

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-91772

(P2015-91772A)

(43) 公開日 平成27年5月14日(2015.5.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 36/53 (2006.01)</b>	A 6 1 K 35/78 Q	4 C 0 8 3
<b>A 6 1 K 36/23 (2006.01)</b>	A 6 1 K 35/78 N	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 K 31/60 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/60	4 C 0 8 8
<b>A 6 1 Q 19/00 (2006.01)</b>	A 6 1 Q 19/00	

審査請求 未請求 請求項の数 20 O L 外国語出願 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-179539 (P2014-179539)	(71) 出願人	512302005
(22) 出願日	平成26年9月3日(2014.9.3)		ワンネス・バイオテック・カンパニー・リミテッド
(31) 優先権主張番号	102131723		ONENESS BIOTECH CO., LTD
(32) 優先日	平成25年9月3日(2013.9.3)		台湾115タイペイ・シティ、ナンガン・ディストリクト、ユアンチュ・ストリート、ナンバー3-1、7フロアー1
(33) 優先権主張国	台湾(TW)	(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 卓二
		(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 稔
		(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗微生物作用を備えた組成物の製造のためのパチョリ抽出物の使用

## (57) 【要約】

【課題】本発明は微生物の感染を阻害する薬剤を製造するためのプレクトランサスアンボイニクス(Plectranthus amboinicus)(Lour.) Spreng)抽出物の使用および微生物、特に、ニキビ菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌により引き起こされる尋常性座瘡の処置または予防の方法または組成物の提供。

【解決手段】本発明のプレクトランサスアンボイニクス抽出物は、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた前記粗抽出物を濃度50%以上のアルコール溶液により溶出して取得される。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

微生物の感染を阻害する薬剤製造のためのプレクトランサスアンボイニクス (*Plectranthus amboinicus*) (Lour.) Spreng) 抽出物の使用であって、前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物が、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた前記粗抽出物を濃度が少なくとも 50% のアルコール溶液により溶出して取得される、使用。

## 【請求項 2】

前記微生物が細菌である、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 3】

前記細菌が、プロピオニバクテリウム属菌種 (*Propionibacterium* sp.)、またはスタフィロコッカス属菌種 (*Staphylococcus* sp.)、あるいはシュードモナス属菌種 (*Pseudomonas* sp.) である、請求項 2 に記載の使用。

## 【請求項 4】

前記細菌が、ニキビ菌 (*Propionibacterium acnes*)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) および緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) から構成される群より選択される、請求項 2 に記載の使用。

## 【請求項 5】

前記アルコール溶液が、50% ~ 95% のアルコール溶液である、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 6】

前記アルコール溶液が、メタノールまたはエタノール溶液である、請求項 5 に記載の使用。

## 【請求項 7】

前記アルコール溶液が、70% ~ 95% のアルコール溶液である、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 8】

前記アルコール溶液が、メタノールまたはエタノール溶液である、請求項 7 に記載の使用。

## 【請求項 9】

前記溶媒が 95% のエタノール溶液である、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 10】

前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物が、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた前記粗抽出物を 50% ~ 95% のアルコール溶液で溶出して取得される第 1 抽出物と、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた前記粗抽出物を 70% ~ 95% のアルコール溶液で溶出して取得される第 2 抽出物の組み合わせである、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 11】

前記溶媒が 95% のエタノール溶液である、請求項 10 に記載の使用。

## 【請求項 12】

前記アルコール溶液が、メタノールまたはエタノール溶液である、請求項 10 に記載の使用。

## 【請求項 13】

前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物が、酢酸エチルで溶出する工程をさらに含む方法により取得される、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 14】

前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物が、プレクトランサスアンボイニクスの植

10

20

30

40

50

物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた前記粗抽出物を 50% ~ 95% のメタノールまたはエタノール溶液で溶出した後、酢酸エチルで溶出して取得される、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 15】

プレクトランサスアンボイニクス抽出物が、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた前記粗抽出物を 70% ~ 95% のメタノールまたはエタノール溶液で溶出した後、酢酸エチルで溶出して取得される、請求項 7 に記載の使用。

【請求項 16】

前記組成物が外用薬、化粧品、または洗浄剤の形態で調製される、請求項 1 に記載の使用。

10

【請求項 17】

前記組成物が、尋常性座瘡の処置または予防に有効である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 18】

前記組成物が、抗微生物剤、抗炎症剤、洗浄またはスキンケア成分、あるいはそれらの組み合わせを組み合わせで成る、請求項 17 に記載の使用。

【請求項 19】

前記組成物がさらに、ツボクサ (Centella Asiatica) 抽出物を含む、請求項 17 に記載の使用。

【請求項 20】

20

前記組成物がさらにサリチル酸を含む、請求項 17 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、プレクトランサスアンボイニクス (Plectranthus amboinicus) (Lour.) Spreng) 抽出物の有効量を含む組成物を対象に投与することを含む、微生物の感染を阻害する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

一般的ににきびとして知られる尋常性座瘡は、炎症を起こした毛包と皮脂腺の疾患である。85% を超える成人が成長時ににきびを体験している。さまざまな症状に基づいて、にきびはコメドなどの非炎症性にきびと、膿疱や炎症した毛包などの炎症性にきびに分類できる。それらのうち、脂漏症により引き起こされる細菌の異常増殖により誘発される炎症性にきびは治療が最も困難である。

30

【0003】

細菌により誘発される炎症性にきびは外用薬と経口薬を通じて処置できることが一般に知られている。外用薬の場合、抗生物質クリームまたは液 (クレオシンやフシジンなど) がニキビ菌 (Propionibacterium acnes) の増殖を阻害し、炎症を緩和するために主に使用されている。経口薬の場合、経口抗生物質がにきび処置の第一の薬として使用される。経口薬用の抗生物質には、テトラサイクリン、エリスロマイシン、スルホンアミドが含まれることが知られており、これらは非エステル化脂肪酸の生成減少に効果的であるため、抗炎症作用を提供できるが、細菌を殺す作用はない。

40

【0004】

炎症性にきびを引き起こすこれらの細菌を阻害し、抗生物質の使用または摂取を減少するためには、天然成分を利用することが望ましい。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

したがって、本発明の目的は、プレクトランサスアンボイニクス (Plectranthus amboinicus) (Lour.) Spreng) 抽出物の有効量を含む

50

組成物を対象に投与することを含む、微生物の感染を阻害する方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明によると、前記微生物は細菌を含む。本発明の一実施態様において、前記細菌は、プロピオニバクテリウム属菌種 (*Propionibacterium* sp.)、スタフィロコッカス属菌種 (*Staphylococcus* sp.)、またはシュードモナス属菌種 (*Pseudomonas* sp.) である。本発明の一実施形態において、前記細菌はニキビ菌 (*Propionibacterium acnes*)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) または緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) である。

10

【0007】

本発明の一実施形態において、前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物は、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた粗抽出物をアルコール溶液で濃度50%以上、好ましくは50%~95%、より好ましくは70%~95%で溶出することにより取得される。本発明の一実施形態において、前記アルコール溶液はメタノールまたはエタノール溶液である。

【0008】

本発明によると、前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物は、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒で抽出して粗抽出物を取得し、得られた粗抽出物を50%~95%のアルコール溶液で溶出して得られた第1抽出物と、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒で抽出して粗抽出物を取得し、得られた粗抽出物を70%~95%のアルコール溶液で溶出して得られた第2抽出物の組み合わせとすることができる。また、前記50%~95%のアルコール溶液はメタノールまたはエタノール溶液とすることができ、前記70%~95%のアルコール溶液はメタノールまたはエタノール溶液とすることができる。

20

【0009】

本発明の特定の一実施形態において、前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物は、プレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒で抽出して粗抽出物を取得し、得られた粗抽出物をアルコール溶液で溶出した後、酢酸エチルで溶出して取得される。前記アルコール溶液は、50%以上、好ましくは50%~95%、より好ましくは70%~95%の濃度のメタノールまたはエタノール溶液とすることができる。

30

【0010】

一態様において、本発明は対象において微生物の感染を阻害する薬剤を製造するためのプレクトランサスアンボイニクス抽出物の使用を提供する。

【0011】

別の一態様において、本発明はプレクトランサスアンボイニクス抽出物の有効量を含む、微生物の感染を阻害する組成物または医薬組成物を提供する。

【0012】

さらに別の一態様において、本発明は、微生物の感染を阻害するために有効な量の組成物を対象に投与することを含み、そのうち、前記組成物がプレクトランサスアンボイニクス抽出物を含み、そのうち前記組成物が外用薬、化粧品、または洗浄剤の形態で調製するための適切な賦形剤も含む、対象において微生物の感染を阻害する方法を提供する。

40

【0013】

さらに別の一態様において、本発明は、プレクトランサスアンボイニクス抽出物の有効量を含む組成物を対象に投与することを含む、対象において尋常性座瘡を処置または予防する方法を提供する。

【0014】

本発明の一実施形態において、前記組成物はプレクトランサスアンボイニクス (*Lour.*) *Spreng* 抽出物と別の抗微生物剤、抗炎症剤、洗浄またはスキンケア成分、あ

50

るいはそれらの組み合わせとの組み合わせとすることができる。前記組成物は外用薬、化粧品、または洗浄剤の形態で調製することができる。

【0015】

本発明の特定の一実施形態において、前記組成物はプレクトランサスアンボイニクス抽出物とツボクサ (*Centella Asiatica*) 抽出物及び(または)サリチル酸の組み合わせを含む。前記組成物は外用薬、化粧品、または洗浄剤の形態で調製することができる。

【0016】

以下の説明と好ましい実施例の図面を通じて、本発明の上述及びその他の側面がより明確になるであろう。本発明に対する変更や修飾が可能である場合、それらは本発明において開示される新しい創作の要旨と範囲を逸脱しない。

10

【発明を実施するための形態】

【0017】

例外が特筆されない限り、ここで使われるすべての技術的及び科学的用語は、本発明が属する技術において通常の技能を有する者に一般的に理解されているものと同じ意味を持つ。

【0018】

本明細書において使用される「ある」、「その」等の冠詞 (*the singular forms "a", "an", and "said"*) には、「1つ以上」の複数の指示対象も含まれる。即ち、例えば「(ある)部材 (*component*)」と言う場合には、こうした部材及び当業者に公知のその等価物が複数ある場合も含まれる。

20

【0019】

本明細書において使用される用語「阻害」 (*"inhibit"*) とは、用語「阻害」が使用される文脈に基づき、説明される機能、レベル、活性、速度などを減少する、または妨げる、化合物、物質、または方法の能力を指す。好ましくは、10%以上の阻害、より好ましくは25%以上、さらにより好ましくは50%以上、そして最も好ましくは機能が75%以上阻害される。用語「阻害」は「減少」 (*"reduce"*) や「ブロック」 (*"block"*) と同じ意味で使用される。

【0020】

本明細書において使用される用語「感染」 (*"infection"*) とは、対象の体内または体表における微生物の存在を指し、その増殖が阻害された場合、対象にとって有益となる。

30

【0021】

用語「微生物」は、古細菌、細菌または真核生物からの原核及び真核微生物種を含む。真核微生物種は、酵母及び糸状菌、原生生物、藻類、または高等原生生物を含む。

【0022】

本明細書において使用される用語「対象」 (*"subject"*) とは、患者、コンパニオンアニマル (例：犬、猫など)、家畜動物 (例：牛、羊、豚、馬など)、実験動物 (例：ラット、マウス、ウサギなど) 等のヒトまたはヒト以外の哺乳動物を指す。

40

【0023】

本明細書において使用される用語「処置」 (*"treating"*) は、特定の感染、ケガ、疾病、疾患、病気の予防、または特定の感染、ケガ、疾病、疾患、病気に関連する症状の軽減、及び(または)予防的処置であると特に記載がある場合、前記症状の予防または排除を含むことができる。本明細書において「処置(する)」 (*"Treating"*) と「処置」 (*"treatment"*) は同じ意味で使用される。

【0024】

本明細書において使用される用語「有効量」とは、尋常性座瘡を効果的に処置または予防できる組成物の濃度を指し、年齢、体重、症状、治療効果、投与手段、治療時間を含む投与手段及び治療条件に基づいて調整することができる。

【0025】

50

本明細書において使用される用語「ビークル」(“vehicle”)または「担体」(“carrier”)、あるいは「薬学的に許容されるビークルまたは担体」とは、医薬業界で通常の技能を有する者に一般的に知られているものを含む、薬剤学で使用される希釈剤、賦形剤などを指す。

【0026】

本明細書において使用される用語「抗微生物剤」とは、あらゆる天然に存在する、合成または半合成の化合物または組成物、あるいはそれらの混合物であって、本発明の方法で実施した場合ヒトまたは動物での使用に安全であり、かつ微生物を殺す、または実質的にその増殖を阻害するために有効なものを指す。本明細書において使用される「抗菌」(“Antimicrobial”)は、抗細菌性、抗真菌性、抗ウイルス性の物質を含む。

10

【0027】

本発明は微生物の感染を阻害するためのプレクトランサスアンボイニクス抽出物の新しい用途を提供する。本発明によれば、新鮮または乾燥植物、好ましくは粉末形態を含むが、これに限らない、任意の形態のプレクトランサスアンボイニクスを使用することができる。

【0028】

本発明において、プレクトランサスアンボイニクス抽出物はプレクトランサスアンボイニクスの植物または乾燥粉末を溶媒中で抽出して粗抽出物を取得し、得られた粗抽出物をアルコール溶液により溶出して取得される。前記植物の粗抽出物は、例えば、95%エタノール溶液などのアルコール溶液を含むがこれに限らない、溶媒中での抽出など、任意の既知の方法によって取得することができる。本発明によれば、溶出のための前記アルコール溶液は、メタノールまたは好ましくはエタノールとすることができる。別の実施形態において、前記の方法はさらに、得られた粗抽出物を50%以上、好ましくは50%~95%、より好ましくは70%~95%の濃度のアルコール溶液により溶出する工程を含む。本発明の一実施形態において、前記アルコール溶液はメタノールまたはエタノール溶液である。特に、前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物は米国特許出願第13/680689において言及されるとおりに作成することができ、その全内容がここに参考文献として援用される。

20

【0029】

本発明によると、本発明の前記組成物はさらに別の抗微生物剤、抗炎症剤、洗浄またはスキンケア成分、あるいはそれらの組み合わせを含むことができる。前記組成物は外用薬、化粧品、または洗浄剤の形態で調製することができる。一実施形態において、前記組成物はさらにツボクサ(Centella Asiatica)抽出物、または(および)サリチル酸を含むことができる。一般的に使用されるビークルまたは担体を任意の既知の技法により添加することができる。また、本発明の組成物の有効量は、薬学的に許容されるビークルまたは担体を添加して、製剤の領域で一般的に使用される技法やメソッドに基づき薬剤に調製することができる。

30

【0030】

本発明によると、前記プレクトランサスアンボイニクス(Lour.) Spreng抽出物は、微生物、特に、ニキビ菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌から構成される群より選択される細菌を含む、プロピオニバクテリウム属菌種、スタフィロコッカス属菌種、またはシュードモナス属菌種などの細菌の感染の阻害に有効であることが予期せず判明した。

40

【0031】

したがって、本発明は尋常性座瘡の処置または予防のための組成物または方法を提供し、そのうち、前記組成物は外用処方形態であり、前記プレクトランサスアンボイニクス抽出物と、選択的にツボクサ(Centella Asiatica)抽出物を含む。

【0032】

本発明について上述の説明と以下の実施例を以って説明するが、それらは本発明の範囲を限定することを意図していない。

50

## 【実施例 1】

## 【0033】

50%～95%エタノール溶液でのプレクトランサスアンボイニクス (Lour.) Spreng 抽出物の作成

## 【0034】

必要量の乾燥プレクトランサスアンボイニクス医療用粉末が抽出のため95%のエタノール溶液に添加された。ろ過によりオリが取得され、別の95%のエタノール溶液で2回目の抽出が行われ、ろ過された。2回の抽出からの濾液が結合され、減圧濃縮が元の濾液量の約1/20が残るだけになるまで実施された。こうして得られた濃縮抽出物がカラムクロマトグラフィーで使用される。

10

## 【0035】

上述のように取得された濃縮抽出物に対してクロマトグラフィーレジンHP-20でカラムクロマトグラフィーが実施された。具体的に、取得された濃縮抽出物がRO水に添加され、よく混合された後、クロマトグラフィーのためカラムに導入された。その後、溶出のためRO水がカラムに導入され、溶出液を収集した後、カラム体積の4倍の量のRO水と95%のエタノール(体積比率1:1)の溶液がカラムに導入されて溶出が行われ、溶出液が収集された。溶出液は残りが少量になるまで減圧濃縮され、凍結乾燥を経て0%～50%のエタノール溶液で溶出した対照群として使用するプレクトランサスアンボイニクス (Lour.) Spreng 抽出物が取得された。

20

## 【0036】

その後、カラム体積の4倍量の95%エタノール溶液がカラムに導入されて溶出が行われ、溶出液が収集され、減圧濃縮後乾燥を経てさらに別のプレクトランサスアンボイニクス抽出物が取得され、これをF3とした。これは50%～95%のエタノール溶液で溶出した抽出物である。さらに、酢酸エチルがカラムに導入されて溶出が行われ、溶出液が収集され、減圧濃縮後乾燥を経て、酢酸エチルで溶出したプレクトランサスアンボイニクス抽出物が取得された。

## 【実施例 2】

## 【0037】

70%～95%エタノール溶液で溶出したプレクトランサスアンボイニクス (Lour.) Spreng 抽出物の作成

30

## 【0038】

実施例1の工程に従って抽出が行われ、カラムクロマトグラフィー用の濃縮抽出物が取得された。得られた濃縮抽出物に対してクロマトグラフィーレジンHP-20でカラムクロマトグラフィーが実施された。取得された濃縮抽出物がRO水に添加され、よく混合された後、クロマトグラフィーのためカラムに導入された。その後、溶出のためRO水がカラムに導入され、溶出液を収集した後、RO水と95%のエタノール(体積比率3:7)の溶液がカラムに導入されて溶出が行われた。溶出液が収集され、残りが少量になるまで減圧濃縮され、凍結乾燥を経て、プレクトランサスアンボイニクス抽出物が取得された。その後、溶出のため95%エタノール溶液がカラムに導入され、溶出液が収集され、減圧濃縮後乾燥を経て、さらに別のプレクトランサスアンボイニクス抽出物が取得され、これをF4とした。これは70%～95%エタノール溶液で溶出された抽出物である。さらに、溶出のため酢酸エチルがカラムに導入され、溶出液が収集され、減圧濃縮後乾燥を経て、酢酸エチルで溶出したプレクトランサスアンボイニクス抽出物が取得された。

40

## 【実施例 3】

## 【0039】

体外抗菌実験

## 【0040】

微生物感染は尋常性座瘡の過程で重要な役割を果たし、中でもニキビ菌と黄色ブドウ球菌が最も重大かつ最も一般的な影響力を持つ。この実験では、ニキビ菌と黄色ブドウ球菌を利用して本発明のプレクトランサスアンボイニクス (Lour.) Spreng 抽出物

50

と、それを使用した組成物の細菌阻害能力を評価した。

【 0 0 4 1 】

実験に使用される本発明の組成物は上述の通りに作成されたプレクトランサスアンボイニクス抽出物であり、F 3 ( 5 0 % ~ 9 5 % エタノール溶液で溶出した抽出物 ) と F 4 ( 7 0 % ~ 9 5 % エタノール溶液で溶出した抽出物 ) およびプレクトランサスアンボイニクス抽出物から構成される製剤 ( 「 D o u - c o n 」 製剤 ) であり、F 3 と F 4 、ツボクサ ( *C e n t e l l a A s i a t i c a* ) 抽出物、サリチル酸、及び薬学的に許容されるピークルまたは担体を含む。使用される試験試料の量は微生物 ( ニキビ菌または黄色ブドウ球菌 ) の被験染色を含む試験ウェルで 1 % (  $2 - 8 \times 10^5$  C F U / m l ) である。管理された温度と培地条件下で 1 ~ 2 日培養した後、微生物の増殖を調べるために分光光度計 ( 波長 = 6 0 0 n m ) で不透明度が判定された。「 + 」の印は増殖が阻害されたことを示し、「 - 」の印は不透明度 / 微生物増殖が影響を受けなかったことを示す。得られた結果を以下の表 1 に示す。

10

【 0 0 4 2 】

【 表 1 】

表 1 : 試験試料の細菌阻害能力

試験試料	ニキビ菌	黄色ブドウ球菌
パチヨリ抽出物 1 %	+	+
Dou-con 製剤 1 %	+	+

20

【 0 0 4 3 】

実験の結果に基づき、本発明によるプレクトランサスアンボイニクス抽出物と D o u - c o n 製剤のいずれもニキビ菌と黄色ブドウ球菌を含むにきびによる細菌染色の全増殖を阻害する効果があると結論付けられる。



## 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 K 8/97 (2006.01)** A 6 1 K 8/97

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(72)発明者 チェン・ホイ・チュン

台湾 1 1 5 タイペイ・シティ、ナンガン・ディストリクト、ユアンチュ・ストリート、ナンバー 3  
 - 1、7フロア - 1

(72)発明者 チェン・ジェン・ウェイ

台湾 1 1 5 タイペイ・シティ、ナンガン・ディストリクト、ユアンチュ・ストリート、ナンバー 3  
 - 1、7フロア - 1

(72)発明者 ホアン・シャオ・チュ

台湾 1 1 5 タイペイ・シティ、ナンガン・ディストリクト、ユアンチュ・ストリート、ナンバー 3  
 - 1、7フロア - 1

(72)発明者 チャン・ウェイ・ルエン

台湾 1 1 5 タイペイ・シティ、ナンガン・ディストリクト、ユアンチュ・ストリート、ナンバー 3  
 - 1、7フロア - 1

F ターム(参考) 4C083 AA111 AC471 BB51 CC02 EE13

4C084 AA19 MA02 NA05 ZA892 ZB112 ZB352

4C086 AA01 AA02 DA17 MA02 MA03 MA04 NA05 ZB35

4C088 AB38 AB40 MA02 MA07 MA08 MA63 NA05 NA14 ZB35

## 【外国語明細書】

## TITLE OF THE INVENTION

USE OF PATCHOULI EXTRACT IN THE PREPARATION OF COMPOSITIONS WITH AN  
ANTI-MICROORGANISM EFFECT

## FIELD OF THE INVENTION

**[0001]** The present invention provides a method for inhibiting the infection of a microorganism, comprising administering the subject with a composition comprising an effective amount of a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract.

## BACKGROUND OF THE INVENTION

**[0002]** Acne vulgaris, commonly known as acne, is a disease with inflamed hair follicles and sebaceous glands. More than 85% adults have experienced acne when they were growing up. Based on different symptoms, acne can be divided into non-inflammatory acne such as comedones, and inflammatory acne such as cysts or inflamed hair follicles. Among them, it is the most difficult to cure inflammatory acne induced by the overgrowth of bacteria caused by seborrhoea.

**[0003]** It is commonly known that inflammatory acne induced by bacteria can be treated through external medications and oral medications. For external medications, antibiotic creams or liquids (such as Cleocin or Fucidin) are mainly used to inhibit the growth of *Propionibacterium acnes* to alleviate inflammation. For oral medications, oral antibiotics are used as the first-line medications for acne treatment. It is known that the antibiotics for oral medications include tetracycline, erythromycin, and sulfonamides, which are effective in reducing the generation of non-esterified fatty acids and thus providing an anti-inflammatory effect, but not in killing bacteria.

**[0004]** It is desirable to utilize natural ingredients to inhibit those bacteria causing inflammatory acne and thus reduce the use or intake of antibiotics.

## BRIEF SUMMARY OF THE INVENTION

**[0005]** Accordingly, the present invention provides a method for inhibiting the infection of a microorganism in a subject, comprising administering the subject

with a composition comprising an effective amount of a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract.

[0006] According to the invention, the microorganism comprise bacterium. In one embodiment of the invention, said bacterium is *Propionibacterium* sp., *Staphylococcus* sp., or *Pseudomonas* sp. In one specific example, said bacterium is *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, or *Pseudomonas aeruginosa*.

[0007] In one example of the invention, the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract is obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by an alcohol solution at a concentration of at least 50%, preferably 50%~95% and most preferably 70%~95%. In one specific example, the alcohol solution is a methanol or ethanol solution.

[0008] According to the invention, the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract may be a combination of a first extract obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by 50%~95% alcohol solution, and a second extract obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by 70%~95% alcohol solution. Also, said 50%~95% alcohol solution may be a methanol or ethanol solution, and said 70%~95% alcohol solution may be a methanol or ethanol solution.

[0009] In one particular example of the invention, the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract is obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by an alcohol solution, followed by elution with ethyl acetate. Said alcohol solution may be a methanol or ethanol solution at a concentration of at least 50%, preferably 50%~95% and most preferably 70%~95%.

[0010] In another aspect, the present invention provides the use of the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract for manufacturing a medicament for inhibiting the infection of a microorganism in a subject.

[0011] In one further aspect, the present invention provides a composition or pharmaceutical composition for inhibiting the infection of a microorganism comprising an effective amount of the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract.

[0012] In one yet aspect, the present invention provides a method for inhibiting the infection of a microorganism in a subject, comprising administering the subject with a composition in an amount effective in inhibiting the infection of a microorganism, wherein the composition comprises a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract, wherein said composition also comprises an appropriate excipient in order to be prepared in the form of an external medicine, a cosmetic product or a cleanser.

[0013] In one further yet aspect, the present invention provides a method for treating or preventing acne vulgaris in a subject, comprising administering the subject with a composition comprising an amount effective of a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract.

[0014] In one example of the invention, the composition may be *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract in combination of another antimicrobial agent, an anti-inflammatory drug, a cleaning or skin care component, or combinations thereof. the composition may be prepared in the form of an external medicine, a cosmetic product or a cleanser.

[0015] In one particular example of the present invention, the composition comprises a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract in combination of a *Centella Asiatica* extract and/or salicylic acid. The composition may be prepared in the form of an external medicine, a cosmetic product or a cleanser.

[0016] Those and other aspects of the present invention may be further clarified by the following descriptions and drawings of preferred embodiments. Although there may be changes or modifications therein, they would not betray the spirit and scope of the novel ideas disclosed in the present invention.

#### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

[0017] Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the same meanings as commonly understood by one of skill in the art to which this invention belongs.

**[0018]** Unless clearly specified herein, meanings of the articles “a,” “an,” and “said” all include the plural form of “more than one.” Therefore, for example, when the term “a component” is used, it includes multiple said components and equivalents known to those of common knowledge in said field.

**[0019]** The term “inhibit” as used herein, refers to the ability of a compound, agent, or method to reduce or impede a described function, level, activity, rate, etc., based on the context in which the term “inhibit” is used. Preferably, inhibition is by at least 10%, more preferably by at least 25%, even more preferably by at least 50%, and most preferably, the function is inhibited by at least 75%. The term “inhibit” is used interchangeably with “reduce” and “block.”

**[0020]** The term “infection” as used herein refers to presence of a microorganism, in or on a subject, which, if its growth were inhibited, would result in a benefit to the subject.

**[0021]** The term “microorganism” includes prokaryotic and eukaryotic microbial species from archaea, bacteria or eucarya. The eukaryotic microbial species include yeast and filamentous fungi, protozoa, algae, or higher protista.

**[0022]** As used herein, the term “subject” refer to a human or a non-human mammal, such as a patient, a companion animal (e.g., dog, cat, and the like), a farm animal (e.g., cow, sheep, pig, horse, and the like) or a laboratory animal (e.g., rat, mouse, rabbit, and the like).

**[0023]** As used herein, the term “treating” may include prophylaxis of the specific infection, injury, disease, disorder, or condition, or alleviation of the symptoms associated with a specific infection, injury, disease, disorder, or condition and/or preventing or eliminating said symptoms if specifically stated as being a prophylactic treatment. “Treating” is used interchangeably with “treatment” herein.

**[0024]** The term “effective amount” used herein refers to a concentration of the composition that can effectively treat or prevent acne vulgaris; it can be adjusted according to the means of administration and therapeutic conditions, including age, body weight, symptoms, therapeutic effects, means of administration, and therapeutic time.

[0025] The term “vehicle or carrier” or “pharmaceutically acceptable vehicle or carrier” used herein refers to diluents, excipients or the like used in pharmaceuticals, including those well known to one of ordinary skills in the pharmaceutical industry.

[0026] The term “antimicrobial agents” as used herein refers to any naturally-occurring, synthetic, or semi-synthetic compound or composition or mixture thereof, which is safe for human or animal use as practiced in the methods of this invention, and is effective in killing or substantially inhibiting the growth of microbes. “Antimicrobial” as used herein, includes antibacterial, antifungal, and antiviral agents.

[0027] The present invention provides a new use of *Plectranthus amboinicus* extract for inhibiting the infection of a microorganism. According to the present invention, the *Plectranthus amboinicus* in any forms may be used, including but not limited to, a fresh or dried plant, preferably in a form of powder.

[0028] In the invention, the *Plectranthus amboinicus* extract is obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by alcoholic solution. The crude extract of the plant can be obtained by any of the known processes, for example, extracting in a solvent, including but not limited to, alcoholic solution, such as the 95% ethanol solution. According to this invention, the alcoholic solution for elution may be methanol or preferably ethanol. In another embodiment, the process comprises further a step of eluting the resulted crude extract by an alcohol solution at a concentration of at least 50%, preferably 50%~95% and most preferably 70%~95%. In one specific example, the alcohol solution is a methanol or ethanol solution.. In particular, the *Plectranthus amboinicus* extract can be prepared as mentioned in US Patent Application No. 13/680,689, the entire content of which are incorporated by reference herein.

[0029] According to the present invention, the composition of the present invention may comprise further another antimicrobial agent, an anti-inflammatory drug, a cleaning or skin care component, or combinations thereof. The composition may be prepared in the form of an external medicine

or a cosmetic product or a cleanser. In one embodiment, the composition may comprise further a *Centella Asiatica* extract, or/and salicylic acid. Commonly used vehicle or carrier may be added with any known techniques. Also, an effective amount of the composition of the present invention may be supplemented with a pharmaceutically acceptable vehicle or carrier to be formulated into a medicine based on techniques or methods commonly used in the pharmaceutical field.

[0030] According to the invention, it is unexpectedly found that the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract is effective in inhibition of the infection of a microorganism, particularly a bacterium, such as *Propionibacterium sp.*, *Staphylococcus sp.*, or *Pseudomonas sp.*, including a bacterium selected from the group consisting of *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

[0031] Accordingly, the present invention provides a composition or method for treating or preventing acne vulgaris, in which the composition is in the form of an external formula, and comprises the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract, and optionally a *Centella Asiatica* extract.

[0032] The present invention is explained in the above description of the invention and the following examples, which are not intended for limiting the scope of the present invention.

[0033] Example 1: Preparation of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract with a 50%~95% ethanol solution

[0034] A required amount of dry *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng medical powder was added into a 95% ethanol solution for extraction. The dregs were obtained by filtration, and extracted for a second time with another 95% ethanol solution and filtered. Filtrates from the two extractions were combined and put through reduced-pressure concentration until about 1/20 of the original filtrate volume was left. The thus obtained concentrated extract was ready for column chromatography.

[0035] The concentrated extract obtained above was put through column chromatography with the chromatography resin HP-20. Specifically, the obtained concentrated extract was added into RO water, mixed thoroughly, and introduced into the column for chromatography. Then, RO water was

introduced into the column for elution and the eluate was collected, followed by elution by introducing 4-times the column volume of a solution of RO water and 95% ethanol (volume ratio 1:1) into the column and collecting the eluate. The eluate was put through reduced-pressure concentration until a small amount was left, which was freeze-dried to obtain a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract to be used as the control group of elution with a 0% - 50% ethanol solution.

[0036] Then, 4-times the column volume of a 95% ethanol solution was introduced into the column for elution, and the eluate was collected, put through reduced-pressure concentration, and dried to further obtain another *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract which was numbered F3. This was the extract eluted with a 50%~95% ethanol solution. Further, ethyl acetate was introduced into the column for elution, and the eluate was collected, put through reduced-pressure concentration, and dried to obtain a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract eluted with ethyl acetate.

[0037] Example 2: Preparation of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract eluted with a 70%~95% ethanol solution

[0038] Extraction was performed according to the steps in Example 1 to obtain a concentrated extract which was ready for column chromatography. The obtained concentrated extract was put through column chromatography with the chromatography resin HP-20. The obtained concentrated extract was added into RO water, mixed thoroughly, and introduced into the column for chromatography, followed by introducing RO water into the column for elution and collecting the eluate. Then, a solution of RO water and 95% ethanol (volume ratio 3:7) was introduced into the column for elution. The eluate was collected, reduced to a small amount by reduced-pressure concentration, and freeze-dried to obtain a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract. Then, a 95% ethanol solution was introduced into the column for elution, and the eluate was collected, put through reduced-pressure concentration, and dried to further obtain another *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract which was numbered F4. This was the extract eluted with a 70%~95% ethanol solution. Further, ethyl acetate was introduced into the column for elution, and the eluate



was collected, put through reduced-pressure concentration, and dried to obtain a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract eluted with ethyl acetate.

[0039] Example 3: In vitro antibiotic experiments

[0040] Microorganism infection plays an important role in the course of acne vulgaris, wherein *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* have a more severe and most common influence. This experiment utilized *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* to evaluate the bacteria-inhibiting abilities of the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract of the present invention and compositions prepared using the same.

[0041] The composition of the present invention as used for experiment is the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract as prepared above, consisting of F3 (the extract eluted with a 50%~95% ethanol solution) and F4 (the extract eluted with a 70%~95% ethanol solution), and a formulation comprising the the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract (the “Dou-con” formulation), comprising F3 and F4, a *Centella Asiatica* extract, salicylic acid, and a pharmaceutically acceptable vehicle or carrier. The amount of a test sample as used is 1% in a test well containing a tested stain of a microorganism ( $2-8 \times 10^5$  CFU/ml), *Propionibacterium acnes* or *Staphylococcus aureus*. After culturing for 1 to 2 days under a controlled temperature and medium conditions, the opaqueness was determined with a spectrophotometer (wavelength = 600 nm) to examine the growth of the microorganisms. A “+” sign means the growth was inhibited, while a “-” sign means opaque/microorganism growth not affected. The results obtained are shown in Table 1 below.

[0042] Table 1: Bacteria-inhibiting abilities of the test samples

Test Samples	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Patchouli Extract 1%	+	+
Dou-con Formulation 1%	+	+

[0043] Based on the results of the experiment, it is concluded that either of the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract and Dou-con Formulation according to the invention has an effect of inhibition of the total growth of the acne-causing bacteria stains, including *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*.

## CLAIMS

I/We claim:

1. A use for manufacturing a medicine for inhibiting the infection of a microorganism of a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract, which is obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by an alcohol solution at concentration of at least 50%.
2. The use of claim 1, wherein the microorganism is a bacterium.
3. The use of claim 2, wherein the bacterium is *Propionibacterium sp.*, *Staphylococcus sp.*, or *Pseudomonas sp.*
4. The use of claim 2, wherein the bacterium is selected from the group consisting of *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.
5. The use of claim 1, wherein the alcohol solution is a 50%~95% alcohol solution.
6. The method of claim 5, wherein the alcohol solution is a methanol or ethanol solution.
7. The use of claim 1, wherein the alcohol solution is a 70%~95% alcohol solution.
8. The use of claim 7, wherein the alcohol solution is a methanol or ethanol solution.
9. The use of claim 1, wherein the solvent is a 95% ethanol solution.
10. The use of claim 1, wherein the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract is a combination of a first extract obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by 50%~95% alcohol solution, and a second extract obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by 70%~95% alcohol solution.
11. The use according to claim 10, wherein the solvent is a 95% ethanol solution.
12. The use of claim 10, wherein the alcohol solution is a methanol or ethanol solution.
13. The use of claim 1, wherein the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract is obtained by a process further comprising a step of eluting with ethyl acetate.
14. The use of claim 5, wherein the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract is obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted

crude extract by 50%~95% methanol or ethanol solution, followed by eluting with ethyl acetate.

15. The use of claim 7, wherein the *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract is obtained by extracting the plant or dried powder of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng in a solvent to obtain a crude extract, and eluting the resulted crude extract by 70%~95% methanol or ethanol solution, followed by eluting with ethyl acetate.
16. The use of claim 1, wherein the composition is prepared in the form of an external medicine, a cosmetic product or a cleanser.
17. The use according to claim 1, wherein the composition is effective in treating or preventing acne vulgaris.
18. The use according to claim 17, wherein the composition is in combination of an antimicrobial agent, an anti-inflammatory drug, a cleaning or skin care component, or combinations thereof.
19. The use according to claim 17, wherein the composition further comprises a *Centella Asiatica* extract.
20. The use according to claim 17, wherein the composition further comprises salicylic acid.

## ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

The present invention provides a use for manufacturing a medicine for inhibiting the infection of a microorganism of a *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng extract. Also provided is a method or composition for treating or preventing acne vulgaris caused by microorganisms, particularly *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*.