

(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2006-517204

(P2006-517204A)

(43) 公表日 平成18年7月20日(2006.7.20)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 P 31/12 (2006.01)</b>	A 6 1 P 31/12	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 P 31/14 (2006.01)</b>	A 6 1 P 31/14	4 C 2 0 6
<b>A 6 1 P 31/20 (2006.01)</b>	A 6 1 P 31/20	
<b>A 6 1 P 31/16 (2006.01)</b>	A 6 1 P 31/16	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 31 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-500466 (P2006-500466)	(71) 出願人	505469160 イネイムド ゲーエムペーハー インステ ィチュート フル アエロソルメディジン ドイツ国 3 5 2 8 5 ゲムンデン, ウォ ーラエル ストラーセ 3 7
(86) (22) 出願日	平成16年1月2日(2004.1.2)	(74) 代理人	100091683 弁理士 ▲吉▼川 俊雄
(85) 翻訳文提出日	平成17年8月29日(2005.8.29)	(72) 発明者	ブランツ, オリバー ドイツ連邦共和国 7 2 1 0 8 ロッテン ブルフ, ウェンデルシェイメール ストラ ーセ 3 4
(86) 国際出願番号	PCT/DE2004/000012	(72) 発明者	プレスカ ステファン ドイツ連邦共和国 3 5 3 9 0 ギエッセ ン, ヒンター デル オスタンレージ 5 エー
(87) 国際公開番号	W02004/060360		
(87) 国際公開日	平成16年7月22日(2004.7.22)		
(31) 優先権主張番号	10300222.7		
(32) 優先日	平成15年1月3日(2003.1.3)		
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ウイルス性疾患の予防及び／又は治療用活性成分の使用

## (57) 【要約】

【課題】 ウイルス性疾患の予防及び／又は治療用活性成分の使用法を提供する。

【解決手段】 本発明はウイルス性疾患の予防及び／治療用の、好ましくは少なくとも一つの活性成分の使用に関し、この活性成分がウイルス増殖を阻害するように転写因子NF-k B活性化に関する細胞信号伝達経路の少なくとも一成分を阻害する。本発明は、更に、ウイルス増殖の阻害に関し、本発明による活性成分の局所的、好ましくは経気投与に関する。本発明の活性成分は、ウイルス性疾患の予防及び／又は治療用の、更に少なくとも一つの、抗ウイルス性有効物質と混合しても良い。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

少なくとも一つのウイルス性疾患の予防及び/又は治療用薬剤成分調合に関して、ウイルス増殖を阻害するようにNF-kB信号伝達経路成分を阻害する少なくとも一つの活性成分の使用。

## 【請求項 2】

NF-kB信号伝達経路成分を“腫瘍壊死因子受容体関連因子(TRAF)、NF-kB誘発キナーゼ(NIK)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼ1(MEKK1)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼ3(MEKK3)、AKRマウス胸腺腫キナーゼ(AKT)、TGF活性化キナーゼ(TAK1)、NF-kBキナーゼアルファ阻害剤(IKKアルファ)、NF-kBキナーゼベータ阻害剤(IKKベータ)、NEMO、kBの阻害剤(IkB)、RELA(p65)、CREL、RELB、NF-kB1(p105)、NF-kB2(p100)、p50、p52”から成るグループから選択する請求項1による少なくとも一つの活性成分の使用。

10

## 【請求項 3】

一つ又は複数の活性成分を“NF-kB信号伝達経路キナーゼ阻害剤、例えばフェニルアルキル酸誘導体、例えばスリダク又はスリダクスルフォキサイド、スリダクスルホン、スリダク硫化物又はベンジルアミドスリダク類似体のようなスリダク誘導体の様なフェニルアルキル酸誘導体、サルチル酸又はアセチルサルチル酸、サルチルアミド、サルアセトアミド、エテンザミド、ジフルニサル、オルサラジン又はサラゾスフファピリジン、クルクミンの様なサルチル酸誘導体、ピロリジンジチオカーバメート(PDTC)、例えばピロキシカムの様なオキシカム、ビタミンEとペンタメチルヒドロキシクロマン(PMC)の様なその誘導体、17ベータエストラジオール及びその誘導体、例えば(-)エピガロカテキン-3-没食子酸塩(EGCG)の様な茶ポリフェノール、Bay11-1782の様な抗酸化剤のようなNF-kB活性化を阻害する非ステロイド系抗炎症物質、例えばNEMO結合ペプチド、PS341及びラクタシスチンの様なプロテオソーム阻害剤の様なNF-kB信号伝達経路の少なくとも二成分の相互作用を阻害するペプチド、NF-kB信号伝達経路の成分をコード化するDNA配列又は伝令RNA配列に特異的に添加したアンチセンスオリゴヌクレオチド、例えばp65又はp50に特異的なアンチセンスヌクレオチド配列、NF-kB信号伝達経路成分の優性阻害突然変異体、RNAi技術によりNF-kB信号伝達経路成分の伝令RNAの特異的分解に適した二本鎖オリゴヌクレオチド、例えばNF-kB信号伝達経路成分に特異的な抗体又は抗体断片、又は少なくとも一個の抗体断片を含む融合タンパク質、例えばNF-kB信号伝達経路の少なくとも一成分を阻害するFv断片”からなるグループから選んだ請求項1又2の一つによる少なくとも一つの活性成分の使用。

20

30

## 【請求項 4】

ウイルス性疾患がRNA又はDNAウイルス、好ましくはインフルエンザウイルス感染で起こる請求項1乃至3の一つによる少なくとも一つの活性成分の使用。

## 【請求項 5】

少なくとも二つの異なる活性成分を含み、少なくとも一つの活性成分が請求項3のグループから選ばれ、調合剤が混合物の形で又は各成分として同時又は非同時に同一又は異なる場所で使用できる少なくとも一つのウイルス性疾患の予防及び/又は治療用調合剤。

40

## 【請求項 6】

少なくとも一つの抗ウイルス的作用物質が、1-アダマンタンアミン、リマンタジン、ノイラミダーゼ阻害剤、又はリバビリンのようなヌクレオチド類似体である請求項5による調合剤。

## 【請求項 7】

マイナス鎖RNAウイルス、特にインフルエンザウイルス又はボルナ病ウイルスによる感染の予防及び/又は治療に関する請求項1乃至6の一つによる活性成分又は調合剤の使用。

50

## 【請求項 8】

経鼻、気管支又は経気投与の調合において、調合剤の活性成分濃度が 0.1 から 4 mM であり、投与単位当たりの全活性成分量が好ましくは 0.1 乃至 70 mg の範囲であり、薬剤成分がヒトへの一日用量が 70 mg を越えない様に調整調合する請求項 1 乃至 7 の一つによる活性成分又は調合剤の使用。

## 【請求項 9】

ウイルス増殖を実質的に阻害するように NF - k B 信号伝達経路の少なくとも一成分に作用する活性成分の同定用試験システムで、( a ) 少なくとも一つのウイルスで少なくとも一つの細胞が感染でき、この細胞が NF - k B 信号伝達経路と細胞に感染する少なくとも一つのウイルスを含有するか、又は ( b ) 少なくとも一つのウイルスで少なくとも一つの細胞が感染され、この細胞が NF - K B 信号伝達経路を過剰発現する事からなる試験システム。

10

## 【請求項 10】

ウイルスが RNA 又は DNA ウイルス、好ましくはインフルエンザウイルスである請求項 9 による試験システム。

## 【請求項 11】

細胞が NF - k B 信号伝達経路の少なくとも一つの過剰発現成分を常時活性突然変異形として含有する請求項 9 又は 10 による試験システム。

## 【請求項 12】

試験システムが細胞を含有し、NF - k B 信号伝達経路の少なくとも一成分の少なくとも一つの優性阻害突然変異体をコードする少なくとも一つの遺伝子を過剰発現する請求項 9 乃至 12 の一つによる試験システム。

20

## 【請求項 13】

試験システムが細胞を含有し、NF - k B 信号伝達経路の少なくとも一成分での発現が過剰発現される請求項 9 乃至 12 の一つによる試験システム。

## 【請求項 14】

ウイルス性疾患の予防及び / 又は治療用の少なくとも一つの活性成分同定法で、この活性成分が実質的にウイルス性疾患のウイルス増殖を阻害し、以下の手続きを含む。( a ) 少なくとも一つの見込みのある活性成分を請求項 9 乃至 13 の一つによる少なくとも一つの試験システムと接触させ、( b ) ウイルス増殖への効果を決定し、( c ) もしウイルス増殖が、見込みのある活性成分無しか又は活性参照成分又は対照物質を用いて手続き ( a ) の遂行に比べて低下した場合、見込みのある活性成分を選択する方法。

30

## 【請求項 15】

少なくとも一つのウイルス性疾患の予防及び / 又は治療用薬剤の調整法で、この薬剤がウイルス性疾患の場合ウイルス増殖を阻害し、以下の手続きを含む。( a ) 請求項 9 乃至 14 の一つによる試験システムを遂行し、( b ) 生理的に有効な用量の一つ又は複数の同定活性成分を少なくとも一つの補助及び / 又は追加物質及び確定生薬調合剤と反応する方法。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、ウイルス性疾患の予防及び / 又は治療に適した活性成分同定用試験システム、ウイルス性疾患の予防及び / 又は治療用薬剤成分調整のためのこの活性成分の使用、この薬剤成分の調合及びこの薬剤成分調合法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

RNA 及び DNA ウイルスによる感染はヒト及び動物の健康に大きな脅威である。例えばインフルエンザウイルスやボルナ病ウイルスの様なマイナス鎖 RNA ウイルスは RNA ウ

50

ウイルスに属する。インフルエンザウイルス感染は、今なお人類の大疫病に属し且つ年々多数の死者を出す。この感染は、例えば、病気で働けない事で、経済的に重大なコスト要因となる。特にウマやヒツジを襲うボルナ病ウイルス (BDV) 感染も、既にヒトの場合は、神経疾患と関連して、隔離されているが、非常に経済的に重要である。

【0003】

特にRNAウイルス制御の問題は、ウイルスポリメラーゼの不良率が高いために起こるウイルス適応能力なので、適合ワクチンの調整のみならず抗ウイルス物質の設計も非常に難しい。

【0004】

更に抗ウイルス物質の使用により、ウイルス機能に対して直ちに立ち向かい、治療初期には、かなりの抗ウイルス効果があるが、突然変異により非常に急速に耐性変異株を選ぶことが見いだされている。例としては、ウイルスの膜貫通タンパク質に対して立ち向かう抗インフルエンザ薬アマンタジン及びその誘導体がある。その使用後短時間で、ウイルスの耐性変異株が生成する。

10

【0005】

他の例としては、インフルエンザウイルス表面タンパク質ノイラミニダーゼ阻害のインフルエンザ反応用の新規治療薬がある。例えばリレンザがこれに属する。既にリレンザ耐性変異株が患者に見いだされている (グバレバ (Gubareva) 等、ジャーナル・オブ・インフェクシャスデジーズ (J. Infect. Dis.), 178巻、1257-1262頁、1998年)。この治療薬に託された望みは実現できなかった。

20

【0006】

大抵の場合これらが非常に小さいゲノムであり、それ故、複製に必要な機能に関するコード化能力が限定されているため、全ウイルスはこれらの宿主細胞機能に強く依存せざるをえない。ウイルスの複製に必要なこの細胞機能に影響する事により、感染細胞でのウイルス複製にマイナスの影響が起こる。従ってウイルスが選択強制を避けるため順応して、特に突然変異によって欠落細胞機能を置換する可能性はない。この事は、細胞キナーゼ及びメチル基転移酵素に対する比較的の特異的な阻害物質によるインフルエンザA、の例で既に示されている (ショルティゼックおよびムラー (Scholtissek and Mueller), アーカイブウイルス学 (Arch. Virol.), 119巻、111-118頁、1991年)。

30

【0007】

細胞は多数の信号伝達経路を有し、これにより細胞への作用信号が細胞核に伝達する事が知られている。その結果細胞は外部刺激に反応して細胞増殖、細胞活性化、分化又は制御された細胞死を起こす事ができる。

【0008】

これらの信号伝達経路は、リン酸化により少なくとも一つのタンパク質を活性化し、その後信号を伝達する少なくとも一つのキナーゼを有する点で共通である。

【0009】

ウイルス感染後に起こる細胞過程を観察すると、多くのDNA及びRNAウイルスが感染宿主細胞で、好ましくは、確定信号伝達経路、つまりRaf/MEK/ERKキナーゼ信号伝達経路、を活性化すると考えられる。この信号伝達経路は、細胞の最も重要な信号伝達経路の一つであり、且つ増殖及び分化過程で重要な役割を果たす (コーエン、(Cohen)、トレンド・イン・セルバイオロジー (Trends in Cell Biol.), 7巻、353-361頁、1997年、ロビンソン及びコブ (Robinson and Cobb)、カレントオピニオン・オブ・セルバイオロジー (Curr. Opin. Cell Biol.), 9巻、180-186頁、1997年、トリースマン (Treisman)、カレントオピニオンオブセルバイオロジー (Curr. Opin. Cell Biol.), 8巻、205-215頁、1996年)。

40

【0010】

細胞決定過程でのこの信号伝達経路の役割研究によりMEK水準で、即ち比較的信号伝達

50

経路の初期段階で、その他の場所もあるが信号伝達経路を阻害する幾つかの薬理的阻害剤が同定された(アレッシ(Alessi)等、ジャーナル・オブ・バイオロジカルケミストリー(J. Biol. Chem.)、270巻、27489-27494、1995年、コーエン(Cohen)、トレンド・イン・セルバイオロジー(Trends in Cell Biol.)、7巻、353-361頁、1997年、ダッドリー(Dudley)等、プロシーディング・オブ・ナショナルアカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ユーエスエー(PNAS USA)、92巻、7686-7689頁、1995年、ファバタ(Favata)等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー(J. Biol. Chem.)、273巻、18623-18632頁、1998年)。

## 【0011】

新規データによりRas-Raf-MEK-ERK信号伝達経路阻害又はMEKK/SEK/JNK信号伝達経路の様な他の信号伝達経路阻害がこの信号伝達経路に含まれるキナーゼの一つ、例えばMEKが又はSEKを比較して選択阻害する活性成分により核内複製マイナス鎖ウイルス、例えばインフルエンザAウイルス及びボルナ病ウイルス(BDV)の細胞内増殖を大幅に阻害できる事が示された(プレシュカ(Pleschka)等、ネイチャー・セル・バイオロジー(Nature Cell Biol.)、3巻、301-305頁、2001年、プランツ(Planz)等、ジャーナル・オブ・ウイルス学(J. Virol.)、10巻、4871-4877頁、2001年、PCTドイツ特許(PCT/DE)01/01292、ドイツ特許10138912)。

## 【0012】

今までインフルエンザウイルスは、好ましくは、その増殖にRaf-Mek-ERK信号伝達経路又はMEK/SEK信号伝達経路を使用し、それ故、これら信号伝達経路の阻害によってウイルス増殖の完全阻害をもたらす事が知られている。しかし細胞での信号伝達経路は、それ自身内に閉じこめた機能を殆ど持たず、一つの信号伝達経路の活性化で、更なる信号伝達経路が交差結合し、更に活性化されるので、細胞と同様にウイルスは阻害化信号伝達経路を迂回でき、且つある信号伝達経路を阻害する事によって、ウイルス増殖を阻害する活性成分の治療効果が、限定されるのを原理的には排除できない。

## 【0013】

それ故、細胞信号伝達経路、例えばRaf-MEK-ERK信号伝達経路、又はMEKK/SEK/JNK信号伝達経路キナーゼを阻害する物の追加として、又は補充として働く抗ウイルス性活性成分の同定と使用に対する必要性は大きい。このような活性成分は既に、公文書PCTドイツ特許(PCT/DE)01/01292及びドイツ特許10138912に記載されている。

## 【0014】

細胞の最も重要な信号伝達経路の一つは、核因子カッパーB(NF-kB)信号伝達経路である。この伝達経路の中心成分は一方では、p50(NF-kB1(p105)のタンパク質分解により形成される)、又はp52(NF-kB2(p100)のタンパク質分解により形成される)から、他方ではp65(RELA)、c-REL又はRELBからなるヘテロ二量体NF-kB転写タンパク質複合体である。最も一般的なNF-kB複合体は、p56とp65からなる。

## 【0015】

このNF-kB複合体の転写活性は、NF-kBの阻害タンパク質(IkB)をp65の核結合配列と結合する事により阻害される。その結果、この複合体は細胞質内に残る。例えば成長因子、ケモカイン、TNFアルファ、IL-1、C40配位子、LPS、或いはウイルス感染による細胞活性化により“NF-kB誘発キナーゼ”(NIK)、キナーゼTAK、キナーゼAKTの様なキナーゼ及び多分キナーゼMEKK1の活性化をもたらす。これらキナーゼによりIKKアルファ、IKKベータ及びNEMOからなる“kBキナーゼ阻害剤(IkB)”(IKK)複合体の活性化をもたらす。活性化IKKはIkBをリン酸化し、その結果、その分解をもたらす、p50/p65ヘテロ二量体の放出、核転位及び転写活性の活性化をもたらす。他のNF-kB複合体は、p100とRELBからな

10

20

30

40

50

る。リンホトキシンによる細胞活性化により恐らく、好ましくはNIKの仲介でIKKアルファの活性化をもたらす。活性化IKKはリン酸化を、その結果p100のp52へのタンパク質分解を誘発し、次いでRELBとの複合体で細胞核に転位し、そこで転写因子として作用する。

#### 【0016】

Nf-kB信号伝達経路の活性化は(i)スリダク(NSAID)(山本(Yamamoto)等、ジャーナル・オブ・バイオロジカルケミストリー(J. Biol. Chem.)、274巻、27307-27314頁、1999年、ベルマン(Berman)等、クリニカル・カンサー・リサーチ(Clin. Cancer Res.)、8巻、354-360、2002年)、スリダクスルフォキサイド、スリダクスルホン、スリダク硫化物又はベンジルアミドスリダク類似体のようなスリダク誘導体(ムーンおよびレルナー(Moon and Lerner)、カンサー・リサーチ(Cancer Research)、62巻、5711-5719、2002年)、アセチルサルチル酸又はサルチル酸(イン(Yin)等、ネイチャー(Nature)、396巻、77-80頁、1998年)又はクルクミン(オンコゲン(Oncogene)、18巻、6013-6020頁、1999年)の様な非ステロイド系抗炎症薬で、IKKベータを阻害するか、(ii)NEMO結合ペプチド(メイ(May)等、サイエンス(Science)、289巻、1550-1554頁、2000年)、PS 341の様なプロテオソーム阻害剤(タンおよびウォルダーマン(Tan and Waldman)、カンサー・リサーチ(Cancer Res.)、62巻、1083-1086頁、2002年、アダムス(Adams)、トレンド・イン・モレキュラー・メディシン(Trends Mol. Med.)、8巻、49-54頁、2002年)、又は(iii)p65又はp50に特異的なアンチセンスヌクレオチド配列(ヒギンス(Higgins)等、プロシーディング・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ユーエスエー(PNAS-USA)、90巻、9901-9905、1993年)により阻害できる事がこれまでに判っている。現在までこれら阻害剤は、しかし、関連細胞がNF-kB信号伝達経路活性の増加を炎症と腫瘍増殖の両者で示唆していたため、この両者に影響する活性成分としてのみ、その使用試験が行われてきた(カリン(Karin)等、ネイチャー・レビュー・カンサー(Nature Reviews Cancer)、2巻、301-310頁、2002年)。

#### 【0017】

現在まではウイルス感染、特にインフルエンザウイルス感染はIKKの活性化によりNF-KB信号経路を活性化し、且つこの信号経路がついでこの感染により増加した抗ウイルス性活性タンパク質、例えばインターフェロンの発現を明確に伴うという提案があった(チュウ(Chu)、等、イミュニティ(Immunity)、11巻、721-731頁、1999年)。インターフェロンプロモーターのインフルエンザウイルス誘発活性が、IKK2又はIkBアルファのトランスドミナントネガティブ変異を発現する細胞で大いに低下する、と云う結果はこの提案と一致する(ウオン(Wang)等、ウイルス学(Virology)、74巻、11566-11573、2000年)。一方IKK阻害剤として知られるアセチルサルチル酸が又細胞培養液中で、5-10mM(0.9-1.8mg/mlに対応)で始まる濃度でのみインフルエンザウイルス感染を阻害できると云うこれら提案及び結果と矛盾する手がありもある。このような濃度はアセチルサルチル酸の経口投与による大きな副作用無しには血液中で実際には達成できない(ファンおよびディーシュ(Huang and Dietrich)、ニューイングランド・ジャーナル・オブ・メディシン(New Engl. J. Med.)、319巻、797頁、1988年)。アセチルサルチル酸は、最小治療濃度幅をもつ現在自由に入手できる全鎮痛薬の中で最も毒性が高いと考えられる(ジョーンズ(Jones)、アメリカンジャーナル・オブ・セラピューティクス(Am. J. Ther.)、9巻、245-257頁、2002年)。ファンとディーシュは、エアロゾル投与により気道内で局所的に、より高濃度で且つ抗ウイルス性効果の高くなると推測した。現在までの既知臨床的副作用自身では、有毒

とは思えないアセチルサルチル酸用量 100 mg を投与後、ウイルスインフルエンザの場合、特に幼児の場合アスピリンを飲むなど云う警告（アセチルサルチル酸（ASA）調合アスピリン（登録商標）に関するバイエル社（Bayer AG）の使用者情報番号 14, 252）となるので、これら提案は現在の所実現していない。

- 【特許文献 1】PCT ドイツ特許（PCT/DE）01/01292
- 【特許文献 2】ドイツ特許 10138912
- 【非特許文献 1】グバレバ等、ジャーナル・オブ・インフェクシャスデジーズ、178 巻、1257 - 1262 頁、1998 年
- 【非特許文献 2】ショルテイゼックおよびムラー、アーカイブウィロロジー、119 巻、111 - 118 頁、1991 年
- 【非特許文献 3】コーエン、トレンド・イン・セル・バイオロジー、7 巻、353 - 361 頁、1997 年
- 【非特許文献 4】ロビンソンおよびコブ、カレントオピニオン・オブ・セル・バイオロジー、9 巻、180 - 186 頁、1997 年
- 【非特許文献 5】トリースマン、カレントオピニオン・オブ・セル・バイオロジー、8 巻、205 - 215 頁、1996 年
- 【非特許文献 6】アレッシ等、ジャーナル・オブ・バイオロジカルケミストリー、270 巻、27489 - 27494、1995 年
- 【非特許文献 7】ダッドリー等、プロシーディング・オブ・ナショナルアカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ユースエー、92 巻、7686 - 7689 頁、1995 年
- 【非特許文献 8】ファバタ等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー、273 巻、18623 - 18632 頁、1998 年
- 【非特許文献 9】プレシュカ等、ネイチャー・セル・バイオロジー、3 巻、301 - 305 頁、2001 年
- 【非特許文献 10】プランツ等、ジャーナル・オブ・ウィロロジー、10 巻、4871 - 4877 頁、2001 年
- 【非特許文献 11】山本等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー、274 巻、27307 - 27314 頁、1999 年
- 【非特許文献 12】ベルマン等、クリニカル・キャンサー・リサーチ、8 巻、354 - 360、2002 年
- 【非特許文献 13】ムーンおよびレルナー、キャンサー・リサーチ、62 巻、5711 - 5719、2002 年
- 【非特許文献 14】イン等、ネイチャー、396 巻、77 - 80 頁、1998 年
- 【非特許文献 15】オンコーゲン、18 巻、6013 - 6020 頁、1999 年
- 【非特許文献 16】メイ等、サイエンス、289 巻、1550 - 1554 頁、2000 年
- 【非特許文献 17】タンおよびウォルダーマン、キャンサー・リサーチ、62 巻、1083 - 1086 頁、2002 年
- 【非特許文献 18】アダムス、トレンド・イン・モレキュラー・メディシン、8 巻、49 - 54 頁、2002 年
- 【非特許文献 19】ヒギンス等、プロシーディング・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ユースエー、90 巻、9901 - 9905、1993 年
- 【非特許文献 20】カリン等、ネイチャー・レビュー・キャンサー、2 巻、301 - 310 頁、2002 年
- 【非特許文献 21】チュウ、等、イミュニティ、11 巻、721 - 731 頁、1999 年
- 【非特許文献 22】ウオン等、ウィロロジー、74 巻、11566 - 11573、2000 年
- 【非特許文献 23】ファンおよびディーシュ、ニューイングランド・ジャーナル・オブ・メディシン、319 巻、797 頁、1988 年
- 【非特許文献 24】ジョーンズ、アメリカン・ジャーナル・オブ・セラピューティックス

10

20

30

40

50

、 9 卷、 2 4 5 2 5 7 頁、 2 0 0 2 年

【非特許文献 2 5】ピート等、バイオロジカル・ケミストリー、 3 7 8 巻、 1 2 3 7 - 1 2 4 5 頁、 1 9 9 7 年

【非特許文献 2 6】リュウ等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー、 1 3 巻、 ---、 2 0 0 2 年

【非特許文献 2 7】服部等、バイオケミストリー・アンド・モレキュラー・バイオロジー・インターナショナル、 3 5 巻、 1 7 7 - 1 8 3 頁、 1 9 9 5 年

【非特許文献 2 8】デシファンデ等、アメリカン・ジャーナル・オブ・リプロダクティブ・インミュノロジー、 3 8 巻、 4 6 - 5 4 頁、 1 9 9 7 年

【非特許文献 2 9】リン等、バイオケミストリー・アンド・ファーマコロジー、 5 8 巻、 9 1 1 - 9 1 5 頁、 1 9 9 9 年

【非特許文献 3 0】ミスラおよびピッツォ、アーカイブ・バイオケミストリー・アンド・バイオフィジックス、 3 8 6 巻、 2 2 7 2 3 2 頁、 2 0 0 1 年

【非特許文献 3 1】モリスおよびグリシャム、ジャーナル・オブ・クリニカル・ガストロエンテロロジー、 2 7 巻、 8 7 9 0 頁、 1 9 9 8 年

【非特許文献 3 2】ツシュル等、ジーンズ・デプロブメント、 1 3 巻、 3 1 9 1 - 3 1 9 7 頁、 1 9 9 9 年

【非特許文献 3 3】ザモーア等、セル、 1 0 1 巻、 2 5 - 3 3 頁、 2 0 0 0 年

【非特許文献 3 4】スッカー、エッチ、薬学テクノロジー第 2 版、ゲオルグティーマ社、 1 9 9 1 年

【非特許文献 3 5】デンク等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー、 2 7 6 巻、 2 8 4 5 1 - 2 8 4 5 3 頁、 2 0 0 1 年

【非特許文献 3 6】カス等、ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・インミュノロジー、 2 9 巻、 3 0 7 7 - 3 0 8 8 頁、 1 9 9 9 年

【非特許文献 3 7】グリグナー二等、キャンサー・リサーチ、 5 8 巻、 1 4 - 1 9 頁、 1 9 9 8 年

【非特許文献 3 8】ルドウィッヒ等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー、 2 7 6 巻、 1 0 9 9 0 - 1 0 9 9 8 頁、 2 0 0 1 年

【非特許文献 3 9】ウエパー等、ガストロエンテロロジー、 1 1 9 巻、 1 2 0 9 - 1 2 1 8 頁、 2 0 0 0 年

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 1 8 】

それ故ウイルス性疾患の予防及び/又は治療用改良活性成分を見いだす試験システムを提供し、その示度となる薬剤成分及び調合を指定する事が本発明の技術目的である。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 9 】

本発明は、(i)細胞 NF - k B 信号伝達経路を阻害する活性成分が、生物体のウイルス増殖を阻害でき、(ii)本発明による使用活性成分が、試験管内データに基づくものより低濃度で、局所投与により抗ウイルス的に有効であり、(iii)本発明による使用活性成分アセチルサルチル酸を濃度 0 . 1 乃至 4 m M で経氣的に投与すると、このような濃度では試験管的には、いかなる抗ウイルス効果も示さないにもかかわらず、肺及び全生物体でのインフルエンザウイルス増殖を顕著に阻害し、且つ一般的状態を害する事無しに全身治療効果をもたらす、という驚異的知見に基づく。アセチルサルチル酸のより多くの投与量では、例えばアセチルサルチル酸濃度が 1 0 m M では、比較的強くなく、より多くの投与量 ( 5 0 m M 迄 ) でさえ、抗ウイルス的効果は、本発明のより低い濃度よりも明らかによくない。更に濃度が 2 0 m M 以上では、経気投与により有毒となった。

【発明の実施形態】

【 0 0 2 0 】

本発明の主題は、従って、少なくとも一つのウイルス性疾患の予防及び/又は治療用薬剤

10

20

30

40

50

組成を調合するために、少なくとも一つの活性成分を使用し、一つ又は複数の活性成分が、NF - k B 信号伝達経路の少なくとも一成分に作用し、その結果、生物体のウイルス増殖を阻害する事である。NF - k B 信号伝達経路成分は、例えば、腫瘍壊死因子受容体関連因子 ( T R A F )、NF - k B 誘発キナーゼ ( N I K )、マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼキナーゼ 1 ( M E K K K 1 )、マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼキナーゼ 3 ( M E K K K 3 )、AKRマウス胸腺腫キナーゼ ( A K T )、TGF 活性化キナーゼ ( T A K 1 )、NF - k B キナーゼアルファ阻害剤 ( I K K アルファ )、NF - k B キナーゼベータ阻害剤 ( I K K ベータ )、NEMO、kB阻害剤 ( I k B )、RELA ( p 6 5 )、C - R E L、R E L B、NF - k B 1 ( p 1 0 5 )、NF - k B 2 ( p 1 0 0 )、p 5 0、p 5 2 がある。

10

#### 【 0 0 2 1 】

本発明による使用活性成分に属する物質は、例えばNF - k B 信号伝達経路キナーゼ阻害剤 ( フェニルアルキル酸誘導体、例えばスリダク ( 山本 ( Y a m a m o t o ) 等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー ( J . B i o l . C h e m . )、2 7 4 巻、2 7 3 0 7 - 2 7 3 1 4 頁、1 9 9 9 年、バーマン ( B e r m a n ) 等、クリニカル・キャンサー・リサーチ ( C l i n . C a n c e r R e s . )、8 巻、3 5 4 - 3 6 0、2 0 0 2 年 ) 又はスリダクスルフォキサイド、スリダクスルホン、スリダク硫化物又はベンジルアミドスリダク類似体のようなスリダク誘導体 ( ムーンおよびレルナー ( M o o n a n d L e r n e r )、キャンサー・リサーチ ( C a n c e r R e s e a r c h )、6 2 巻、5 7 1 1 - 5 7 1 9、2 0 0 2 年 )、サルチル酸自身又はアセチルサルチル酸 ( イン ( Y i n ) 等、ネイチャー ( N a t u r e )、3 9 6 巻、7 7 - 8 0 頁、1 9 9 8 年 )、サルチルアミド、サルアセトアミド、エテンザミド、ジフルニサル、オルサラジン又はサラゾスフファピリジン、又はクルクミン ( オンコゲン ( O n c o g e n e )、1 8 巻、6 0 1 3 - 6 2 0 2 0 頁、1 9 9 9 年 ) の様なサルチル酸誘導体、ピロリジンジチオカーバメート ( P D T C ) ( ピート ( P i e t t e ) 等、バイオロジカル・ケミストリー ( B i o l . C h e m . )、3 7 8 巻、1 2 3 7 - 1 2 4 5 頁、1 9 9 7 年 )、例えばピロキシカムの様なオキシカム ( リウ ( L i u ) 等、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー ( J . B i o l . C h e m . )、1 3 巻、---、2 0 0 2 年 )、ペンタメチルヒドロキシクロマン ( P M C ) ( 服部 ( H a t t o r i ) 等、バイオケミストリー・アンド・モレキュラー・バイオロジー・インターナショナル ( B i o c h e m . M o l . B i o l . I n t . )、3 5 巻、1 7 7 - 1 8 3 頁、1 9 9 5 年 ) の様なビタミンEとその誘導体、17ベータエストラジオール及びその誘導体 ( デシファンデ ( D e s p h a n d e ) 等、アメリカン・ジャーナル・オブ・リプロダクティブ・インミュノロジー ( A m . J . R e p r o . I m m u n o l )、3 8 巻、4 6 - 5 4 頁、1 9 9 7 年 )、例えば ( - ) エピガロカテキン-3 - 没食子酸塩 ( E G C G ) ( リン ( L i n ) 等、バイオケミストリー・アンド・ファーマコロジー ( B i o c h e m . P h a r m a c o l . )、5 8 巻、9 1 1 - 9 1 5 頁、1 9 9 9 年 ) の様な茶ポリフェノール、Bay 1 1 - 1 7 8 2 ( ミスラおよびピッツォ ( M i s r a a n d P i z z o )、アーカイブ・バイオケミストリー・アンド・バイオフィジックス ( A r c h . B i o c h e m . B i o p h y s . )、3 8 6 巻、2 2 7 - 2 3 2 頁、2 0 0 1 年 ) の様な抗酸化剤、NF - k B 活性化を阻害する非ステロイド系抗炎症物質を含むNF - k B 信号伝達経路キナーゼの阻害剤、例えばNEMO結合ペプチド ( メイ ( M a y ) 等、サイエンス ( S c i e n c e )、2 8 9 巻、1 5 5 0 - 1 5 5 4 頁、2 0 0 0 年 )、PS 3 4 1 の様なプロテオソーム阻害剤 ( タンおよびウォルダーマン ( T a m a n d W a l d e r m a n )、キャンサー・リサーチ ( C a n c e r R e s . )、6 2 巻、1 0 8 3 - 1 0 8 6 頁、2 0 0 2 年、アダムス ( A d a m s )、トレンド・イン・モレキュラー・メディシン ( T r e n d s M o l . M e d . )、8 巻、4 9 - 5 4 頁、2 0 0 2 年 ) 及びラクタシスチン ( モリスおよびグリシャム ( M o r i s e a n d G r i s h a m )、ジャーナル・オブ・クリニカル・ガストロエンテロロジー ( J . C l i n . G a s t r o e n t e r o l . )、2 7 巻、8 7 - 9 0 頁、1 9 9 8 年 ) を含むNF - k B 信号伝達経路の少なくとも二成分の

20

30

40

50

相互作用を阻害するペプチド、例えば p 6 5 又は p 5 0 に特異的なアンチセンスヌクレオチド配列（ヒギンス（H i g g i n s）等、プロシーディング・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ユースエイ（P N A S - U S A）、9 0 巻、9 9 0 1 - 9 9 0 5、1 9 9 3 年）の様な N F - k B 信号伝達経路成分コード化 D N A 配列又は伝令 R N A 配列に特異的に添加し且つその転写又は翻訳を阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチド、N F - k B 信号伝達経路成分の優性阻害突然変異体、ツシュル（T u s c h l）等（ジーンズ・デプロブメント（G e n e s D e v .）、1 3 巻、3 1 9 1 - 3 1 9 7 頁、1 9 9 9 年）及びザモーア（Z a m o r e）等、（セル（C e l l）、1 0 1 巻、2 5 - 3 3 頁、2 0 0 0 年）が記述した方法により、R N A i 技術を用いる N F - k B 信号伝達経路成分の伝令 R N A の特異的分解に適した二本鎖オリゴヌクレオチド、N F - k B 信号伝達経路成分に特異的な抗体、又は抗体断片、又は例えば N F - k B 信号伝達経路の少なくとも一成分を阻害する F v 断片のような、少なくとも一つの抗体断片を含む融合タンパク質がある。

10

## 【0022】

本発明の意味する活性成分は、ウイルス増殖を実質的に阻害する N F - k B 信号伝達経路の少なくとも一成分に直接作用できる物質である。更に、本発明の意味する活性成分は、例えば酵素分裂により本発明の活性成分に形質転換する活性成分誘導体である。本発明の意味する活性成分は、更に、本発明の活性成分に代謝的に形質転換する事前段階の活性成分である。

## 【0023】

R N A 又は D N A ウイルス、好ましくはマイナス鎖 R N A ウイルス、例えばインフルエンザウイルス、又はボルナ病ウイルスにより起こるウイルス性疾患の予防、又は治療に本発明の少なくとも一つの活性成分を使用するのが好ましい。この目的のために、本発明の活性成分を全身に、又は局所的に、例えば経皮的に、経鼻的に、経氣的に体腔又は組織に投与する。

20

## 【0024】

インフルエンザウイルス性疾患の予防、又は治療にアセチルサリチル酸の使用が更に好ましく、ここでアセチルサリチル酸を好ましくは 0 . 1 から 4 m M の濃度で経鼻的に又は気管支を通して（経氣的に）投与する。ヒト一日当たりの全投与量は好ましくは 0 . 1 乃至 3 0 m g （経鼻）或いは 0 . 1 乃至 7 0 m g （気管支）の範囲内でなければならない。下限値は処理法に依存するが、それぞれ 0 . 1 と 2 0 m g 又は 5 0 m g の間である。上限値は処理法に依存するが、それぞれ 1 m g 又は 2 m g と上述の最大値の間である。一日の投薬量は、好ましくは 1 回乃至 8 回投与し、1 6 時間の起きている時間内に適当に割り当てる。治療は 1 日乃至 7 日間か、それより長期間適当に行う。本発明は今のところ生薬調合の投与単位からなり、且つ投与単位に存在する活性分量は上節の治療計画に従い容易に計算できる。

30

## 【0025】

本発明の他の実施形態は、ウイルス性疾患の予防及び / 又は治療用調合剤に関し、少なくとも二つの抗ウイルス的作用活性成分を含み、且つ少なくとも一つの抗ウイルス的作用活性成分が生物体中のウイルス増殖を阻害するよう N F - k B 信号伝達経路の少なくとも一成分を阻害する。好ましくはこの抗ウイルス的作用活性成分は、既に上述の本発明の活性成分から選択する。本発明の少なくとも一つの更なる活性成分及び / 又は以下の様な少なくとも一つの抗ウイルス活性成分は、本発明の調合剤中の更なる抗ウイルス的作用活性成分に属する。それらはインフルエンザウイルス表面タンパク質ノイラミニダーゼを阻害するインフルエンザ感染用治療薬のリマンタジンの様な幾つかのインフルエンザ A ウイルスの膜貫通タンパク質に対抗するアマンタジン（1 - アダマンタンアミン）及びその誘導体である。これらに属する物は例えば P C T / ドイツ特許（P C T / D E）0 1 / 0 1 2 9 2 に記載されている様に、U = 1 2 6 の様な R a f - M E K - E R K 信号伝達経路阻害剤であるレングザ又は他の阻害剤、ドイツ特許 1 0 1 3 8 9 1 2 に記載されている様に、M E K K / S E K 信号伝達経路阻害剤又は更なる信号伝達経路成分阻害剤及び 3 - デアザアデ

40

50

ノシン及びリバビリンの様な合成ヌクレオシド類似体がある。

【0026】

調合剤は混合物の形が各成分として、同一又は異なる場所で全身又は局所的に同時又は非同時に処理使用できる。投薬形態に関する上記の説明は同様に適用できる。

【0027】

調合剤は活性成分混合物として投与できる。活性成分は、しかし、同じ場所で互いに投与ごとに分けて投与でき、例えば静脈注射により全身に、或いは例えば経鼻、経気又は経皮投与により局所的に、或いは組織への注射により投与でき、先ず投与物質が例えば3日間有効である時には異なる場所で一定期間内に同時に又は非同時に投与できる。

【0028】

本発明による活性成分の特別な形の投与は経気法、即ち経気感染であるこれらウイルス感染の予防、又は治療用活性成分の経鼻又は気管支投与である。この目的のために技術の熟知者には十分既知である活性成分の生薬補助手段及び噴霧器を使用する。

【0029】

本発明の他実施形態は、ウイルス増殖を阻害する様にNF-kB信号伝達経路の少なくとも一成分を阻害する活性成分の同定用試験システムに関し、(a)少なくとも一つのウイルスにより感染する少なくとも一つの細胞で、この細胞がNF-kB信号伝達経路及び細胞を感染する少なくとも一つのウイルスを含有するか又は(b)NF-kB信号伝達経路の少なくとも一成分が欠落しているか、又は欠陥的に変異した少なくとも一つのウイルスにより感染した少なくとも一つの細胞からなる。

【0030】

本発明の意味する細胞は、異なる器官及び組織の細胞、例えば血管又はリンパ管細胞、体腔被膜細胞である。更に細胞培養液、特に細胞バンクから入手できる物が含まれ、ATCC、特に許容真核細胞培養液、例えばA549、293、293T及び293T7(ヒト)、マウスのB82、NIH、3T3、L929、コモンハムスターのBHK、チャイニーズハムスターのCHO、イヌのMDCK、及びサバンナモンキーのベロ、COS-1及びCOS-7及びニワトリの一次胚線維芽細胞(CEF細胞)がある。

【0031】

活性成分同定用の本発明による試験システムにおいて、例えば物質が細胞を損傷する事無しにウイルス増殖を阻害できるかどうかを、好ましくは濃度0.001µM乃至100µMの物質と選択細胞の同定に適した粒子数のウイルスを添加する事により確かめる。

【0032】

好ましくは本発明の試験システムで使用のウイルスは、RNA又はDNAウイルス、好ましくはインフルエンザウイルスである。

【0033】

好ましい実施形態では、(a)本発明による試験システムの細胞はNF-kB信号伝達経路の少なくとも一つの過剰発現成分を、特にコード化する一つの遺伝子か又は幾つかの遺伝子を導入することにより、この成分の構成的活性突然変異体の形で含む。この過剰発現により、この成分を強く阻害すると共に過剰発現成分阻害のために細胞内で高濃度に達する物質を検出する。確認に関しては(b)本発明の試験システムの細胞においてNF-kB信号伝達経路の少なくとも一成分に関する発現が、例えばアンチセンスDNA又はアンチセンスRNAの導入により、或いはNF-kB信号伝達経路の少なくとも一成分の少なくとも一つの優性阻害突然変異体をコード化する少なくとも一つの遺伝子の導入により阻害される。

【0034】

本発明の他実施形態は、ウイルス性疾患の予防及び/又は治療用の本発明による少なくとも一つの活性成分同定法に関し、この一つ又は複数の活性成分はウイルス性疾患の場合、ウイルス増殖を阻害し、次の手続きからなる。(a)少なくとも一つの可能性のある活性成分を本発明による少なくとも一つの試験システムと接触させ、且つ(b)ウイルス増殖に対する効果を決定する。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 3 5 】

本発明の意味する、接触させる、と云うことは、例えば活性成分を細胞培養の栄養培地に添加するか又は活性成分を生物体に局所又は全身投与する事により起こる。

## 【 0 0 3 6 】

本発明の意味する、接触させる、と云うことは、更に物質を無傷細胞に導入できる先行技術の既知法、例えば感染、形質導入、形質移入及び/又は形質転換及び技術の熟知者には既知の更なる方法を含む。もし物質がウイルス、裸の核酸、例えばアンチセンスDNA及び/又はアンチセンスRNA、ウィロイド、ピロゾーム及び/又はリポソームであれば、これらの方法は特に好ましく、且つピロゾーム及びリポソームは又核酸分子以外に細胞に更なる活性成分を導入するのに適している。

10

## 【 0 0 3 7 】

ウイルス増殖に対する効果の決定は、例えばブランク分析又は処理と非処理感染細胞のウイルス力価を比較するHA単位の決定により行う。

## 【 0 0 3 8 】

本発明の他の好ましい実施形態は、少なくとも一つのウイルス性疾患の予防及び/又は治療用薬剤調整法に関し、この薬剤はウイルス性疾患の場合ウイルス増殖を阻害し、以下の手続きからなる。(a)本発明の試験システムを実行し、且つ(b)生理的有効量で投薬した一つ又は複数の同定活性成分を少なくとも一つの補助及び/又は追加物質及び同定生薬製剤と反応する。

## 【 0 0 3 9 】

好ましくは本発明の活性成分は、薬剤に関する技術の熟知者には既知の方法及び補助及び/又は追加物質を用いて生物体中に局所又は全身投与するよう調合する。

20

## 【 0 0 4 0 】

例えば薬剤又は診断用試薬の安定化や保存に役立つ適切な補助及び追加物質は、この技術の熟知者には良く知られている(例えばスッカー、エッチ(Sucker H.)(1991年)、薬学テクノロジー(Pharmazeutische Technologie)、第2版、ゲオルグティエメ社(Georg Thieme Verlag)、シュトゥットガルトを参照)。この補助及び/又は追加物質の例としては、生理食塩水、リンゲルブドウ糖、ブドウ糖、リンゲル乳酸糖、脱塩水、安定剤、抗酸化剤、複合体形成剤、抗菌性化合物、プロテイナーゼ阻害剤及び/又は不活性ガスがある。

30

## 【 0 0 4 1 】

局所投与により、例えば経鼻的に又は経気的に皮膚や粘膜上に投与し、体腔、臓器、関節或いは結合組織に導入する。全身投与により好ましくは血液循環、腹膜腔又は腹腔へ導入する。

## 【 0 0 4 2 】

本発明による活性成分の薬剤調合は、活性成分のタイプ及び投与法に依存し、例えば溶液、懸濁液、軟膏、粉末、噴霧又は他の吸入調合がある。好ましくは技術の熟知者にはよく知られた方法で、ヌクレオチド配列をウイルスベクター又はプラスミドに挿入し、且つ細胞形質移入用の補助物質と反応する。例えばカチオンポリマー或いはカチオン性脂質がこれら補助物質に属する。アンチセンスオリゴヌクレオチドをDNA分解酵素又はRNA分解酵素による酵素分解から保護するため技術の熟知者には精通している方法で誘導化する。

40

## 【 0 0 4 3 】

本発明の活性成分は塩、エステル、アミドの形又は事前段階として存在でき、好ましくは患者に過剰毒性、刺激或いはアレルギー反応を起こさない改良のみを活性物質に用いる。

## 【 0 0 4 4 】

活性成分は応用に依存するが、滅菌状態で生理的に容認された担体物質及び見込みのある保存剤、緩衝液又は推進試薬と混合する。技術の熟知者は薬物調合用のこのような担体物質に精通している。

## 【 0 0 4 5 】

50

好ましくは本発明の活性成分は一回限りで、特に好ましくは数回に分けて投与し、且つ各用量はヒトへの各活性成分の最大耐用量 ( M T D ) を越えない。好ましくは用量が M T D の半分であるように選ぶ。一日量を一日に一度に、又は一日に何回かに分けて、好ましくはほぼ同じ時間間隔で投与する。

【 0 0 4 6 】

本発明によると投与は局所的か又は全身的に、一日に又は数日間に亘って毎日が、又は数週間に渡り二日又は三日目ごとに、治療効果が明らかになるまで行う。

【 実施例 1 】

【 0 0 4 7 】

抗ウイルス活性成分の同定用試験システム

10

【 0 0 4 8 】

ヒト肺上皮細胞 A 5 4 9、イヌ腎臓上皮細胞 M D C K 及びサル脂肪ペロのレトロウイルス形質導入により、I K K の優性阻害形 ( I K K K D ) か又は N F - k B 阻害剤の優性妨害変異形、m I k B のいずれかを安定に発現する細胞株を作成した。更に I K K の活性形 ( I K K E E ) を発現する対応株を作成した。細胞の N F - k B 仲介遺伝子発現に関する構成物更にはその効率については既に記載されている ( デンク ( D e n k ) 等、ジャーナル・オブ・バイオリジカル・ケミストリー ( J . B i o l . C h e m . )、2 7 6 巻、2 8 4 5 1 - 2 8 4 5 3 頁、2 0 0 1 年 )。

【 0 0 4 9 】

安定な細胞株作成には I K K K D、m I k B 及び I K K E E 用の各相補 DNA をレトロウイルス発現ベクター p C F G 5 I E G Z に順方向でクローンした ( カス ( K u s s ) 等、ヨーロッパ・ジャーナル・オブ・免疫ロジー ( E u r . J . I m m u n o l . )、2 9 巻、3 0 7 7 - 3 0 8 8 頁、1 9 9 9 年 )。“ 関心遺伝子 ” のメッセンジャー RNA の他に、ベクター DNA をタンパク質合成時に内部リボソーム結合部位により発現する “ 緑色蛍光タンパク質 ” ( G F P ) のメッセンジャー RNA にコード化する。これにより安定形質導入細胞を流動細胞計測法で同定できる。更にこのベクターは抗生物質ゼオシンに対する耐性を調節する。種々の発現構成物及び空ベクターをリン酸カルシウム沈殿法によりウイルス生成細胞株 N X ( グリグナーニ ( G r i g n a n i ) 等、キャンサー・リサーチ ( C a n c e r R e s . )、5 8 巻、1 4 - 1 9 頁、1 9 9 8 年 ) に形質移入した ( デンク ( D e n k ) 等、ジャーナル・オブ・バイオリジカル・ケミストリー ( J . B i o l . C h e m . )、2 7 6 巻、2 8 4 5 1 - 2 8 4 5 8 頁、2 0 0 1 年 )。形質移入効率を 2 4 時間後 G F P 発現法によって調べ、ほぼ 7 0 - 8 0 % 程度であった。それから細胞を培地で約 2 週間ゼオシン 1 m g / m l を用いて選択した。

20

30

【 0 0 5 0 】

種々の対象細胞 ( A 5 4 9、M D C K、ペロ ) の組み替えウイルスによる感染に関しては、ウイルス生成細胞株のレトロウイルス含有培地上澄み液を濾過し、ポリブレン ( P o l y b r e n e ) ( シグマ社 ( S i g m a ) ) 5 μ g / m l と反応し新鮮な細胞上に加えた。2 日続けてそれぞれ 3 時間 2 回遠心分離 ( 1 , 0 0 0 g ) する間に感染した。培地上澄み液でゼオシン 4 0 0 - 6 0 0 μ g / m l を用いて、更に、2 週間感染後 2 4 時間で安定形質移入細胞を選択した。安定細胞株生成を実施した後、後者と同様に野生型インフルエンザ A ウイルスを以下に記載するように感染し、且つベクター I K K K D、m I k B 及び I K K E E を安定に有する細胞のウイルス力価を決定し野生型細胞上澄み液の力価と比較した。

40

【 0 0 5 1 】

同時に M D C K 細胞を標準法 ( ルドウィヒ ( L u d w i g ) 等、ジャーナル・オブ・バイオリジカル・ケミストリー ( J . B i o l . C h e m . )、2 7 6 巻、1 0 9 9 0 - 1 0 9 9 8 頁、2 0 0 1 年 ) により形質移入試薬リポフェクタミン ( ライフテクノロジーズ社 ( L i f e T e c h n o l o g i e s ) ) を用いて同じ構成物で一時的に形質移入した。形質移入効率は 6 0 % 以上であった。形質移入後 2 4 時間で安定株と同様に、感染効率 1 ( M . O . I . = 1 ) のインフルエンザ A ウイルス株家禽ペストウイルス ( F P V ) に

50

より感染した。感染後更に24時間で、細胞培地上澄み液の新規生成ウイルスの力価をMDC K細胞用の標準ブランク分析により調べた。ここで又空ベクターかI K K K D、m I k B及びI K K E E発現構成物のいずれかで形質移入したインフルエンザAウイルス感染細胞のウイルス力価を比較した。

【0052】

以下の結果が得られた。空ベクターか又はI K K K Dか又はm I k B発現構成物のいずれかで前もって形質移入したインフルエンザA感染MDC K細胞のウイルス力価を比較すると、I K K K Dかm I k B発現細胞ではウイルス増殖は24時間後には50乃至70%阻害される事が示された。これに対しI K Kの活性形発現細胞I K K E Eでは、ウイルス増殖の増加が見られた。これらの結果は幾つかの独立バッチで再現できた。相当する結果が又I K K K D、m I k B、又はI K K E E発現の安定なA549、MDC K及びベロ細胞株でも得られ、且つ最大効果が安定形質移入のA549細胞で見られた。ここにI K K K D又はm I k BによるNF - k B活性化阻害によりウイルス力価を10分の1まで低下する一方、I K K E Eの安定発現による信号経路の常時活性化によりウイルス収率は10倍まで増加した。これらの知見によりI K K及びNF - k B活性化がインフルエンザウイルス増殖には不可欠であり且つI K K / NF - k B信号構成要素の特異的阻害によりウイルス生成の大幅な減少をもたらす事が判る。

10

【実施例2】

【0053】

ウイルスNF - k B活性化阻害と体外でのインフルエンザウイルスの削減

20

【0054】

2.1 アセチルサルチル酸 (ASA)

【0055】

ASAやスルファサラジンの様なサルチル酸塩は、痛み軽減剤及び炎症薬として広く臨床的に使用されている。最近の出版物によるとこれら物質はI K Kの直接的で有効な阻害剤であり(イン(Yin)等、ネイチャー(Nature)、396巻、77-80頁、1998年、ウエバー(Weber)等、ガストロエンテロロジー(Gastroenterology)、119巻、1209-1218頁、2000年)且つ体外でインフルエンザウイルス増殖を阻害できる(ファン及びディーシュ(Huang and Dietrich)、ニューイングランド・ジャーナル・オブ・メディスン(New Engl. J. Med.)、319巻、797頁、1988年)ことが示された。従ってASAを正の対照として用いた。肺上皮細胞A549をASA濃度0.01mM乃至5mMの範囲で増加しながら処理した。全実験において、培地でのこれら濃度はそのままであった。処理1時間後に感染効率1(M.O.I.=1)のインフルエンザAウイルス株家禽ブランクウイルス(FPV)により感染させた。感染後更に24時間で、細胞培地上澄み液の新規生成ウイルスの力価をMDC K細胞用標準ブランク分析で調べた。

30

【0056】

第二バッチでMDC K細胞を感染前1時間又は感染後2時間及び4時間にASA5mMで処理した。新規生成ウイルスの感染及び検出を上記の様に行った。

【0057】

以下の結果が得られた。ASA未処理細胞とASA処理細胞の滴下注入後24時間でのA549培養物上澄み液の力価を比較すると、5mMでのみ明白になり、且つ100倍となるウイルス増殖の濃度依存性阻害が見られた。5mM ASAの対応阻害効果(100倍以上)が、又感染MDC K細胞でも観察され、且つ感染後4時間でASA添加によりウイルス力価は10分の1に減少した。

40

【0058】

2.2 ピロリジンジチオカルバメート (PDT C)

【0059】

ピロリジンジチカルバメート(PDT C)の様な抗酸化剤はNF - k B活性化阻害剤として十分に知られている(調査はピート(Piette)等、バイオリジカル・ケミストリ

50

ー ( B i o l . C h e m . )、378巻、1237 - 1245頁、1997年、に見いだされる)。それ故この物質類が又インフルエンザウイルス増殖を阻害するかどうかを調べた。A549細胞を感染前1時間にP D T C濃度3 - 24マイクロモルで処理した。全実験でのP D T C存在又は不在下にA S Aに関して記載したように滴下注入後24時間での新規生成ウイルスの感染と検出を行った。

【0060】

以下の結果が得られた。P D T C処理も又A549細胞でのウイルス力価の濃度依存性阻害をもたらし、最大使用濃度24マイクロモルの投与で約10分の1まで低下した。これらデータによりI K K及びN F - k B阻害剤A S A及びP D T Cは、N F - k B信号構成要素の優性阻害突然変異体の効果と類似して、細胞培養物でのインフルエンザウイルス増殖に大なる阻害効果を持つ事が示された。

10

【実施例3】

【0061】

マウスのインフルエンザ感染へのA S Aの効果

【0062】

3.1 腹腔内/非経口投与

【0063】

C57B1/6マウスをインフルエンザウイルス(家禽ブラックウイルス、F P V)5,000 p f u / 20  $\mu$  lで経鼻的に感染した。感染前30分にA S A (50 m M = 9 m g / m l)リン酸緩衝食塩水、シグマーアルドリッチスタインハイム ( S i g m a - A l d r i c h S t e i n h e i m ) ) 500  $\mu$  lで腹腔内に注射し、A S A (50 m M = 9 m g / m l)を飲料水に継続的に投与した。対照目的でリン酸緩衝食塩水を注射又は投与した。体重、死亡率及び生存時間を決定した。1グループ当たり30匹のマウスを処理した。

20

【0064】

以下の結果が得られた。対照グループの全動物は、インフルエンザで死亡する一方、A S Aグループでは約20%の動物が感染で生き残った。更に死亡した動物の平均生存時間は、対照グループより明らかに長かった。しかし50 m M濃度の投与では毒性用量のため体重が明白に減少した。

【0065】

3.2 経氣的投与

【0066】

C57B1/6マウスをインフルエンザウイルス(家禽ブラックウイルス、F P V)をそれぞれ5,000 p f u / 20  $\mu$  l及び10,000 p f u  $\mu$  lで経鼻的に感染した。処理日ゼロで感染後30分に麻酔薬(ケタミン/ロンブン300  $\mu$  lの腹腔内注射、セラムベルクベルンブルグ、( S e r u m W e r k B e r n b u r g )、バイエル社( B a y e r A G )、レーパークーゼン( L e v e r k u s e n ) )を用いてマウスの気管に導入し、噴霧器(ユーゴザッハエレクトロニクハーバードアパラタス社( H u g o S a c h s E l e c t r o n i k - H a r v a r d A p p . G m b H )、マルヒーフグステッテン( M a r c h - H u g s t e t t e n ) )を用いてA S A (シグマーアルドリッチ社( S i g m a - A l d r i c h )、スタインハイム( S t e i n h e i m ) ) 2 m M ( = 0 . 3 6 m g / m l)リン酸緩衝食塩水)、10 m M、20 m M又は50 m Mからなるエアロゾル(600  $\mu$  l投与)か又は対照目的でリン酸緩衝食塩水を単独で投与した。試験物質のこの経氣的投与を幾つかのグループでは1日、2日、3日目又は1日、2日、5日及び6日目に繰り返した。他のグループでは感染後A S A処置を3日、4日、5日、6日目に行った。グループ当たり5 - 6匹の動物を処置した。体重、死亡率及び生存時間を決定した。他の実験では1日目のA S A処置後、動物は3日目に死亡し且つ肺組織のウイルス濃度を決定した。

30

40

【0067】

以下の結果が得られた。より少量のA S A投与量の方がより多量の投与より明らかに肺で

50

のウイルスは減少した。ASAは20 mMから有毒であった（体重の減少）。対照グループの全動物は、インフルエンザで死亡する一方、ASAの低非毒性投与量（2 mM）での処置グループでは約40%が感染で生存した。更にASA処置後の死亡動物の平均生存時間は対照グループより明らかに長かった。

【0068】

実施例3.1及び3.2による体内実験結果によるとASAの一日の一回又は多数回（3回まで）の低非毒性用量での経気投与、即ち0.1 mg/kgから300 mg/kg体重、特に10 mg/kgから100 mg/kg、好ましくは20 mg/kgから50 mg/kg、例えば30 mg/kgであると、インフルエンザウイルスの経鼻投与により起きる致死的疾患に対し顕著な治療効果をもたらす事が示された。その処方経気投与する薬剤組成がASA濃度2 mM以下、好ましくは0.01 mM乃至1.99 mM、最も好ましくは0.1 mM又は0.5 mM乃至1.5 mM、例えば1 mMからなるように選ばねばならない。エアロゾルの液相量は上記の一日用量により液相での使用濃度を考慮して計算し且つ求めねばならない。後者は例えば確定量の溶液をエアロゾルとして噴霧する従来の噴霧器を用いて得られる。

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE2004/000012

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>					
IPC 7	A61K31/00	A61K31/60	A61K31/19	A61K31/40	A61K31/54
	A61K31/335	A61K35/78	A61K31/35	A61K31/13	A61K31/70
	A61P31/12	A61P31/16			
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC					
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>					
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)					
IPC 7 A61K					
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched					
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)					
EPO-Internal, BIOSIS, PAJ, WPI Data					
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>					
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages				Relevant to claim No.
X	WO 01/83547 A (MAY MICHAEL J ; UNIV YALE (US); GHOSH SANKAR (US)) 8 November 2001 (2001-11-08)				1-5,7
Y	abstract page 4, line 1 - page 5, line 26 page 11, lines 4-16 page 15, line 1 - page 21, line 2 page 25, line 4 - page 30, line 26 claims 1-35; examples 6,8,10 ----- -/--				6,8
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.					
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document 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. *Z* document member of the same patent family					
Date of the actual completion of the international search			Date of mailing of the international search report		
1 June 2004			14/06/2004		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016			Authorized officer  Greif, G		

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE2004/000012

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>PRIMACHE V ET AL: "In vitro activity of acetylsalicylic acid on replication of varicella-zoster virus." THE NEW MICROBIOLOGICA : OFFICIAL JOURNAL OF THE ITALIAN SOCIETY FOR MEDICAL, ODONTOIATRIC, AND CLINICAL MICROBIOLOGY (SIMMOC). OCT 1998, vol. 21, no. 4, October 1998 (1998-10), pages 397-401, XP009031179 ISSN: 1121-7138</p>	1-4,7, 9-14
Y	the whole document	5,6,8
X	<p>BROGGINI M ET AL: "Flurbiprofen versus ASA in influenza symptomatology: a double-blind study." INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY RESEARCH. 1986, vol. 6, no. 6, 1986, pages 485-488, XP009031176 ISSN: 0251-1649</p>	1-4,7
Y	the whole document	5,6,8
X	<p>INGLOT A D: "Comparison of the antiviral activity in vitro of some non-steroidal anti-inflammatory drugs." THE JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY. MAR 1969, vol. 4, no. 2, March 1969 (1969-03), pages 203-214, XP009031196 ISSN: 0022-1317</p>	1-4,7
X		5,6,8-15
X	<p>BETTINI R ET AL: "Diclofenac sodium versus acetylsalicylic acid: a randomized study in febrile patients." THE JOURNAL OF INTERNATIONAL MEDICAL RESEARCH. 1986, vol. 14, no. 2, 1986, pages 95-100, XP009031192 ISSN: 0300-0605</p>	1-4,7
Y	the whole document	5,6,8
X	<p>YOUNKIN S W ET AL: "Reduction in fever and symptoms in young adults with influenza A/Brazil/78 H1N1 infection after treatment with aspirin or amantadine." ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. APR 1983, vol. 23, no. 4, April 1983 (1983-04), pages 577-582, XP009031195 ISSN: 0066-4804</p>	1-4,7
Y	the whole document	5,6,8
	----- -/-	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE2004/000012

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BERNASCONI P ET AL: "Evaluation of a new pharmaceutical form of nimesulide for the treatment of influenza." DRUGS UNDER EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH. 1985, vol. 11, no. 10, 1985, pages 739-743, XP009031193 ISSN: 0378-6501 abstract	1-4,7
Y	----- abstract	5,6,8
X	MILVIO C: "TREATMENT OF INFLUENZA SYNDROME A DOUBLE-BLIND CONTROLLED TRIAL OF NIMESULIDE VS. ASPIRIN" CLINICAL TRIALS JOURNAL, vol. 22, no. 1, 1985, pages 111-117, XP009031194 ISSN: 0009-9325 abstract	1-4,7
Y	----- abstract	5,6,8
X	HUANG R T ET AL: "Anti-influenza viral activity of aspirin in cell culture." THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE. 22 SEP 1988, vol. 319, no. 12, 22 September 1988 (1988-09-22), page 797, XP009031184 ISSN: 0028-4793 cited in the application	1-4,7
Y	----- the whole document	5,6,8
X	WO 98/52540 A (BARRETT DAVID MICHAEL ; JONES HUW LYN (GB); JONES IDWAL (GB); BOOTS CO) 26 November 1998 (1998-11-26) the whole document	1-8
X	US 6 107 281 A (FURUKAWA SATORU ET AL) 22 August 2000 (2000-08-22)	1-5,7
Y	----- claims 1-3	6
X	EP 0 417 385 A (SHIMAMURA TADAKATSU ; MITSUI NORIN KK (JP)) 20 March 1991 (1991-03-20) the whole document	1-4,7
Y	----- abstract page 1281, left-hand column, paragraph 4 - page 1281, right-hand column, paragraph 1	5,6,8
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/DE2004/000012

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,Y	MONTO A S: "The role of antivirals in the control of influenza" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 21, no. 16, 1 May 2003 (2003-05-01), pages 1796-1800, XP004418060 ISSN: 0264-410X the whole document	5,6
X	YU K-L ET AL: "Novel quinolizidine salicylamide influenza fusion inhibitors" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, vol. 9, no. 15, 2 August 1999 (1999-08-02), pages 2177-2180; XP004174154 ISSN: 0960-894X the whole document	1-4,7
X	DE 38 32 799 A (HUANG TZONG CHOU PROF DR) 29 March 1990 (1990-03-29) the whole document	1-4,7,8
Y	the whole document	5,6
X	GB 2 374 008 A (CARTER JOHN) 9 October 2002 (2002-10-09)	1-5,7
Y	claims 1-3	6,8
X	WO 02/051413 A (SHIRE BIOCHEM INC ; BEDARD JEAN (CA); FALARDEAU GUY (CA); KONG LAVAL C) 4 July 2002 (2002-07-04) page 4, line 3 - page 7, line 10 page 15, line 18 - page 16, line 19 page 19, line 10 - page 23, line 29 claims 1,16	1-4
P,X	US 6 514 955 B1 (VAN DYKE KNOX) 4 February 2003 (2003-02-04) the whole document	1-8
X	US 6 130 226 A (MULLER GEORGE W ET AL) 10 October 2000 (2000-10-10) the whole document	1-4
Y	YIN M-J ET AL: "THE ANTI-INFLAMMATORY AGENTS ASPIRIN AND SALICYLATE INHIBIT THE ACTIVITY OF IKAPPAB KINASE-BETA" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, vol. 396, 5 November 1998 (1998-11-05), pages 77-80, XP002938591 ISSN: 0028-0836 cited in the application the whole document	1-15

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE2004/000012

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>MAY M J ET AL: "Selective inhibition of NF-kB activation by a peptide that blocks the interaction of NEMO with the IκB kinase complex" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, vol. 289, 1 September 2000 (2000-09-01), pages 1550-1554, XP002189523 ISSN: 0036-8075 cited in the application the whole document</p> <p>-----</p>	1-15
Y	<p>CHU WEN-MING ET AL: "JNK2 and IKKbeta are required for activating the innate response to viral infection" IMMUNITY, vol. 11, no. 6, December 1999 (1999-12), pages 721-731, XP002282727 ISSN: 1074-7613 cited in the application the whole document</p> <p>-----</p>	1-15
Y	<p>-----</p>	9-15
X	<p>WO 00/50633 A (GEN HOSPITAL CORP ; TING ADRIAN (US); SEED BRIAN (US)) 31 August 2000 (2000-08-31) abstract page 3, line 1 - page 6, line 13 page 14, line 1 - page 29, line 6</p>	1,2,7
Y	<p>claims 1-43</p> <p>-----</p>	1-15

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/DE2004/000012

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date			
WO 0183547	A	08-11-2001	AU 5763101 A	12-11-2001			
			AU 6116401 A	12-11-2001			
			CA 2414290 A1	08-11-2001			
			CA 2414296 A1	08-11-2001			
			EP 1282643 A2	12-02-2003			
			EP 1280820 A2	05-02-2003			
			JP 2003531636 T	28-10-2003			
			JP 2003531918 T	28-10-2003			
			WO 0183554 A2	08-11-2001			
			WO 0183547 A2	08-11-2001			
			US 2002156000 A1	24-10-2002			
			US 2003054999 A1	20-03-2003			
			WO 9852540	A	26-11-1998	AU 8107998 A	11-12-1998
						WO 9852540 A1	26-11-1998
US 6107281	A	22-08-2000	US 6013632 A	11-01-2000			
			AU 5910998 A	03-08-1998			
			CA 2277911 A1	16-07-1998			
			EP 1007077 A1	14-06-2000			
			JP 2001511770 T	14-08-2001			
			WO 9830228 A1	16-07-1998			
EP 0417385	A	20-03-1991	JP 2727471 B2	11-03-1998			
			JP 3101623 A	26-04-1991			
			AT 108660 T	15-08-1994			
			AU 628513 B2	17-09-1992			
			AU 5319490 A	21-03-1991			
			CA 2014555 A1	14-03-1991			
			DE 69010807 D1	25-08-1994			
			DE 69010807 T2	27-10-1994			
			EP 0417385 A2	20-03-1991			
			KR 180001 B1	20-03-1999			
			US 5137922 A	11-08-1992			
			DE 3832799	A	29-03-1990	DE 3832799 A1	29-03-1990
GB 2374008	A	09-10-2002	EP 1372676 A1	02-01-2004			
			WO 02080942 A1	17-10-2002			
WO 02051413	A	04-07-2002	WO 02051413 A2	04-07-2002			
			US 2002137733 A1	26-09-2002			
US 6514955	B1	04-02-2003	US 5686436 A	11-11-1997			
			AU 699871 B2	17-12-1998			
			AU 3760395 A	26-04-1996			
			CA 2201774 A1	11-04-1996			
			EP 0784471 A2	23-07-1997			
			WO 9610402 A1	11-04-1996			
			US 5846961 A	08-12-1998			
US 6130226	A	10-10-2000	US 5929117 A	27-07-1999			
			US 6262101 B1	17-07-2001			
			US 2003045726 A1	06-03-2003			
			US 2004019106 A1	29-01-2004			
			US 2001056107 A1	27-12-2001			
			AT 236872 T	15-04-2003			
			AU 729247 B2	25-01-2001			

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE2004/000012

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
US 6130226	A	AU 3913897	06-03-1998	
		CA 2262906	19-02-1998	
		CN 1228080	08-09-1999	
		CZ 9900439	14-07-1999	
		DE 69720735	15-05-2003	
		DE 69720735	04-03-2004	
		DK 918746	04-08-2003	
		EP 1361210	12-11-2003	
		EP 0918746	02-06-1999	
		ES 2197359	01-01-2004	
		FI 990180	08-03-1999	
		HK 1021814	05-12-2003	
		HU 9904569	28-05-2000	
		JP 2000516616	12-12-2000	
		KR 2000029913	25-05-2000	
		NZ 334148	21-12-2001	
		PL 331605	02-08-1999	
		PT 918746	29-08-2003	
		RU 2188819	10-09-2002	
		SK 17799	08-11-1999	
WO 9806692	19-02-1998			
WO 0050633	A	31-08-2000	AU 3380200	14-09-2000
			EP 1157126	28-11-2001
			JP 2002541779	10-12-2002
			WO 0050633	31-08-2000

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE2004/000012

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b>		
IPK 7	A61K31/00 A61K31/335 A61P31/12	A61K31/60 A61K35/78 A61P31/16
	A61K31/19 A61K31/35	A61K31/40 A61K31/13
		A61K31/54 A61K31/70
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b>		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)		
IPK 7 A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
EPO-Internal, BIOSIS, PAJ, WPI Data		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 01/83547 A (MAY MICHAEL J ; UNIV YALE (US); GHOSH SANKAR (US)) 8. November 2001 (2001-11-08)	1-5,7
Y	Zusammenfassung Seite 4, Zeile 1 - Seite 5, Zeile 26 Seite 11, Zeilen 4-16 Seite 15, Zeile 1 - Seite 21, Zeile 2 Seite 25, Zeile 4 - Seite 30, Zeile 26 Ansprüche 1-35; Beispiele 6,8,10 ----- -/-	6,8
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
1. Juni 2004		14/06/2004
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Greif, G

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE2004/000012

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	PRIMACHE V ET AL: "In vitro activity of acetylsalicylic acid on replication of varicella-zoster virus." THE NEW MICROBIOLOGICA : OFFICIAL JOURNAL OF THE ITALIAN SOCIETY FOR MEDICAL, ODONTOIATRIC, AND CLINICAL MICROBIOLOGY (SIMMOC). OCT 1998, Bd. 21, Nr. 4, Oktober 1998 (1998-10), Seiten 397-401, XP009031179 ISSN: 1121-7138	1-4,7, 9-14
Y	das ganze Dokument	5,6,8
X	BROGGINI M ET AL: "Flurbiprofen versus ASA in influenza symptomatology: a double-blind study." INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL PHARMACOLOGY RESEARCH. 1986, Bd. 6, Nr. 6, 1986, Seiten 485-488, XP009031176 ISSN: 0251-1649	1-4,7
Y	das ganze Dokument	5,6,8
X	INGLOT A D: "Comparison of the antiviral activity in vitro of some non-steroidal anti-inflammatory drugs." THE JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY. MAR 1969, Bd. 4, Nr. 2, März 1969 (1969-03), Seiten 203-214, XP009031196 ISSN: 0022-1317	1-4,7
X		5,6,8-15
X	BETTINI R ET AL: "Diclofenac sodium versus acetylsalicylic acid: a randomized study in febrile patients." THE JOURNAL OF INTERNATIONAL MEDICAL RESEARCH. 1986, Bd. 14, Nr. 2, 1986, Seiten 95-100, XP009031192 ISSN: 0300-0605	1-4,7
Y	das ganze Dokument	5,6,8
X	YOUNKIN S W ET AL: "Reduction in fever and symptoms in young adults with influenza A/Brazil/78 H1N1 infection after treatment with aspirin or amantadine." ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY. APR 1983, Bd. 23, Nr. 4, April 1983 (1983-04), Seiten 577-582, XP009031195 ISSN: 0066-4804	1-4,7
Y	das ganze Dokument	5,6,8
	-/--	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE2004/000012

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	BERNASCONI P ET AL: "Evaluation of a new pharmaceutical form of nimesulide for the treatment of influenza." DRUGS UNDER EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH. 1985, Bd. 11, Nr. 10, 1985, Seiten 739-743, XP009031193 ISSN: 0378-6501	1-4,7
Y	Zusammenfassung	5,6,8
X	MILVIO C: "TREATMENT OF INFLUENZA SYNDROME A DOUBLE-BLIND CONTROLLED TRIAL OF NIMESULIDE VS. ASPIRIN" CLINICAL TRIALS JOURNAL, Bd. 22, Nr. 1, 1985, Seiten 111-117, XP009031194 ISSN: 0009-9325	1-4,7
Y	Zusammenfassung	5,6,8
X	HUANG R T ET AL: "Anti-influenza viral activity of aspirin in cell culture." THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE. 22 SEP 1988, Bd. 319, Nr. 12, 22. September 1988 (1988-09-22), Seite 797, XP009031184 ISSN: 0028-4793 in der Anmeldung erwähnt	1-4,7
Y	das ganze Dokument	5,6,8
X	WO 98/52540 A (BARRETT DAVID MICHAEL ; JONES HUW LYN (GB); JONES IDWAL (GB); BOOTS CO) 26. November 1998 (1998-11-26) das ganze Dokument	1-8
X	US 6 107 281 A (FURUKAWA SATORU ET AL) 22. August 2000 (2000-08-22)	1-5,7
Y	Ansprüche 1-3	6
X	EP 0 417 385 A (SHIMAMURA TADAKATSU ; MITSUI NORIN KK (JP)) 20. März 1991 (1991-03-20) das ganze Dokument	1-4,7
Y	COX N J N J ET AL: "Influenza" LANCET, XX, XX, Bd. 354, Nr. 9186, 9. Oktober 1999 (1999-10-09), Seiten 1277-1282, XP004262683 ISSN: 0140-6736 Zusammenfassung Seite 1281, linke Spalte, Absatz 4 - Seite 1281, rechte Spalte, Absatz 1	5,6,8
	-/--	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE2004/000012

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der In Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,Y	<p>MONTO A S: "The role of antivirals in the control of influenza" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, Bd. 21, Nr. 16, 1. Mai 2003 (2003-05-01), Seiten 1796-1800, XP004418060 ISSN: 0264-410X das ganze Dokument</p>	5,6
X	<p>YU K-L ET AL: "Novel quinolizidine salicylamide influenza fusion inhibitors" BIOORGANIC &amp; MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, OXFORD, GB, Bd. 9, Nr. 15, 2. August 1999 (1999-08-02), Seiten 2177-2180, XP004174154 ISSN: 0960-894X das ganze Dokument</p>	1-4,7
X	<p>DE 38 32 799 A (HUANG TZONG CHOU PROF DR) 29. März 1990 (1990-03-29) das ganze Dokument</p>	1-4,7,8
Y	<p>das ganze Dokument</p>	5,6
X	<p>GB 2 374 008 A (CARTER JOHN) 9. Oktober 2002 (2002-10-09) Ansprüche 1-3</p>	1-5,7
Y	<p>Ansprüche 1-3</p>	6,8
X	<p>WO 02/051413 A (SHIRE BIOCHEM INC ; BEDARD JEAN (CA); FALARDEAU GUY (CA); KONG LAVAL C) 4. Juli 2002 (2002-07-04) Seite 4, Zeile 3 - Seite 7, Zeile 10 Seite 15, Zeile 18 - Seite 16, Zeile 19 Seite 19, Zeile 10 - Seite 23, Zeile 29 Ansprüche 1,16</p>	1-4
P,X	<p>US 6 514 955 B1 (VAN DYKE KNOX) 4. Februar 2003 (2003-02-04) das ganze Dokument</p>	1-8
X	<p>US 6 130 226 A (MULLER GEORGE W ET AL) 10. Oktober 2000 (2000-10-10) das ganze Dokument</p>	1-4
Y	<p>YIN M-J ET AL: "THE ANTI-INFLAMMATORY AGENTS ASPIRIN AND SALICYLATE INHIBIT THE ACTIVITY OF IKAPPAB KINASE-BETA" NATURE, MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, GB, Bd. 396, 5. November 1998 (1998-11-05), Seiten 77-80, XP002938591 ISSN: 0028-0836 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p>	1-15

-/--

1

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE2004/000012

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	MAY M J ET AL: "Selective inhibition of NF- $\kappa$ B activation by a peptide that blocks the interaction of NEMO with the I $\kappa$ B kinase complex" SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US, Bd. 289, 1. September 2000 (2000-09-01), Seiten 1550-1554, XP002189523 ISSN: 0036-8075 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-15
Y	CHU WEN-MING ET AL: "JNK2 and IKKbeta are required for activating the innate response to viral infection" IMMUNITY, Bd. 11, Nr. 6, Dezember 1999 (1999-12), Seiten 721-731, XP002282727 ISSN: 1074-7613 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-15
Y		9-15
X	WO 00/50633 A (GEN HOSPITAL CORP ; TING ADRIAN (US); SEED BRIAN (US)) 31. August 2000 (2000-08-31) Zusammenfassung Seite 3, Zeile 1 - Seite 6, Zeile 13 Seite 14, Zeile 1 - Seite 29, Zeile 6	1,2,7
Y	Ansprüche 1-43	1-15

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2004/000012

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0183547	A	08-11-2001	AU 5763101 A	12-11-2001
			AU 6116401 A	12-11-2001
			CA 2414290 A1	08-11-2001
			CA 2414296 A1	08-11-2001
			EP 1282643 A2	12-02-2003
			EP 1280820 A2	05-02-2003
			JP 2003531636 T	28-10-2003
			JP 2003531918 T	28-10-2003
			WO 0183554 A2	08-11-2001
			WO 0183547 A2	08-11-2001
			US 2002156000 A1	24-10-2002
			US 2003054999 A1	20-03-2003
			WO 9852540	A
WO 9852540 A1	26-11-1998			
US 6107281	A	22-08-2000	US 6013632 A	11-01-2000
			AU 5910998 A	03-08-1998
			CA 2277911 A1	16-07-1998
			EP 1007077 A1	14-06-2000
			JP 2001511770 T	14-08-2001
			WO 9830228 A1	16-07-1998
EP 0417385	A	20-03-1991	JP 2727471 B2	11-03-1998
			JP 3101623 A	26-04-1991
			AT 108660 T	15-08-1994
			AU 628513 B2	17-09-1992
			AU 5319490 A	21-03-1991
			CA 2014555 A1	14-03-1991
			DE 69010807 D1	25-08-1994
			DE 69010807 T2	27-10-1994
			EP 0417385 A2	20-03-1991
			KR 180001 B1	20-03-1999
			US 5137922 A	11-08-1992
DE 3832799	A	29-03-1990	DE 3832799 A1	29-03-1990
GB 2374008	A	09-10-2002	EP 1372676 A1	02-01-2004
			WO 02080942 A1	17-10-2002
WO 02051413	A	04-07-2002	WO 02051413 A2	04-07-2002
			US 2002137733 A1	26-09-2002
US 6514955	B1	04-02-2003	US 5686436 A	11-11-1997
			AU 699871 B2	17-12-1998
			AU 3760395 A	26-04-1996
			CA 2201774 A1	11-04-1996
			EP 0784471 A2	23-07-1997
			WO 9610402 A1	11-04-1996
			US 5846961 A	08-12-1998
US 6130226	A	10-10-2000	US 5929117 A	27-07-1999
			US 6262101 B1	17-07-2001
			US 2003045726 A1	06-03-2003
			US 2004019106 A1	29-01-2004
			US 2001056107 A1	27-12-2001
			AT 236872 T	15-04-2003
			AU 729247 B2	25-01-2001

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Akkordzeichen

PCT/DE2004/000012

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung	
US 6130226	A	AU 3913897 A	06-03-1998	
		CA 2262906 A1	19-02-1998	
		CN 1228080 A	08-09-1999	
		CZ 9900439 A3	14-07-1999	
		DE 69720735 D1	15-05-2003	
		DE 69720735 T2	04-03-2004	
		DK 918746 T3	04-08-2003	
		EP 1361210 A2	12-11-2003	
		EP 0918746 A1	02-06-1999	
		ES 2197359 T3	01-01-2004	
		FI 990180 A	08-03-1999	
		HK 1021814 A1	05-12-2003	
		HU 9904569 A2	28-05-2000	
		JP 2000516616 T	12-12-2000	
		KR 2000029913 A	25-05-2000	
		NZ 334148 A	21-12-2001	
		PL 331605 A1	02-08-1999	
		PT 918746 T	29-08-2003	
		RU 2188819 C2	10-09-2002	
		SK 17799 A3	08-11-1999	
WO 9806692 A1	19-02-1998			
WO 0050633	A	31-08-2000	AU 3380200 A	14-09-2000
			EP 1157126 A1	28-11-2001
			JP 2002541779 T	10-12-2002
			WO 0050633 A1	31-08-2000

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
<b>A 6 1 K 45/06 (2006.01)</b>		A 6 1 K 45/06	
<b>A 6 1 K 31/13 (2006.01)</b>		A 6 1 K 31/13	
<b>A 6 1 K 31/7056 (2006.01)</b>		A 6 1 K 31/7056	
<b>A 6 1 K 31/616 (2006.01)</b>		A 6 1 K 31/616	
<b>A 6 1 K 31/40 (2006.01)</b>		A 6 1 K 31/40	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 セドラセック, ハンス - ハラルド

ドイツ連邦共和国 3 5 0 4 1 マーバーク, ソネンハング 3

(72) 発明者 ルドウィング ステファン

ドイツ連邦共和国 9 7 0 7 8 ウルツバーク, ランジズ グラスレイン 2 1

F ターム(参考) 4C084 AA17 AA20 DC01 DC32 MA02 MA56 MA59 NA05 NA14 ZB331  
ZB332 ZC202 ZC752  
4C086 AA01 AA02 BC07 DA17 EA01 MA01 MA02 MA04 MA56 MA59  
NA05 NA14 ZB33 ZC75  
4C206 AA01 AA02 FA29 MA02 MA04 MA76 MA79 NA05 NA14 ZB33  
ZC75