

明 細 書

発明の名称： ヒト免疫不全ウイルスの感染予防のための組成物

技術分野

[0001] 本発明はヒト免疫不全ウイルス（HIV）の感染予防のための組成物に関する。

背景技術

[0002] 非特許文献 1 は HIV の感染予防のための組成物、すなわちマイクロバイサイドを説明している。

[0003] （原文引用） “Microbicides are compounds that can be applied inside the vagina or rectum to protect against sexually transmitted infections (STIs) including HIV. They can be formulated as gels, creams, films, or suppositories. Microbicides may or may not have spermicidal activity (contraceptive effect). At present, an effective microbicide is not available.”

[0004] （日本語訳）「マイクロバイサイドは、HIVを含む性感染症（STIs, sexually transmitted infections）から身を守るために膣や直腸内に塗布される化合物である。マイクロバイサイドは、ゲル、クリーム、フィルム、又は座薬として処方される。マイクロバイサイドは殺精子活性（避妊効果）をもつ場合ともたない場合がある。現在、有効なマイクロバイサイドはない。」

[0005] 特許文献 1 はサクランを有効成分とするウイルス吸着剤を開示している。サクランはスイゼンジノリから抽出される物質である。このウイルス吸着剤を含有する組成物は、HIV に対するマイクロバイサイドとなり得る。

[0006] 特許文献 2 ～ 5 は発明者らが本発明で着目したニガヨモギ（*Artemisia absinthium*）抽出物の様々な用途を開示している。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献 1：特開 2018-123110

特許文献2：特開 2013-010728

特許文献3：特開 2013-010729

特許文献4：特開 2017-105712

特許文献5：特表 2006-504787

非特許文献

[0008] 非特許文献1：World Health Organization, “Microbicides”, [online]
 , WHO > WHO sites > HIV/AIDS > HIV/AIDS Topics, [令和1 年7月30日検索
], インターネット <URL : <https://www.who.int/hiv/topics/microbicides/microbicides/en/>>

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明はHIVの感染予防のための組成物を提供する。

課題を解決するための手段

[0010] <1> ニガヨモギ (*Artemisia absinthium*) の抽出物を含有する組成物であって

ヒト免疫不全ウイルスの人体への感染予防のための組成物。

<2> 前記抽出物は57.5体積%を超えるアルコールを含有する抽出媒によって抽出されたものである、

<1>に記載の組成物。

<3> 前記抽出媒は一価アルコール及び二価アルコールの少なくともいずれかを主成分とする、

<2>に記載の組成物。

<4> 前記抽出媒は98体積%以上のエタノールを含有し、
残部は水を含有し、

抽出は蒸留により行われる、

<2>に記載の組成物。

<5> 前記抽出媒は100%の1, 3-ブチレングリコールであり、

- 抽出は浸出により行われる、
- ＜2＞に記載の組成物。
- ＜6＞ 水性溶液、ゲル、ゾル、クリーム及び座薬からなる群から選ばれるマイクロバイサイドである、
- ＜1＞～＜5＞のいずれかに記載の組成物。
- ＜7＞ 皮膚又は粘膜に適用するための、
- ＜6＞に記載の組成物。
- ＜8＞ ヒトのペニス又は膣内若しくは外陰部に適用するための、
- ＜6＞に記載の組成物。
- ＜9＞ ＜1＞～＜5＞のいずれかに記載の組成物を有し、身体の表面に適用される器具。
- ＜10＞ ＜1＞～＜5＞のいずれかに記載の組成物を塗布したコンドーム又はデンタルダム。

発明の効果

- [0011] 本発明によりHIVの感染予防のための組成物を提供することができる。

発明を実施するための形態

- [0012] 本実施形態ではヒト免疫不全ウイルス（HIV）の感染予防のための組成物を得るためにニガヨモギ（*Artemisia absinthium*）を原料として用いる。当該組成物は例えばHIVを標的としたマイクロバイサイドの提供に役立つ。標的となるHIVはレトロウイルス科レンチウイルス属に属するHIV-1及びHIV-2の少なくともいずれかである。
- [0013] ＜原料＞
- [0014] ニガヨモギは、古くからリキュールの原料として利用されてきた。このニガヨモギから作られるリキュールをアヴサンという。日本では苦味を与えることを目的とした食品添加物としてニガヨモギが利用されてきた。近年では、防腐又は防腐の補助を目的としてニガヨモギが化粧品に配合されている（特許文献2）。また、ニガヨモギが菌類の増殖を抑制することから、衛生環境を保持するための製品にニガヨモギが配合されている（特許文献3）。

- [0015] さらに、ニガヨモギの抽出液は、C型肝炎ウイルス (Hepatitis C Virus)、牛ウイルス性下痢ウイルス (Bovine Viral Diarrhea Virus)、豚コレラウイルス (Classical Swine Fever Virus)、黄熱ウイルス (Yellow Fever Virus)、及びデングウイルス (Dengue Virus) を含むフラビウイルス科のウイルスに対する拡散防止剤として働く (特許文献4)。またアルテミシニンといったニガヨモギの含有する成分がこれらのウイルスによる症状を緩和する (特許文献5)。
- [0016] これら文献には、ニガヨモギ又はニガヨモギに含まれる成分、例えばアルテミシニン及びアルテミシニンの類似化合物が、HIVを抑制することや、発症した症状、すなわち後天性免疫不全症候群 (AIDS) を緩和させることを開示していない。
- [0017] ニガヨモギはキク科ヨモギ属に属する植物の一種である。キク科ヨモギ属は他に、ヨモギ (ガイヨウ、*Artemisia princeps*)、カワラヨモギ (*Artemisia capillaris*)、オウシュウヨモギ (*Artemisia vulgaris*)、ヤマヨモギ (*Artemisia montana*) を含む。これらはニガヨモギの近縁種であるが、ニガヨモギと同種ではない。
- [0018] <乾燥物>
- [0019] 本実施形態の組成物の抗HIV活性はニガヨモギに由来する。本実施形態の組成物の有効成分はHIVの活動を抑制する。一態様において有効成分はニガヨモギの葉、茎、根、花の1つ又は2つ以上の部位を用いた乾燥物である。一態様において、これらの部位をニガヨモギの収穫後72時間以上乾燥させることで、ニガヨモギの乾燥物が得られる。
- [0020] <抽出物>
- [0021] 一態様において組成物の有効成分は、ニガヨモギの抽出物である。一態様において抽出物は、ニガヨモギの葉、茎、根、花の1つ又は2つ以上の部位から好適な抽出媒で抽出される。一態様において、抽出物はニガヨモギの全草から抽出される。一態様において上述のニガヨモギの乾燥物を抽出に供する。一態様において抽出物は精製前の粗抽出物でもよい。

- [0022] 抽出方法の一例は原料から抽出媒への浸出である。一態様において、抽出温度は15から25℃の常温である。一態様において抽出時間は24時間以上、72時間以内である。
- [0023] 抽出方法の他の一例は蒸留である。一態様において原料を浸した抽出媒を原料ごと熱して蒸留することで抽出を行う。一態様において抽出の温度は常温から100℃である。ここで常温は15～25℃である。一態様において抽出の時間は2時間以上、6時間以内である。
- [0024] 一態様において抽出媒は水、アルコール類、脂肪族炭化水素類、不飽和炭化水素類、芳香族炭化水素類、アルカン類、二価アルコール類、三価アルコール類、多価アルコール類、脂肪族アルコール類、酢酸及び酢酸エステル類、酸化エチレン類、酸化プロピレン類、酸化エチレン類と酸化プロピレン類の共重合体類、脂肪族ケトン類、植物由来脂肪油類、ハチミツ、昆虫由来分泌物類、動物由来分泌物類、動物由来脂肪油類、植物由来抽出物類、動物由来抽出物類、微生物由来抽出物、黒砂糖抽出物、海水及びその他溶剤の1種又は2種以上からなる。
- [0025] 一態様において抽出物はアルコールを含有する抽出媒によってニガヨモギから抽出される。一態様において抽出媒中のアルコールは57.5体積%を超える。またその抽出媒の残部は水を含有する。一態様において抽出媒中のアルコールは60, 70, 80, 90, 100体積%である。一態様において抽出媒は一価アルコール及び二価アルコールの少なくともいずれかを主成分とする。一態様において、抽出媒は98体積%以上のエタノールを含有する。一態様において抽出媒は100%の1, 3-ブチレングリコールである。
- [0026] 抽出物を他の成分と混合することで組成物を得てもよい。一態様において抽出物が抽出媒に溶けた状態すなわち抽出液を他の成分と混合してもよい。一態様において抽出物は抽出媒から分離された状態で混合してもよい。すなわち抽出液から抽出物の成分を分離精製してから、これを他の成分と混合してもよい。
- [0027] <マイクロバイサイド>

- [0028] 一態様において、マイクロバイサイドをHIV未感染の細胞に予め接触させることでHIVの感染を抑制する。一態様において、マイクロバイサイドをHIV感染細胞に直接的に接触させることでHIVを抑制する。
- [0029] 本実施形態のマイクロバイサイドは上記ニガヨモギの抽出物を含有する組成物である。その剤形の例は水性溶液、ゲル、ゾル、クリーム及び座薬である。水性溶液の一態様は粘性と潤滑性を有するローションである。ゲルの一態様は潤滑性を有するゼリーである。
- [0030] 一態様においてマイクロバイサイドは添加物を含む。水性溶液の添加物の例は、水溶性低分子及び水溶性高分子である。水溶性低分子の例はエタノール、エチレングリコール及びグリセリンである。その他の添加物は保湿剤、色素、香料、清涼剤である。またオイルの添加はマイクロバイサイドに塗布前後の潤滑性を付与する。
- [0031] マイクロバイサイドを身体のいずれかの部位に局所的に適用する。一態様において、マイクロバイサイドを皮膚に塗布する。一態様においてヒトのペニス及びその他の部位に塗布する。一態様においてヒトの膣内、外陰部、及びその他の部位に塗布する。
- [0032] 一態様において、マイクロバイサイドを粘膜 (mucous membrane) に塗布する。粘膜は、上皮細胞に覆われた外胚葉由来の上皮層である。粘膜は吸収と分泌に関わる。粘膜はさまざまな体腔に配置しており、さらに外部環境や内部臓器に面している。鼻孔、唇、耳、生殖器、肛門などに粘膜があり、粘膜は様々な場所で肌とつながっている。
- [0033] <器具>
- [0034] 本実施形態の一態様は上記組成物を有する器具である。器具は身体の表面に適用される。器具はフィルムでもよい。器具は組成物を塗布したフィルムでもよい。器具は組成物を塗布したコンドーム及びデンタルダムでもよい。

実施例

- [0035] ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (HTLV-1) 陽性のヒトT細胞に由来するMT-4細胞を用いてニガヨモギの抽出物の抗HIV活性を評価した。

- [0036] まずMT-4細胞を、HIV-1 IIIB株の感染群と非感染群に分ける。感染群ではHIV-1 IIIB株を0.002モル濃度でMT-4細胞に添加する。感染群では何の阻害もなされない場合HIV-1 IIIBがMT-4細胞に感染する。非感染群にはHIV-1 IIIB株を添加しない。次にニガヨモギの抽出液を各群に添加して、その抗HIV活性を評価する。陽性対照群にはHIV治療薬の核酸系逆転写酵素阻害薬アジドチミジン（AZT）を添加する。
- [0037] 抽出液は全草の乾燥物から得た。抽出媒はエタノール、1, 3-ブチレングリコール並びに1, 3-ブチレングリコール及びプロパンジオールの混合液である。それぞれの抽出媒を用いて得られた抽出液を0.00%, 0.10%, 0.20%, 0.39%, 0.78%, 1.56%, 3.13%, 6.25%, 12.5%, 25.0%及び50.0%の各濃度でMT-4細胞に添加する。濃度は体積%である。
- [0038] さらに、陽性対照群ではAZTを0.0nM, 0.2nM, 0.4nM, 0.8nM, 1.6nM, 3.1nM, 6.3nM, 13.0nM, 25.0nM, 50.0nM及び100.0nMの各濃度でMT-4細胞に添加する。
- [0039] 陽性対照群ではAZTが濃度依存的に抗HIV活性を示した。したがって試験系の作動が確認された。
- [0040] HIV-1 IIIB株に感染したMT-4細胞の生細胞は黄褐色を呈する。その色調を吸光度で測定することでニガヨモギの抽出物の抗HIV活性を評価できる。
- [0041] 以下、抽出媒ごとに分けられた各実験例を説明する。
- <例1>
- [0042] ニガヨモギの全草を乾燥させて得られた乾燥物に対して1, 3-ブチレングリコールで抽出を行った。抽出温度は15から25℃の常温である。抽出時間は24時間以上、72時間以内である。抽出方法は原料から抽出媒への浸出である。
- [0043] 抽出液の濃度1.56%以上で75%以上の非感染生細胞が確認された。ここではHIV非感染群において同濃度の抽出液の添加したサンプルにおける生細胞数を100%とする。1, 3-ブチレングリコール抽出液は濃度1.56%で75%前後の抗HIV活性を呈する。

[0044] 1, 3-ブチレングリコール抽出液の細胞毒性によるHIVの死滅も考えられる。この考察は抗HIV活性が添加濃度1.56%で現れたことに基づく。

<例2>

[0045] ニガヨモギの全草を乾燥させて得られた乾燥物に対して98%エタノール水溶液で抽出を行った。エタノールが抽出媒中で占める割合は体積%で表す。抽出温度は100℃である。抽出時間は2時間以上、4時間以内である。抽出方法は直接蒸留、いわゆるエタノール蒸留である。原料を浸した抽出媒を原料ごと熱して蒸留することで抽出を行う。

[0046] 抽出液の濃度0.2%で30%以上の生細胞が確認された。ここではHIV非感染群において同濃度の抽出液の添加したサンプルにおける生細胞数を100%とする。エタノール抽出液は濃度0.2%で30%前後の抗HIV活性を呈する。

[0047] エタノール抽出液は、HIV実質への影響も関与した抗HIV活性を有すると考えられる。これはエタノール抽出液による抗HIV活性が、0.10%添加濃度から始まる濃度依存的な上昇傾向を示したからである。

<例3>

[0048] ニガヨモギの全草を乾燥させて得られた乾燥物に対して、50%のプロパンジオールと7.5%の1, 3-ブチレングリコールとを含有する混合抽出媒で抽出を行った。抽出媒中の残部42.5%は水である。各成分が抽出媒中で占める割合は体積%で表す。抽出温度は15から25℃の常温である。抽出時間は24時間以上、72時間以内である。抽出方法は原料から抽出媒への浸出である。

[0049] 抽出液の濃度50.0%以下では、抗HIV活性をほとんど確認できなかった。

[0050] <考察>

[0051] 例3では抽出媒中、有機媒質が57.5%を占め、水が約42.5%を占める。これを例1及び例2で使用した抽出媒と比較すると、有機媒質が約半分である。したがって例1及び例2の抽出液中にはニガヨモギの成分が豊富に含まれていたことが予想される。また抽出媒中の有機媒質がより多いことで、抽出液の抗HIV活性を高めるのによいことが分かる。

- [0052] 例1、例2及び例3を比較すると、例2のエタノール抽出液が、最も高い抗HIV活性を示した。適切な方法により例2のエタノール抽出液の細胞毒性をさらに軽減してもよい。
- [0053] また発明者らはセスキテルペン類が抗HIV活性の有効成分であると予想する。したがってセスキテルペン類を抽出液中に効率よく抽出する抽出条件をさらに選択してもよい。このようにして得られた抽出物は、さらに抗HIV活性の程度が向上していることが期待できる。本実施形態の抽出物はセスキテルペン類に加えてセスキテルペン類以外の成分を含有する粗精製物でもよい。
- [0054] 上記抽出物はHIVの抑制を目的として、加工食品、清涼飲料水、健康補助用食品、健康補助用飲料、化粧品、薬用化粧品、衛生雑貨、医薬品を開発及び製造する産業で応用してもよい。例えば以下である。
- [0055] <1> ニガヨモギから得られるHIVの活性抑制素材。
- [0056] <2> <1>の素材を用いるか、または配合して得られる加工食品、清涼飲料水、健康補助用食品、健康補助用飲料。
- [0057] <3> <1>の素材を用いるか、または配合して得られる化粧品、薬用化粧品。
- [0058] <4> <1>の素材を用いるか、または配合して得られる衛生雑貨。
- [0059] <5> <1>の素材を用いるか、または配合して得られる医薬品。
- [0060] この出願は、2018年8月23日に提出された日本出願特願2018-168312を基礎とする優先権を主張し、その開示の全てをここに取り込む。

請求の範囲

- [請求項1] ニガヨモギ (*Artemisia absinthium*) の抽出物を含有する組成物であって
- ヒト免疫不全ウイルスの人体への感染予防のための組成物。
- [請求項2] 前記抽出物は57.5体積%を超えるアルコールを含有する抽出媒によって抽出されたものである、
- 請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] 前記抽出媒は一価アルコール及び二価アルコールの少なくともいずれかを主成分とする、
- 請求項2に記載の組成物。
- [請求項4] 前記抽出媒は98体積%以上のエタノールを含有し、
- 残部は水を含有し、
- 抽出は直接蒸留により行われる、
- 請求項2に記載の組成物。
- [請求項5] 前記抽出媒は100%の1, 3-ブチレングリコールであり、
- 抽出は浸出により行われる、
- 請求項2に記載の組成物。
- [請求項6] 水性溶液、ゲル、ゾル、クリーム及び座薬からなる群から選ばれるマイクロバイサイドである、
- 請求項1～5のいずれかに記載の組成物。
- [請求項7] 皮膚又は粘膜に適用するための、
- 請求項6に記載の組成物。
- [請求項8] ヒトのペニス又は膣内若しくは外陰部に適用するための、
- 請求項6に記載の組成物。
- [請求項9] 請求項1～5のいずれかに記載の組成物を有し、身体の表面に適用される器具。
- [請求項10] 請求項1～5のいずれかに記載の組成物を塗布したコンドーム又はデンタルダム。