

(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2008-505901

(P2008-505901A)

(43) 公表日 平成20年2月28日 (2008. 2. 28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/353 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 31/353	4 C 0 5 8
<b>A 6 1 K 36/18 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 35/78 C	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 36/00 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 35/78 X	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 P 31/14 (2006. 01)</b>	A 6 1 P 31/14	4 C 0 8 8
<b>A 6 1 K 9/14 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 9/14	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 14 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-520384 (P2007-520384)	(71) 出願人	303044712
(86) (22) 出願日	平成17年7月5日 (2005. 7. 5)		三井農林株式会社
(85) 翻訳文提出日	平成19年2月28日 (2007. 2. 28)		東京都港区西新橋一丁目2番9号
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/023351	(74) 代理人	100062007
(87) 国際公開番号	W02006/083318		弁理士 川口 義雄
(87) 国際公開日	平成18年8月10日 (2006. 8. 10)	(74) 代理人	100114188
(31) 優先権主張番号	60/586, 261		弁理士 小野 誠
(32) 優先日	平成16年7月7日 (2004. 7. 7)	(74) 代理人	100140523
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 渡邊 千尋
		(74) 代理人	100119253
			弁理士 金山 賢敦
		(74) 代理人	100103920
			弁理士 大崎 勝真
		(74) 代理人	100124855
			弁理士 坪倉 道明
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 耐久性のある殺生物剤および消毒剤

## (57) 【要約】

企図される組成物および方法は、製剤が表面に適用された場合に、少なくとも210g 10単位、SARSを不活化するのに有効な濃度でカテキンを含む。好ましくは、カテキンは、複合混合物として、最も好ましくは緑茶由来の近天然のカテキン調製物として提供される。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

カテキン調製物を含む組成物と表面を接触させる工程を含む、表面上の感染性 S A R S ウイルスの数を減少させる方法であって、カテキン調製物が、少なくとも  $2 \log_{10}$  単位、感染性 S A R S ウイルスの数を減少させるのに有効な濃度で存在する方法。

**【請求項 2】**

表面が、非ヒト動物に接する構造の表面である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

動物に接する構造が、ケージまたは畜舎である、請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

表面が、動物の表面である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

カテキン調製物が、エステル化カテキンおよびガロイルカテキンのうちの少なくとも一つを主に含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 6】**

カテキン調製物が、緑茶抽出物、緑茶抽出物粉末、および緑茶濃縮物からなる群より選択される成分を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 7】**

表面を接触させる工程が、カテキン調製物を表面に噴霧することを含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

カテキン調製物が、少なくとも  $3.5 \log_{10}$  単位、感染性 S A R S ウイルスの数を減少させるのに有効な濃度で存在する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 9】**

緑茶由来の近天然のカテキン調製物を含む組成物とウイルス担体を接触させることを含む、エキスピボの S A R S ウイルスの蔓延を減少させる方法であって、カテキン調製物が、少なくとも  $2 \log_{10}$  単位、S A R S を不活化する濃度で存在する方法。

**【請求項 10】**

近天然のカテキン調製物が、緑茶抽出物、緑茶抽出物粉末、および緑茶濃縮物からなる群より選択される、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 11】**

カテキン調製物が、少なくとも  $3.5 \log_{10}$  単位、S A R S を不活化する濃度で存在する、請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

ウイルス担体が動物であり、および担体を接触させる工程が、カテキン調製物を動物に噴霧することを含む、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 13】**

ウイルス担体が、動物に接する表面である、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 14】**

ウイルス担体が、S A R S ウイルスに感染したヒトに以前に曝された表面である、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 15】**

ウイルス担体が、寝具表面、衣服表面、および医療機器表面からなる群より選択される、請求項 14 に記載の方法。

**【請求項 16】**

製剤が表面に適用された場合に、少なくとも  $2 \log_{10}$  単位、S A R S を不活化するのに有効な濃度でカテキンを含む液体または粉末の製剤、および製剤を表面に適用し、これにより表面上の感染性 S A R S ウイルスの数を減少させるための説明書を含むキット。

**【請求項 17】**

製剤が、粉末製剤である、請求項 16 に記載のキット。

10

20

30

40

50

## 【請求項 18】

カテキンが、カテキン混合物の一部として製剤中に存在する、請求項 16 に記載のキット。

## 【請求項 19】

カテキン混合物が、緑茶抽出物、緑茶抽出物粉末、および緑茶濃縮物からなる群より選択される、請求項 18 に記載のキット。

## 【請求項 20】

カテキンが、少なくとも  $3.5 \log_{10}$  単位、SARS を不活化するのに有効な濃度で存在する、請求項 16 に記載のキット。

## 【発明の詳細な説明】

10

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明の領域は、抗ウイルス性の組成物および方法である。

## 【背景技術】

## 【0002】

ウイルス性疾患は、しばしば、ヒトからヒトへの飛沫伝染を介して直接的に、または多様な方式でウイルスを伝達する動物宿主を介して間接的に、蔓延する。多数の殺ウイルス組成物が当技術分野において既知であるが、これらの大部分が一つ以上の短所を有している。特に著しくは、多くの合成化合物が、極めて高価である傾向があり、しばしば、ウイルスを不活化するかまたはウイルス伝播を中止するためには細胞への取り込みを必要とする。さらに、合成化合物が局所適用される場合には特に、公知の化合物は化学的に攻撃性である傾向がある。

20

## 【0003】

または、一つ以上の植物から単離された天然化合物が、抗ウイルス剤として利用され得る。例えば、様々なアントラキノン、およびヒペリシンのようなアントラキノン誘導体は、特に穏和な界面活性剤の存在下で、ある種のウイルスに対して有効であることが証明された（例えば、Antiviral Res. 1991 Sep; 16(2): 185-96 参照）。このような組成物は、ある種のウイルス（例えば、水疱性口内炎ウイルス、単純ヘルペス 1 型および 2 型）に対する有意な効果を示したが、他のウイルス（例えば、ヒトライノウイルス）に対しては実質的に無効であった。この他の公知の適用においては、ヤシモト (Yashimoto) らの米国特許第 5,747,053 号および第 5,888,527 号に記載されているように、固相材料に様々な植物抽出物（例えば、緑茶カテキン）が含浸させられた。緑茶カテキンによりコーティングされたこの他のアイテム（例えば、含嗽用カップ）が、GB 2300578 においてハラ (Hara) により記載され、有機緑茶抽出物を含浸させられた衛生用品が、EP 1133999 においてマツタカ (Matsutaka) により教示されている。やはり、このような植物抽出物は、様々な含浸物品において有意なウイルス阻害を示したが、このような材料の使用は含浸に限定されていた。さらに、このような製剤の抗ウイルス効果は、しばしば一定でなく、特異性が予測不可能である。緑茶抽出物を含む植物抽出物のさらなる既知の局所適用において、抗菌および/または抗真菌効果が、米国特許出願第 2003/0086986 号において報告された。しかしながら、これらの製剤は、抗ウイルス活性を有することは報告されなかった。

30

40

## 【0004】

標的ウイルスが急速に蔓延するウイルスである場合、特に、信頼性のある有意な抗ウイルス組成物が望ましい。一つのこのような例は、ヒトを感染させるエンベロープを有する RNA ウイルスである SARS コロナウイルス (SARSCoV) である。感染したヒトは、典型的には、呼吸器症状および筋肉痛を伴う特徴的な発熱性疾病を提示し、多くの患者が数日以内に回復する。しかしながら、有意な割合が進行して非定型肺炎を発症、致死率が約 15% であると推測される重症急性呼吸器症候群 (SARS) として知られる急性呼吸器疾患が累積されている

50

## 【 0 0 0 5 】

SARSは、2002年11月に中国南部において一疾患として出現したが、世界中の30を超える国へと急速に蔓延した。流行は現在は沈静化しているが、800件以上の死亡を含む全部でほぼ8500の症例が記録された。SARSCoVは、主として、呼吸器系分泌物の曝露により伝染する。SARSCoVは、野生動物または家畜を天然に感染させるウイルスに由来した可能性が最も高い。従って、根絶は困難であり、動物貯蔵所からの周期的な「再出現」の可能性がある。SARSCoVに関する詳細なさらなる情報については、(Flying publisherによる)「Kamps - Hoffmann SARS reference」を参照のこと。さらに、ヒトへのSARSCoVの適応が、疾患の異なるパターンまたはより高い頻度をもたらすかもしれない、従って、材料、動物、およびヒトに適用され得る、安全で、非毒性で、および有効な殺ウイルス製剤は現在のところ知られていないため、警戒が勧告されている。

10

## 【 発明の開示 】

## 【 発明が解決しようとする課題 】

## 【 0 0 0 6 】

このように、抗ウイルス活性を有する多数の組成物および方法が当分野において公知であるが、これらの全てまたはほぼ全てが、一つ以上の短所を有している。従って、SARSCoVに対して有効な抗ウイルス組成物、特に局所的な抗ウイルス製剤のための改良された組成物および方法を提供する必要がある、依然として存在している。

## 【 課題を解決するための手段 】

20

## 【 0 0 0 7 】

本発明は、植物由来材料を殺ウイルス成分として使用した、様々なウイルス、特にSARSCoVの不活化のための組成物および方法に関する。最も好ましくは、植物由来材料は、一つ以上のカテキン、特に緑茶調製物を含む。

## 【 0 0 0 8 】

従って、本発明の主題の一つの態様において、表面上の感染性SARSウイルスの数を減少させる方法は、カテキン調製物を含む組成物と表面を接触させる工程を有し、このカテキン調製物は、少なくとも $2 \log_{10}$ 単位、より好ましくは少なくとも $3.5 \log_{10}$ 単位、感染性SARSウイルスの数を減少させるのに有効な濃度で存在する。

## 【 0 0 0 9 】

30

異なる観点から考察して、エキスピボのSARSウイルスの蔓延を減少させる方法は、緑茶由来の近天然のカテキン調製物を含む組成物とウイルス担体を接触させる工程を含み得、このカテキン調製物は、好ましくは、少なくとも $2 \log_{10}$ 単位、より好ましくは少なくとも $3.5 \log_{10}$ 単位、SARSを不活化する濃度で組成物中に存在する。処理される表面には、特に、非ヒト動物に接するもの（例えば、ケージもしくは畜舎）および/または動物の体表面の少なくとも一部（例えば、皮膚、羽毛、毛髪等）が含まれる。さらに好ましい態様において、カテキン調製物は、緑茶から調製され、最も好ましくは、緑茶抽出物、緑茶抽出物粉末、および/または緑茶濃縮物である。特定の製剤によって、調製物は、様々な様式で投与され得る。しかしながら、一般的には、調製物は、スプレーとして、ワイプ上の液体として、または粉末として適用されることが好ましい。

40

## 【 0 0 1 0 】

従って、表面に適用された場合に、少なくとも $2 \log_{10}$ 単位（より好ましくは少なくとも $3.5 \log_{10}$ 単位）SARSを不活化するのに有効な濃度でカテキンを有する液体または粉末の製剤を含むキットが企図される。企図されるキットは、表面に製剤を適用し、これにより表面上の感染性SARSウイルスの数を減少させるための説明書をさらに含むであろう。

## 【 0 0 1 1 】

本発明の様々な目的、特色、面、および利点は、以下の本発明の好ましい実施態様の詳細な説明から、より明白になるであろう。

## 【 発明を実施するための最良の形態 】

50

## 【 0 0 1 2 】

本発明者らは、様々なカテキン、特に緑茶カテキンが、エクスピボのSARS（重症急性呼吸器症候群）ウイルスの感染性を減少させる薬剤として有効に使用され得ることを発見した。注目すべきことに、本発明者らは、ウイルスが、宿主生物に侵入する前に、液中および／または固相上のカテキンに曝される場合、カテキンが様々なウイルス、特にSARSウイルスに対して抗ウイルス効果を示すことを発見した。

## 【 0 0 1 3 】

従って、本発明の主題の一つの態様において、本発明者は、表面上の感染性SARSウイルスの数を減少させる方法を企図する。このような方法においては、少なくとも $2 \log_{10}$ 単位、より好ましくは少なくとも $3 \cdot 5 \log_{10}$ 単位、感染性SARSウイルスの数を減少させるのに有効な濃度で存在するカテキン調製物を含む組成物と、表面が接触させられることが、一般に好ましい。

10

## 【 0 0 1 4 】

企図される表面に関して、本発明の主題は、何らかの表面に制限されず、SARSウイルスに曝されており接触する可能性があるか、またはSARSウイルスを含有している表面であれば、全ての表面が適切であると見なされることが認識されるべきである。例えば、多数の適切な表面の中でも特に好ましい表面には、非ヒト動物、最も典型的にはペットまたは食品源として使用される動物に接するものが含まれる。従って、動物を少なくとも一時的に誘導および／または保持するのに適している全ての構造（例えば、ケージ、畜舎、鎖、フェンス等）が、特に企図される。さらに、特に、多数の動物が比較的高密度で維持される場合には（例えば、厩舎、市場、屠殺場等）、カテキン調製物が動物の表面にも適用され得ることが企図される。例えば、カテキン調製物が動物へ噴霧されてもよいし、または動物がカテキン調製物を含有している溶液に少なくとも部分的に浸漬されてもよい。

20

## 【 0 0 1 5 】

好ましくは、カテキン調製物は、エステル化カテキンおよびガロイル含有カテキンのうちの少なくとも一つを含み、さらに好ましくは、（場合によっては遊離カテキンも含む）このようなカテキンの混合物を含む。例えば、適切なカテキン調製物は、（-）-カテキンガラート、（-）-エピカテキンガラート、（-）-エピガロカテキンガラート、（-）-ガロカテキンガラート、遊離テアフラビン（Theaflavin）、およびテアフラビンジガラート（Theaflavindigallate）のうちの一つ以上を含み得る。従って、多数の好ましいカテキン調製物の中でも特に、複合抽出物（例えば、三井農林（Mitsui Norin）製のポリフェノン（Polyphenon）-70A、ポリフェノン-E、ポリフェノン-60、ポリフェノン-70）が企図される。さらなる適切な化合物には、没食子酸およびタンニン酸を含むタンニンが含まれる。さらに好ましい態様において、カテキン調製物には、緑茶抽出物（典型的には、溶媒抽出物もしくはCO<sub>2</sub>抽出物）、緑茶抽出物粉末（例えば、凍結乾燥された抽出物もしくは噴霧乾燥された緑茶）、および／または典型的には溶媒、最も典型的には水を含む（が必ずしもこうではない）緑茶濃縮物も含まれ得る。本発明の主題のさらなる企図される態様において、カテキンまたはカテキン混合物は、場合によっては、カテキンでコーティングされるかまたはカテキンを含む表面の吸湿特性を促進する付加的な炭水化物部分を含むであろう。従って、直接的な抗ウイルス作用は、カテキンが、処理された表面上にウイルスを保持する、粘着性増強効果にもよるのかもしれない。

30

40

## 【 0 0 1 6 】

従って、最も好ましい態様において、カテキン調製物は、処理が必要な表面へ噴霧または散布されるであろう。特定の製剤によって、カテキンの濃度は、少なくとも $2 \log_{10}$ 単位、より好ましくは少なくとも $3 \cdot 0 \log_{10}$ 単位、最も好ましくは少なくとも $3 \cdot 5 \log_{10}$ 単位、SARSを不活化するのに十分なものであることが一般に好ましい。従って、カテキンは、約 $0 \cdot 01 \mu M$ （またはこれ以下、例えば、製剤が表面に繰り返し適用される場合）から約 $1 \cdot 0 mM$ （またはこれ以上、例えば、製剤が濃縮物である場

50

合)の間の濃度で製剤中に存在するであろう。しかしながら、より典型的には、カテキン濃度は、好ましくは、約 $0.1\mu\text{M}$ から約 $100\mu\text{M}$ の間であろう。好ましい製剤に関して、カテキン調製物は、混和性であるかまたは乳濁物、多相、リボソーム等を形成し得る一つ以上の溶媒(例えば、水、有機溶媒[例えば、エタノール、DMSO等]、並びにこれらの全ての合理的な組み合わせ)を含み得ることが企図される。さらに企図される成分には、特に、陰イオン性界面活性剤、陽イオン性界面活性剤、および中性界面活性剤が含まれる。従って、適切な調製物は、粉末、スプレー、ソープ、またはシャンプーとして製剤化され得、表面に直接および/または水と共に適用され得る。

#### 【0017】

もう一つの観点から考察して、本発明者は、緑茶由来の近天然のカテキン調製物を含む組成物と、ウイルス担体が接触させられる、エクスピボのSARSウイルスの蔓延を減少させる方法も企図する。最も好ましくは、近天然のカテキン調製物は、少なくとも $2\log_{10}$ 単位、より好ましくは少なくとも $3.0\log_{10}$ 単位、最も好ましくは少なくとも $3.5\log_{10}$ 単位、SARSを不活化する濃度で存在する。「緑茶由来の近天然のカテキン調製物」という用語は、本明細書において使用されるように、調製物が形成されるよう、煎じられた緑茶および/または緑茶葉が、最小限に加工された(即ち、少なくとも部分的に脱水され、および/または圧搾もしくは浸軟され、この後、調製物中のカテキンを濃縮するために溶媒抽出されてもよい)調製物をさす。特に好ましい近天然のカテキン調製物には、各々、一つ以上の溶媒を含んでいてもよいし、または含んでいなくてもよい、緑茶抽出物、緑茶抽出物粉末、緑茶濃縮物が含まれる。

10

20

#### 【0018】

企図される組成物を使用したこのような方法において処理される表面に関しては、上に提供されたのと同様の考慮が当てはまる。従って、表面は、動物、または動物に接する表面(例えば、ケージ、レール、畜舎等)であるかもしれないし、および/またはSARSウイルスに感染したヒトに以前に曝された表面(例えば、寝具表面、衣服表面、医療機器等)であるかもしれないウイルス担体であることが一般に好ましい。

#### 【0019】

従って、本発明者は、製剤が表面に適用された場合に、少なくとも $2\log_{10}$ 単位、より好ましくは少なくとも $3.0\log_{10}$ 単位、最も好ましくは少なくとも $3.5\log_{10}$ 単位、SARSを不活化するのに有効な濃度でカテキンを含む液体(例えば、スプレーもしくはエアロゾル)または粉末の製剤を含むキットも企図する。典型的には、製剤を表面に適用し、これにより表面上の感染性SARSウイルスの数を減少させるための説明書が、製剤に添付される。典型的には、説明書は、製剤が収められた容器上の印刷物として提供されるが、独立の、印刷された情報(例えば、ちらし、新聞広告等)または表示された情報(例えば、テレビもしくはインターネット上の広告)として提供されてもよい。

30

#### 【0020】

企図される組成物は、ウイルスの感染性を減少させると考えられ、感染性の減少は必ずしもウイルス数の減少によらなくてもよいことが認識されるべきである。例えば、仮説の理論に拘束されることは望まないが、本発明者は、カテキンが、ウイルスの感染性を減少させるようウイルス(特に、ウイルスコート)と相互作用するのかもしれないことを企図する。多数の企図されるメカニズムの中でも特に、感染性の減少は、ウイルスコートのコンフォメーション変化、ウイルスドッキングタンパク質との立体的相互作用、カテキンによるウイルスの非特異的なコーティング等によるのかもしれない。このような発見は、参照により本明細書に組み込まれるHealth Devices 2003 Jun 3 2(6)220-2に例証的に記載されているようなSARSに関連した多数の問題を考慮すると特に重要である。

40

#### 【0021】

特定の使用によって、カテキンは表面上に配置され得、従って、カテキン-ウイルス相互作用は固相上またはこの付近で起こるであろう。このような固相相互作用は、固相がウ

50

ウイルスで汚染されている多数の適用において特に望ましい。実際、全ての媒介物が、本発明において企図される。しかしながら、特に企図される固相は、ウイルス源と直接接触する材料（の一部）であろう。例えば、患者および／または介護者の衣服、防御服、または医療機器が、ウイルス源と直接接触する材料と見なされる。または、企図される固相には、ウイルス源に間接的に曝される材料が含まれることも企図される。このような固相には、患者（例えば、咳もしくはくしゃみを介して）もしくはこの他のウイルス源（例えば、廃棄材料、空気中の塵等）からエアロゾル状態で、（例えば、生物学的液体から）液状で、または間接伝染のこの他の様式で、ウイルスを受容するものが含まれる。従って、特に企図される固相には、衣服、寝具、使い捨てのカバー、医療用具、エアフィルターおよびエアダクト、人工呼吸器、マスク等が含まれ、患者および／またはウイルス担体が収容された部屋または建物の壁、床、天井、シェード、およびこの他の構成要素すら含まれる。

10

#### 【0022】

他方、カテキンが溶媒中に配置され得、従って、カテキン - ウイルス相互作用が液相中で起こるであろうことも企図される。例えば、特に適切な溶媒には、水性溶媒が含まれ、これは、安定剤、静菌剤、および／または抗ウイルス剤をさらに含み得る。例えば、カテキンまたはカテキン混合物が溶媒に溶解または分散させられ、次いで、これが、ウイルスに曝された表面、曝されている表面、または曝されるであろう表面へとエアロゾル化される（または、この他の様式で液相で適用される）ことが、特に好ましい。ウイルスにより汚染された表面を消毒すべき場合、またはウイルスがある場所に導入された際のウイルスの蔓延を減少させるため、この場所が予めカテキンに曝される場合、このような液相適用は特に望ましい。

20

#### 【0023】

例えば、カテキン溶液は、ハンドウォッシュ、スプレー、界面活性剤、またはこの他の表面の除染のための洗浄液もしくはリンス液において利用され得ることが、企図される（例えば、カテキン溶液は、ファブリックをコーティングするための洗濯過程の最終サイクルの間に添加され、これにより、残存するウイルスの感染性を減少させ、また残存するカテキンでファブリックをコーティングし得る）。他方、カテキンは、空気中のウイルスの感染性を減少させるため、気化器、霧吹き、加湿機、またはこの他の機器（局所またはエアコンを介した建物全体）においても使用され得る（例えば、通常消毒が到達可能でない内部の配管および間隙を含む建物の表面をコーティングするため、エアロゾルとして建物へ導入され、次いで、空気を移動させることにより循環させられ得る）。

30

#### 【0024】

さらに、企図される組成物および方法は、部屋または患者の処理に制限される必要はなく、動物の飼育施設においても特に有用であり得ることが認識されるべきである。例えば、ウイルスが中間宿主（例えば、トリ、ブタ、またはこの他の家畜）を有する場合、カテキンは、ウイルスが中間宿主からヒトへと移動する前に、ウイルスの蔓延を根絶まではしないまでも減少させるために使用され得ることが企図される。従って、SARSウイルスの感染性の減少が特に企図されるが、この他の病原体も含まれる。例えば、企図される病原体には、空気中のウイルス、細菌、および胞子、並びにこのような病原体のエアロゾルおよびこの他の伝染可能な形態が含まれる。

40

#### 【実施例】

#### 【0025】

SARS（トロント（Toronto） - 2株）に感染した細胞における様々なカテキンの細胞保護効果および生存率に対する影響

#### 【0026】

細胞生存率は、プロメガ（Promega）製のセルタイター - グロ発光細胞生存率アッセイ（Cell Titer - Glo Luminescent Cell Viability Assay）を使用して試験された。同様に、示された濃度におけるウイルス感染の%阻害（%CPE）は、当分野において公知のように、実質的に下記のようにして、測定された。

50

## 【0027】

ベロ (Vero) 76 細胞を、50  $\mu$ l の DMEM (5% FBS、L-グルタミン酸、培地はフェノールレッドを含有してはならない) で、10,000 細胞/ウェルで、バーコード付きプレートに播種した。細胞を、5% CO<sub>2</sub> で 37 で一夜付着させた。25  $\mu$ l のカテキン溶液 (下記参照) を細胞に添加し、DMEM (5% FBS L-glut P/S (フェノールレッドなし)) をウェルにさらに添加した。この後、25  $\mu$ l の希釈されたウイルス (DMEM 5% FBS L-glut P/S によるトロント-2 ウイルスの約 1:500 希釈物) を、ウェルに添加した。細胞を、ウイルスおよびカテキンと共に、37 で 72 時間インキュベートした。次いで、プレートをインキュベーターから取り出し、30 分間室温に戻した。100  $\mu$ l の GLO 試薬を各ウェルに添加し、プレートをプレートシェーカー上で 2 分間振とうした。次いで、プレートを 10 分間フード下に置いた。次いで、シグナル取得を、エンビジョン (Envision) プレートリーダーにおいて標準的なプロトコルを使用して実施した。

10

## 【0028】

下記より明らかなように、多数の試験されたカテキンが、SARS ウイルスに対する細胞保護効果を有していた。さらに、試験されたカテキンのほぼ全てが、カテキンと接触させられた際の明白な細胞障害性を示さなかった。注目すべきことに、エステル化カテキンおよび/またはガロイル含有カテキン [例えば、(-) - エピカテキンガラート、(-) - エピガロカテキンガラート、(-) - ガロカテキンガラート] のみならず、遊離カテキン [例えば、(+) - カテキン、(+) - ガロカテキン、(-) - エピカテキン、(-) - エピガロカテキン] も、アッセイにおいて細胞保護効果を有していた。濃度についてのデータは、カテキン濃度が不十分であるかもしれないことを示さなかったため、試験された比較的低い濃度におけるカテキンの細胞保護効果は、特に注目すべきである。従って、抗ウイルス濃度を、有意に低くすることができ (例えば、0.1 から 1  $\mu$ M、0.01 から 0.1  $\mu$ M、またはさらにこれより低く)、これでもなお、少なくともいくつかの抗ウイルス効果を提供し得ることが企図される。

20

## 【0029】

対照的に、IFN - ベータ (インターフェロン - ベータ) 対照インキュベーションは、50 国際単位 (IU) の濃度では細胞保護効果を実質的に提供せず、50 IU の濃度で少なくともいくつかの細胞保護効果を示した。しかしながら、IFN - ベータは、アッセイ中に細胞増殖も刺激したため、細胞保護効果の正確な程度は確認するのが困難である。例示的なエステル化カテキンまたはガロイル含有カテキンについての結果を表 1 に列挙し、遊離カテキンについての結果を表 2 に列挙する。30 未満の % CPE 値を不活性と表示した。

30

## 【0030】



【表 1】

表 1

化合物	試験群および対象 ( I F N - ベータ )	% C P E ( 阻害 )	%細胞 生存率	濃度 ( $\mu$ M または I U )	活性
( - ) - カテキン ガラート	CG	100	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
( - ) - E ビ カテキン ガラート	ECG	100	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
( - ) - E ビ カ ロカテキン ガラート	EGCG	100	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
( - ) - カ ロカテキン ガラート	GCG	100	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
遊離テアフラビン	TF	53.27	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
ポリフェノン - 70 A	P70A	100	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
ポリフェノン - E	PE	100	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
テアフラビンジガラート	TFDG	100	100	1	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性

【 0 0 3 1 】

【表 2】

表 2

化合物	試験化合物および対象 ( I F N - ベータ )	% C P E ( 阻害 )	%細胞 生存率	濃度 ( $\mu$ M または I U )	活性
( - ) - カテキン	( - ) C	0	100	1	不活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
( + ) - カテキン	( + ) C	8.17	100	1	不活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^+$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
( - ) - E ビ カ ロカテキン	EGC	25.82	100	1	不活性

	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
(-)- $\alpha$ - $\beta$ カテキン	-EC	<b>6.21</b>	<b>70.07</b>	1	不活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
(+)- $\alpha$ - $\beta$ カテキン	+EC	<b>12.09</b>	<b>100</b>	1	不活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
(-)- $\alpha$ - $\beta$ カテキン	-GC	<b>0</b>	<b>100</b>	1	不活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
(+)- $\alpha$ - $\beta$ カテキン	+GC	<b>6.21</b>	<b>37.41</b>	1	不活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
テアラビ $\alpha$ ノジ $\alpha$ ラート-A	TFDG-A	<b>15.03</b>	<b>100</b>	1	不活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性
テアラビ $\alpha$ ノジ $\alpha$ ラート-B	TFDG-B	<b>6.21</b>	<b>100</b>	1	不活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	378	313.95	500	活性
	IFN- $\alpha^*$ - $\gamma$	-2.61	265.99	50	不活性

10

20

## 【0032】

SAR (ウルバーニ (Urban) 株) に対する様々な複合組成物の不活化効果

## 【0033】

少なくとも一部分は宿主細胞による間接抗ウイルス効果を、直接殺ウイルス効果 (即ち、宿主細胞非依存的なウイルスの不活化) から区別するため、SARSウイルスを、様々なカテキン含有調製物と共にプレインキュベートした。次いで、実質的に下記のようにして、前処理されたウイルスを、細胞に添加した。

## 【0034】

SARSCoVウルバーニ株を、疾病管理センター (Centers for Disease Control) (CDC, Atlanta GA) から入手し、ペロ76細胞 (American Type Culture Collection, Manassas, VA) において増殖させた。細胞を、5%ウシ胎仔血清 (Hyclone Laboratories, Logan, UT) を含有しているMEMで継代した。ウイルス滴定を行う際には、ゲンタマイシンを50  $\mu$ g/mlまで添加し、血清を2%に減少させた。多様なカテキン含有調製物を、東京 (日本) の三井農林株式会社 (Mitsui Norm Co., Ltd.) のハラユキヒコ博士 (Dr. Yukihiro Hara) から入手し、以下のように細胞-ウイルス混合物へと添加した。

30

## 【0035】

180  $\mu$ lの (適切な溶媒で可溶化された、または調製済みの液体としての) カテキン含有調製物に、 $10^4 \sim 5$  CCID/mlの力価を有するウイルス溶解物20  $\mu$ lを添加し、この混合物を室温 (-25) で60分間インキュベートした。所定の時間でインキュベーションを中止するため、処理された溶解物の試料を直ちに、2%血清を含有しているMEMで1:10希釈し、ペロ76細胞へと滴定した。10倍希釈系列を使用したペロ76細胞における細胞変性効果 (CPE) アッセイにより、生存ウイルスを三回でアッセイした。上記の条件の下で、化合物溶媒またはMEMにおいてテスト物質の非存在下でもウイルスをインキュベートし、CPEアッセイにより平行してアッセイした。後者の処理を、ウイルス対照とした。結果を、対照に対する $\log_{10}$ 単位として表3に表した (\*印は、カテキン含有調製物が、ウイルス力価を検出可能限度未満に減少させたことを示す)。

40

50

【 0 0 3 6 】

【 表 3 】

表 3

ID	化合物	ウイルス力価の LOG <sub>10</sub> 減少
1	缶詰めの葉抽出物	3.75
2	粉末化緑茶抽出物	>3.75*
3	緑茶キャンディ	1.25
4	粉末化混合スティック	1.0
5	ミルク入りカテキン	2.0
6	濃縮緑茶液	2.75
7	緑茶抽出物粉末	>3.75*
8	粉末緑茶スティック	2.0
9	粉末紅茶スティック	1.0
10	インスタント緑茶	.75
11	濃縮インスタント緑茶	1.0
12	緑茶を含むペットフード	3.75
13	緑茶を含む喉スプレー	0.0
14	カテキンソーブ	>3.75*
15	17	>3.75*
16	生理食塩水	0.0

【 0 0 3 7 】

表 4 は、表 3 の化合物の選択されたカテキンについての個々のカテキン含有量を列挙したものである。全ての数が、試験された化合物の適宜 1 0 0 m g または 1 0 0 m l 当たりの m g カテキンとして表されている。

【 0 0 3 8 】

【 表 4 】

表 4

ID	没食子酸	EGC	GC	EC	C	BGCg	GCg	ECg	Cg	合計
1	0.000	0.007	0.002	0.002	0.001	0.007	0.000	0.001	0.000	0.019
2	0.000	0.790	0.132	0.197	0.042	1.194	0.026	0.235	0.000	2.616
3	0.001	0.050	0.014	0.014	0.004	0.073	0.014	0.015	0.002	0.186
4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000	0.006
5	0.000	0.191	0.021	0.062	0.011	0.403	0.000	0.081	0.000	0.769
6	0.578	0.510	0.661	0.123	0.141	0.009	0.003	0.002	0.005	1.454
7	0.000	4.000	0.400	1.000	0.200	6.100	0.200	1.200	0.100	13.30
8	0.000	0.890	0.092	0.224	0.039	1.181	0.047	0.206	0.032	2.710
9	0.115	0.062	0.028	0.081	0.055	0.317	0.000	0.264	0.013	0.820
10	0.800	5.200	10.00	1.200	3.000	7.700	8.700	1.500	1.900	39.10
11	1.800	22.90	32.70	8.100	8.70	36.10	34.00	10.20	6.800	159.6
12	0.000	0.029	0.007	0.012	0.006	0.030	0.000	0.007	0.009	0.100
13	2.000	31.50	11.80	15.70	4.90	67.10	5.000	20.00	1.400	157.5
14	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
15	0.000	2.600	0.300	0.700	0.100	3.600	0.100	0.700	0.100	8.100
16	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

【 0 0 3 9 】

上記の結果が明白に示すように、大部分のカテキン含有調製物が、有意な直接殺ウイルス効果を有していた。さらに、最も強力な殺ウイルス剤は、缶詰めの茶葉抽出物、粉末化緑茶、緑茶抽出物粉末、高濃度の緑茶抽出物を含むペットフード、およびカテキンソーブのような緑茶由来の近天然のカテキン調製物であった。従って、少数の例外のみを除き、カテキン含有材料が加工されるほど、少ない直接殺ウイルス活性が示された。注目すべきことに、紅茶生成物は、緑茶生成物と比較して有意に殺ウイルス性でなかった。緑茶中の推定活性成分のうちの一つ、カテキンも、特に界面活性剤と組み合わせられた場合、ウイ

ルスに対して極めて阻害性であった。

【 0 0 4 0 】

このように、耐久性のある殺生物剤および消毒剤の特定の実施態様および適用が開示された。しかしながら、既に記載されたものに加え、さらに多くの修飾が、本発明の概念から逸脱することなく、可能であることが当業者には明白である。従って、本発明の主題は、本開示の本旨以外には制限されない。さらに、明細書の解釈において、全ての用語は、前後関係と一致して可能な限り広義に解釈されるべきである。特に、「含む ( c o m p r i s e s ) 」および「含む ( c o m p r i s i n g ) 」という用語は、非排他的に因子、構成要素、または工程をさすものと解釈されるべきであり、参照された因子、構成要素、または工程が、明確には参照されていないこの他の因子、構成要素、または工程と共に存在するか、利用されるか、または組み合わせられてもよいことを示す。

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US05/23351																		
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC: A01N 65/00( 2006.01)  USPC: 424/729 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) U.S. : 424/729  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 practicable, search terms used) Searched West																				
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>US 6,399,046 B1 (SCHONROCK et al) 04 June 2002 (04.06.2002), see abstract.</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 4,760,088 A (LAKS) 26 July 1988 (26.07.1988), column 1, lines 10-28.</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 4,248,789 A (OKADA) 03 February 1981 (03.02.1981), see abstract.</td> <td>1-20</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	US 6,399,046 B1 (SCHONROCK et al) 04 June 2002 (04.06.2002), see abstract.	1-20	Y	US 4,760,088 A (LAKS) 26 July 1988 (26.07.1988), column 1, lines 10-28.	1-20	Y	US 4,248,789 A (OKADA) 03 February 1981 (03.02.1981), see abstract.	1-20						
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																		
Y	US 6,399,046 B1 (SCHONROCK et al) 04 June 2002 (04.06.2002), see abstract.	1-20																		
Y	US 4,760,088 A (LAKS) 26 July 1988 (26.07.1988), column 1, lines 10-28.	1-20																		
Y	US 4,248,789 A (OKADA) 03 February 1981 (03.02.1981), see abstract.	1-20																		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.																				
<table border="0"> <tr> <td colspan="2">* Special categories of cited documents:</td> <td>"I" Inter 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</td> </tr> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"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</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"B" earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"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</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"E" document member of the same patent family</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents:		"I" Inter 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	"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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		"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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		"L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"E" document member of the same patent family		"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		
* Special categories of cited documents:		"I" Inter 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																		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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																			
"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"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																			
"L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"E" document member of the same patent family																			
"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																				
Date of the actual completion of the international search 11 June 2006 (11.06.2006)		Date of mailing of the international search report 03 AUG 2006																		
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized Officer Randall Winston Telephone No. 571-272-0972																		

## 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</b>	<b>9/12</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>9/12</b>		
<b>A 6 1 L</b>	<b>2/16</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 L</b>	<b>2/16</b>	<b>Z</b>	
<b>A 6 1 L</b>	<b>2/18</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 L</b>	<b>2/18</b>		
<b>A 6 1 L</b>	<b>2/22</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 L</b>	<b>2/22</b>		

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, 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, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, 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, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 原 征彦

東京都港区西新橋一丁目2番9号日比谷セントラルビルディング 三井農林株式会社

(72)発明者 ウエーゲナー, ポール

アメリカ合衆国、ニュー・ヨーク・10036、ニュー・ヨーク、ウエスト・フォーティセブンス・ストリート・73、ユニット・3

Fターム(参考) 4C058 AA03 AA05 AA12 AA19 AA23 AA30 BB07 JJ02 JJ03 JJ08  
JJ24  
4C076 AA26 AA30 BB31 CC35  
4C086 AA01 AA02 BA08 GA17 MA01 MA04 MA13 MA43 MA63 NA01  
NA14 ZB33 ZC61  
4C088 AB45 AC05 BA08 BA11 CA03 MA13 MA43 MA63 NA14 ZB33  
ZC61