

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3875262号

(P3875262)

(45) 発行日 平成19年1月31日(2007. 1. 31)

(24) 登録日 平成18年11月2日(2006. 11. 2)

(51) Int. Cl.		F I
A 6 1 K 33/00	(2006. 01)	A 6 1 K 33/00
A 6 1 K 33/14	(2006. 01)	A 6 1 K 33/14
A 6 1 K 47/12	(2006. 01)	A 6 1 K 47/12
A 6 1 P 31/04	(2006. 01)	A 6 1 P 31/04

請求項の数 22 (全 8 頁)

<p>(21) 出願番号 特願平7-521669 (86) (22) 出願日 平成7年2月17日(1995. 2. 17) (65) 公表番号 特表平9-508921 (43) 公表日 平成9年9月9日(1997. 9. 9) (86) 国際出願番号 PCT/GB1995/000338 (87) 国際公開番号 W01995/022335 (87) 国際公開日 平成7年8月24日(1995. 8. 24) 審査請求日 平成14年2月15日(2002. 2. 15) (31) 優先権主張番号 9403284. 4 (32) 優先日 平成6年2月21日(1994. 2. 21) (33) 優先権主張国 英国(GB) (31) 優先権主張番号 9404365. 0 (32) 優先日 平成6年3月7日(1994. 3. 7) (33) 優先権主張国 英国(GB)</p>	<p>(73) 特許権者 アバディーン ユニヴァーシティ イギリス国, アバディーン エービー2 1アールワイ, セイント マーチャー ド ライブ 23, オーリス ビジネス セン ター (74) 代理人 弁理士 志賀 正武 (72) 発明者 ベンジャミン, ニーゲル イギリス国, アバディーン エービー2 1アールキュウ, ザ チャノンリー 20 (72) 発明者 ダゴール, ハミッシュ イギリス国, アバディーン エービー1 7ワイビー, シーフィールド ガーデンズ 10 最終頁に続く</p>
--	--

(54) 【発明の名称】 殺菌剤としての酸性化したニトリット

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

薬剤学的に許容できる酸性化剤と、
薬剤学的に許容できるニトリット源またはそのニトレート前駆体とを含む殺菌投与剤であ
って、

前記酸性化剤、及び、前記ニトリット源またはそのニトレート前駆体が、意図する使用環
境下でニトリットを発生するために混合される薬剤学的に許容できる担体または希釈剤中
にそれぞれ別個に分けられ、

前記担体または希釈剤がクリームまたは軟膏であり、

前記酸性化剤が使用環境下でpHを4未満に下げるために十分な量で存在する殺菌投与剤

10

【請求項2】

酸性化剤が有機酸である請求項1記載の投与剤。

【請求項3】

薬剤学的に許容できるニトリット源またはそのニトレート前駆体と

薬剤学的に許容できる担体または希釈剤を含む殺菌投与剤であって、

薬剤学的に許容できる有機酸である酸性化剤によって酸性化され、

前記有機酸と混合された場合に前記ニトリットが抗菌作用を有する酸化窒素を発生し、

前記有機酸が使用環境下でpHを4未満に下げるために十分な量で存在し、

前記ニトリットが4%以下の濃度で存在する殺菌投与剤。

20

【請求項 4】

前記薬学的に許容できる担体が不活性なクリームまたは軟膏とされ、前記有機酸及び前記ニトリット源が意図する使用環境下でニトリットを発生するために混合されるクリームまたは軟膏中にそれぞれ別個に分けられている、請求項 3 記載の投与剤。

【請求項 5】

酸性化剤がサリチル酸である請求項 1 乃至 4 のいずれかに記載の投与剤。

【請求項 6】

酸性化剤がアスコルビン酸である請求項 1 乃至 4 のいずれかに記載の投与剤。

【請求項 7】

前記ニトレート前駆体がアルカリ金属又はアルカリ土類金属のニトレートである、請求項 1 乃至 6 のいずれかに記載の投与剤。

【請求項 8】

錠剤または液体である請求項 3 又は 5 乃至 7 のいずれかに記載の投与剤。

【請求項 9】

以下の工程から成る、物体（ヒトを除く）を殺菌する方法

- 1) 薬剂的に許容できる酸性化剤と、薬剂的に許容できるニトリット源またはそのニトレート前駆体とを調製する工程、
- 2) 前記物体に接触する液状の担体または希釈剤の中で、前記酸性化剤と前記ニトリット源とを混合し、前記物体を殺菌する殺菌性ニトリットを発生するために pH を 4 未満に下げる工程。

【請求項 10】

前記酸性化剤が有機酸である請求項 9 記載の方法。

【請求項 11】

前記有機酸がサリチル酸である請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

前記前駆体がアルカリ金属又はアルカリ土類金属のニトレートである請求項 9 乃至 11 のいずれかに記載の方法。

【請求項 13】

薬剂的に許容できる酸性化剤と、
薬剂的に許容できる形態のニトリットまたはその前駆体と、
薬剂的に許容できる担体または希釈剤と
を含み、前記酸性化剤が使用環境における pH を 4 未満に下げよう適合されている殺菌組成物。

【請求項 14】

薬剂的に許容できる酸性化剤と、
薬剂的に許容できるニトリット源またはそのニトレート前駆体と
を、有益な殺菌効果を生じさせるための十分な量であり、対象動物において副作用を生じるには不十分な量で含む、動物用補助飼料。

【請求項 15】

前記酸性化剤がサリチル酸またはアスコルビン酸から選択される、請求項 14 記載の動物用補助飼料。

【請求項 16】

ニトリット源が無機ニトレートである請求項 14 又は 15 記載の動物用補助飼料。

【請求項 17】

豚用であって、成体の豚 1 頭に 1 日当たり約 1 g の量を与えるのに十分な量の無機ニトレートが存在する、請求項 16 記載の動物用補助飼料。

【請求項 18】

請求項 3、4 又は 8 に記載の殺菌投与剤の製造における、請求項 3、5 又は 6 に記載の薬剂的に許容可能な有機酸、及び、請求項 3 又は 7 に記載の薬剂的に許容できる形態の

10

20

30

40

50

ニトリット源またはそのニトレート前駆体の使用であって、前記有機酸と混合された場合に前記ニトリットが抗菌作用を有する酸化窒素を発生し、前記酸性化剤が使用環境下でpHを4未満に下げのために十分な量で存在し、前記ニトリットが4%以下の濃度で存在する使用。

【請求項19】

請求項1又は8に記載の殺菌投与剤の製造における、請求項1、5又は6に記載の薬剤学的に許容可能な有機酸、及び、請求項1又は7に記載の薬剤学的に許容できる形態のニトリット源またはそのニトレート前駆体の使用であって、前記酸性化剤、及び、前記ニトリット源またはそのニトレート前駆体が、意図する使用環境下でニトリットを発生するために混合される薬剤学的に許容できる担体または希釈剤中にそれぞれ別個に分けられ、前記担体または希釈剤がクリームまたは軟膏であり、前記酸性化剤が使用環境下でpHを4未満に下げのために十分な量で存在する使用。

10

【請求項20】

請求項1乃至8のいずれかに記載の投与剤であって、ウィルス症状の治療用の投与剤。

【請求項21】

請求項1乃至8のいずれかに記載の投与剤であって、菌症状の治療用の投与剤。

【請求項22】

請求項1乃至8のいずれかに記載の投与剤であって、バクテリア症状の治療用の投与剤。

20

【発明の詳細な説明】

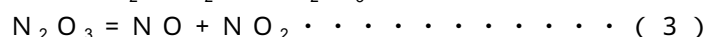
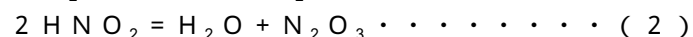
本発明は殺菌剤として用いられる酸性化したニトリット(nitrite)に関する。従来、ニトリットは食物の防腐剤として使用されてきたが、微生物を殺すメカニズムは明らかではなかった。発明者らは低濃度のニトリットが、pHが4より小さいとき動物の体に付着したバクテリアやカビ菌類、ウィルスの数の減少に効果的であることを見出した。このメカニズムが哺乳動物が飲み込んだ微生物を撲滅するために利用されていると思われる。

人体内で腸・唾液循環が活発になると、ニトレート(nitrate)は口内へ間断なく流れ、口内ではニトレートは舌表面のバクテリアによってニトリットに還元される。唾液がニトレートを分泌する効果は、ニトリットの分解によって酸化窒素を生成するための前駆体を発生させることである。

30

要するに、酵母菌であるカンジダアルビカンスと、バクテリアである大腸菌を、胃に見られるのと近い条件の酸が加えられた唾液中で、様々な濃度のニトリットに1時間さらすと、それらの菌の生存において投薬による現象が起こることを発明者らは見出した。この結果として、酸化窒素、あるいは胃と胃腸管、特に胃腸管の上方の中の酸性ニトリットからの亜硝酸の発生が、微生物感染の予防になるということが明らかになった。

口内でバクテリアは急速にニトレートをニトリットに還元する。一度飲み込まれると、胃の酸の条件によってニトリットは亜硝酸(約pKa 3.5)に変化する。以下に示すように、亜硝酸は順に分離して酸化窒素になる。



40

内因性かつ食養生のニトレートは、唾液腺によって血漿中の10倍以上の量まで活発に凝縮され、唾液内に分泌される。このように、唾液は胃腸管の上方側に連続にニトレートを供給する。口内におけるニトレートからニトリットへの変化は急激であり、また人体内の舌表面や、ねずみの舌の奥1/3に限られる。

ニトレートの腸・唾液循環の定義は知られていない。しかし胃酸自身が多く取り込まれた微小有機体を死滅させるために、いつも十分にあるわけではなく、唾液のニトレート分泌とニトリットへの変化との主要な役割は、胃の管腔にある酸化窒素の前駆体である。こうして胃は飲み込まれた微生物を殺す。

上記の定義されたメカニズムはまた、皮膚に付着した微小有機体の破壊にも適用できる。

50

例えば水虫、即ち足白癬である。

クリームや軟膏といった不活性媒介物に含まれる濃度が4%までのニトリットは、サリチル酸のような有機酸に混ぜられたとき、酸化窒素を生成するために反応する。この酸化窒素は皮膚に付く、カビ、酵母菌、バクテリア、ウイルスを含む伝染病の有機体を殺すのに効果がある。ニトリットと酸との混合は、酸化窒素の放出により緩やかな皮膚の紅斑（赤くなること）を引き起こすが、重度の炎症を引き起こすことはない。

上述に定義されたメカニズムはまた、例えば総入れ歯といった対象物を、殺菌用のニトリット溶液を利用して殺菌するのにも有効である。入れ歯殺菌に有効な従来の液は、塩素をベースとする消毒液のため、しばしば不愉快な味がする。ニトリットと酸とを混合すると、殺菌液は少ししか、またはぜんぜん味がしないという結果になる。コンタクトレンズと

10

といった別の対象物も同様に殺菌できる。
豚や他の家畜を育てる場合、胃腸炎は重要な問題であり続けている。腸病源の大腸菌属（特にK88抗原を生じるもの）が、特に関係している。胃酸は、口内の感染に対する障壁となる主要な防御機構の1つであるが、家畜においてより末端にある腸に有機体が到達するのを防ぐには、明らかに効果がない。

本発明の1番目の特徴において、ヒト又は動物体における、バクテリア、ウイルス、及びカビによる異常を治療する投与剤であって、

薬剤学的に許容できる酸性化剤と、

薬剤学的に許容できるニトリットイオン源か、またはニトレートの前駆体と、

薬剤学的に許容できる担体、またはその担体のための希釈剤とを備え、酸性化剤がpH4未満の使用条件下でpHを下げるために十分な量である投与剤が得られる。好ましくは、酸性化剤が例えば、サリチル酸、またはアスコルビン酸といった有機酸である。ニトリットイオンの前駆体がアルカリ金属、またはアルカリ土類金属のニトレートであって、酵素作用によってニトレートに変化することが可能である。

20

薬剤学的に許容できる担体が不活性のクリームまたは軟膏に入れられる。本発明の前述の投与剤において特に、酸性化剤と、ニトリットイオン源とが分かれてそれぞれのクリームまたは軟膏に入れられ、意図的な使用環境においてニトリットイオンを発生させるための混合に用いられる。

酸の合成物は錠剤、または液体である。

本発明の別の特徴において、以下のステップから成る対象を殺菌する方法が提供される。

30

1) 薬剤学的に許容できる酸性化剤と、薬剤学的に許容できるニトリットイオン源が調合され、

2) 前記対象物に接触する液状の担体またはその担体のための希釈剤の中で、前記酸性化剤とニトリットイオン源とが混合され、前記対象物を殺菌する殺菌ニトリットイオンに変えるためにpHが4未満に下げられる。

本発明の別の形態において、殺菌合成物は、薬剤学的に許容できる酸性化剤と、

薬剤学的に許容できる形態のニトリットイオン、またはニトレートの前駆体と、

薬剤学的に許容できる担体またはその担体のための希釈剤とを含み、

酸性化剤が使用環境におけるpHを4未満に下げよう適合される。

本発明のさらに他の形態において、動物の食料補助剤は、薬剤学的に許容できる酸性化剤と、薬剤学的に許容できるニトリットイオン源またはニトレートの前駆体とを含み、有益な抗菌効果を生じさせるための十分な量であり、対象動物において副作用を生じるには不十分な量である。

40

上記のように前記酸性化剤はサリチル酸、またはアスコルビン酸であり、ニトリットイオン源、即ちニトレート前駆体は無機ニトレートである。家畜が豚の場合、食料補助剤には成体の豚1頭が1日当たり約0.3~5.0グラムの間、好ましくは1日当たり1グラムのバランスの取れた投与量を与えられるのを確実にする十分な量だけ含まれるべきである。

本発明の実施形態を、以下の実施例と添付図面を参照して述べる。

図1は、残存カンジダアルピカンスをニトレートと異なる水素イオン濃度にさらす場合の

50

効果を示す図である。縦軸は一定の吸光度単位当たりの光学上の濃度であり、横軸は pH である。

図 2 は、酸のみまたはニトリットを加えた酸とにさらされた後の大腸菌の成長曲線を示す図である。縦軸は一定の吸光度単位当たりの光学上の濃度であり、横軸は時間である。

図 3 は、pH 3 において様々な濃度のニトリットにさらされた後の大腸菌の成長曲線を示す図である。縦軸は一定の吸光度単位当たりの光学上の濃度であり、横軸は時間である。

図 4 は、異なる酸性度において硝酸ナトリウムから酸化窒素が発生する量を示す。縦軸は酸化窒素の濃度 (nM) であり、横軸は pH である。

実施例 1

図 1 を参照する。1 コロニーの カンジダアルビカンス は一晩サブロー培地に漬けられた培養基に植え付けられた。サブロー培地 10 μl はサブロー培地の酸性度を調節するクエン酸塩あるいはリン酸塩 940 μl に加えられた。これに硝酸ナトリウム (50 μl、最終濃度 250 μM) が、または対照実験として蒸留水が加えられた。37 °C で 1 時間培養した後、10 μl を取り出し、37 °C の 96 ウェル・マイクロタイター・プレート (96-Well microtitre plate) の中で、絶え間なく攪拌された (ガレンカンプの回転式のインキュベータ (Gallenkamp orbital incubator)) サブロー標準培地 190 μl に植え付けられた。成長は一定の時間ごとに、570 nm の光学濃度の測定によって測られた。結果は 16 回の実験の平均値である。

ニトリットと、異なる水素イオン濃度に、生きた カンジダアルビカンス をさらした場合の効果を図 1 に示す。白棒は 1 時間酸のみにさらされた時の カンジダアルビカンス の成長を示し、光学的濃度で測定した結果である。黒棒は酸と 250 μM のニトリットにさらされた時の カンジダアルビカンス の成長を示す。p > 0.05 (Mann Whitney U test) では対照実験とは著しい違いが見られる。1 時間、酸のみで カンジダアルビカンス を培養した場合、生存数の連続する成長に対して少しの影響しかない。これに対し 250 μM のニトリットを加えた場合、pH 4 以下のときに、著しく カンジダアルビカンス を殺す。実際、ニトリットは 250 μM 以上の全濃度において pH 1 では カンジダアルビカンス を殺すのに効果的であった (図示しない)。5 nN のニトリットは pH 5 までは カンジダアルビカンス を殺した。通常の食事をしている 10 人の研究室職員の中から無作為に選んだサンプルでは、絶食状態の唾液のニトリットは 23 ~ 220 μM (平均 114 μM) と様々な数値であったが、硝酸カリウム溶液 200 mg を摂取した 45 分後には 409 ~ 1890 μM (平均 1030 μM) に増加した。

実施例 2

図 2 は、酸のみにさらした (白丸) 後の、また酸とニトリット 250 μM にさらした (黒丸) 後の 大腸菌 の成長曲線を示す。対照実験と比較すると、ニトリットを加えた場合 pH 2、3、または 4 において成長が著しく阻害された (p < 0.05)。

実験方法は図 1 と同様の方法が用いられた。ただし、大腸菌 (マックコンケイの寒天上で生育させた NCTC 10418 株) が使用され、サブロー培地の代わりに栄養液 (Oxoid CM1) が用いられた。図 2 に示された結果は、20 回の実験の平均値である。図 2 からわかるように、大腸菌 は カンジダアルビカンス よりも酸の影響を受けやすい。それにも関わらず、pH 2 において 1 時間さらしても有機体を全滅させることができなかった。これは栄養液中で著しく成長したからである。pH 3 では多くの有機体が生き残る。pH 2 で 大腸菌 を除去する媒液に 250 μM ニトリットを加えると、pH 3、pH 4 では著しくこの有機体の生存を阻害する。この濃度のニトリットは pH 4 より大きければ効果がない。

実施例 3

図 3 は、色々な濃度のニトリット (10 ~ 100 μM 最終濃度) にさらされた後の 大腸菌 の成長曲線を示す。方法は図 2 で行われた方法と同じである。図 3 はニトリットの 大腸菌 への有毒効果と、pH 3 におけるニトリット濃度との間に直接的な関係があることを示している。10 μM でさえ区別できる効果が認められ、1 mM では 大腸菌 を全て殺した。

実施例 4

図 4 は異なる酸性濃度における硝酸ナトリウムから発生する酸化窒素の量 (μM) を示す

10

20

30

40

50

。条件は図 1 において有機体をさらすのに用いられたものと同じであった。特に、図 4 に示される最終濃度を達成するためにニトリットがクエン酸塩緩衝液またはリン酸塩緩衝液に加えられた。緩衝液中の酸化窒素濃度は酸化窒素検出器 (ISO-NO、World Precision Instruments) によって計測された。この検出器はマックラボ・アクウィジション・システムとマッキントッシュ・コンピュータに接続された。測定は継続して記録され、読み取りは 2 分ごとに酸化窒素濃度が定まった状態のときに行われた。図 4 は酸化窒素の放出が結果として pH を下げることを示している。図 4 における実験条件の下で発生する酸化窒素は急速に細胞膜を通して広がり、呼吸の酵素を含む硫化鉄への高い親和性を有し、バクテリアの DNA にダメージを与える。活性化された白血球によって酵素のように発生すれば、硝酸はカンジダアルピカンスと同様にリーシュマニア属、ブドウ球菌属、フランシセラ属、ミクロバクテリウムを殺すであろう。付加的ではあるが、酸状態における超酸化物との反応は、よく反応する水酸基を発生するようである。

10

実施例 5

足が微生物学上証明されたカビに感染している 9 人のボランティア患者において、2 % W / W のサリチル酸と、2 % W / W の硝酸ナトリウムとの組み合わせによる効果を詳細に調査する研究では、この治療法を適用すると、1 人の患者以外はみな、身体的処置の 2 週間後に微生物学上において治癒した。症状のスコア (紅斑、小水泡、膿疱、剥離、痂皮形成、掻痒症を数値で測る評価システムから得られたもの) は、治療前の平均値 7 が治療後の平均値 2 に減少した。

実施例 6

ニトレート及びニトリットの使用について、練り歯磨きや口内洗浄液、あるいはその他の口内に使用できる適当な媒体の形態で口内において局部的に調査され、その使用により、歯垢におけるカリエスの組織数は減少し、またカンジダアルピカンスや、このような適用が効果的であることが示された他の有害な有機体による感染を防止した。

20

胃の中の条件に似た条件の下でニトリットから酵素作用なしに生じた酸化窒素がカンジダアルピカンスと大腸菌を殺すことが、さらに腸道でも観察された。大腸菌はサルモネラ属や赤痢菌属、または他の病原性の腸内細菌ときわめて近い関係があり、哺乳動物の胃腸炎の重要な原因の全てである。

これらの結果は唾液腺による活発なニトレートの分泌によって理由付けられる。ニトレート自身は無害な前駆体であり、ニトリットに還元されて酸性状態にさらされたとき、殺菌性の種を生じる。炭水化物の食事の後、口内病原菌の成長を抑制するために、乳酸杆菌属が一時的に口内で十分な酸を発生させられる。しかし、適度にニトレートを摂取することは、ニトロソアミンの前駆体としていかなる潜在能力があるにも関わらず、汚染された環境においては望ましい必要条件であることは明らかである。

30

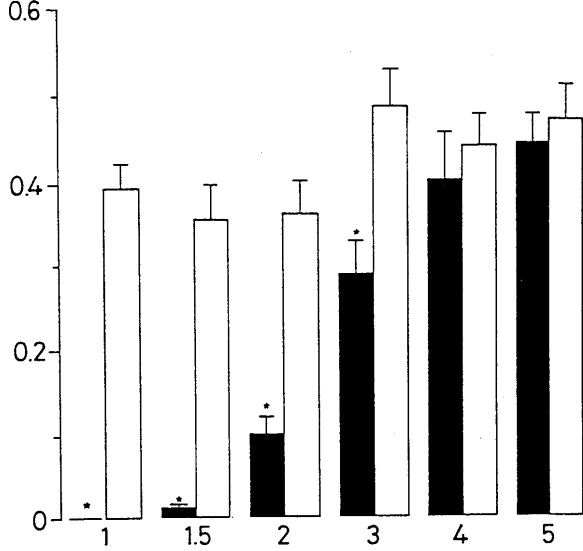
さらに、もしニトレートをニトリットに変化させる口内の微生物叢が、広範囲の種類の細菌に対して有効な抗生物質を用いた治療によって鎮圧させられると、腸の酸化窒素の生成が不十分になるであろう。同様に、もし胃酸が減れば、あるいは葉菜に大きく依存するニトレートの摂取量が少なければ、この防御メカニズムは損なわれるであろう。これらは正に、口および腸が感染しやすくなる状態である。

前述の研究がカンジダアルピカンスと大腸菌、及びその他の言及した有機体に集中していたが、飲み込んだときに十二指腸潰瘍を引き起こす、他の深刻な消化器系病原菌、例えばヘリコバクター・ピロリ (Helicobacter pylori)、アメーバ赤痢、慢性腸内寄生虫を予防するためには恐らく重要であろう。従って本発明は、バクテリアやウイルス、菌類の病気の治療の投与剤、対象を滅菌する方法、またはその結果である合成物を提供することができる。

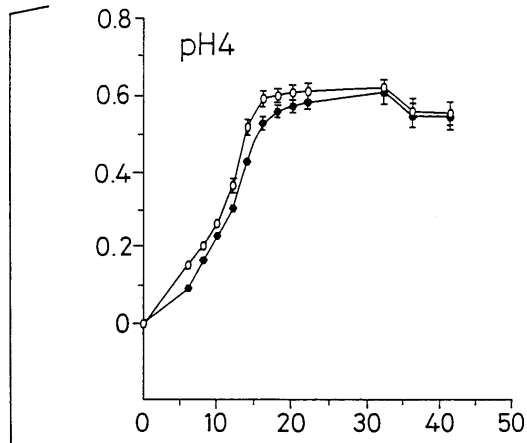
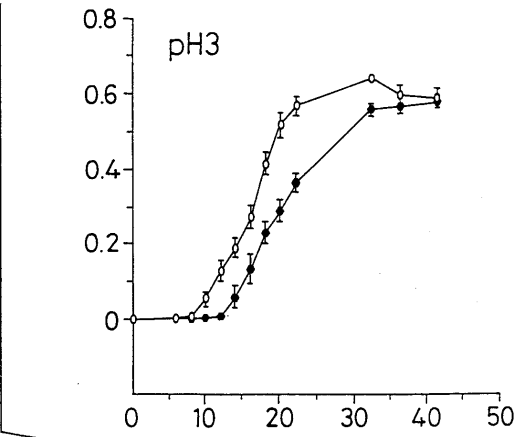
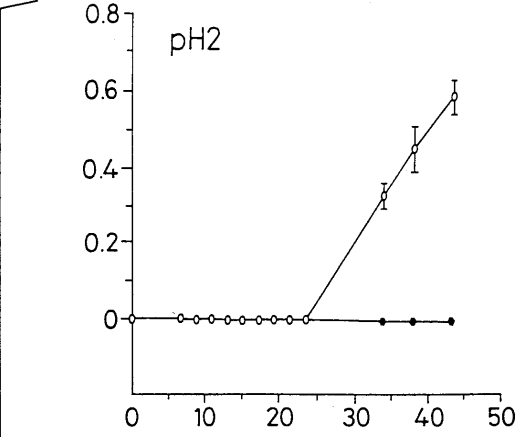
40

以上の記述は、抗生物質を用いずに食料のニトレートの摂取量を調節することにより養豚の胃腸炎を予防する安価で簡単な方法をも示唆している。

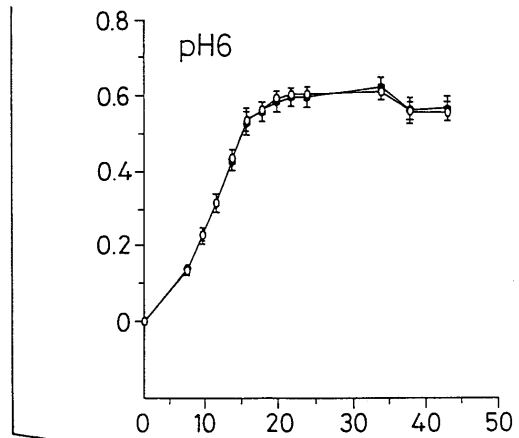
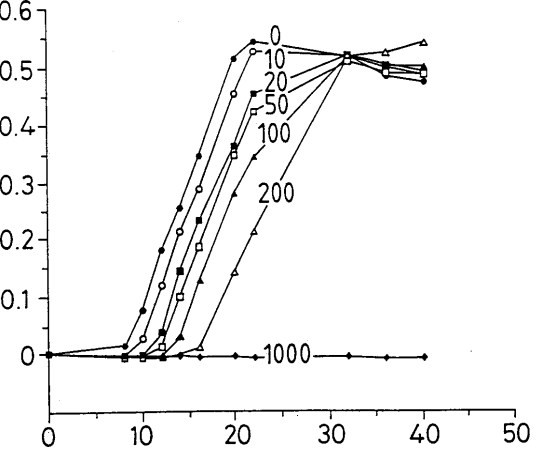
【 図 1 】



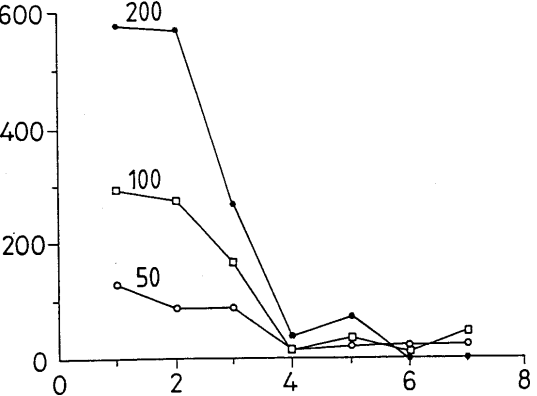
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



フロントページの続き

審査官 長部 喜幸

- (56)参考文献 特開昭56-059706(JP,A)
特開昭62-142559(JP,A)
特開昭59-085278(JP,A)
米国特許第04191750(US,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 33/00

A61K 33/14

A61K 47/12