

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013 年 5 月 16 日(16.05.2013)



(10) 国際公開番号

WO 2013/069780 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 36/18 (2006.01) A61K 31/60 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01) A61P 31/16 (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01) A61P 31/22 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/079161
- (22) 国際出願日: 2012 年 11 月 9 日(09.11.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2011-247407 2011 年 11 月 11 日(11.11.2011) JP
特願 2012-216066 2012 年 9 月 28 日(28.09.2012) JP
- (71) 出願人: 出光興産株式会社 (IDEMITSU KOSAN CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1008321 東京都千代田区丸の内三丁目 1 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 望月 正己 (MOCHIZUKI, Masami); 〒2990293 千葉県袖ヶ浦市上泉 1 2 8 0 番地 Chiba (JP).
- (74) 代理人: 川口 嘉之, 外 (KAWAGUCHI, Yoshiyuki et al.); 〒1030004 東京都中央区東日本橋 3 丁目 4 番 1 0 号 アクロポリス 2 1 ビル 6 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, HU, 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, PA, 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, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロパ (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: VIRAL INFECTION PREVENTIVE

(54) 発明の名称: ウイルス感染防除剤

(57) Abstract: Provided is a viral infection preventive characterized by containing at least one selected from among unheated cashew nut shell oil, heated cashew nut shell oil, anacardic acid, cardanol, cardol, and a pulverized product of cashew nut shells.

(57) 要約: 非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉碎物から選択される 1 つ以上を含有することを特徴とするウイルス感染防除剤。



WO 2013/069780 A1

明 細 書

発明の名称： ウイルス感染防除剤

技術分野

[0001] 本発明は、カシューナッツ殻油（CNSL）を含有するウイルス感染防除剤、飼料添加剤、飼料及びこれらを用いた動物の飼育方法に関する。

背景技術

[0002] ウイルスにより引き起こされる病気は、反芻動物（牛、羊、ヤギ）、豚、家禽（鶏、ウズラ、シチメンチョウ、アヒル、ガチョウ、ダチョウ、エミュー、キジ、ホロホロチョウ）、馬、ペット（犬、猫）、ヒトなどに重篤な病害を発生させる病原体で、畜産業界、ペット業界、ヒトに甚大な被害を与えている。インフルエンザウイルスとしては、鳥インフルエンザが甚大な被害を与え、さらにヒト型に変異することによるパンデミックの回避が重要な課題である。インフルエンザウイルスには豚型、犬型、猫型もあり甚大な被害を与えている。ヘルペスウイルスは、反芻動物に牛伝染性鼻気管炎、豚にオースキー病、家禽にマレック病を引き起こす病原体であり、ワクチン接種により防除が試みられているが、近年、ワクチン接種の効果が無くなり甚大な被害を与えている。アルテリウイルスは、豚繁殖・呼吸器障害症候群（PRRS）の病原体であるが、有効な防除方法が無く、甚大な被害を与えている。アフトウイルスは反芻動物の口蹄疫の病原体で、一度発症が認められると感染している反芻動物は全て殺処分しなければならないほどの重篤病害である。ニューカッスル病ウイルスは、鶏をはじめ多種の鳥に感染する。特に鶏の感受性が高く、その伝搬性、病原性から重要な疾患であり、養鶏業においてはとりわけ厳重な注意が必要である。牛コロナウイルス病は、牛コロナウイルス感染を原因とするウシの感染症で、下痢を主な症状とする。下痢が長引くと脱水し、代謝性アシドーシスにより衰弱し、時に死亡する。ロタウイルス病は、牛ロタウイルス感染を原因とするウシの感染症で、元気消失、食欲不振、水様性下痢などを示す。豚、ヤギ、馬、犬などにおいても出生直

後から幼若期にかけて急性下痢症を起こす。

[0003] 特許文献1にはイチョウ抽出液を、レンチウイルスに属するHIVの予防や治療に使用することが記載されている。しかしながら、イチョウから有効成分を抽出する操作は煩雑で大量に得ることは困難である。また、レンチウイルスに対する効果のみ確認されており、他のウイルスに対する効果は不明である。

特許文献2にはカシューナッツ種皮より抽出されたカルドールに、フコシダーゼ阻害活性が有ることが記載されている。しかしながら、ウイルスに対する効果は実際に確認されていない。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：韓国公開特許第2010-012928号公報

特許文献2：特開平6-56657号公報

発明の概要

[0005] 本発明は、従来は予防・治療が困難であったウイルスによる病害を防除するウイルス感染防除剤を提供することを課題とする。

[0006] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を行った結果、カシューナッツ殻油がインフルエンザウイルスなどのウイルスを不活性化できることを見出した。

本発明者らは、このようにして、本発明を完成するに至った。

[0007] すなわち、本発明は以下のとおりである。

(1) 非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉碎物から選択される1つ以上を含有することを特徴とするウイルス感染防除剤。

(2) ウイルスがインフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、アルテリウイルス、アフトウイルス、ニューカッスル病ウイルス、コロナウイルス、ロタウイルス、またはノロウイルスである、(1)記載のウイルス感染防除剤。

(3) (1) または (2) に記載のウイルス感染防除剤を含むことを特徴とする、飼料添加剤。

(4) (3) 記載の飼料添加剤を含むことを特徴とする、飼料。

(5) 反芻動物、豚、家禽、馬、またはペット用である、(4) 記載の飼料。

(6) (4) または (5) に記載の飼料を摂取させることを特徴とする飼育方法。

(7) 非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉砕物から選択される 1 つ以上を動物に投与する工程を含む、動物におけるウイルス感染防除方法。

(8) 動物におけるウイルス感染防除のための、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよび／またはカシューナッツ殻粉砕物。

発明の効果

[0008] 本発明のウイルス感染防除剤の原料である、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、およびカシューナッツ殻粉砕物、ならびにそれらの有効成分であるアナカルド酸、カルダノールおよびカルドールは、安価に大量に入手が可能である。

本発明のウイルス感染防除剤は、飼料や飲水に含ませて動物に投与することにより、ウイルス病を効果的に防除することができる。

従って、本発明のウイルス感染防除剤により、安価かつ簡便に、ウイルスを防除することができる。

発明を実施するための形態

[0009] 本発明のウイルス感染防除剤は、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉砕物から選択される 1 つ以上を含有することを特徴とする。

[0010] カシューナッツ殻油は、カシューナッツ ツリー(Anacardium occidentale

L.)の実の殻に含まれる油状の液体である。カシューナッツ殻油は、その成分として、アナカルド酸、カルダノール、カルドールを含むものである。一般に、アナカルド酸は加熱処理することによりカルダノールに変換される。

カシューナッツの殻を圧搾することにより抽出された非加熱カシューナッツ殻油は、J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 2548-2551に記載されるように、アナカルド酸を55～80質量%、カルダノールを5～20質量%、カルドールを5～30質量%含むものである。

非加熱カシューナッツ殻油を130℃以上で加熱処理して得られる加熱カシューナッツ殻油は、非加熱カシューナッツ殻油の主成分のアナカルド酸が脱炭酸しカルダノールに変換され、アナカルド酸を0～10質量%、カルダノールを5～80質量%、カルドールを5～30質量%含むものとなる。

[0011] カシューナッツ殻油は、カシューナッツの殻を圧搾することにより抽出された植物油として得ることができる。また、カシューナッツ殻油は、抽出により、例えば、カシューナッツ殻を溶剤抽出して得ることもできる。さらに、カシューナッツ殻油は、特開平8-231410号公報に記載されている溶剤抽出法によって得ることができる。

カシューナッツ殻油は、市販品を用いることもできる。

本発明のカシューナッツ殻油は、上記のようにして得られた非加熱カシューナッツ殻油を、70℃以上、好ましくは130℃以上に加熱することによって得た加熱カシューナッツ殻油であってもよい。

本発明で使用するカシューナッツ殻油は、カシューナッツの殻から圧搾抽出(非加熱カシューナッツ殻油)し、これを130℃に加熱処理して得たものでもよい。

本発明で使用するウイルス感染防除剤は、カシューナッツ殻油の代わりに、その有効成分であるアナカルド酸、カルダノールおよび／またはカルドールを含んでいてもよいし、カシューナッツ殻および／またはその粉碎物を含んでいてもよい。

[0012] 本発明のウイルス感染防除剤におけるカシューナッツ殻油の含有量は、ウ

ウイルス感染防除剤の全量基準で、0.005質量%～70質量%、好ましくは0.01質量%～70質量%、さらに好ましくは0.02質量%～70質量%である。0.005質量%以上であれば、ウイルスによる病害の防除効果を効率的に奏することができ、70質量%以下であればウイルス感染防除剤の物性を維持することができるので好ましい。

[0013] 本発明において使用されるアナカルド酸としては、天然物アナカルド酸、合成アナカルド酸、それらの誘導体が挙げられる。また、市販のアナカルド酸を用いてもよい。アナカルド酸は、特開平8-231410号公報に記載されるように、カシューナッツの殻を有機溶剤で抽出処理して得られたカシューナッツ油を、例えば、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いてn-ヘキサン、酢酸エチルおよび酢酸の混合溶媒の比率を変えて溶出することによって得ることができる(特開平3-240721号公報、特開平3-240716号公報など)。このようなアナカルド酸は、カシューナッツ殻油と同様の含有量で、ウイルス感染防除剤に含めることができる。

[0014] 本発明において使用されるカルダノールとしては、天然物カルダノール、合成カルダノール、それらの誘導体が挙げられる。また、本発明において使用されるカルダノールは、カシューナッツ殻油の主成分のアナカルド酸を脱炭酸することにより、得ることができる。このようなカルダノールは、カシューナッツ殻油と同様の含有量で、ウイルス感染防除剤に含めることができる。

なお、加熱カシューナッツ殻油を用いる場合、加熱カシューナッツ殻油中のアナカルド酸とカルダノールとの質量比は、好ましくは、0:100～20:80である。

[0015] 本発明において使用されるカルドールとしては、天然物カルドール、合成カルドール、それらの誘導体が挙げられる。また、本発明において使用されるカルドールは、カシューナッツ殻油から精製することにより、得ることもできる。このようなカルドールは、カシューナッツ殻油と同様の含有量で、ウイルス感染防除剤に含めることができる。

[0016] 本発明においては、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノールおよびカルドールの原液、並びにカシューナッツ殻粉砕物から選択される1つ以上を動物に直接経口投与することもできる。

本発明において使用されるカシューナッツ殻油は、カシューナッツ殻を粉碎・破砕して用いてもよいが、含有しているカシューナッツ殻油（CNSL）に換算して（カシューナッツ殻にはCNSLが30%含まれている）同様の含有量とすればよい。

[0017] 本発明の防除剤は、ウイルス、好ましくは、インフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、アルテリウイルス、アフトウイルス、ニューカッスル病ウイルス、コロナウイルス、ロタウイルス、またはノロウイルスを防除するために使用される。なお、アルテリウイルス科に属する豚繁殖・呼吸器障害症候群（PRRS）ウイルスはアルテリウイルスに含まれる。

本発明において、防除とは、ウイルス病の予防および治療を含み、具体的にはウイルスの不活化および除去を含む。ここで、ウイルスの不活化とは、ウイルスの活性や伝染力を不活化する行為をいう。ウイルスの不活化は、例えば、ウイルス感染による細胞の形態変化の非存在を観察することにより、確認することができる。

[0018] 本発明のウイルス感染防除剤として、医薬製剤の製造法で一般的に用いられている公知の手段に従って、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉砕物から選択される1つ以上を、そのまま、あるいは薬理学的に許容される担体と混合してヒトを含む動物に投与することができる。

薬理学的に許容される担体としては、例えば固形製剤における賦形剤、滑沢剤、結合剤及び崩壊剤、あるいは液状製剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤及び無痛化剤等が挙げられる。

本発明のウイルス感染防除剤の製剤化には、通常製剤化に用いられる各種の成分が任意に使用されるが、その例としては、例えばデンプン、デキスト

リン、乳糖、コーンスターチ、無機塩類などが挙げられる。

[0019] 本発明のウイルス感染防除剤の剤型としては、アンプル、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、輸液、ドリンク剤等が挙げられるが、特定の剤型のものに限定されるものではない。

剤形の形態によっては、前記したカシューナッツ殻の粉碎・破砕物、もしくは何らの処理もしていないカシューナッツ殻ならびに／または非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノールおよびカルドールから選択される1つ以上をそのまま他の任意成分と混合させて本発明のウイルス感染防除剤とすることができる。また、他の任意成分と混合させず、粉碎・破砕物そのものもしくはカシューナッツ殻そのものならびに／または非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノールおよびカルドールから選択される1つ以上のみを、飼料添加剤、さらには飼料とすることもできる。さらに、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノールおよびカルドールから選択される1つ以上をエタノールなどの溶媒に溶解させ、これを、飼料用組成物または飼料に混合吸収させることもできる。

[0020] 本発明のウイルス感染防除剤のヒトに対する投与方法としては特に制限されず、経口投与、静脈投与などが挙げられる。好ましい投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより異なり特に制限されないが、例えば、患者（体重60kgとして）に対して、一日につき約0.01～230g、好ましくは約0.025～240g、より好ましくは約0.1～250gである。

[0021] 本発明の飼料添加剤は牛、豚、鶏などの家畜用飼料、ペットフード、ペット用サプリメント（以下、飼料という。）に用いられる他の飼料成分と混合して、本発明の飼料とすることができる。飼料の種類や、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉碎物以外の成分は、特に制限されない。好ましい含有量は、飼料の乾物質質量あたり、全量基準で0.001質量%～70

質量％が好ましく、より好ましくは0.005質量％～70質量％、特に好ましくは0.01質量％～70質量％である。0.001質量％以上であれば、ウイルス感染防除効果が向上することが期待できる。

[0022] 本発明の飼料は、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉砕物から選択される1つ以上を含有することを特徴とする。

なお、本発明の飼料におけるカシューナッツ殻油、加熱処理カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉砕物の含有量は、飼料の乾物質質量当たり、全量基準で0.001質量％～2.0質量％が好ましく、より好ましくは0.005質量％～1.0質量％、特に好ましくは0.01質量％～0.5質量％である。0.001質量％以上であれば、ウイルス感染防除効果が向上することが期待できる。一方、動物の嗜好性改善のためには、2.0質量％以下が好ましい。

[0023] 本発明の飼料は、飼料添加剤をそのまま飼料成分に添加し、混合して製造することができる。この際、粉末状、固形状の飼料添加剤を用いる場合は、混合を容易にするために飼料添加剤を液状又はゲル状の形態にしてもよい。この場合は、水、大豆油、菜種油、コーン油などの植物油、液体動物油、ポリビニルアルコールやポリビニルピロリドン、ポリアクリル酸などの水溶性高分子化合物を液体担体として用いることができる。また、飼料中におけるカシューナッツ殻油の均一性を保つために、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、キサンタンガム、カゼインナトリウム、アラビアゴム、グアーガム、タマリンド種子多糖類などの水溶性多糖類を配合することも好ましい。

[0024] 本発明の飼料は、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉砕物から選択される1つ以上に加えて、家畜動物の成長促進に有効な成分、栄養補助成分、保存安定性を高める成分等の任意成分をさらに含むものであってもよい。このような任意成分としては、例えば、エンテロコッカス属細菌、バチルス属細菌、ビフィズス菌、ラクトバチルス属細菌等の生菌剤；アミラー

ぜ、リパーゼ等の酵素；Ｌ－アスコルビン酸、塩化コリン、イノシトール、葉酸等のビタミン；塩化カリウム、クエン酸鉄、酸化マグネシウム、リン酸塩類等のミネラル；ＤＬ－アラニン、ＤＬ－メチオニン、塩酸Ｌ－リジン等のアミノ酸；フマル酸、酪酸、乳酸、酢酸等の有機酸及びそれらの塩；エトキシキン、ジブチルヒドロキシトルエン等の抗酸化剤；プロピオン酸カルシウム等の防カビ剤；カルボキシルメチルセルロース（ＣＭＣ）、カゼインナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム等の粘結剤；グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル等の乳化剤；アスタキサンチン、カンタキサンチン等の色素；各種エステル、エーテル、ケトン類等の着香料、が挙げられる。

[0025] 本発明のウイルス感染防除剤を投与する動物の種類は、上述したようなウイルスに感染しうる動物であれば特に制限はされないが、哺乳類又は鳥類、例えば反芻動物（牛、羊、ヤギ）、豚、家禽（鶏、ウズラ、シチメンチョウ、アヒル、ガチョウ、ダチョウ、エミュー、キジ、ホロホロチョウ）、馬、ペット（犬、猫）である。摂取させる飼料の量は、動物の種類、体重、年齢、性別、健康状態、増体促進飼料の成分などにより適宜調節することができ、このとき本発明の飼料に含まれる非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉碎物から選択される１つ以上は、好ましくは０．０１～１００ｇ／体重１００ｋｇ・日、より好ましくは０．０２５～１００ｇ／体重１００ｋｇ・日、さらに好ましくは０．１～１００ｇ／体重１００ｋｇ・日である。

本発明の飼料を摂取させる方法及び飼育する方法は、動物の種類に応じて、通常用いられる方法をとることができる。

[0026] 本発明のウイルス感染防除剤の適用方法としては、特に制限はないが、例えば塗料に配合して塗布材料としたり、樹脂材料に配合して成形したり、あらかじめ形成した成形体に塗料などの塗布材料と共に塗布するなどして、樹脂成形体に備えるようにした抗ウイルス性樹脂成形体とするなど、任意の方法により適用することが出来る。また、これらの施設・環境用途に供する場

合でも、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カールドールおよびカシューナッツ殻粉碎物から選択される1つ以上を、そのまま、あるいは各用途に許容される担体と混合して使用することができる。その他必要に応じて、ウイルス感染防除剤の酸化防止剤、安定化剤、防腐剤と併用することができる。

このような抗ウイルス性を備えた樹脂成形体や塗布材料は、ウイルスが侵入しやすい環境に使われる部品、具体的には換気フィルターやマスク等における化学繊維、グラスペーパー及び活性アルミナ、あるいは施設洗浄剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、あるいは施設塗料における塗膜形成成分、添加剤、溶剤、顔料等に広く適用することができる。更には、高度な衛生管理が求められる環境で使用される繊維製品や樹脂製品、化学薬品、具体的にはエプロン、布巾、カーテン、コーティング剤、シーリング材、クーリングタワー用防藻剤、ワックス等へも適用することができる。

なお、本発明の剤を利用した塗料は、ウイルス感染防除用途に限らず、抗菌塗料として使用することもできる。

[0027] なお、以上説明した態様は、本発明の一態様を示したものであって、本発明は、前記した実施形態に限定されるものではなく、本発明の目的および効果を達成できる範囲内での変形や改良が、本発明の内容に含まれるものであることは言うまでもない。また、本発明を実施する際における具体的な構造及び形状などは、本発明の目的および効果を達成できる範囲内において、他の構造や形状などとしても問題はない。

実施例

[0028] 製造例

カシュー・トレーディング（株）よりカシューナッツの殻500kgを入手し、圧搾することによりカシューナッツ殻油（非加熱CNSL）158kgを製造した。また、130℃で加熱処理することによりアナカルド酸をカルダノールに変換した加熱処理カシューナッツ殻油（加熱CNSL）を、カ

シュー・トレーディング（株）より入手した（コールドプレスオイル（インド産））。

CNSLの組成は以下の方法で測定した。すなわち、HPLC（Waters600、日本ウォーターズ（株））、検出機（Waters490E、日本ウォーターズ（株））、プリンタ（クロマトパックC-R6A、島津製作所）、カラム（SUPELCO SIL LC18、SUPELCO社）を用いた。アセトニトリル：水：酢酸が80：20：1（容量比）の溶媒を用い、流速は2ml／分とした。280nmの吸光度で検出した。

非加熱CNSLには、アナカルド酸が61.8質量%、カルダノールが8.2質量%、カルドールが19.9質量%、加熱CNSLには、アナカルド酸が0.0質量%、カルダノールが71.4質量%、カルドールが14.4質量%含まれていた。

[0029] 実施例

<検体の調製>

リン酸水素二ナトリウム・12水和物17.2gを脱イオン水に溶解し、500mlにメスアップして、これを溶液（1）とした。リン酸二水素ナトリウム・2水和物7.5gを脱イオン水に溶解し、500mlにメスアップして、これを溶液（2）とした。溶液（1）に溶液（2）を加えpHを7.2に調整して、これを溶液（3）とした。溶液（1）に非加熱CNSL0.2gを加え2N HClでpHを7.2に調整し、溶液（3）で100mlにメスアップし、検体として用いた（実施例1）。同様に加熱CNSL0.2gを溶液（1）に加えて2N HClでpHを7.2に調整し、溶液（3）で100mlにメスアップし、検体として用いた（実施例2）。

[0030] <インフルエンザウイルスに対する防除効果>

試験ウイルスにはインフルエンザウイルスA型（H1N1）ATCC VR-1682を用いた。細胞としてはMDCK（NBL-2）細胞 ATCC CCL-34株（大日本製薬株式会社）を用いた。

細胞増殖培地にはイーグルMEM培地「ニッスイ」（日水製薬株式会社）

に牛胎仔血清を10%加えたものを使用した。

細胞維持培地には以下の組成の培地を使用した。

[0031] イーグルMEM培地「ニッスイ」	1000 ml
10%NaHCO ₃	14 ml
L-グルタミン (30g/L)	9.8 ml
100×MEM用ビタミン液	30 ml
10%アルブミン	20 ml
0.25%トリプシン	20 ml

[0032] 細胞の培養には細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用フラスコ内に単層培養した。単層培養後にフラスコ内から細胞増殖培地を除き、試験ウイルスを接種した。次に細胞維持培地を加えて37℃の炭酸ガスインキュベーター(CO₂濃度:5%)内で1~5日間培養した。培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態を観察し、細胞に形態変化(細胞変性効果)が起きていることを確認した。次に、培養液を遠心分離(3000rpm、10分間)し、得られた上澄み液をウイルス浮遊液とした。

検体1mlにウイルス浮遊液0.1mlを添加・混合し、作用液とした。室温で作用させ、2時間後および6時間後に細胞維持培地を用いて1000倍に希釈した。なお、脱イオン水を対照として同様に試験し、開始時についても測定を行った。

細胞増殖培地を用い、使用細胞を組織培養用マイクロプレート(96穴)内で単層培養した後、細胞増殖培地を除き細胞維持培地を0.1mlずつ加えた。次に、1000倍希釈後の作用液および対照を、細胞維持培地を用いて10倍段階希釈した。その希釈液0.1mlを4穴ずつに接種し、37℃の炭酸ガスインキュベーター(CO₂濃度:5%)内で4~7日間培養した。培養後、倒立位相差顕微鏡を用いて細胞の形態変化(細胞変性効果)の有無を観察し、Reed-Muench法により50%組織培養感染量(TCID₅₀)を算出して作用液1ml当たりのウイルス感染価に換算した。

実施例1および実施例2によるインフルエンザウイルス感染価測定結果を

表 1 に示した。

[0033] [表1]

表 1 実施例 1 および実施例 2 のウイルス感染価測定結果

試験ウイルス	検体	log TCID ₅₀ /ml*		
		未処理	2 時間処理	6 時間処理
インフルエンザ ウイルス	実施例 1 (非加熱 CNS L)	7. 5	< 3. 5	< 3. 5
	実施例 2 (加熱 CNS L)	7. 5	< 3. 5	< 3. 5
	対照	7. 5	7. 7	7. 3

TCID₅₀: median tissue culture infection dose (50%組織培養感染量)

* 検体 1 ml 当たりの TCID₅₀ の対数値

< 3. 5 : 検出せず

[0034] 実施例 1 および実施例 2 について、強いインフルエンザウイルス不活性化効果が確認された。これらの結果より、本発明のウイルス感染防除剤が、インフルエンザウイルスの不活化に非常に有効であることが理解される。

[0035] <PRRSウイルスに対する防除効果>

供試培養細胞には MA-104 (アフリカミドリザル腎細胞) を用いた。被検物質には非加熱 CNS L 0.2% 溶液 (実施例 1)、および加熱 CNS L 0.2% 溶液 (実施例 2) を用いた。ウイルス株には PRRS 野外分離株 (3 型) を用いた。使用培地には DMEM (10% 非働化済み牛胎児血清、100 U/ml ペニシリン、100 U/ml ストレプトマイシン) を用いた。

[0036] ウイルス浮遊液の調製は以下の通り行った。細胞の培養は DMEM 培地で、使用細胞を組織培養用フラスコに単層培養した。単層培養したフラスコに、試験ウイルスを接種した。37℃ の炭酸ガスインキュベーター (CO₂: 5%) 内で 6 日間培養した。培養後、培養液を遠心分離 (3,000 rpm/min、10 分間) し、得られた上澄み液をウイルス浮遊液とした。

[0037] 上記ウイルスを含む上清 0.1 ml と、前述した非加熱 CNS L 0.2% (実施例 1) および加熱 CNS L 0.2% (実施例 2) 1 mL を混合し、室温で 0.5 および 2 時間感作させた。感作液を DMEM で 10、100 または 1,000 倍希釈後、原液または各希釈液を MA-104 株に感染させた。

。なお、1試験区につき2連で実施した。無添加区（対照）を同時に設定した。6日間の培養後、培養上清中のPRRSウイルス濃度をReal-time PCRで測定した。

[0038] [表2]

表2 実施例1および実施例2のウイルス感染価測定結果

試験ウイルス	対象	Log copies/mL ¹⁾	
		0.5時間	2時間
PRRS	実施例1（非加熱 CNSL）	1	1
	実施例2（加熱 CNSL）	1	1
	対照	8.4	NT

N.T.：実施せず

1) PRRSウイルスの試験液中の濃度 (copies/mL) の対数値

[0039] 実施例1および実施例2は、0.5および2時間後のPRRSウイルスのLog copies/mLが1となった。一方、対照区のLog copies/mLは0.5時間後で8.4と非常に高い値となった（表2）。この事より、実施例1と実施例2には、高いPRRSウイルス不活性化効果が確認された。

[0040] 供試培養細胞にはMA-104（アフリカミドリザル腎細胞）を用いた。被検物質には非加熱CNSL 25 ppm溶液（実施例3）を用いた。ウイルス株にはPRRS野外分離株（3型）を用いた。使用培地にはDMEM（10%非働化済み牛胎児血清、100 U/mLペニシリン、100 U/mLストレプトマイシン）を用いた。

ウイルス浮遊液の調製は以下の通り行った。細胞の培養はDMEM培地で、使用細胞を組織培養用フラスコに単層培養した。単層培養したフラスコに、試験ウイルスを接種した。37℃の炭酸ガスインキュベーター（CO₂：5%）内で6日間培養した。培養後、培養液を遠心分離（3,000 rpm/min、10分間）し、得られた上澄み液をウイルス浮遊液とした。

上記ウイルスを含む上清1 mLと、実施例1及び2と同様にして調製した非加熱CNSL 50 ppm溶液1 mLを混合して、終濃度25 ppmとし（

実施例3)、室温で2時間感作させた。感作液をDMEMで10、100または1,000倍希釈後、原液または各希釈液をMA-104株に感染させた。なお、1試験区につき3連で実施した。無添加区(対照)を同時に設定した。7日間の培養後、培養上清中のPRRSウイルス濃度をReal-time PCRで測定した。

[0041] [表3]

表3 実施例3のウイルス感染価測定結果

試験ウイルス	対象	Log copies/mL ¹⁾	
		0時間	2時間
PRRS	実施例3	9.1	<1
	対照	9.1	9.9

<1.: 検出限界以下

1) PRRSウイルスの試験液中の濃度
(copies/mL)の対数値

[0042] 実施例3は、2時間後のPRRSウイルスのLog copies/mLが<1となった。一方、対照区のLog copies/mLは2時間後で9.9と非常に高い値となった(表3)。この事より、実施例3には、高いPRRSウイルス不活性化効果が確認された。

産業上の利用可能性

[0043] 本発明のウイルス感染防除剤は、医薬品および飼料の分野で有用である。

請求の範囲

- [請求項1] 非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉碎物から選択される1つ以上を含有することを特徴とするウイルス感染防除剤。
- [請求項2] ウイルスがインフルエンザウイルス、ヘルペスウイルス、アルテリウイルス、アフトウイルス、ニューカッスル病ウイルス、コロナウイルス、ロタウイルス、またはノロウイルスである、請求項1記載のウイルス感染防除剤。
- [請求項3] 請求項1または2に記載のウイルス感染防除剤を含むことを特徴とする、飼料添加剤。
- [請求項4] 請求項3記載の飼料添加剤を含むことを特徴とする、飼料。
- [請求項5] 反芻動物、豚、家禽、馬、またはペット用である、請求項4記載の飼料。
- [請求項6] 請求項4または5に記載の飼料を摂取させることを特徴とする飼育方法。
- [請求項7] 非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよびカシューナッツ殻粉碎物から選択される1つ以上を動物に投与する工程を含む、動物におけるウイルス感染防除方法。
- [請求項8] 動物におけるウイルス感染防除のための、非加熱カシューナッツ殻油、加熱カシューナッツ殻油、アナカルド酸、カルダノール、カルドールおよび／またはカシューナッツ殻粉碎物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/079161

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/18(2006.01)i, A23K1/16(2006.01)i, A61K31/05(2006.01)i, A61K31/60(2006.01)i, A61P31/16(2006.01)i, A61P31/22(2006.01)i

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)

A61K36/18, A23K1/16, A61K31/05, A61K31/60, A61P31/16, A61P31/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN),
JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 6-56657 A (Tonen Corp.), 01 March 1994 (01.03.1994), claims; paragraph [0024]; paragraph [0039], table 2 (Family: none)	1, 8 2
X Y	JP 2-101036 A (Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.), 12 April 1990 (12.04.1990), claims; column 4, 1st to 3rd paragraphs; table 1, compounds 9, 11 (Family: none)	1, 8 2



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
24 January, 2013 (24.01.13)

Date of mailing of the international search report
05 February, 2013 (05.02.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/079161

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/013592 A1 (Idemitsu Kosan Co., Ltd.), 03 February 2011 (03.02.2011), claims & EP 2460415 A1 & CN 102469809 A & KR 10-2012-0051725 A	3-6, 8
X	JP 8-231410 A (Takasago International Corp.), 10 September 1996 (10.09.1996), claims; examples & US 5725894 A	3-6, 8
Y	J. Agric. Food Chem., 2001, Vol.49, pp.2548- 2551, Fig.1,3	2
Y	JP 5-117150 A (Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd.), 14 May 1993 (14.05.1993), claims; paragraph [0013] & EP 539180 A1	2
Y	JP 6-80583 A (Farmitalia Carlo Erba S.r.l.), 22 March 1994 (22.03.1994), claims & US 5288704 A & EP 497341 A3	2
Y	JP 2011-500830 A (Functional Genetics, Inc.), 06 January 2011 (06.01.2011), claims & US 2009/0170890 A1 & EP 2207801 A & WO 2009/055524 A1	2
Y	J. Nat. Med., 2011.07, Vol.66, pp.133-139, Title, abstract, fig. 2	2
Y	Arch. Virol., 1999, Vol.144, pp.1191-1200, Title, abstract, each figure	2
Y	J. Neuroimmunol., 1996, Vol.68, pp.101-108, Title, abstract, each figure	2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/079161

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.: 7
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 7 involves the inventions relating to method for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy and diagnostic method for the same.
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:

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.:

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/JP2012/079161

The embodiment that is confirmed actually in the description of the present application is only a virus control activity of a cashew nut shell oil against an influenza virus or a PRRS virus, and (i) this result does not necessarily demonstrate that any component containing the above-mentioned shell oil exhibits the above-mentioned control activity and it cannot be considered that the description discloses that anacardic acid, cardol and cardanol, which are the above-mentioned components, exhibit the above-mentioned control activity.

Further, (ii) the mechanisms of proliferation of viruses are of course different among types of the viruses, and therefore it cannot be considered that the above-mentioned control activity can also be exhibited on a herpes virus or the like which has DNA as gene information.

In conclusion, on account of the reason stated above in (i) and (ii), it is not considered that the inventions set forth in these claims are supported by the description within the meaning of PCT Article 6, and furthermore, it is also not considered that the inventions set forth in claims is disclosed in the description to an extent such that a person skilled in the art can execute within the meaning of PCT Article 5, and therefore, this international search has been carried out within the range supported by the description.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/18(2006.01)i, A23K1/16(2006.01)i, A61K31/05(2006.01)i, A61K31/60(2006.01)i,
A61P31/16(2006.01)i, A61P31/22(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/18, A23K1/16, A61K31/05, A61K31/60, A61P31/16, A61P31/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 3 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 3 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 3 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	JP 6-56657 A (東燃株式会社) 1994.03.01, 特許請求の範囲、【0024】、【0039】表2 (ファミリーなし)	1, 8 2
X Y	JP 2-101036 A (山之内製薬株式会社) 1990.04.12, 特許請求の範囲、第4欄第1-3段落、表1化合物9, 11 (ファミリーなし)	1, 8 2
X	WO 2011/013592 A1 (出光興産株式会社) 2011.02.03, 特許請求の範囲 & EP 2460415 A1 & CN 102469809 A & KR 10-2012-0051725 A	3-6, 8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 4 . 0 1 . 2 0 1 3

国際調査報告の発送日

0 5 . 0 2 . 2 0 1 3

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 理文

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 3 9

4 U

4 4 3 1

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 8-231410 A (高砂香料工業株式会社) 1996.09.10, 特許請求の範囲、実施例 & US 5725894 A	3 - 6, 8
Y	J. Agric. Food Chem., 2001, Vol.49, pp.2548-2551, Fig.1,3	2
Y	JP 5-117150 A (株式会社三和化学研究所) 1993.05.14, 特許請求の範囲、【0013】 & EP 539180 A1	2
Y	JP 6-80583 A (ファルミタリア・カルロ・エルバ・エッセ・エルレ・エルレ) 1994.03.22, 特許請求の範囲 & US 5288704 A & EP 497341 A3	2
Y	JP 2011-500830 A (ファンクショナル・ジェネティクス・インコーポレーテッド) 2011.01.06, 特許請求の範囲 & US 2009/0170890 A1 & EP 2207801 A & WO 2009/055524 A1	2
Y	J. Nat. Med., 2011.07, Vol.66, pp.133-139, 標題、要約、Fig.2	2
Y	Arch. Virol., 1999, Vol.144, pp.1191-1200, 標題、要約、各 Fig	2
Y	J. Neuroimmunol., 1996, Vol.68, pp.101-108, 標題、要約、各 Fig	2

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（P C T 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 7 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
この請求項は、手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法及び人体又は動物の体の診断方法に係る発明を包含するものである。
2. ☐ 請求項 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 は、従属請求の範囲であってP C T 規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

本願明細書において実際に確認された態様は、カシューナッツ殻油の、インフルエンザウイルスまたは PRRS ウイルスに対するウイルス防除作用のみであり、(i) 当該結果により、上記殻油の含有成分であれば必ず上記防除作用が奏されることが示されることにはならず、該含有成分の一種であるアナカルド酸やカルドール、カルダノールにより該防除作用を奏することが示されているとは認められない。

また、(ii) ウイルスの増殖機構は種により当然異なるのであるから、上記したものとは異なり、例えば遺伝情報として DNA を有するヘルペスウイルスのようなものに対しても、同じく上記防除作用を奏するとは認められない。

したがって、上記 (i) (ii) の理由により、これらの請求項に記載の発明は、条約第 6 条の意味において明細書に裏付けがされているとも、また、条約第 5 条の意味において明細書に当業者が実施できる程度の開示がなされているとも、何れも認められないため、明細書に裏付けられている範囲において、国際調査を行った。