

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2008年7月10日 (10.07.2008)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2008/081901 A1

## (51) 国際特許分類:

A61K 31/235 (2006.01) A61K 47/34 (2006.01)  
A61K 9/08 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)  
A61K 47/02 (2006.01) A61P 31/10 (2006.01)  
A61K 47/18 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)  
A61K 47/26 (2006.01)

市鳴門町高島字山路 4 1 5 番地 Tokushima (JP). 柴田  
洋文 (SHIBATA, Hirofumi) [JP/JP]; 〒7711262 徳島県  
板野郡藍住町笠木字西野 7 - 2 Tokushima (JP). 樋口  
雅紀 (HIGUCHI, Masanori) [JP/JP]; 〒7720051 徳島県  
鳴門市鳴門町高島字山路 4 1 5 番地 Tokushima (JP).

## (21) 国際出願番号:

PCT/JP2007/075197

## (22) 国際出願日:

2007年12月27日 (27.12.2007)

## (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 2006-356662 2006年12月28日 (28.12.2006) JP  
特願 2007-267254 2007年10月12日 (12.10.2007) JP  
特願 2007-323964 2007年12月14日 (14.12.2007) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会  
社マイクロバイオテック (MICROBIOTECH INC.)  
[JP/JP]; 〒7720051 徳島県鳴門市鳴門町高島字山路  
4 1 5 番地 Tokushima (JP).

## (72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 樋口 富彦  
(HIGUCHI, Tomihiko) [JP/JP]; 〒7720051 徳島県鳴門

(74) 代理人: 西澤 利夫 (NISHIZAWA, Toshio); 〒1020073  
東京都千代田区九段北 4 丁目 3 番 1 4 号 九段堀江  
ビル 6 F 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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE,  
SG, SK, SL, SM, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, SD,  
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,  
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,  
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,  
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,  
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

(54) Title: PHARMACEUTICAL ALKYL GALLATE COMPOSITION

(54) 発明の名称: アルキルガレート薬剤組成物

(57) Abstract: Disclosed is a novel technique which enables to increase the anti-fungal, anti-viral or anti-bacterial activity of an alkyl gallate and enables to cause the alkyl gallate to be dissolved in water. Specifically disclosed is a pharmaceutical alkyl gallate composition which comprises: (A) an alkyl gallate which has an alkyl group having 5 to 16 carbon atoms; and (B) an alkyl gallate having an alkyl group in which the number of carbon atoms in the alkyl group is smaller than that of the alkyl gallate (A). Preferably, the number of carbon atoms in the alkyl group of the alkyl gallate (B) is 2 to 7. The composition may further comprise (C) at least one member selected from an alkali metal salt, boric acid, sodium borate and an organic salt.

(57) 要約: アルキルガレートの抗真菌・抗ウイルス・抗バクテリア活性の増強を図ることと、水への可溶化を可能とする新しい技術手段を提供する。本発明のアルキルガレート薬剤組成物は、(A) アルキル基の炭素数が 5 ~ 16 の範囲のアルキルガレート、および (B) アルキル基の炭素数が前記 (A) のものより小さいアルキルガレートを含有することを特徴とする。好ましくは、アルキルガレート (B) のアルキル基の炭素数は 2 ~ 7 の範囲であり、(C) アルカリ金属塩、ホウ酸、ホウ酸ナトリウム、および有機塩から選ばれる少なくとも 1 種を含有する。

WO 2008/081901 A1

## 明 細 書

### アルキルガレート薬剤組成物

### 技術分野

- [0001] 本発明は、医薬、農薬、化粧品および機能性食品として有用な抗真菌・抗バクテリア・抗ウイルス作用を有する薬剤組成物に関するものである。さらに詳しくは、本発明は、アルキルガレートによる抗真菌・抗バクテリア・抗ウイルス活性の増強方法に関するもので、外用殺菌消毒一般、皮膚科領域、口腔歯科領域(齲蝕、歯周炎、口臭、口内炎)、眼科領域、婦人科領域(woman's health and sanitary protection)の感染治療剤および予防のための処方剤などとして、医薬、農薬(家畜動物、ペット、水産、植物)、化粧品および機能性食品などに有用な新しい薬剤組成物に関するものである。

### 背景技術

- [0002] アルキルガレートのなかには、WHO・FDAにより食品添加物として認可されているもの(propyl gallate, octyl gallate, dodecyl gallate)や、日本の厚生労働省により医薬品添加物として認可されているもの(propyl gallate)、そして医薬部外品として認可されているもの(octyl gallate)があることから、安全性に優れている。
- [0003] これらのアルキルガレートについて、本発明者は、新しい観点からの詳細な検討によって抗真菌・抗バクテリア・抗ウイルス作用活性があることを見出し、これを薬剤とすることをすでに提案している(特許文献1)。
- [0004] しかしながら、これらのアルキルガレートの抗真菌・抗バクテリア・抗ウイルス作用活性は、必ずしも十分に強いとはいえず、それらの活性の増強が望まれていた。また、アルキルガレートは疎水性が高いため、水に難溶のことから製剤化が必ずしも容易ではなかった。

特許文献1:特開2006-306836号公報

### 発明の開示

### 発明が解決しようとする課題

- [0005] 本発明は、以上のような背景から、発明者によるこれまでの検討を更に発展、深化させて、アルキルガレートの抗真菌・抗ウイルス・抗バクテリア活性の増強を図ることと

、水への可溶化を可能とする新しい技術手段を提供することを課題としている。

### 課題を解決するための手段

[0006] 本発明は、上記の課題を解決するものとして以下のことを特徴としている。

[0007] 第1:アルキル基とガロイル基がエステル結合しているアルキルガレートに抗真菌、抗ウイルス、もしくは抗バクテリア作用の有効成分としている薬剤組成物であって、下記の2種類のアルキルガレート:

(A)アルキル基の炭素数が5～16の範囲のアルキルガレート、および

(B)アルキル基の炭素数が前記(A)のものより小さいアルキルガレート

を含有することを特徴とするアルキルガレート薬剤組成物。

[0008] 第2:アルキルガレート(B)のアルキル基の炭素数が2～7の範囲であることを特徴とする上記第1のアルキルガレート薬剤組成物。

[0009] 第3:(C)アルカリ金属塩、ホウ酸、ホウ酸ナトリウム、および有機塩から選ばれる少なくとも1種を含有することを特徴とする上記第1または第2のアルキルガレート薬剤組成物。

[0010] 第4:非イオン界面活性剤、ポリエチレングリコール、およびアルギニンまたはその誘導体の塩酸塩から選ばれる少なくとも1種と共に水溶液中にて混合することにより、あるいはpH緩衝液中にて混合することによりアルキルガレートが可溶化された水溶液であることを特徴とする上記第1から第3のいずれかのアルキルガレート薬剤組成物。

[0011] 第5:アルキルガレート1重量部に対して、非イオン界面活性剤1～10重量部および水100～5000重量部を混合することによりアルキルガレートが可溶化された水溶液であることを特徴とする上記第4のアルキルガレート薬剤組成物。

[0012] 第6:30～95℃の温度において加熱混合し、次いで室温まで冷却することによりアルキルガレートが可溶化された水溶液であることを特徴とする上記第5のアルキルガレート薬剤組成物。

### 発明の効果

[0013] 本発明によれば、アルキルガレート含有の薬剤において、抗真菌、抗ウイルス、抗バクテリア活性を増強することを可能とし、さらには水への可溶化を可能とすることが

できる。

### 図面の簡単な説明

- [0014] [図1]MRSA COL株に対するオクチルガレートとプロピルガレートとの併用による殺菌時間の短縮を示すグラフである。
- [図2]Candida albicans ATCC10231に対するオクチルガレートとプロピルガレートとの併用による殺カビ時間の短縮を示すグラフである。
- [図3]n-ドデシルガレートの殺インフルエンザウイルス活性のn-ヘキシルガレートとn-ブチルガレートによる活性増強を示すグラフである。横軸は、n-ドデシルガレートの濃度を示す。
- [図4]オクチルガレートによるMDCK細胞における抗インフルエンザウイルス活性のプロピルガレートによる活性増強を示すグラフである。
- [図5]オクチルガレートによるHSV-1の抗ウイルス活性のプロピルガレートによる増強効果を示すグラフである。
- [図6]インフルエンザB/T/1/05に対するオクチルガレートとプロピルガレートとの併用による殺ウイルス時間の短縮を示すグラフである。
- [図7]オクチルガレート単独でのインフルエンザウイルスB/T/1/05に対する殺ウイルス活性の時間経過を示すグラフである。
- [図8]プロピルガレート単独でのインフルエンザウイルスB/T/1/05に対する殺ウイルス活性の時間経過を示すグラフである。
- [図9]オクチルガレート(5mg/L)によるインフルエンザウイルスB/T/1/05に対する殺ウイルス活性の時間経過に対するプロピルガレートの濃度効果を示すグラフである。
- [図10]オクチルガレート(10mg/L)によるインフルエンザウイルスB/T/1/05に対する殺ウイルス活性の時間経過に対するプロピルガレートの濃度効果を示すグラフである。
- [図11]オクチルガレート(20mg/L)によるインフルエンザウイルスB/T/1/05に対する殺ウイルス活性の時間経過に対するプロピルガレートの濃度効果を示すグラフである。
- [図12]オクチルガレート(30mg/L)とプロピルガレート(300mg/L)との併用によるインフルエンザウイルスB/T/1/05に対する殺ウイルス活性増強の時間経過を示すグラフである。

## 発明を実施するための最良の形態

[0015] 以下に、本発明の実施の形態について説明する。

[0016] なお、本発明におけるアルキルガレートは、アルキル基とガロイル基とのエステル結合基以外に、適宜に他の置換基、たとえばアルキル基、シクロアルキル基、アリール基、アルコキシ基、エステル基、アミド基、アミノ基等を有していてもよい。

[0017] また、本発明におけるアルキルガレートのアルキル基の具体例としては、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*n*-アミル基、イソアミル基、*n*-ヘキシル基、*n*-ヘプチル基、*n*-オクチル基、*n*-ノニル基、*n*-デシル基、*n*-ウンデシル基、*n*-ドデシル基などが挙げられる。

[0018] また、本発明における「抗真菌」、「抗ウイルス」および「抗バクテリア」の用語は、各々、「殺真菌」、「殺ウイルス」および「殺バクテリア」の意味も包含している。

[0019] 本発明の有効成分としての作用が増強されたアルキルガレート薬剤組成物では、前記のように、

(A)アルキル基の炭素数が5～16の範囲内のアルキルガレートと、

(B)アルキル基の炭素数がこの(A)のものより小さいアルキルガレートとの複数のものによって構成されていることを本質的な特徴としている。ここで、アルキルガレート(B)のアルキル基の炭素数は、好ましくは2～7であり、たとえば、アルキル基の炭素数が8～12の範囲内のアルキルガレート(A)と、アルキル基の炭素数が3～7の範囲内のアルキルガレート(B)との組み合わせが好ましいものとして例示される。

[0020] 以下に、上記特徴点の意義について詳しく説明する。

[0021] なお、以下の説明においては、表中のNDは、Not Detectedで、菌の増殖が完全に阻止されており、菌が検出されなかったことを示している。

### 1. 抗菌活性の増強

表1は、グラム陽性菌とグラム陰性菌のオクチルガレートによるMIC(最少発育阻止濃度)値が、抗菌活性を示さないMIC以下の濃度のイソアミルガレートの添加により低下すること、そしてこの低下は、NaClの添加によりさらに増強されることを示している。

[0022] 同様の現象は、イソアミルガレートの代わりに、抗菌活性を示さないMIC以下の濃

度のn-ヘプチルガレート、n-ヘキシルガレート、n-ペンチルガレート、n-ブチルガレート、イソブチルガレートやn-プロピルガレート(及びこれらの構造類似型)の添加によっても起こることが明らかになった。また同様に、n-ドデシルガレート、n-ウンデシルガレート、n-デシルガレート、n-ノニルガレートのMIC値も、抗菌活性を示さないMIC以下の濃度のn-ヘプチルガレート、n-ヘキシルガレート、n-ペンチルガレート、n-ブチルガレート、イソブチルガレートやn-プロピルガレート(及びこれらの構造類似型)の添加によって低下することが明らかになった。

[0023] 表2より、抗菌活性を示さないMIC以下の濃度のイソアミルガレートとNaClの添加により、細菌のオクチルガレートによるMIC値が、既存の消毒薬であるchlorhexidine gluconateのMIC値に比べて遙かに低くなることが分かり(最高で640倍)、これはオクチルガレートが優れた殺菌剤・消毒薬となることを示している。

[0024] 上記の現象の理由は次のように推測される。現在までに得られているデータから総合して考察すると、オクチルガレートの菌に対する作用点は、菌の増殖阻止にかかわる部位と、菌の増殖には関係しない部位との2種類あることが分かる。そしてイソアミルガレートが後者に結合してしまうと、オクチルガレートは、前者の菌の増殖に関わる部位のみに特異的に結合するため、遙かに少ない濃度で菌の増殖を阻害し、MIC値が低下したものと推測される。

[0025] 以上の結果に基づき、本発明はつぎのように要約される。

[0026] アルキルガレート(A) (アルキル鎖の炭素数が5~16)による抗真菌・抗バクテリア・抗ウイルス活性は、アルキルガレート(A)よりもアルキル鎖の炭素数が小さいアルキルガレート(B)、および1価の塩(C) (NaCl, KCl, LiCl,  $\text{NaHCO}_3$ )等のアルカリ金属塩、ホウ酸、ホウ酸ナトリウム、または有機塩により増強され、アルキルガレート(A)のMIC値を低下させることができる。

[0027] [表1]

イソアミルガレートとNaClとの併用による各種細菌におけるオクチルガレートのMICの低下効果														
MIC sample		Octyl gallate MIC(μg/mL)												
concomitant		NaCl												
conc.(%)		4												
concomitant		Isoamyl gallate												
conc.(μg/mL)														
time														
<i>E. gallinarum</i> (Van C1)	none	25	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h
	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h
	62.5	ND	ND	ND	31.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.49	7.81
	62.5	ND	ND	ND	62.50	ND	1.95	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	15.63
	62.5	ND	ND	ND	7.81	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	62.5	ND	ND	ND	31.25	0.98	7.81	15.63	7.81	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63
	62.5	ND	ND	ND	7.81	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.91
	62.5	ND	ND	ND	0.98	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	31.25
	62.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	62.5	ND	ND	ND	31.25	ND	1.95	7.81	1.95	7.81	1.95	7.81	0.98	7.81
<i>S. epidermidis</i> IFO37625	31.25	ND	ND	ND	31.25	ND	0.49	7.81	7.81	1.95	3.91	3.91	7.81	ND
	31.25	ND	ND	ND	31.25	ND	0.49	7.81	7.81	1.95	3.91	3.91	7.81	ND
	>250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. marcescens</i> IAM1184	31.25	ND	ND	ND	15.63	ND	ND	ND	ND	ND	0.24	0.24	0.24	1.95
	31.25	ND	ND	ND	15.63	ND	ND	ND	ND	ND	0.24	0.24	0.24	1.95

イソアミルガレートとNaClとの併用による各種細菌におけるオクチルガレートのMICの低下効果														
MIC sample		Octyl gallate MIC(μg/mL)												
concomitant		NaCl												
conc.(%)		2												
concomitant		Isoamyl gallate												
conc.(μg/mL)														
time														
<i>E. gallinarum</i> (Van C1)	none	25	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h
	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h
	15.63	7.81	7.81	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63	15.63
	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25
	31.25	ND	0.12	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	15.63	31.25	31.25	31.25
	62.50	15.63	15.63	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	62.50	62.50
	31.25	0.49	0.98	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	15.63	31.25	31.25	31.25
	62.50	15.63	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	31.25	62.50	62.50	62.50	62.50
	31.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	31.25	31.25	31.25
	31.25	ND	0.98	7.81	7.81	7.81	7.81	7.81	7.81	1.95	7.81	15.63	15.63	15.63
<i>S. epidermidis</i> IFO37625	31.25	ND	0.98	7.81	7.81	7.81	7.81	7.81	15.63	15.63	ND	ND	ND	0.98
	31.25	0.49	3.91	7.81	7.81	7.81	7.81	15.63	15.63	ND	ND	ND	ND	0.98
	0.12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	>250	>250	>250	>250
<i>S. marcescens</i> IAM1184	31.25	ND	0.12	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	0.49	1.95	3.91	3.91	15.63
	31.25	ND	0.12	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	0.49	1.95	3.91	3.91	15.63

[0028] [表2]

Comparison of MIC-values of octyl gallate and chlorhexidine gluconate  
 in Gram (+) and Gram (-) bacteria  
 なお、NaClとイソアミルガレートは、オクテリルガレートのMICの測定の際に添加された。

	chlorhexidine gluconate MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) (A)	octyl gallate MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) (B)	NaCl %	Isoamyl gallate $\mu\text{g/ml}$	A/B ratio fold
Gram (+) bacteria					
MRSA #5	0.61	0.06	4	25	10.2
MRSA #9	1.22	0.06	4	25	20.3
MRSA #17	1.22	0.06	4	50	20.3
MRSA #22	1.22	0.06	4	50	20.3
MRSA COL	1.22	0.098	4	50	12.4
MRSA Mu3	4.88	0.06	4	25	81.3
MSSA 1023	0.61	0.06	4	25	10.2
MSSA RN	0.61	0.20	4	25	3.1
<i>E. faecium</i> (VanA)	1.20	0.10	2	100	12.0
<i>E. faecalis</i> (VanB)	4.90	0.49	4	40	10.0
<i>E. gallinarum</i> (VanC1)	4.90	0.24	4	40	20.4
<i>E. casseliflavus</i> (VanC2/C3)	4.90	1.95	4	75	2.5
<i>E. faecalis</i> 0497P	2.40	0.122	3	75	19.7
<i>E. faecium</i> 0677P	1.20	0.98	4	100	1.2
<i>E. faecalis</i> ATCC21212	4.90	0.49	3	75	10.0
<i>S. epidermidis</i> IFO3762	0.60	0.98	3	75	0.6
<i>S. epidermidis</i> IID866	0.60	0.49	4	75	1.2
<i>B. subtilis</i> IFO3134	1.20	0.122	4	75	9.8
Gram (-) bacteria					
<i>S. Typhimurium</i> IFO13245	4.90	0.06	3	35	81.7
<i>P. aeruginosa</i> ATCC9027	19.50	1.95	3	20	10.0
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	78.10	0.122	3	25	640.2
<i>E. coli</i> ATCC25922	2.40	0.98	4	0	2.4
<i>S. marcescens</i> IAM1184	9.80	0.122	3	0	80.3

[0029] なお、表1および表2、さらには後述の表8の場合の実験方法は以下のとおりである



- [0030] 最小発育阻止濃度(MIC)の測定は、Mueller Hinton II Agar(BBL)を用いて、日本化学療法学会標準法(三橋進 他、1981、「最小発育阻止濃度(MIC)測定法再改定について」、Chemotherapy、29、p. 76－79)に準拠して寒天平板を用いた2倍段階希釈法により行った。供試薬剤は、Octyl Gallate(東京化成)、Isoamyl Gallate(東京化成)、NaCl(関東化学)である。対照薬剤として、5%ヒビテン液(住友製薬)を用いた。被検菌をMueller Hinton Broth(DIFCO)に接種し、37℃、18時間増菌培養し、生理食塩水で $1 \times 10^6$  CFU/mLに希釈、接種用菌液とした。この菌液をマイクロプランター(佐久間製作所)を用いて薬剤添加寒天平板に接種した。37℃、24時間培養後、完全に発育が阻止された濃度をMIC(minimum inhibition concentration)とした。
- [0031] 表3Aは、オクチルガレートによる一般細菌(グラム陽性菌、グラム陰性菌)に対する抗菌活性の0.9%(w/v)クエン酸三ナトリウムとプロピルガレートの添加による増強効果を示している。
- [0032] オクチルガレートによる一般細菌(グラム陽性菌、グラム陰性菌)に対する抗菌活性が、0.9%(w/v)クエン酸三ナトリウムとプロピルガレートの添加により、増強されることを明確に示している。なお、クエン酸三ナトリウム添加量が多いほど、より低い濃度のプロピルガレートにより、オクチルガレートのMIC値が低下した。クエン酸三ナトリウムの代わりにクエン酸水素二ナトリウムを用いた場合も同様の傾向を示した。なお、表中、MHAはMueller Hinton II Agarを示し、DDWは、滅菌水を示す。オクチルガレートは、J1816(オクチルガレート量の3倍量)で後述の例6の方法で可溶化した。プロピルガレートは、後述の例5の方法で可溶化した。
- [0033] [表3A]

Date	9.6.07											
	Octyl gallate MIC( $\mu\text{g/mL}$ )						Octyl gallate MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )					
	MHA						MHA (+0.9% trisodium citrate)					
	DDW	Propyl gallate					DDW	Propyl gallate				
medium		400	350	300	250	200		400	350	300	250	200
concomitant												
conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )												
time	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h
<i>E. faecium</i> (VanA)	50	ND	ND	ND	ND	ND	50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>E. faecalis</i> (VanB)	50	ND	ND	ND	ND	ND	50	2.5	10	20	20	20
<i>E. gallinarum</i> (VanC1)	50	2.5	10	20	20	20	50	ND	5	10	10	20
<i>E. casseliflavus</i> (VanC2/C3)	50	10	20	20	50	50	50	0.3125	5	20	20	20
<i>E. faecalis</i> 0497P	50	ND	ND	ND	ND	1.25	50	ND	5	10	20	20
<i>E. faecium</i> 0677P	50	ND	ND	ND	ND	20	50	ND	ND	5	10	20
<i>E. faecalis</i> ATCC21212	50	ND	ND	ND	ND	20	50	ND	10	10	10	20
<i>E. coli</i> ATCC25922	50	ND	ND	ND	ND	20	50	ND	10	10	20	20
<i>E. coli</i> KUE050701	>50	ND	ND	ND	>50	>50	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. Typhimurium</i> IFO13245	50	ND	ND	ND	ND	ND	50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. Enteritidis</i> IFO63313	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. Enteritidis</i> DT104-3	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. Enteritidis</i> DT104-26	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. Oranienburg</i> 1151	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. Infantis</i> TUS050902	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>P. aeruginosa</i> ATCC9027	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	ND	ND	ND	ND	>50
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>P. aeruginosa</i> MHP0509-01	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	20
<i>K. pneumoniae</i> ATCC10031	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	ND	ND	>50	>50	>50
<i>K. pneumoniae</i> KUK050801	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
<i>S. epidermidis</i> IFO3762	20	ND	ND	ND	ND	5	20	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. epidermidis</i> IID866	20	ND	ND	ND	ND	ND	20	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. marcescens</i> IAM1184	>50	ND	ND	ND	ND	>50	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>B. subtilis</i> IFO3134	50	ND	1.25	5	10	10	20	ND	ND	2.5	5	10
<i>P. mirabilis</i> IFO3849	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
<i>E. cloacae</i> IFO13535	>50	ND	ND	ND	ND	ND	>50	ND	ND	ND	ND	ND
MRSA COL	25	ND	ND	ND	ND	ND	20	ND	ND	ND	ND	ND

[0034] 表3Bは、臨床分離株MRSA(21株)とMSSA(8株)に対する高純度に再結晶化したオクチルガレート(後述の例2の方法にてJ1216で可溶化した)のMIC値を示したもので、クエン酸三ナトリウムよりもクエン酸水素二ナトリウムのほうが抗菌活性を強めること、そして50mg/Lのプロピルガレート(後述の例3の方法にて可溶化した)の併用

で、その抗菌活性が顕著に強められ、すべての株が、1. 25mg/Lのオクチルガラートにより死滅されたことがわかる。この実験結果より、オクチルガラートの不純物が抗菌活性を示すのではなく、オクチルガラートの本体が抗菌作用を示すことが確証された。

[0035] 表3Cは、グラム陽性菌とグラム陰性菌に対する高純度に再結晶化したオクチルガラート(後述の例2の方法にてJ1216で可溶化した)のMIC値を示したもので、クエン酸三ナトリウム(同表右欄)よりもクエン酸水素二ナトリウムのほうが抗菌活性を強めること、300mg/Lのプロピルガラートにより、3種の菌を除いて、完全に菌を死滅させたことがわかる。また、100mg/Lのプロピルガラートとの併用により、オクチルガラートのMIC値を低下させること(抗菌活性を強めること)がわかる。この実験結果より、オクチルガラートの不純物が抗菌活性を示すのではなく、オクチルガラートの本体が一般細菌に対して抗菌作用を示すことが確証された。

[0036] [表3B]

MIC sample	Date	12.24.07				12.7.07			
		#Recrystallized octyl gallate MIC(mg/L)				#Recrystallized octyl gallate MIC(mg/L)			
medium		MHA(±0.9% disodium hydrogen citrate)*				MHA(±0.9% trisodium citrate)*			
concomitant		DDW				J-1216			
		Propyl gallate(dissolved at 5mg/mL in water)				Propyl gallate(dissolved at 5mg/mL in water containing 3mg/mL J-1216)			
conc.(mg/L)		100	50			600	200	100	75
time		24h	24h			24h	24h	24h	24h
MRSA #1		0.625	ND			25	2.5	ND	10
MRSA #2		2.5	ND			50	2.5	2.5	10
MRSA #3		ND	ND			20	2.5	ND	10
MRSA #4		ND	ND			ND	ND	ND	ND
MRSA #5		ND	ND			20	ND	ND	5
MRSA #6		ND	ND			20	ND	ND	5
MRSA #7		ND	ND			20	ND	ND	2.5
MRSA #8		ND	ND			20	ND	ND	5
MRSA #9		ND	ND			20	ND	ND	5
MRSA #10		ND	ND			25	0.625	ND	10
MRSA #12		ND	ND			50	5	ND	10
MRSA #13		ND	ND			20	ND	ND	5
MRSA #16		1.25	ND			50	ND	ND	10
MRSA #17		ND	ND			50	ND	ND	10
MRSA #18		ND	ND			ND	ND	ND	ND
MRSA #19		ND	ND			20	ND	ND	5
MRSA #20		ND	ND			20	5	ND	10
MRSA #21		ND	ND			25	2.5	5	10
MRSA #22		2.5	ND			50	2.5	5	10
MRSA COL		2.5	ND			20	1.25	1.25	5
MRSA Mu3		ND	ND			25	ND	ND	10
MSSA 1003		ND	ND			ND	1.25	ND	5
MSSA 1010		ND	ND			ND	5	ND	10
MSSA 1020		ND	ND			5	ND	ND	5
MSSA 1023		2.5	ND			20	2.5	5	10
MSSA 1029		2.5	ND			25	2.5	5	10
MSSA 1032		ND	ND			25	ND	ND	10
MSSA ATCC6538		ND	ND			ND	ND	ND	5
MSSA RN4220		ND	ND			ND	ND	ND	2.5
		24h MIC	24h MIC			24h MIC	24h MIC	24h MIC	24h MIC
		MRSA	MRSA			MRSA	MRSA	MRSA	MRSA
MIC Range		0.625-2.5	0.625-1.25			20-50	0.0625-5	1.25-5	2.5-10
MIC 50		ND	ND			20	2.5	2.5	10
MIC 100		2.5	1.25			50	5	5	10

[0037] [表3C]

Date	MIC sample (mg/L)	12.24.07	7.25.07	9.6.07	11.2.107
	#Recrystallized octyl gallate MIC (mg/L)				
medium		MHA(+0.9% disodium hydrogen citrate)*	Octyl gallate was solubilized with 1mM phosphate buffer at pH6.5 containing 0.356mg/mL of J-1816	Octyl gallate dissolved in 1mM phosphate buffer involving 3mg/mL J-1816) MIC(mg/L)	Octyl gallate dissolved at 1mg/mL in MilliQ water containing 3mg/mL of J-1216) MIC(mg/L)
concomitant					
		DDW	Propyl gallate(dissolved in 1mM phosphate buffer at pH6.5 involving 0.356mg/mL J-1816)	DDW	Propyl gallate(dissolved at 3mg/mL in milliQ water)
		Propyl gallate(dissolved at 5mg/mL in milliQ water)			
conc.(mg/L)					
time					
		300	200	300	200
		24h	24h	24h	24h
		100	100	200	100
<i>E. faecium</i> (VanA)		ND	50	ND	20
<i>E. faecalis</i> (VanB)		10	50	20	20
<i>E. gallinarum</i> (VanC1)		10	50	10	20
<i>E. casseliflavus</i> (VanC2/C3)		10	50	20	20
<i>E. faecalis</i> 049JP		10	50	10	20
<i>E. faecium</i> 0677P		10	50	5	20
<i>E. faecalis</i> ATCC21212		10	50	10	20
<i>E. coli</i> ATCC25922		50	50	10	20
<i>E. coli</i> KUE050701		50	50	10	20
<i>S. Typhimurium</i> IFO13245		50	25	ND	ND
<i>S. Enteritidis</i> IFO63313		50	ND	ND	ND
<i>S. Enteritidis</i> DT104-3		100	ND	ND	ND
<i>S. Enteritidis</i> DT104-26		100	ND	ND	ND
<i>S. Oranienburg</i> 1151		100	ND	ND	ND
<i>S. Infantis</i> TUS050902		25	ND	ND	ND
<i>P. aeruginosa</i> ATCC9027		100	ND	ND	ND
<i>P. aeruginosa</i> PAO1		>100	ND	ND	ND
<i>P. aeruginosa</i> MHP0509-01		>100	ND	ND	ND
<i>K. pneumoniae</i> ATCC10031		>100	ND	ND	ND
<i>K. pneumoniae</i> KUK050801		>100	ND	ND	ND
<i>S. epidermidis</i> IFO3762		ND	ND	ND	ND
<i>S. epidermidis</i> IID866		ND	ND	ND	ND
<i>S. marcescens</i> IAM1184		>100	ND	ND	ND
<i>B. subtilis</i> IFO3134		5	ND	ND	ND
<i>P. mirabilis</i> IFO3849		>100	ND	ND	ND
<i>E. cloacae</i> IFO13535		>100	ND	ND	ND
MRSA COL		5	ND	ND	ND

\* Sodium ascorbate was added at 0.5mg/mL in the medium (Table 3B-3C).

DDW, 滅菌水

#Recrystallized octyl gallate was dispersed at 1 mg/mL in hot water at 70 °C by vigorous shaking and solubilized by adding 3mg/mL of J-1216.

[0038] 図1は、MRSA COL株に対するオクチルガレートとプロピルガレートとの併用による殺菌時間の短縮を示している。プロピルガレート単独での殺活性は弱い、オクチル

ガレートと併用することにより、殺菌に要する時間が大幅に短縮されることが分かる。

[0039] 表4は、オクチルガレートによる一般細菌(グラム陽性菌、グラム陰性菌)に対する抗菌活性に対するNaClの添加効果を示している。

[0040] NaClの添加量(2～4%)が多いほど、イソアミルガレートによるオクチルガレートのMIC値の低下が著しいことがわかる。

[0041] [表4]

11.17.06&12.1.06																										
Octyl gallate MIC( $\mu$ g/mL)																										
NaCl																										
none		16	8	4												3				2						
Isoamyl gallate																										
none		25	48h	none	100	75	50	45	40	35	25	48h	48h	100	75	50	48h	48h	40	35	100	75	50	48h	48h	25
time		48h	125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. faecium</i> (VanA)		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. faecalis</i> (VanB)		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. gallinarum</i> (VanC1)		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. casseliflavus</i> (VanC2/C3)		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. faecalis</i> 0497P		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. faecium</i> 0677P		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. faecalis</i> ATCC12121		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. coli</i> ATCC25922		62.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. coli</i> KUE050701		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. Typhimurium</i> IFO13245		62.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. Enteritidis</i> IFO63313		250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. Enteritidis</i> DT104-3		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. Enteritidis</i> DT104-26		62.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. oranienburg</i> 1151		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. infantis</i> TUS050902		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC9027		250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>P. aeruginosa</i> PAO1		>250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>P. aeruginosa</i> MH0509-01		125	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>K. pneumoniae</i> ATCC10031		250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>K. pneumoniae</i> KUK030801		62.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. epidermidis</i> IFO3762		62.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. epidermidis</i> IID866		>250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>S. marcescens</i> IAM1184		31.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>B. subtilis</i> IFO3134		>250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>P. mirabilis</i> IFO3849		>250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>E. cloacae</i> IFO13535		>250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	
<i>A. calcoaceticus</i> ATCC19606		31.25	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.625	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1221	0.2441	7.8125	3.906	62.5	

[0042] 表5は、真菌(カビ)におけるオクチルガレートによる抗菌活性に対する0.9%(w/v)クエン酸三ナトリウムとプロピルガレートの添加による増強効果を示している。

[0043] オクチルガレートによる真菌(カビ)に対する抗菌活性が、0.9% (w/v) クエン酸三ナトリウムとプロピルガレートの添加により増強されることを明確に示している。

[0044] [表5]



Date	2007.7.25													
MIC sample	#1 Octyl gallate MIC (μg/mL)							#1 Octyl gallate MIC (μg/mL)						
Medium	SDA (+0.9% trisodium citrate)													
Concomitant	phosphate buffer (1 mM)		#2 Propyl gallate					phosphate buffer (1 mM)		#2 Propyl gallate				
Conc. (μg/mL)	0	48hr	150	24hr	300	48hr	500	1000	0	24hr	48hr	150	300	1000
<i>C. albicans</i> ATCC10231	20	20	20	20	20	20	20	10	20	20	20	20	10	10
	20	20	20	20	20	10	10	10	20	20	20	20	10	10
	20	20	20	20	20	20	10	10	20	20	20	20	10	10
<i>Candida</i> spp.	50	50	50	50	50	50	50	50	20	50	20	25	10	20
	50	50	50	50	50	50	50	50	20	50	20	25	10	20
	50	50	50	50	50	50	50	50	20	50	20	25	10	20
<i>S. cerevisiae</i> ATCC9763	20	20	20	20	20	20	20	10	10	20	10	20	10	5
	20	20	20	20	20	20	20	10	10	20	10	20	10	5
	20	20	20	20	20	20	20	10	10	20	10	20	10	5
Yeast 4-1 white	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5
	10	10	5	5	5	10	10	5	10	10	5	5	5	5
	10	10	5	5	10	10	5	5	10	10	10	10	5	5

#1 Octyl gallate at 1 mg per ml was solubilized in 1 mM of phosphate buffer (pH 6.59) containing J1816 at 0.356 mg per ml.  
 #2 Propyl gallate at 10 mg per ml was solubilized in 1 mM of phosphate buffer (pH 6.59) containing J1816 at 0.356 mg per ml.

- [0045] 図2は、*Candida albicans* ATCC10231に対するオクチルガレートとプロピルガレートとの併用による殺カビ時間の短縮を示している。プロピルガレート単独での殺活性は弱い、オクチルガレートと併用することにより、殺カビに要する時間が大幅に短縮されることが分かる。
- [0046] 表6は、*Pseudomonas aeruginosa* POA1に対するラウリルガレートによる抗菌作用の3%NaCl存在下におけるイソアミルガレートあるいはプロピルガレートによる増強効果を示している。
- [0047] ラウリルガレートによる*Pseudomonas aeruginosa* POA1に対する抗菌作用が、3%NaCl存在下においてイソアミルガレートあるいはプロピルガレートにより増強されることが分かる。
- [0048] [表6]

Date	2.2.07									
MIC sample	Lauryl gallate MIC( $\mu\text{g/mL}$ )									
medium	MHA (3%NaCl)									
concomitant	none	Isoamyl gallate					Propyl gallate			
conc.( $\mu\text{g/mL}$ )	none	75		50		100		75		
time	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
	15.625	31.25	ND	0.9766	ND	3.9063	ND	ND	ND	0.4883
<i>P. aeruginosa</i> PAO1										

[0049] 表7は、オクチルガレートによる臨床分離株のMRSAやMSSAに対する抗菌作用のイソアミルガレートによる増強効果を示している。

[0050] 表7より、オクチルガレートによる臨床分離株のMRSAやMSSAに対する抗菌作用が、イソアミルガレートにより増強されることが示されている。オクチルガレートとイソアミルガレートは、アルキルガレートの3.5倍量(重量比)のJ1816で可溶化した。

[0051] [表7]

Date	3.8.07					
MIC sample	Octyl gallate MIC( $\mu\text{g/mL}$ )					
medium	CAMHA					
concomitant	J-1816		Isoamyl gallate			
conc.( $\mu\text{g/mL}$ )	262.5		50		25	
time	24h	48h	24h	48h	24h	48h
MRSA #1	25	50	ND	12.5	12.5	25
MRSA #2	ND	ND	ND	ND	0.3906	12.5
MRSA #3	ND	ND	ND	ND	$\leq 0.0244$	$\leq 0.0244$
MRSA #4	25	25	ND	ND	6.25	12.5
MRSA #5	ND	6.25	ND	ND	3.125	3.125
MRSA #6	ND	1.5625	ND	ND	3.125	12.5
MRSA #7	ND	ND	ND	ND	$\leq 0.0244$	6.25
MRSA #8	ND	25	ND	ND	0.3906	6.25
MRSA #9	25	25	ND	ND	1.5625	12.5
MRSA #10	0.3906	6.25	ND	ND	3.125	12.5
MRSA #12	ND	ND	$\leq 0.0244$	$\leq 0.0244$	12.5	12.5
MRSA #16	25	25	ND	ND	6.25	12.5
MRSA #17	25	25	ND	ND	3.125	12.5
MRSA #18	25	25	ND	ND	12.5	12.5
MRSA #19	25	25	ND	ND	3.125	12.5
MRSA #20	ND	ND	ND	ND	1.5625	6.25
MRSA #21	ND	ND	ND	ND	12.5	12.5
MRSA #22	ND	ND	ND	ND	12.5	25
MRSA COL	ND	0.7813	ND	0.1953	6.25	25
MRSA #13	ND	ND	ND	ND	3.125	12.5
MRSA Mu3	25	25	ND	ND	0.0488	12.5
MSSA 1003	ND	ND	ND	ND	0.3906	3.125
MSSA 1010	ND	ND	ND	ND	3.125	12.5
MSSA 1020	ND	ND	ND	ND	3.125	6.25
MSSA 1023	ND	25	ND	ND	1.5625	12.5
MSSA 1029	ND	12.5	ND	ND	12.5	12.5
MSSA 1032	ND	ND	ND	ND	12.5	12.5
MSSA ATCC	ND	50	ND	1.56	12.5	25
MSSA RN	ND	ND	ND	ND	0.195	12.5

[0052] 2. アルキルガレートによるMRSAの $\beta$ ラクタム剤感受性増強効果のさらなる増強  
アルキルガレートは、MRSAの $\beta$ ラクタム剤感受性を増強することが明らかになっ

ているが(PCT/JP2004/000751)、この増強効果は、オクチルガレートよりもアルキル鎖の炭素数が小さいアルキルガレートとの共存在により、強力に増強できることを見出した。表8、表9に抗菌活性を示さない濃度のプロピルガレートとイソアミルガレートの例を示しているが、これらのガレートの共存在により、オクチルガレートによるオキサシリンのMRSAのMIC値の低下が、 $1.56 \mu\text{g/ml}$ という低濃度でも起こることを示している。

[0053] [表8]

9.10.06																											
Oxacillin MIC( $\mu$ g/mL)																											
Isoamyl G or Propyl G												Isoamyl G ( $\mu$ g/mL)															
none												25				12.5				6.25				Propyl G ( $\mu$ g/mL)			
Octyl G ( $\mu$ g/mL)												Octyl G ( $\mu$ g/mL)				Octyl G ( $\mu$ g/mL)				Octyl G ( $\mu$ g/mL)				Octyl G ( $\mu$ g/mL)			
24h	none	12.5	6.25	3.125	1.5625			3.125	1.5625	none	12.5	6.25	3.125	1.5625	none	1.5625	none	1.5625	none	1.5625	none	1.5625	none				
	24h	24h	24h	24h	24h			24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h					
	128	4	16	32	64			$\leq 0.063$	0.125	0.125	32	8	32	16	32	16	128	64	0.125	1							
	64	1	2	8	32			0.125	0.125	0.5	4	2	8	1	2	16	32	32	0.25	1							
MRSA COL		256	1	16	64	64		0.125	0.125	0.25	32	4	8	4	16	8	128	128	0.25	0.5							
MRSA Mu3		512	32	64	256	512		0.25	0.25	0.5	64	64	256	64	128	64	128	256	1	4							

[0054] [表9]

48h	9.10.06																								9.10.06																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
	Oxacillin MIC( $\mu$ g/mL)																								Oxacillin MIC( $\mu$ g/mL)																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
	Isoamyl G or Propyl G												Isoamyl G												Propyl G												Isoamyl G																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
	none						25						12.5						6.25						25						1.5625						none																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
	Octyl G						Octyl G						Octyl G						Octyl G						Octyl G						Octyl G						Octyl G																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
	none	12.5	6.25	3.125	1.5625	3.125	1.5625	none	12.5	6.25	3.125	1.5625	none	12.5	6.25	3.125	1.5625	none	1.5625	none	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h

今回、1度菌の発育が阻害され、それより高濃度で再び発育し、また阻害されるという結果がいくつかあった。

MICは、菌が再び発育しない濃度とした。

MICより低濃度で発育の阻害が見られたときは、「阻害濃度区間」の左のカラムに最も低濃度の発育阻止濃度を、右のカラムに再び菌が発育する直前の阻止濃度を示した。

[0055] 表10は、臨床分離株MRSAにおけるオキサシリン単独のMIC値とオクチルガレート併用時のオキサシリンのMIC値を示している。

[0056] すなわち、2倍段階寒天平板希釈法を用いて測定した、オキサシリン単独のMIC値と、オクチルガレートを併用したときのオキサシリンのMIC値を、試験した各菌株について示している。12.5  $\mu$ g/mLのオクチルガレート併用時に、いくつかの菌株においてILSMR効果を確認することができ、25  $\mu$ g/mLのオクチルガレート併用時では、オクチルガレートのみで全ての菌株において増殖阻害効果が確認された。

[0057] [表10]

臨床分離株MRSAにおけるオキサシリン単独及び オクチルガレート併用時のオキサシリンのMIC

Strain	Oxacillin MIC ( $\mu$ g/mL)			
	Octyl gallate ( $\mu$ g/mL)			
	None	25	12.5	6.25
MRSA #1	512	ND	128	256
MRSA #2	256	ND	128	128
MRSA #3	128	ND	64	128
MRSA #4	256	ND	128	256
MRSA #5	256	ND	128	256
MRSA #6	128	ND	32	64
MRSA #7	256	ND	256	256
MRSA #8	256	ND	64	128
MRSA #9	256	ND	128	256
MRSA #10	128	ND	64	128
MRSA #12	256	ND	128	256
MRSA #13	256	ND	128	256
MRSA #16	256	ND	128	256
MRSA #17	256	ND	64	128
MRSA #18	256	ND	256	256
MRSA #19	256	ND	128	256
MRSA #20	32	ND	4	32
MRSA #21	64	ND	16	64
MRSA #22	64	ND	16	32
MRSA COL	512	ND	128	256
MRSA Mu3	512	ND	256	512



[0058] 表11は、オキサシリンにオクチルガレートを用いた際に、オキサシリンのMIC値を $2\mu\text{g/mL}$ 以下にするために必要なオクチルガレートの濃度を、それぞれの菌株について示している。すなわち、短鎖ガレート類を共存させずにオクチルガレートのみを用いた場合と、オクチルガレートに加えてイソアミルガレートもしくはプロピルガレートを併用した場合について示している。 $25\mu\text{g/mL}$ のイソアミルガレートを共存させたときは、オキサシリンのMICを $2\mu\text{g/mL}$ にするためには、 $1.56\mu\text{g/mL}$ のオクチルガレートを併用すれば十分であることがわかる。

[0059] [表11]

臨床分離株MRSAにおける短鎖アルキルガレート存在下でのオクチルガレートの併用によるオキサシリン感受性増強効果

Strain	OxacillinのMICを2 $\mu$ g/mL以下にするために必要なoctyl gallateの併用濃度( $\mu$ g/mL)				
	None	Isoamyl gallate( $\mu$ g/mL)		Propyl gallate( $\mu$ g/mL)	
		25	12.5	6.25	25
MRSA #1	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25
MRSA #2	25	1.56	12.5	>12.5	3.13
MRSA #3	25	1.56	>12.5	>12.5	3.13
MRSA #4	25	1.56	>12.5	>12.5	ND
MRSA #5	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25
MRSA #6	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25
MRSA #7	25	1.56	12.5	>12.5	3.13
MRSA #8	25	1.56	6.25	>12.5	3.13
MRSA #9	25	1.56	12.5	>12.5	3.13
MRSA #10	25	1.56	1.56	6.25	3.13
MRSA #12	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25
MRSA #13	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25
MRSA #16	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25
MRSA #17	25	1.56	12.5	>12.5	6.25
MRSA #18	25	1.56	>12.5	>12.5	ND
MRSA #19	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25
MRSA #20	25	1.56	1.56	>12.5	3.13
MRSA #21	25	1.56	6.25	>12.5	1.56
MRSA #22	25	1.56	6.25	>12.5	1.56
MRSA COL	25	1.56	>12.5	>12.5	1.56
MRSA Mu3	25	1.56	>12.5	>12.5	6.25

[0060] 表12は、臨床分離株MRSAにおけるオクチルガレートによるオキサシリン感受性増強作用の短鎖アルキルガレート併用効果を調べたものであるが、表7で示したオキサシリンのMIC値を2 $\mu$ g/mL以下にするために必要なオクチルガレートの濃度を、Rangeと、 $C_{50}$ 、 $C_{100}$ でまとめた。 $C_{50}$ 、 $C_{100}$ はそれぞれ、50%、100%の菌株が2 $\mu$ g/mL以下のオキサシリンによって増殖阻止できるようなオクチルガレートの併用濃度である。プロピルガレートを25 $\mu$ g/mLで共存在させると、6.25 $\mu$ g/mLのオクチル

ルガレートの併用により100%のMRSA株が $2\mu\text{g/mL}$ 以下のオキサシリンによって増殖阻止され、イソアミルガレートを $25\mu\text{g/mL}$ で共存在させると、 $1.56\mu\text{g/mL}$ のオクチルガレートの併用により100%のMRSA株が $2\mu\text{g/mL}$ 以下のオキサシリンによって増殖阻止された。なお、 $2\mu\text{g/mL}$ のオキサシリンのMIC値は、感受性株(MSSA)の指標とされる。

[0061] [表12]

臨床分離株MRSAにおけるオクテリゲレートによるオキサシリン感受性増強活性に対する短鎖アルキルゲレート併用効果

Conc.	OxacillinのMICを2μg/mL以下にするために必要なoctyl gallateの併用濃度(μg/mL)		
	Range	C <sub>50</sub>	C <sub>100</sub>
None	25	25	25
Propyl gallate	6.25	12.5 - >12.5	>12.5
	12.5	6.25 - 12.5	>12.5
	25	1.56 - 6.25	6.25
Isoamyl gallate	6.25	6.25 - >12.5	>12.5
	12.5	1.56 - >12.5	>12.5
	25	1.56	1.56

[0062] 3. 殺ウイルス活性と抗ウイルス活性の増強

1) 殺ウイルス活性の増強 (図3)

図3中の白丸はドデシルガレート単独での殺インフルエンザウイルス作用である。そこに100  $\mu$ g/mlのヘキシルガレートを共存させた時の作用を図3中に白四角で示したが、ドデシルガレートの殺ウイルス作用が非常に増強され20  $\mu$ g/mlでも生き残りが見られなかった。この濃度では殺ウイルス作用の見られないブチルガレートの添加(白三角)によっても、ドデシルガレートの殺ウイルス作用が非常に増強され、種々調べた結果、アルキルガレートA(アルキル鎖の炭素数が5~16)による殺ウイルス活性は、アルキルガレートAよりもアルキル鎖の炭素数が小さいアルキルガレートBにより増強された。

2) 抗ウイルス活性の増強 (図4)

インフルエンザウイルスのMDCK細胞でのウイルスの増殖をオクチルガレートは抑制するが、その増殖抑制は、抗ウイルス活性のない濃度のプロピルガレートにより、顕著に増強された。

[0063] 種々調べた結果、アルキルガレートA(アルキル鎖の炭素数が5~16)による抗ウイルス活性は、アルキルガレートAよりもアルキル鎖の炭素数が小さいアルキルガレートBにより増強された。

[0064] 本発明の対象バクテリア、真菌、ウイルスを表13に記した。

[0065] [表13]

Gram-positive bacteria	Gram-negative bacteria	Viruses
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>	Bovine Spongiform Encephalopathy(BSE)
<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bartonella henselae</i>	Creutzfeldt-Jakob Disease(CJD)
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bordetella pertussis</i>	Cytomegalovirus(CMV)
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Corona virus
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Borrelia recurrentis</i>	Dengue Virus
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Brucella suis</i>	Ebola Virus
<i>Clostridium tetani</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	Enteroviruses(poliovirus)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Epstein-Barr Virus
Enterococci	<i>Campylobacter jejuni</i>	Hantavirus
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Hepatitis A Virus(HAV)
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Hepatitis B Virus(HBV)
<i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positive)	<i>Escherichia coli</i>	Hepatitis C Virus(HCV)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (coagulase negative)	<i>Francisella tularensis</i>	Herpes Simplex Virus(HSV) 1 & 2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Human Immunodeficiency Virus(HIV)
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	Human Papillomavirus(HPV)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	Influenza Virus
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	Measles Virus
<i>Mycobacterium leprae</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Mumps Virus
Mycobacteria other than tuberculosis (M.O.T.T.)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Nipah Virus
<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Noro virus
<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Rabies Virus
<i>Propionibacterium granulosus</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	Respiratory Syncytial Virus(RSV)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rhinovirus
	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Rubella Virus
	<i>Rickettsia rickettsii</i>	SARS Corona virus
	<i>Salmonella enteritidis</i>	Varicella-Zoster Virus
	<i>Salmonella typhi</i>	West Nile Virus
	<i>Shigella sonnei</i>	Yellow Fever Virus
	<i>Treponema pallidum</i>	
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Fungi
	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Candida albicans</i>
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Coccidioides immitis</i>
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
	<i>Yersinia pestis</i>	Dermatophytes( <i>Trichophyton</i> , <i>Microsporum</i> , <i>Epidermophyton</i> )
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>
		<i>Sporothrix schenckii</i>

[0066]

表14~16は、オクチルガレートによるヘルペスウイルス(HSV-1)とインフルエン

ザウイルスに対する殺ウイルス活性は、J1816とプロピルガレートとの添加により、著しく増強されることを示している。

[0067] 6mg/LのJ1816の共存下では、2mg/Lのオクチルガレート(J1816非存在下では20mg/L)によって、HSV-1は細胞への感染能を完全に消失した。同様に、インフルエンザウイルスの場合にも、30mg/LのJ1816の存在下(J1816非存在下では60mg/L)で、10mg/Lのオクチルガレートによって、細胞への感染能を完全に消失した。従って、オクチルガレートによるヘルペスウイルス(HSV-1)とインフルエンザウイルスに対する殺ウイルス活性は、J1816の添加により、著しく増強されたことがわかる。

[0068] [表14]

オクチルガレート、J1816、そしてプロピルガレートとの共存によるHSV-1に対する殺ウイルス活性

#1octyl gallate (mg/L)	#2propyl gallate (mg/L)	J1816 (mg/L)	Na3citrate	No of plaques
0		0	0.90%	182
10		30	0.90%	0
20		60	0.90%	0
30		90	0.90%	0
60		180	0.90%	0
100		300	0.90%	0
0	300	90	0.90%	0
10	300	120	0.90%	0
20	300	150	0.90%	0
30	300	180	0.90%	0
60	300	270	0.90%	0
100	300	390	0.90%	0
	0		0.90%	128
	100	30	0.90%	0
	200	60	0.90%	0
	300	90	0.90%	0
	400	120	0.90%	0
	500	150	0.90%	0
60		180		0
		150	0.90%	0
		300	0.90%	0

#1: Octyl gallate (1mg/ml) was solubilized in 1mM phosphate buffer containing 3 mg/ml of J1816.

#2: Propyl gallate (5mg/ml) was solubilized in 5mM phosphate buffer containing 1.5 mg/ml of J1816

[0069] [表15]

オクチルガレートとプロピルガレートとの共存によるHSV-1に対する殺ウイルス活性

#3octyl gallate (mg/L)	propyl gallate (mg/L)	J1816 (mg/L)	NaCitrate	No of plaques
0		0	0.90%	158
10		0	0.90%	48
20		0	0.90%	0
30		0	0.90%	0
60		0	0.90%	0
100		0	0.90%	0
0	300	0	0.90%	137
10	300	0	0.90%	11
20	300	0	0.90%	0
30	300	0	0.90%	0
60	300	0	0.90%	0
100	300	0	0.90%	0
	0	0	0.90%	150
	100	0	0.90%	192
	200	0	0.90%	139
	300	0	0.90%	162
	400	0	0.90%	102
	500	0	0.90%	130

#3: Octyl gallate was solubilized with 1M Arginine

#4: Propyl gallate (3mg/ml) was solubilized in 5mM phosphate buffer at pH 6.71

[0070] [表16]



オクチルガレート、J1816、そしてプロピルガレートとの共存によるインフルエンザウイルス A/Aichi (H3N2) に対する殺ウイルス活性

	#1octyl ga	#2propyl galte (mg/L)	J1816 (mg/L)	NaCitrate	No of plaques		
1	0		0	0.90%	256	244	248
2	20		60	0.90%	0		
3	40		120	0.90%	0		
4	60		180	0.90%	0		
5	80		240	0.90%	0		
6	100		300	0.90%	0		
7	0	300	90	0.90%	52		
8	20	300	150	0.90%	0		
9	40	300	210	0.90%	0		
10	60	300	270	0.90%	0		
11	80	300	330	0.90%	0		
12	100	300	390	0.90%	0		
13		0	0	0.90%	214		
14		100	30	0.90%	84		
15		200	60	0.90%	87		
16		300	90	0.90%	53		
17		400	120	0.90%	47		
18		500	150	0.90%	42		
19	60		180		0		
20			50		118		
21			100		100		
22			150		84		
23			200		78		
24			300		88		
25			400		—		
26			500		76		

#1: Octyl gallate (1mg/ml) was solubilized in 1mM phosphate buffer containing 3 mg/ml of J1816.

#2: Propyl gallate (5mg/ml) was solubilized in 5mM phosphate buffer containing 1.5 mg/ml of J1816

[0071] また、図5は、オクチルガレートによるHSV-1の殺ウイルス活性が、60mg/Lのプロピルガレートによって顕著に増強されたことを示している。

[0072] 図6は、インフルエンザB/T/1/05に対するオクチルガレートとプロピルガレートとの併用による殺ウイルス時間の短縮を示している。プロピルガレート単独での殺活性は弱い、オクチルガレートと併用することにより、殺ウイルスに要する時間が大幅に短縮されることが分かる。

[0073] 図7～12の実験は、37℃で行った。ウイルスによる感染能の測定は、MDCK細胞を用い、プラークアッセイ法で、測定した。

[0074] 図7より、オクチルガレートはインフルエンザウイルスB/T/1/05に対し、殺ウイルス活性があるが、図8より、プロピルガレートは、その活性が弱いことが分かる。ところが、オクチルガレートによる殺ウイルス活性は、プロピルガレートとの併用により、顕著に増強されることを図9～12は示しており、図12では、両者の併用により、1分以内に細

胞への感染能が消失しており、極めて有効な殺ウイルス剤となることが期待される。このオクチルガレートによる殺ウイルス活性は、インフルエンザウイルスA/Aichi(H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>)に対しても上記と同様に、プロピルガレートにより増強された。

#### 4. 応用範囲

強力な抗真菌・抗バクテリア・抗ウイルス作用を有し、かつ低毒性であるため、医薬、農薬(家畜動物、養殖魚、ペット、植物)、化粧品および機能性食品に関する下記に示す広範囲の応用が可能である。

- [0075] 1) 外用殺菌消毒一般(手術器具、医療用器具の消毒、医療施設の消毒、手の消毒)院内感染予防
- 2) 耳鼻科領域(鼻腔内MRSAなど除菌)
- 3) 皮膚科領域(褥瘡、熱傷、ニキビの予防と治療、体臭の除去)ニキビ治療用化粧品、シャンプーやボディシャンプーなど
- 4) 口腔歯科領域(風邪の予防と治療、咽頭炎の予防と治療、齲歯の治療と予防、歯周病の治療と予防、口臭の除去と予防、口内炎の治療と予防):うがい薬、薬用歯磨粉、洗口剤
- 5) 眼科領域(細菌、真菌、ウイルス感染の治療と予防、コンタクトレンズの殺菌消毒):目薬、消毒薬
- 6) 婦人科領域(抗菌・抗真菌・抗ウイルス生理衛生用品、HIVなどの殺ウイルス剤)
- 7) 食中毒領域(*Vibrio parahaemolyticus*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio fluvialis*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Plesiomonas shigelloides*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, ノロウイルスなどが引き起こす食中毒の治療と予防):食中毒治療剤と予防剤
- 8) 肺炎治療剤(*Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, 各種ウイルスによる肺炎の治療と予防)、インハレーションによる治療と予防
- 9) 機能性食品(ガムなどに含有させることによる口臭除去、風邪・口内炎の予防お

よび治療)

本発明の抗真菌、抗ウイルス、もしくは抗バクテリア作用を有する薬剤組成物においては、その投与形態として、通常の抗生物質と同様に非経口投与、経口投与、局所投与などが挙げられる。一般的には、注射剤による投与が好適である。この場合注射剤は常法により調製され、注射剤の形態として、適当なビヒクル、たとえば滅菌した蒸留水、生理食塩水等で溶解される場合も含まれる。

[0076] また様々な投薬型で経口投与することもできる。たとえば、錠剤、カプセル、糖などで被覆した錠剤、液状溶液または懸濁液の形態である。

[0077] 予防・治療で用いる上記有効成分の投与量は、年齢、体重、患者の症状および投与経路によって変えることができ、たとえば、成人に対して投与する場合は、1回投与当たり、1mg～3g(体重1kgあたり)を1日に1回から3回経口投与する。これらの投与量および投与経路を変化させることによって最良の治療効果を上げるようにする。

[0078] 本発明の薬剤組成物は、通常、常法に従って調製され、医薬的に適切な形態とされる。たとえば、固体形態では、活性化合物と共に、ラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、トウモロコシ澱粉、およびジャガイモ澱粉などの希釈剤、シリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウムまたはステアリン酸カルシウムおよび／またはポリエチレングリコールなどの滑沢剤、澱粉、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリジンなどの結合剤、澱粉、アルギン酸、アルギン酸塩、グリコール酸デンプンナトリウムなどの崩壊剤、発泡剤、色素、甘味料、例えばレシチン、ポリソルベート、ラウリル硫酸塩などの湿潤剤、および一般に非毒性および医薬的処方に用いられる薬学的に非活性な物質を含んでもよい。これらの薬剤組成物は既知の方法、例えば混合、粒状化、錠剤化、糖衣、被覆などにより製造される。

[0079] 非経口投与の場合、直腸への適用を意図した坐剤でも可能であるが、汎用剤形は注射剤である。注射剤では液体製剤、用時溶解型製剤、懸濁製剤などの外観を異にする剤形があるが、基本的には活性成分を適当な方法により無菌化したのち、直接容器に入れ、密封する点で同一と考えられる。

[0080] 最も簡単な製剤化法としては、活性有効成分を適当な方法により無菌化したのち、

これを別々に、または物理的に混合した後、その一定量を分割製剤化する方法がある。液剤形態を選ぶ場合には活性成分を適当な媒体に溶解し、これを滅菌濾過したのち適当なアンプルまたはバイアルに充填、密封する方法をとることができる。

[0081] この場合汎用される媒体は注射用蒸留水であるが、本発明においては、これに拘束されるものではない。また必要ならば、塩酸プロカイン、塩酸キシロカイン、ベンジルアルコールおよびフェノールなどの局所麻酔作用を有する無痛化剤、ベンジルアルコール、フェノール、メチルまたはプロピルパラベン、およびクロロブタノールなどの防腐剤、クエン酸、酢酸、リン酸のナトリウム塩などの緩衝剤、エタノール、プロピレングリコール、塩酸アルギニンなどの溶解補助剤、L-システイン、L-メチオニン、L-ヒスチジンなどの安定化剤、さらには等張化剤などの添加剤を添加することも可能である。

#### 5. アルキルガレート水溶液の作製法

アルキルガレートは、疎水性が高く水に難溶で製剤化が困難であった。本発明は、アルキルガレートの透明な水溶液の作製法に関する。アルキルガレート1重量部、非イオン性界面活性剤1～10重量部、水100～5000重量部をミキサーや超音波などで混合しながら、30～95℃に加温することにより溶解すると乳白色となるが、室温(0～30℃ぐらい)まで冷却することにより透明な水溶液を作製することができる。非イオン性界面活性剤としては、ショ糖脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンヒマシ油・硬化ヒマシ油、グリセリン脂肪酸エステル、ポリエチレンマクロゴールなどが挙げられる。

[0082] 例1: オクチルガレート100mg、ショ糖ステアリン酸エステル(三菱化学フーズ株式会社 J1816)300mg、水100mlを高速ミキサーで混合し、約60～70℃に加温すると乳白色となる。室温まで放置すると透明な水溶液が得られる。

[0083] 例2: 50～70℃に加温したMilli-Q水約60mlにオクチルガレート100mgを加え、激しく振とうし、完全に分散後、あらかじめMilli-Q水で可溶化しておいたショ糖脂肪酸エステル(通常10mg/ml、三菱化学フーズ株式会社製、J1216(D1216)、J1416(D1416)、J1616(D1616)、J1816(D1816)など)10～35mlを加え、攪拌すると無色透明な水溶液が得られる。次いで、Milli-Q水を加えて全容量を100mlにする。

[0084] 例3: 約60～70℃に加温したMilli-Q水100mlにプロピルガレート300～500mgを

添加し、激しく振とうすると無色透明な水溶液が得られる。

- [0085] 例4:オクチルガレート100mg、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(日光ケミカル株式会社製 HCO-60) 500mg、水100mlを高速ミキサーで混合し、約60～70℃に加温するとやや乳白色となる。室温まで放置すると透明な水溶液が得られる。
- [0086] 例5:プロピルガレート500mg、5mMリン酸緩衝液( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ — $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、pH6.5)、Milli-Q水100ml(50～60℃)を混合し、Potter-Elvehjemテフロン(登録商標)ガラスホモジナイザーなどの高速ホモジナイザーでホモジナイズすると無色透明な水溶液が得られる。なお、得られた水溶液は、褐色ガラス瓶に保存する。水溶液の調整中も遮光することが望ましい。保存は、室温または冷蔵保存する。得られたアルキルガレート水溶液中に含まれている空気をアルゴンガス、Heガス、 $\text{N}_2$ ガスなどで置換するか、あるいは抗酸化剤を添加すると永く保存が可能である。
- [0087] 例6:オクチルガレート100mg、ショ糖ステアリン酸エステル(三菱化学フーズ株式会社J1816) 100～300mgに60～70℃に加温したMilli-Q水約50mlを加え、Potter-Elvehjemテフロン(登録商標)ガラスホモジナイザーにより高速でホモジナイズすると、無色であるが若干濁度のある水溶液が得られる。得られた水溶液にMilli-Q水を加えて、100mlとする。保存は、室温または冷蔵保存する。
- [0088] 例7:オクチルガレート100mgにポリエチレングリコール(第1工業製薬株式会社、マクロゴール # 6000) 100～500mg、Milli-Q水約50mlを加え、40～70℃に加温するとともに攪拌溶解後、ショ糖ステアリン酸エステル(三菱化学フーズ株式会社 J1816) 100～300mgを添加後、Potter-Elvehjemテフロン(登録商標)ガラスホモジナイザーで高速でホモジナイズすると、完全に透明な水溶液が得られる。Milli-Q水を加えて100mlにする。保存は、室温または冷蔵保存する。
- [0089] 例8:約70℃に加温したMilli-Q水100mlにオクチルガレート10mgを添加し、激しく振とうし、完全に分散後、アルギニン塩酸塩1Mを添加すると、無色透明な水溶液が得られる。アルギニン塩酸塩は、ブチロイルアルギニン塩酸塩などのアルキルアルギニン塩酸塩であってもよい。
- [0090] 例9:殺真菌・殺ウイルス・殺バクテリアのカクテルの調製  
殺真菌・殺ウイルス・殺バクテリアのカクテルとして下記のカクテルを調製した。

Optimized formulation (1)

Octyl gallate < 200 mg/L (なお、この上限濃度は、日本の厚生労働省により、医薬部外品として許容されている濃度である。)

Propyl gallate < 2,000 mg/L (なお、この上限濃度は、日本の厚生労働省により、医薬品添加物として許容されている濃度である。)

J1816 < 2,000 mg/L

Trisodium citrate or Disodium Hydrogen citrate < 4 % (w/v)

$\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$  < 10 mM

Polyethyleneglycol

Macrogol #6000 < 100 mg/L

アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウム、ビタミンEなどの抗酸化剤 < 1,000 mg/L

Final pH: 4-8

上記のMacrogol #6000を含有するカクテルを歯ブラシに付けて歯を磨くと、歯垢や歯石が簡単にとれることが判明した。

[0091] なお、例9で得られたカクテルの水溶液中に含まれている空気をアルゴンガス、 $\text{He}_2$ や $\text{N}_2$ ガスなどで置換すると永久保存が可能である。

[0092] 例10: 殺真菌・殺ウイルス・殺バクテリアのカクテルの調製

殺真菌・殺ウイルス・殺バクテリアのカクテルとして下記のカクテルを調製した。

Optimized formulation (2)

Octyl gallate < 200 mg/L

Propyl gallate < 2,000 mg/L

J1216 < 600 mg/L

Disodium hydrogen citrate < 4 % (w/v)

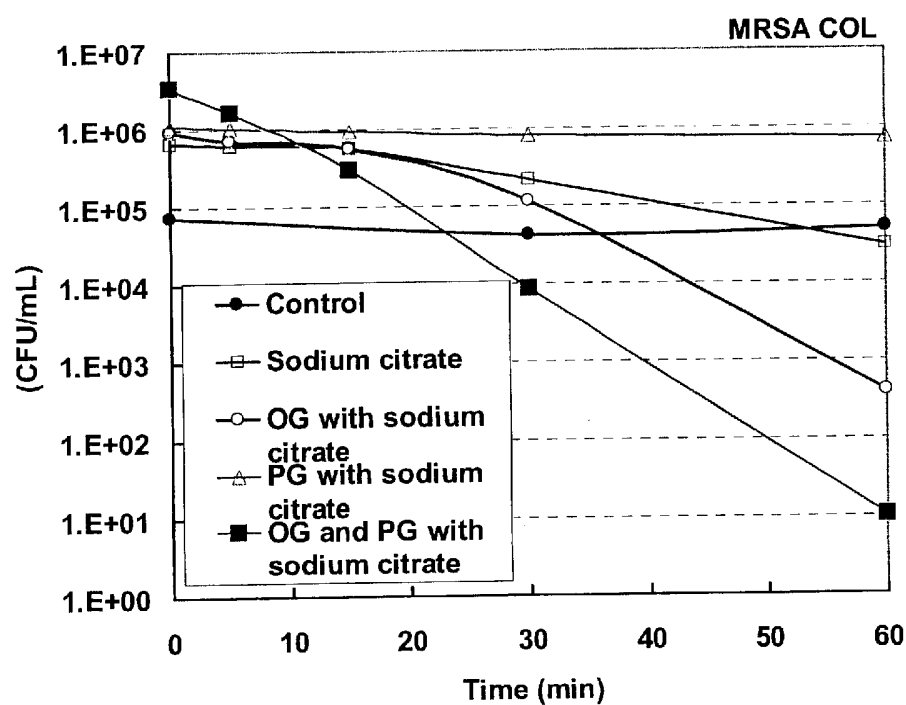
リン酸バッファーなどの緩衝液

抗酸化剤(sodium ascorbateやビタミンEなど)

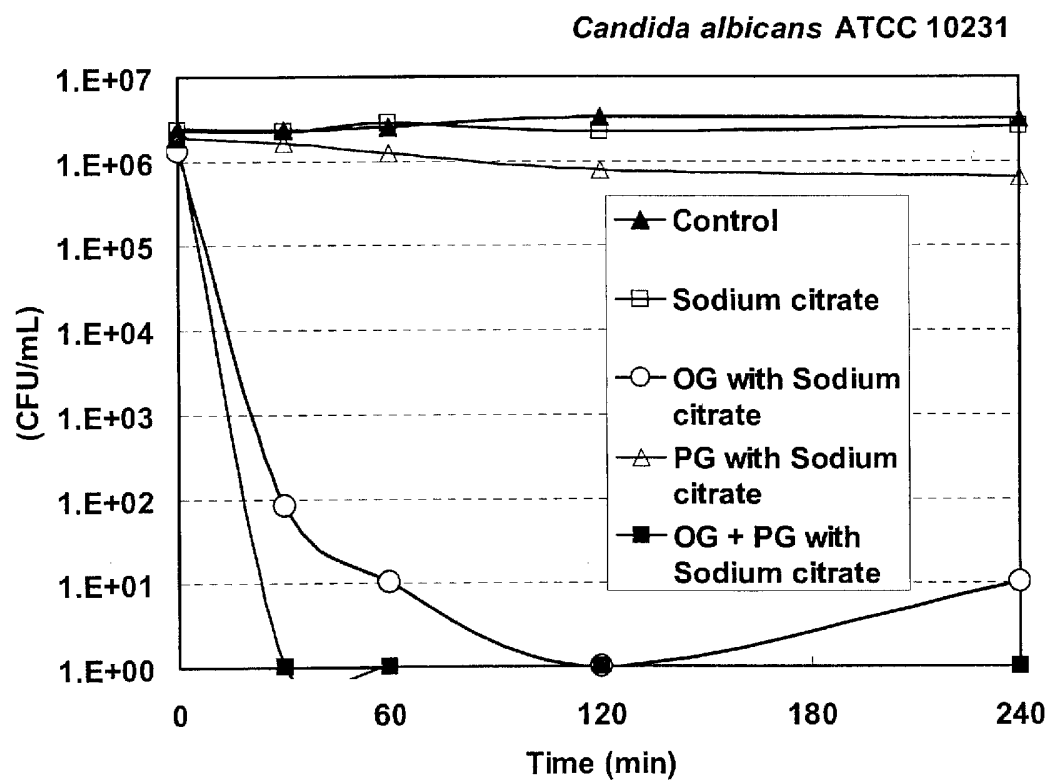
## 請求の範囲

- [1] アルキル基とガロイル基がエステル結合しているアルキルガレート抗真菌、抗ウイルス、もしくは抗バクテリア作用の有効成分としている薬剤組成物であって、下記の2種類のアルキルガレート:
- (A)アルキル基の炭素数が5～16の範囲のアルキルガレート、および
- (B)アルキル基の炭素数が前記(A)のものより小さいアルキルガレート
- を含有することを特徴とするアルキルガレート薬剤組成物。
- [2] アルキルガレート(B)のアルキル基の炭素数が2～7の範囲であることを特徴とする請求項1に記載のアルキルガレート薬剤組成物。
- [3] (C)アルカリ金属塩、ホウ酸、ホウ酸ナトリウム、および有機塩から選ばれる少なくとも1種を含有することを特徴とする請求項1または2に記載のアルキルガレート薬剤組成物。
- [4] 非イオン界面活性剤、ポリエチレングリコール、およびアルギニンまたはその誘導体の塩酸塩から選ばれる少なくとも1種と共に水溶液中にて混合することにより、あるいはpH緩衝液中にて混合することによりアルキルガレートが可溶化された水溶液であることを特徴とする請求項1から3のいずれかに記載のアルキルガレート薬剤組成物。
- [5] アルキルガレート1重量部に対して、非イオン界面活性剤1～10重量部および水100～5000重量部を混合することによりアルキルガレートが可溶化された水溶液であることを特徴とする請求項4に記載のアルキルガレート薬剤組成物。
- [6] 30～95℃の温度において加熱混合し、次いで室温まで冷却することによりアルキルガレートが可溶化された水溶液であることを特徴とする請求項5に記載のアルキルガレート薬剤組成物。

[図1]

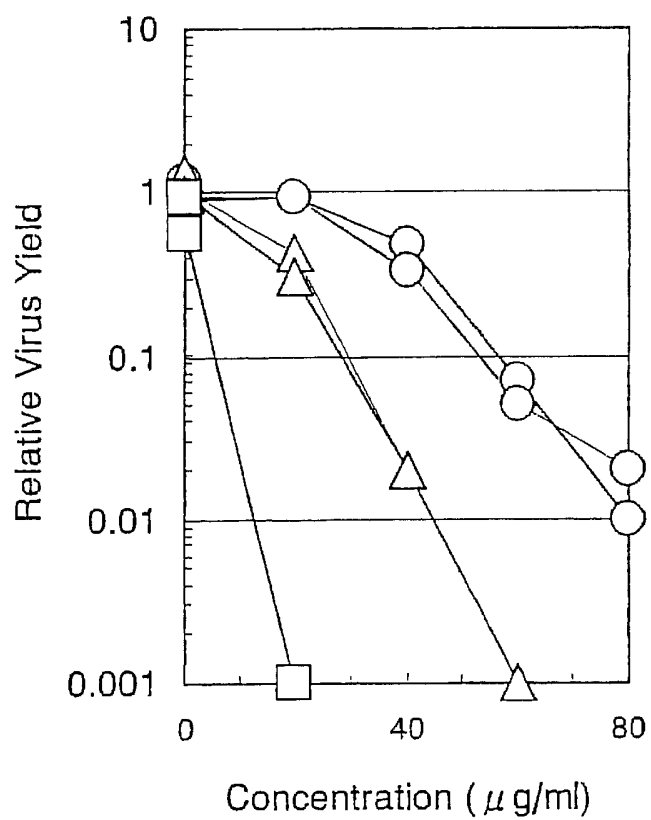


[図2]





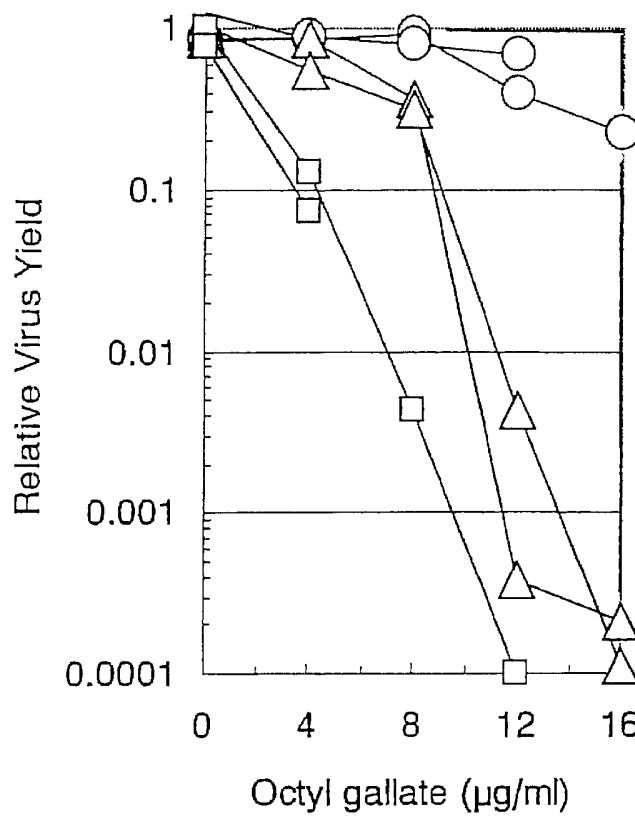
[図3]



○ none

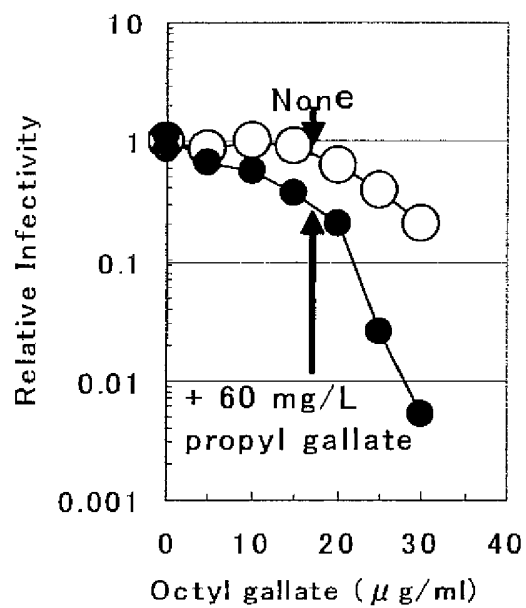
 $\Delta$  100  $\mu\text{g/ml}$  butyl gallate  $\square$  100  $\mu\text{g/ml}$  hexyl gallate

[図4]

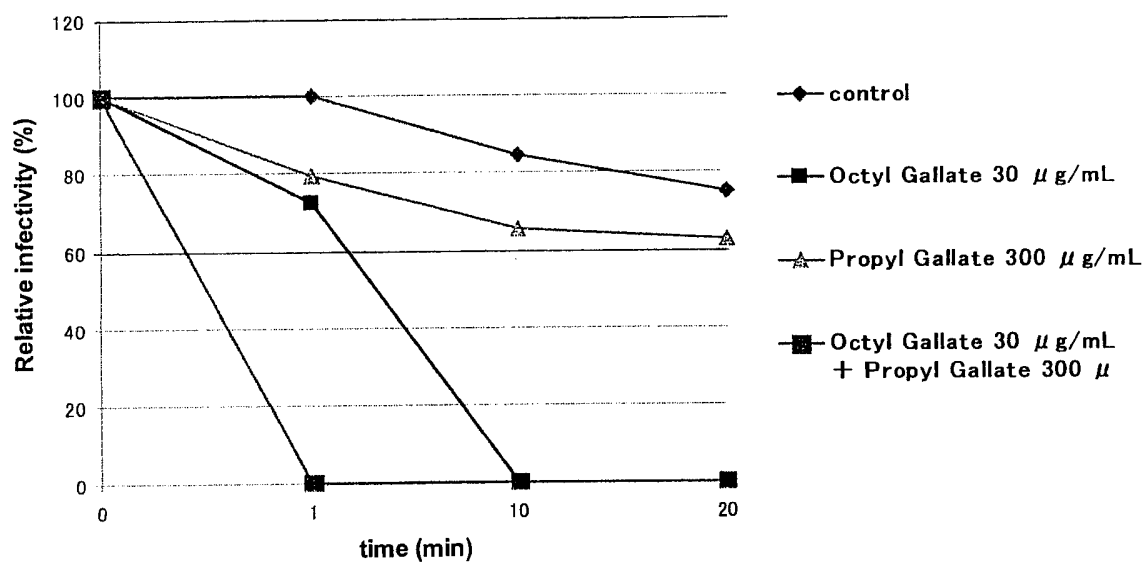


○ none    △ 20 μg/ml propyl gallate    □ 80 μg/ml propyl gallate

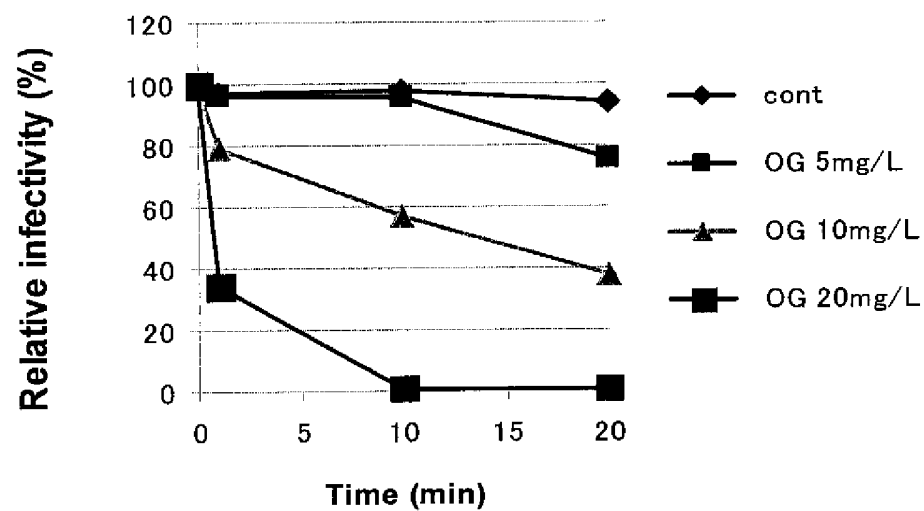
[図5]



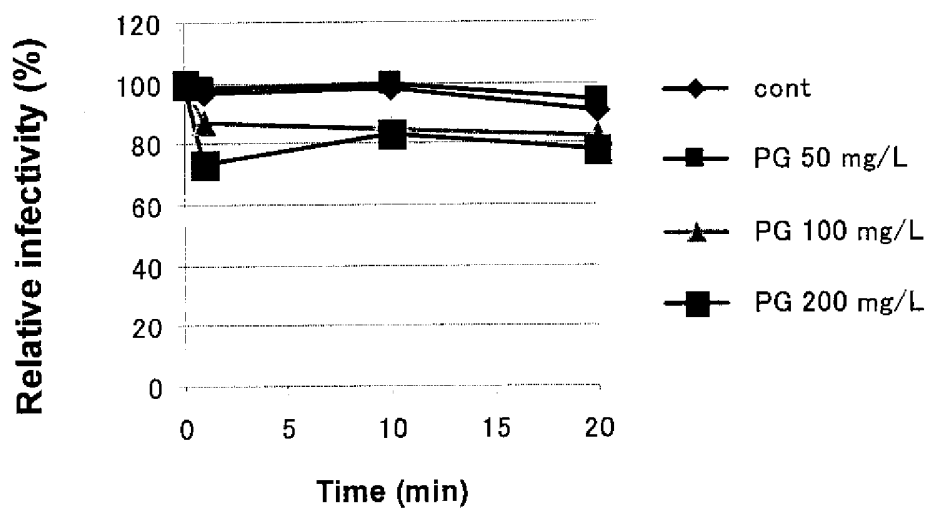
[図6]



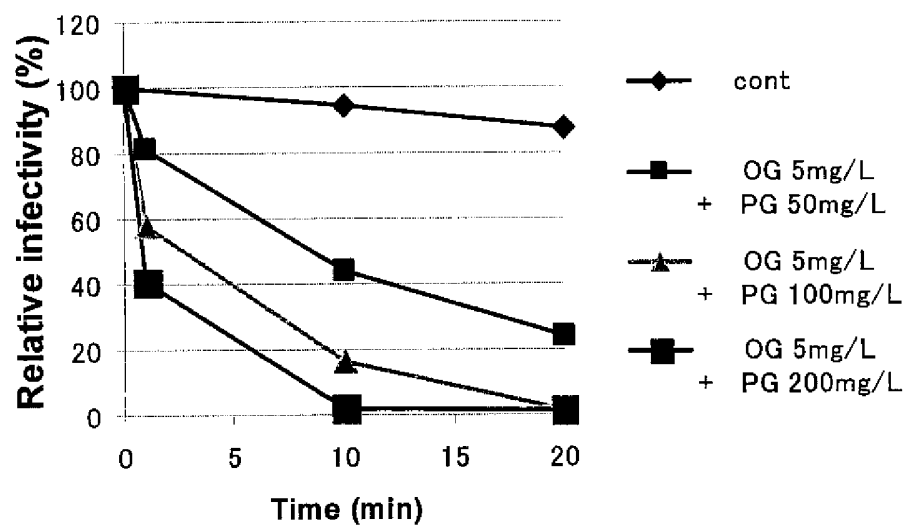
[図7]



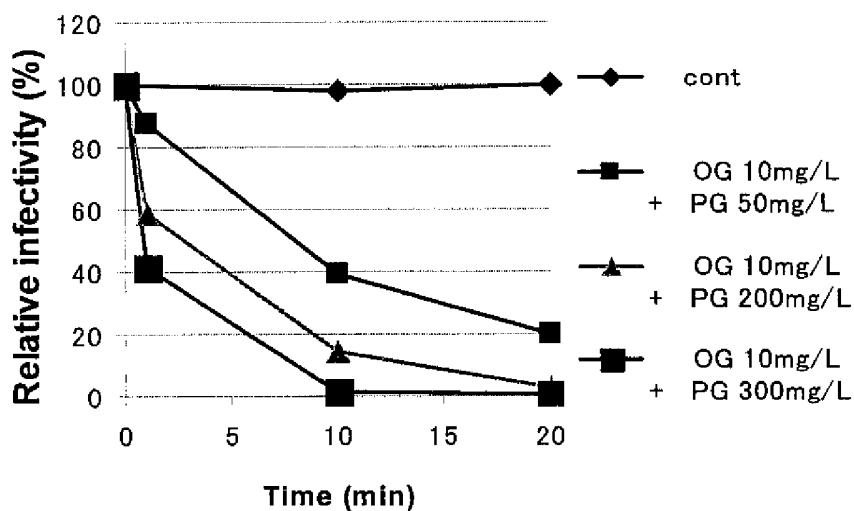
[図8]



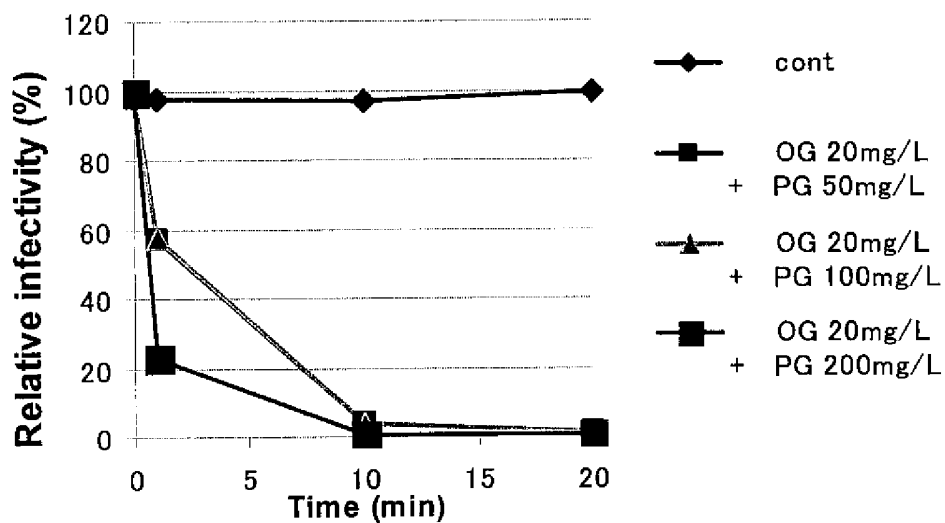
[図9]



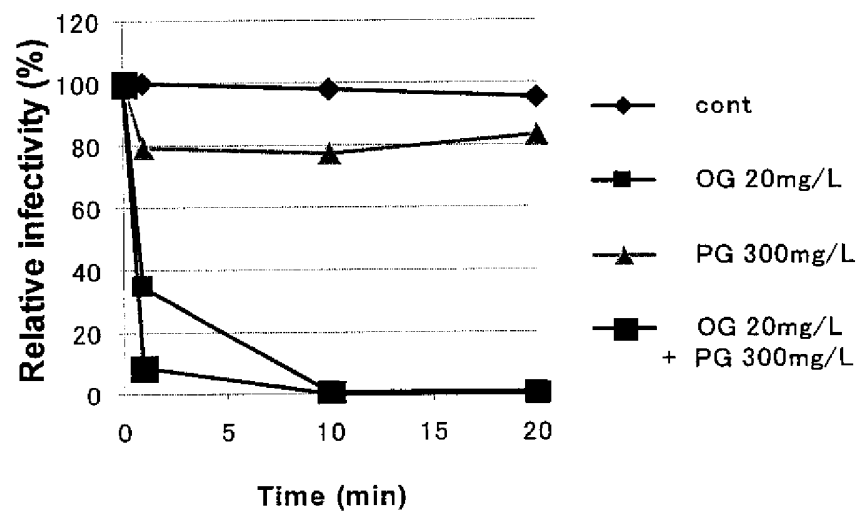
[図10]



[図11]



[図12]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/075197

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/235(2006.01)i, A61K9/08(2006.01)i, A61K47/02(2006.01)i, A61K47/18(2006.01)i, A61K47/26(2006.01)i, A61K47/34(2006.01)i, A61P31/04(2006.01)i, A61P31/10(2006.01)i, A61P31/12(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)

A61K31/235, A61K9/08, A61K47/02, A61K47/18, A61K47/26, A61K47/34, A61P31/04, A61P31/10, A61P31/12

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	1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2008	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2008

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

BIOSIS (STN), Cplus (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), JMEDplus (JDream2), JST7580 (JDream2), JSTplus (JDream2)

## 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 2006-306836 A (Microbiotech Inc.), 09 November, 2006 (09.11.06), Claim 1; Par. No. [0030] & WO 2007/080669 A1	1-6 1-6
X Y	JP 09-194358 A (Alps Pharmaceutical Ind. Co., Ltd.), 29 July, 1997 (29.07.97), Claim 2 (Family: none)	1-6 1-6
X Y	WO 2004/066992 A1 (Alps Pharmaceutical Ind. Co., Ltd.), 12 August, 2004 (12.08.04), Tables 3-1, 3-2 & EP 1604660 A1 & US 2006/235076 A1	1-6 1-6

☐ 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  
11 March, 2008 (11.03.08)

Date of mailing of the international search report  
25 March, 2008 (25.03.08)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/235 (2006.01) i, A61K9/08 (2006.01) i, A61K47/02 (2006.01) i, A61K47/18 (2006.01) i,  
A61K47/26 (2006.01) i, A61K47/34 (2006.01) i, A61P31/04 (2006.01) i, A61P31/10 (2006.01) i,  
A61P31/12 (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. A61K31/235, A61K9/08, A61K47/02, A61K47/18, A61K47/26, A61K47/34, A61P31/04, A61P31/10, A61P31/12

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 0 8 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 8 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 8 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)

BIOSIS (STN), C Aplus (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), JMEDPlus (JDream2),  
JST7580 (JDream2), JSTPlus (JDream2)

## 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 請求の範囲の番号
X Y	JP 2006-306836 A (株式会社マイクロバイテック) 2006. 11. 09, 請求項 1、段落【0030】 & WO 2007/080669 A1	1 - 6 1 - 6
X Y	JP 09-194358 A (アルプス薬品工業株式会社) 1997. 07. 29, 請求項 2 (ファミリーなし)	1 - 6 1 - 6

☒ 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

1 1 . 0 3 . 2 0 0 8

国際調査報告の発送日

2 5 . 0 3 . 2 0 0 8

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)

大久保 元浩

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

4 1 4 8

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 請求の範囲の番号
X	WO 2004/066992 A1 (アルプス薬品工業株式会社) 2004. 08. 12,	1 - 6
Y	表 3 - 1 , 3 - 2 & EP 1604660 A1 & US 2006/235076 A1	1 - 6