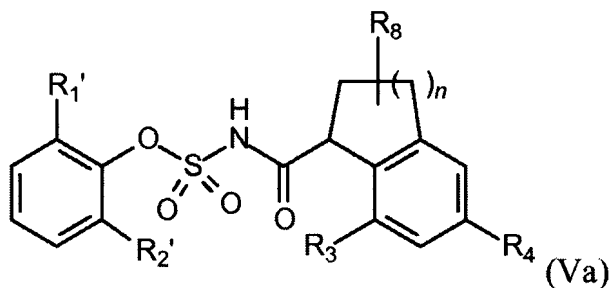
【0139】

いくつかの実施態様では、 R_6 と R_7 は両方ともHである。

【0140】

いくつかの実施態様では、本発明のACAT阻害剤として、一般式Vaの化合物：

【化34】



20

がある。ただし、

30

R_1' と R_2' は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル（場合によってはF、 OCH_3 、OHで置換されていてもよい）、 $C_1 \sim 6$ シクロアルキルの中から独立に選択され；

R_3 と R_4 は、H、 $C_1 \sim 6$ アルキル（場合によってはF、 OCH_3 、OHで置換されていてもよい）、 $C_1 \sim 6$ シクロアルキルの中から独立に選択され；

n は1~7の中から選択され；

R_8 は、Hと $C_1 \sim 3$ アルキルの中から選択される。

【0141】

いくつかの実施態様では、 R_1' および/または R_2' は、分岐した $C_3 \sim 5$ アルキルの中から独立に選択され、特にイソプロピルである。

【0142】

いくつかの実施態様では、 R_3 および/または R_4 は、分岐した $C_3 \sim 5$ アルキルの中から独立に選択され、特にイソプロピルである。

40

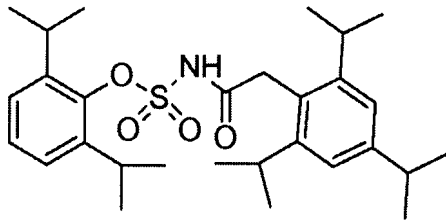
【0143】

いくつかの実施態様では、 R_8 はメチルである。

【0144】

一実施態様では、一般式Vの化合物は、

【化 3 5】



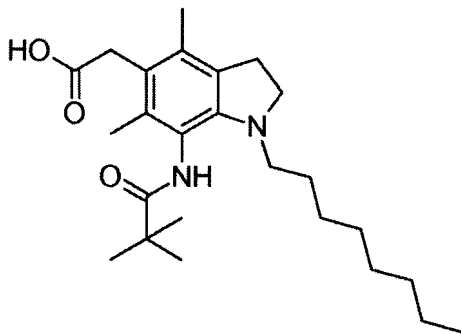
10

アバシミブ (ACAT IC_{50} 479nM) である。

【 0 1 4 5】

本発明の別のACAT阻害剤として、以下の化合物が挙げられるが、これらに限定されることはない。

【化 3 6】

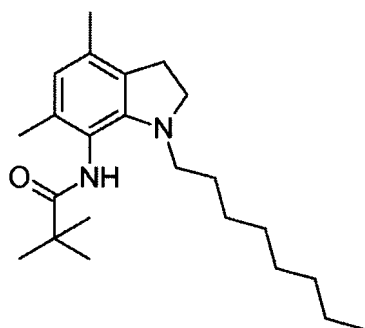


20

パクチミブ (肝臓ACAT IC_{50} 312nM) (Ohta他、2010年、Chem. Pharm. Bull.、第58巻：1066～1076ページ)；

30

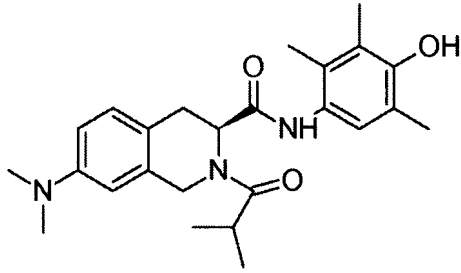
【化 3 7】



40

化合物1 (肝臓ACAT IC_{50} 120nM) (Takahashi他、2008年、J. med. Chem.、第51巻：4823～4833ページ)；

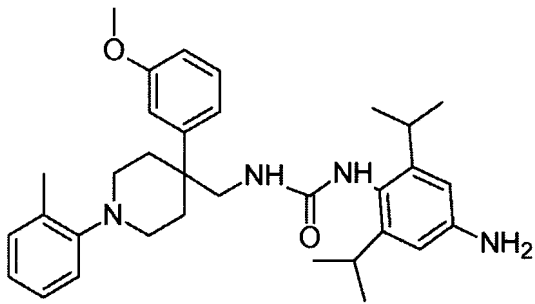
【化 3 8】



10

化合物21 (肝臓ACAT IC_{50} 113nM) (Ohta他、2010年、Chem. Pharm. Bull.、第58巻 : 1066 ~ 1076ページ) ;

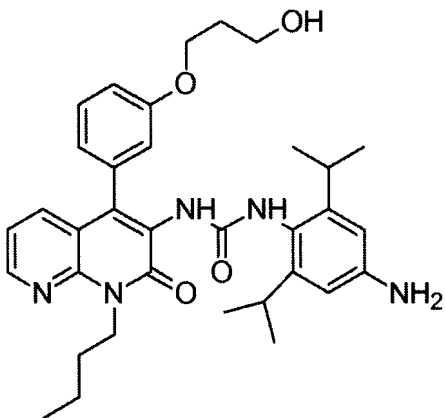
【化 3 9】



20

化合物12g (ACAT IC_{50} 68nM) (Asano他、2009年、Bioorg. Med. Chem. Lett.、第19巻 : 1062 ~ 1065ページ) ;

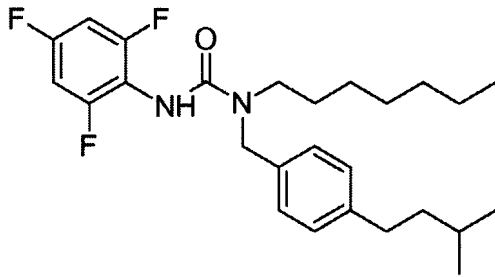
【化 4 0】



40

SMP-797 (ACAT IC_{50} 31nM) (Asano他、2009年、Bioorg. Med. Chem. Lett.、第19巻 : 1062 ~ 1065ページ) ;

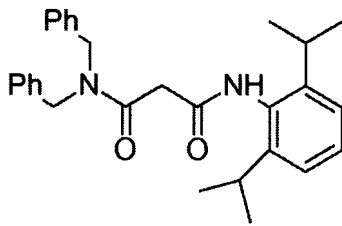
【化 4 1】



10

CL-283,546 (液滴抑制 IC_{50} 35nM) (Tomoda他、2007年、Pharmacol. Ther.、第115巻 : 375 ~ 389ページ) ;

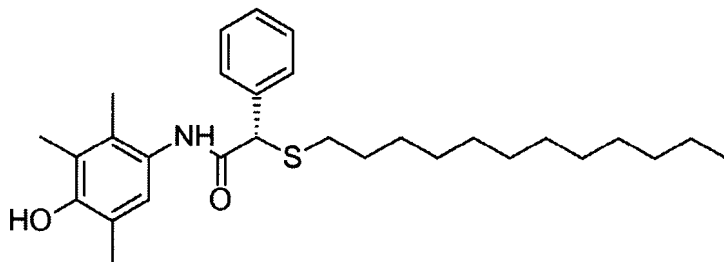
【化 4 2】



20

Wu-V-23 (Tomoda他、2007年、Pharmacol. Ther.、第115巻 : 375 ~ 389ページ) ;

【化 4 3】



30

エフルシミブ。

【 0 1 4 6 】

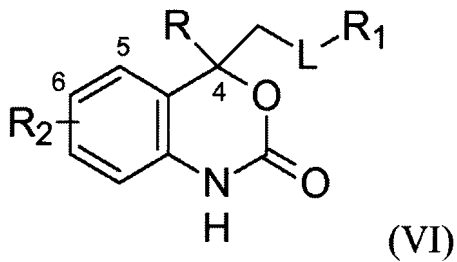
40

1.2.4 エロンガーゼ阻害剤

【 0 1 4 7 】

エロンガーゼ阻害剤の一例は、一般式VIの化合物 :

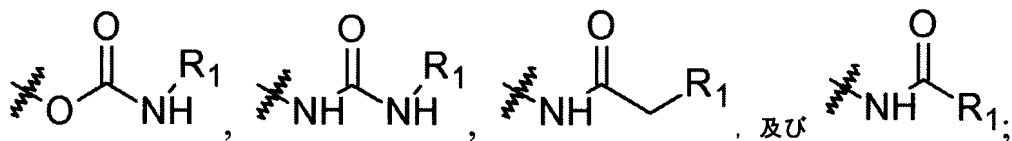
【化 4 4】



10

である。ただし、Lは、カルバメート、尿素、アミド（例えば

【化 4 5】



20

)の中から選択され、

Rは、ハロ；CF₃；シクロプロピル；場合によっては置換されたC₁～₅アルキル（ただしこのC₁～₅アルキルは、ハロ、オキシ、-OH、-CN、-NH₂、CO₂H、C₁～₃アルコキシで置換されている）の中から選択され；

R₁は、置換されたフェニルの中から選択され（置換基は、F、CF₃、Me、OMe、イソプロピルの中から選択される）；

R₂は、Cl、Ph、1-(2-ピリドン)、4-イソオキサゾール、3-ピラゾール、4-ピラゾール、1-ピラゾール、5-(1,2,4-トリアゾール)、1-(1,2,4-トリアオール)、2-イミダゾロ、1-(2-ピロリドン)、3-(1,3-オキサゾリジン-2-オン)である。

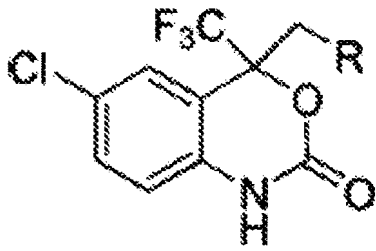
30

C4の位置のキラル中心は、鏡像異性体のラセミ化合物、(S)、(R)、任意比のものいずれかが可能である。いくつかの実施態様では、Rは、Cl、CF₃、メチル、エチル、イソプロピル、シクロプロピルの中から選択される。いくつかの実施態様では、R₁は、パラ置換されている（ただし置換基は、F、CF₃、Me、OMe、イソプロピルの中から選択される）。

【0148】

一実施態様では、一般式VIaの化合物は、

【化 4 6】

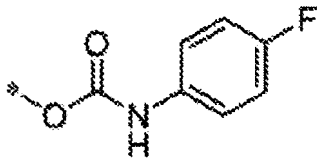


(VIa),

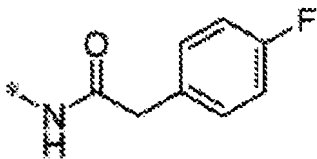
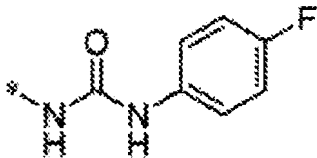
10

である。ただし、Rは、

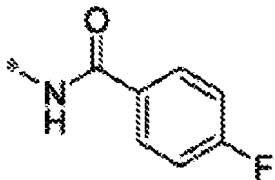
【化 4 7】



20



30



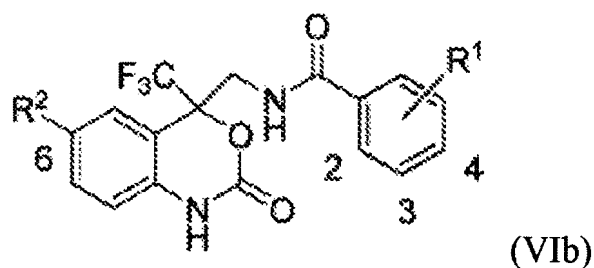
の中から選択される。

40

【 0 1 4 9】

別の実施態様では、エロンガーゼ阻害剤は、一般式VIbの化合物：

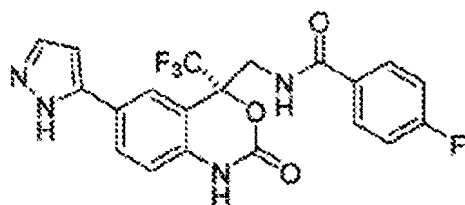
【化 4 8】



10

である。ただし、 R^1 は、2位、3位、4位のいずれかがFまたはMeで置換されているか、 R^1 は、4位がMeOまたは CF_3 で置換されている。 R^2 は、Cl、H、Ph、4-イソキサゾール、4-ピラゾール、3-ピラゾール、1-ピラゾール、5-(1,2,4-トリアゾール)、1-(1,2,4-トリアオール)、2-イミダゾロ、1-(2-ピロリドン)、3-(1,3-オキサゾリジン-2-オン)のいずれかである。一実施態様では、一般式VIの化合物は、

【化 4 9】



20

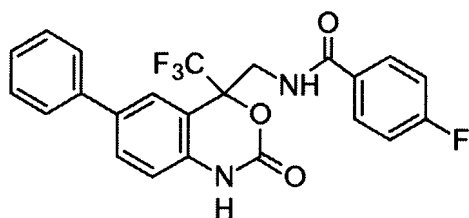
(S)-yである (Mizutani 他、2009年、J. Med. Chem.、第52巻 : 7289 ~ 7300ページ参照)。

【 0 1 5 0】

別の一実施態様では、一般式VIの化合物は、

30

【化 5 0】



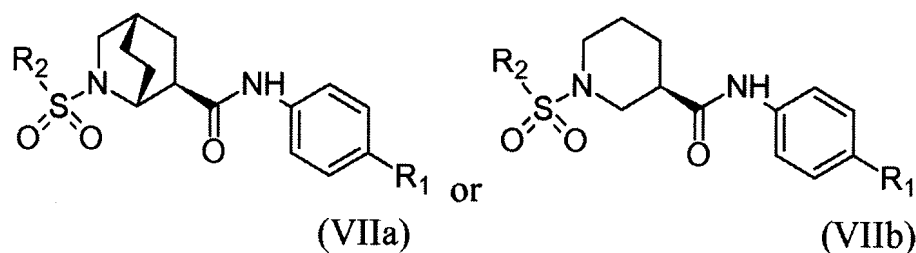
40

である。

【 0 1 5 1】

エロンガーゼ阻害剤の別の例は、一般式VIIaとVIIbの化合物：

【化51】



10

である。ただし

R_1 は、OMe、OiPr、OCF₃、OPh、CH₂Ph、F、CH₃、CF₃、ベンジルの中から選択され；

R_2 は、C₁~₄アルキル（例えばnBu、nPr、iPr）；フェニル；置換されたフェニル（ただし置換基は、OMe、CF₃、F、tBu、iPr、チオの中から選択される）；2-ピリジン；3-ピリジン；N-メチルイミダゾールの中から選択される（Sasaki他、2009年、Biorg. Med. Chem.、第17巻：5639~5647ページ参照）。

【0152】

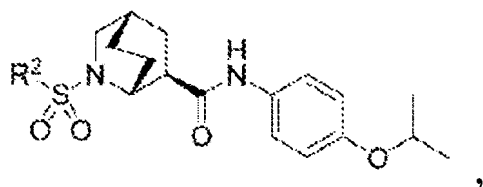
一実施態様では、 R_1 は、OiPrとOCF₃の中から選択される。一実施態様では、 R_2 は、nBu、置換されていないフェニル、フルオロフェニル、チオフェニルの中から選択される。

20

【0153】

一実施態様では、一般式VIIaの化合物は、

【化52】



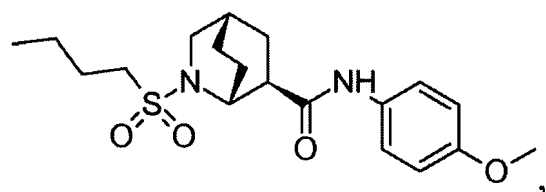
30

である。ただし R^2 は、ブチル、プロピル、ピリジル、イミダゾールの中から選択される。

【0154】

一実施態様では、一般式VIIaの化合物は、

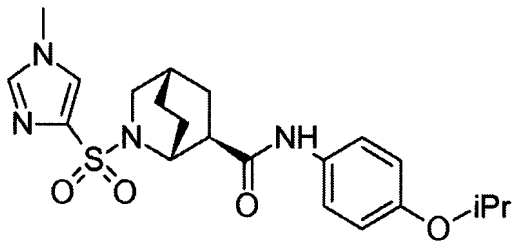
【化53】



40

(hELOVL6 IC₅₀が1710nM)；

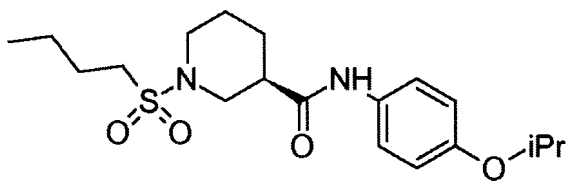
【化 5 4】



10

(hELOVL6 IC_{50} が220nM、 hELOVL3 IC_{50} が1510nM) ;

【化 5 5】



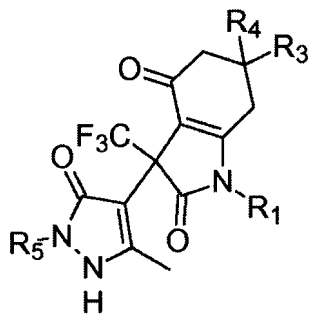
20

(hELOVL6 IC_{50} が930nM) の中から選択される。

【 0 1 5 5】

エロンガーゼ阻害剤のさらに別の例は、一般式VIIIの化合物：

【化 5 6】



(VIII)

30

である。ただし R_1 は、H；置換されていないフェニル；置換されたフェニル（ただし置換基は、F、Me、Et、Cl、OMe、OCF₃、CF₃の中から選択される）； $C_1 \sim 6$ アルキル（例えばMe、Et、iPr、n-プロピル）； $C_3 \sim 6$ シクロアルキル（シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル）の中から選択され；

40

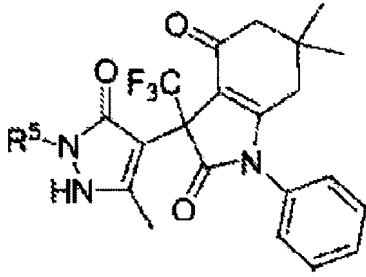
R_3 と R_4 は、H； $C_1 \sim 3$ アルキル；フェニルの中から独立に選択されるか； R_3 と R_4 が合わさって一般式-(CH₂)_n-のシクロアルキルを形成し（ただしn=2、3、4、5）；

R_5 は、メチル；CF₃；シクロプロピル；置換されていないフェニル；一置換または二置換されたフェニル（ただし置換基は、F、Me、Et、CN、iPr、Cl、OMe、OPh、OCF₃、CF₃の中から選択される）；置換されていないヘテロ芳香族基（例えば2-ピリジン、3-ピリジン、4-ピリジン、イソキサゾール、ピラゾール、トリアゾール）；イミダゾロの中から選択される。

50

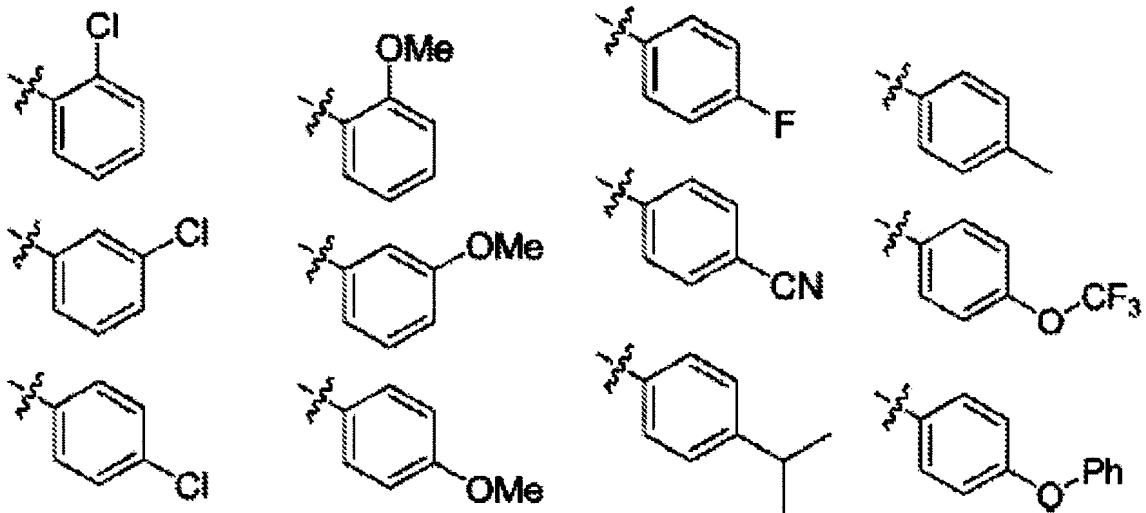
【 0 1 5 6】

別の実施態様では、一般式VIIIの化合物は、
【化57】



10

である。ただしR⁵は、置換されたフェニル環であり、非限定的な例として、
【化58】

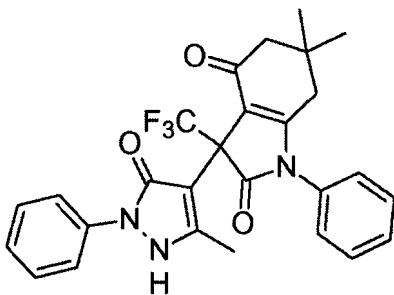


20

30

がある (Takahashi 他、2009年、J. Med. Chem.、第52巻：3142～3145ページ参照)。
【0157】

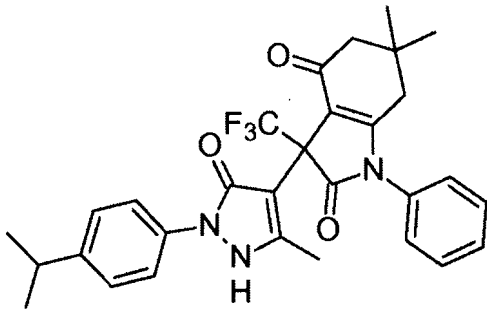
別の実施態様では、一般式VIIIの化合物は、以下に示す化合物のうちの1つである。
【化59】



40

(hELOVL6 IC₅₀が290nM)、

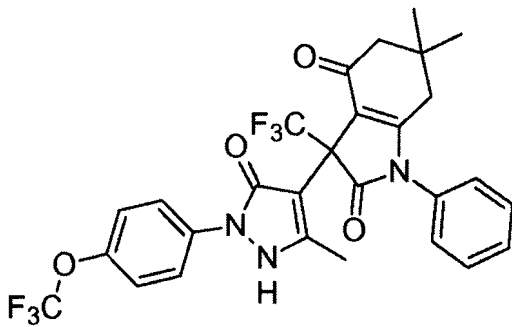
【化60】



10

(hELOVL6 IC₅₀が10nM、hELOVL3 IC₅₀が59nM)、

【化61】



20

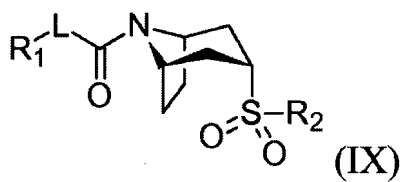
(hELOVL6 IC₅₀が8.9nM、hELOVL3 IC₅₀が337nM)。

【0158】

一実施態様では、エロンガーゼ阻害剤は、一般式IXの化合物：

30

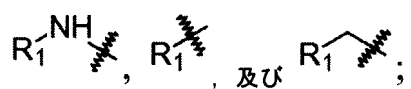
【化62】



40

である。ただし、Lは、尿素またはアミド（例えば

【化63】



)が選択され、

R₁は、2-ピリジン、3-ピリジン、4-ピリジン；ピリミジン；置換されていないヘテロア

50

リール（例えばイソオキサゾール、ピラゾール、トリアゾール、イミダゾール）；置換されていないフェニル；オルト置換、メタ置換、パラ置換されたフェニル（ただし置換基は、F、Me、Et、Cl、OMe、OCF₃、CF₃である）；Cl、iPr、フェニルの中から選択され；

R₂は、Cl；iPr；フェニル；オルト置換、メタ置換、パラ置換されたフェニル（ただし置換基は、F、Me、Et、Cl、OMe、OCF₃、CF₃である）；ヘテロアリール（例えば2-ピリジン、3-ピリジン、4-ピリジン；ピリミジン、ピリミジン、イソオキサゾール、ピラゾール、トリアゾール）、イミダゾロの中から選択される。

【0159】

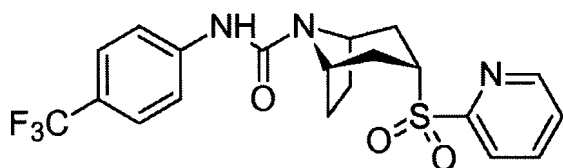
一実施態様では、Lは尿素である。一実施態様では、R₁は、パラ置換されたCF₃フェニルである。一実施態様では、R₂はフェニルである。別の一実施態様では、R₂は2-ピリジルである。

10

【0160】

一実施態様では、一般式IXの化合物は、

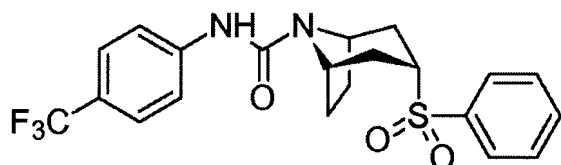
【化64】



20

(endo-1w) (hELOVL6 IC₅₀が79nM、hELOVL9 IC₅₀が6940nM)と

【化65】



30

(endo-1k) (hELOVL6 IC₅₀が78nM)の中から選択される。

【0161】

1.2.5 ART1阻害剤

【0162】

メタ-ヨード-ベンジルグアニジン (MIBG) は、ADP-リボシルトランスフェラーゼ1 (ART1) の阻害剤である。50 μMのMIBGが、感染したMRC5線維芽細胞からのHCMVの力価を約70%低下させたが、細胞の形態にはほとんど、またはまったく影響がなかった。

40

【0163】

1.2.6 AGXT2阻害剤

【0164】

アミノオキシ酢酸 (AOAA) は、アラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ2 (AGXT2) の阻害剤である。0.5mMのAOAAがHCMVの複製を約1/100に低下させ、2.5mMの濃度まで細胞の生存率に測定可能な低下はない。0.5mMと1mMのAOAAは、インフルエンザAの複製を24時間後に少なくとも1/1000に低下させるが、宿主細胞の毒性に関する証拠はない。0.5mMと1mMの濃度のAOAAは、MRC2細胞におけるアデノウイルスの力価をそれぞれ1/20、1/50に低下させる。

50

【 0 1 6 5 】

1.2.7 ACC阻害剤

【 0 1 6 6 】

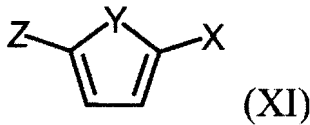
1.2.7.1 TOFAとその類似体

【 0 1 6 7 】

TOFA (5-(テトラデシルオキシ)-2-フロ酸) はアセチル-CoAカルボキシラーゼ (ACC) の阻害剤であり、哺乳動物では極めて良性である (例えばGibson他、「ラットで低脂質薬RM I 14,514を用いた毒性と奇形遺伝性の研究」、Fundam. Appl. Toxicol.、1981年1月~2月; 第1巻(1): 19~25ページを参照のこと)。例えばラットでは、TOFAの経口LD50は5,000mg/kgよりも多い可能性があるが、100mg/kg/日だと6ヶ月にわたって不都合な効果は観察されない。それに加え、TOFAは、ラットにおいて150mg/kg/日だと奇形遺伝性ではない。ACCは、ヒトでは2種類のアイソザイム、ACC1、ACC2として存在する。この明細書に記載した化合物にはACCのアイソザイム特異的阻害剤が含まれるが、それに限定されることはない。ACC阻害剤の非限定的な例として、以下の構造 (一般式XI) を持つ化合物:

10

【化 6 6】



20

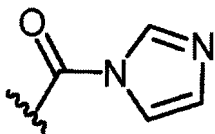
がある。ただし、

Yは、O、S; -NH、N(C₁~C₆)アルキルのいずれかであり;

Xは、-COOH、-CO₂(C₁~C₆)アルキル、-CONH₂、-H、-CO(C₁~C₆)アルキル、-COC(ハロ)₃、OとNとSの中から選択した1~3個のヘテロ原子を有する5員または6員の複素環、

【化 6 7】

30



、
補酵素Aと付加化合物を形成することのできる部分のいずれかであり;

Zは、-(C₅~C₂₀)アルキル、-O(C₅~C₂₀)アルキル、-(C₅~C₂₀)アルコキシ、-(C₅~C₂₀)ハロアルキル、-O(C₅~C₂₀)ハロアルキル、-(C₅~C₂₀)ハロアルコキシ、-ハロ、-OH、-(C₅~C₂₀)アルケニル、-(C₅~C₂₀)アルキニル、-(C₅~C₂₀)アルコキシ-アルケニル、-(C₅~C₂₀)ヒドロキシアルキル、-O(C₁~C₆)アルキル、-CO₂(C₁~C₆)アルキル、-O(C₅~C₂₀)アルケニル、-O(C₅~C₂₀)アルキニル、-O(C₅~C₂₀)シクロアルキル、-S(C₅~C₂₀)アルキル、-NH(C₅~C₂₀)アルキル、-NHCO(C₅~C₂₀)アルキル、-N(C₁~C₆)アルキルCO(C₅~C₂₀)アルキル、-O(C₅~C₂₀)アルコキシのいずれかである。

40

【 0 1 6 8 】

一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、YがOである化合物である。

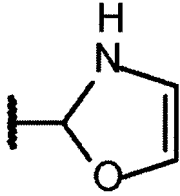
【 0 1 6 9 】

別の実施態様では、構造 (XI) の化合物は、Xが-COOHである化合物である。

【 0 1 7 0 】

50

一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、Xが、オキサゾール、オキサジアゾール、
【化 6 8】



10

の中から選択された化合物である。

【0171】

別の一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、Zが、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ ハロアルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルケニル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルキニル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルコキシのいずれかである化合物である。

【0172】

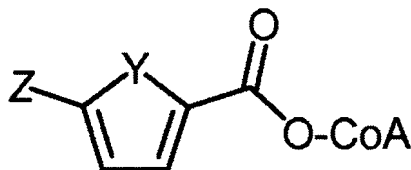
別の一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、YがO、Xが $-COOH$ 、Zが、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ ハロアルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルケニル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルキニル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルコキシのいずれかである化合物である。

20

【0173】

別の一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、Xが、補酵素Aとエステル結合を形成することのできる部分である化合物である。例えばXは、この構造の化合物の形成を可能にする部分：

【化 6 9】



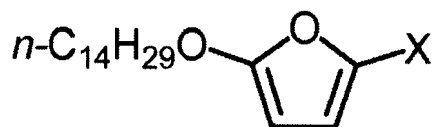
30

が可能である。

【0174】

特別な一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、

【化 7 0】

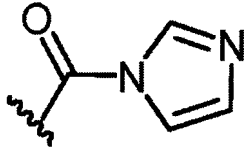


40

である。ただし、

Xは、 $-COOH$ 、 $-CO_2(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $-CONH_2$ 、 $-H$ 、 $-CO(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $-COC(ハロ)_3$

【化 7 1】



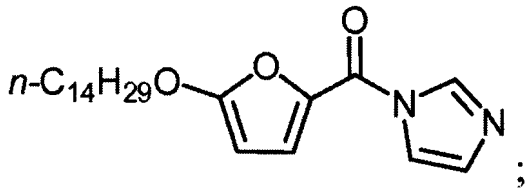
10

、
補酵素Aと付加化合物を形成することのできる部分のいずれかである。

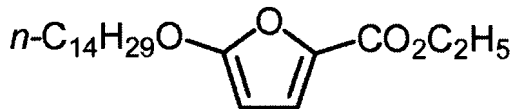
【 0 1 7 5】

別の一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、

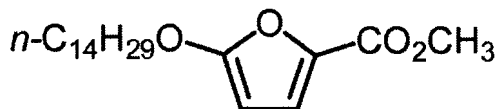
【化 7 2】



20



又は



30

である。

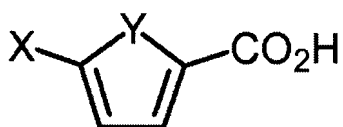
【 0 1 7 6】

特別な一実施態様では、構造 (XI) の化合物は、Parker他、J. Med. Chem.、1977年、第20巻、781~791ページ(その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている)に開示されている化合物である。

【 0 1 7 7】

一実施態様では、化合物は、以下の構造 (XII) :

【化 7 3】



40

を持つ。ただし、

Xは、 $-(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-(C_5 \sim C_{20})$ ハロアルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ ハロアルキル、 $-$ ハロ、 $-OH$ 、 $-(C_5 \sim C_{20})$ アルケニル、 $-(C_5 \sim C_{20})$ アルキニル、 $(C_5 \sim C_2$

50

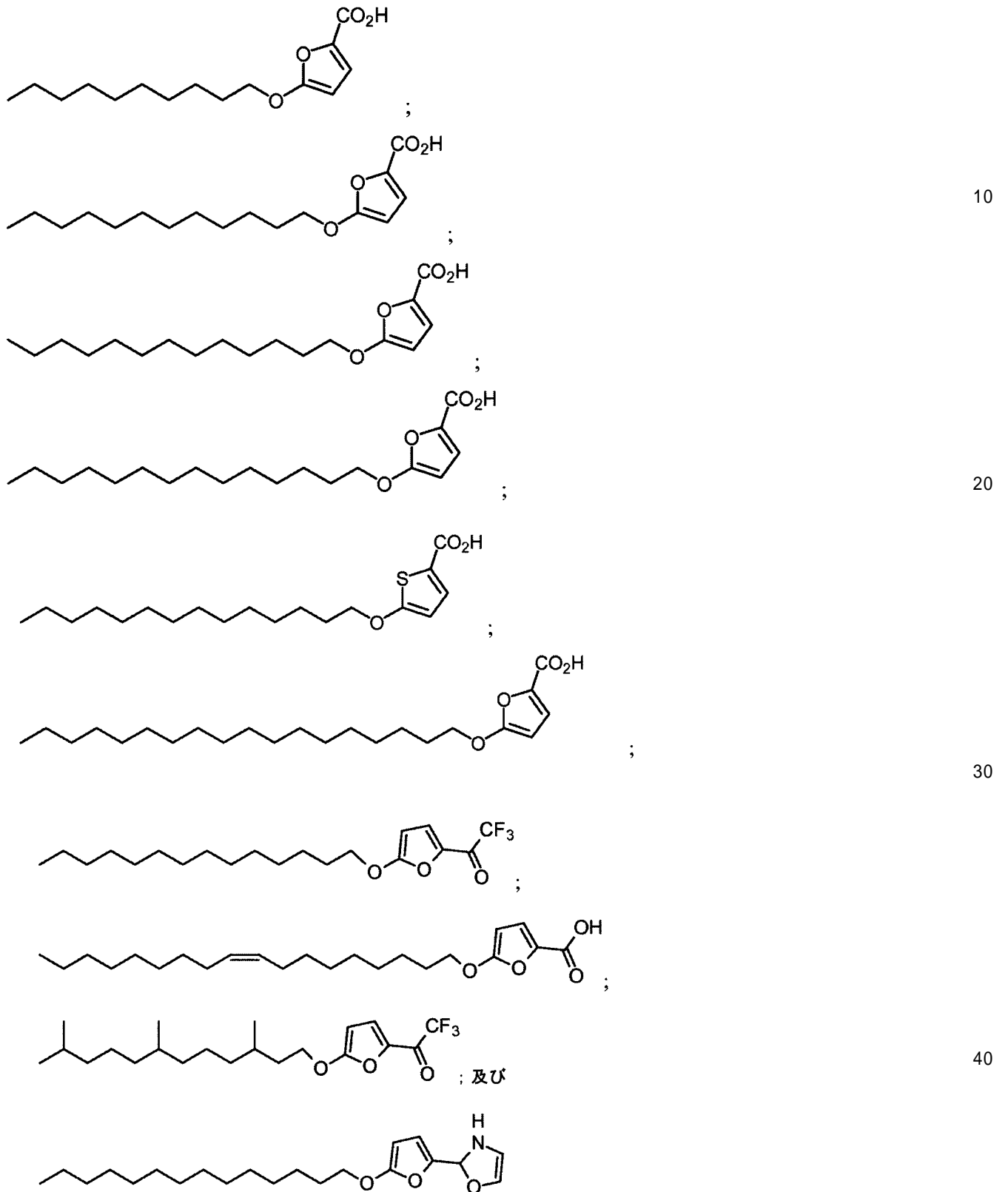
o) アルコキシ-アルケニル、 $-(C_5 \sim C_{20})$ ヒドロキシアルキル、 $-O(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $-CO_2(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルケニル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ シクロアルキル、 $-S(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-NH(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-NHCO(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-N(C_1 \sim C_6)$ アルキル $CO(C_5 \sim C_{20})$ アルキル、 $-O(C_5 \sim C_{20})$ アルコキシのいずれかであり；

Yは、O、S、 $-NH$ 、 $N(C_1 \sim C_6)$ アルキルのいずれかである。

【 0 1 7 8 】

特別な一実施態様では、構造 (XII) の化合物は、

【化 7 4】



の中から選択される。

【0179】

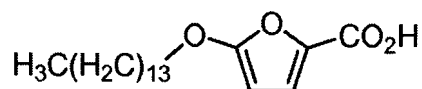
特別な一実施態様では、構造 (XII) の化合物は、Parker 他、J. Med. Chem.、1977年、第20巻、781~791ページ (その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている) に関

示されている化合物である。

【0180】

一実施態様では、構造(XII)の化合物は、

【化75】



10

であり、TOFAとも呼ばれていて、5-(テトラデシルオキシ)-2-フロ酸という化学名を有する。

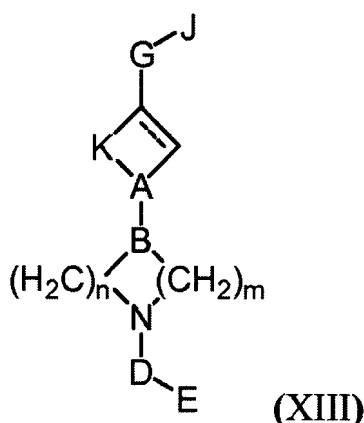
【0181】

1.2.7.2 他のACC阻害剤

【0182】

一実施態様では、ACC阻害剤は、以下の構造(XIII)を持つ化合物：

【化76】



20

である。ただし、A-Bは、N-CHまたはCH-Nであり；Kは(CH₂)_rであり（ただしrは2、3、4のいずれかである）；A-BがN-CHであるときには、mとnは、それぞれ独立に、1、2、3のいずれかであり、A-BがCH-Nであるときには、mとnは、それぞれ独立に、2または3であり；点線は、場合によっては二重結合の存在を表わし；

Dは、カルボニルまたはスルホニルであり；

Eは、a) 独立に取られた完全不飽和の5~7員の2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなる二環であるか、b) 独立に取られた完全不飽和の5~7員の2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなり、その2つの縮合環が、一部が不飽和であるか、完全に不飽和であるか、完全に飽和した第3の5~7員の環（その第3の環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）に縮合した三環であるか、c) 独立に取られた完全不飽和の5~7員の2つの縮合環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）からなる二環を含み、その2つの縮合環が、一部が不飽和であるか、完全に不飽和であるか、完全に飽和した5~7員の独立に取られた2つの単環（その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ）に縮合するか、その二環が、一部が不飽和であるか、完全に不飽和であるか、完全に飽和した5~7員の独立に取られた2つの縮合環（その

40

50

各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ)からなる第2の二環に縮合した四環であるか、d) 完全不飽和の5~7員の環(その環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ)を含み、その環が、完全不飽和の5~7員の環(置換されたその各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ)によって独立に二置換されてテラリール非縮合環系を形成しているテラリール環であり、二環、三環、四環、テラリール環いずれかであるそのEは、場合によっては、使用する各環上で独立に一置換、または二置換、または三置換されて、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、シアノ、ニトロ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニル、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニルを持つ二環、三環、四環、テラリール環いずれかを形成し;

二環、三環、四環、テラリール環いずれかであるそのEは、場合によっては、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和の3~8員の環R₁₀(場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ)で一置換されるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和の3~8員の独立に取った2つの縮合環(その各環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~4個のヘテロ原子を持つ)からなる二環R''で一置換され、R₁₀とR''は、場合によってはさらに架橋し、R₁₀とR''は、場合によっては、完全に飽和しているか、一部が不飽和であるか、完全に不飽和の1~4員の直線状炭素鎖または分岐炭素鎖を通じて連結され、その炭素鎖中の炭素は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1個または2個のヘテロ原子で置換されていてもよいが、二環Eは、少なくとも1つの置換基を持ち、Dに結合している二環Eの原子は炭素であり; R₁₀とR''は、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、シアノ、ニトロ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニル、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニルで一置換、または二置換、または三置換され、その中の(C₁~C₆)アルキル置換基と(C₁~C₆)アルコキシ置換基も、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、(C₁~C₆)アルコキシ、アミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、1~9個のフッ素で一置換、または二置換、または三置換され;

Gは、カルボニル、スルホニル、CR₇R₈のいずれかであり; その中のR₇とR₈は、それぞれ独立に、H、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニルのいずれかであるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、酸素、イオウ、窒素の中から選択した1つのヘテロ原子を持つ5~7員の環であり;

Jは、OR', NR₂R₃, CR₄R₅R₆のいずれかであり; その中のR', R₂, R₃は、それぞれ独立に、H、Q、(C₁~C₁₀)アルキル、(C₃~C₁₀)アルケニル、(C₃~C₁₀)アルキニルのいずれかであり、その中の炭素は、場合によっては、酸素、窒素、イオウの中から選択した1個または2個のヘテロ原子で置換されていてもよく、イオウは、場合によってはオキソで一置換または二置換され、炭素は、場合によってはオキソで一置換され、窒素は、場合によってはオキソで二置換され、炭素は、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、カルボキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルオキシカルボニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニルで一置換、または二置換、または三置換され; 鎖は、場合によってはQ₁で一置換され; QとQ₁は、それぞれ独立に、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~8員の環であるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和の3~6員の独立に取った2つの縮合環またはスピロ環からなる二環であり、その二環は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持ち、その単環または二環は、

10

20

30

40

50

場合によっては、(C₁~C₃)アルキレンと架橋し、その(C₁~C₃)アルキレンの炭素は、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~2個のヘテロ原子で置換され；QとQ₁は、それぞれ独立に、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニル、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルカルボニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、(C₁~C₆)アルキルオキシカルボニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノスルホニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノスルホニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニル、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノカルボニルで一置換、または二置換、または三置換、または四置換され、その中の(C₁~C₆)アルキル置換基は、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルオキシカルボニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され、その中の(C₁~C₆)アルキル置換基も、場合によっては、1~9個のフッ素で置換され；

またはR₂とR₃は、これらが結合している窒素原子と合わさって、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個の追加のヘテロ原子を持つ3~8員の環になるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個の追加のヘテロ原子を持つ3~6員の独立に取られた2つの縮合環、架橋環、スピロ環のいずれかからなる二環になるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個の追加のヘテロ原子を持つ3~6員の独立に取られた3つの縮合環、架橋環、スピロ環のいずれかからなる三環になり；NR₂R₃環は、場合によっては、独立に、R₁₅、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニル、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され、その中の(C₁~C₆)アルキル置換基は、場合によっては、独立に、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルキルオキシカルボニル、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され、この(C₁~C₆)アルキル置換基も、場合によっては1~9個のフッ素でも置換され；

3個のヘテロ原子は、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択され、上記環は、場合によっては、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₁~C₆)アルキル、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニル、(C₁~C₄)アルキルチオ、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され；NR₂R₃環は、場合によっては、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~8員の環で置換されるか、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~6員の独立に取られた2つの縮合環、架橋環、スピロ環のいずれかからなる二環で置換され、その単環または二環は、場合によってはさらに、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ上記環に架橋し、その中の(C₁~C₆)アルキルとその環は、場合によっては、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₂~C₆)アルケニル、(C₂~C₆)アルキニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、ヒドロキシ、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換され；R₄、R₅、R₆は、独立に、H、ハロ、ヒドロキシ、(C₁~C₆)アルキルであるか、R₄とR₅が合わ

さって、一部が不飽和であるか、完全に飽和しているか、完全に不飽和で、場合によっては、酸素、イオウ、窒素の中から独立に選択した1~3個のヘテロ原子を持つ3~8員の環を形成し、その中の(C₁~C₆)アルキルとその環は、場合によっては、ハロ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、シアノ、オキソ、カルボキシ、(C₂~C₆)アルケニル、(C₃~C₆)アルキニル、(C₁~C₆)アルキルカルボニルアミノ、ヒドロキシ、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₁~C₄)アルキルチオ、モノ-N-(C₁~C₆)アルキルアミノ、ジ-N,N-(C₁~C₆)アルキルアミノで一置換、または二置換、または三置換されるが、1'-(アントラセン-9-カルボニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(1-オキサ-2,3-ジアザ-シクロペンタ[a]ナフタレン-5-スルホニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(5-ジメチルアミノ-ナフタレン-1-スルホニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(9,10,10-トリオキソ-9,10-ジヒドロ-チオキサンテン-3-カルボニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミド；1'-(2-オキソ-2H-クロメン-3-カルボニル)-[1,4']ピペリジニル-3-カルボン酸ジエチルアミドは含まれない。

10

【0183】

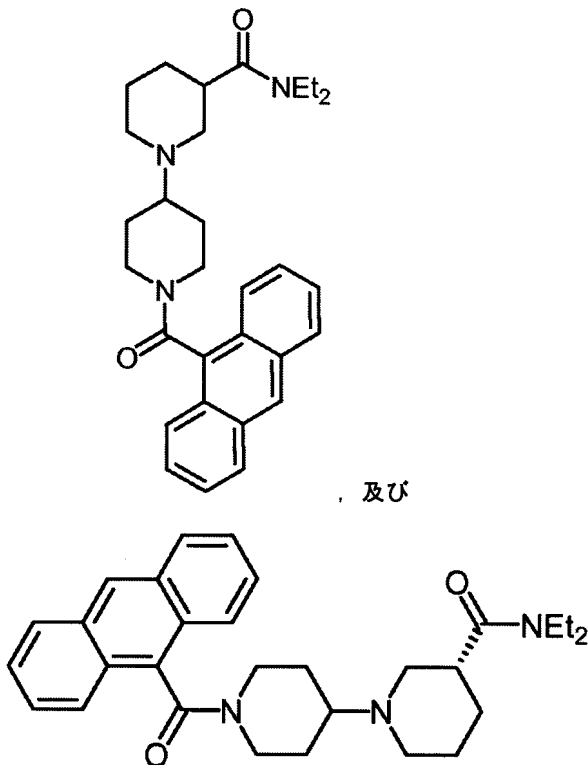
構造(XIII)の化合物は、当業者に知られている有機合成法と、国際特許公開WO 03/07 2197(その全体が参考としてこの明細書に組み込まれている。特に103ページ14行目~160ページ17行目)に記載されている方法を利用して製造することができる。さらに、これら化合物の具体例をこの公開文献に見いだすことができる。

【0184】

構造(XIII)の化合物の別の具体例は、

20

【化77】



30

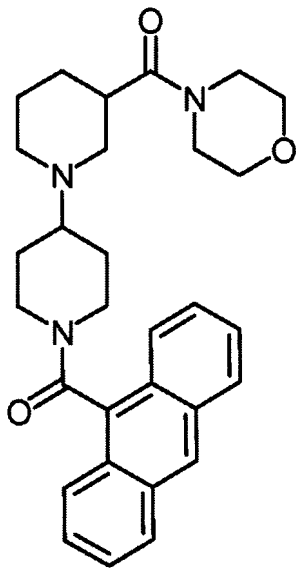
40

であり、CP-610431としても知られる。

【0185】

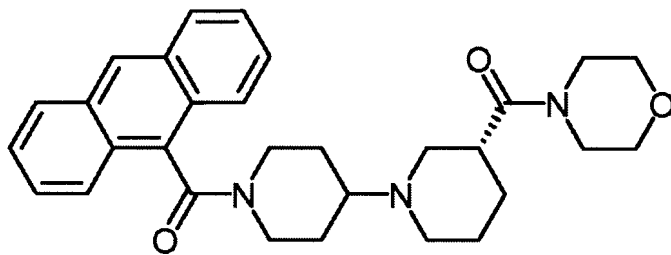
構造(XIII)の化合物の別の具体例は、

【化 7 8】



10

, 及び



20

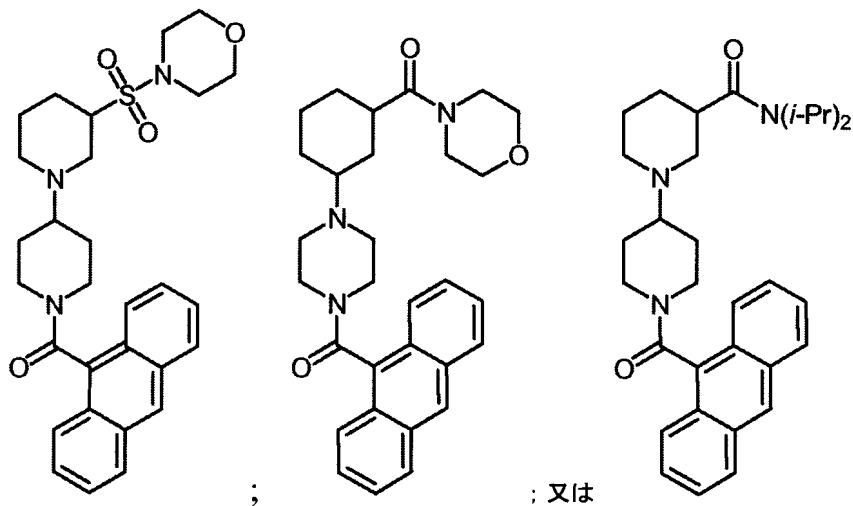
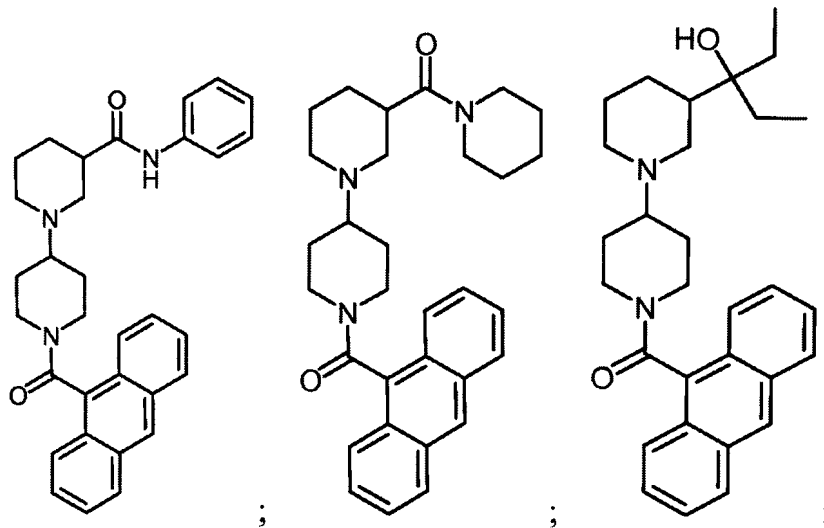
であり、CP-640186としても知られる。

【 0 1 8 6】

別の一実施態様では、構造 (XIII) の化合物は、

30

【化 7 9】



である。

【0187】

一実施態様では、構造 (XIII) の化合物は、CP-610431ではない。

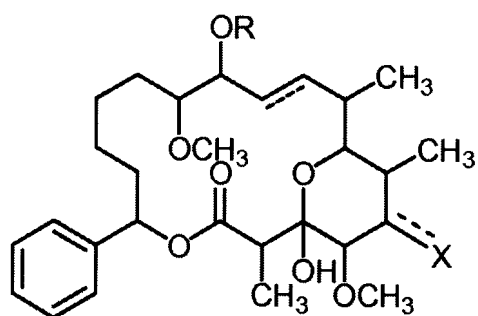
【0188】

別の一実施態様では、構造 (XIII) の化合物は、CP-640186ではない。

【0189】

一実施態様では、ACC阻害剤は、以下の構造 (XIV) を持つ化合物：

【化 8 0】



(XIV)

10

である。

【 0 1 9 0】

この一般式において、点線は、飽和結合または二重結合を独立に表わし、Rは、水素、 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル（置換されていないか、水素または $(C_1 \sim C_3)$ アルコキシで置換されている）のいずれかであり、

20

Xは、結合が飽和している場合には-OHであり、不飽和結合が存在している場合には、 $=O$ 、 $=N-OY$ 、 $=N-N(R_1)(R_2)$ のいずれかであり、

Yは、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_3 \sim C_6)$ アルキニル、アシル基- $C(O)Z$ のいずれかであり、

その中のZは、フェニルであるか、ハロゲンまたは $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシで置換された $(C_1 \sim C_6)$ アルキル基であるか、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルケニル、 $(C_2 \sim C_6)$ アルキニルのいずれかであり；

R_1 は、水素または $(C_1 \sim C_6)$ アルキルであり、

R_2 は、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、フェニル、カルバモイル($CONH_2$)、 $-COA$ 、 $-SO_2-R_3$ のいずれかであり、

30

R_3 は、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、置換されていないフェニル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキルで置換されたフェニルのいずれかである。

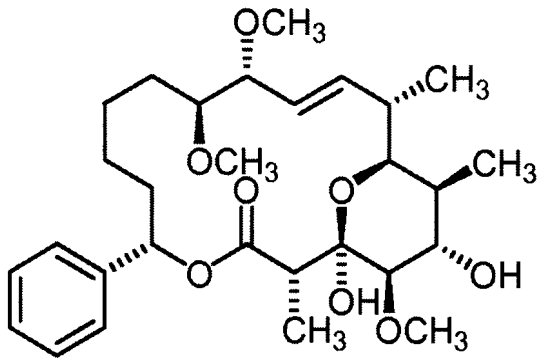
【 0 1 9 1】

構造(XIV)の化合物は、当業者に知られている有機合成法と、Bohlendorfらが記載している方法（アメリカ合衆国特許第5,026,878号）（その全体が参考としてこの明細書に組み込まれている。特に10列25行目～16列14行目）を利用して製造することができる。さらに、これら化合物の具体例をこの公開文献に見いだすことができる。

【 0 1 9 2】

構造(XIV)の化合物の1つの具体例は、

【化 8 1】



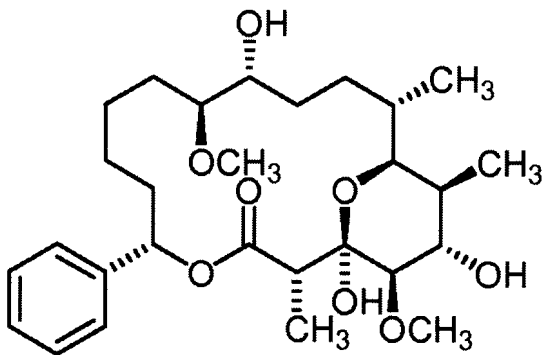
10

であり、ソラフェンAとしても知られている。

【 0 1 9 3】

特別な一実施態様では、構造 (XIV) の化合物は、

【化 8 2】



20

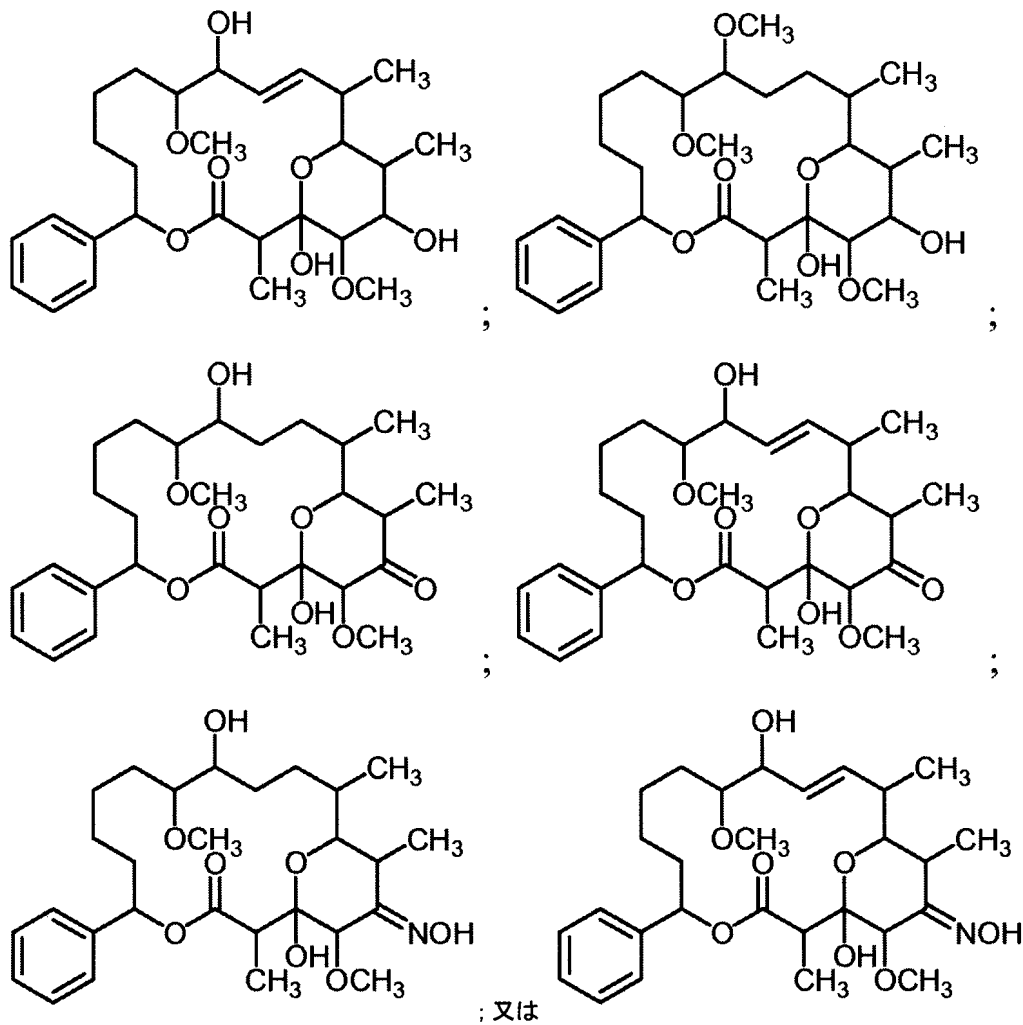
であり、ソラフェンBとしても知られている。

【 0 1 9 4】

別の一実施態様では、構造 (XIV) の化合物は、

30

【化 8 3】



10

20

30

である。

【0195】

一実施態様では、構造(XIV)の化合物は、ソラフェンAではない。

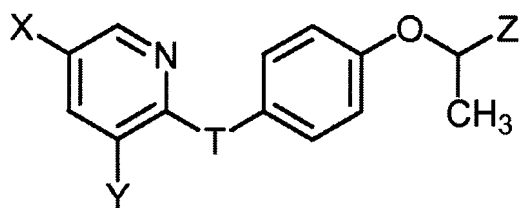
【0196】

一実施態様では、構造(XIV)の化合物は、ソラフェンBではない。

【0197】

一実施態様では、宿主細胞標的酵素のモジュレータは、以下の構造(XV)を持つACC阻害剤：

【化 8 4】



40

である。ただし、Tは、酸素またはイオウであり；

50

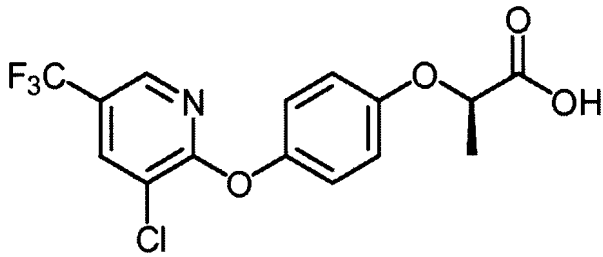
- Xは、Cl、Br、CF₃のいずれかであり；
 Yは、H、Cl、Br、CF₃のいずれかだが、XとYの少なくとも一方はCF₃であり；
 Zは、-C(O)OR₁、-C(O)NR₂R₃、-C(O)O⁻M⁺、-C(O)SR₄、-CNのいずれかであり；
 R₁は、H、(C₁~C₈)アルキル、ベンジル、クロロベンジル、(C₃~C₆)アルコキシアルキルのいずれかであり；
 R₄は、(C₁~C₄)アルキルであり；
 R₅は、Hまたは(C₁~C₄)アルキルであり；
 R₆は、(C₁~C₇)アルキルであり；
 Mは、NHR₂R₃R₇、Na、K、Mg、Caのいずれかであり；
 R₂とR₃は、それぞれ独立に、R₇または-OCH₃の中から選択されるが、R₂とR₃の両方が同時に-OCH₃になることはできず、-NHR₂R₃R₇の中では-OCH₃ではなく；
 R₇は、H、(C₁~C₄)アルキル、(C₂~C₃)ヒドロキシアルキルのいずれかである。

10

【0198】

構造(XV)の化合物の具体的な一例は、

【化85】



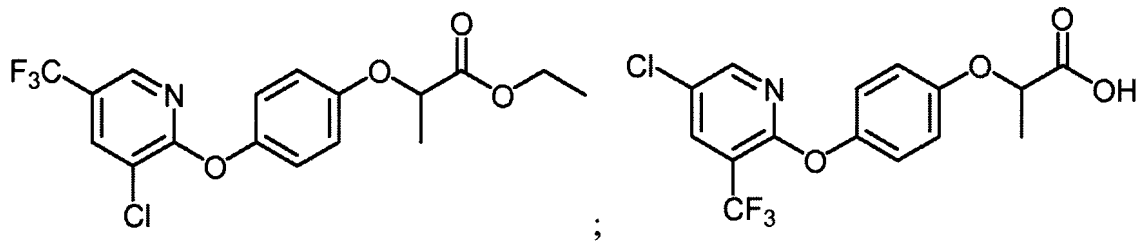
20

であり、ハロキシフォップとしても知られている

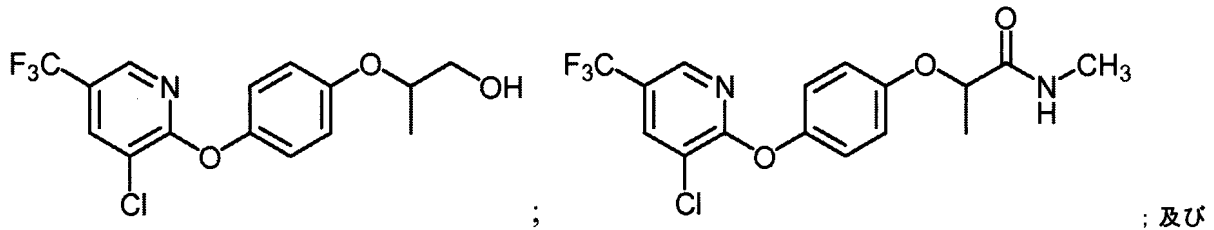
【0199】

別の一実施態様では、構造(XV)の化合物は、

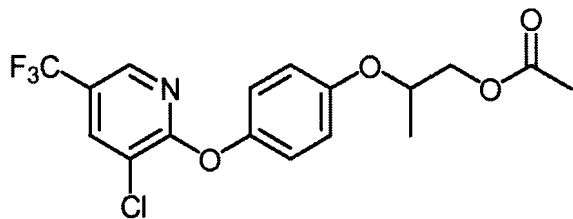
【化 8 6】



10



; 及び



20

である。

【 0 2 0 0】

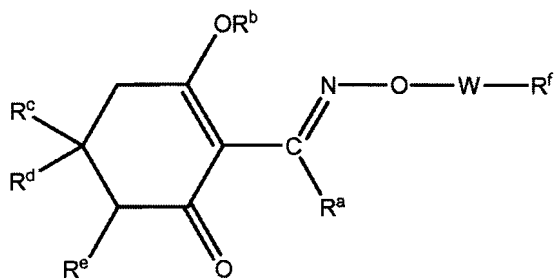
一実施態様では、構造 (XV) の化合物は、ハロキシフォップではない。

【 0 2 0 1】

一実施態様では、宿主細胞標的酵素のモジュレータは、以下の構造 (XVI) を持つ化合物：

30

【化 8 7】



(XVI)

40

である。ただし、 R^a は、 $C_1 \sim C_6$ -アルキルであり；

R^b は、水素、農業で有用なカチオンの1当量、 $C_2 \sim C_8$ -アルキルカルボニルオキシ、 $C_1 \sim C_{10}$ -アルキルスルホニル、 $C_1 \sim C_{10}$ -アルキルホスホニル、ベンゾイル、ベンゼンスルホニル、ベンゼンホスホニルのいずれかであり、最後の3つの基はそれぞれがさらに1~5個の水素原子を備えていてもよく；

R^c は、水素、シアノ、ホルミル、 $C_1 \sim C_6$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ- $C_1 \sim C_6$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルキルチオ- $C_1 \sim C_6$ -アルキル、フェノキシ- $C_1 \sim C_6$ -アルキル、フェニルチ

50

オ-C₁~C₆-アルキル、ピリジルオキシ-C₁~C₆-アルキル、ピリジルチオ-C₁~C₆-アルキルのいずれかであり、その中のフェニル環とピリジル環は、それぞれが、ニトロ、シアノ、ハロゲン、C₁~C₄-アルキル、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、C₁~C₄-アルコキシ、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルコキシ、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルコキシ、C₁~C₄-アルキルチオ、C₃~C₆-アルケニル、C₃~C₆-アルケニルオキシ、C₃~C₆-アルキニル、C₃~C₆-アルキニルオキシ、-NR^hからなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよく；

その中のR^gは、水素、C₁~C₄-アルキル、C₃~C₆-アルケニル、C₃~C₆-アルキニル、C₁~C₆-アシル、ベンゾイルのいずれかであり、これらは、ニトロ、シアノ、ハロゲン、C₁~C₄-アルキル、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、C₁~C₄-アルコキシ、C₁~C₄-アルキルチオからなるグループの中から選択した1~3個の基を備えていてもよく、

R^hは、水素、C₁~C₄-アルキル、C₃~C₆-アルケニル、C₃~C₆-アルキニルのいずれかであるか；C₃~C₇-シクロアルキルまたはC₅~C₇-シクロアルケニル（これら2つの基は、ヒドロキシル、ハロゲン、C₁~C₄-アルキル、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、C₁~C₄-アルコキシ、C₁~C₄-アルキルチオ、ベンジルチオ、C₁~C₄-アルキルスルホニル、C₁~C₄-アルキルスルフェニル、C₁~C₄-アルキルスフィニルからなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよい）であるか；ヘテロ原子として、1個または2個の酸素原子またはイオウ原子か、1個の酸素原子と1個のイオウ原子を含んでいて、C₁~C₄-アルキル、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、C₁~C₄-アルコキシ、C₁~C₄-アルキルチオからなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよい5員の飽和複合環構造であるか；ヘテロ原子として、1個または2個の酸素原子またはイオウ原子か、1個の酸素原子と1個のイオウ原子を含んでいて、ヒドロキシル、ハロゲン、C₁~C₄-アルキル、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、C₁~C₄-アルコキシ、C₁~C₄-アルキルチオからなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよい6員または7員の飽和複合環構造か、一不飽和または二不飽和の複合環構造であるか；1個または2個の窒素原子と、1個の酸素原子またはイオウ原子からなるグループの中から選択した1~3個のヘテロ原子を含んでいて、シアノ、ハロゲン、C₁~C₄-アルキル、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、C₁~C₄-アルコキシ、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルコキシ、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルコキシ、C₁~C₄-アルキルチオ、C₃~C₆-アルケニル、C₃~C₆-アルケニルオキシ、C₃~C₆-アルキニルオキシ、C₁~C₄-アルコキシ-C₁~C₄-アルキル、フェニル、ピリジル（フェニルとピリジルは、それぞれ、ニトロ、シアノ、ホルミル、ハロゲン、C₁~C₄-アルキル、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルキル、C₁~C₄-アルコキシ、一部がハロゲン化されたC₁~C₄-アルコキシ、完全にハロゲン化されたC₁~C₄-アルコキシ、C₁~C₄-アルキルチオ、C₃~C₆-アルケニル、C₃~C₆-アルケニルオキシ、C₃~C₆-アルキニル、C₃~C₆-アルキニルオキシ、-NR^gR^h（ただしR^gとR^hは、上記の意味を持つ）からなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよい）からなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよい5員のヘテロ芳香族構造であり；

R^dは、水素、ヒドロキシル、C₁~C₆-アルキルのいずれかであり；

R^eは、水素、ハロゲン、シアノ、C₁~C₄-アルコキシカルボニル、C₁~C₄-アルキルケトキシムのいずれかであり；

Wは、C₁~C₆-アルキレン鎖、C₃~C₆-アルケニレン鎖、C₃~C₆-アルキニレン鎖（それぞれは、3つのC₃~C₆-アルキル置換基、3つの水素原子、1つのメチレン置換基からなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよい）のいずれかであるか；C₃~C₆-アルケニレン鎖またはC₃~C₆-アルキニレン鎖（その両方とも、1~3個のC₃~C₆-アルキル基をさらに備えていてもよい）であり、それぞれの場合に鎖の1つのメチレン基は、酸素原子、イオウ原子、スルホキシル基、スルホニル基、-N(Rⁱ)-基（ただしRⁱは、

10

20

30

40

50

水素、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_3 \sim C_6$ -アルケニル、 $C_3 \sim C_6$ -アルキニルのいずれかである)のいずれかで置換されていてもよく;

R^f は、水素; $C_1 \sim C_6$ -アルキル;ビニル;-CH=CH-Z基(ただしZは、シアノ、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_3 \sim C_6$ -シクロアルキル(このシクロアルキルは、望むのであれば、ヒドロキシル、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシからなるグループの中から選択した1~3個の基を備えていてもよい)のいずれかである);カルボキシル、 $C_1 \sim C_8$ -アルコキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、フェニル、チエニル、ピリジル(最後の3つの芳香族基は、置換されていなくてもよいし、ニトロ、シアノ、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$ -アルキルチオ、 $C_3 \sim C_6$ -シクロアルキル(このシクロアルキル置換基は、置換されていなくてもよいし、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシからなるグループの中から選択した1~3個の基を備えていてもよい)からなるグループの中から選択した1~3個の置換基を備えていてもよい); $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_3 \sim C_6$ -シクロアルキル(このシクロアルキルは、望むのであれば、ヒドロキシ、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、フェニル、チエニル、ピリジル(最後の3つの芳香族基は、置換されていなくてもよいし、ニトロ、シアノ、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$ -アルキルチオからなるグループの中から選択した1~3個の基を備えていてもよい)のうちの1つの基を備えていてもよいエチニル;フェニル、ハロフェニル、ジハロフェニル、5員のヘテロ芳香族基(1~3個の窒素原子と1個の酸素原子またはイオウ原子からなるグループの中から選択した1~3個のヘテロ原子を有する)、6員のヘテロ芳香族基(1~4個の窒素原子を持ち、そのすべてが同時に隣り合っていない)のいずれかであり;フェニル基とヘテロアリール基は、望むのであれば、ニトロ、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$ -アルキルチオ、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、Z基、 $-NR^kR^l$ からなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよく;

R^k は、水素、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_3 \sim C_6$ -アルケニル、 $C_3 \sim C_6$ -アルキニルのいずれかであり;

R^l は、水素、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_3 \sim C_6$ -アルケニル、 $C_3 \sim C_6$ -アルキニル、 $C_1 \sim C_6$ -アシル、ベンゾイルのいずれかでありこれらは、望むのであれば、ニトロ、シアノ、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ -アルキル、一部がハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、完全にハロゲン化された $C_1 \sim C_4$ -アルキル、 $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$ -アルキルチオからなるグループの中から選択した1~3個の基をさらに備えていてもよい。

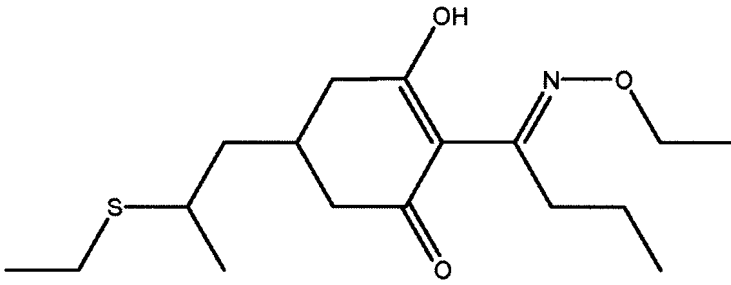
【0202】

構造(XVI)の化合物は、当業者に知られている有機合成法と、1996年2月13日に発行されたアメリカ合衆国特許第5,491,123号(その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている。特に11列62行目~13列5行目)に記載されている方法を利用して製造することができる。さらに、これら化合物の具体例をこの特許文献に見いだすことができる。構造(XVI)の化合物の別の例は、2002年5月7日に発行されたアメリカ合衆国特許第6,383,987号;2000年8月15日に発行されたアメリカ合衆国特許第6,103,664号;1982年6月15日に発行されたアメリカ合衆国特許第4,334,913号に見られる(そのそれぞれの全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている)。

【0203】

構造(XVI)の化合物の具体的な一例は、

【化 8 8】



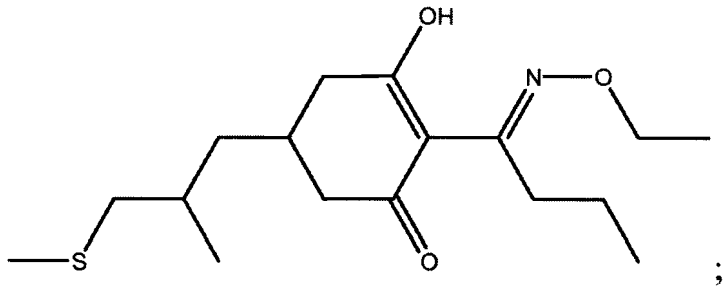
10

であり、セトキシジムとも呼ばれる。

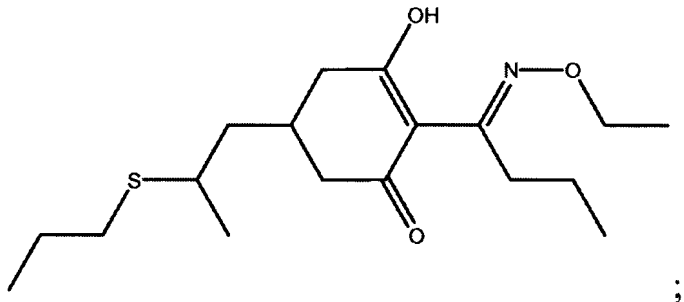
【 0 2 0 4】

別の一実施態様では、構造 (XVI) の化合物は、

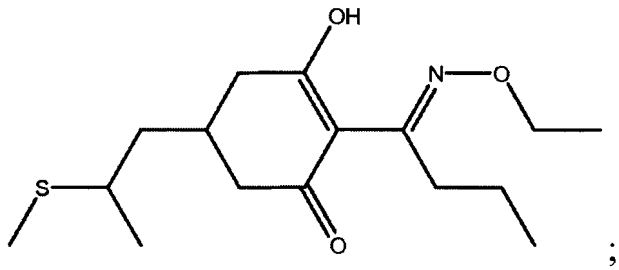
【化 8 9】



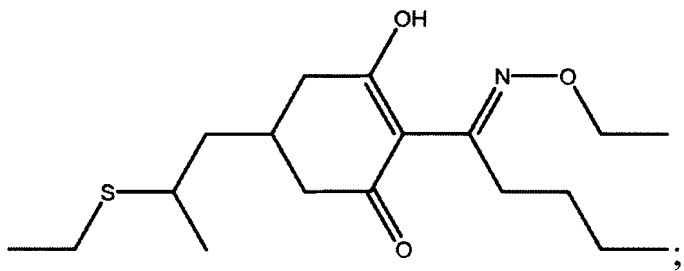
10



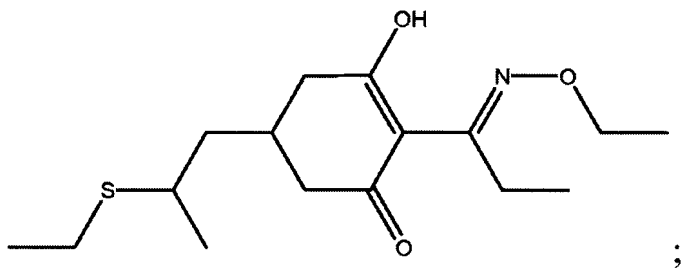
20



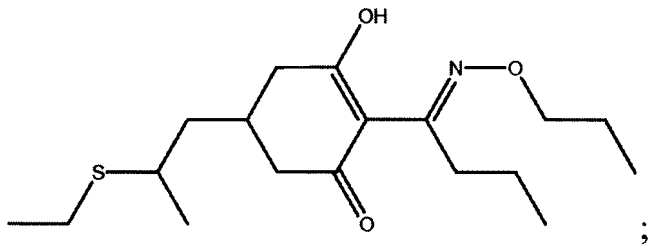
30



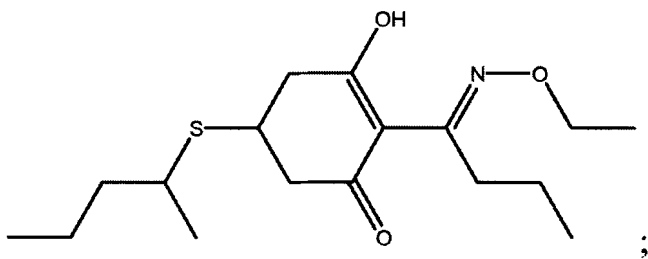
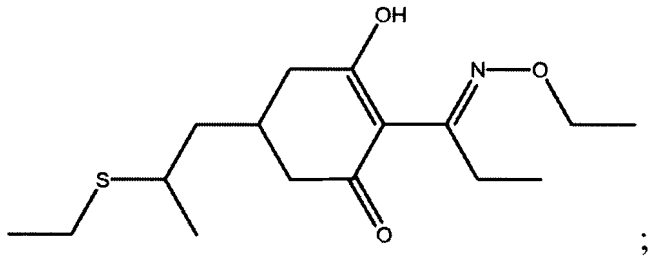
40



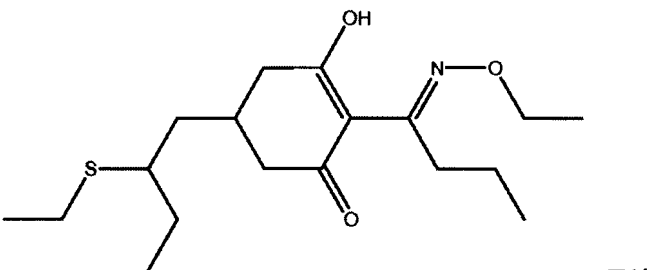
【化 9 0】



10

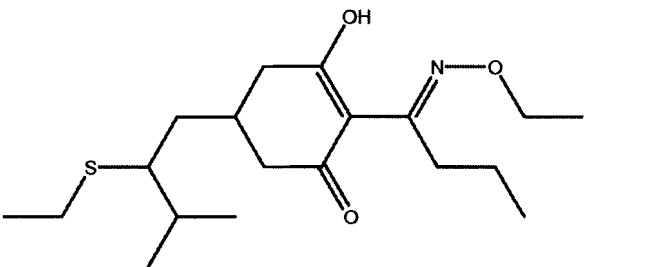


20



30

;又は



40

である。

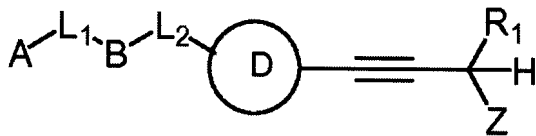
【 0 2 0 5 】

一実施態様では、構造 (XVI) の化合物はセトキシジムではない。

【 0 2 0 6 】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、以下の構造 (XVII) :

【化 9 1】



を持つACC阻害剤である化合物、またはその医薬として適切な塩、エステル、プロドラッグである。ただし、

Aは、アルケニル、アルコキシアルキル、アルキル、アリアル、アリアルアルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ハロアルキル、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルアルキル、ヘテロ環、ヘテロ環アルキルからなるグループの中から選択され；

Bは、アリアル環とヘテロアリアル環（これらの環は、場合によっては、ハロ、-ハロ、-OH、-NO₂、NHC(O)-(C₁~₆)アルキル、CHO、ビニル、アリル、(C₁~₆)ヒドロキシアルキル、NH₂、NH(C₁~₆)アルキル、N[(C₁~₆)アルキル]₂、CH=NOH、CH₂N[(C₁~₆)アルキル]₂、CNのいずれかで置換されていてよい）からなるグループの中から選択され；

Dは、アリアル環とヘテロアリアル環からなるグループの中から選択され；

L₁は、存在しないか、ヒドロキシアルキレン、-C(R_aR_b)-、-C(O)-、-C(O)O-、-C(O)NH-、-NR_c-、-NR_cCH₂-、-NR_cC(O)-、-NR_cC(O)-O-、-NH-N=CH-、-NR_cS(O)₂-、-O-、-OC(O)NH-、-OC(O)-、-O-N=CH-、-S-、-S(O)₂-、-S(O)₂NH-からなるグループの中から選択され；

L₂は、-C(R_dR_e)-、-(CH₂)_n-、-NH-、-O-、-S-からなるグループの中から選択され；

nは、1、2、3のいずれかであり；

Zは、アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシアルキル、R_g-O-、R_j-NH-からなるグループの中から選択された要素であり；

R₁は、水素、(C₁~₆)ハロアルキル、(C₁~₆)アルキルのいずれかであり；R_aとR_bは、それぞれ個別に、水素、アルキル、ハロアルキル、ヒドロキシからなるグループの中から選択されるか、R_aとR_bは、これらの基が結合する原子と合わさってR_f-N=を形成し；

R_cは、水素、アルキル、アリアル、ハロアルキル、ヘテロアリアルからなるグループの中から選択され；

R_dは、アルキル、ハロアルキル、ヒドロキシ、ハロからなるグループの中から選択され；

R_eは、水素、アルキル、ハロアルキル、ヒドロキシ、ハロからなるグループの中から選択されるか、R_dとR_eは、これらの基が結合する原子と合わさってオキソを形成し；

R_fは、アルコキシ、アリアルオキシ、ヘテロアリアルオキシ、ヒドロキシからなるグループの中から選択され；

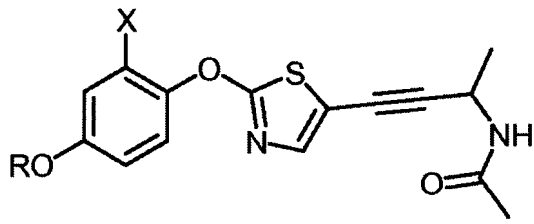
R_gは、H₂N-C(O)-または(C₁~₆)アルキルHN-C-(O)-であり；

R_jは、アルキルカルボニル、アルキル-NH-C(O)-、アルコキシアルキル、アルコキシアルキルカルボニル、アルコシカルボニル、アルコシカルボニル-NH-アルキル-NHC(O)-、アルコキシ-NH-C(O)-、シアノアルキルカルボニル、ヒドロキシ、HONH-C(O)-、H₂NC(O)-、H₂NC(=NH)-、H₂NC(O)アルキル-NHC(O)-、H₂N-O-C(O)-、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルカルボニル、ヘテロ環、ヘテロ環カルボニルからなるグループの中から選択された要素である。

【0207】

構造 (XVII) の一実施態様は、構造 (XVIIa) :

【化 9 2】



10

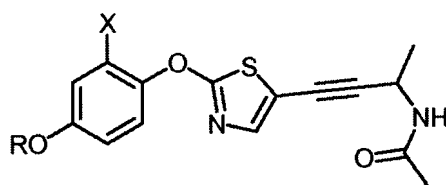
である。ただし、Rは、 $(C_1 \sim 6)$ アルキル、 $(C_1 \sim 6)$ アルキル-シクロアルキル、 $(C_1 \sim 6)$ アルキル-ヘテロアリアル、 $(C_1 \sim 6)$ アルキル-ヘテロシクロアルキルであり；Xは、-ハロ、-OH、 $-NO_2$ 、 $NHC(O)-(C_1 \sim 6)$ アルキル、CHO、ビニル、アリル、 $(C_1 \sim 6)$ ヒドロキシアルキル、 NH_2 、 $NH(C_1 \sim 6)$ アルキル、 $N[(C_1 \sim 6)$ アルキル] $_2$ 、 $CH=NOH$ 、 $CH_2N[(C_1 \sim 6)$ アルキル] $_2$ 、C Nのいずれかである。

【0208】

構造 (XVIIa) の具体的な実施態様を以下の表に提示する。

【0209】

【表 7】



XVIIa

10

化合物	R	X
XIVa1	i-Pr	H
XIVa2	i-Bu	H
XIVa3	Pr	H
XIVa4	CH ₂ (シクロプロピル)	H
XIVa5	シクロヘキシル	H
XIVa6	CH ₂ (シクロヘキシル)	H
XIVa7	CH ₂ (テトラヒドロフラン-3-イル)	H
XIVa8	i-Pr	Cl
XIVa9	i-Bu	Cl
XIVa10	Pr	Cl
XIVa11	CH ₂ (シクロプロピル)	Cl
XIVa12	シクロヘキシル	Cl
XIVa13	CH ₂ (シクロヘキシル)	Cl
XIVa14	CH ₂ (テトラヒドロフラン-3-イル)	Cl
XIVa15	i-Bu	F
XIVa16	i-Bu	Br
XIVa17	i-Bu	Me
XIVa18	i-Bu	NO ₂
XIVa19	i-Bu	NH ₂
XIVa20	i-Bu	NHCOMe
XIVa21	i-Bu	CHO
XIVa22	i-Bu	CH=NOH
XIVa23	i-Bu	CN
XIVa24	i-Bu	ビニル
XIVa25	i-Bu	CH ₂ OH
XIVa26	i-Bu	CH ₂ NMe ₂

20

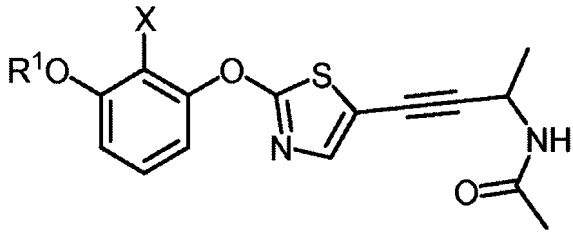
30

40

【 0 2 1 0 】

構造 (XVII) の別の実施態様は、構造 (XVIIb) :

【化 9 3】



10

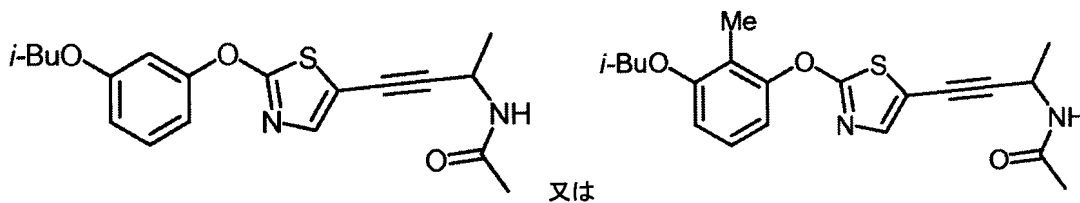
である。ただしRは、(C₁~₆)アルキル、(C₁~₆)アルキル-シクロアルキル、(C₁~₆)アルキル-ヘテロアリール、(C₁~₆)アルキル-ヘテロシクロアルキルであり；Xは、-H、-OH、-NO₂、NHC(O)-(C₁~₆)アルキル、CHO、ビニル、アリル、(C₁~₆)ヒドロキシアルキル、NH₂、NH(C₁~₆)アルキル、N[(C₁~₆)アルキル]₂、CH=NOH、CH₂N[(C₁~₆)アルキル]₂、CNのいずれかである。

【0211】

特別な一実施態様では、構造(XVIIb)の化合物は、

【化 9 4】

20



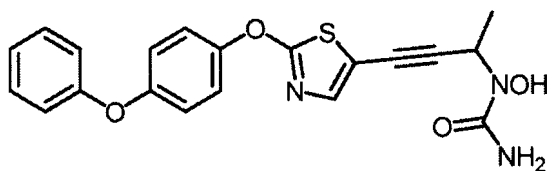
である。

30

【0212】

特別な一実施態様では、構造(XVII)の化合物は、

【化 9 5】



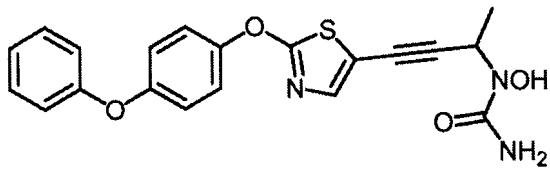
40

である。

【0213】

特別な一実施態様では、構造(XVII)の化合物は、

【化 9 6】



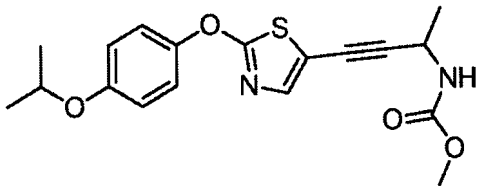
ではない。

10

【 0 2 1 4】

一実施態様では、構造 (XVII) の化合物は、

【化 9 7】



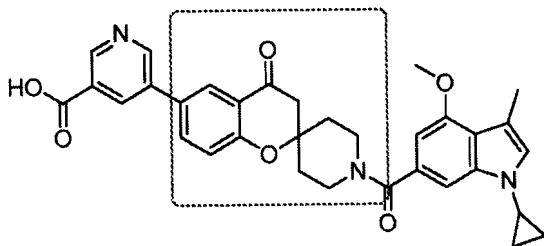
20

である。

【 0 2 1 5】

一実施態様では、ACC阻害剤は、以下の構造：

【化 9 8】

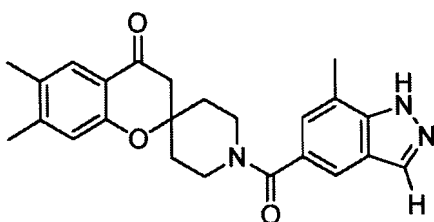


30

(WO 08/088688とアメリカ合衆国特許出願公開2008/171761参照) または

【化 9 9】

40



(WO 08/065508参照) を持つ。

【 0 2 1 6】

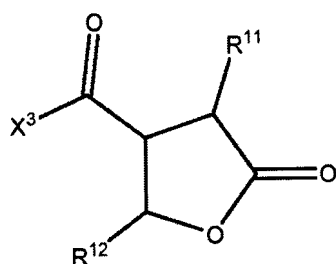
50

1.2.8 脂肪酸シンターゼ (FAS) 阻害剤

【0217】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、脂肪酸シンターゼ (FAS) の阻害剤である。一実施態様では、FAS阻害剤は、以下の構造 (XVIII) :

【化100】



(XVIII)

10

を持つ。ただし、

R^{11} は、H、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、アリールアルキル、アルキルアリール、 $=CHR^{13}$ 、 $-C(O)OR^{13}$ 、 $-C(O)R^{13}$ 、 $-CH_2C(O)OR^{13}$ 、 $-CH_2C(O)NHR^{13}$ (ただし R^{13} は、H、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、シクロアルキル、アルケニルのいずれかである) のいずれかであり；

20

R^{12} は、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、アリールアルキル、アルキルアリールのいずれかであり；

X^3 は、 OR^{14} または NHR^{14} である (ただし R^{14} は、H、 $C_1 \sim C_{20}$ アルキル、ヒドロキシアルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、アリールアルキル、アルキルアリールのいずれかであり、 R^{14} は、場合によっては、カルボニル基、カルボキシ基、カルボキサミド基、アルコール基、エーテル基のいずれかを含んでおり、 R^{14} は、場合によっては1個以上の水素原子をさらに含んでいる)。

30

【0218】

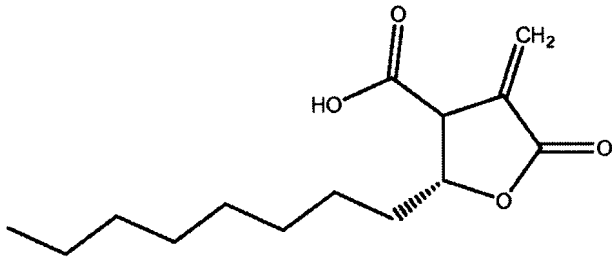
構造 (XVIII) の化合物は、当業者に知られている有機合成法と、2006年10月26日に公開されたアメリカ合衆国特許出願公開第2006/0241177号 (その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている。特に7~10ページと、図1、図2) に記載されている方法を利用して製造することができる。さらに、これら化合物の具体例をこの公開文献に見いだすことができる。構造 (XVIII) の化合物の別の例は、2004年5月21日に公開された国際特許公開WO 2004/041189；1997年5月29日に公開された国際特許公開WO 97/18806；2005年10月27日に公開されたアメリカ合衆国特許出願公開第2005/0239877号に見られる (そのそれぞれの全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている)。

【0219】

構造 (XVIII) の化合物の具体的な一例は、

40

【化 1 0 1】



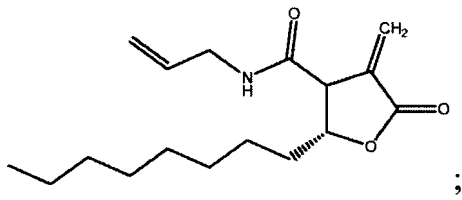
10

であり、C75（トランス-4-カルボキシ-5-オクチル-3-メチレン-ピチロラクトン）とも呼ばれる。

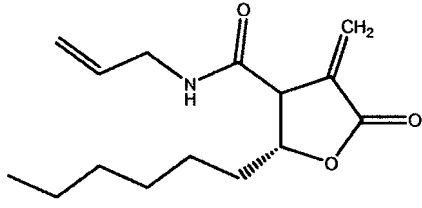
【 0 2 2 0】

別の実施態様では、構造（XVIII）の化合物は、

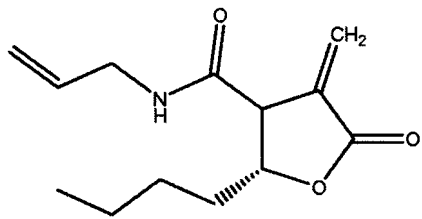
【化 1 0 2】



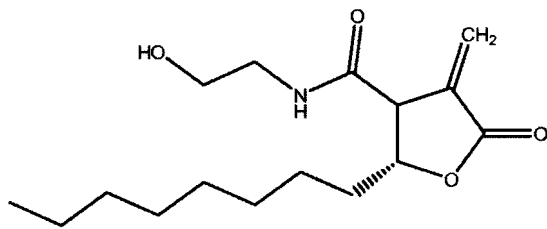
;



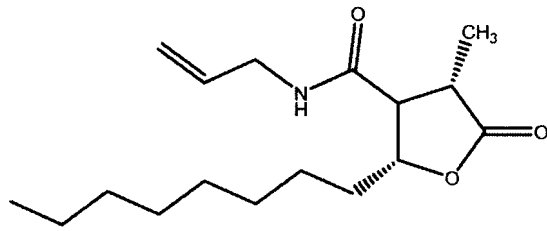
;



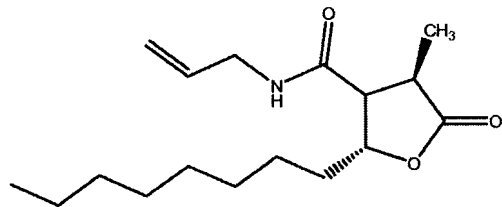
;



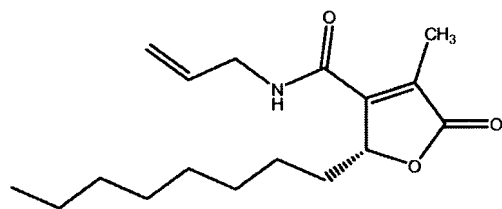
;



;



;又は



10

20

30

40

である。

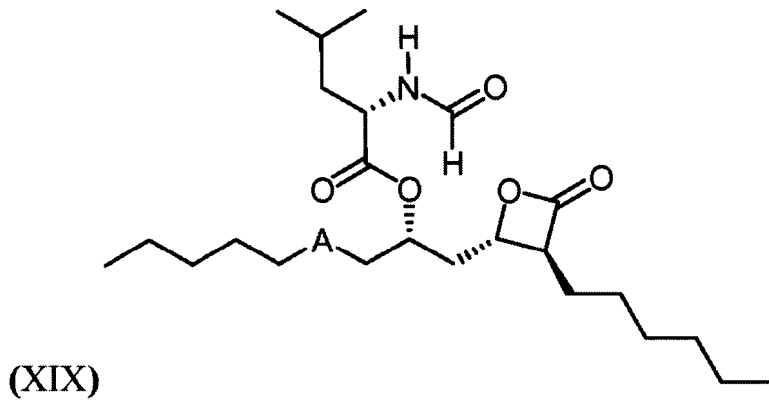
【 0 2 2 1】

一実施態様では、構造 (XVIII) の化合物はC75ではない。

【 0 2 2 2】

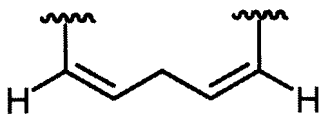
50

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、以下の構造 (XIX) を持つ化合物：
【化 1 0 3】



10

である。ただし、Aは、 $-(CH_2)_x$ 、または
【化 1 0 4】



20

であり、xは0~6である。

【0 2 2 3】

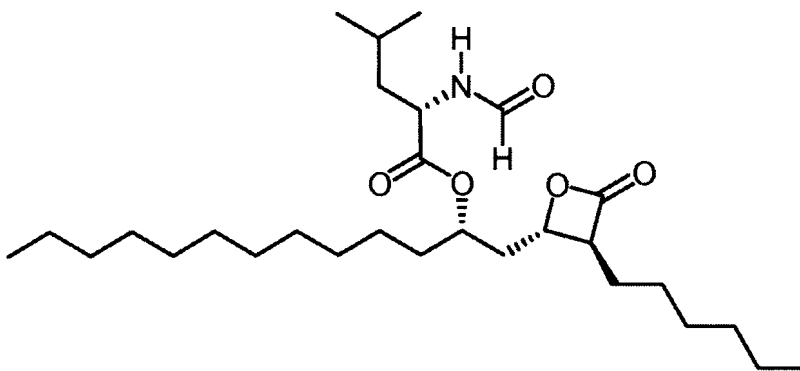
構造 (XIX) の化合物は、当業者に知られている有機合成法と、Hadvaryらが記載している方法 (アメリカ合衆国特許第4,958,089号。その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている。特に8列1行目~11ページ10行目) を利用して製造することができる。さらに、これら化合物の具体例をこの公開文献に見いだすことができる。

30

【0 2 2 4】

構造 (XIX) の化合物の具体的な一例は、

【化 1 0 5】



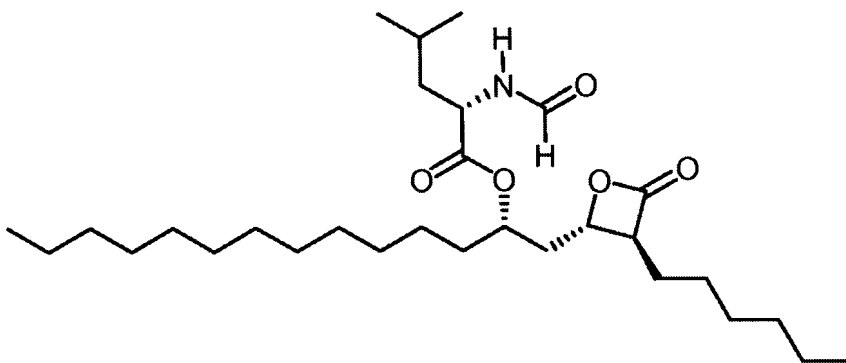
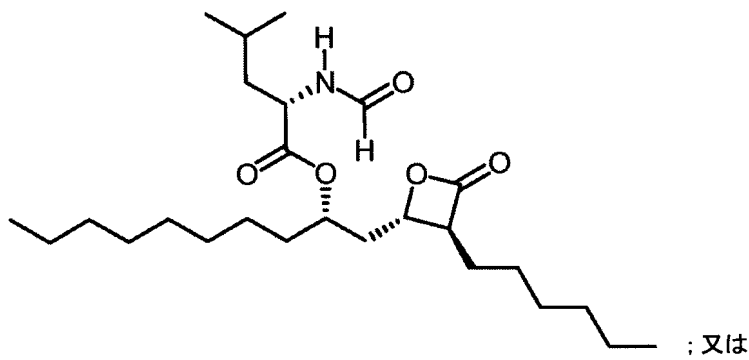
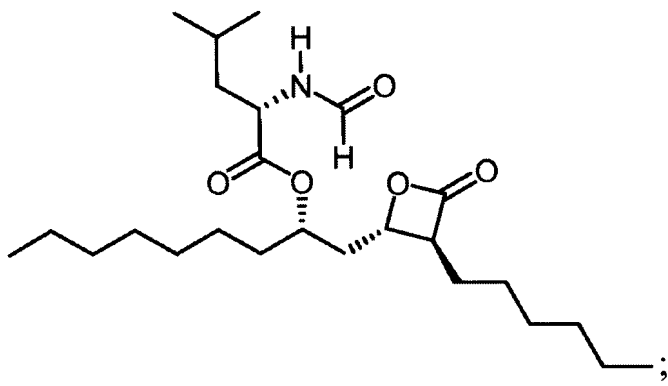
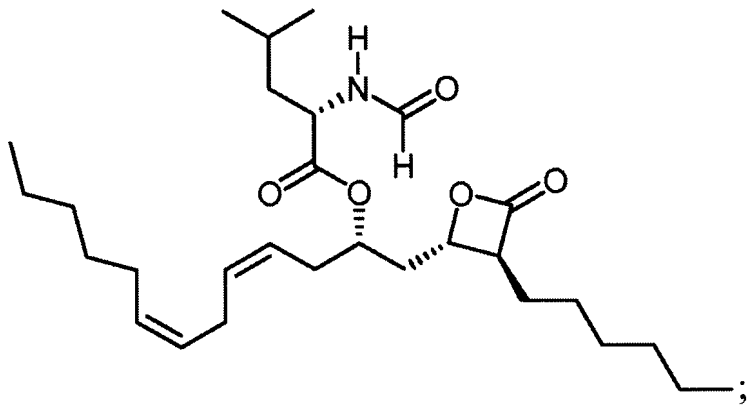
40

であり、オルリスタットとしても知られている。

【0 2 2 5】

50

別の実施態様では、構造 (XIX) の化合物は、
【化 106】



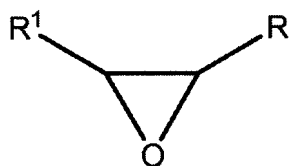
である。

【0226】

一実施態様では、構造 (XIX) の化合物はオルリスタットではない。

【0227】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、FASを抑制する以下の構造 (XX) :
【化 1 0 7】



(XX)

10

の化合物である。ただし、

Rは、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^2$ 、 $-\text{CONR}^3\text{R}^4$ 、 COR^5 の中から選択され(ただし、 R^2 は水素またはアルキル基であり、 R^3 と R^4 は、それぞれ独立に水素または低級アルキル基であり、 R^5 は、アミノ酸残基で、そのアミノ酸上の末端窒素を通じて結合したもの、または少なくとも2つのアミノ酸残基を有するペプチドである)；

R^1 は、アラルキル、アラルキル(低級アルキル)エーテル、 $\text{C}_5 \sim \text{C}_{13}$ アルキル(低級アルキル)エーテルのいずれかである。

【0 2 2 8】

20

構造 (XX) の化合物は、当業者に知られている有機合成法と、2000年11月28日に発行されたアメリカ合衆国特許第6,153,589号(その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている。特に4列21行目~17列21行目)を利用して製造することができる。さらに、これら化合物の具体例をこの特許文献に見いだすことができる。

【0 2 2 9】

一実施態様では、構造 (XX) の化合物は、レトロウイルスに対する活性を持たない。

【0 2 3 0】

別の一実施態様では、構造 (XX) の化合物は、プロテアーゼをコードするウイルスに対する活性を持たない。

【0 2 3 1】

30

別の一実施態様では、構造 (XX) の化合物は、C型レトロウイルス、D型レトロウイルス、HTLV-1、HTLV-2、HIV-1、HIV-2、マウス白血病ウイルス、マウス乳腺腫瘍ウイルス、ネコ白血病ウイルス、ウシ白血病ウイルス、ウマ感染性貧血ウイルス、トリ肉腫ウイルス(例えばラウス肉腫ウイルス)に対する活性を持たない。

【0 2 3 2】

別の一実施態様では、構造 (XX) の化合物は、2R-シス-ノニルオキシランメタノール、2S-シス-ノニルオキシランメタノール、2R-シス-ヘプチルオキシランメタノール、2S-シス-ヘプチルオキシランメタノール、2R-シス-(ヘプチルオキシメチル)オキシランメタノール、2S-シス-(ヘプチルオキシメチル)オキシランメタノール、2-シス-ウンデシルオキシランメタノール、2R-シス-(ベンジルオキシメチル)オキシランメタノール、2S-シス-(ベンジルオキシメチル)オキシランメタノール、シス-2-エポキシデセン、2R-トランス-ノニルオキシランメタノール、2S-トランス-ノニルオキシランメタノール、2R-トランス-ヘプチルオキシランメタノール、2S-トランス-ヘプチルオキシランメタノール、2R-トランス-ウンデシルオキシランメタノール、2S-トランス-ウンデシルオキシランメタノール、2-トランス-ウンデシルオキシランメタノール、2R-シス-ノニルオキシランカルボン酸、2S-シス-ノニルオキシランカルボン酸、2R-シス-ヘプチルオキシランカルボン酸、2S-シス-ヘプチルオキシランカルボン酸、2-シス-ウンデシルオキシランカルボン酸、2R-トランス-ノニルオキシランカルボン酸、2S-トランス-ノニルオキシランカルボン酸、2R-トランス-ウンデシルオキシランカルボン酸、2S-トランス-ウンデシルオキシランカルボン酸、2R-シス-ノニルオキシランカルボキシアミド、2S-シス-ノニルオキシランカルボキシアミド

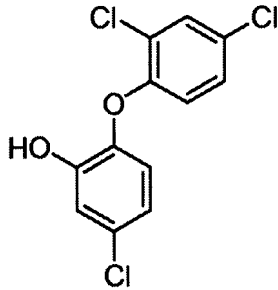
40

50

、N,N-ジエチル-2R-シス-ノニルオキシランカルボキシアミド、N-(2R-シス-ノニルオキシランアシル)-L-プロリンメチルエステルのいずれかである。

【0233】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、FASを抑制する以下の構造（XXI）：
【化108】



10

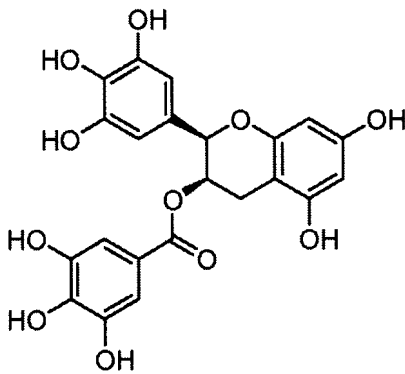
の化合物であり、トリクロサンとも呼ばれる。

【0234】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、FASを抑制する以下の構造（XXII）：
：

20

【化109】



30

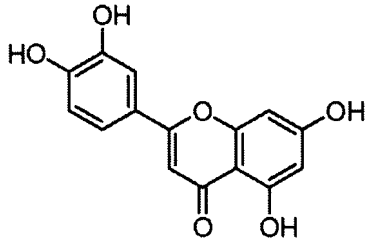
の化合物であり、エピガロカテキン-3-ガレートとも呼ばれる

【0235】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、天然のフラボノイドである。特別な
一実施態様では、化合物は、以下に示す天然のフラボノイド：

40

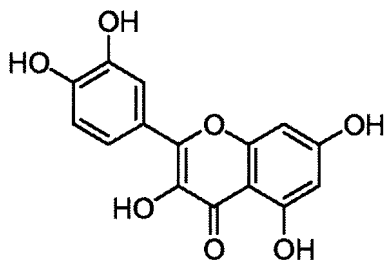
【化 1 1 0】



10

(ルテオリンとも呼ばれる) ;

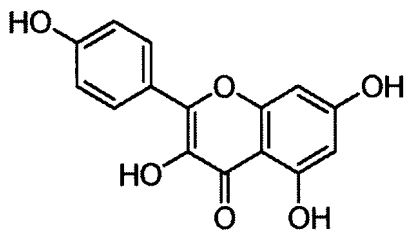
【化 1 1 1】



20

(ケルセチンとも呼ばれる)

【化 1 1 2】



30

(ケンペロールとも呼ばれる)

のうちの1つである。

【0 2 3 6】

一実施態様では、化合物はCBM-301106である。

【0 2 3 7】

1.2.9 HMG-CoAレダクターゼ阻害剤

【0 2 3 8】

特別な実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤である。HMG-CoAレダクターゼ阻害剤の例は従来からよく知られており、メバスタチンとその関連分子（例えばアメリカ合衆国特許第3,983,140号参照）；ロバスタチン（メビノリン）とその関連分子（例えばアメリカ合衆国特許第4,231,938号参照）；フルバスタチンとその関連分子；プラバスタチンとその関連分子（例えばアメリカ合衆国特許第4,346,227号参照）；シンバスタチンとその関連分子（例えばアメリカ合衆国特許第4,448,784号、第4,450,171号参照）；フルバスタチン（例えばアメリカ合衆国特許第5,354,772号参照）；セリバスタチン（例えばアメリカ合衆国特許第5,006,530号、第5,177,080号参照）；ア

50

トルバスタチン（例えばアメリカ合衆国特許第4,681,893号、第5,273,995号、第5,385,929号、第5,686,104号参照）；イタバスタチン（例えばアメリカ合衆国特許第5,011,930号参照）；塩野義-アストラ/ゼネカ社のピサスタチン（ZD-4522）（例えばアメリカ合衆国特許第5,260,440号参照）と、その関連スタチン化合物（例えばアメリカ合衆国特許第5,753,675号参照）；メバロノラクトン誘導体のピラゾール類似体（例えばアメリカ合衆国特許第4,613,610号参照）；メバロノラクトン誘導体のインデン類似体（国際特許出願公開WO 1986/03488）；6-[2-(置換されたピロール-1-イル)-アルキル]ピラン-2-オンとその誘導体（例えばアメリカ合衆国特許第4,647,576号参照）；メバロノラクトンのイミダゾール類似体であるSearle社のSC-45355（3-置換ペンタン二酸誘導体）ジクロロ酢酸（例えば国際特許出願WO 1986/07054参照）；3-カルボキシ-2-ヒドロキシ-プロパン-ホスホン酸誘導体；メバロノラクトンのナフチル類似体（例えばアメリカ合衆国特許第4,686,237号参照）；オクタヒドロナフタレン（例えばアメリカ合衆国特許第4,499,289号参照）；メビノリン（ロバスタチン）のケト類似体；ホスフィン酸化合物（例えばイギリス国特許第2205837号参照）；キノリン誘導体とピリジン誘導体（例えばアメリカ合衆国特許第5,506,219号、第5,691,322号参照）などがあるが、これらに限定されない。上記参考文献のそれぞれの全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている。例示したこれらHMG-CoAレダクターゼ阻害剤の構造は従来からよく知られている。

【0239】

1.2.10 セリンパルミトイルトランスフェラーゼ（SPT）の阻害剤

【0240】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレーターは、セリンパルミトイルトランスフェラーゼ（SPT）の阻害剤である化合物、またはそのプロドラッグ、またはその化合物がそのプロドラッグの医薬として許容可能な塩かエステルである。一実施態様では、SPTの阻害剤は、ミリオシン、スフィンゴフンギンB、スフィンゴフンギンC、スフィンゴフンギンE、スフィンゴフンギンF、リボキサマイシン、ピリジオフンギンA、スルファミステリン、NA255である。

【0241】

2. HCV関連要素のモジュレーター

【0242】

本発明によれば、抗ウイルス組み合わせ治療薬は、(i)この明細書に記載した宿主細胞標的のモジュレーターの1種類以上と、(ii)HCV関連要素のモジュレーターの1種類以上を含むものが投与される。組み合わせ治療薬の一部として宿主細胞標的のモジュレーターとともに投与される可能性のあるHCV関連要素のモジュレーターの組み合わせとして、例えば、HCVプロテアーゼ阻害剤とHCVヘリカーゼ（NS3）阻害剤、またはHCV関連要素のモジュレーターの別の組み合わせ（その場合にモジュレーターは、異なるHCV標的に作用する）がある。一実施態様では、組み合わせ治療薬により宿主細胞標的のモジュレーターが1種類以上とHCV関連要素のモジュレーターが2種類以上投与され、その2種類以上のHCV関連要素のモジュレーターは、同じHCV標的に作用するHCV関連要素のモジュレーターであった。

【0243】

HCV関連要素の活性を変化させる化合物は、ウイルスのタンパク質の機能に直接作用することによって、またはウイルスのタンパク質と直接相互作用する宿主細胞のタンパク質または核酸の機能に作用することによって、ウイルスの侵入および/または統合および/または増殖および/または産生を抑制または阻止する。この明細書に開示した抗ウイルス化合物は、当業者に知られている供給源から購入その他の方法で入手できる。HCV関連要素の活性を変化させる化合物は、この明細書に記載した宿主細胞標的のモジュレーターとは異なっており、宿主細胞標的のモジュレーターは、ウイルスのタンパク質や、ウイルスのタンパク質と直接相互作用する宿主細胞のタンパク質と核酸には直接作用しない。

【0244】

2.1 リバピリンと類似体

【0245】

10

20

30

40

50

リバビリンは、さまざまなDNAウイルスとRNAウイルスの感染を治療するのに用いられるヌクレオシド類似体である。リバビリンの類似体として、タリバビリン、ミゾリピン、ピラミジン、メリメポジブ、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノラートなどがある。

【0246】

2.2 HCVプロテアーゼ阻害剤

【0247】

HCVは、約3,000個のアミノ酸からなるポリタンパク質前駆体をコードする9.6kbプラス鎖RNAゲノムを有する。このポリタンパク質前駆体は、細胞のプロテアーゼとウイルスのプロテアーゼの両方によって開裂し、10種類の個別のタンパク質になる。その中には、4種類の構造タンパク質（C、E1、E2、p7）、6種類の非構造タンパク質（NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B）が含まれる。NS2と、NS3のプロテアーゼドメイン（アミノ酸810～1206）は、NS2/3を構成し、それが、アミノ酸1026と1027の間（NS2/NS3の境界）で自己触媒開裂する。NS3は、N末端のセリンプロテアーゼドメインと、C末端のヘリカーゼドメインからなる。NS3は、NS4Aと非共有結合複合体を形成し、4つの位置（NS3/4A（自己開裂）、NS4A/4B、NS4B/5A、NS5A/5B）でポリタンパク質前駆体を開裂させる。

10

【0248】

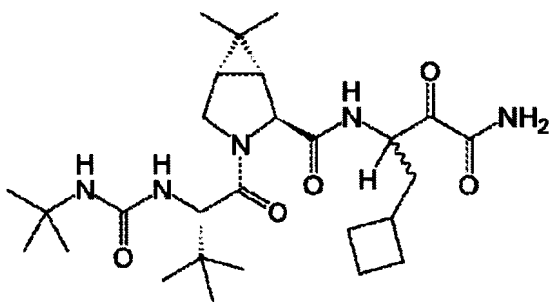
NS3/4Aセリンプロテアーゼは、HCVの初期固有免疫応答を回避する能力にも寄与する。NS3/4Aは、ウイルスによって誘導されるIFN調節因子3（IRF-3）（1型IFNの誘導において極めて重要な役割を果たす転写因子）の活性化を阻止することがわかっている。

【0249】

20

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を変化させる薬剤とHCVプロテアーゼ阻害剤を含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。HCVプロテアーゼ阻害剤として、

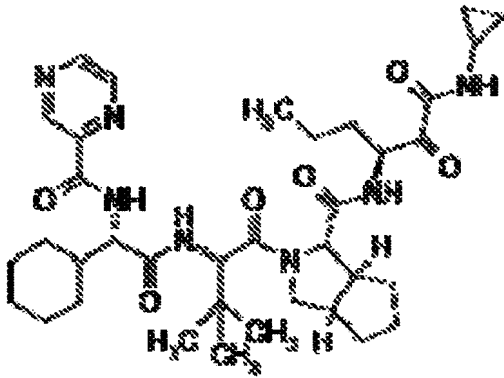
【化113】



30

ボセプレビル、

【化 1 1 4】



10

テラプレビル (VX-950)、

ITMN-191、SCH-900518、TMC-435、BI-201335、MK-7009、VX-500、VX-813、BMS650032、VY B376、R7227、VX-985、ABT-333、ACH-1625、ACH-2684、GS-9256、GS-9451、MK-5172、ABT-450などがあるが、これらに限定されない。

【 0 2 5 0】

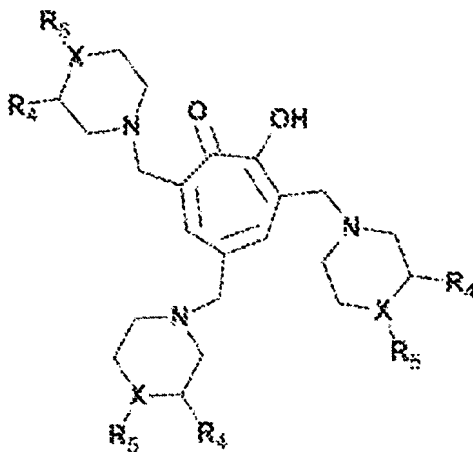
20

2.3 ヘリカーゼ (NS3) 阻害剤

【 0 2 5 1】

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を抑制する薬剤とHCVヘリカーゼ (NS3) 阻害剤を含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。HCVヘリカーゼ阻害剤として、以下の構造の化合物：

【化 1 1 5】



30

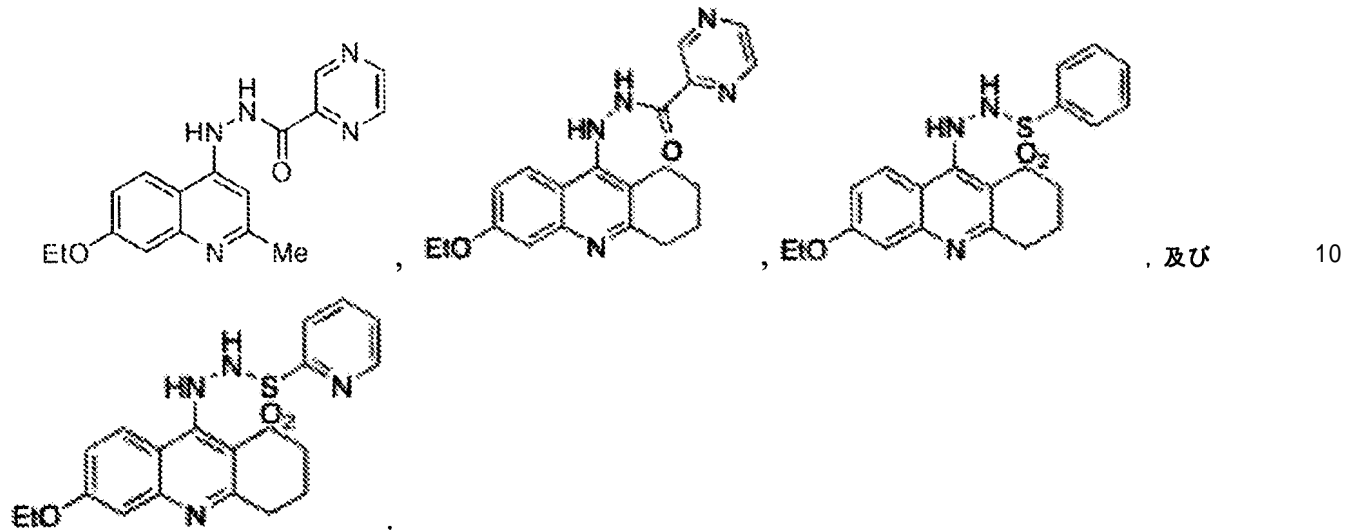
があるが、これに限定されない。ここに、XはN、R₄はH、R₅はCH₃であるか；XはCH、R₄はH、R₅はCH₃であるか；XはCH、R₄はCH₃、R₅はHである (Najda-Bernatowicz他、2010年、Bioorg. & Med. Chem.、第18巻(4)：5129～5136ページ参照)。

【 0 2 5 2】

別のNS3ヘリカーゼ阻害剤として、Gemmaら (Bioorg. Med. Chem. Lett. (2011年) 第21巻(9)：2776～2779ページ。この論文は、参考としてこの明細書に組み込まれている (特に表1参照)) が開示している化合物がある。そのような化合物として、

40

【化 1 1 6】



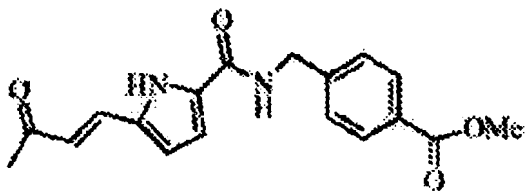
がある。

【 0 2 5 3】

20

別のNS3阻害剤は、

【化 1 1 7】



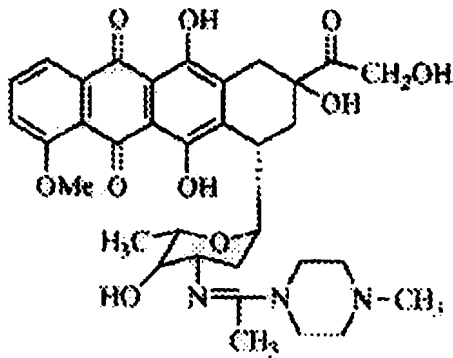
30

である (Kandil 他、2009年、Bioorg. Med. Chem. Lett.、第19巻(11)、2935 ~ 2937ページ参照)。

【 0 2 5 4】

別のNS3阻害剤は、

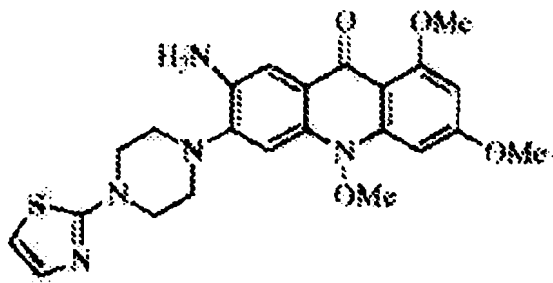
【化 1 1 8】



10

である (Krawczyk 他、2009年、Biol. Chem.、第390巻(4)、351～360ページ参照)。別のNS3阻害剤は、

【化 1 1 9】



20

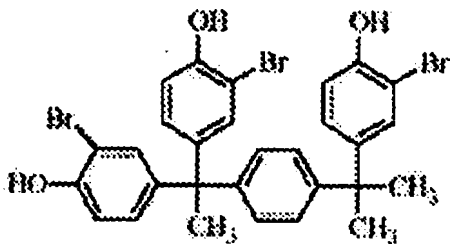
30

である (Manfroni 他、2009年、J. Med. Chem.、第52巻(10)、3354～3365ページ参照)。

【 0 2 5 5】

別のNS3阻害剤として、

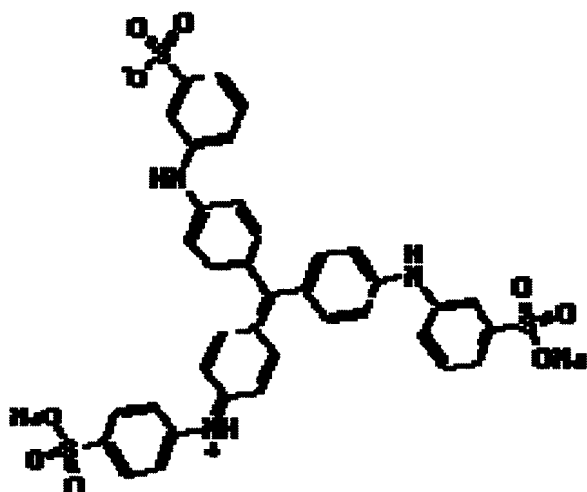
【化 1 2 0】



40

と、

【化 1 2 1】



10

(可溶性ブルーHT) (Chen他、2009年、J. Med. Chem.、第52巻、2716~2723ページ参照)がある。

20

【0 2 5 6】

一般に、NS3に関しては、細胞毒性がわずかであるか細胞毒性がない有効な抑制濃度となるようなHCVヘリカーゼ阻害剤を選択することが好ましい。しかし、細胞標的を変化させる薬剤とともに投与するとき、使用するNS3阻害剤を減らして細胞毒性を最少にすることができる。

【0 2 5 7】

2.4 非構造タンパク質 (NS4B、膜改変) 阻害剤

【0 2 5 8】

NS4Bは、膜小胞 (膜性ウェブとも呼ばれる) の形成に主として関与し、HCV複製複合体を組み立てるための足場として使用される27kDaの膜タンパク質である。それに加え、NS4

30

Bは、NTPアーゼとRNA結合活性のほか、抗アポトーシス特性を有する。

【0 2 5 9】

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を変化させる薬剤とHCV非構造タンパク質4B (NS4B) 阻害剤を含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。HCVのNS4Bタンパク質の阻害剤として、GSK-8853、クレミゾール、他のNS4B-RNA結合阻害剤 (例えばベンゾイミダゾールRBI (B-RBI)、イミダゾールRBI (I-RBI)) などがあがるが、これらに限定されない。

【0 2 6 0】

2.5 非構造タンパク質 (NS5A、ホスホタンパク質) 阻害剤

【0 2 6 1】

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を変化させる薬とHCV非構造タンパク質5A (NS5A) 阻害剤を含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。HCVのNS5A阻害剤として、BMS-790052、A-689、A-831、EDP239、GS5885、GSK805、PPI-461、BMS-824393、ABT-267などがあがるが、これらに限定されない。

40

【0 2 6 2】

2.6 ポリメラーゼ (NS5B) 阻害剤

【0 2 6 3】

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を変化させる薬剤とHCVポリメラーゼ (NS5B) 阻害剤を含む組み合わせ治療薬を

50

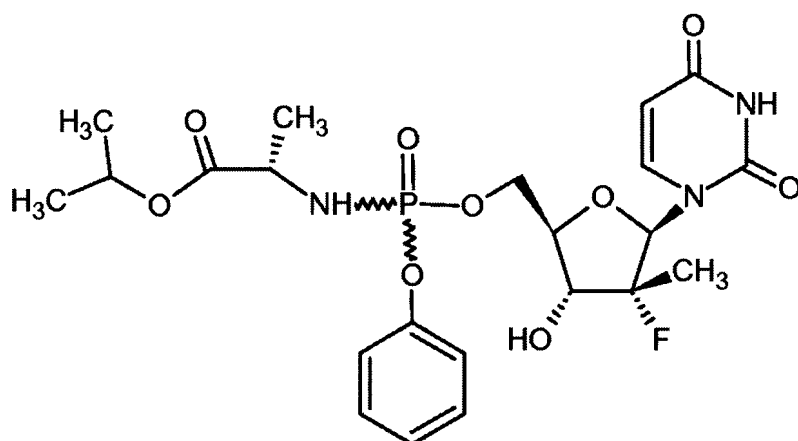
投与する操作を含む方法が提供される。HCVポリメラーゼ阻害剤として、ヌクレオシド類似体（例えばパロピシタピン、R1479、R1626、R7128、RG7128（PSI-6130のエステルプロドラッグであるメリシタピン）、TMC649128）、ヌクレオチド類似体（例えばIDX184、PSI-352938（PSI-938）、INX-08189（INX-189）、GS6620）、非ヌクレオシド類似体（例えばフィリビル、HCV-796、VCH-759、VCH-916、ANA598、VCH-222（VX-222）、BI-207127、MK-3281、ABT-072、ABT-333、GS9190、BMS791325、GSK2485852A）などがあるが、これらに限定されない。

【0264】

いくつかの実施態様では、直接作用する本発明の範囲内の抗ウイルス薬は、HCV NS5Bポリメラーゼ阻害剤PSI-7851（2種類のジアステレオマーPSI-7976とPSI-7977の混合物）である。Sofia他、J. Med. Chem.、2010年、第53巻：7202～7218ページ参照；Murakami他、J. Biol. Chem.、2010年、第285巻：34337～34347ページも参照のこと。別の実施態様では、直接作用する本発明の範囲内の抗ウイルス薬は、PSI-7976またはPSI-7977である。PSI-7851は、以下に示す一般式：

10

【化122】

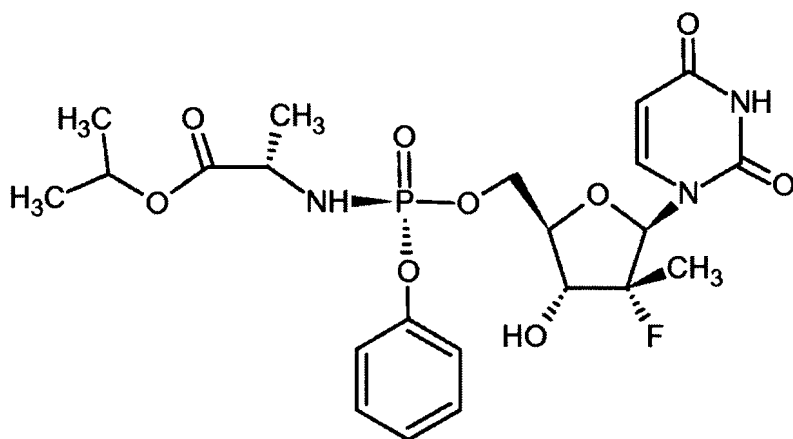


20

30

で表わされる構造を有する。PSI-7851の化学式は $C_{22}H_{29}FN_3O_9P$ であり、その分子量は529.45g/モルである。化合物PSI-7976は、以下に示す一般式：

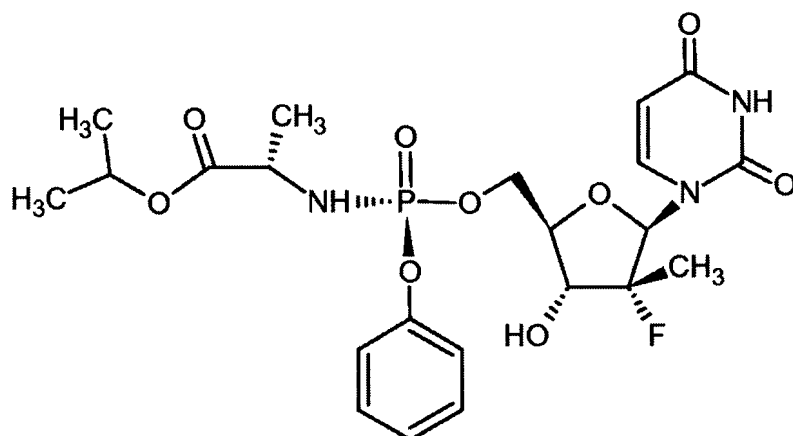
【化123】



40

で表わされる構造を有する。化合物PSI-7977は、以下に示す一般式：

【化 1 2 4】



10

で表わされる構造を有する。

【 0 2 6 5 】

化合物PSI-7977のCAS登録番号は1190307-88-0である。化合物PSI-7976とPSI-7977のラセミ混合物と非ラセミ混合物の両方とも、本発明の範囲に含まれる。

20

【 0 2 6 6 】

2.7 ウイルスのイオンチャネル形成タンパク質 (p7) の阻害剤

【 0 2 6 7 】

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を抑制する薬剤とHCVウイルスのイオンチャネル形成タンパク質 (p7) の阻害剤を含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。HCV p7阻害剤として、BIT225やHPH116などがあるが、これらに限定されない。

【 0 2 6 8 】

2.8 HCV RNAi

【 0 2 6 9 】

一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を変化させる薬剤とHCV RNAiを含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。そのような抑制性ポリヌクレオチドとして、TT033、TT034、シルナ-AV34、OBP701などがあるが、これらに限定されない。

30

【 0 2 7 0 】

2.9 内部リボソーム侵入部位 (IRES) 阻害剤

【 0 2 7 1 】

直接作用する別の抗ウイルス薬はIRES阻害剤であり、その中には、ミフェプリストン、ヘパザイム、ISIS14803、siRNA/shRNAが含まれる。

【 0 2 7 2 】

2.10 HCV侵入阻害剤

【 0 2 7 3 】

直接作用する別の抗ウイルス薬はHCV侵入阻害剤であり、その中には、HuMax HepC (E2抗体)、JTK-652、PRO206、SP-30、ITX5061が含まれる。

40

【 0 2 7 4 】

2.11 シクロフィリン阻害剤

【 0 2 7 5 】

シクロフィリン (例えばシクロフィリンB。ペプチジルプロピルイソメラーゼBとしても知られる) は、ウイルス標的を変化させる宿主の酵素である。シクロフィリンBは、HCV RNAポリメラーゼ (NS5B) を変化させる。HCVに関し、NS5Bと結合してシクロフィリンBの結

50

合を抑制する化合物が、シクロフィリン阻害剤として挙げられる。一実施態様では、本発明により、HCVの感染と複製を治療または改善する方法として、細胞標的を抑制する薬剤とシクロフィリン阻害剤（例えばデビオ025（アリスポリビル）、NIM811、SCY-635、シクロスポリン-A）を含む組み合わせ治療薬を投与する操作を含む方法が提供される。

【0276】

2.12 マイクロRNAアンタゴニスト

【0277】

マイクロRNA-122 (miR-122) は、HCVの5'非翻訳領域と相互作用してHCVの複製を促進すると考えられている。一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータは、マイクロRNA-122 (miR-122) を抑制する薬剤を含む組み合わせ治療薬の一部として投与される。SPC3649 (ミラビルセン) は、ロックされた核酸 (LNA) -修飾されたオリゴヌクレオチドであり、miR-122と相補的である。

10

【0278】

3. 宿主の因子に少なくとも部分的に作用する他の薬剤

【0279】

3.1 免疫調節剤

【0280】

本発明によれば、宿主細胞標的のモジュレータが、HCVの低減または抑制に有効な免疫調節剤を含む組み合わせ治療薬の一部として投与される。免疫調節剤として、いくつかのタイプの化合物がある。非限定的な例として、インターフェロン（例えばペガシス、ロフェロン-A、ペグイントロン、イントロンA、アルブミンIFN-、ロクテロン、ペグインターフェロン-、オメガ-IFN、メデューサ-IFN、ベレロフォン、インフラデュール、インターフェロン・アルファコン1、ベルドナ）、カスパーゼ/パン-カスパーゼ阻害剤（例えばエムリカサン、ニボカサン、IDN-6556、GS9450）、Toll様受容体アゴニスト（例えばアクチロン、ANA773、IMO-2125、SD-101）、サイトカイン、サイトカインのアゴニスト、サイトカインのアンタゴニスト（例えばアクトキン-2、インターロイキン29、インフリキシマブ（サイトカインTNF 遮断剤）、IPH1101（サイトカイン・アゴニスト）、他の免疫調節剤（例えばチマルファシン、エルトロンボパグ、IP1101、SCV-07、オグルファニドニナトリウム、CYT107、ME3738、TCM-700C、EMZ702、EGS21）がある。

20

【0281】

3.2 微小管の阻害剤

【0282】

一実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータが、微小管の重合の阻害剤を含む組み合わせ治療薬の一部として投与される。微小管重合阻害剤の非限定的な例として、コルチシン、プラゾシン、ミトキノンがある。ファルグリタザールとGI262570は、チューブリンの重合に影響を与えることなくチューブリンのレベルを低下させるPPAR 阻害剤である。これらの化合物は、チューブリンと微小管の間の平衡ではなく、チューブリンそのものを標的としている。

30

【0283】

3.3 宿主代謝阻害剤

【0284】

別の実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータが、宿主代謝阻害剤を含む組み合わせ治療薬の一部である。宿主代謝阻害剤の例として、ヘパコングダ（胆汁酸とコレステロール分泌の阻害剤）、ミグルスタット（グルコシルセラミドシターゼ阻害剤）、セルゴシビル（グルコシダーゼ阻害剤）、メチレンブルー（モノアミンオキシダーゼ阻害剤）、ピオグリタゾンとメトフォルミン（インスリン調節剤）、ニタゾキサニド（おそらくPFOR阻害剤）、NA255とNA808（セリンパルミトイルトランスフェラーゼ阻害剤）、NOV205（グルタチオン-S-トランスフェラーゼ活性剤）、ADIPEG20（アルギニンデイミナーゼ）などがある。

40

【0285】

50

そのような別の実施態様では、宿主細胞標的のモジュレータが、ラッカーゼ（漢方薬）、シリビニンとシリマリン（抗酸化剤、肝臓保護剤）、PYN17とJKB-122（抗炎症剤）、CTS-1027（マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤）、レノクタ（タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤）、パビツキシマブとBMS936558（プログラムされた細胞死の阻害剤）、ヘプタサイド-1（ナノ-殺ウイルス剤）、CF102（アデノシンA3受容体）、GNS278（オートファジーを攻撃することによってウイルス-宿主タンパク質相互作用を抑制する）、RPIMN（ニコチン受容体アンタゴニスト）、PYN18（おそらくウイルス成熟阻害剤）、ウルサとヘパコンダ（胆汁酸、おそらくファルネソイドX受容体）、タモキシフェン（抗エストロゲン）、ソラフェニブ（キナーゼ阻害剤）、KPE02001003（機構未知）の中から選択した薬剤を含む組み合わせ治療薬の一部である。

10

【0286】

4. 宿主細胞標的酵素の阻害剤を特定するためのスクリーニング・アッセイ

【0287】

従来から知られているアッセイおよび/または以下で説明するアッセイ（例えばセクション5以下参照）を利用し、宿主細胞標的酵素の阻害剤として知られている化合物について抗ウイルス活性を直接スクリーニングすることができる。オプションだが、当業者に知られているアッセイおよび/または下に説明するアッセイを利用し、そのような酵素阻害剤の誘導体と同類、または他の任意の化合物について、酵素標的を変化させる能力を調べることができる。これらの標的を変化させることがわかった化合物は、抗ウイルス活性をさらに調べることができる。これらの標的を変化させるか抗ウイルス活性を有する（またはその両方である）ことがわかった化合物も、セクション5.2.8に記載した代謝フラックス・アッセイで試験し、細胞の代謝フラックスに対するその化合物の効果を確認することができる。これは、ウイルスが細胞の代謝フラックスを変化させる能力をその化合物が阻止する効果を明らかにし、その化合物が標的にできる可能性のある別の可能な代謝経路を特定する上で特に有用である。

20

【0288】

あるいは、化合物の抗ウイルス活性を直接調べることができる。抗ウイルス活性を示す化合物、または抗ウイルス性であることが知られているが許容できない特異性または毒性を有する化合物を本発明の酵素標的に対してスクリーニングすることができる。酵素標的を変化させる抗体ウイルス化合物を最適化し、よりよい活性プロファイルにすることができる。

30

【0289】

従来から知られているあらゆる宿主細胞酵素、および/またはセクション5.1に記載したあらゆる宿主細胞酵素が、抗ウイルス介入のための潜在的な標的として考えられる。さらに、直接的または間接的に細胞の代謝を変化させる役割を有する別の宿主細胞酵素も、抗ウイルス介入のための潜在的な標的として考えられる。この明細書に開示したような化合物や他の任意の化合物（例えば公に利用できる化合物ライブラリ）について、これら宿主細胞酵素の活性を変化させる（活性化または抑制する）能力を調べることができる。ある化合物が特定の酵素の活性を変化させることがわかった場合には、可能性のある抗ウイルス化合物が特定されたことになる。

40

【0290】

一実施態様では、長鎖または超長鎖の脂肪酸の合成に影響または関与する酵素をその化合物の標的（例えばACSL1、ELOVL2、ELOVL3、ELOVL6、SLC27A3）として調べる。一実施態様では、長鎖または超長鎖のアシル-CoAシンターゼの変化をその化合物によって調べる。別の実施態様では、脂肪酸エロンガーゼの変化をその化合物によって調べる。一実施態様では、システニルロイコトリエンの合成に関与する酵素の変化をその化合物によって調べる。一実施態様では、脂肪の貯蔵において役割を果たす酵素（例えばADP-リボシルトランスフェラーゼ1~3）の変化をその化合物によって調べる。別の実施態様では、アラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼの変化をその化合物によって調べる。さらに別の実施態様では、ペントースリン酸経路における酵素の変化をその化合物によ

50

て調べる。

【0291】

好ましい実施態様では、ある化合物が宿主の代謝酵素を変化させる能力を、その化合物を含む組成物を、その酵素を含む組成物と接触させ、その酵素の活性を測定することによって調べる。酵素の活性がその化合物の存在下で対照と比べて変化している場合には、その化合物は酵素の活性を変化させる。本発明のいくつかの実施態様では、その化合物は酵素の活性を増大させる（例えば脂肪酸生合成の負の調節因子である酵素は、可能性のある抗ウイルス化合物によって活性が増大する可能性がある）。特別な実施態様では、その化合物は、酵素の活性を少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%増大させる。いくつかの実施態様では、その化合物は酵素の活性を低下させる。特別な実施態様では、その化合物は、酵素の活性を少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%低下させる。いくつかの実施態様では、その化合物は、単一の酵素だけを変化させる。いくつかの実施態様では、その化合物は、多数の酵素を変化させるが、1つの酵素を他の酵素よりも大きく変化させる可能性がある。この明細書に記載した標準的な酵素活性アッセイを利用し、化合物の活性を特徴づけることができよう。一実施態様では、ある化合物は、特定の1つの酵素を不可逆的に抑制または活性化する。いくつかの実施態様では、ある化合物は、1つの酵素を可逆的に抑制または活性化する。いくつかの実施態様では、ある化合物は、酵素の動力学を変化させる。

10

【0292】

一実施態様では、例えば試験化合物と宿主標的酵素の間の相互作用の評価には、(i) 酵素に対する試験化合物の結合を評価すること；(ii) 酵素の生物活性を評価すること；(iii) 試験化合物の存在下と不在下で酵素の酵素活性（エロンガーゼの活性）を評価することのうち1つ以上が含まれる。インビトロでの接触には、試験化合物と、酵素と、必要なあらゆる共因子（例えばピオチン）またはエネルギー源（例えばATPまたは放射性標識したATP）と、基質（例えばアセチル-CoA、糖、ポリペプチド、ヌクレオシド、他の任意の代謝産物（標識のあるもの、またはないもの））を含む反応混合物を形成し、基質から生成物への変換を評価する操作を含めることができる。生成物の形成の評価には、例えば炭素またはリン酸の転移を（例えば化学的に、または標識（例えば放射性標識）を使用して）検出すること、または反応生成物を検出すること、第1の反応に依存する第2の反応を検出すること、または基質の物理的特性（例えば分子量、電荷、pIの変化）を検出することを含めることができる。

20

30

【0293】

スクリーニング・アッセイで使用する標的酵素は、天然の供給源（例えば細胞、脂肪細胞（例えば脂肪組織）を含む組織または臓器、肝臓など）から精製することができる。あるいは標的酵素は、多数の異なるDNA発現系の任意のものの中で発現させることができ、大量に取得して生物活性を調べることができる。組み換え細菌細胞（例えば大腸菌）での発現に関しては、細胞を適切な多数の培地（例えばLB）のうちの任意のものの中で増殖させ、その培地にIPTGを添加することによって、またはより高温でのインキュベーションに切り換えて、組み換えポリペプチドの発現を誘導する。さらに2~24時間にわたって細菌を培養した後、細胞を遠心分離によって回収し、洗浄して残留した培地を除去する。次に細菌細胞を例えば細胞ホモジェナイザの中で破壊することによって溶解させ、遠心分離して密な封入体と細胞膜を可溶性細胞成分から分離する。この遠心分離は、糖（例えばスクロース）を緩衝液の中に組み込み、選択した速度で遠心分離することによって密な封入体が選択的に豊富になる条件下で実施することができる。組み換えポリペプチドが封入体の中で発現する場合には、それをいくつかの溶液のうちの任意のものの中で洗浄して汚染源である宿主タンパク質の一部を除去した後、還元剤（例えばβ-メルカプトエタノールまたはDTT（ジチオトレイトール））の存在下で高濃度の尿素（例えば8M）またはカオトロピック剤（例えばグアニジンヒドロクロリド）を含む溶液に溶かす。この段階で、ポリペプチドが再生プロセスによって元のポリペプチドの構造により近い構造になるのに適した

40

50

条件下で数時間にわたってそのポリペプチドを培養することが有利であろう。そのような条件には、一般に、ポリペプチドが少ないこと（500mg/ml未満の濃度）、還元剤が低レベルであること、2M未満の濃度の尿素であることや、しばしば、タンパク質分子内のジスルフィド結合の交換を容易にする還元され酸化されたグルタチオンの混合物などの試薬の存在下であることが含まれる。再生プロセスは、例えばSDS-PAGEによって、または元の分子に特異的な抗体を用いて、モニタすることができる。再生の後、ポリペプチドをさらに精製し、いくつかある支持体（例えばイオン交換樹脂、ゲル透過樹脂や、多彩なアフィニティカラムの任意のもの）の任意のものの上でクロマトグラフィによって再生混合物から分離することができる。

【0294】

宿主細胞が発現したポリペプチドまたはその断片の単離と精製は、従来法によって実施できる。方法として、例えば、分離用クロマトグラフィや、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体が関与する免疫学的分離などがあるが、これらに限定されない。

【0295】

ポリペプチドは、多彩な方法（例えば組み換えDNA技術）で産生させ、本発明の目的でのスクリーニング化合物として有用な純粋で生物活性のある酵素標的を大量に産生させることができる。あるいはスクリーニングする標的酵素は、細胞ライセートまたは他の溶液または混合物の中で一部を精製すること、または試験することができよう。

【0296】

標的酵素活性アッセイは、溶液中の酵素を用いるか、そのような酵素を発現する細胞または細胞ライセートを用いたインビトロ・アッセイであることが好ましいが、本発明がそれに限定されることはない。いくつかの実施態様では、酵素は溶液中にある。別の実施態様では、酵素は、マイクロソームが付随するか、洗浄剤の中にある。別の実施態様では、酵素は、固体支持体またはゲル支持体に固定される。いくつかの実施態様では、酵素は、精製および/または検出を容易にするため標識される。別の実施態様では、基質に標識して精製および/または検出を容易にする。標識として、ポリペプチド・タグ、ビオチン、放射性標識、蛍光標識、比色標識などがある。本発明を実施する際には、代謝性酵素の活性を調べる上で受け入れられている任意のアッセイを利用できる。高スループット・スクリーニング・アッセイを利用して多数の化合物を多数の標的に対してスクリーニングすることが好ましい。

【0297】

基質と生成物のレベルは、インビトロ系（例えばタンパク質の生化学抽出液）の中で評価することができる。例えばその抽出液は、あらゆる可溶性タンパク質またはタンパク質の一部（例えば70%または50%の硫酸アンモニウム・カット）を含んでいる可能性がある（タンパク質の有用な一部は、標的酵素を含む部分と定義される）。試験化合物の効果は、例えば、試験化合物を含む反応物と、試験化合物を含まない同様の対照反応物の中で、最初に基質と生成物のレベルを測定し、次いで所定の時間が経過した後（例えば0.5時間後、または1時間後、または2時間後）のそのレベルと比較することによって評価できる。これは、インビトロで生成物に対する基質の比に関する試験化合物の効果調べる1つの方法である。反応速度は、それぞれの培養に関し、組み込まれた放射性標識その他の標識と反応時間の間の直線回帰分析によって得ることができる。K_M値とV_{max}値は、標準的なアンリ-ミカエリス-メンテンの式に従い、初期速度の非線形回帰分析によって求めることができる。k_{cat}は、V_{max}値を、例えば比色タンパク質決定（例えばBio-RADタンパク質アッセイ、ブラッドフォード・アッセイ、ロウリー法）によって求まる酵素の反応濃度で割ることによって得られる。一実施態様では、化合物は、標的酵素を不可逆的に不活性化する。別の一実施態様では、化合物は、標的酵素を可逆的に抑制する。いくつかの実施態様では、化合物は、競合阻害によって標的酵素を可逆的に抑制する。いくつかの実施態様では、化合物は、非競合阻害によって標的酵素を可逆的に抑制する。いくつかの実施態様では、化合物は、不競合阻害によって標的酵素を可逆的に抑制する。さらに別の一実施態様では、化合物は、混合阻害によって標的酵素を抑制する。化合物による抑制の機構は、当業

10

20

30

40

50

者に知られている標準的なアッセイによって調べることができる。

【0298】

相分離系を用いて酵素活性を定量的に測定する方法が、アメリカ合衆国特許第6,994,956号に記載されている（その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている）。具体的には、放射性標識した基質と反応生成物を、水相と、混和しないシンチレーション流体含有有機相とに分け、生成物分子への放射性標識含有有機可溶性部分の組み込み（信号増加アッセイ）か、基質分子からの放射性標識含有有機可溶性部分の喪失（信号喪失アッセイ）によって評価する。シンチレーションは、放射性核種が有機シンチレーション流体含有相に存在しているときにだけ検出される。このような方法を利用してある化合物が標的酵素の活性を抑制する能力を調べることができる。

10

【0299】

細胞アッセイを利用してもよい。細胞アッセイの一例は、培養した細胞（例えば哺乳動物の培養細胞、例えばヒト培養細胞）に試験化合物を接触させた後、細胞中の基質と生成物のレベルを例えばこの明細書に記載した任意の方法（例えば逆相HPLC、LC-MS、LC-MS/MS）を利用して評価する操作を含んでいる。

【0300】

基質と生成物のレベルは、例えばNMR、HPLC（例えばBak, M.I.とIngwall, J.S.（1994年）J. Clin. Invest., 第93巻、40～49ページ参照）、質量分析、薄層クロマトグラフィのいずれかによって、または放射性標識した要素（例えばキナーゼ・アッセイのための放射性標識したATP）を利用して、評価することができる。例えば³¹P NMRを利用してATPとAMPのレベルを評価することができる。一実施態様では、細胞および/または組織を10mmのNMRサンプル管の中に入れ、89cmの穴を有する9.4テスラの超伝導磁石の中に配置した¹H/³¹P二重チューニング・プローブの中に挿入することができる。望むのであれば、細胞を、走査の指標となる明確なピークを示す基質と接触させることができる。GE-400オメガNMR分光装置（Bruker Instruments社、フリーモント、カリフォルニア州、アメリカ合衆国）を使用し、フリップの角度60°、15ミリ秒のパルス、2.14秒の遅延、6,000Hzの掃引幅、2048個のデータ点で、104回の自由誘導減衰の信号を平均することによってそれぞれ得られた6つの³¹P NMRスペクトルを回収することができる。20Hzの指数乗算とゼロ次と一次の相補正を利用してスペクトルを分析する。NMR1ソフトウェア（New Methods Research社、シラキュース、ニューヨーク州、アメリカ合衆国）を使用し、共鳴ピークの面積をローレンツ曲線によってフィットさせることができる。完全に緩和したスペクトルのピーク面積（リサイクル時間：15秒）と一部が飽和したスペクトル（リサイクル時間：2.14秒）を比較することにより、ピークに関する飽和の相関因子を計算することができる。ピーク面積は、細胞および/または組織の重量または数で規格化し、任意の面積単位で表現することができる。例えばATPとAMPのレベルを評価する別の方法は、サンプル中の細胞を溶解させて抽出液にし、逆相HPLCによってその抽出液を分離しつつ、260nmでの吸光度をモニターする操作を含んでいる。

20

30

【0301】

別のタイプのインビトロ・アッセイでは、試験化合物が第1の酵素経路成分と第2の酵素経路成分の間の相互作用を変化させる能力を評価する。このタイプのアッセイは、例えば成分の1つを放射性同位体標識または酵素標識と結合させ、標識したその成分の第2の酵素経路成分への結合を、標識された化合物を複合体の中で検出することによって実現できる。酵素経路成分を¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、³Hで直接または間接に標識し、放射能の放出を直接カウントすることによって、またはシンチレーションをカウントすることによって、その放射性核種を検出することができる。あるいは成分を例えばセイヨウワサビのペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ルシフェラーゼなどの酵素で標識し、適切な基質から生成物への変換を調べることによってその酵素標識を検出することができる。競合アッセイを利用して試験化合物と標的の間の物理的相互作用を評価することもできる。

40

【0302】

単離されたタンパク質（例えば酵素経路成分と、その受容体またはその受容体の生物活

50

性部分)の可溶性形態および/または膜結合形態を本発明の無細胞アッセイで使用することができる。酵素の膜結合形態を使用する場合には、可溶剤を使用することが望ましい可能性がある。そのような可溶剤の例として、非イオン性洗浄剤であるn-オクチルグルコシド、n-ドデシルグルコシド、n-ドデシルマルトシド、オクタノイル-N-メチルグルカミド、デカノイル-N-メチルグルカミド、トリトンX-100、トリトンX-114、シーシット、イソトリデシポリ(エチレングリコールエーテル)n、3-[(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-1-プロパンスルホネート(CHAPS)、3-[(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシ-1-プロパンスルホネート(CHAPSO)、N-ドデシル-N,N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルホネートがある。別の一例では、酵素経路成分は、膜(例えばリポソーム、または他の小胞)の中に存在する可能性がある。

10

【0303】

無細胞アッセイは、標的酵素と試験化合物の反応混合物を、その2つの成分が相互作用して結合するのに十分な条件と時間のもとで調製し、取り出しおよび/または検出可能な複合体を形成する操作を含んでいる。一実施態様では、標的酵素を、1種類以上(数百または数千になることがしばしばある)の試験化合物を含む溶液と混合する。次に、例えばサイズ排除クロマトグラフィまたはアフィニティ・クロマトグラフィにより、標的酵素(その中には結合したあらゆる試験化合物が含まれる)を、結合していない(すなわち自由な)試験化合物から分離する。次に、標的に結合した試験化合物の標的酵素からの分離を、例えば有機溶媒中でその酵素を変性させることによって実現し、適切な分析法(例えばLC-MS/MS)によって化合物を特定することができる。

20

【0304】

2つの分子(例えば標的酵素と試験化合物)の間の相互作用も、例えば少なくとも1個の分子を蛍光標識した蛍光アッセイを利用して例えば標的酵素と試験化合物の間の相互作用を評価することにより、検出することができる。そのようなアッセイの一例として、蛍光エネルギー移動(FETまたはFRET: 蛍光共鳴エネルギー移動を意味する)がある(例えばLakowiczらのアメリカ合衆国特許第5,631,169号; Stavrianopoulosらのアメリカ合衆国特許第4,868,103号参照)。第1の“ドナー”分子上の蛍光体標識は、そこから放射される蛍光エネルギーが第2の“アクセプター”分子上の蛍光標識によって吸収されるように選択する。すると第2の分子は、吸収したエネルギーが原因で蛍光を出すことができる。あるいはタンパク質性“ドナー”分子は、単にトリプトファン残基の天然の蛍光エネルギーを利用することができる。異なる波長の光を出す標的を選択し、“アクセプター”分子の標識を“ドナー”の標識と区別できるようにする。標識間のエネルギー移動の効率は分子同士を隔てる距離と関係しているため、分子同士の空間的關係を評価することができる。分子同士の間で結合が起こる状況では、アッセイにおける“アクセプター”分子の標識の蛍光発光が最大になるはずである。FET結合イベントは、従来からよく知られている標準的な蛍光検出手段で(例えば蛍光測定器を用いて)容易に測定することができる。

30

【0305】

蛍光アッセイの別の一例は、蛍光偏極(FP)である。FPでは、1つの成分だけを標識する必要はある。標識した成分の分子サイズの変化によって結合相互作用を検出する。サイズが変化すると溶液中でその成分の揺動速度が変化するため、サイズ変化をFPの変化として検出する。例えばNasir他(1999年)Comb. Chem. HTS、第2巻: 177~190ページ; Jameson他(1995年)Methods Enzymol.、第246巻: 283ページ; Anal. Biochem.、第255巻: 257ページ(1998年)参照。蛍光偏極は、マルチウエルのプレートでモニタすることができる。例えばParker他(2000年)Journal of Biomolecular Screening、第5巻: 77~88ページ; Shoeman他、(1999年)第38巻、16802~16809ページ参照。

40

【0306】

別の一例では、リアルタイム生体分子相互作用アッセイ(BIA)(例えばSjolander, S.とUrbaniczky, C.(1991年)Anal. Chem.、第63巻: 2338~2345ページ; Szabo他(1995年)Curr. Opin. Struct. Biol.、第5巻: 699~705ページ参照)を利用して標的酵素が標的分子に結合する能力を明らかにすることができる。“表面プラズモン共鳴”また

50

は“BIA”により、どの相互作用物質（例えばBIAコア）に標識することもなしに生体特異的な相互作用をリアル-タイムで検出する。結合面において質量が変化すると、表面付近の光の屈折率が変化し（表面プラズモン共鳴（SPR）の光学現象）、その結果として検出可能な信号が発生する。その信号を、生体分子間のリアル-タイムの相互作用の印として使用することができる。

【0307】

一実施態様では、標的酵素を固相に係留させる。固相に係留された標的酵素/試験化合物複合体は、反応（例えば結合反応）の終わりに検出することができる。例えば標的酵素を固体表面に係留させ、（係留されていない）試験化合物をこの明細書に記載した検出可能な標識で直接または間接に標識することができる。

10

【0308】

標的酵素または抗標的酵素抗体を固定してタンパク質の一方または両方の複合化した形態を複合化していない形態から容易に分離できるようにするとともに、アッセイの自動化ができるようにすることが望ましい。標的酵素への試験化合物の結合、または候補化合物の存在下または不在下での標的酵素と第2の成分の相互作用は、反応物質を収容するのに適した任意の容器の中で実現することができる。そのような容器の例として、マイクロタイター・プレート、試験管、マイクロ遠心分離管などがある。一実施態様では、タンパク質の一方または両方がマトリックスに結合することを可能にするドメインを付加した融合タンパク質を提供できる。例えばグルタチオン-S-トランスフェラーゼ/標的酵素融合タンパク質をグルタチオン・セファロース・ビーズ（Sigma Chemical社、セントルイス、ミズーリ州、アメリカ合衆国）またはグルタチオン誘導化マイクロタイター・プレートに吸着させ、それを、試験化合物と組み合わせるか、試験化合物および吸着されなかった標的酵素と組み合わせ、複合体の形成につながる条件（例えば塩とpHに関して生理的条件）下でこの混合物をインキュベートすることができる。インキュベートした後、ビーズまたはマイクロタイター・プレートのウエルを洗浄して結合しなかったあらゆる成分を除去し、固定されたマトリックス（ビーズの場合）と複合体を例えば上記のようにして直接または間接に明らかにする。あるいは複合体をマトリックスから解離させ、標準的な方法を利用して標的酵素の結合または活性のレベルを明らかにする。

20

【0309】

マトリックスに標的酵素または試験化合物を固定する別の方法として、ビオチンとストレプトアビジンの共役を利用した方法がある。従来から知られている方法（例えばビオチン化キット、Pierce Chemicals社、ロックフォード、イリノイ州）を利用してビオチン-NHS（N-ヒドロキシ-スクシンイミド）からビオチン化した標的酵素または試験化合物を調製し、ストレプトアビジンで被覆した96ウエルのプレート（Pierce Chemicals社）のウエルに固定する。

30

【0310】

アッセイを実施するため、係留された成分を含む被覆された表面に、固定されていない成分を添加する。反応が完了した後、形成されたあらゆる複合体が固体表面に固定されたままに留まる条件下で、反応しなかった成分を（例えば洗浄によって）除去する。固体表面に係留された複合体の検出は、多数の方法で実現できる。以前は固定されていない成分にあらかじめ標識する場合には、表面に固定された標識の検出は、複合体が形成されたことを示す。以前は固定されていない成分にあらかじめ標識しない場合には、間接的な標識を用いて、例えば固定された成分に特異的な標識した抗体（この抗体のほうは、直接標識すること、または例えば標識した抗Ig抗体で間接的に標識することができる）を用いて、表面に係留された複合体を検出することができる。

40

【0311】

一実施態様では、標的酵素と反応するが試験化合物および/または基質への標的酵素の結合には干渉しない抗体を用いてこのアッセイを実施する。そのような抗体を誘導体化してプレートのウエルに入れ、抗体の共役により、結合しなかった標的酵素をウエルの中に捕捉する。このような複合体を検出する方法として、GST固定複合体に関して上に記載し

50

た方法に加え、標的酵素と反応する抗体を用いた複合体の免疫検出や、標的酵素に付随する酵素活性を検出する酵素連結アッセイがある。

【0312】

あるいは無細胞アッセイを液相中で実施することができる。そのようなアッセイでは、多数ある標準的な方法のうちの任意の方法（例えば分画遠心分離（例えばRivas, G.とMinton, A.P.（1993年）Trends Biochem. Sci., 第18巻：284～287ページ参照）；クロマトグラフィ（ゲル濾過クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ）；電気泳動（例えばAusbel, F.他編、『分子生物学における現在のプロトコル』、1999年、J. Wiley社：ニューヨーク参照）；免疫沈降（例えばAusbel, F.他編、『分子生物学における現在のプロトコル』、1999年、J. Wiley社：ニューヨーク参照））により、反応生成物を反応しな
10
かった成分から分離する。このような樹脂とクロマトグラフィ法は当業者に知られている（例えばHeegaard, N.H.（1998年）J. Mol. Recognit., 第11巻：141～148ページ；Hage, D.S.とTweed, S.A.（1997年）J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 第699巻：499～525ページ参照）。さらに、この明細書に記載したように、複合体を溶液からさらに精製することなく結合を検出するのに、蛍光エネルギー移動も利用できよう。

【0313】

好ましい一実施態様では、アッセイは、標的酵素またはその生物活性部分を、標的酵素と結合してアッセイ混合物を形成する既知の化合物と接触させ、そのアッセイ混合物を試験化合物と接触させ、その試験化合物が標的酵素と相互作用する能力を明らかにする操作を含んでいる。その場合、試験化合物が標的酵素と相互作用する能力を明らかにすること
20
には、既知の化合物と比較して、試験化合物が好んで標的酵素に結合する能力、または試験化合物が標的酵素の活性を変化させる能力を明らかにすることが含まれる（例えば競合アッセイ）。別の一実施態様では、試験化合物が標的酵素に結合する能力と、試験化合物が標的酵素の活性を変化させる能力を、そのような標的酵素の既知の活性剤または阻害剤の能力と比較する。

【0314】

本発明の標的酵素は、生体内において、1種類以上の細胞内巨大分子または細胞外巨大分子（例えばタンパク質）と相互作用することができる。その巨大分子は、宿主細胞にとって異種のもの、または内在性のものであり、組み換え発現するものでもしないものでもよい。ここでの議論の目的では、そのような細胞内巨大分子または細胞外巨大分子を“結合
30
パートナー”と呼ぶ。そのような相互作用を破壊する化合物が、標的酵素の活性を変化させるのに有用である可能性がある。そのような化合物として、抗体、ペプチド、小分子などの分子があるが、これらに限定されない。別の一実施態様では、本発明により、試験化合物が、標的酵素の活性を、そのような標的酵素の下流エフェクターの能力を変化させることを通じて変化させる能力を明らかにする方法が提供される。上述のように、例えば適切な標的に対するエフェクター分子の活性を明らかにすること、または適切な標的に対するエフェクターの結合を明らかにすることができる。

【0315】

標的酵素とその細胞内結合パートナーまたは細胞外結合パートナーとの間の相互作用に干渉する化合物を同定するため、標的酵素と結合パートナーを含む反応混合物を、これら
40
2つの生成物が複合体を形成するのに十分な条件と時間のもとで調製する。阻害性化合物を試験するため、試験化合物の存在下と不在下で反応混合物を用意する。試験化合物は、最初に反応混合物の中に入れておくこと、または標的酵素とその細胞内結合パートナーまたは細胞外結合パートナーを添加した後のあるときに添加することができる。対照反応混合物は、試験化合物なしで、またはプラセボとともにインキュベートする。その後、標的酵素とその細胞内結合パートナーまたは細胞外結合パートナーとの間のあらゆる複合体の形成を検出する。対照反応では複合体が形成されるが、試験化合物を含む反応混合物では複合体が形成されないというのは、その化合物が、標的酵素と相互作用性結合パートナーの相互作用に干渉することを示している。それに加え、試験化合物と正常な標的酵素を含む反応混合物の中での複合体の形成を、試験化合物と変異した標的酵素を含む反応混合
50

物の中での複合体の形成と比較することもできる。変異体の相互作用は破壊するが、正常な標的酵素の相互作用は破壊しない化合物を特定することが望ましい場合には、この比較が重要である可能性がある。

【0316】

この明細書に記載したアッセイは、異種形態または同種形態で実施できる。同種アッセイには、標的酵素、または結合パートナーが基質、または試験化合物を固相に係留し、反応の終了時に固相の表面に係留された複合体を検出する操作が含まれる。同種アッセイでは、反応全体を液相中で実施する。どちらの方法でも、反応物質を添加する順番により、試験している化合物に関して異なる情報を得ることができる。例えば標的酵素と結合パートナーまたは基質との間の相互作用に例えば競合によって干渉する試験化合物は、試験化合物の存在下で反応させることによって特定できる。あるいはあらかじめ形成された複合体を破壊する試験化合物（例えば結合定数がより大きくて複合体からの成分の1つと置き換わる化合物）は、複合体が形成された後に反応混合物に試験化合物を添加することによって調べることができる。さまざまな形態を以下に簡単に記載する。

10

【0317】

異種アッセイ系では、標的酵素が、相互作用性の細胞内または細胞外の結合パートナーまたは基質を固体表面（例えばマイクロタイター・プレート）に係留する一方で、係留されていない成分を直接または間接に標識する。係留される成分は、非共有結合または共有結合によって固定することができる。あるいは係留される成分に特異的な固定された抗体を用いてその成分を固体表面に係留することができる。

20

【0318】

アッセイを実施するため、固定された成分のパートナーを、試験化合物のある被覆表面、または試験化合物なしの被覆表面に曝露する。反応が完了した後、反応しなかった成分を（例えば洗浄によって）除去し、形成されたあらゆる複合体が固体表面に固定されたままに留まるようにする。固定されない成分にあらかじめ標識する場合には、表面に固定された標識の検出は、複合体が形成されたことを示す。固定されない成分にあらかじめ標識しない場合には、間接的な標識を用いて、例えば最初は固定されない成分に特異的な標識した抗体（この抗体は、直接標識すること、または例えば標識した抗Ig抗体で間接的に標識することができる）を用いて、表面に係留された複合体を検出することができる。反応成分を添加する順番に応じ、複合体の形成を抑制する試験化合物、またはあらかじめ形成された複合体を破壊する試験化合物を検出することができる。

30

【0319】

あるいは反応は、試験化合物の存在下または不在下にて液相中で実施し、反応しなかった成分から反応生成物を分離して複合体を検出することができる。その際には、例えば、結合する成分のうちの1つに特異的な固定された抗体を使用して溶液中に形成されたあらゆる複合体に係留し、標識された抗体を使用して係留された複合体を検出する。ここでも、液相に反応物質を添加する順番に応じ、複合体を抑制する試験化合物、またはあらかじめ形成された複合体を破壊する試験化合物を特定することができる。

【0320】

本発明の別の実施態様では、ホモジニアス・アッセイを利用できる。例えば標的酵素と、相互作用性の細胞内または細胞外の結合パートナー生成物または基質とからなる複合体をあらかじめ形成するにあたり、標的酵素を標識するか、その結合パートナーまたは基質を標識するが、標識から発生する信号は、複合体の形成が原因で阻止される（イムノアッセイにこの方法を利用している例えばアメリカ合衆国特許第4,109,496号参照）。あらかじめ形成した複合体からの成分の1つと競合して置き換わる試験物質を添加すると、バックグラウンドを超える信号が発生するであろう。このようにして、標的酵素と結合パートナーまたは基質との間の接触を破壊する試験化合物を特定することができる。

40

【0321】

さらに別の側面では、2ハイブリッド・アッセイまたは3ハイブリッド・アッセイ（例えばアメリカ合衆国特許第5,283,317号；Zervos他（1993年）Cell、第72巻223～232ページ

50

; Madura他 (1993年) J. Biol. Chem., 第268巻: 12046 ~ 12054ページ; Bartel他 (1993年) Biotechniques, 第14巻: 920 ~ 924ページ; Iwabuchi他 (1993年) Oncogene, 第8巻: 1693 ~ 1696ページ; Brent、国際特許出願公開WO 94/10300参照)において標的酵素を“餌タンパク質”として用い、標的酵素と結合または相互作用する他のタンパク質 (“標的酵素結合タンパク質”または“標的酵素-bp”)と、標的酵素経路の活性に關与する他のタンパク質を特定することができる。このような標的酵素-bpは、例えば標的酵素経路の下流の要素として標的酵素または標的酵素標的の活性剤または阻害剤となることができる。

【0322】

別の一実施態様では、標的酵素の遺伝子発現のモジュレータが特定される。例えば細胞混合物または無細胞混合物を候補化合物と接触させ、標的酵素のmRNAまたはタンパク質の発現を、候補化合物なしの標的酵素のmRNAまたはタンパク質の発現のレベルと比較して評価する。標的酵素のmRNAまたはタンパク質の発現が、候補化合物の存在下では不在下よりも多いとき、その候補化合物は、標的酵素のmRNAまたはタンパク質の発現の促進因子と特定される。あるいは標的酵素のmRNAまたはタンパク質の発現が、候補化合物の存在下では不在下よりも少ない(統計的に有意に少ない)とき、その候補化合物は、標的酵素のmRNAまたはタンパク質の発現の阻害剤と特定される。標的酵素のmRNAまたはタンパク質の発現レベルは、標的酵素のmRNAまたはタンパク質を検出する方法によって明らかにすることができる。方法として、例えばウエスタン法、ノーザン法、PCR、質量分析、2Dゲル電気泳動などがあるが、これらはすべて当業者に知られている。

10

【0323】

酵素標的の製造、その活性の試験、その抑制または活性化のためのスクリーニングを実施するためのアッセイを、脂肪酸生合成に關係する酵素の例を用いて以下に記載する。本発明の他の標的の活性を試験するには、これらのアッセイを当業者が改変すること、または従来から知られている他のアッセイを利用することができる。

20

【0324】

4.1 化合物と標的酵素の高スループット・スクリーニング

【0325】

一実施態様では、例えば質量分析を利用した高スループット・スクリーニングを利用して多数の化合物と可能性のある多数の標的酵素を同時にスクリーニングすることができる。質量分析を利用して代謝レベルと酵素活性を明らかにすることができる。

30

【0326】

特定の代謝産物(例えばAMP、ATP)のレベルを液体クロマトグラフィ-質量分析(LC-MS/MS)によって定量することができる。興味の対象である代謝産物は、クロマトグラフィにおいてある特定の保持時間を持ち、その保持時間が経過した時点で、質量分析器が、3つの識別因子からなる選択された反応モニタ走査イベント(SRM)を実行することになる。3つの識別因子とは、

40

1) 代謝産物の質量(親イオン);

2) アルゴンとの衝突において親イオンを断片化し、特定の質量を持つ断片を生成させるのに必要なエネルギー;

3) 特定の断片イオンの質量

である。上記の識別因子を利用し、代謝産物の蓄積を測定することができる。その代謝産物の産生は、興味の対象である代謝酵素の活性に依存する。酵素の活性が速度を制限するよう過剰な酵素基質を細胞ライセートに添加することにより、酵素生成物の蓄積の時間変化を、上に概略を説明したLC-MS/MSによって測定する。酵素生成物の蓄積は、代謝性酵素の活性の関数となる。このようなアッセイの一例が、Mungerら、2006年、PLoS Pathogens、第2巻: 1~11ページに報告されている(その全体が、参考としてこの明細書に組み込まれている)。この論文では、感染したライセートの中に存在するホスホフルクトキナーゼの活性が、過剰なホスホフルクトキナーゼ基質ATPとフルクトースリン酸を添加することによって測定され、LC-MS/MSによってフルクトースビスリン酸の蓄積が測定された。このアプローチを採用して多数の宿主標的酵素の活性を測定することができる。

50

【0327】

4.2 可能性のある抗ウイルス化合物を評価するための動力的フラックス・プロファイリング (KFP)

【0328】

本発明のさらに別の一実施態様では、動力的フラックス・プロファイリング (KFP) を利用し、上記のアッセイのうちの1つにおいて標的酵素を抑制することが見いだされた化合物の存在下または不在下にて、ウイルスの存在下と不在下での細胞代謝フラックスのプロファイルを明らかにする (Munger 他、2008年、Nature Biotechnology、第26巻：1179～1186ページ)。このような代謝フラックス・プロファイリングにより、(i) 宿主の代謝のどの成分を抗ウイルス介入の標的にするかに関するガイド；(ii) さまざまなウイルスが標的とする代謝経路に関するガイド；(iii) ウイルスによって起こる代謝フラックスを相殺する能力、または特にウイルスに感染した細胞において細胞を殺す代謝の混乱を引き起こす能力に基づいた、可能性のある抗ウイルス剤としての化合物の評価がさらに提供される。一実施態様では、本発明の動力的フラックス・プロファイリング法をスクリーニングに利用して (i) さまざまなウイルスによって起こる代謝における具体的な変化と、(ii) ある化合物が、さまざまなウイルスによって起こる代謝フラックスの変化を相殺する能力を明らかにすることができる。

10

【0329】

例えば本発明の一実施態様では、細胞にウイルスを感染させ、ウイルス感染後、当業者に知られているさまざまな時点における代謝フラックスを調べる。例えばHCMVに関しては、フラックスを感染後24時間、または48時間、または72時間の時点で測定することができる。それに対してHSVなどのより速く増殖するウイルスでは、フラックスを感染後6時間、または12時間、または18時間の時点で測定することができる。ウイルスの存在下で代謝フラックスが変化する場合、そのウイルスが感染中に細胞の代謝を変化させる。観察される代謝フラックスの変化のタイプ (上記のこととこの明細書の実施例を参照のこと) は、そのウイルスが作用する細胞経路に関するガイドを提供することになる。当業者によく知られているアッセイとこの明細書の以下に記載するアッセイを利用してウイルスの標的を確認することができる。同様に、以下のセクション5に記載する抗ウイルス活性アッセイにおいて、化合物がウイルスに干渉する能力を調べることができる。ウイルスが特定の酵素のレベルおよび/または活性を変化させるように見える場合には、その酵素の阻害剤の抗ウイルス効果を調べることができる。特徴がよくわかっている化合物が有効な抗ウイルス剤であることが観察される場合には、同じ標的を変化させる別の化合物を同様にして可能性のある抗ウイルス剤として評価することができる。

20

30

【0330】

本発明の一実施態様では、ウイルスに感染した細胞をある化合物に接触させ、代謝フラックスを測定する。その化合物の存在下での代謝フラックスが、その化合物の不在下での代謝フラックスと異なっていて、ウイルスの代謝効果が抑制される、または増大する場合には、代謝フラックスを変化させるウイルスの能力を変化させる化合物が特定されたことになる。観察される代謝フラックスの変化のタイプは、その化合物が作用する細胞経路に関するガイドを提供することになる。その後、当業者によく知られているアッセイとこの明細書に記載したアッセイを利用して抗ウイルス化合物の標的を確認することができる。

40

【0331】

一実施態様では、高スループット・メタボローム定量化質量分析を利用し、ウイルスの感染によって起こる代謝の変化をスクリーニングすることと、ある化合物、または化合物ライブラリがそうした変化を相殺するかどうかをスクリーニングすることができる。Munger 他、2006年、PLoS Pathogens、第2巻：1～11ページ参照。

【0332】

4.3 化合物の特定

【0333】

発明者は、ウイルスに感染した細胞のメタボロームとフラクソームに基づく分析を利用

50

してリスト上の宿主細胞標的を特定し、標的酵素の発現を低下させることによってウイルスの複製を減らせることを証明した。さらに、興味の対象となるあらゆる化合物がこれら酵素の活性を変化させる能力を調べることができる。あるいは化合物が、代謝に関する他のあらゆる宿主細胞の酵素を抑制する能力を調べることができる。そのような化合物が代謝酵素を変化させる能力を有することがわかると、それらの化合物の抗ウイルス活性をセクション5に記載したようにしてさらに調べることができる。あるいは化合物の抗ウイルス活性をスクリーニングし、場合によってはこの明細書に記載した代謝スクリーニング・アッセイを利用して特徴を明らかにすることができる。

【0334】

一実施態様では、高スループット・スクリーニング法を利用し、非常に多数の可能性のある治療用化合物（可能性のあるモジュレータまたはリガンド化合物）を含むコンビナトリアル化合物ライブラリまたはペプチド・ライブラリ（例えば公に利用できるライブラリ）を用意する。次に、このような“コンビナトリアル化合物ライブラリ”または“リガンド・ライブラリ”をこの明細書のセクション2に記載したような1種類以上のアッセイにおいてスクリーニングし、ライブラリの中で望む特徴的な活性を示すメンバー（特に化学種またはサブクラス）を特定する。このようにして特定された化合物は、従来の“リード化合物”として機能すること、またはそれ自体を可能性のある治療薬または実際の治療薬として用いることができる。

【0335】

コンビナトリアル化合物ライブラリは、化学合成または生物合成により試薬などの多数の化学的“建設ブロック”を組み合わせることによって生成された多彩な化合物のコレクションである。例えばポリペプチド・ライブラリなどの線形コンビナトリアル化合物ライブラリは、化合物のある1つの所定の長さ（すなわち1つのポリペプチド化合物に含まれるアミノ酸の数）に関し、一群の化学的建設ブロック（アミノ酸）を可能なあらゆるやり方で組み合わせることによって形成される。化学的建設ブロックをこのように組み合わせて混合することにより、数百万の化合物を合成することができる。

【0336】

コンビナトリアル化合物ライブラリを用意してスクリーニングすることは当業者によく知られている。そのようなコンビナトリアル化合物ライブラリとして、ペプチド・ライブラリ（例えばアメリカ合衆国特許第5,010,175号；Furka, *Int. J. Pept. Prot. Res.*, 第37巻：487～493ページ（1991年）；Houghton他、*Nature*, 第354巻：84～88ページ（1991年）参照）があるが、これに限定されることはない。多彩な化合物のライブラリを生成させるのに別の化学的物質も利用することができる。そのような化学的物質として、ペプチド（例えばPCT公開WO 91/19735）、コードされたペプチド（例えばPCT公開WO 93/20242）、ランダムなバイオ-オリゴマー（例えばPCT公開WO 92/00091）、ベンゾジアゼピン（アメリカ合衆国特許第5,288,514号）、ヒダントイン、ベンゾジアゼピン、ジペプチドなどのダイバーソマー（Hobbs他、*Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 第90巻：6909～6913ページ（1993年））、ビニル状ポリペプチド（Hagihara他、*J. Amer. Chem. Soc.*, 第114巻：6568ページ（1992年））、グルコースの足場を有する非ペプチドペプチドミメティック（Hirschman他、*J. Amer. Chem. Soc.*, 第114巻：9217～9218ページ（1992年））、小化合物ライブラリのアナログ式有機合成体（Chen他、*J. Amer. Chem. Soc.*, 第116巻：2661ページ（1994年））、オリゴカルバメート（Cho他、*Science*, 第261巻：1301ページ（1993年））、ペプチジルホスホネート（Campbell他、*J. Org. Chem.*, 第59巻：658ページ（1994年））、核酸ライブラリ（Ausbel, Berger, Sambrook, 上記文献参照）、ペプチド核酸ライブラリ（例えばアメリカ合衆国特許第5,539,083号参照）、抗体ライブラリ（例えばVaughn他、*Nature Biotechnology*, 第14巻(3)：309～314ページ（1996年）；PCT/US96/10287参照）、炭水化物ライブラリ（例えばLiang他、*Science*, 第274巻：1520～1522ページ（1996年）；国際特許出願公開WO 1997/000271参照）、有機小分子ライブラリ（例えばBaum *C&EN*, 1月18日、33ページ（1993年）参照）、イソプレノイド（アメリカ合衆国特許第5,569,588号）、チアゾリジノンとメタチアザノン（アメリカ合衆国特許第5,549,974号）、ピ

10

20

30

40

50

ロリジン（アメリカ合衆国特許第5,525,735号、第5,519,134号）、モルホリノ化合物（アメリカ合衆国特許第5,506,337号）、ベンゾジアゼピン（アメリカ合衆国特許第5,288,514号）などがあるが、これらに限定されない。分子ライブラリを合成する方法の別の例は、先行技術の中に、例えばDeWitt他、（1993年）Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、第90巻：6909ページ；Erb他（1994年）Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、第91巻：11422ページ；Zuckerman他（1994年）J. Med. Chem.、第37巻：2678ページ；Cho他（1993年）Science、第261巻：1303ページ；Carrell他（1994年）Angew. Chem. Int. Ed. Engl.、第33巻：2059ページ；Carell他（1994年）Angew. Chem. Int. Ed. Engl.、第33巻：2061ページ；Gallup他（1994年）J. Med. Chem.、第37巻：1233ページに見いだすことができる。

【0337】

例となるいくつかのライブラリを使用し、特定のリード化合物から変異体を生成させる。1つの方法は、リード化合物の1つ以上の官能基を例えば誘導体化によって変化させたコンビナトリアル・ライブラリを生成させる操作を含んでいる。したがってそのコンビナトリアル・ライブラリは、共通する構造上の特徴（例えば足場またはフレームワーク）を有する一群の化合物を含むことができる。コンビナトリアル・ライブラリを用意するための装置は市販されている（例えば357 MPS、390 MPS、Advanced Chem Tech社、ルイスビルケンタッキー州；シンフォニー、Rainin社、ウォーバーン、マサチューセッツ州；433A、Applied Biosystems社、フォスター・シティ、カリフォルニア州；9050 Plus、Millipore社、ベッドフォード、マサチューセッツ州参照）。それに加え、多数のコンビナトリアル・ライブラリそのものが市販されている（例えばComGenex社、プリンストン、ニュージャージー州；Asinex社、モスクワ、ロシア国；Tripos社、セントルイス、ミズーリ州；ChemStar社、モスクワ、ロシア国；3D Pharmaceuticals社、エクストン、ペンシルヴェニア州；Martek Biosciences社、コロンビア、メリーランド州など参照）。試験化合物を得ることは、生物ライブラリ；ペプトイド・ライブラリ（ペプチドの機能を有するが、酵素分解に抵抗するにもかかわらず生物活性は維持する新規な非ペプチド骨格を持つ分子のライブラリ；例えばZuckermann, R.N.他（1994年）J. Med. Chem.、第37巻：2678～2685ページ参照）；空間的にアドレスできる並列な固相または溶液相ライブラリ；解析を必要とする合成ライブラリ法；“1ビーズ1化合物”ライブラリ法；アフィニティ・クロマトグラフィ選択を利用した合成ライブラリ法からも可能である。生物ライブラリには、核酸ライブラリとタンパク質ライブラリが含まれる。いくつかの核酸ライブラリは、タンパク質（例えば天然のタンパク質と人工的なタンパク質）のさまざまな集合をコードしている。別の核酸ライブラリは、例えば機能性のRNA分子とDNA分子（例えば核酸アプタマーまたはリボザイム）を提供する。ペプトイド・ライブラリは、ペプチド・ライブラリに似た構造を含むように作ることができる（Lam（1997年）Anticancer Drug Des.、第12巻：145ページも参照のこと）。タンパク質のライブラリは、発現ライブラリまたは提示ライブラリによって作ることができる（例えばファージ提示ライブラリ）。化合物のライブラリは、溶液中に提示すること（例えばHoughten（1992年）Biotechniques、第13巻：412～421ページ）、またはビーズ（Lam（1991年）Nature、第354巻：82～84ページ）、チップ（Fodor（1993年）Nature、第364巻：555～556ページ）、細菌（Ladner、アメリカ合衆国特許第5,223,409号）、胞子（Ladner、アメリカ合衆国特許第5,223,409号）、プラスミド（Cull他（1992年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第89巻：1865～1869ページ）、ファージ（ScottとSmith（1990年）Science、第249巻：386～390ページ；Devlin（1990年）Science、第249巻：404～406ページ；Cwirlla他（1990年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第87巻：6378～6382ページ；Felici（1991年）J. Mol. Biol.、第222巻：301～310ページ；Ladner、上記文献）の表面に提示することができる。酵素をスクリーニングして、コンビナトリアル化学ライブラリまたは他の適切な任意の供給源から選択できる化合物を特定することができる（Hogan, Jr.、Nat. Biotechnology、第15巻：328ページ、1997年）。

【0338】

この明細書に記載したどのアッセイ（例えばインピトロ・アッセイまたはインピボ・アッセイ）も、例えば試験化合物だけを用いて、または適切な対照を用いて個別に実行する

10

20

30

40

50

ことができる。例えば試験化合物なしの並列アッセイ、または他の反応成分（例えば標的または基質）なしの別の並列アッセイを実行する。あるいはアッセイの結果を例えば文献や以前のアッセイなどから得られた基準（例えば基準値）と比較することが可能である。適切な相関と従来から知られている統計的方法を利用してアッセイの結果を評価することができる。上記のセクション4.1参照。

【0339】

ある化合物が望む効果を有することが特定されると、その化合物を大量に合成することができる（例えば50mg、500mg、5g、500gの化合物）。宿主細胞に侵入できる化合物が本発明を実施する上で好ましいが、化合物を可溶剤と組み合わせることや、可溶性を維持するため、または宿主細胞への侵入を助けるため、化合物を別の化合物と組み合わせて（例えば脂質と混合して）投与することができる。化合物は、例えば対象に投与するために製剤化することができる。化合物は、対象に投与することもできる。

10

【0340】

5. 化合物の抗ウイルス活性の特徴づけ

【0341】

5.1 ウイルス

【0342】

本発明により、ウイルス感染の予防、管理、治療に使用する化合物が提供される。あらゆるウイルスに対する化合物の抗ウイルス活性を、この明細書の下にあるセクション5.2に記載した方法を利用して調べることができる。ウイルスは、エンベロープを持っていても裸でもよく、DNAゲノムを持っていてもRNAゲノムを持っていてもよく、二本鎖ゲノムでも一本鎖ゲノムでもよい。ウイルスの科の下位集合およびその分類と、どの化合物で抗ウイルス活性を評価できるかの対象となるウイルスの下位集合に関しては、例えばFlint他『ウイルス学の原理：動物ウイルスの分子生物学、病因、制御』（第2版、ASM出版、2003年）から改変した図1を参照のこと。特別な実施態様では、ウイルスはヒトに感染する。別の実施態様では、ウイルスはヒト以外の動物に感染する。特別な一実施態様では、ウイルスは、ブタ、家禽類、その他の家畜、ペットに感染する。

20

【0343】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、エンベロープを有するウイルスである。エンベロープを有するウイルスとして、ヘパドナウイルス科、ヘルペスウイルス科、イリドウイルス科、ポックスウイルス科、フラビウイルス科、トガウイルス科、レトロウイルス科、コロナウイルス科、フィロウイルス科、ラブドウイルス科、ブニヤウイルス科、オルトミクソウイルス科、パラミクソウイルス科、アレナウイルス科のメンバーが挙げられるが、これらに限定されない。これらの科に属するウイルスの非限定的な例を表3に掲載する。

30

【0344】

【表 8】

表3：エンベロープを有するウイルスの科	
ウイルスの科	メンバー
ヘパドナウイルス (ヘパドナウイルス科)	B型肝炎ウイルス (HBV)、ウッドチャック肝炎ウイルス、地上性リス肝炎ウイルス、アヒルB型肝炎ウイルス、サギB型肝炎ウイルス
ヘルペスウイルス (ヘルペスウイルス科)	単純ヘルペスウイルス (HSV) 1型と2型、水痘-帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス (CMV)、ヒトサイトメガロウイルス (HCMV)、エプスタイン-バーウイルス (EBV)、ヒトヘルペスウイルス6 (変異体AとB)、ヒトヘルペスウイルス7、ヒトヘルペスウイルス8、カポジ肉腫随伴ヘルペスウイルス (KSHV)、Bウイルス
ポックスウイルス (ポックスウイルス科)	ワクシニアウイルス、痘瘡ウイルス、天然痘ウイルス、サルポックスウイルス、牛痘ウイルス、ラクダ痘ウイルス、マウスポックスウイルス、ラクーン天然痘ウイルス、伝染性軟属腫ウイルス、オルフウイルス、搾乳者小結節ウイルス、ウシ丘疹性口内炎ウイルス、羊痘ウイルス、ヤギ痘ウイルス、ランピー・スキン病ウイルス、家禽痘ウイルス、カナリア痘ウイルス、ハト痘ウイルス、スズメ痘ウイルス、粘液腫症ウイルス、野ウサギ線維腫ウイルス、ウサギ線維腫ウイルス、リス線維腫ウイルス、豚痘ウイルス、タナポックスウイルス、ヤバポックスウイルス
フラビウイルス (フラビウイルス科)	デングウイルス、C型肝炎ウイルス (HCV)、GB型肝炎ウイルス (GBV-A、GBV-B、GBV-C)、西ナイルウイルス、黄熱病ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、日本脳炎ウイルス、ポワッサンウイルス、ダニ媒介脳炎ウイルス、キャサヌール森林病ウイルス
トガウイルス (トガウイルス科)	ベネズエラウマ脳炎ウイルス、チクングニヤウイルス、ロス川ウイルス、マヤロウイルス、シンドビスウイルス、風疹ウイルス
レトロウイルス (レトロウイルス科)	ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 1型と2型、ヒトT細胞白血病ウイルス (HTLV) 1型、2型、5型、マウス乳腺腫瘍ウイルス (MMTV)、ラウス肉腫ウイルス (RSV)、レンチウイルス
コロナウイルス (コロナウイルス科)	重症急性呼吸症候群 (SARS) ウイルス
フィロウイルス (フィロウイルス科)	エボラウイルス、マルブルクウイルス
ラブドウイルス (ラブドウイルス科)	狂犬病ウイルス、水疱性口内炎ウイルス
ブンヤウイルス (ブンヤウイルス科)	クリミア-コンゴ出血性熱ウイルス、リフトバレー熱ウイルス、ラクロスウイルス、ハンタールウイルス
オルトミクソウイルス (オルトミクソウイルス科)	インフルエンザウイルス (A型、B型、C型)
パラミクソウイルス (パラミクソウイルス科)	パラインフルエンザウイルス、呼吸器多核体ウイルス (A型とB型)、はしかウイルス、流行性耳下腺炎ウイルス
アレナウイルス (アレナウイルス科)	リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス、ジュニンウイルス、マチュポウイルス、グアナリトウイルス、ラッサウイルス、アンパリウイルス、フレクサルウイルス、イッピーウイルス、モバラウイルス、モペイアウイルス、ラティノウイルス、パラナウイルス、ピチンデウイルス、タカライブウイルス、タミアミウイルス

10

20

30

40

【 0 3 4 5 】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、無エンベロープ・ウイルスである。すなわちウイルスはエンベロープを持たず裸である。そのようなウイルスの非限定的な例として、パ

50

ルボウイルス科、サーコウイルス科、ポリオーマウイルス科、パピローマウイルス科、アデノウイルス科、イリドウイルス科、レオウイルス科、ビルナウイルス科、カリシウイルス科、ピコルナウイルス科のメンバーが挙げられる。これらの科に属するウイルスの例として表4に記載したものがあがるが、これらに限定されない。

【0346】

【表9】

表4：エンベロープを持たない（裸の）ウイルスの科	
ウイルスの科	メンバー
パルボウイルス (パルボウイルス科)	イヌパルボウイルス、パルボウイルスB19
サーコウイルス (サーコウイルス科)	ブタサーコウイルス1型と2型、BFDV（嘴羽毛病ウイルス）、ニワトリ貧血ウイルス
ポリオーマウイルス (ポリオーマウイルス科)	サルウイルス40（SV40）、JCウイルス、BKウイルス、セキセイインコ雛病ウイルス
パピローマウイルス (パピローマウイルス科)	ヒトパピローマウイルス、ウシパピローマウイルス（BPV）1型
アデノウイルス (アデノウイルス科)	ヒトアデノウイルス（HAdV-A、HAdV-B、HAdV-C、HAdV-D、HAdV-E、HAdV-F）、家禽アデノウイルスA、ヒツジアデノウイルスD、カエルアデノウイルス
レオウイルス (レオウイルス科)	ヒトオルビウイルス、ヒトコルチウイルス、哺乳動物オルトレオウイルス、ブルータングウイルス、ロタウイルスA、ロタウイルス（B群～G群）、コロラドダニ熱ウイルス、アクアレオウイルスA、サイポウイルス1、フィジー病ウイルス、イネ萎縮ウイルス、イネせん葉萎縮症ウイルス、イドノレオウイルス1、ミコレオウイルス1
ビルナウイルス (ビルナウイルス科)	ファブリキウス嚢病ウイルス、脾臓壊死ウイルス
カリシウイルス (カリシウイルス科)	ブタ小胞発疹ウイルス、ウサギ出血病ウイルス、ノロウイルス、サッポロウイルス
ピコルナウイルス (ピコルナウイルス科)	ヒトピコルナウイルス（1～3）、ヒトコクサッキーウイルスA1～22、24（CA1～22とCA24、CA23はエコーウイルス9）、ヒトコクサッキーウイルスB1～6（CB1～6）、ヒトエコーウイルス1～7、9、11～27、29～33、ヴィリュイッシュウイルス、サルエンテロウイルス1～18（SEV1～18）、ブタエンテロウイルス1～11（PEV1～11）、ウシエンテロウイルス1～2（BEV1～2）、A型肝炎ウイルス、ライノウイルス、ヘパトウイルス、カーディオウイルス、アフトウイルス、エコーウイルス

10

20

30

40

【0347】

いくつかの実施態様では、ウイルスはDNAウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはRNAウイルスである。一実施態様では、ウイルスは、一本鎖ゲノムを持つDNAウイルスまたはRNAウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスは、二本鎖ゲノムを持つDNAウイルスまたはRNAウイルスである。

【0348】

いくつかの実施態様では、ウイルスは直線状のゲノムを有する。別の実施態様では、ウイルスは環状のゲノムを有する。いくつかの実施態様では、ウイルスは区画化されたゲノムを有する。別の実施態様では、ウイルスは区画化されていないゲノムを有する。

50

【0349】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、プラス鎖RNAウイルスである。別の実施態様では、ウイルスは、マイナス鎖RNAウイルスである。一実施態様では、ウイルスは、区画化されたマイナス鎖RNAウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスは、区画化されていないマイナス鎖RNAウイルスである。

【0350】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、正二十面体ウイルスである。別の実施態様では、ウイルスは螺旋状ウイルスである。さらに別の実施態様では、ウイルスは複合ウイルスである。

【0351】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、ヘルペスウイルス（例えばHSV-1、HSV-2、CMV）である。別の実施態様では、ウイルスはヘルペスウイルス（例えばHSV-1、HSV-2、CMV）ではない。特別な一実施態様では、ウイルスはHSVである。別の一実施態様では、ウイルスはHSVではない。別の一実施態様では、ウイルスはHCMVである。さらに別の一実施態様では、ウイルスはHCMVではない。別の一実施態様では、ウイルスは肝臓栄養ウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスは肝臓栄養ウイルスではない。別の一実施態様では、ウイルスは肝炎ウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスは肝炎ウイルスではない。別の一実施態様では、ウイルスはC型肝炎ウイルスである。さらに別の一実施態様では、ウイルスはC型肝炎ウイルスではない。別の特別な一実施態様では、ウイルスはインフルエンザウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスはインフルエンザウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはレトロウイルスである。いくつかの実施態様では、ウイルスはレトロウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはHIVウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはHIVウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはB型肝炎ウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスはB型肝炎ウイルスではない。特別な一実施態様では、ウイルスはEBVである。別の特別な一実施態様では、ウイルスはEBVではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはカポジ肉腫随伴ヘルペスウイルス（KSHV）である。別のいくつかの実施態様では、ウイルスはKSHVではない。いくつかの実施態様では、ウイルスは痘瘡ウイルスである。別のいくつかの実施態様では、ウイルスは痘瘡ウイルスではない。一実施態様では、ウイルスはデングウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスはデングウイルスではない。別の実施態様では、ウイルスはSARSウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはSARSウイルスではない。特別な一実施態様では、ウイルスはエボラウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスはエボラウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはマルブルクウイルスである。別の一実施態様では、ウイルスはマルブルクウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスははしかウイルスである。別のいくつかの実施態様では、ウイルスははしかウイルスではない。特別な実施態様では、ウイルスはワクシニアウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはワクシニアウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスは水痘-帯状疱疹ウイルス（VZV）である。別の一実施態様では、ウイルスはVZVではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはピコルナウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはピコルナウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはポリオウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはポリオウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはアデノウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはアデノウイルスではない。特別な実施態様では、ウイルスはコクサッキーウイルス（例えばコクサッキーウイルスB3）である。別の実施態様では、ウイルスはコクサッキーウイルス（例えばコクサッキーウイルスB3）ではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはライノウイルスである。別の実施態様では、ウイルスはライノウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスはヒトパピローマウイルス（HPV）である。別の実施態様では、ウイルスはヒトパピローマウイルスではない。いくつかの実施態様では、ウイルスは、表3と表4に記載したウイルスからなるグループの中から選択されたウイルスである。別の実施態様では、ウイルスは、表3と表4に記載したウイルスからなるグループの中から選択されたウ

10

20

30

40

50

ウイルスではない。一実施態様では、ウイルスは、表3と表4に記載したウイルスからなるグループの中から選択された1種類以上のウイルスではない。

【0352】

ウイルスのあらゆる型、亜型、株に対する抗ウイルス活性を調べることができる。例えば天然の株、および/または変異体、および/または突然変異させたウイルス、および/またはリアソータント、および/または遺伝子改変したウイルスに対する化合物の抗ウイルス活性を調べることができる。

【0353】

ある種のウイルスの致死性、および/またはある種のウイルスで作業することに関する安全性の問題、および/またはある種のウイルスで作業する際の困難さにより、そのようなウイルスに対する化合物の抗ウイルス活性の特徴づけが（少なくとも最初は）できなくなる可能性がある。そのような状況下では、そのようなウイルスに代わる他の動物のウイルスを使用してもよい。例えばSIVを用いてHIVに対する化合物の抗ウイルス活性を最初に特徴づけることができる。さらに、ピチンデウイルスを用いてラッサ熱ウイルスに対する化合物の抗ウイルス活性を最初に特徴づけることができる。

10

【0354】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、4時間以下、または6時間以下、または8時間以下、または12時間以下、または16時間以下、または24時間以下の間、細胞培養物または対象の中でピークの力価を実現する。別の実施態様では、ウイルスは、48時間以下、または72時間以下、または1週間以下の間、細胞培養物または対象の中でピークの力価を実現する。別の実施態様では、ウイルスは、約1週間以上経過した後にピークの力価を実現する。これらの実施態様によれば、ウイルスの力価は、感染した組織または血清の中で測定することができる。

20

【0355】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、細胞培養物の中で、 10^4 pfu/ml以上、 5×10^4 pfu/ml以上、 10^5 pfu/ml以上、 5×10^5 pfu/ml以上、 10^6 pfu/ml以上、 5×10^6 pfu/ml以上、 10^7 pfu/ml以上、 5×10^7 pfu/ml以上、 10^8 pfu/ml以上、 5×10^8 pfu/ml以上、 10^9 pfu/ml以上、 5×10^9 pfu/ml以上、 10^{10} pfu/ml以上のいずれかのウイルス力価を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、細胞培養物の中で、 10^4 pfu/ml以上、 5×10^4 pfu/ml以上、 10^5 pfu/ml以上、 5×10^5 pfu/ml以上、 10^6 pfu/ml以上、 5×10^6 pfu/ml以上、 10^7 pfu/ml以上、 5×10^7 pfu/ml以上、 10^8 pfu/ml以上、 5×10^8 pfu/ml以上、 10^9 pfu/ml以上、 5×10^9 pfu/ml以上、 10^{10} pfu/ml以上のいずれかのウイルス力価を、4時間以内、6時間以内、8時間以内、12時間以内、16時間以内、24時間以下のいずれかの時間にわたって実現する。別の実施態様では、ウイルスは、細胞培養物の中で、 10^4 pfu/ml以上、 5×10^4 pfu/ml以上、 10^5 pfu/ml以上、 5×10^5 pfu/ml以上、 10^6 pfu/ml以上、 5×10^6 pfu/ml以上、 10^7 pfu/ml以上、 5×10^7 pfu/ml以上、 10^8 pfu/ml以上、 5×10^8 pfu/ml以上、 10^9 pfu/ml以上、 5×10^9 pfu/ml以上、 10^{10} pfu/ml以上のいずれかのウイルス力価を、48時間以内、72時間以内、1週間以内のいずれかの期間にわたって実現する。

30

【0356】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、1pfu/ml以上、10 pfu/ml以上、 5×10^1 pfu/ml以上、 10^2 pfu/ml以上、 5×10^2 pfu/ml以上、 10^3 pfu/ml以上、 2.5×10^3 pfu/ml以上、 5×10^3 pfu/ml以上、 10^4 pfu/ml以上、 2.5×10^4 pfu/ml以上、 5×10^4 pfu/ml以上、 10^5 pfu/ml以上のいずれかのウイルス収量を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、4時間以内、6時間以内、8時間以内、12時間以内、16時間以内、24時間以内、48時間以内のいずれかの時間内に、1pfu/ml以上、10 pfu/ml以上、 5×10^1 pfu/ml以上、 10^2 pfu/ml以上、 5×10^2 pfu/ml以上、 10^3 pfu/ml以上、 2.5×10^3 pfu/ml以上、 5×10^3 pfu/ml以上、 10^4 pfu/ml以上、 2.5×10^4 pfu/ml以上、 5×10^4 pfu/ml以上、 10^5 pfu/ml以上のいずれかのウイルス収量を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、48時間以内、72時間以内、1週間以内のいずれかの時間内に、1pfu/ml以上、10 pfu/ml以上、 5×10^1 pfu/ml以上、 10^2 pfu/ml以上、 5×10^2 pfu/ml以上、1

40

50

10^3 pfu/ml以上、 2.5×10^3 pfu/ml以上、 5×10^3 pfu/ml以上、 10^4 pfu/ml以上、 2.5×10^4 pfu/ml以上、 5×10^4 pfu/ml以上、 10^5 pfu/ml以上のいずれかのウイルス収量を実現する。これらの実施態様によれば、ウイルス収量は、感染した組織または血清の中で測定することができる。特別な一実施態様では、対象は、免疫力がある。別の一実施態様では、対象は、免疫力が低下しているか抑制されている。

【0357】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、1pfu以上、10 pfu以上、 5×10^1 pfu以上、 10^2 pfu以上、 5×10^2 pfu以上、 10^3 pfu以上、 2.5×10^3 pfu以上、 5×10^3 pfu以上、 10^4 pfu以上、 2.5×10^4 pfu以上、 5×10^4 pfu以上、 10^5 pfu以上のいずれかのウイルス収量を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、4時間以内、6時間以内、8時間以内、12時間以内、16時間以内、24時間以内、48時間以内のいずれかの時間内に、1pfu以上、10 pfu以上、 5×10^1 pfu以上、 10^2 pfu以上、 5×10^2 pfu以上、 10^3 pfu以上、 2.5×10^3 pfu以上、 5×10^3 pfu以上、 10^4 pfu以上、 2.5×10^4 pfu以上、 5×10^4 pfu以上、 10^5 pfu以上のいずれかのウイルス収量を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、48時間以内、72時間以内、1週間以内のいずれかの時間内に、1pfu以上、10 pfu以上、 5×10^1 pfu以上、 10^2 pfu以上、 5×10^2 pfu以上、 10^3 pfu以上、 2.5×10^3 pfu以上、 5×10^3 pfu以上、 10^4 pfu以上、 2.5×10^4 pfu以上、 5×10^4 pfu以上、 10^5 pfu以上のいずれかのウイルス収量を実現する。これらの実施態様によれば、ウイルス収量は、感染した組織または血清の中で測定することができる。特別な一実施態様では、対象は、免疫力がある。別の一実施態様では、対象は、免疫力が低下しているか抑制されている。

【0358】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、1感染単位以上、10 感染単位以上、 5×10^1 感染単位以上、 10^2 感染単位以上、 5×10^2 感染単位以上、 10^3 感染単位以上、 2.5×10^3 感染単位以上、 5×10^3 感染単位以上、 10^4 感染単位以上、 2.5×10^4 感染単位以上、 5×10^4 感染単位以上、 10^5 感染単位以上のいずれかのウイルス収量を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、4時間以内、6時間以内、8時間以内、12時間以内、16時間以内、24時間以内、48時間以内のいずれかの時間内に、1感染単位以上、10 感染単位以上、 5×10^1 感染単位以上、 10^2 感染単位以上、 5×10^2 感染単位以上、 10^3 感染単位以上、 2.5×10^3 感染単位以上、 5×10^3 感染単位以上、 10^4 感染単位以上、 2.5×10^4 感染単位以上、 5×10^4 感染単位以上、 10^5 感染単位以上のいずれかのウイルス収量を実現する。これらの実施態様によれば、ウイルス収量は、感染した組織または血清の中で測定することができる。特別な一実施態様では、対象は、免疫力がある。別の一実施態様では、対象は、免疫力が低下しているか抑制されている。特別な一実施態様では、ウイルスは、 10^4 未満の感染単位を実現する。別の実施態様では、ウイルスは、 10^5 以上の感染単位を実現する。

【0359】

いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、1感染単位/ml以上、10 感染単位/ml以上、 5×10^1 感染単位/ml以上、 10^2 感染単位/ml以上、 5×10^2 感染単位/ml以上、 10^3 感染単位/ml以上、 2.5×10^3 感染単位/ml以上、 5×10^3 感染単位/ml以上、 10^4 感染単位/ml以上、 2.5×10^4 感染単位/ml以上、 5×10^4 感染単位/ml以上、 10^5 感染単位/ml以上のいずれかのウイルス力価を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、4時間以内、6時間以内、8時間以内、12時間以内、16時間以内、24時間以内、48時間以内のいずれかの時間内に、1感染単位/ml以上、10 感染単位/ml以上、 5×10^1 感染単位/ml以上、 10^2 感染単位/ml以上、 5×10^2 感染単位/ml以上、 10^3 感染単位/ml以上、2

10

20

30

40

50

.5 × 10³ 感染単位/ml以上、5 × 10³ 感染単位/ml以上、10⁴ 感染単位/ml以上、2.5 × 10⁴ 感染単位/ml以上、5 × 10⁴ 感染単位/ml以上、10⁵ 感染単位/ml以上のいずれかのウイルス力価を実現する。いくつかの実施態様では、ウイルスは、対象において、48時間以内、72時間以内、1週間以内のいずれかの時間内に、1感染単位/ml以上、10 感染単位/ml以上、5 × 10¹ 感染単位/ml以上、10² 感染単位/ml以上、5 × 10² 感染単位/ml以上、10³ 感染単位/ml以上、2.5 × 10³ 感染単位/ml以上、5 × 10³ 感染単位/ml以上、10⁴ 感染単位/ml以上、2.5 × 10⁴ 感染単位/ml以上、5 × 10⁴ 感染単位/ml以上、10⁵ 感染単位/ml以上のいずれかのウイルス力価を実現する。これらの実施態様によれば、ウイルス力価は、感染した組織または血清の中で測定することができる。特別な一実施態様では、対象は、免疫力がある。別の一実施態様では、対象は、免疫力が低下しているか抑制されている。特別な一実施態様では、ウイルスは、10⁴未満の感染単位/mlを実現する。別の実施態様では、ウイルスは、10⁵以上の感染単位/mlを実現する。

10

【0360】

いくつかの実施態様では、ウイルスは細胞に感染し、細胞1個につき、10¹個以上、2.5 × 10¹個以上、5 × 10¹個以上、7.5 × 10¹個以上、10²個以上、2.5 × 10²個以上、5 × 10²個以上、7.5 × 10²個以上、10³個以上、2.5 × 10³個以上、5 × 10³個以上、7.5 × 10³個以上、10⁴個以上、2.5 × 10⁴個以上、5 × 10⁴個以上、7.5 × 10⁴個以上、10⁵個以上のいずれかのウイルス粒子を生成させる。いくつかの実施態様では、ウイルスは細胞に感染し、4時間以内、6時間以内、8時間以内、12時間以内、16時間以内、24時間以内、48時間以内のいずれかの時間内に、細胞1個につき、10¹個以上、2.5 × 10¹個以上、5 × 10¹個以上、7.5 × 10¹個以上、10²個以上、2.5 × 10²個以上、5 × 10²個以上、7.5 × 10²個以上、10³個以上、2.5 × 10³個以上、5 × 10³個以上、7.5 × 10³個以上、10⁴個以上、2.5 × 10⁴個以上、5 × 10⁴個以上、7.5 × 10⁴個以上、10⁵個以上のいずれかのウイルス粒子を生成させる。別の実施態様では、ウイルスは細胞に感染し、48時間以内、72時間以内、1週間以内のいずれかの時間内に、細胞1個につき、10¹個以上、2.5 × 10¹個以上、5 × 10¹個以上、7.5 × 10¹個以上、10²個以上、2.5 × 10²個以上、5 × 10²個以上、7.5 × 10²個以上、10³個以上、2.5 × 10³個以上、5 × 10³個以上、7.5 × 10³個以上、10⁴個以上、2.5 × 10⁴個以上、5 × 10⁴個以上、7.5 × 10⁴個以上、10⁵個以上のいずれかのウイルス粒子を生成させる。

20

【0361】

別の実施態様では、ウイルスは、少なくとも約1日間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、12日間、14日間、15日間のいずれかの期間にわたって潜伏している。別の一実施態様では、ウイルスは、約1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間のいずれかの期間にわたって潜伏している。さらに別の一実施態様では、ウイルスは、少なくとも約1ヶ月間、2ヶ月間、3ヶ月間、4ヶ月間、5ヶ月間、6ヶ月間、7ヶ月間、8ヶ月間、9ヶ月間、10ヶ月間、11ヶ月間のいずれかの期間にわたって潜伏している。さらに別の一実施態様では、ウイルスは、少なくとも約1年間、2年間、3年間、4年間、5年間、6年間、7年間、8年間、9年間、10年間、11年間、12年間、12年間、14年間、15年間のいずれかの期間にわたって潜伏している。いくつかの実施態様では、ウイルスは15年を超える期間にわたって潜伏している。

30

40

【0362】

5.2 抗ウイルス活性を検出するためのインビトロ・アッセイ

【0363】

化合物の抗ウイルス活性は、この明細書に記載してあるインビトロ・アッセイで、または当業者に知られている他のさまざまなインビトロ・アッセイで調べることができる。そのようなウイルスに対する化合物の抗ウイルス活性を調べることのできるウイルスの非限定的な例は、上のセクション5.1に挙げてある。特別な実施態様では、化合物は、真核細胞、好ましくは哺乳動物の細胞に対する低い毒性を維持しつつ、ウイルスの複製を抑制する能力に合致する活性プロファイルを示す。ウイルスの複製に対する化合物の効果は、例えば、化合物のさまざまな希釈液の存在下または不在下で細胞にウイルスのさまざまな希

50

釈液を感染させ、例えばウイルスの複製、および/またはウイルスのゲノムの複製、および/またはウイルスのタンパク質の合成に対する化合物の効果を評価することによって調べられる。あるいはウイルスの複製に対する化合物の効果は、細胞を化合物のさまざまな希釈液またはプラセボと接触させ、その細胞にウイルスのさまざまな希釈液を感染させ、例えばウイルスの複製、および/またはウイルスのゲノムの複製、および/またはウイルスのタンパク質の合成に対する化合物の効果を評価することによって調べられる。ウイルスの複製の変化は、例えばプラークの形成によって評価できる。ウイルスのタンパク質の産生は、例えばELISA、ウエスタン・ブロット、免疫蛍光、フロー・サイトメトリー分析によって評価することができる。ウイルスの核酸の産生は、例えばRT-PCR、PCR、ノーザン・ブロット分析、サザン・ブロットによって評価することができる。

10

【0364】

いくつかの実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、約10%、好ましくは15%、25%、30%、45%、50%、60%、75%、95%、またはそれ以上低下させる。いくつかの実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、少なくとも約1/1.5、1/2、1/3、1/4、1/5、1/6、1/7、1/8、1/9、1/10、1/15、1/20、1/25、1/30、1/35、1/40、1/45、1/50、1/75、1/100、1/500、1/1000のいずれかに低下させる。別の実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、少なくとも約1/1.5~1/3、1/2~1/4、1/3~1/5、1/4~1/8、1/6~1/9、1/8~1/10、1/2~1/10、1/5~1/20、1/10~1/40、1/10~1/50、1/25~1/50、1/50~1/100、1/75~1/100、1/100~1/500、1/500~1/1000、1/10~1/1000のいずれかに低下させる。別の実施態様では、この明細書に記載してあるアッセイが当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、約1桁、1.5桁、2桁、2.5桁、3桁、3.5桁、4桁、4.5桁、5桁、またはそれ以上低下させる。これらの実施態様によれば、このような化合物は、上のセクション5に記載したアッセイにおいて安全性と効果をさらに評価することができる。

20

【0365】

いくつかの実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのゲノムの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、約10%、好ましくは15%、25%、30%、45%、50%、60%、75%、95%、またはそれ以上低下させる。いくつかの実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのゲノムの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、少なくとも約1/1.5、1/2、1/3、1/4、1/5、1/6、1/7、1/8、1/9、1/10、1/15、1/20、1/25、1/30、1/35、1/40、1/45、1/50、1/75、1/100、1/500、1/1000のいずれかに低下させる。別の実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのゲノムの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、少なくとも約1/1.5~1/3、1/2~1/4、1/3~1/5、1/4~1/8、1/6~1/9、1/8~1/10、1/2~1/10、1/5~1/20、1/10~1/40、1/10~1/50、1/25~1/50、1/50~1/100、1/75~1/100、1/100~1/500、1/500~1/1000、1/10~1/1000のいずれかに低下させる。別の実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのゲノムの複製を、負の対照（例えばPBS、DMSO）と比較して、約1桁、1.5桁、2桁、2.5桁、3桁、3.5桁、4桁、4.5桁、5桁、またはそれ以上低下させる。これらの実施態様によれば、このような化合物は、上のセクション5に記載したアッセイにおいて安全性と効果をさらに評価することができる。

30

40

【0366】

いくつかの実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのタンパク質の合成を、負の対照（例

50

えはPBS、DMSO)と比較して、約10%、好ましくは15%、25%、30%、45%、50%、60%、75%、95%、またはそれ以上低下させる。いくつかの実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのタンパク質の合成を、負の対照(例えばPBS、DMSO)と比較して、少なくとも約1/1.5、1/2、1/3、1/4、1/5、1/6、1/7、1/8、1/9、1/10、1/15、1/20、1/25、1/30、1/35、1/40、1/45、1/50、1/75、1/100、1/500、1/1000のいずれかに低下させる。別の実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのタンパク質の合成を、負の対照(例えばPBS、DMSO)と比較して、少なくとも約1/1.5~1/3、1/2~1/4、1/3~1/5、1/4~1/8、1/6~1/9、1/8~1/10、1/2~1/10、1/5~1/20、1/10~1/40、1/10~1/50、1/25~1/50、1/50~1/100、1/75~1/100、1/100~1/500、1/500~1/1000、1/10~1/1000のいずれかに低下させる。別の実施態様では、化合物は、この明細書に記載してあるアッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいて、ウイルスのタンパク質の合成を、負の対照(例えばPBS、DMSO)と比較して、約1桁、1.5桁、2桁、2.5桁、3桁、3.5桁、4桁、4.5桁、5桁、またはそれ以上低下させる。これらの実施態様によれば、このような化合物は、上のセクション5.3に記載したアッセイにおいて安全性と効果をさらに評価することができる。

10

【0367】

いくつかの実施態様では、化合物は、ウイルスの1回の複製につき、ウイルス収量を、約1/1.5以下、1/2以下、1/3以下、1/4以下、1/5以下、1/6以下、1/7以下、1/8以下、1/9以下、1/10以下、1/15以下、1/20以下、1/25以下、1/30以下、1/35以下、1/40以下、1/45以下、1/50以下、1/60以下、1/70以下、1/80以下、1/90以下、1/100以下のいずれかに抑制する/低下させる。いくつかの実施態様では、化合物は、ウイルスの1回の複製につき、ウイルス収量を約1/2以下に抑制する/低下させる。特別な実施態様では、化合物は、ウイルスの1回の複製につき、ウイルス収量を約1/10以下に抑制する/低下させる。

20

【0368】

インビトロ抗ウイルス・アッセイは、任意の真核細胞(例えば初代細胞、樹立細胞系)を用いて実施することができる。選択される細胞または細胞系は、興味の対象であるウイルスの感染に対する感受性がなければならない。代表的なウイルスに関して標準的なインビトロ抗ウイルス・アッセイ(例えばウイルス細胞障害効果アッセイ、ニュートラルレッド更新アッセイ、ウイルス収量アッセイ、ブランク低下アッセイ)で使用できる哺乳動物の細胞系の非限定的な例を表5に掲載する。

30

【0369】

【表 10】

表5：抗ウイルス・アッセイにおける哺乳動物の細胞系の例	
ウイルス	細胞系
単純ヘルペスウイルス (HSV)	初代線維芽細胞 (MRC-5細胞)、ペロ細胞
ヒトサイトメガロウイルス (HCMV)	初代線維芽細胞 (MRC-5細胞)
インフルエンザ	初代線維芽細胞 (MRC-5細胞)、マディン・ダービー・イヌ腎臓 (MDCK)、初代ニワトリ胚、ニワトリ腎臓、子ウシ腎臓、アフリカミドリザル腎臓 (ペロ) 細胞、ミンク肺、ヒト呼吸器上皮細胞
C型肝炎ウイルス	Huh7 (またはHuh7.7)、Huh7.5、初代ヒト肝細胞 (PHH)、不死化ヒト肝細胞 (IHH)
HIV-1	MT-2細胞 (T細胞)
デングウイルス	ペロ細胞
はしかウイルス	アフリカミドリザル腎臓 (CV-1) 細胞
SARSウイルス	ペロ76細胞
呼吸器多核体ウイルス	アフリカミドリザル腎臓 (MA-104) 細胞
ベネズエラウマ脳炎ウイルス	ペロ細胞
西ナイルウイルス	ペロ細胞
黄熱病ウイルス	ペロ細胞
HHV-6	臍帯血リンパ球 (CBL)、ヒトT細胞リンパ芽球細胞系 (HSB-2とSupT-1)
HHV-8	B細胞リンパ腫細胞系 (BCBL-1)
EBV	臍帯血リンパ球

10

20

【0370】

以下のセクション5.2.1~5.2.7に、各ウイルスに対する化合物の抗ウイルス活性を特徴づけるのに使用できる抗ウイルス・アッセイの非限定的な例を提示する。当業者であれば、セクション5.2.1~5.2.7に記載した方法をどのようにして他のウイルスに適合させるか (例えば表5に記載した細胞系やウイルス病原体を変えることによる) を知っているであろう。

30

【0371】

5.2.1 ウイルス細胞変性効果 (CPE) アッセイ

【0372】

CPEは、たいていのウイルスが感染したときに培養細胞が示す形態変化である。この形態変化は、固定されておらず染色されていない細胞において顕微鏡によって容易に観察することができる。ウイルスに応じて異なる可能性があるCPEの形態として、細胞が丸くなること、感染した細胞の核および/または細胞質の中に封入体の出現、多核体または多核細胞 (多くの核を含む大きな細胞質の塊) の形成などがあるが、これらに限定されない。アデノウイルスの感染では、アデノウイルスのキャプシドの結晶状アレイが核の中に蓄積して封入体を形成する。

40

【0373】

CPEアッセイにより、化合物の抗ウイルス効果の指標が提供される。このようなアッセイの非限定的な一例では、化合物を順番に希釈し (例えば1000、500、100、50、10、1 μ g/ml)、96ウエルのプレートの単層細胞 (哺乳動物の細胞が80~100%の集密度になっていることが好ましい) を含む3つのウェルに添加する。5分以内にウイルスを添加し、プレートを密封し、ほぼ最大のウイルスCPEを誘導するのに必要な標準的な期間 (ウイルスと感

50

染の多重度に応じて例えば約48～120時間)にわたって37℃でインキュベートする。CPEは、各試験において化合物とともに既知の正の対照薬を評価した後に顕微鏡で読み取る。正の対照の比限定的な例は、デングウイルス、インフルエンザウイルス、はしかウイルス、呼吸器多核体ウイルス、パラインフルエンザウイルス、ピチンデウイルス、プンタトロウイルス、ベネズエラマ脳炎ウイルスに対するリバビリン；アデノウイルスに対するシドフォビル；ライノウイルスに対するピロドビル；西ナイルウイルスと黄熱病ウイルスに対する6-アザウリジン；SARSウイルスに対するアルフェロン（インターフェロン- γ ）である。データは、50%有効濃度、またはおおまかなウイルス抑制濃度、50%終末点（ED50）、細胞障害濃度、50%終末点（IC50）として表わす。一般的な選択性指数（“SI”）は、IC50をED50で割った値として計算される。これらの値は、公知の任意の方法（例えばM. N. Prichard, K.R. Asaltine, C. Shipman, Jr. (ミシガン大学、アン・アーバー、ミシガン州)によるコンピュータ・ソフトウェア・プログラムMacSynergy II)を用いて計算することができる。

10

【0374】

一実施態様では、化合物は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、1,000、10,000のいずれかよりも大きなSIを持つ。いくつかの実施態様では、化合物は10よりも大きなSIを持つ。特別な一実施態様では、化合物は10よりも大きなSIを持ち、この明細書に記載してあるインビトロ・アッセイとインビボ・アッセイ、または当業者に知られている他のアッセイにおいてさらに評価し、安全性と効果の特徴づける。

20

【0375】

5.2.2 ニュートラルレッド（NR）染料取り込みアッセイ

【0376】

NR染料取り込みアッセイを利用してCPE抑制アッセイ（セクション5.2.1参照）を確認することができる。このようなアッセイの非限定的な一例では、CPE抑制アッセイで用いたのと同じ96ウェルのマイクロプレートを使用できる。ニュートラルレッドを培地に添加すると、ウイルスによるダメージを受けていない細胞が、より多くの染料を取り込む。生きている細胞を示す取り込み率は、マイクロプレート自動読み取り器において405nmと540nmの2つの波長で読み取られ、バックグラウンドを除去するために差が取られる（McManus他、Appl. Environment. Microbiol., 第31巻：35～38ページ、1976年）。化合物と接触させた感染した細胞を含むサンプルでEC50を調べ、化合物と接触させた感染していない細胞を含むサンプルでIC50を調べる。

30

【0377】

5.2.3 ウイルス収量アッセイ

【0378】

感染した培養物（例えばCPE抑制アッセイ（セクション5.2.1参照）における培養物）からの溶解した細胞と上清を用いてウイルス収量（一次感染の後のウイルス粒子の生成）を調べることができる。非限定的な一例では、上清を順番に希釈し、感受性細胞（例えばベロ細胞）の単層に添加する。これらの細胞におけるCPEの増加は、上清に感染性ウイルスが存在することを示す。ウイルス収量を1 \log_{10} だけ抑制する試験化合物の濃度である90%有効濃度（EC90）は、公知の計算法を用いてこれらのデータから求められる。一実施態様では、化合物のEC90は、負の対照サンプルのEC90の少なくとも1/1.5、1/2、1/3、1/4、1/5、1/6、1/7、1/8、1/9、1/10、1/20、1/30、1/40、1/50のいずれかである。

40

【0379】

5.2.4 プラーク減少アッセイ

【0380】

このようなアッセイの非限定的な一例では、ウイルスをさまざま濃度に希釈し、哺乳動物の標的細胞の単層を含む3つのウェルそれぞれに添加する。次に、対照サンプルの有効な感染が達成されるのに十分な期間（15分ごとに震盪して1時間）にわたってプレートをインキュベートする。インキュベーション期間の後、同量の1%アガロースを、2倍濃度で

50

調製した同量の各化合物希釈液に添加する。いくつかの実施態様では、化合物の最終濃度 0.03 µg/ml ~ 100 µg/ml を最終的なアガロース・オーバーレイ濃度 0.5% で試験することができる。薬とアガロースの混合物を 2ml の体積で各ウェルに添加し、プレート を 3 日間インキュベートする。その後、細胞をニュートラルレッドの 1.5% 溶液で染色する。4 ~ 6 時間のインキュベーション期間の後、ニュートラルレッド溶液を吸引し、立体顕微鏡を用いてプラークをカウントする。あるいは最終的なアガロースの濃度を 0.4% にできる。別の実施態様では、プレートを 4 日以上インキュベートし、適切な場合には追加のオーバーレイを 4 日目と 8 日目に適用する。別の一実施態様では、オーバーレイ培地は、半固体ではなく液体である。

【 0 3 8 1 】

5.2.5 ウイルス力価アッセイ

【 0 3 8 2 】

この非限定的な例では、哺乳動物の標的細胞の単層に異なる量（例えば 3 プラーク形成単位 (pfu) または 5 pfu の倍数）のウイルス（例えば HCMV または HSV）を感染させた後、化合物のさまざまな希釈液（例えば 0.1 µg/ml、1 µg/ml、5 µg/ml、10 µg/ml）の存在下または不在下で培養する。感染した培地を感染後 48 時間または 72 時間で回収し、適切な標的細胞系（例えば ベロ細胞、MRC5 細胞）に関して従来技術で知られている標準的なプラーク・アッセイによって滴定する。いくつかの実施態様では、感染した細胞を化合物の存在下で培養すると、感染性ウイルスの収量が、感染した細胞を化合物の不在下で培養する場合と比較して、少なくとも 1/1.5、1/2、1/3、1/4、1/5、1/6、1/7、1/8、1/9、1/10、1/15、1/20、1/25、1/30、1/35、1/40、1/45、1/50、1/100、1/500、1/1000 のいずれかに低下する。特別な一実施態様では、感染した細胞を化合物の存在下で培養すると、PFU/ml が、感染した細胞を化合物の不在下で培養する場合と比較して、少なくとも 1/10 に低下する。

【 0 3 8 3 】

いくつかの実施態様では、感染した細胞を化合物の存在下で培養すると、感染性ウイルスの収量が、感染した細胞を化合物の不在下で培養する場合と比較して、少なくとも 0.5 log 10、1 log 10、1.5 log 10、2 log 10、2.5 log 10、3 log 10、3.5 log 10、4 log 10、4.5 log 10、5 log 10、5.5 log 10、6 log 10、6.5 log 10、7 log 10、7.5 log 10、8 log 10、8.5 log 10、9 log 10 のいずれか低下する。特別な一実施態様では、感染した細胞を化合物の存在下で培養すると、感染性ウイルスの収量が、感染した細胞を化合物の不在下で培養する場合と比較して、少なくとも 1 log 10 または 2 log 10 低下する。別の特別な一実施態様では、感染した細胞を化合物の存在下で培養すると、感染性ウイルスの収量が、感染した細胞を化合物の不在下で培養する場合と比較して、少なくとも 2 log 10 低下する。

【 0 3 8 4 】

5.2.6 フロー・サイトメトリー・アッセイ

【 0 3 8 5 】

フロー・サイトメトリーを利用して、化合物の存在下または不在下で培養した感染した標的細胞におけるウイルス抗原の発現を検出することができる（例えば McSharry 他、*Clinical Microbiology Rev.*、1994 年、第 7 巻：576 ~ 604 ページ参照）。フロー・サイトメトリーによって細胞表面で検出できるウイルス抗原の非限定的な例として、HSV の gB、gC、gE；日本脳炎の E タンパク質；マウス乳腺腫瘍ウイルスのウイルス gp52；水痘・帯状疱疹ウイルスの gpI；HCMV の gB；HIV の gp160/120；インフルエンザの HA；HHV-6 の gp110/60；はしかウイルスの H と F などがある。別の実施態様では、細胞内のウイルス抗原またはウイルス核酸を、従来から知られている技術とフロー・サイトメトリーによって検出することができる。

【 0 3 8 6 】

5.2.7 抗ウイルス・アッセイのための遺伝子改変細胞系

【 0 3 8 7 】

抗ウイルス・アッセイで使用するためのさまざまな細胞系を遺伝子改変し、ウイルス感

10

20

30

40

50

染またはウイルス複製により適した宿主にするとともに、ウイルスに感染した細胞を迅速に検出するためのより便利な基質にすることができる（例えばOlivo, P.D., Clin. Microbiol. Rev., 1996年、第9巻：321～334ページ参照）。いくつかの側面では、これら細胞系を利用して、ウイルス複製の任意のステップ（例えば転写、翻訳、プレゲノムのキャプシド化、逆転写、粒子の組み立てと放出）を阻止することに関する化合物の抗ウイルス活性を試験することができる。抗ウイルス・アッセイでそれぞれのウイルスとともに用いる遺伝子改変細胞系の非限定的な例を以下に議論する。

【0388】

HepG2-2.2.15は、ウイルス複製の任意のステップ（例えば転写、翻訳、プレゲノムのキャプシド化、逆転写、粒子の組み立てと放出）を阻止する化合物を特定して特徴づけるのに有用なB型肝炎ウイルス（HBV）ayw株のゲノムを含む安定な細胞系である。1つの側面では、化合物をHepG2-2.2.15培養物に添加し、HBV DNAのコピーを測定するリアルタイム定量PCR（TaqMan）アッセイを利用して、細胞から分泌されるHBVの産生を化合物が減らすかどうかを調べることができる。具体的には、HepG2-2.2.15細胞の集密な培養物を96ウエルの平底組織培養プレートで培養し、さまざまな濃度の一日用量の化合物で処理する。培地中のHBVピリオンのDNAは、定量プロット・ハイブリダイゼーションまたはリアルタイム定量PCR（TaqMan）アッセイにより、最後に処理してから24時間後に調べることができる。ニュートラルレッド染料の取り込み（内部化された510nmの染料の吸光度[A510]）を利用して、最後に処理してから24時間後の毒性の相対レベルを明らかにすることができる。数値は、同じプレート上に維持されている処理しない細胞の別の培養物に関するA510値の平均に対する割合として表記する。細胞内でのHBV DNAの複製中間体は、定量サザン・プロット・ハイブリダイゼーションによって評価することができる。処理したHepG2-2.2.15細胞から細胞内HBV粒子を単離し、プレゲノムRNAをサザン・プロット分析によって調べることができる。ELISAを利用してHBVエンベロープ・タンパク質の量、表面抗原（HBsAg）の量、培養物から放出された分泌e抗原（HBeAg）の量を定量することができる。ラミブジン（3TC）を正のアッセイ対照として使用できる（KorbaとGerin, Antivir. Res., 第19巻：55～70ページ、1992年参照）。

【0389】

1つの側面では、安定なルシフェラーゼ（LUC）レポーターを有する新しいHCV RNAレプリコンを含む細胞系Huh7 ET（luc-ubi-neo/ET）を使用し、C型肝炎ウイルスの複製に対する化合物の抗ウイルス活性を調べることができる（Krieger, N., V. Lohmann, R. Bartenschlager, J. Virol., 2001年、第75巻：4614～4624ページ参照）。LUCレポーターの活性は、HCV RNAのレベルに直接比例し、正の対照である抗ウイルス化合物は、LUC終末点またはRNA終末点を用いると同様の挙動をする。Huh7 ET細胞の準集密な培養物を96ウエルのプレートに載せ、翌日、化合物を適切なウエルに添加し、細胞がまだ準集密であれば72時間後にサンプルと正の対照サンプル（例えばヒトのインターフェロン 2b）と負の対照サンプルを処理する。HCV RNAのレベルは、定量PCR（TaqMan）を利用して評価することもできる。いくつかの実施態様では、化合物は、LUC信号（またはHCV RNAのレベル）を、処理されていない対照サンプルと比較して、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、90%、95%、またはそれ以上低下させる。好ましい一実施態様では、化合物は、LUC信号（またはHCV RNAのレベル）を、処理されていない対照サンプルと比較して50%以上低下させる。HCVを研究するための他の関連する細胞培養物のモデルが報告されている（例えばDurantel他, J. Hepatology, 2007年、第46巻：1～5ページ参照）。

【0390】

化合物のEBVに対する抗ウイルス効果は、ELISAを利用してダウジ細胞中でのウイルスのキャプシド抗原（VCA）の生成レベルを測定することによって調べられる。さまざまな濃度（例えば50mg/ml～0.03mg/ml）の化合物を試験し、処理していない細胞と化合物で処理した細胞から得られる結果を用いてEC50値を計算する。毒性なしにEBV VCA生成に対して優れた活性を有する選択された化合物について、EBV DNA合成を抑制する能力を試験する

10

20

30

40

50

ことになる。

【0391】

HSVを用いたアッセイでは、HSV-1 UL39プロモーターの転写制御下で大腸菌のlacZ遺伝子を用いて安定に形質転換されたBHK1CP6LacZ細胞系を使用できる（Stabell他、1992年、Methods、第38巻：195～204ページ参照）。感染した細胞は、従来技術で知られている - ガラクトシダーゼ・アッセイ（例えば比色アッセイ）を利用して検出される。

【0392】

インフルエンザウイルスに関する標準的な抗ウイルス・アッセイは、例えばSidwell他、Antiviral Research、2000年、第48巻：1～16ページに記載されている。これらのアッセイを改変して他のウイルスで利用することもできる。

10

【0393】

5.2.8 ウイルス感染と抗ウイルス化合物によって変化する代謝フラックスの特定と測定のための方法

【0394】

ウイルスは、さまざまな経路を通じて細胞代謝活性を変化させることができる。経路として、mRNAおよび/またはタンパク質の転写、翻訳、分解、mRNAおよび/またはタンパク質の再局在化、タンパク質の共有結合の改変、酵素または他のタンパク質のアロステリック調節；活性を変化させるタンパク質含有複合体の組成の変化などがある。こうした変化すべての正味の結果は、ウイルスの必要性に合致するような代謝フラックスの変化である。したがって代謝フラックスの変化は、ウイルスが宿主細胞の代謝を変化させる努力の最終到達点を表わす。したがってウイルスによって増加するフラックスは、ウイルスの生存と複製にとって特に重要であり、薬の貴重な標的となる可能性がある。

20

【0395】

代謝フラックスのプロファイルを調べる新規な方法が開発された。これは、大腸菌における窒素代謝フラックスを測定するというRabinowitzとその同僚によって開発された方法に基づいている（Yuan他、2006年、Nat. Chem. Biol.、第2巻：529～530ページ。この論文は、参考としてこの明細書に組み込まれている）。この動力学的フラックス・プロファイリング（KFP）法の本質は、以下の通りである。

【0396】

（1）細胞（ウイルスに感染していない細胞、またはウイルスに感染した細胞）を、標識されていない栄養から同位体で標識した栄養に迅速に切り換える（またはその逆）；本発明の目的では、好ましい栄養として、¹³Cまたは¹⁵Nで一様に、または部分的に標識したグルコース、グルタミン、グルタミン酸や、関連化合物（例えばビルビン酸、乳酸、グリセロール、酢酸、アスパラギン酸、アルギニン、尿素など）がある。標識として、H、C、N、O、P、Sに関して知られているあらゆる同位体が可能である。その中には、安定な標識と放射性標識が含まれる。結果は、宿主細胞のタイプとウイルス病原体の間の相互作用（その中には、ウイルスの負荷、感染後の時間が含まれる）に依存する。

30

【0397】

（2）同位体に切り換えた後、代謝をさまざまな時点で停止させる（例えば0.2分、0.5分、1分、2分、5分、10分、20分、30分、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、16時間、24時間、36時間、48時間のいずれか、またはその一部がバリエーション）。代謝を停止させる1つの簡便な手段は、冷たい（例えばドライアイス温度）メタノールの添加だが、他の溶媒と温度（沸騰している溶媒を含む）も可能である。

40

【0398】

（3）メタボローム（放射性同位体標識の範囲を含む）を回収した各サンプルで定量する。そのような定量の簡単な1つの手段は、細胞からの代謝産物を抽出した後、抽出液を液体クロマトグラフィ-タンデム質量分析（LC-MS/MS）で分析するというものである。適切な抽出プロトコルとLC-MS/MS法は、従来から知られている。以下の引用文献（参考としてこの明細書に組み込まれている）を参照のこと（Bajad他、2006年、J. Chromatogr. A 1125巻：76～88ページ；BollingとFiehn、2005年、Plant Physiol.、第139巻：1995～200

50

5ページ ; Coulier他、2006年、Anal. Chem.、第78巻 : 6573 ~ 6582ページ ; KimballとRabinowitz、2006年、Anal. Biochem.、第358巻 : 273 ~ 280ページ ; Lu他、2006年、J. Am. Soc. Mass Spectrom.、第17巻 : 37 ~ 50ページ ; Lu他、2007年、J. Am. Soc. Mass Spectrom.、第18巻 : 898 ~ 909ページ ; Luo他、2007年、J. Chromatogr. A 1147巻 : 153 ~ 164ページ ; MaharjanとFerenci、2003年、Anal. Biochem.、第313巻 : 145 ~ 154ページ ; Milne他、2006年、Methods、第39巻 : 92 ~ 103ページ ; Munger他、2006年、PLoS Pathog.、2:e132 ; Olsson他、2004年、Anal. Chem.、第76巻 : 2453 ~ 2461ページ ; RabinowitzとKimball、2007年、Anal. Chem.、第79巻 : 6167 ~ 6173ページ ; Schaub他、2006年、Biotechnol. Prog.、第22巻 : 1434 ~ 1442ページ ; van Winden他、2005年、FEMS Yeast Research、第5巻 : 559 ~ 568ページ ; Villas-Boas他、2005年、Yeast、第22巻 : 1155 ~ 1169ページ ; Wittmann他、2004年、Anal. Biochem.、第327巻 : 135 ~ 139ページ ; Wu他、2005年、Anal. Biochem.、第336巻 : 164 ~ 171ページ ; Yuan他、2006年、Nat. Chem. Biol.、第2巻 : 529 ~ 530ページ)。

10

【0399】

(4) 得られたデータを分析して細胞代謝フラックスを求める。

【0400】

以下の原理に基づいてKFPデータを分析する。その原理を応用すると、細胞代謝の当業者は、感染したサンプルと感染していないサンプルの結果を比較することにより、ウイルス感染に伴うフラックスの変化を特定することができる。

【0401】

20

(1) 代謝ネットワークで添加した栄養により近い代謝産物が、その下流産物よりも前に標識されることになる。したがって標識するパターンにより、特定の代謝産物を形成するのに採用される経路に関する見通しが得られる。例えば細胞を標識されていないグルコースから¹³Cで一樣に標識されたグルコースに切り換えるとき、クエン酸よりもオキサロ酢酸のほうが速く標識されるというのは、トリカルボン酸サイクルの時計回りの向きを通じてではなく、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼまたはホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼを通じてオキサロ酢酸が形成されることを意味していると考えられる。

【0402】

(2) 標識される速度により、異なる代謝経路を通じたフラックスの大きさに関する見通しが得られる。代謝産物のプールの迅速な標識は、そのプールを通る大きなフラックスから生じる、および/またはそのプールの全体的なサイズが小さいことから生じる。栄養が細胞内代謝産物に直接変換されるよく混合された系という理想的なケースでは、入力される栄養を同位体で標識した形態へと瞬間的に切り換えると、系にそれ以外の変化がなければ、標識されていない代謝産物が時間経過とともに消失する：

30

$$dX^U / dt = -f_X X^U / X^T \quad \text{式 (A)}$$

ただし X^T は、代謝産物 X の全プールであり； X^U は、標識されていない形態であり； f_X は、代謝産物を消費するあらゆるフラックスの和である。 f_X と X^T が一定だと（すなわち同位体に切り換える前は擬定常状態にある系）、

$$X^U / X^T = \exp(-f_X t / X^T) \quad \text{式 (B)}$$

40

$$f_X = X^T k_X \quad \text{式 (C)}$$

となる。ただし k_X は、標識されていない代謝産物が消失する際の見かけの一次速度定数である。式(C)によると、代謝産物 X を通る全フラックスは、実験的に直接測定できる2つのパラメータに基づいて求めることができる。そのパラメータとは、代謝産物の細胞内プールのサイズと、標識されていない形態の消失速度である。実際には同位体への切り換えは瞬間的ではなく、わずかにより複雑な式が必要とされるが、完全な微分方程式はそれでも解析的に解けることがしばしばあり、典型的には2つの自由パラメータしか含んでおらず、そのうちの1つである k_X は、上記のように全代謝フラックスを直接発生させる (Yuan他、2006年、Nat. Chem. Biol.、第2巻 : 529 ~ 530ページ)。

【0403】

50

しかし分岐経路と環状経路が関与する場合には、数学がより複雑になるため、データ分析を容易にするにはより洗練された計算アルゴリズムを用いることが有利であろう。細胞代謝ネットワークは、代謝産物のレベルの時間変化（その中には同位体で標識するパターンの変化が含まれる）を記述する微分方程式系によって記述することができる。以下の引用文献（参考としてこの明細書に組み込まれている）を参照のこと（Reed他、2003年、*Genome Biol.*、第4巻：R54ページ；Sauer、2006年、*Mol. Syst. Biol.*、第2巻：62ページ；Stephanopoulos、1999年、*Metab. Eng.*、第1巻：1～11ページ；Szyperski他、1999年、*Metab. Eng.*、第1巻：189～197ページ；Zupke他、1995年）。式の形が上記の式（A）と同様であるこれらの式は、代謝産物の濃度と標識の動力学を記述する実験的に観察されたデータ（擬定常状態にある X^T と、時間の関数としての X^U/X^T ）に基づき、フラックス f_{x_1} 、 f_{x_2} などについて解くことができる。このような解を得るための適切な1つのアルゴリズムは、以下の引用文献（参考としてこの明細書に組み込まれている）に記載されている：FengとRabitz、2004年、*Biophys. J.*、第86巻：1270～1281ページ；Feng他、2006年、*J. Phys. Chem. A. Mol. Spectrosc. Kinet. Environ. Gen. Theory*、第110巻：7755～7762ページ。

10

【0404】

一般に、ウイルスの感染によって誘導される変化は、代謝産物の入れ替わりと比較してゆっくりと起こる。したがって短い時間スケールから中程度の時間スケールでは、定常状態の仮定が、ウイルスによって乱される代謝ネットワークに一般に当てはまる（例えばCMVでは、約2時間まで；正確な時間の長さは、ウイルス病原体の性質に依存し、より攻撃性のある病原体だと一般に時間スケールがより短い）。

20

【0405】

定常状態では、線形代謝経路のどのステップを通るフラックスも同じでなければならない。したがって経路の1つのステップのフラックスがウイルスの感染によって顕著に増大する場合には、他のステップを通るフラックスも増大する可能性が大きい。しかし分岐によって複雑な状況が生じる。側方への分岐には相対的に小さなフラックスが付随している場合には、分岐の効果は小さいが、分岐の可能性（と非定常状態の条件）があると、他の経路のステップが薬の可能な標的となることを意味するため、測定された1つだけの経路のフラックスよりも多くの実験データが必要とされる。しかし増加したフラックスが経路の測定されていないステップの上流ステップと下流ステップの両方で実験的に証明される場合には、（測定されていない）中間ステップでのフラックスも増加することの信憑性が高くなる。したがってここでは、上流ステップと下流ステップの両方で（しかし選択された実施態様では、個別に）フラックスが増加することを示せば、中間のフラックス（と、関連する触媒酵素）が抗ウイルス薬の標的として十分に有効であると考えられる。

30

【0406】

5.3 化合物の安全性と効果の特徴づけ

【0407】

化合物の安全性と効果は、当業者に知られている方法を利用して評価することができる。以下のセクション5.4と5.5に、化合物の安全性と効果をそれぞれ特徴づけるための細胞毒性アッセイと動物モデル・アッセイの非限定的な例を提示する。いくつかの実施態様では、セクション5.4に記載する細胞毒性アッセイは、上のセクション5に記載したインビトロ抗ウイルス・アッセイの後に実施する。別の実施態様では、セクション5.4に記載する細胞毒性アッセイは、上のセクション5に記載したインビトロ抗ウイルス・アッセイの前に、またはそのアッセイと同時に実施する。

40

【0408】

いくつかの実施態様では、化合物は、ウイルスに感染していない細胞と感染した細胞の生存に異なる影響を与える。ウイルスに感染した細胞と感染していない細胞の生存に対するある化合物の異なる効果は、セクション5.4に記載する方法、または当業者に知られている他の方法を利用して評価することができる。いくつかの実施態様では、化合物は、ウイルスに感染していない細胞よりもウイルスに感染した細胞に対して毒性が大きい。特別

50

な実施態様では、化合物は、ウイルスに感染した細胞の生存に優先的に影響を与える。特定の考え方に囚われないと、ウイルスに感染していない細胞と感染した細胞の生存に対するある化合物の異なる効果は、その化合物が、ウイルスに感染していない細胞と感染した細胞において発現または調節が異なるか異なる活性を持つ特定の酵素またはタンパク質を標的とすることの結果である可能性がある。例えば感染した宿主細胞におけるウイルス感染および/またはウイルス複製は、酵素および/またはタンパク質の発現、および/または調節、および/または活性を変化させる可能性がある。したがっていくつかの実施態様では、同じ酵素、タンパク質、代謝経路を標的とする別の化合物で抗ウイルス活性を調べる。別の実施態様では、ウイルスに感染した細胞の生存に異なる影響を与える化合物の同類を設計し、その抗ウイルス活性を調べる。化合物の抗ウイルス活性を評価するのに使用

10

【0409】

細胞毒性の研究

【0410】

好ましい一実施態様では、細胞は動物細胞であり、その中には初代細胞と初代細胞系が含まれる。いくつかの実施態様では、細胞はヒト細胞である。いくつかの実施態様では、以下の細胞系の1つ以上で細胞毒性を調べる：U937、ヒト単球細胞系；初代末梢血単核細胞（PBMC）；Huh7、ヒト杯性肝芽腫細胞系；293T、ヒト胚性腎臓細胞系；THP-1、単球細胞。化合物の細胞毒性を調べるのに使用できる細胞系の別の非限定的な例は、表5に提示

20

【0411】

従来からよく知られている多数のアッセイを利用して、化合物に曝露した後、（感染した、または感染していない）細胞または細胞系の生存を評価し、したがってその化合物の細胞毒性を明らかにすることができる。例えばプロモデオキシウリジン（BrdU）の組み込み（例えばHoshino他、1986年、*Int. J. Cancer*、第38巻、369ページ；Campana他、1988年、*J. Immunol. Meth.*、第107巻：79ページ参照）、（3H）チミジンの組み込み（例えばChen, J.、1996年、*Oncogene*、第13巻：1395～1403ページ；Jeoung, J.、1995年、*J. Biol. Chem.*、第270巻：18367～18373ページ参照）を測定することによって、または細胞を直接カウントすることによって、または既知の遺伝子（例えば擬がん遺伝子（例えば*fos*、*myc*））の転写、翻訳、活性の変化、または細胞周期マーカー（*Rb*、*cdc2*、サイクリンA、D1、D2、D3、Eなど）の変化を検出することによって、細胞の増殖を調べることができる。このようなタンパク質とmRNAのレベルと活性は、従来技術で周知の任意の方法によって明らかにすることができる。例えばタンパク質は、既知の免疫診断法（例えばELISA、ウエスタン・ブロッティング、抗体（例えば市販されている抗体）を用いた免疫沈降）によって定量することができる。mRNAは、先行技術で周知かつ定型的な方法（例えばノーザン分析、RNアーゼ保護、逆転写と関連させたポリメラーゼ連鎖反応）を利用して定量することができる。細胞の生存は、トリパン-ブルー染色、または従来技術で知られている他の細胞死マーカーまたは細胞生存マーカーを利用して評価することができる。特別な一実施態様では、細胞ATPのレベルを測定して細胞の生存を明らかにする。

30

【0412】

特別な実施態様では、細胞の生存は、標準的なアッセイ（例えば細胞内ATPのレベルを測定するCellTiter-Gloアッセイ・キット（Promega社））を用いて3日と7日の期間で測定する。細胞ATPの減少は、細胞毒性効果を意味する。別の特別な一実施態様では、細胞の生存は、ニュートラルレッド取り込みアッセイで測定することができる。別の実施態様では、形態変化の目視による観察に、拡大、粒状化、ギザギザした縁部を持つ細胞、フィルム状の外観、丸くなること、ウエルの表面からの剥がれや、これら以外の変化が含まれる。これらの変化は、見られた細胞毒性の程度に従い、T（100%毒性）、PVH（部分的毒性 - 非常に重度 - 80%）、PH（部分的毒性 - 重度 - 60%）、P（部分的毒性 - 40%）、Ps（部分的毒性 - 軽度 - 20%）、0（毒性なし - 0%）の記号で与えられる。これらデータの回帰分析によって50%細胞阻害（細胞毒性）濃度（IC50）が決定される。

40

50

【0413】

動物モデルにおいて化合物の生体内毒性を調べることができる。例えば化合物の抗ウイルス活性を調べるのに使用するこの明細書に記載した、および/または先行技術で知られている別の動物モデルは、これら化合物の生体内毒性を明らかにするのにも使用できる。例えば動物にある範囲の濃度の化合物を投与する。その後、その動物の致死性、および/または体重の減少または体重増加なし、および/または組織損傷を示す可能性のある血清マーカーのレベル（例えば一般的な組織損傷の指標としてのクレアチンホスホキナーゼのレベル、肝臓損傷の可能性に関する指標としてのグルタミン酸-シュウ酸トランスアミナーゼまたはピルビン酸トランスアミナーゼのレベル）をモニタする。これらのインビボ・アッセイを改変し、用量による毒性以外に、さまざまな投与方式および/または投与計画の毒性を調べることができる。

10

【0414】

本発明による化合物の毒性および/または効果は、細胞培養物または実験動物において例えばLD50（集団の50%の致死用量）とED50（集団の50%で治療に有効な用量）を調べるための標準的な薬理学的手続きによって明らかにすることができる。毒性効果と治療効果の間の用量比が治療指数であり、比LD50/ED50として表わすことができる。本発明で大きな治療指数を示すことがわかった化合物が好ましい。本発明で毒性副作用を示すことがわかった化合物も使用できる可能性があるが、そのような薬剤を冒された組織の部位を標的とする送達系を設計するには、冒されていない細胞に対する潜在的な損傷を最少にし、したがって副作用を減らす上で注意が必要である。

20

【0415】

細胞培養アッセイと動物の研究から得られたデータを利用し、本発明によって特定された化合物の用量の範囲を決めることができる。このような薬剤の用量は、毒性がほとんどないかまったくないED50を含む循環濃度の範囲に収まるのが好ましい。用量は、用いる剤形と利用する投与経路に応じてこの範囲の中で変化する可能性がある。本発明の方法で用いるどの薬剤でも、治療に有効な用量は、最初は細胞培養アッセイから推定することができる。細胞培養物で決定されたIC50（すなわち症状の最大数の半分を抑制を実現する試験化合物の濃度）を含む循環血漿濃度範囲を実現する用量を動物モデルで決定することができる。このような情報を利用して、ヒトで有効な用量をより正確に決定することができる。血漿中のレベルは、例えば高性能液体クロマトグラフィによって測定することができる。用量の決定に関する追加情報は、セクション7.4に提示する。

30

【0416】

5.5 動物モデル

【0417】

化合物と組成物は、ヒトで使用する前に生体内で望む治療活性または予防活性を持つかどうかを調べることが好ましい。例えばインビボ・アッセイを利用して化合物および/または別の治療薬を投与することが好ましいかどうかを判断することができる。例えばウイルス感染を阻止するためのある化合物の使用を評価するには、動物にウイルスを感染させる前にその化合物を投与することができる。別の一実施態様では、動物にウイルスを感染させるのと同時にその動物に化合物を投与することができる。ウイルス感染を治療または管理するためのある化合物の使用を評価するには、一実施態様では、動物にウイルスを感染させた後にその化合物を投与する。別の一実施態様では、ウイルス感染を治療または管理するため、動物にウイルスを感染させるのと同時にその動物に化合物を投与する。特別な一実施態様では、動物に化合物を2回以上投与する。

40

【0418】

動物モデル系（例えばラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、ブタ、ヤギ、ヒツジ、イヌ、ウサギ、モルモットなどが挙げられるが、これらに限定されない）において、化合物のウイルスに対する抗ウイルス活性を試験することができる。本発明の特別な一実施態様では、マウス・モデル系で化合物を試験する。このようなモデル系は、当業者に周知であり、広く使用されている。

50

【0419】

動物にウイルスを感染させ、それと同時に、またはその後、化合物またはプラセボを用いて治療する。これらの動物から得られたサンプル（例えば血清サンプル、尿サンプル、痰サンプル、精液サンプル、唾液サンプル、血漿サンプル、組織サンプル）について、従来からよく知られている方法（例えば（プラーク形成によって明らかになる）変化したウイルスの複製を測定する方法）でウイルスの複製を調べること、またはウイルスのタンパク質の産生を調べること（例えばウエスタン・ブロット分析、ELISA分析、フロー・サイトメトリー分析によって明らかになる）、またはウイルスの核酸を調べること（例えばRT-PCR、ノーザン・ブロット分析、サザン・ブロット分析によって明らかになる）ができる。組織サンプル中のウイルスを定量するには、組織サンプルをリン酸緩衝生理食塩水（PBS）の中で均一にし、清澄になったホモジェネートの希釈液を37℃にて1時間にわたって細胞（例えばベロ細胞、CEF細胞、MDCK細胞）の単層に吸着させる。別のアッセイでは、感染後に組織病理評価を実施する。ウイルスが感染の標的とすることがわかっている臓器を評価することが好ましい。ウイルス特異的なモノクローナル抗体を用いてウイルス免疫組織化学を実施することができる。以下に記載する非限定的な動物モデル（セクション5.5.1~5.5.5）の例は他のウイルス系でも採用することができる。

10

【0420】

ウイルスの発病力に対する化合物の効果は、インビボ・アッセイを利用して明らかにすることもできる。このアッセイでは、化合物を投与された感染した対象のウイルスの力価、および/または化合物を投与された対象の生存の長さ、および/または化合物を投与された感染した対象の免疫応答、および/または化合物を投与された感染した対象における症状の数、継続期間、重症度、および/または化合物を投与された感染した対象で1つ以上の症状が始まるまでの時間を評価する。当業者に知られている方法を利用して副作用を測定することができる。

20

【0421】

5.5.1 単純ヘルペスウイルス（HSV）

【0422】

単純ヘルペスウイルス1型または2型（HSV-1、HSV-2）のマウス・モデルを使用して化合物の生体内での抗ウイルス活性を評価することができる。BALB/cマウスが一般に使用されるが、感受性のある他の適切なマウス系も使用できる。マウスにさまざまな経路でHSV（例えば 10^5 pfuのHSV-1株E-377、または 4×10^4 pfuのHSV-2株MS）を適度な回数接種した後、化合物とプラセボを投与する。腹腔内接種では、腸、肝臓、脾臓でのHSV-1の複製物がCNSに広がる。鼻腔内接種では、鼻咽頭でのHSV-1の複製物がCNSに広がる。適切なあらゆる投与経路（例えば経口、局所、全身、鼻腔）、投与頻度、用量を試験し、化合物、場合によっては他の治療薬と組み合わせた化合物を用いた最適な用量と治療計画を決定することができる。

30

【0423】

HSV-2陰部疾患のマウス・モデルでは、メスのスイス・ウェブスター・マウスの腔内にHSV-1またはHSV-2を接種し、腔スワブを取得してウイルス複製に対する治療の効果を評価する（例えばCrute他、Nature Medicine、2002年、第8巻：386~391ページ参照）。例えばプラーク・アッセイによって腔スワブからウイルス力価を明らかにする。皮膚の損傷研究用で免疫力のある無毛マウスの系統であるSKH-1マウスを用いたHSV-1のマウス・モデルも、先行技術で報告されている（例えばCrute他、Nature Medicine、2002年、第8巻：386~391ページ；Bolger他、Antiviral Res.、1997年、第35巻：157~165ページ参照）。HSVのモルモット・モデルも報告されている（例えばChen他、Virology J.、2004年11月23日、第1巻：11ページ参照）。統計的分析を実施して有意性を計算する（例えば0.05以下のP値）。

40

【0424】

5.5.2 HCMV

【0425】

50

HCMVは一般に実験室の動物には感染しないため、マウスCMV (MCMV) を感染させたマウス・モデルを使用して化合物の生体内での抗ウイルス活性を評価することができる。例えばBALB/cマウスを用いたMCMVマウス・モデルを用い、化合物で治療した感染マウスまたは化合物で治療しない感染マウスに化合物を投与したときの生体内での抗ウイルス活性を調べることができる (例えばKern他、Antimicrob. Agents Chemother., 2004年、第48巻: 4745~4753ページ参照)。マウス胚性線維芽細胞 (MEF) を用いた標準的なブランク・アッセイを利用し、感染したマウスから単離した組織ホモジェネートを調べる。次に統計的分析を実施して有意性を計算する (例えば0.05以下のP値)。

【0426】

あるいはヒト組織 (すなわち網膜組織または胎児胸腺と肝組織) をSCIDマウスに移植した後、そのマウスの好ましくは組織移植部位にHCMVを感染させる (例えばKern他、Antimicrob. Agents Chemother., 2004年、第48巻: 4745~4753ページ参照)。接種に用いるHCMVのpfuは、実験とウイルスの株によって異なる可能性がある。適切なあらゆる投与経路 (例えば経口、局所、全身、鼻腔)、投与頻度、用量を試験し、化合物、場合によっては他の治療薬と組み合わせた化合物を用いた最適な用量と治療計画を決定することができる。ヒト包皮線維芽細胞 (FFF) を用いた標準的なブランク・アッセイを利用し、化合物で治療した感染マウスまたは化合物で治療しない感染マウスからさまざまな時点で単離した移植組織ホモジェネートを調べる。次に統計的分析を実施して有意性を計算する (例えば0.05以下のP値)。

10

【0427】

抗ウイルス剤を研究するためのCMVのモルモット・モデルも報告されている。例えばBourne他、Antiviral Res., 2000年、第47巻: 103~109ページ; Bravo他、Antiviral Res., 2003年、第60巻: 41~49ページ; Bravo他、J. Infectious Diseases, 2006年、第193巻: 591~597ページ参照。

20

【0428】

5.5.3 インフルエンザ

【0429】

インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス剤を試験するのに用いるため開発された動物モデル (例えばフェレット、マウス、ニワトリ) が報告されている (例えばSidwell他、Antiviral Res., 2000年、第48巻: 1~16ページ; McCauley他、Antiviral Res., 1995年、第27巻: 179~186ページ参照)。インフルエンザのマウス・モデルに関しては、インフルエンザに感染したマウスに投与した化合物の抗ウイルス活性を調べるのに使用できるパターメータの非限定的な例として、肺炎関連死、血清 1-酸性糖タンパク質の増加、動物の体重、ヘマグルチニンで調べた肺のウイルス、ブランク・アッセイで調べた肺のウイルス、肺の組織病理学的変化などがある。統計的分析を実施して有意性を計算する (例えば0.05以下のP値)。

30

【0430】

鼻甲介と気管で上皮の変化と上皮下の炎症を調べることができる。肺で、気管支上皮の変化を調べるとともに、大細気管支と、中細気管支と、小細気管支または終末細気管支における炎症を調べることができる。肺胞での炎症の変化も調べる。中細気管支を以下のように0~3+の点数で評価する: 0 (正常: 線毛を持つ先端部と基底の擬似層化した核を有する中程度から高い柱状の上皮細胞が並んでいる; 炎症は最少); 1+ (柱状の上皮層であり、輪郭においてさえ増殖の増加はほんのわずかである; 多くの細胞で線毛が相変わらず見られる); 2+ (上皮層に顕著な変化があり、減衰から顕著な増殖にわたる; 管腔の縁部での乱れた細胞と不規則な層の輪郭); 3+ (上皮層が顕著に破壊されて乱れていて、壊死した細胞が管腔に見られる; いくつかの細気管支は減衰し、別の細気管支は著しく活発に増殖している)。

40

【0431】

気管を以下のように0~2.5+の点数で評価する: 0 (正常: 線毛を持つ先端部と基底の擬似層化した核を有する中程度から高い柱状の上皮細胞が並んでいる。先端部と核の間に細

50

胞質が明らかである。扁平細胞を持つ小さな病巣がたまにある) ; 1+(上皮層の扁平な化生がある病巣) ; 2+(上皮層の多くの部分で扁平な化生が広がっている。線毛が病巣に明らかに見られる可能性がある) ; 2.5+(明らかな線毛はほんのわずかで、扁平な化生が広がっている)。

【0432】

ウイルス特異的モノクローナル抗体(例えばNP特異的、N特異的、HN特異的モノクローナル抗体)を用いてウイルス免疫組織化学を実施する。染色を以下のように0~3+の点数で評価する:0(感染した細胞なし);0.5+(感染した細胞がほとんどない);1+(感染した細胞がいくつかあり、個々の細胞は広く離れている);1.5+(感染した細胞がいくつかあり、広く離れた単独の細胞と小さなクラスターとになっている);2+(感染した細胞が適度な数あり、通常は細気管支に沿って並ぶ上皮層の部分となつて、または肺胞内の小さな小葉以下の病巣となつて隣り合った細胞からなるクラスターを冒している);3+(感染した細胞が多数あり、細気管支の中の上皮層の大半を冒すか、肺胞内の大きな小葉以下の病巣となつて広がっている)。

10

【0433】

5.5.4 肝炎

【0434】

HBVトランスジェニック・マウス・モデル、系統1.3.46(正式の名称、Tg[HBV1.3ゲノム]Chi46)が以前に報告されており、生体内での化合物の抗ウイルス活性と、用量および投与計画を調べるのに使用できる(例えばCavanaugh他、J. Virol.、1997年、第71巻:3236~3243ページ;Guidotti他、J. Virol.、1995年、第69巻:6158~6169ページ参照)。これらHBVトランスジェニック・マウスでは、高レベルのウイルス複製が、これらトランスジェニック・マウスの肝臓実質細胞と腎臓の近位曲尿細管の中で、慢性HBV肝炎の患者の感染した肝臓で観察されるのと同程度のレベルで起こる。週齢(すなわち6~10週間)、性別(すなわちオス)、血清中のB型肝炎表面抗原(HBsAg)のレベルを一致させたHBVトランスジェニック・マウスを化合物またはプラセボで治療した後、抗ウイルス活性分析によって化合物の抗ウイルス活性を評価することができる。化合物で治療したこれらマウスと治療しないこれらマウスで実施できるアッセイの非限定的な例として、肝臓内のHBV DNAを測定するサザン分析、肝臓内のHBV RNAを測定する定量逆転写酵素PCR(qRT-PCR)、血清中の肝炎e抗原(HBeAg)とHBV表面抗原(HBsAg)を測定するイムノアッセイ、肝臓内のHBV抗原を測定する免疫組織化学、血清HBV DNAを測定する定量PCR(qPCR)がある。必要に応じて大まかな病理学的検査と顕微鏡による病理学的検査を実施できる。

20

30

【0435】

これまでに報告されているさまざまなC型肝炎ウイルス(HCV)マウス・モデルを用いてHCV感染に対する化合物の抗ウイルス活性を評価することができる(Zhu他、Antimicrobial Agents and Chemother.、2006年、第50巻:3260~3268ページ;Bright他、Nature、2005年、第436巻:973~978ページ;Hsu他、Nat. Biotechnol.、2003年、第21巻:519~525ページ;Ilan他、J. Infect. Dis.、2002年、第185巻:153~161ページ;Kneteman他、Hepatology、2006年、第43巻:1346~1353ページ;Mercer他、Nat. Med.、2001年、第7巻:927~933ページ;Wu他、Gastroenterology、2005年、第128巻:1416~1423ページ参照)。例えば正常なヒト肝細胞を、プラスミノーゲン・アクチベータ移植遺伝子を持つSCIDマウス(Alb-uPA)に移植することにより、キメラのヒト肝臓を有するマウスを作り出す(Mercer他、Nat. Med.、2001年、第7巻:927~933ページ参照)。これらのマウスは、(例えば感染したヒト血清からの)HCVの接種後、大きなウイルス力価のHCV感染を持続させることができる。したがってこれらのマウスに対し、HCV感染の前に、またはHCV感染と同時に、またはHCV感染の後に化合物またはプラセボを投与した後、移植された肝臓内でマイナス鎖ウイルスDNAを検出することによって、または移植された肝細胞小結節内でHCVウイルス・タンパク質の発現を検出することによって、ウイルスの複製を確認することができる。ウイルスの複製レベルの減少の統計的有意性を明らかにする。

40

【0436】

50

HCVのマウス・モデルの別の一例は、HCVサブゲノムに連結したルシフェラーゼ・レポーターを発現するHuH7細胞系をSCIDマウスの皮下に、または直接肝臓に移植する操作を含んでいる (Zhu他、Antimicrobial Agents and Chemother., 2006年、第50巻：3260～3268ページ)。マウスを化合物またはプラセボで治療した後、全身イメージングを利用して生体ルミネッセンス信号を検出して強度を定量する。HCVに有効な化合物で治療したマウスは、プラセボまたは負の対照で治療したマウスと比べて生体ルミネッセンス信号が少ない。

【0437】

5.5.5 HIV

【0438】

HIVに対する化合物の安全性と効果は、この分野で周知の確立された動物モデルを用いて生体内で評価することができる。例えば、マウスSCID骨髄を有する正常なBALB/cマウスに放射線を照射した後、ヒト末梢血単核細胞を移植して再構成することにより、HIV-1感染のトリメラ・マウス・モデルが開発されている (Ayash-Rashkovsky他、FASEB J., 2005年、第19巻：1149～1151ページ参照)。これらのマウスの腹腔内にT栄養とM栄養のHIV-1実験室株を注射する。HIV感染の後、ヒトCD4⁺T細胞の迅速な喪失、CD4/CD8比の減少、T細胞活性化の増大を観察することができる。これらのマウスに化合物を投与した後、この分野で知られている標準的なアッセイを利用して、化合物で治療した動物と治療しない動物におけるウイルスの複製能力を明らかにすることができる。そのようなアッセイの非限定的な例として、血漿ウイルス負荷 (HIV-1 RNAのコピー数/ml) を明らかにするためのCOBAS AMPLICOR (登録商標) RT-PCRアッセイ (Roche Diagnostics社、ブランチバーグ、ニュージャージー州)；感染したトリメラ・マウスから回収したヒトのリンパ球を標的T細胞 (MT-2細胞) とともに培養し、HIVに依存した多核体の形成を調べる活性HIV-1ウイルス複製アッセイ；感染したトリメラ・マウスから回収したヒトのリンパ球をcMAGIインディケータ細胞とともに培養し、HIV-1 LTRによって駆動される β -ガラクトシダーゼのトランス活性化を測定する方法がある。これらのマウスで生成された抗HIV-1抗体のレベルはELISAによって測定することもできる。生体内での化合物の抗ウイルス活性を調べるのに従来報告されている確立された他のマウス・モデルも利用できる (Mosier他、Semin. Immunol., 1996年、第8巻：255～262ページ；Mosier他、Hosp. Pract. (Off Ed.), 1996年、第31巻：41～48、53～55、59～60ページ；Bonyhadi他、Mol. Med. Today, 1997年、第3巻：246～253ページ；Jolicoeur他、Leukemia, 1999年、第13巻：S78～S80ページ；Browning他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997年、第94巻：14637～14641ページ；Sawada他、J. Exp. Med., 1998年、第187巻：1439～1449ページ参照)。サル免疫不全ウイルス (SIV) 非ヒト霊長類モデルも報告されている (Schito他、Curr. HIV Res., 2006年、第4巻：379～386ページ参照)。

【0439】

6. 医薬組成物

【0440】

この明細書で参照することによって記載されるか組み込まれているあらゆる化合物は、場合によってはその化合物を含む組成物の形態でもよい。この明細書に記載した化合物の組み合わせの投与には、同じ剤形の2種類以上の化合物を対象に投与する操作を含めることができる。この明細書に記載した化合物の組み合わせの投与には、別々の剤形の2種類以上の化合物を対象に投与する操作を含めることもできる。

【0441】

この明細書に提示したいくつかの実施態様では、組成物 (医薬組成物を含む) は、化合物と、医薬として許容可能な基剤、または賦形剤、または希釈剤とを含む。

【0442】

別の実施態様では、有効量の化合物と、医薬として許容可能な基剤、または賦形剤、または希釈剤とを含む医薬組成物が提供される。この医薬組成物は、動物および/またはヒトへの投与に適している。

【0443】

10

20

30

40

50

この明細書に提示した医薬組成物は、対象にその組成物を投与することのできる任意の形態にすることが可能である。その対象は動物であることが好ましく、例えばヒト、哺乳動物、ヒト以外の動物（ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、家禽類、ネコ、イヌ、ラット、ウサギ、モルモットなど）が挙げられるが、これらに限定されない。対象は哺乳動物であることがより好ましく、ヒトであることが最も好ましい。

【0444】

特別な一実施態様とこの文脈では、“医薬として許容可能な基剤、または賦形剤、または希釈剤”という表現は、連邦または州政府の規制当局によって承認されるか、アメリカ合衆国薬局方、または動物（より具体的にはヒト）で使用するため一般に認められている他の薬局方に掲載された基剤、または賦形剤、または希釈剤を意味する。“基剤”という用語は、治療薬とともに投与する希釈剤、アジュバント（例えばフロイントのアジュバント（完全、不完全））、賦形剤、ビヒクルを意味する。このような医薬用基剤として、水や油などの無菌液体が可能であり、その中には、石油、動物、植物を起源とするもの、合成したものが含まれ、例えばピーナツ油、ダイズ油、鉱物油、ゴマ油などがある。水は、医薬組成物を静脈内投与するときに好ましい基剤である。生理食塩水と、デキストロースとグリセロールの水溶液も、液体基剤として、特に注射可能な溶液で使用できる。適切な医薬用基剤の例は、E.W. Martinによる『レミントンの薬理科学』に記載されている。

10

【0445】

典型的な組成物と剤形は、1種類以上の賦形剤を含んでいる。適切な賦形剤は薬学の分野の当業者に周知であり、適した賦形剤の非限定的な例として、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、モルト、コメ、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールなどがある。特定の賦形剤が医薬組成物または剤形に組み込むのに適しているかどうかは、この分野で周知のさまざまな因子に依存する。因子として、剤形を患者に投与する方法、剤形中の具体的な活性成分などがあるが、これらに限定されない。組成物または単一投与剤形は、望むのであれば、わずかな量の湿潤剤か乳化剤、またはpH緩衝剤も含むことができる。

20

【0446】

無ラクトース組成物は、この分野で周知の賦形剤、または例えばアメリカ合衆国薬局方（USP）SP(XXI)/NF(XVI)に掲載されている賦形剤を含むことができる。一般に、無ラクトース組成物は、医薬で許容可能な量の活性成分、結合剤/充填剤、潤滑剤を含んでいる。好ましい無ラクトース剤形は、化合物、微結晶セルロース、あらかじめゼラチン化させたデンプン、ステアリン酸マグネシウムを含んでいる。

30

【0447】

この明細書では、1種類以上の化合物を含む無水の医薬組成物と剤形がさらに提供される。なぜなら水はいくつかの化合物を容易に分解させることができるからである。例えば水の添加（例えば5%）は、商品寿命、または時間が経過したときの製剤の安定性などの特性を明らかにするため、長期保管をシミュレーションする手段として医薬の分野で広く認められている。例えばJens T. Carstensen、『薬の安定性：原理と実際』、第2版、Marcel Dekker社、ニューヨーク、ニューヨーク州、1995年、379~380ページを参照のこと。実際、水と熱はいくつかの化合物の分解を加速させる。したがって製剤に対する水の効果は、大きな意味を持つ可能性がある。なぜなら製造中、取り扱い中、包装中、保管中、輸送中、製剤の使用中には、一般に水分および/または湿気に遭遇するからである。

40

【0448】

この明細書に提示する無水の組成物と剤形は、無水成分または水分が少ない成分と、少ない水分または湿気の条件を利用して調製することができる。ラクトースと少なくとも1種類の化合物を含む組成物と剤形は、製造中、および/または包装中、および/または保管中に水分および/または湿気との実質的な接触が予想される場合には、無水であることが好ましい。

【0449】

50

無水組成物は、無水性が維持されるように調製して保管せねばならない。したがって無水組成物は、適切な製剤キットの中に入れることができるよう、水への曝露を阻止する公知の材料を用いて包装することが好ましい。適切な包装の例として、密封ホイル、プラスチック、単位用量容器（例えばバイアル）、プリスター・パック、ストリップ・パックなどがあるが、これらに限定されない。

【0450】

この明細書では、化合物の分解速度を低下させる1種類以上の薬剤を含む組成物と剤形がさらに提供される。この明細書で“安定剤”と呼ぶそのような薬剤として、抗酸化剤（例えばアスコルビン酸）、pH緩衝剤、塩緩衝剤などがあるが、これらに限定されない。

【0451】

組成物と単一投与剤形は、溶液、懸濁液、エマルジョン、錠剤、ピル、カプセル、粉末、持続放出製剤などの形態を取ることができる。経口製剤は、標準的な基剤（例えば医薬品質のマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなど）を含むことができる。このような組成物と剤形は、患者に適切に投与するための形態となるよう、予防または治療に有効な量の化合物（精製された形態が好ましい）を適切な量の基剤とともに含むことになる。製剤は、投与方式に適している必要がある。好ましい一実施態様では、組成物または単一投与剤形は無菌であり、対象に投与するのに適した形態である。対象は動物が好ましく、より好ましいのは哺乳動物であり、最も好ましいのはヒトである。

【0452】

この明細書で提示する組成物は、想定する投与経路に合うように製剤化される。投与経路の例として、非経口（例えば静脈内、皮内、皮下、口内（例えば吸入）、鼻腔内、経皮（局所）、経粘膜、滑膜内、目、直腸）があるが、これらに限定されない。特別な一実施態様では、組成物を定型的な手続きに従って製剤化し、ヒトへの静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、口内投与、鼻腔内投与、眼内投与、局所投与に適した組成物にする。好ましい一実施態様では、組成物を定型的な手続きに従って製剤化し、ヒトへの皮下投与に適した組成物にする。典型的には、静脈内投与のための組成物は、無菌等張水性緩衝液中の溶液にする。必要な場合には、組成物は、可溶剤と、注射部位における痛みを軽減するための局所鎮痛剤（例えばリグノカイン）も含むことができる。剤形の例として、錠剤；カプレット；カプセル（例えば軟らかい弾性ゼラチン製カプセル）；カシェ；トローチ；ロゼンジ；分散液；座薬；軟膏；パップ（湿布剤）；ペースト；粉末；ドレッシング；クリーム；膏薬；溶液；パッチ；エーロゾル（例えば鼻腔スプレーまたは吸入器）；ゲル；患者への経口投与または粘膜投与に適した液体剤形（懸濁液（例えば水性または非水性の液体懸濁液、水中油エマルジョン、油中水エマルジョン））；患者に非経口投与するのに適した液体剤形；再構成して患者への非経口投与に適した液体剤形を提供することのできる無菌固体（例えば結晶性固体またはアモルファス固体）などがあるが、これらに限定されない。

【0453】

本発明による剤形の組成、形、種類は、一般にその用途に応じて異なる。

【0454】

一般に、この明細書に提示した組成物の成分は、単位剤形の形態で、例えば凍結乾燥粉末として、または活性剤の量を示す密封容器（例えばアンプルやサシット）中の無水濃縮物として、別々に、または混合して供給される。組成物を輸液によって投与する場合には、無菌の医薬品質の水または生理食塩水を収容した輸液瓶を用いて供給する。組成物を注射によって投与する場合には、投与前に諸成分を混合できるようにするため、注射用無菌水または生理食塩水のアンプルを用意する。

【0455】

この明細書に提示した医薬組成物で経口投与に適したものは、離散した剤形として提供することができる。例えば錠剤（噛むことのできる錠剤）、カプレット、カプセル、液体（例えば風味付きシロップ）があるが、これらに限定されない。このような剤形は、所定

10

20

30

40

50

量の活性成分を含んでおり、当業者に周知の薬学の方法で調製することができる。一般に、『レミントンの薬理科学』、第18版（Mack Publishing社、イーストン、ペンシルヴェニア州、（1990年））を参照のこと。

【0456】

この明細書に提示した典型的な経口用剤形は、化合物を、従来からある医薬製剤化技術に従って少なくとも1種類の賦形剤と密に混合することによって調製される。賦形剤は、投与を望む調製物の形態に応じてさまざまな形態を取ることができる。例えば経口の液体またはエーロゾルの剤形で用いるのに適した賦形剤として、水、グリセロール、油、アルコール、風味剤、保存剤、着色剤などがあるが、これらに限定されない。固体の経口剤形（例えば粉末、錠剤、カプセル、カプレット）で用いるのに適した賦形剤として、デンプン、糖、微結晶セルロース、希釈剤、顆粒剤、潤滑剤、結合剤、崩壊剤があるが、これらに限定されない。

10

【0457】

錠剤とカプセルは投与が容易であるため、最も有利な経口剤形である。この場合には、固体賦形剤が使用される。望むのであれば、錠剤を標準的な水性技術または非水性技術によって被覆することができる。このような剤形は、薬学の任意の方法で調製することができる。一般に、医薬組成物と剤形は、活性成分を、液体基剤と細分割した固体基剤の一方または両方と均一かつ密に混合した後、必要な場合には生成物を整形して望む外観にすることによって調製される。

20

【0458】

例えば錠剤は、圧縮または成形によって調製できる。圧縮錠剤は、自由に流動する形態（例えば粉末、顆粒）の活性成分を、必要に応じて賦形剤と混合し、適切な機械の中で圧縮することによって調製できる。成形錠剤は、粉末状の化合物を不活性な液体希釈剤で湿らせることによって得られた混合物を適切な機械の中で成形することによって調製できる。

30

【0459】

この明細書で提供する経口剤形で使用できる賦形剤の例として、結合剤、充填剤、崩壊剤、潤滑剤などがあるが、これらに限定されない。医薬組成物と剤形で用いるのに適した結合剤として、トウモロコシのデンプン、ジャガイモのデンプン、他のデンプン、ゼラチン、天然と合成のゴム（例えばアカシア）、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸、他のアルギン酸塩、粉末タラガカント、グアル・ゴム、セルロースとその誘導体（例えばエチルセルロース、酢酸セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ナトリウムカルボキシメチルセルロース）、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、あらかじめゼラチン化したデンプン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（例えば2208番、2906番、2910番）、微結晶セルロースや、これらの混合物があるが、これらに限定されない。

40

【0460】

この明細書に提示する医薬組成物と剤形で使用するのに適した充填剤の例として、タルク、炭酸カルシウム（例えば顆粒、粉末）、微結晶セルロース、粉末セルロース、デキストレート、カオリン、マンニトール、ケイ酸、ソルビトール、デンプン、あらかじめゼラチン化したデンプンや、これらの混合物があるが、これらに限定されない。この明細書に提示する医薬組成物の中の結合剤または充填剤は、典型的には、医薬組成物または剤形の中に約50～約99重量%の割合で存在する。

50

【0461】

微結晶セルロースの適切な形態として、AVICEL PH 101、AVICEL PH 103、AVICEL RC 581、AVICEL PH 105として販売されている材料（FMC Corporation社、American Viscose Division、Avicel Sales、マークス・フック、ペンシルヴェニア州）とその混合物があるが、これらに限定されない。具体的な1つの結合剤は、微結晶セルロースとナトリウムカルボキシメチルセルロースの混合物であり、AVICEL RC 581として販売されている。適切な無水または低水分の賦形剤または添加剤として、AVICEL PH 103（登録商標）とStarch 1500 LMがある。

60

【0462】

水性環境に曝露されたときに崩壊する錠剤を提供するため、この明細書に提示する組成物では崩壊剤が使用される。崩壊剤を多く含みすぎる錠剤は保管中に崩壊する可能性があるが、崩壊剤の含有が少なすぎる錠剤は、望む速度で、または望む条件下で崩壊しない可能性がある。したがってこの明細書に提示する固体経口剤形を形成するには、多すぎたり少なすぎたりして活性成分の放出を好ましくないように変えることのない十分な量の崩壊剤を使用すべきである。使用する崩壊剤の量は製剤のタイプによって異なり、当業者が容易に判断できる。典型的な医薬組成物は、約0.5～約15重量%、より詳細には約1～約5重量%の崩壊剤を含んでいる。

【0463】

この明細書に提示する医薬組成物と剤形で使用できる崩壊剤として、寒天、アルギン酸、炭酸カルシウム、微結晶セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスボイドン、ポラクリリンカリウム、グリコール酸ナトリウムデンプン、ジャガイモまたはタピオカのデンプン、あらかじめゼラチン化したデンプン、他のデンプン、クレー、他のアルギン、他のセルロース、ガムや、これらの混合物があるが、これらに限定されない。

【0464】

この明細書に提示する医薬組成物と剤形で使用できる潤滑剤として、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、鉱物油、軽鉱物油、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレングリコール、他のグリコール、ステアリン酸、ラウリル硫酸ナトリウム、タルク、水素化植物油（例えばピーナツ油、綿実油、ヒマワリ油、ゴマ油、オリブ油、コーン油、ダイズ油）、ステアリン酸亜鉛、オレイン酸エチル、ラウリン酸エチル、寒天や、これらの混合物があるが、これらに限定されない。別の潤滑剤として、例えば、シロイドシリカゲル（W.R. Grace社（パルチモア、メリーランド州）が製造しているAEROSIL 200）、合成シリカの凝集エーロゾル（Degussa社（プラノ、テキサス州）が販売）、CAB O SIL（Cabot社（ボストン、マサチューセッツ州）が販売している発熱性二酸化ケイ素製品）や、これらの混合物がある。潤滑剤は、使用する場合には、典型的には、それを中に組み込むことになる医薬組成物または剤形の約1重量%未満の量で使用される。

【0465】

化合物は、制御放出手段によって投与すること、または当業者に周知の送達装置によって投与することができる。例として、アメリカ合衆国特許第3,845,770号、第3,916,899号、第3,536,809号、第3,598,123号、第4,008,719号、第5,674,533号、第5,059,595号、第5,591,767号、第5,120,548号、第5,073,543号、第5,639,476号、第5,354,556号、第5,733,566号（そのそれぞれが、参考としてこの明細書に組み込まれている）に記載されているものがあるが、これらに限定されない。そのような剤形を利用して1種類以上の活性成分を徐放または制御放出することができる。例えばヒドロキシプロピルセルロース、他のポリマー・マトリックス、ゲル、浸透性の膜、浸透系、多層被覆、微小粒子、リポソーム、マイクロスフェアや、これらの組み合わせを使用して、さまざまな割合での望む放出形態にする。当業者に知られている適切な制御放出製剤は、この明細書に記載したものも含め、本発明の活性成分とともに使用するためのものを容易に選択することができる。したがって本発明は、経口投与に適した単一投与剤形（例えば制御放出に適した錠剤、カプセル、ゲルキャップ、カプレットなど）をカバーする。

【0466】

制御放出医薬製品はどれも、制御されていない対応する医薬製品によって実現されるよりも治療薬を改善するという共通の目標を有する。理想的には、最適に設計された制御放出製剤の医療での使用は、疾患を最短期間で治療または制御するのに用いる薬物質が最少であることを特徴とする。制御放出製剤の利点として、薬の活性期間の延長、投与頻度の減少、患者のコンプライアンスの向上がある。それに加え、制御放出製剤を用いると、作用や他の特徴（例えば薬の血中レベル）が始まる時点に影響を与えることができるため、副作用（例えばマイナスの効果）の発生に影響を与えることができる。

10

20

30

40

50

【0467】

たいていの制御放出製剤は、望む治療効果を迅速に生じさせる量の薬（活性成分）を最初に放出し、薬の残量を徐々にかつ連続的に放出してこのレベルの治療効果または予防効果を長期にわたって維持するように設計されている。体内で薬をこの一定レベルに維持するため、薬は、代謝されて身体から排泄される量の薬と置換する速度で剤形から放出されねばならない。活性成分の制御放出は、さまざまな条件によって促進することができる。条件として、例えばpH、温度、酵素、水や、他の生理学的条件、他の薬剤があるが、これらに限定されない。

【0468】

非経口剤形は、さまざまな経路で患者に投与することができる。経路として、皮下、静脈内（ボラス注射を含む）、筋肉内、動脈内があるが、これらに限定されない。非経口剤形の投与では、一般に、汚染物質に対する患者の自然免疫を回避することが理由で、非経口剤形は、無菌であるか、患者に投与する前に殺菌できることが好ましい。非経口剤形の例として、注射用溶液、医薬として許容可能な注射用ビヒクルに溶解または懸濁させるのが容易な乾燥製品、注射用懸濁液、エマルジョンがあるが、これらに限定されない。

10

【0469】

この明細書に提示する非経口剤形で使用できる適切なビヒクルは当業者に周知である。例として、注射用USPのための水；水性ビヒクル（例えば塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、デキストロース注射液、デキストロースと塩化ナトリウムの注射液、乳酸塩化したリンゲル注射液など）；水と混和するビヒクル（例えばエチルアルコール、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールなど）；非水性ビヒクル（コーン油、綿実油、ピーナツ油、ゴマ油、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、安息香酸ベンジルなど）があるが、これらに限定されない。

20

【0470】

この明細書に提示する1種類以上の化合物の可溶性を向上させる薬剤も、この明細書に提示する非経口剤形に組み込むことができる。

【0471】

この明細書に提示する経皮用、局所用、粘膜用の剤形として、眼科溶液、スプレー、エーロゾル、クリーム、ローション、軟膏、ゲル、溶液、エマルジョン、懸濁液や、当業者に知られている他の形態があるが、これらに限定されない。例えば『レミントンの薬理科学』、第16版と第18版（Mack Publishing社、イーストン、ペンシルヴェニア州、（1980年と1990年）；『医薬剤形入門』、第4版、Lea & Febiger社、フィラデルフィア（1985年）を参照のこと。口腔内の粘膜組織の治療に適した剤形は、うがい液または口内用ゲルとして製剤化することができる。さらに、経皮剤形として、“リザーバ・タイプ”または“マトリックス・タイプ”のパッチがある。このパッチは、皮膚に付着させ、望む量の活性成分が侵入できるよう、特定の期間にわたって貼り付けたままにしておくことができる。

30

【0472】

この明細書に提示する経皮用、局所用、粘膜用の剤形を提供するのに使用できる適切な賦形剤（基剤と希釈剤）と他の材料は、医薬の分野の当業者には周知だが、所与の医薬組成物または剤形を付着させることになる個々の組織によって異なる。その事実を念頭に置くと、典型的な賦形剤として、毒性がなくて医薬として許容できるローション、チンキ、クリーム、エマルジョン、ゲル、軟膏を形成するための賦形剤である水、アセトン、エタノール、エチレングリコール、プロピレングリコール、ブタン1,3-ジオール、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、鉱物油や、これらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。望むのであれば、モイスチャライザまたは湿潤剤も、医薬組成物と剤形に添加することができる。例えば『レミントンの薬理科学』、第16版と第18版（Mack Publishing社、イーストン、ペンシルヴェニア州、（1980年と1990年）参照。

40

【0473】

治療する具体的な組織に合わせ、治療前に、または治療と並行して、または治療後に、化合物とともに追加成分を用いることができる。例えば侵入促進剤を使用して活性成分を

50

組織に送達しやすくすることができる。適切な侵入促進剤として、アセトン；さまざまなアルコール（例えばエタノール、オレイル、テトラヒドロフラン）；アルキルスルホキシド（例えばジメチルスルホキシド）；ジメチルアセトアミド；ジメチルホルムアミド；ポリエチレングリコール；ピロリドン（例えばポリビニルピロリドン）；コリドン・グレード（ポビドン、ポリビドン）；尿素；水溶性または非水溶性のさまざまな糖エステル（トウイーン80（ポリソルベート80）、スパン60（モノステアリン酸ソルビタン））があるが、これらに限定されない。

【0474】

医薬製品または剤形のpH、またはその医薬製品または剤形を付着させる組織のpHを調節し、1種類以上の化合物の送達を改善することもできる。同様に、溶媒基剤の極性、イオン強度、等張性を調節して送達を改善することができる。ステアリン酸塩などの薬剤を医薬組成物または剤形に添加して1種類以上の化合物の親水性または親油性を有利に変化させることで送達を改善することもできる。この点に関し、ステアリン酸塩は、製剤の脂質ビヒクルとしても、乳化剤または表面活性剤としても、送達促進剤または侵入促進剤としても機能することができる。化合物のさまざまな塩、水和物、溶媒和物を使用し、得られる組成物の特性をさらに変化させることができる。

10

【0475】

特別ないくつかの実施態様では、組成物は、経口剤形、注射可能な剤形、経皮剤形のいずれかである。特別な一実施態様では、組成物は、経口剤形である。別の特別な一実施態様では、組成物は、注射可能な剤形の形態である。別の特別な一実施態様では、組成物は、経皮剤形の形態である。一実施態様では、組み合わせ治療薬の一部である複数の化合物を異なる投与経路で投与する。一実施態様では、複数の化合物を同じ投与経路で投与する。

20

【0476】

7. 予防法と治療法

【0477】

本発明により、ウイルス感染を予防および/または治療および/または管理するため、それを必要としている対象に1種類以上の化合物を投与する操作を含む方法が提供される。特別な一実施態様では、本発明により、ウイルス感染を予防および/または治療および/または管理するため、それを必要としている対象に、1種類以上の化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物を予防または治療に有効な量の用量で投与する操作を含む方法が提供される。化合物、または化合物の組成物は、ウイルス感染のための何番目か（例えば1番目、2番目、3番目、4番目、5番目）の治療薬として使用できる。

30

【0478】

別の一実施態様では、本発明は、ヒトにおいてウイルス感染によって変化した代謝フラックスを逆転または方向転換させるため、その必要があるヒトに、1種類以上の化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物を有効量投与する方法に関する。例えば、有利な効果（例えば相乗効果；副作用の減少；より大きな治療指数）を生じさせる酵素阻害化合物の組み合わせを用いてウイルス感染を治療することができる。そのような一実施態様では、例えばクエン酸リアーゼ阻害剤をアセチル-CoAカルボキシラーゼ（ACC）と組み合わせ

40

【0479】

使用する化合物の選択は、多数の因子に依存する。因子として、ウイルス感染のタイプ、患者の健康状態と年齢、毒性または副作用が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、コアATP生成に必要な酵素を抑制する治療薬（例えばプロトンATPアーゼ）は、例えば薬が全身に分布するのを制限する局所送達系を用いて毒性を打ち消す方法の中で与えられるのでない場合には好ましくない。

【0480】

本発明は、抗ウイルス治療薬を利用できないか、対象が以前の治療薬に反応しなかったウイルス感染を予防および/または治療および/または管理する方法をカバーする。本発

50

明は、予防および/または治療および/または管理するための、従来の他の治療法に代わる方法もカバーする。

【0481】

本発明により、ウイルス感染を予防および/または治療および/または管理するため、それを必要とする対象に、1種類以上の化合物と1種類以上の他の治療薬（例えば予防剤または治療剤）を投与する方法も提供される。特別な一実施態様では、他の治療剤は、ウイルス感染の予防および/または治療および/または管理に現在使用されているもの、または使用されてきたもの、または有用であることが知られているものである。そのような治療剤の非限定的な例は、例えば上記のセクション7に提示されている。特別な一実施態様では、1種類以上の化合物は、上記のセクション7に記載した1種類以上の治療剤と組み合わせて対象に投与される。別の一実施態様では、1種類以上の化合物は、サポート用治療剤、または痛み緩和剤、または抗ウイルス活性を持たない他の治療剤と組み合わせて対象に投与される。

10

【0482】

本発明の組み合わせ治療薬は、順番に、および/または同時に投与することができる。一実施態様では、本発明の組み合わせ治療薬は、化合物を含むとともに、その化合物と同じ作用機構を持つ少なくとも1種類の他の治療剤を含んでいる。別の一実施態様では、本発明の組み合わせ治療薬は、化合物を含むとともに、その化合物とは異なる作用機構を持つ少なくとも1種類の他の治療剤を含んでいる。

20

【0483】

特別な一実施態様では、本発明の組み合わせ治療薬は、化合物の予防効果および/または治療効果を、その化合物とともに機能して付加効果または相乗効果を持つようにすることによって向上させる。別の一実施態様では、本発明の組み合わせ治療薬は、単独で摂取された各治療薬に付随する副作用を減らす。

30

【0484】

組み合わせ治療薬の予防剤または治療剤は、同じ医薬組成物の中で対象に投与することができる。あるいは組み合わせ治療薬の予防剤または治療剤は、別々の医薬組成物にして対象に同時に投与することができる。投与される予防剤および/または治療剤は、同じ投与経路で、または異なる投与経路で対象に投与することができる。対象に投与される1種類以上の化合物は、他の化合物の前または後に投与してもよいため、第1の化合物の投与から第2の化合物の投与まで数時間、数日、数週間の間があく。あるいは投与される複数の化合物は、ほぼ同時に投与することができる。

40

【0485】

7.1 患者の集団

【0486】

本発明によれば、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ウイルスに感染している対象に投与する。別の実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ウイルスに感染しそうな対象、またはウイルスに感染しやすい対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ウイルス感染が発生したことがあるか発生する可能性のある地域に住む対象に投与する。いくつかの実施態様では、ウイルス感染は、潜在的なウイルス感染である。一実施態様では、化合物または組み合わせ治療薬を、ヒト幼児に投与する。一実施態様では、化合物または組み合わせ治療薬を、ヒト乳児に投与する。別の実施態様では、ウイルス感染は、実際のウイルス感染である。さらに別の実施態様では、ウイルス感染は、慢性的なウイルス感染である。ウイルス感染のタイプの非限定的な例として、上記のセクション5.1に提示したものによって起こる感染がある。

40

【0487】

特別な一実施態様では、ウイルス感染は、エンベロープを有するウイルスの感染である。いくつかの実施態様では、エンベロープを有するウイルスは、DNAウイルスである。別の実施態様では、エンベロープを有するウイルスは、RNAウイルスである。いくつかの実

50

施態様では、エンベロープを有するウイルスは、二本鎖のDNAゲノムまたはRNAゲノムを有する。別の実施態様では、エンベロープを有するウイルスは、一本鎖のDNAゲノムまたはRNAゲノムを有する。特別な一実施態様では、ウイルスはヒトに感染する。

【0488】

いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、哺乳動物に投与する。その哺乳動物の年齢は、0~6ヶ月、6~12ヶ月、1~5年、5~10年、10~15年、15~20年、20~25年、25~30年、30~35年、35~40年、40~45年、45~50年、50~55年、55~60年、60~65年、65~70年、70~75年、75~80年、80~85年、85~90年、90~95年、95~100年のいずれかである。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ウイルス感染のリスクがあるヒトに投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ウイルスに感染したヒトに投与する。いくつかの実施態様では、患者はヒトであり、その年齢は、0~6ヶ月、6~12ヶ月、1~5年、5~10年、10~15年、15~20年、20~25年、25~30年、30~35年、35~40年、40~45年、45~50年、50~55年、55~60年、60~65年、65~70年、70~75年、75~80年、80~85年、85~90年、90~95年、95~100年のいずれかである。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ヒト幼児に投与する。別の実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ヒト小児に投与する。別の実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ヒト成人に投与する。さらに別の実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、高齢のヒトに投与する。

10

20

【0489】

いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、ペット（例えばイヌまたはネコ）に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、家畜（例えばブタ、ウシ、ウマ、ニワトリなど）に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、鳥類（例えばアヒル、ニワトリ）に投与する。

【0490】

いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、免疫低下状態、または免疫抑制状態、または免疫低下か免疫抑制になるリスクがある状態の霊長類、好ましくはヒト、または他の哺乳動物（例えばブタ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、齧歯類）に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、免疫抑制療法を受けているか、その療法から回復中の対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、がん、エイズ、別のウイルス感染、細菌感染のリスクがある対象に投与する。いくつかの実施態様では、対象は、手術および/または化学療法および/または放射線療法を受けている、または受けることになる、または受けたことがある。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、嚢胞性繊維症や肺繊維症の対象、またはウイルスに感染しやすくする他の疾患を持つ対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、移植された組織のある対象、組織を移植されることになる対象、移植された組織のあった対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、看護ホーム、グループ・ホーム（すなわち10人以上の対象のためのホーム）、監獄に住む対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、学校（例えば小学校、中学校、高校、大学）またはデイケアに通う対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、健康管理の分野で仕事をしている対象（例えば医師、看護師）や病院内で働いている対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、妊娠している対象、または妊娠することになる対象に投与する。

30

40

50

【0491】

いくつかの実施態様では、化合物以外の治療薬に対する何らかの不都合な効果または不寛容が進展する前に、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を患者に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、不応性の患者に投与する。いくつかの実施態様では、ウイルスに感染した患者は、感染が有意に解消されていない、および/または症状が有意に緩和されていないとき、治療薬に対して不応性である。患者が不応性であるかどうかは、このような文脈で“不応性”に関して受け入れられている意味を用い、感染の治療の有効性を調べるための従来から知られている任意の方法によってインビボまたはインビトロで判断することができる。さまざまな実施態様では、ウイルスに感染した患者は、ウイルスの複製が減少しなかったり増加したりするときに不応性である。

10

【0492】

いくつかの実施態様では、化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を患者に投与し、ウイルス感染が進展するリスクのある患者でそのようなウイルス感染の開始または再発を阻止する。いくつかの実施態様では、化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、従来の治療薬に対して不都合な反応を示す傾向のある患者に投与する。

【0493】

いくつかの実施態様では、1種類以上の化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、化合物以外の治療薬に対して不応性であることが判明したが、その治療薬をもはや使用していない対象に投与する。いくつかの実施態様では、本発明の方法に従って管理または治療される患者は、抗生剤、抗ウイルス剤、抗菌剤や、他の生物療法/免疫療法ですでに治療されている患者である。これらの患者の中に、不応性の患者や、通常の療法を行なうには若すぎる患者や、既存の療法での管理または治療にもかかわらずウイルス感染が再発した患者が含まれる。

20

【0494】

いくつかの実施態様では、1種類以上の化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を投与される対象は、その化合物、またはその組成物、またはその組み合わせ治療薬の投与前に治療を受けていない。別の実施態様では、1種類以上の化合物、または1種類以上の化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を、その1種類以上の化合物、またはその1種類以上の化合物を含む組成物、またはその組み合わせ治療薬の投与前に治療を受けたことのある対象に投与する。いくつかの実施態様では、化合物、または化合物を含む組成物、または組み合わせ治療薬を投与される対象は、以前の治療薬に対して不応性であったか、不都合な副作用を経験した。あるいは以前の治療薬は、対象に対する毒性が許容できないレベルであること原因で中断された。

30

【0495】

7.2 投与方式

【0496】

患者に投与するとき、化合物は、組成物（場合によっては医薬として許容可能なビヒクルを含む）の1成分として投与することが好ましい。この組成物は、経口投与すること、または他の適切な任意の経路で（例えば輸液やボラス注射によって、上皮または粘膜（例えば口の粘膜、直腸粘膜、腸粘膜）を通じた吸収によって）投与することができ、別の生物活性剤とともに投与してもよい。投与は、全身投与または局所投与が可能である。さまざまな送達系（例えばリポソームの中へのカプセル化、マイクロ粒子、マイクロカプセル、カプセル）が知られており、化合物と、その医薬として許容可能な塩を投与するのに使用できる。

40

【0497】

投与方法として、非局所、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、口内、舌下、大脳内、腔内、経皮、直腸、吸入、局所（特に耳、鼻、目、皮膚）がある。投与方式は、実施者の裁量に委ねられる。たいいていの場合、投与によって化合物が血流に放出

50

されることになる。

【0498】

特別な実施態様では、化合物を局所的に投与することが望ましい可能性がある。それは、例えば局所的輸液によって、例えば傷被覆と組み合わせた局所塗布によって、注射によって、カテーテルによって、座薬によって、インプラント（そのインプラントは、多孔性材料、非多孔性材料、ゼラチン状材料からなり、その中には膜（例えばシアラスティック膜）やファイバーが含まれる）によって実現できるが、これらの方法に限定されない。そのような場合、投与は、化合物を血流に実質的に放出することなく、局所組織を標的とすることができる。

【0499】

いくつかの実施態様では、適切な任意の経路（例えば脳室内注射、硬膜下腔内注射、硬膜外注射）によって化合物を中枢神経系に導入することが望ましい可能性がある。脳室内注射は、例えばレザパー（例えばオマヤ・レザパー）に取り付けた脳室内カテーテルを用いることによって容易になろう。

【0500】

吸入器または噴霧器を使用して、またはエーロゾル化剤との製剤を用いることによって、またはフルオロカーボンまたは合成肺界面活性物質の中での灌流を通じて、肺に投与することもできる。いくつかの実施態様では、化合物を従来の結合剤およびビヒクル（例えばトリグリセリド）とともに座薬として製剤化する。

【0501】

皮膚に現われるウイルス感染に関しては、化合物を局所投与することができる。同様に、目に現われるウイルス感染に関しては、化合物を目に投与することができる。

【0502】

別の一実施態様では、化合物を小胞（特にリボソーム）に入れて送達する（Langer、1990年、*Science*、第249巻：1527～1533ページ；*Treatise*、『感染性疾患と細菌感染の治療におけるリボソーム』（Lopez-BerensteinとFidler（編）、Liss社、ニューヨーク）の中の353～365ページ；Lopez-Berenstein、前記文献、317～327ページ参照；全般には同書を参照）。

【0503】

別の一実施態様では、化合物を制御放出系に入れて送達する（例えば、『制御放出の医学での応用』第2巻の中のGoodson、115～138ページ（1984年）参照）。制御放出系の例は、Langer、1990年、*Science*、第249巻：1527～1533ページの概説に記載されている。一実施態様では、ポンプを使用できる（Langer、上記文献；Sefton、1987年、*CRC Crit. Rev. Biomed. Eng.*、第14巻：201ページ；Buchwald他、1980年、*Surgery*、第88巻：507ページ；Saudek他、1989年、*N. Engl. J. Med.*、第321巻：574ページ参照）。別の一実施態様では、ポリマー材料を使用できる（『制御放出の医学での応用』、LangerとWise（編）、CRC Press社、ボカ・レイトン、フロリダ州（1974年）；『制御された薬の生物学利用能、薬の製品設計と性能』、SmolenとBall（編）、Wiley社、ニューヨーク（1984年）；RangerとPeppas、1983年、*J. Macromol. Sci. Rev, Macromol. Chem.*、第23巻：61ページ参照；Levy他、1985年、*Science*、第228巻：190ページ；During他、1989年、*Ann. Neurol.*、第25巻：351ページ；Howard他、1989年、*J. Neurosurg.*、第71巻：105ページも参照のこと）。特別な一実施態様では、化合物を含む制御放出系を、予防および/または治療および/または管理すべきウイルスに感染する組織に近接して配置する。この実施態様では、感染源に制御放出系が近接していることで、全身投与する場合に必要な化合物の用量のほんの一部で済む可能性がある。

【0504】

いくつかの実施態様では、抗ウイルス活性を有する化合物を、ウイルスの天然の感染経路を通じて投与することが好ましい可能性がある。ウイルス（例えばインフルエンザウイルス）による呼吸管の感染を治療または予防するため、例えば本発明の化合物を適切な任意の経路によって肺の中に投与することが望ましい可能性がある。例えば吸入器または噴

10

20

30

40

50

霧器を使用して、またはスプレーとして使用するためのエアゾル化剤との製剤を用いることによって、肺に投与することもできる。

【0505】

7.3 化合物と組み合わせて使用する薬剤

【0506】

ウイルス感染の予防および/または治療および/または管理のため、化合物、または化合物の組み合わせと組み合わせて使用できる治療薬または予防薬として、小分子、合成薬、ペプチド（環状ペプチドを含む）、ポリペプチド、タンパク質、核酸（例えばDNAヌクレオチドやRNAヌクレオチドであり、その中には、アンチセンスヌクレオチド配列、三重螺旋、RNAi、生物活性のあるタンパク質をコードしているヌクレオチド配列、ポリペプチド、ペプチドが含まれるが、これらに限定されない）、抗体、合成無機分子、天然の無機分子、模倣剤、合成有機分子、天然の有機分子が挙げられるが、これらに限定されない。このような薬剤の具体例として、免疫調節剤（例えばインターフェロン）、抗炎症剤（例えばアドレノコルチコイド、コルチコステロイド（例えばベクロメタゾン、ブデソニド、フルニソリド、フルチカゾン、トリアムシノロン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、プレドニゾン、ヒドロコルチゾン）、グルココルチコイド、ステロイド、非ステロイド系抗炎症薬（例えばアスピリン、イブプロフェン、ジクロフェナク、COX-2阻害剤）、痛み軽減剤、ロイコトリエン・アンタゴニスト（例えばモンテルカスト、メチルキサンチン、ザフィルカスト、ジロイトン）、2-アゴニスト（例えばアルブテロール、ピテロール、フェノテロール、イソエタリー、メタプロテレノール、ビルブテロール、サルブタモール、テルブタリンフォルモテロール、サルメテロール、サルブタモールテルブタリン）、抗コリン作動薬（例えば臭化イプラトロピウム、臭化オキシトリピウム）、スルファサラジン、ペニシラミン、ダブゾン、抗ヒスタミン、抗マラリア薬（例えばヒドロキシクロロキン）、抗ウイルス剤（例えばヌクレオシド類似体（例えばジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビダラビン、イドクスウリジン、トリフルリジン、リバビリン）、フォスカルネット、アマンタジン、リマンタジン、サキナビル、インジナビル、リトナビル、AZT）、抗生剤（例えばダクチノマイシン（以前のアクチノマイシン）、プレオマイシン、エリスロマイシン、ペニシリン、ミトラマイシン、アントラマイシン（AMC））が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

【0507】

ウイルス感染の予防および/または治療および/または管理に有用であることが知られている、または使用されてきた、または現在使用されているあらゆる薬を、この明細書に記載した本発明の化合物と組み合わせて使用することができる。ウイルス感染の予防および/または治療および/または管理に使用されてきた、または現在使用されている治療薬（例えば予防薬または治療薬）に関する情報については、例えばGilman他、『GoodmanとGilmanの治療薬の薬理学的基礎』、第10版、McGraw-Hill社、ニューヨーク、2001年；『診断と治療のメルク・マニュアル』、Berkow, M.D.他編、第17版、Merck Sharp & Dohme Research Laboratories社、ラーウェイ、ニュージャージー州、1999年；『医学のセシル教科書』、第20版、BennettとPlum編、W.B. Saunders社、フィラデルフィア、1996年；『内科医の机上参考書』（第61版、2007年）を参照のこと。

40

【0508】

7.3.1 抗ウイルス剤

【0509】

ここに開示した組み合わせと組み合わせて使用できる抗ウイルス剤として、非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤、ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、融合阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。一実施態様では、抗ウイルス剤の選択は、アマンタジン、リン酸オセルタミビル、リマンタジン、ザナミビルからなるグループの中からなされる。別の実施態様では、抗ウイルス剤は、ダラビリジン、エファビレンツ、ネビラピンからなるグループの中から選択された非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤である。別の実施態様では、抗ウイルス剤は、アバカビル、ジダノシン、エムトリシタピン、ラ

50

ミブジン、スタブジン、テノフォビルDF、ザルシタピン、ジドブジンからなるグループの中から選択されたヌクレオシド逆転写酵素阻害剤である。別の一実施態様では、抗ウイルス剤は、アムプレナビル、アタザナビル、フォサムプレナブ、インジナビル、ロピナビル、ネルフィナビル、リトナビル、サキナビルからなるグループの中から選択されたプロテアーゼ阻害剤である。別の一実施態様では、抗ウイルス剤は、エンフビルジドなどの融合阻害剤である。

【0510】

化合物と組み合わせて使用するための抗ウイルス剤の別の非限定的な例として、リファムピシン、ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤（例えばAZT、ddI、ddC、3TC、d4T）、非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤（例えばデラビルジン、エファビレンツ、ネビラピン）、プロテアーゼ阻害剤（例えばアプレナビル、インジナビル、リトナビル、サキナビル）、イドクスウリジン、シドフォビル、アシクロビル、ガンシクロビル、ザナミビル、アマンタジン、パリビズマブが挙げられる。抗ウイルス剤の別の例として、アセマンナン；アシクロビル；アシクロビルナトリウム；アデフォビル；アロブジン；アルビルセプトストックス；アマンタジンヒドロクロリド（SYMMETRELTM）；アラノチン；アシルドン；アテビルジンメシラート；アプリジン；シドフォビル；シナムフィリン；シタラピンヒドロクロリド；デラビリジンメシラート；デスシクロビル；ジダノシン；ジソキサリル；エドクスジン；エンピラデン；エンピロキシム；ファミシクロビル；ファミチンヒドロクロリド；フィアシタピン；フィアルリジン；フォサリレート；フォスカメットナトリウム；フォスフォネットナトリウム；ガンシクロビル；ガンシクロビルナトリウム；イドクスウリジン；ケトキサル；ラミブジン；ロブカビル；メモチンヒドロクロリド；メチサゾン；ネビラピン；リン酸オセルタミビル（TAMIFLUTM）；ペンシクロビル；ピロダビル；リバビリン；リマンタジンヒドロクロリド（FLUMADINETM）；サキナビルメシラート；ソマンタジンヒドロクロリド；ソリブジン；スタトロン；スタブジン；チロロンヒドロクロリド；トリフルリジン；バラシクロビルヒドロクロリド；ビダラピン；リン酸ビダラピン；リン酸ビダラピナトリウム；ピロキシム；ザルシタピン；ザナミビル（RELENZATM）；ジドブジン；ジンピロキシムが挙げられるが、これらに限定されない。

【0511】

7.3.2 抗菌剤

【0512】

化合物と組み合わせて使用できる抗菌剤（抗生剤を含む）として、アミノグリコシド抗生剤、グリコペプチド、アムフェニコール抗生剤、アンサマイシン抗生剤、セファロスポリン、セファマイシンオキサゾリジノン、ペニシリン、キノロン、ストレプトガミン、テトラサイクリンや、これらの類似体が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施態様では、抗生剤は、細菌感染を予防および/または治療する化合物と組み合わせて投与される。

【0513】

特別な一実施態様では、化合物は、他のタンパク質合成阻害剤（例えばストレプトマイシン、ネオマイシン、エリスロマイシン、カルボマイシン、スピラマイシン）と組み合わせて使用される。

【0514】

一実施態様では、抗菌剤の選択は、アンピリシン、アモキシシリン、シプロフロキサシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ペニシリンG、ストレプトマイシン、スルファニルアミド、バンコマイシンからなるグループの中からはなされる。別の一実施態様では、抗菌剤の選択は、アジスロマイシン、セフォニシド、セフォタン、セファロシン、セファマイシン、クオルテトラサイクリン、クラリスロマイシン、クリンダマイシン、シクロセリン、ダルフォプリスチン、ドキシサイクリン、エリスロマイシン、リネゾリド、ムピロシン、オキシテトラサイクリン、キヌプリスチン、リファンピン、スペクチノマイシン、トリメトプリムからなるグループの中からはなされる。

【0515】

10

20

30

40

50

化合物と組み合わせて使用される抗菌剤の別の非限定的な例として、アミノグリコシド
 10 10
 10 20
 30
 40
 50
 60
 70
 80
 90
 100
 110
 120
 130
 140
 150
 160
 170
 180
 190
 200
 210
 220
 230
 240
 250
 260
 270
 280
 290
 300
 310
 320
 330
 340
 350
 360
 370
 380
 390
 400
 410
 420
 430
 440
 450
 460
 470
 480
 490
 500
 510
 520
 530
 540
 550
 560
 570
 580
 590
 600
 610
 620
 630
 640
 650
 660
 670
 680
 690
 700
 710
 720
 730
 740
 750
 760
 770
 780
 790
 800
 810
 820
 830
 840
 850
 860
 870
 880
 890
 900
 910
 920
 930
 940
 950
 960
 970
 980
 990
 1000
 1010
 1020
 1030
 1040
 1050
 1060
 1070
 1080
 1090
 1100
 1110
 1120
 1130
 1140
 1150
 1160
 1170
 1180
 1190
 1200
 1210
 1220
 1230
 1240
 1250
 1260
 1270
 1280
 1290
 1300
 1310
 1320
 1330
 1340
 1350
 1360
 1370
 1380
 1390
 1400
 1410
 1420
 1430
 1440
 1450
 1460
 1470
 1480
 1490
 1500
 1510
 1520
 1530
 1540
 1550
 1560
 1570
 1580
 1590
 1600
 1610
 1620
 1630
 1640
 1650
 1660
 1670
 1680
 1690
 1700
 1710
 1720
 1730
 1740
 1750
 1760
 1770
 1780
 1790
 1800
 1810
 1820
 1830
 1840
 1850
 1860
 1870
 1880
 1890
 1900
 1910
 1920
 1930
 1940
 1950
 1960
 1970
 1980
 1990
 2000
 2010
 2020
 2030
 2040
 2050
 2060
 2070
 2080
 2090
 2100
 2110
 2120
 2130
 2140
 2150
 2160
 2170
 2180
 2190
 2200
 2210
 2220
 2230
 2240
 2250
 2260
 2270
 2280
 2290
 2300
 2310
 2320
 2330
 2340
 2350
 2360
 2370
 2380
 2390
 2400
 2410
 2420
 2430
 2440
 2450
 2460
 2470
 2480
 2490
 2500
 2510
 2520
 2530
 2540
 2550
 2560
 2570
 2580
 2590
 2600
 2610
 2620
 2630
 2640
 2650
 2660
 2670
 2680
 2690
 2700
 2710
 2720
 2730
 2740
 2750
 2760
 2770
 2780
 2790
 2800
 2810
 2820
 2830
 2840
 2850
 2860
 2870
 2880
 2890
 2900
 2910
 2920
 2930
 2940
 2950
 2960
 2970
 2980
 2990
 3000
 3010
 3020
 3030
 3040
 3050
 3060
 3070
 3080
 3090
 3100
 3110
 3120
 3130
 3140
 3150
 3160
 3170
 3180
 3190
 3200
 3210
 3220
 3230
 3240
 3250
 3260
 3270
 3280
 3290
 3300
 3310
 3320
 3330
 3340
 3350
 3360
 3370
 3380
 3390
 3400
 3410
 3420
 3430
 3440
 3450
 3460
 3470
 3480
 3490
 3500
 3510
 3520
 3530
 3540
 3550
 3560
 3570
 3580
 3590
 3600
 3610
 3620
 3630
 3640
 3650
 3660
 3670
 3680
 3690
 3700
 3710
 3720
 3730
 3740
 3750
 3760
 3770
 3780
 3790
 3800
 3810
 3820
 3830
 3840
 3850
 3860
 3870
 3880
 3890
 3900
 3910
 3920
 3930
 3940
 3950
 3960
 3970
 3980
 3990
 4000
 4010
 4020
 4030
 4040
 4050
 4060
 4070
 4080
 4090
 4100
 4110
 4120
 4130
 4140
 4150
 4160
 4170
 4180
 4190
 4200
 4210
 4220
 4230
 4240
 4250
 4260
 4270
 4280
 4290
 4300
 4310
 4320
 4330
 4340
 4350
 4360
 4370
 4380
 4390
 4400
 4410
 4420
 4430
 4440
 4450
 4460
 4470
 4480
 4490
 4500
 4510
 4520
 4530
 4540
 4550
 4560
 4570
 4580
 4590
 4600
 4610
 4620
 4630
 4640
 4650
 4660
 4670
 4680
 4690
 4700
 4710
 4720
 4730
 4740
 4750
 4760
 4770
 4780
 4790
 4800
 4810
 4820
 4830
 4840
 4850
 4860
 4870
 4880
 4890
 4900
 4910
 4920
 4930
 4940
 4950
 4960
 4970
 4980
 4990
 5000
 5010
 5020
 5030
 5040
 5050
 5060
 5070
 5080
 5090
 5100
 5110
 5120
 5130
 5140
 5150
 5160
 5170
 5180
 5190
 5200
 5210
 5220
 5230
 5240
 5250
 5260
 5270
 5280
 5290
 5300
 5310
 5320
 5330
 5340
 5350
 5360
 5370
 5380
 5390
 5400
 5410
 5420
 5430
 5440
 5450
 5460
 5470
 5480
 5490
 5500
 5510
 5520
 5530
 5540
 5550
 5560
 5570
 5580
 5590
 5600
 5610
 5620
 5630
 5640
 5650
 5660
 5670
 5680
 5690
 5700
 5710
 5720
 5730
 5740
 5750
 5760
 5770
 5780
 5790
 5800
 5810
 5820
 5830
 5840
 5850
 5860
 5870
 5880
 5890
 5900
 5910
 5920
 5930
 5940
 5950
 5960
 5970
 5980
 5990
 6000
 6010
 6020
 6030
 6040
 6050
 6060
 6070
 6080
 6090
 6100
 6110
 6120
 6130
 6140
 6150
 6160
 6170
 6180
 6190
 6200
 6210
 6220
 6230
 6240
 6250
 6260
 6270
 6280
 6290
 6300
 6310
 6320
 6330
 6340
 6350
 6360
 6370
 6380
 6390
 6400
 6410
 6420
 6430
 6440
 6450
 6460
 6470
 6480
 6490
 6500
 6510
 6520
 6530
 6540
 6550
 6560
 6570
 6580
 6590
 6600
 6610
 6620
 6630
 6640
 6650
 6660
 6670
 6680
 6690
 6700
 6710
 6720
 6730
 6740
 6750
 6760
 6770
 6780
 6790
 6800
 6810
 6820
 6830
 6840
 6850
 6860
 6870
 6880
 6890
 6900
 6910
 6920
 6930
 6940
 6950
 6960
 6970
 6980
 6990
 7000
 7010
 7020
 7030
 7040
 7050
 7060
 7070
 7080
 7090
 7100
 7110
 7120
 7130
 7140
 7150
 7160
 7170
 7180
 7190
 7200
 7210
 7220
 7230
 7240
 7250
 7260
 7270
 7280
 7290
 7300
 7310
 7320
 7330
 7340
 7350
 7360
 7370
 7380
 7390
 7400
 7410
 7420
 7430
 7440
 7450
 7460
 7470
 7480
 7490
 7500
 7510
 7520
 7530
 7540
 7550
 7560
 7570
 7580
 7590
 7600
 7610
 7620
 7630
 7640
 7650
 7660
 7670
 7680
 7690
 7700
 7710
 7720
 7730
 7740
 7750
 7760
 7770
 7780
 7790
 7800
 7810
 7820
 7830
 7840
 7850
 7860
 7870
 7880
 7890
 7900
 7910
 7920
 7930
 7940
 7950
 7960
 7970
 7980
 7990
 8000
 8010
 8020
 8030
 8040
 8050
 8060
 8070
 8080
 8090
 8100
 8110
 8120
 8130
 8140
 8150
 8160
 8170
 8180
 8190
 8200
 8210
 8220
 8230
 8240
 8250
 8260
 8270
 8280
 8290
 8300
 8310
 8320
 8330
 8340
 8350
 8360
 8370
 8380
 8390
 8400
 8410
 8420
 8430
 8440
 8450
 8460
 8470
 8480
 8490
 8500
 8510
 8520
 8530
 8540
 8550
 8560
 8570
 8580
 8590
 8600
 8610
 8620
 8630
 8640
 8650
 8660
 8670
 8680
 8690
 8700
 8710
 8720
 8730
 8740
 8750
 8760
 8770
 8780
 8790
 8800
 8810
 8820
 8830
 8840
 8850
 8860
 8870
 8880
 8890
 8900
 8910
 8920
 8930
 8940
 8950
 8960
 8970
 8980
 8990
 9000
 9010
 9020
 9030
 9040
 9050
 9060
 9070
 9080
 9090
 9100
 9110
 9120
 9130
 9140
 9150
 9160
 9170
 9180
 9190
 9200
 9210
 9220
 9230
 9240
 9250
 9260
 9270
 9280
 9290
 9300
 9310
 9320
 9330
 9340
 9350
 9360
 9370
 9380
 9390
 9400
 9410
 9420
 9430
 9440
 9450
 9460
 9470
 9480
 9490
 9500
 9510
 9520
 9530
 9540
 9550
 9560
 9570
 9580
 9590
 9600
 9610
 9620
 9630
 9640
 9650
 9660
 9670
 9680
 9690
 9700
 9710
 9720
 9730
 9740
 9750
 9760
 9770
 9780
 9790
 9800
 9810
 9820
 9830
 9840
 9850
 9860
 9870
 9880
 9890
 9900
 9910
 9920
 9930
 9940
 9950
 9960
 9970
 9980
 9990
 10000

【0516】

7.4 投与の用量と頻度

【0517】

ウイルス感染の予防および/または治療および/または管理に有効であろう化合物の量、または化合物を含む組成物の量は、標準的な臨床技術によって決定することができる。場合によってはインビトロ・アッセイまたはインビボ・アッセイの助けを借りて最適な用量の範囲を特定することができる。使用する正確な用量は、例えば投与経路、他の化合物との組み合わせ、発明のタイプ、感染の深刻度にも依存するであろうゆえ、投与者の判断と、各患者または各対象の状況に合わせて決定すべきである。

【0518】

いくつかの実施態様では、化合物の用量は、動物での研究で明らかにされた不都合な効果が観察されないレベル（NOAEL）から外挿することによって決定される。外挿によるこの用量は、ヒト臨床試験のための最大推奨開始用量を決定する上で有用である。例えばNOAELを外挿してヒト等価用量（HED）を決定することができる。典型的には、HEDは、体表面積で規格化した用量（すなわち mg/m^2 ）に基づき、非ヒト動物での用量から外挿される。特別な実施態様では、NOAELは、マウス、ハムスター、ラット、フェレット、モルモット、ウサギ、イヌ、霊長類（サル、マーモセット、テナガザル、バブーン）、マイクロプタ、ミニプタで決定される。ヒト等価用量を決定するためのNOAELの使用とその外挿に関する議論については、『治療薬に関する健康な成人ボランティアでの初期臨床試験におけ

る最大安全開始用量を産業的に評価するための指針』（アメリカ合衆国健康とヒトのサービス、食品・医薬管理省、薬の評価・研究センター（CDER）、薬理学と毒物学、2005年7月）を参照のこと。一実施態様では、化合物またはその組成物を、NOAELのヒト等価用量（HED）よりも少ない用量で1週間、2週間、3週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、1年、2年、3年、4年、またはそれ以上の期間にわたって投与する。

【0519】

いくつかの実施態様では、ヒトを対象とする場合の投与計画は、動物モデルでの研究から10%の動物が死ぬ用量（LD10）を用いて外挿することができる。一般に、第I相臨床試験の開始用量は、臨床前試験に基づく。臨床前試験におけるある薬の毒性の標準的な指標は、治療が理由で死ぬ動物の割合である。ヒトでの開始用量を外挿するための基礎として、動物研究でのLD10を体表面積に合わせてヒトでの最大許容用量（MTD）と関連させることは、十分に当業者の能力範囲である。いくつかの実施態様では、1つの動物モデルでの用量の相互関係を別の動物（例えばヒト）で使用するため、例えばFreireich他、Cancer Chemother. Rep., 1966年、第50巻：219～244ページに記載されている（体表面積1m²あたりのmg数に基づく）変換因子を用いて変換することができる。体表面積は、患者の伸長と体重からおおまかな値を求めることができる。例えば『科学の表』（Geigy Pharmaceuticals社、アードリー、ニューヨーク州、1970年、537ページ）を参照のこと。いくつかの実施態様では、体表面積の調節に、宿主の因子（例えば表面積、体重、代謝、組織分布、吸収速度、排泄速度）が含まれる。それに加え、投与経路、賦形剤の使用、標的とする具体的な疾患またはウイルスも、考慮すべき因子である。一実施態様では、標準的な保守的開始用量はマウスのLD10の約1/10だが、他の種（すなわちイヌ）がその化合物に対してより敏感である場合にはさらに少なくてもよい。別の実施態様では、標準的な保守的開始用量は、マウスのLD10の約1/100、1/95、1/90、1/85、1/80、1/75、1/70、1/65、1/60、1/55、1/50、1/45、1/40、1/35、1/30、1/25、1/15、2/10、3/10、4/10、5/10のいずれかである。別の実施態様では、ヒトでの化合物の開始用量は、動物モデルでの研究から外挿される用量よりも少ない。別の一実施態様では、ヒトでの化合物の開始用量は、動物モデルでの研究から外挿される用量よりも多い。活性組成物の用量を比較的低いレベルから開始し、最少の毒性で望む効果を得るために必要に応じてその用量を増加または減少させることは、当業者の能力範囲である。

10

20

【0520】

化合物または組成物の用量の例として、対象またはサンプルの体重1kgあたりのミリグラム数またはマイクログラム数が挙げられる（例えば1kgにつき約1マイクログラム～約500ミリグラム、1kgにつき約5マイクログラム～約100ミリグラム、1kgにつき約1マイクログラム～約50マイクログラム）。特別な実施態様では、一日の用量は、少なくとも50mg、75mg、100mg、150mg、250mg、500mg、750mg、少なくとも1gのいずれかである。

30

【0521】

一実施態様では、用量は、0.01～5000mM、1～300mM、10～100mM、10mM～1Mのいずれかの濃度である。別の一実施態様では、用量は、少なくとも5μM、少なくとも10μM、少なくとも50μM、少なくとも100μM、少なくとも500μM、少なくとも1mM、少なくとも50mM、少なくとも100mM、少なくとも50mM、少なくとも100mM、少なくとも500mMのいずれかの濃度である。

40

【0522】

一実施態様では、用量は、0.01～5000mM、1～300mM、10～100mM、10mM～1Mのいずれかの濃度である。別の一実施態様では、用量は、少なくとも5μM、少なくとも10μM、少なくとも50μM、少なくとも100μM、少なくとも500μM、少なくとも1mM、少なくとも50mM、少なくとも100mM、少なくとも50mM、少なくとも100mM、少なくとも500mMのいずれかの濃度である。特別な一実施態様では、用量は、患者の体重1kgにつき0.25μg以上、好ましくは0.5μg以上、1μg以上、2μg以上、3μg以上、4μg以上、5μg以上、6μg以上、7μg以上、8μg以上、9μg以上、10μg以上、25μg以上、好ましくは50μg以上、100μg以上、250μg以上、500μg以上、1mg以上、5mg以上、6mg以上、7mg以上、8mg以上、9mg

50

以上、10 mg以上のいずれかである。

【0523】

別の一実施態様では、用量は、5mg、好ましくは10 mg、50 mg、100 mg、150 mg、200 mg、250 mg、300 mg、350 mg、400 mg、500 mg、550 mg、600 mg、650 mg、700 mg、750 mg、800 mg、またはそれ以上の単位用量である。別の一実施態様では、用量は、約5mg～約100mg、約100mg～約200mg、約150mg～約300mg、約150mg～約400mg、約250mg～約500mg、約500mg～約800mg、約500mg～約1000mg、約5mg～約1000mgいずれかの範囲の単位用量である。

【0524】

いくつかの実施態様では、経口投与に適した用量の範囲は、1日に体重1kgあたり化合物を約0.001mg～約500mgである。本発明の特別な実施態様では、経口用量は、1日に体重1kgあたり約0.01mg～約100mg、1日に体重1kgあたり約0.1mg～約75mg、1日に体重1kgあたり約0.5mg～約5mgのいずれかである。この明細書に記載する用量の値は、投与する全量を意味する。すなわち2種類以上の化合物を投与する場合、いくつかの実施態様では、用量は、投与する全量に対応する。特別な一実施態様では、経口組成物は、本発明の化合物を約10重量%～約95重量%含んでいる。

10

【0525】

静脈内(i.v.)投与に適した用量の範囲は、1日に体重1kgあたり約0.01mg～約100mg、1日に体重1kgあたり約0.1mg～約35mg、1日に体重1kgあたり約1mg～約10mgである。いくつかの実施態様では、鼻腔内投与に適した用量の範囲は、1日に体重1kgあたり約0.01pg～約1mgである。座薬は、一般に、1日に体重1kgあたり本発明の化合物を約0.01mg～約50mg含んでおり、活性成分を約0.5重量%～約10重量%の範囲で含んでいる。

20

【0526】

皮内投与、筋肉内投与、腹腔内投与、皮下投与、硬膜外投与、舌下投与、大脳内投与、腔内投与、経皮投与、吸引による投与のための推奨用量は、1日に体重1kgあたり約0.001mg～約500mgの範囲である。局所投与に適した用量には、投与する領域に応じ、約0.001mg～約50mgの範囲の用量が含まれる。有効な用量は、インビトロ系または動物モデル試験系から得られる用量-応答曲線から外挿することができる。そのような動物モデルと系は、従来技術で周知である。

【0527】

当業者は、特定の組み合わせのどのような用量が特定のケースで最適であるかを判断するため、初期ウイルス応答(EVR)と持続ウイルス応答(SVR)を決定することもできる。持続ウイルス応答(SVR)は、ウイルス性疾患(C型肝炎を含む)の治療がうまくいくかどうかを決める指標であると考えられる。SVRは、一般に、治療を停止した6ヶ月後に患者の血清中にウイルスが存在しないことを意味すると理解されている。初期ウイルス応答(EVR)は、一般に、治療を始めた最初の12週間に(血清中に存在するウイルスのDNAまたはRNAを測定することによって一般に求められる)ウイルス負荷が最少で $2 \log_{10}$ 低下することを意味すると理解されている。

30

【0528】

別の一実施態様では、1種類の化合物、または2種類以上の化合物の組み合わせを予防または治療に有効な量含む用量を1回以上対象に投与するが、予防または治療に有効な量は、各用量で同じではない。別の一実施態様では、予防または治療に有効な量の化合物または組み合わせを含む用量を1回以上対象に投与するが、その対象に投与する1種類以上の化合物を予防または治療に有効な量含む用量は、治療が進行するにつれて、例えば0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ のいずれかの量を増やしていく。別の一実施態様では、この明細書に記載した1種類の化合物、または化合物の組み合わせを予防または治療に有効な量含む用量を1回以上対象に投与するが、その対象に2種類以上の化合物を同じ剤形で投与してもよく

40

50

、1種類以上の化合物の用量は、治療が進行するにつれて、例えば0.01 µg/kg、0.02 µg/kg、0.04 µg/kg、0.05 µg/kg、0.06 µg/kg、0.08 µg/kg、0.1 µg/kg、0.2 µg/kg、0.25 µg/kg、0.5 µg/kg、0.75 µg/kg、1 µg/kg、1.5 µg/kg、2 µg/kg、4 µg/kg、5 µg/kg、10 µg/kg、15 µg/kg、20 µg/kg、25 µg/kg、30 µg/kg、35 µg/kg、40 µg/kg、45 µg/kg、50 µg/kgのいずれかの量を減らしていく。

【0529】

いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスのゲノムの複製が、負の対照と比較して、少なくとも20%~25%、好ましくは少なくとも25%~30%、少なくとも30%~35%、少なくとも35%~40%、少なくとも40%~45%、少なくとも45%~50%、少なくとも50%~55%、少なくとも55%~60%、少なくとも60%~65%、少なくとも65%~70%、少なくとも70%~75%、少なくとも75%~80%、少なくとも85%までのいずれかの割合で抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスのゲノムの複製が、負の対照と比較して、少なくとも1/1.5、少なくとも1/2、少なくとも1/2.5、少なくとも1/3、少なくとも1/4、少なくとも1/5、少なくとも1/8、少なくとも1/10、少なくとも1/15、少なくとも1/20、1/2~1/5、1/2~1/10、1/5~1/10、1/5~1/20のいずれかに抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。

10

【0530】

いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスのタンパク質の合成が、負の対照と比較して、少なくとも20%~25%、好ましくは少なくとも25%~30%、少なくとも30%~35%、少なくとも35%~40%、少なくとも40%~45%、少なくとも45%~50%、少なくとも50%~55%、少なくとも55%~60%、少なくとも60%~65%、少なくとも65%~70%、少なくとも70%~75%、少なくとも75%~80%、少なくとも85%までのいずれかの割合で抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスのタンパク質の合成が、負の対照と比較して、少なくとも1/1.5、少なくとも1/2、少なくとも1/2.5、少なくとも1/3、少なくとも1/4、少なくとも1/5、少なくとも1/8、少なくとも1/10、少なくとも1/15、少なくとも1/20、1/2~1/5、1/2~1/10、1/5~1/10、1/5~1/20のいずれかに抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。

20

30

【0531】

いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスの感染が、負の対照と比較して、少なくとも20%~25%、好ましくは少なくとも25%~30%、少なくとも30%~35%、少なくとも35%~40%、少なくとも40%~45%、少なくとも45%~50%、少なくとも50%~55%、少なくとも55%~60%、少なくとも60%~65%、少なくとも65%~70%、少なくとも70%~75%、少なくとも75%~80%、少なくとも85%までのいずれかの割合で抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスの感染が、負の対照と比較して、少なくとも1/1.5、少なくとも1/2、少なくとも1/2.5、少なくとも1/3、少なくとも1/4、少なくとも1/5、少なくとも1/8、少なくとも1/10、少なくとも1/15、少なくとも1/20、1/2~1/5、1/2~1/10、1/5~1/10、1/5~1/20のいずれかに抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。

40

【0532】

いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスの複製が、負の対照と比較して、少なくとも20%~25%、好ましくは少なくとも25%~30%、少なくとも30%~35%、少なくとも35%~40

50

%、少なくとも40%～45%、少なくとも45%～50%、少なくとも50%～55%、少なくとも55%～60%、少なくとも60%～65%、少なくとも65%～70%、少なくとも70%～75%、少なくとも75%～80%、少なくとも85%のいずれかの割合でまで抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスの複製が、負の対照と比較して、少なくとも1/1.5、少なくとも1/2、少なくとも1/2.5、少なくとも1/3、少なくとも1/4、少なくとも1/5、少なくとも1/8、少なくとも1/10、少なくとも1/15、少なくとも1/20、1/2～1/5、1/2～1/10、1/5～1/10、1/5～1/20のいずれかに抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。別の実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスの複製が、負の対照と比較して、1 log、1.5 log、2 log、2.5 log、3 log、3.5 log、4 log、5 log、またはそれ以上抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。

10

【0533】

いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスが他の個体に広がる能力が、負の対照と比較して、少なくとも20%～25%、好ましくは少なくとも25%～30%、少なくとも30%～35%、少なくとも35%～40%、少なくとも40%～45%、少なくとも45%～50%、少なくとも50%～55%、少なくとも55%～60%、少なくとも60%～65%、少なくとも65%～70%、少なくとも70%～75%、少なくとも75%～80%、少なくとも85%までのいずれかの割合で抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。別の実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスが他の細胞、組織、臓器に広がる能力が、負の対照と比較して、少なくとも20%～25%、好ましくは少なくとも25%～30%、少なくとも30%～35%、少なくとも35%～40%、少なくとも40%～45%、少なくとも45%～50%、少なくとも50%～55%、少なくとも55%～60%、少なくとも60%～65%、少なくとも65%～70%、少なくとも70%～75%、少なくとも75%～80%、少なくとも85%までのいずれかの割合で抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。

20

【0534】

いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスによって誘導される脂質の合成が、負の対照と比較して、少なくとも20%～25%、好ましくは少なくとも25%～30%、少なくとも30%～35%、少なくとも35%～40%、少なくとも40%～45%、少なくとも45%～50%、少なくとも50%～55%、少なくとも55%～60%、少なくとも60%～65%、少なくとも65%～70%、少なくとも70%～75%、少なくとも75%～80%、少なくとも85%までのいずれかの割合で抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。いくつかの実施態様では、この明細書に記載したアッセイまたは当業者に知られている他のアッセイを利用して求まるウイルスによって誘導される脂質の合成が、負の対照と比較して、少なくとも1/1.5、少なくとも1/2、少なくとも1/2.5、少なくとも1/3、少なくとも1/4、少なくとも1/5、少なくとも1/8、少なくとも1/10、少なくとも1/15、少なくとも1/20、1/2～1/5、1/2～1/10、1/5～1/10、1/5～1/20のいずれかに抑制されるか低下するのに有効な量の化合物または組成物を対象に投与する。

30

40

【0535】

いくつかの実施態様では、化合物または組成物の1回用量が、毎日、1日おき、2日ごと、3日ごと、週に1回、週に2回、週に3回、2週間に1回のいずれかの頻度で対象に投与される。別の実施態様では、化合物または組成物の2回分、3回分、4回分の用量が、毎日、1日おき、2日ごと、3日ごと、週に1回、週に2回、週に3回、2週間に1回のいずれかの頻度で対象に投与される。いくつかの実施態様では、化合物または組成物の1回用量が、2日間、3日間、5日間、7日間、14日間、21日間いずれかの期間にわたって投与される。いくつかの実施態様では、化合物または組成物の1回用量が、1ヶ月、1.5ヶ月、2ヶ月、2.5ヶ月、3

50

ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、またはそれ以上の期間にわたって投与される。

【0536】

ウイルス感染の予防および/または治療および/または管理のために使用してきた、または現在使用している予防薬または治療薬の用量は、医師が入手できる参考文献（例えば『内科医の机上参考書』（第61版、2007年））を利用して決定することができる。感染の予防および/または治療および/または管理のために使用してきた、または現在使用している用量よりも少ない用量を1種類以上の化合物または組成物と組み合わせて使用することが好ましい。

【0537】

ウイルス感染の予防または治療または管理以外に使用することが認められている化合物に関しては、用量の安全な範囲は、医師が入手できる参考文献（例えば『内科医の机上参考書』（第61版、2007年））を利用して容易に決定することができる。

10

【0538】

上記の投与計画は単に説明することが目的であり、それに限定され则认为はならない。当業者であれば、あらゆる用量が本発明の範囲に含まれることを容易に理解できよう。

【0539】

ここに開示した本発明の原理のパリエーションを当業者が実施してもよいことが、理解され、予想される。そのような改変は、本発明の範囲に含まれるものとする。

【0540】

20

この明細書全体を通じ、さまざまな刊行物を参照している。本発明が関係する先行技術をより十分に記述するため、これらの刊行物は、その全体が参考としてこの明細書に組み込まれている。以下の実施例で本発明をさらに説明するが、いかなる意味でも実施例が本発明の範囲を制限すると考えてはならない。

【0541】

実施例1：ACC阻害剤とHCVプロテアーゼ阻害剤の組み合わせにより増大した抗ウイルス効果

【0542】

HCVがコードするタンパク質分解活性が、感染と複製に必要とされる。この実施例は、ウイルスの複製に拮抗するためACC阻害剤（例えばTOFA）とHCVプロテアーゼ阻害剤（例えばボセプレビル）を組み合わせることに関する。各アッセイにおいて、さまざまな濃度のTOFAをさまざまな濃度のボセプレビルと組み合わせ、HCVに曝露した細胞培養物についてウイルスの複製を調べる。調べた一連の組み合わせにおいてTOFAの用量を増やすとき、ボセプレビルの生理学的濃度を一定に保持する。対照培養物は、薬なしで、またはボセプレビルだけで、またはさまざまな濃度のTOFAだけで処理する。薬での処理を開始してから24時間後と、48時間後と、72時間後と、96時間後にサンプルを回収する。次に、ボセプレビルに各濃度のTOFAを加えたものの抗ウイルス効果を、ボセプレビルだけの活性、またはさまざまな濃度のTOFAだけの活性と比較する。さまざまな組み合わせの相対的毒性も調べる。

30

【0543】

40

医薬として許容可能な濃度のボセプレビルの存在下では、HCVの複製を1/10に減らすのに必要なTOFAの濃度が顕著に低下する。所定の濃度のTOFAに関し、治療効果の大きさは、ボセプレビルも存在しているときに増大する。同様の効果が、TOFAの用量を一定に維持してボセプレビルの濃度を変化させるときに観察される。

【0544】

HCVの複製における所定の減少に関し、宿主細胞の毒性は、両方の薬を組み合わせる使用するとき低下する。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 12/32567
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A01N 37/18; A61K 38/21; A61K 39/395; A61K 39/42 (2012.01) USPC - 514/4.3 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) USPC: 514/4.3 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 424/156.1, 424/161.1, 424/189.1, 424/85.4 (keyword limited; terms below)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST (USPT, PGPB, EPAB, JPAB), Google Patents/Scholar Search Terms Used: Acetyl coa carboxylase, HCV, TOFA, boceprevir, pegasys, tarbavirin		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Kapadia et al. 'Hepatitis C virus RNA replication is regulated by host geranylgeranylation and fatty acids' PNAS vol 102 pg 2561-2566; 15 February 2005 (15.02.2005) pg 2563, col 2, para 2, Fig. 4A	1-10, 54-56
Y	US 2010/0280099 A1 (Elmen) 04 November 2010 (04.11.2010) para [0007], [0047], [0092], [0485]	1-10, 54-56
Y	US 2009/0239830 A1 (Munger et al.) 24 September 2009 (24.09.2009) para [0010]-[0011], [0190], [0192]	5-7, 54-56/5-7
Y	US 2010/0143301 A1 (Dasal et al.) 10 June 2010 (10.06.2010) para [0010], [0194], [0199]-[0200]	9-10, 54-56
Y	Yang et al. 'Fatty Acid Synthase Is Upregulated during HCV Infection and Regulates HCV Entry and Production' Hepatology vol 48 pg 1386-1403; November 2008 (11.2008) whole doc.	1-10, 54-56
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "R" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 14 September 2012 (14.09.2012)		Date of mailing of the international search report 27 SEP 2012
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/32567

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
- Please see extra sheet for continuation -

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-10 and 54-56

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/32567

Continuation of:

Box NO III. Observations where unity of invention is lacking

Group I+: claims 1-10 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of acetyl-CoA carboxylase (ACC) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. The modulator of an HCV-associated component is selected from HCV protease inhibitors, HCV NS3 inhibitors, HCV NS4B inhibitors, HCV NS5A inhibitors, HCV NS5B inhibitors, HCV viral ion channel forming protein inhibitors, HCV IRES inhibitors, HCV entry inhibitors, cyclosporin inhibitors, and modulator of miR-122. The first invention is restricted to HCV protease inhibitors (Claims 1-10 and 54-56). Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional class(es) of modulator of HCV-associated component to be searched. The exact claims searched will depend on Applicant's election.

Group II+: claims 11-14 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is a modulator of a host cell target or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. The modulator of an HCV-associated component is selected from HCV protease inhibitors, HCV NS3 inhibitors, HCV NS4B inhibitors, HCV NS5A inhibitors, HCV NS5B inhibitors, HCV viral ion channel forming protein inhibitors, HCV IRES inhibitors, HCV entry inhibitors, cyclosporin inhibitors, and modulator of miR-122. The first invention is restricted to HCV protease inhibitors. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional class(es) of modulator of HCV-associated component to be searched. The exact claims searched will depend on Applicant's election.

Group III+: claims 15-22 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of an acyl-CoA:cholesterol acyl-transferase (ACAT) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. The modulator of an HCV-associated component is selected from HCV protease inhibitors, HCV NS3 inhibitors, HCV NS4B inhibitors, HCV NS5A inhibitors, HCV NS5B inhibitors, HCV viral ion channel forming protein inhibitors, HCV IRES inhibitors, HCV entry inhibitors, cyclosporin inhibitors, and modulator of miR-122. The first invention is restricted to HCV protease inhibitors. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional class(es) of modulator of HCV-associated component to be searched. The exact claims searched will depend on Applicant's election.

Group IV: claims 23-28 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of a long-chain acyl-CoA synthetase (ACSL) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug.

Group V: claims 29-33 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of an elongase (ELOVL) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug.

Group VI+: claims 34-38 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of fatty acid synthase (FAS) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. The modulator of an HCV-associated component is selected from HCV protease inhibitors, HCV NS3 inhibitors, HCV NS4B inhibitors, HCV NS5A inhibitors, HCV NS5B inhibitors, HCV viral ion channel forming protein inhibitors, HCV IRES inhibitors, HCV entry inhibitors, cyclosporin inhibitors, and modulator of miR-122. The first invention is restricted to HCV protease inhibitors. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional class(es) of modulator of HCV-associated component to be searched. The exact claims searched will depend on Applicant's election.

Group VII+: claims 39-43 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of HMG-CoA reductase or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. The modulator of an HCV-associated component is selected from HCV protease inhibitors, HCV NS3 inhibitors, HCV NS4B inhibitors, HCV NS5A inhibitors, HCV NS5B inhibitors, HCV viral ion channel forming protein inhibitors, HCV IRES inhibitors, HCV entry inhibitors, cyclosporin inhibitors, and modulator of miR-122. The first invention is restricted to HCV protease inhibitors. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional class(es) of modulator of HCV-associated component to be searched. The exact claims searched will depend on Applicant's election.

Group VIII: claims 44-48 and 54-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of lipid droplet formation or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug.

Group IX: claims 49-77, drawn to a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is an inhibitor of serine palmitoyl transferase (SPT) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug.

- Please see extra sheet for continuation -

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/32567

Continuation of:

Box NO III. Observations where unity of invention is lacking

The inventions listed as Groups I+ through IX do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Groups I+IX comprise distinct inventive concepts for treating or preventing HCV infection comprising inhibitors for host cell targets selected from ACC, ACAT, ACSL, ELOVL, FAS, HMG-CoA reductase, lipid droplet formation, and SPT, respectively, as outlined above.

The inventions of Groups I+IX share the technical feature of a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of (i) a compound that is a modulator of a host cell target or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by US 2010/0280099 A1 (Elmen). Elmen discloses Claim 15, a method of treating or preventing HCV infection (para [0007]) comprising administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount (para [0485]) of (i) a compound that is an inhibitor of an acyl-CoA:cholesterol acyl-transferase (ACAT) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug (para [0092], ACAT2) and (ii) a compound that is a modulator of an HCV-associated component or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug (para [0047], ribavirin). As said composition was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another special technical feature of the inventions listed as Groups I+ through IX is the specific modulator of an HCV-associated component recited therein. The inventions do not share a special technical feature, because Elmen teaches a specific modulator of an HCV-associated component that is a modulator of miR-122 (para [0010]-[0011]). Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Another special technical feature of the inventions listed as Groups I+ is a compound that is an inhibitor of acetyl-CoA carboxylase (ACC) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by the article entitled 'Hepatitis C virus RNA replication is regulated by host geranylgeranylation and fatty acids' by Kapadia et al. (hereinafter 'Kapadia'). Kapadia teaches a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a compound that is an inhibitor of acetyl-CoA carboxylase (ACC) (pg 2563, col 2, para 2, to determine whether the fatty acid biosynthetic pathway plays a role in regulating HCV replication, we inhibited the enzyme acetyl-CoA carboxylase by using TOFA. Treatment of Sfil cells with TOFA resulted in a 3-fold inhibition of HCV RNA replication (Fig. 4A)). As said composition was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another special technical feature of the inventions listed as Groups VI+ is a compound that is an inhibitor of fatty acid synthase (FAS) or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by the article entitled 'Fatty Acid Synthase is Upregulated during HCV Infection and Regulates HCV Entry and Production' by Yang et al. (hereinafter 'Yang'). Yang teaches a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a compound that is an inhibitor of fatty acid synthase (FAS) (abstract, blocking fatty acid synthase activity by a pharmacological inhibitor C75 led to decreased HCV production. Reduction of fatty acid synthase by RNA interference (RNAi) suppressed viral replication in both replicon and infection systems, see Fig. 3). As said composition was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another special technical feature of the inventions listed as Groups VII+ is a compound that is an inhibitor of HMG-CoA reductase or a prodrug thereof, or pharmaceutically acceptable salt or ester of said compound or prodrug. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by Kapadia. Kapadia teaches a method of treating or preventing HCV infection comprising administering to a subject in need thereof a compound that is an inhibitor of HMG-CoA reductase (pg 2563, col 1, para 2, we also treated Sfil cells with L-659,699 and ZA, which are specific inhibitors of HMG-CoA synthase and squalene synthase, respectively. Treatment of Sfil cells with L-659,699 also inhibited HCV RNA replication in a dose-dependent manner (Fig. 2B) without any detectable effect on cell-cycle progression (data not shown)). As said composition was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Groups I+ through IX therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00 1 2 1

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, T J, 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, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, H U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI , NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100166165

弁理士 津田 英直

(72)発明者 エムレ コユンク

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 4 0 , プリンストン, メドー ロード 6 5 , アパー
トメント 8 3 0 2

(72)発明者 トーマス イー. シェンク

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 4 0 , プリンストン, ブーディノット ストリート
1 2

(72)発明者 ジョシュア ラビノウィッツ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 4 0 , プリンストン, グリーンホルム ストリート
2

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA03 AA20 BA32 DC43 MA02 MA13 MA17 MA21 MA22
MA23 MA28 MA31 MA32 MA35 MA37 MA43 MA52 MA56 MA57
MA58 MA59 MA60 MA63 MA66 NA05 NA06 NA07 ZB33 ZC20
ZC75
4C086 AA01 AA02 BA03 MA02 MA04 NA05 NA06 NA07 ZB33 ZC20
ZC75