

明 細 書

発明の名称：

抗ウイルス剤、抗ウイルス性を付与する方法、抗ウイルス性を有する物品、
抗菌剤、抗菌性を有する物品、抗真菌剤、及び抗真菌性を有する物品

技術分野

[0001] 本発明は、医療、介護の現場、及び日常生活で用いられる用具及び衣類などの日常品、並びに建材などに適用可能な抗ウイルス剤、抗ウイルス性を付与する方法、抗ウイルス性を有する物品、抗菌剤、抗菌性を有する物品、抗真菌剤、及び抗真菌性を有する物品に関するものである。

背景技術

[0002] 近年、耐性の高いノロウイルスや、新型コロナウイルスなどの感染症が猛威をふるっている。また、ウイルスだけでなく、細菌、真菌などによる飛沫感染症の感染経路としては、これらの病原体に汚染された物品を触った手指を介した接触感染が知られている。このような感染症の対策として、物品に付着した病原体を除去することが強く望まれている。

[0003] 感染症の治療のため、医療施設では抗ウイルス薬、抗菌薬や抗真菌（カビ）薬が使用されている。近年、薬剤の使用に伴い、それらに耐性を獲得した各種の耐性ウイルス、薬剤耐性菌、薬剤耐性真菌が出現している。それら耐性ウイルス、耐性菌、耐性真菌は薬剤の不活性化、薬剤作用部位の変化、薬剤代替酵素の産生などにより、薬剤に対して大幅な耐性を獲得していることが知られている。その多くは、薬剤標的部位付近の一部の構造変化であり、生存上、体の構造の極端な変化はほとんど起こらない。このような薬剤耐性ウイルス、薬剤耐性菌、薬剤耐性真菌による感染症は治療に使用できる治療薬に限られるため、大きな社会問題となっている。

[0004] 例えば、「ノロウイルス」は、カリシウイルス科のノロウイルス属に属し、RNAのみを持ったRNA型ウイルスであり、カプシドと呼ばれるタンパク質の殻でRNAを覆う構造を有し、エンベロープと呼ばれる糖と脂質から

なる膜は持っていない。一般的にエンベロープを持っているウイルスは、薬剤により簡単にエンベロープが破壊され、宿主細胞のレセプターと結合できなくなるので不活化できる。しかし、ノロウイルスはこのエンベロープを持っていないために、薬剤に対して抵抗性を有する。

[0005] 特許文献1には、低級アルコール、アルカリ性物質、およびカチオン界面活性剤の3成分から成る組成物がノロウイルスに対して不活性効果を有することが開示されている。カチオン界面活性剤として、塩化ベンザルコニウム、塩化ジデシルジメチルアンモニウム、塩化ベンゼトニウム、クロルヘキシジングルコン酸塩等を用いることが記載されている。

[0006] クロルヘキシジン自体は溶解度が低いため、一般に使用される消毒薬としてはクロルヘキシジングルコン酸塩として広く用いられている。非特許文献1において、クロルヘキシジングルコン酸塩の溶解度が高い理由について考察されている。クロルヘキシジングルコン酸塩は、クロルヘキシジンの脂溶性部分が混成ミセルによってマスクされることで、溶解度が高くなると考えられている。この場合、グルコン酸は混成ミセル中に存在し、溶解度の上昇を補助するが、クロルヘキシジンは混合ミセルによってマスクされているので、微生物に対する攻撃性を弱めている可能性がある。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：特開2008-189645号公報

非特許文献

[0008] 非特許文献1：Yassamin N. Albayatya, Enzyme responsive copolymer micelles enhance the anti-biofilm efficacy of the antiseptic chlorhexidine, International Journal of Pharmaceutics, Volume 566, 2019, pp. 329-341

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 上述したように、クロルヘキシジングルコン酸塩は、溶解度が高いことで

知られている。そのため、クロルヘキシジングルコン酸塩やクロルヘキシジングルコン酸塩を含む溶剤を抗ウイルス剤、抗菌剤、又は抗真菌剤として基材の表面にぬりつけても、基材の表面に付着した水分によってクロルヘキシジングルコン酸塩が溶け出してしまう。そのため、基材の表面における抗ウイルス効果の持続性が低くなってしまいう問題がある。

- [0010] 上記問題に鑑み、本発明の一実施形態では、抗ウイルス効果、抗菌効果、又は抗真菌効果の持続性を向上させることを目的の一つとする。

課題を解決するための手段

- [0011] 本発明者らは、グルコン酸、酢酸など酸由来の陰イオンの働きによって溶解度を高めたものではなく、陰イオンを含まないクロルヘキシジンまたはクロルヘキシジン塩酸塩などの低溶解度の塩(まとめて低溶解度クロルヘキシジンと呼ぶ)を用いることで、抗ウイルス効果、抗菌効果、又は抗真菌効果の持続性を向上させることができることを見出した。
- [0012] 本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤は、溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンと、を有する。
- [0013] 抗ウイルス剤において、低溶解度クロルヘキシジンの溶解度は150mg／100mL以下である。代表的であるクロルヘキシジンの20℃における水への溶解度は、80mg／100mLである。
- [0014] 抗ウイルス剤において、低溶解度クロルヘキシジンの濃度は、0.0016質量％～0.15質量％である。
- [0015] 抗ウイルス剤において、溶媒は、酢酸メチル、アセトン、アルコール、及び水の少なくとも一つである。
- [0016] 抗ウイルス剤において、エンベロープ型ウイルス及び／又は非エンベロープ型ウイルスを不活性化する。
- [0017] 抗ウイルス剤において、非エンベロープ型ウイルスは、ネコカリシウイルスである。
- [0018] 抗ウイルス剤において、添加剤として、ZnOナノ粒子をさらに含む。
- [0019] 抗ウイルス剤において、添加剤として、アルキルジアミノエチルグリシン

塩酸塩、アルキルベタイン、アルキルアミノキシドのいずれか一つをさらに含む。

[0020] 抗ウイルス剤において、添加剤として、アルキルグリコシド、脂肪酸アルカノールアミド、ポリオキシエチレンアルキルエーテルのいずれか一つをさらに含む。

[0021] 本発明の一実施形態に係る抗ウイルス性を付与する方法は、上記の抗ウイルス剤を、基材に塗布若しくは噴霧、又は抗ウイルス剤を基材に含侵させた後、溶媒を蒸発させることで、基材に20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下の低溶解度クロルヘキシジンが付着させる。

[0022] 本発明の一実施形態に係る抗ウイルス効果を有する物品は、基材に、20℃における溶解度が150mg/100mL以下の低溶解度クロルヘキシジンが配置されている。

[0023] 抗ウイルス効果を有する物品において、基材に配置される低溶解度クロルヘキシジンは、 $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上である。低溶解度クロルヘキシジンが基材に配置される上限濃度Cは以下の式(1)で規定される。

$$C = 1000 t p \rho \quad [\text{mg}/\text{cm}^2] \cdots \cdots (1)$$

ただし、 t (cm) は浸透させる表面の皮膜又は層の厚み ($1 \times 10^{-5} < t < 0.3$)、 p は多孔質膜の場合は空隙率であり樹脂材料等では浸透成分の基材に対する限界体積比率 (無次元, $0.01 < p < 0.9$) である。 ρ は低溶解度クロルヘキシジンの密度 ($0.8 < \rho < 2.2$, 代表的値は $1.4 \text{ g}/\text{cm}^3$) である。ここで指定される上限濃度Cを超えてクロルヘキシジンが配置されると基材から溢れて肌触りを悪くしたり、ぬめりを生じたり、表面に粉末を生じて使用に適さない。典型的な上限濃度Cは、10 μm 厚で、70%の体積比で、密度 $1.4 \text{ g}/\text{cm}^3$ の低溶解度クロルヘキシジンが浸透する場合、 $1 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 以下であることが望ましい。

[0024] 抗ウイルス効果を有する物品において、基材は、繊維、紙、布、樹脂、金属、又はセラミックスである。溶解度が高いグルコン酸塩に比べて溶解度が低いクロルヘキシジンは疎水性が強く、疎水性表面に均一に広がりやすい傾

向があるが、抗ウイルス剤の組成によって濡れ性を適切に調整することができる。

[0025] 本発明の一実施形態に係る抗菌剤は、溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンと、を有する。また、本発明の一実施形態に係る抗菌性を有する物品は、基材に、20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下のクロルヘキシジンが配置されている。

[0026] 本発明の一実施形態に係る抗真菌剤は、溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンと、を有する。また、本発明の一実施形態に係る抗真菌性を有する物品は、基材に、20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下のクロルヘキシジンが配置されている。

発明の効果

[0027] 本発明の一実施形態によれば、抗ウイルス効果、抗菌効果、又は抗真菌効果の持続性を向上させることができる。

図面の簡単な説明

[0028] [図1A]クロルヘキシジンの化学式である。

[図1B]クロルヘキシジンの化学式の模式図である。

[図2A]クロルヘキシジンがエンベロープを破壊するメカニズムを説明する図である。

[図2B]クロルヘキシジンが膜たんぱく質を破壊するメカニズムを説明する図である。

[図3]時間（min）と残存ウイルス（PFU/mL）との関係を示すグラフである。

[図4A]ISO 21702準拠試験の概要を説明する図である。

[図4B]ISO 21702準拠試験の概要を説明する図である。

[図4C]ISO 21702準拠試験の概要を説明する図である。

[図4D]ISO 21702準拠試験の概要を説明する図である。

[図5]超音波洗浄時間（min）と残存量（ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）との関係を示すグラフである。

[図6]ウイルス組成人工膜に対するカルセイン流出率の結果である。

[図7]バクテリア組成人工膜に対するカルセイン流出率の結果である。

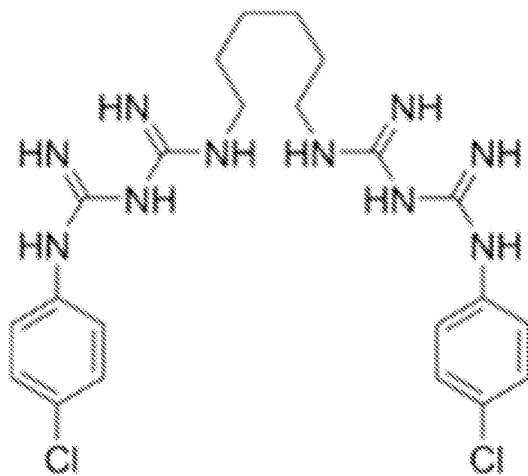
[図8]クロルヘキシジングルコン酸塩及びクロルヘキシジンにおける赤血球の破壊作用を測定した結果である。

発明を実施するための形態

[0029] 以下、本発明の一実施形態について図面を参照して詳細に説明する。本発明は、以下の実施の形態に限定されるものではなく、その趣旨の範囲内で種々変形して実施することができる。

[0030] 本明細書等において、クロルヘキシジン（分子式： $C_{22}H_{30}ClN_{10}$ ）は、分子量505.4、溶解度は約80mg/100mL、長さは2.5nm～3.5nmである。クロルヘキシジンは、溶解度が低く、正に帯電している。以下に、クロルヘキシジンの化学式を例示する。

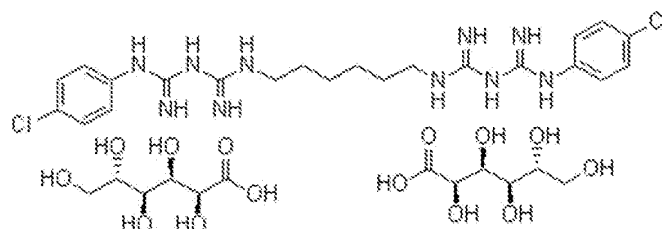
[0031] [化1]



[0032] 本明細書等において、クロルヘキシジングルコン酸塩（ $C_{22}H_{30}ClN_{10} \cdot (C_6H_{12}O_7)_2$ ）は、分子量897.8、21000mg/100mL以上である。以下に、クロルヘキシジングルコン酸塩の化学式を例示する。

[0033]

[化2]



[0034] 本明細書等において、単に、クロルヘキシジンと記載する場合は、クロルヘキシジン（分子式： $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ ）を指し、グルコン酸、酢酸、及び塩酸など酸由来の陰イオンを含まないクロルヘキシジンをいう。本明細書等において、クロルヘキシジンは、クロルヘキシジングルコン酸塩、クロルヘキシジン塩酸塩、クロルヘキシジンホスファニル酸塩、クロルヘキシジン酢酸塩などの塩を含まない。例えば、クロルヘキシジングルコン酸塩の飽和濃度は $21000\text{ mg}/100\text{ mL}$ 以上であり、クロルヘキシジン酢酸塩は $1820\text{ mg}/100\text{ mL}$ である。ここで、クロルヘキシジン塩酸塩は $60\text{ mg}/100\text{ mL}$ 程度である。クロルヘキシジン塩酸塩は低溶解度クロルヘキシジンの一例であり、以下の実施形態においてもクロルヘキシジンと同様に用いることができる。

[0035] （第1実施形態）

本実施形態では、本発明の一実施形態に係る抗ウイルス効果を有する抗ウイルス剤について説明する。本明細書等において、抗ウイルス効果とは、病原体ウイルスの不活性化を意味する。

[0036] 本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤は、エンベロープ型ウイルス及びノンエンベロープ型ウイルスに対して抗ウイルス効果を発揮する。抗ウイルス剤は、ノンエンベロープ型ウイルスとして、例えば、カリシウイルス科ウイルスに対して高いウイルス不活性化作用を示し、ベシウイルス属ウイルス及び／又はノロウイルス属ウイルスに対してより高いウイルス不活性化作用を示し、ネコカリシウイルス、マウスノロウイルス及びヒトノロウイルスか

らなる群から選択される少なくとも1種のウイルスに対して、特に高いウイルス不活性化作用を示す。また、抗ウイルス剤は、上記の非エンベロープ型ウイルスに限定されず、ロタウイルス、ポリオウイルス、及びアデノウイルスなどについても、ウイルス不活性化作用を示す。

[0037] また、エンベロープ型ウイルスとして、例えば、SARSコロナウイルス、高病原性鳥インフルエンザウイルス、MARSコロナウイルス、エボラウイルス、新型コロナウイルス、天然痘ウイルス、B型肝炎ウイルス、麻疹ウイルス、及び狂犬病ウイルス等が挙げられる。抗ウイルス剤は、これらのエンベロープ型ウイルスに対しても、ウイルス不活性化作用を示す。

[0038] ウイルスは増殖、及び複製時に、遺伝情報にエラーが入りやすい。そのため、ウイルスは変異速度が速いことが知られており、次々と変異株が出現する。そのような変異はスパイクタンパク質などに起こることが多く、ワクチンの効果などが影響を受ける。本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤は、ウイルスの変異株に対しても、ウイルス不活性化作用を示す。

[0039] <抗ウイルス剤の構成>

本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤は、溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンと、を有する。

[0040] 低溶解度クロルヘキシジンの代表である、クロルヘキシジンの20℃における水への溶解度は、上述した通り、80mg/100mLである。一般的に、クロルヘキシジンは、クロルヘキシジングルコン酸塩として用いることが多い。クロルヘキシジングルコン酸塩の20℃における水への溶解度は、21000mg/100mL以上であり、クロルヘキシジンの20℃における水への溶解度よりも高い。本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤として使用する場合には、クロルヘキシジングルコン酸塩よりも、溶解度が低い低溶解度クロルヘキシジンを用いる。

[0041] クロルヘキシジングルコン酸塩は消毒薬として市販されており、0.1%～0.5%で手指・皮膚等の消毒に、0.05%で創傷部位の消毒に使用される。このような低い濃度であっても、人体の粘膜に使用されてしまうと、

アナフィラキシーショックが起こるおそれがある。そのため、抗ウイルス剤に低溶解度クロルヘキシジンを用いる場合であっても、抗ウイルス剤が意図せず粘膜に使用されてしまったときに、人体への影響を考慮すると、抗ウイルス剤に含まれる低濃度クロルヘキシジンの濃度はより低いことが好ましい。

[0042] 抗ウイルス剤において、低溶解度クロルヘキシジンの濃度は、0.0016質量%以上0.15質量%以下である場合、抗ウイルス効果を発揮させることができる。この濃度は、一般的に使用される消毒液などのクロルヘキシジングルコン酸塩の濃度と比較して十分に低い濃度であるため、人体への安全性を確保することができる。また、抗ウイルス剤において、低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、0.028質量%より大きく0.08質量%以下である場合、より人体への安全性を確保することができる。また、低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、0.000051質量%であっても、ウイルスを攻撃して、エンベロープを破壊する作用を有する。

[0043] 溶媒として、酢酸エチル、アセトン、アルコール、及び水の少なくとも一つを用いる。

[0044] 例えば、繊維、紙、又は表面に親水性が付与された金属、樹脂、若しくはセラミックなどの親水性を有する基材に抗ウイルス剤を適用する場合は、水、エタノール、又はアセトン等の極性溶媒を用いることが好ましい。上記の極性溶媒を用いることにより、基材表面へクロルヘキシジンの浸透性を向上させることができる。また、基材表面へクロルヘキシジンを均一に配置させることができる。

[0045] 例えば、プラスチック及びゴム等の樹脂、又は一部のセラミック、表面に疎水性が付与された金属若しくは布などの疎水性を有する基材に抗ウイルス剤を適用する場合は、極性が低い又は極性がない溶媒を用いることが好ましい。上記の溶媒を用いることにより、基材表面へクロルヘキシジンの浸透性を向上させることができる。また、基材表面へクロルヘキシジンを均一に配置させることができる。

- [0046] 抗ウイルス剤を、繊維、紙、又は布の基材に対して使用する場合、水系、アルコール系の有機溶媒を用いる。アルコール系の有機溶媒として、例えば、エタノール、イソプロピルアルコール、を用いる。また、それらの混合水溶液も適している。
- [0047] 抗ウイルス剤を、プラスチック系の基材に対して使用する場合、エステル系、ケトン系、アルコール系の有機溶媒を用いる。エステル系の有機溶媒として、例えば、酢酸エチルを用いる。またケトン系の有機溶媒として、例えばアセトンを用いる、アルコール系の溶剤として、例えば、エタノールを用いる。
- [0048] 抗ウイルス剤を、セラミック系の基材に対して使用する場合、水系、ケトン系、エステル系の有機溶媒を用いる。ケトン系の有機溶媒として、例えば、アセトンを用いる。また、エステル系の有機溶媒として、例えば、酢酸エチルを用いる。
- [0049] 抗ウイルス剤を、金属系の基材に対して使用する場合、ケトン系、エステル系の有機溶媒を用いる。ケトン系の有機溶媒として、例えば、アセトン、を用いる。また、エステル系の有機溶媒として、例えば、酢酸エチルを用いる。
- [0050] 抗ウイルス剤は、上述した成分以外に、必要に応じて、添加剤を含んでもよい。
- [0051] 添加剤として、ZnOナノ粒子又はTiOナノ粒子などの金属酸化物ナノ粒子を用いてもよい。抗ウイルス剤に、ZnOナノ粒子を、溶液状態では0.1質量%～30重量%、溶媒を蒸発させて基材に配置された状態では溶質残渣中に1質量%～60質量%含むことが好ましい。添加剤として、ZnOナノ粒子を含むことにより、紫外線による低溶解度クロルヘキシジン等の抗ウイルス剤の溶解成分の分解を抑制し、耐候性を向上させることができる。ZnOナノ粒子は10nm以上40nm以下の径を持つことが望ましい。
- [0052] 添加剤として、アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩、アルキルベタイン、アルキルアミノオキシドなどの両性界面活性剤を用いてもよい。添加剤

として、両性界面活性剤を0.1質量%～30質量%含むことで、抗ウイルス効果を向上させることができる。

[0053] 添加剤として、アルキルグリコシド、脂肪酸アルカノールアミド、ポリオキシエチレンアルキルエーテルなどの非イオン性界面活性剤を用いてもよい。添加剤として、非イオン性界面活性剤を0.1質量%～30質量%含むことで、抗ウイルス効果を向上させることができる。

[0054] 次に、クロルヘキシジンがウイルスを破壊するメカニズムについて、図1A～図2Bを参照して説明する。図1Aは、クロルヘキシジン150の化学式である。図1Bは、クロルヘキシジンの化学式の模式図である。図1Bにおいて、クロルヘキシジンは、多くの正電荷を有する構造51a、51bと、大きな構造52a、52bと、構造51aと構造51bとを接続する疎水性が高い構造53を有している。大きな構造52a、52bは、六員環である。

[0055] 図2Aは、クロルヘキシジンがエンベロープ202を破壊するメカニズムを説明する図である。クロルヘキシジン150はNを多く含むことで正に帯電している。そのため、クロルヘキシジン150がエンベロープ202に接近する場合には、エンベロープ202表面の負電荷を利用して接近する（図2A中の矢印の方向）。ただし、エンベロープ202の表面に強固に結合するためには、多くの正電荷が必要である。続けて、6員環などの大きな構造52a、52b、及び構造53を膜の表面に挿入し、脂質膜の安定性を大きく乱すことができる。なお、クロルヘキシジンの正電荷と、エンベロープ202の表面の負電荷とが強固に結合しているため、クロルヘキシジンをエンベロープ202の表面からはがれにくくすることができる。さらに、クロルヘキシジンの疎水基によってエンベロープ202を不安定化させることができる。

[0056] 図2Bは、クロルヘキシジンが膜たんぱく質（例えば、スパイク203等）を破壊するメカニズムを説明する図である。クロルヘキシジンがエンベロープ202表面に接近するメカニズムは、図2Aにおいて説明した通りであ

る。ただし、エンベロープ 202 の表面に強固に結合するためには、多くの正電荷が必要である。続けて、6 員環などの大きな構造 52a、52b 及び正電荷の一部及び疎水性が高い構造 53 はスパイク 203 に結合し、スパイク 203 の安定性を大きく乱す。

[0057] 本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤は、このようなクロルヘキシジンがウイルスを破壊するメカニズムを利用したものである。クロルヘキシジンの溶解度は、クロルヘキシジングルコン酸塩と比較して十分に低いため、クロルヘキシジンが基材の表面に付着した水分に溶出することを抑制することができる。基材の表面に付着したクロルヘキシジンによる抗ウイルス効果を長期間にわたって持続させることができる。つまり、物品に対する抗ウイルス効果の持続性を向上させることができる。

[0058] <抗ウイルス性を付与する方法>

次に、本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤を用いて、物品に抗ウイルス効果を付与する方法について説明する。

[0059] 基材として、繊維、紙、布、プラスチック又はゴムなどの樹脂、金属、セラミックなどが挙げられ、材質は特に限定されない。基材として、例えば、金属、木材、ステンレス、ガラス、プラスチック（ポリエチレン、PET、アクリル樹脂、メラミン樹脂、ポリ塩化ビニルなど）、又はセラミックスなどの硬い固体であってもよいし、繊維、紙、布、ゴムシート、スポンジ、金属箔、又は薄い膜状のフィルムなどの変形可能な固体であってもよい。

[0060] 基材に抗ウイルス剤を噴霧又は塗布することにより付着させる。また、基材を抗ウイルス剤に含浸させることで、基材に抗ウイルス剤を付着させてもよい。

[0061] 次に、基材に付着した抗ウイルス剤に含まれる溶媒を蒸発させる。溶媒を蒸発させる方法としては、自然乾燥、及び赤外線照射などが挙げられる。以上の工程により、基材に 20℃ における水への溶解度が 150mg / 100mL 以下の低溶解度クロルヘキシジンを付着させることができる。つまり、物品に抗ウイルス性を付与することができる。

[0062] <抗ウイルス性を有する物品>

上述した抗ウイルス性を付与する方法により、本発明に一実施形態に係る抗ウイルス性を有する物品において、基材の表面に20℃における水への溶解度が80mg/100mLのクロルヘキシジンが配置されている。抗ウイルス性を有する物品では、基材の表面にウイルスを含む飛沫液が付着した場合、基材に配置されたクロルヘキシジンが、ウイルスを攻撃し、破壊して、不活性化させることができる。

[0063] クロルヘキシジングルコン酸塩を抗ウイルス剤として用いる場合、クロルヘキシジングルコン酸塩は溶解度が高いために、当該抗ウイルス剤を基材に付着させたとしても、基材の表面にウイルスの飛沫液や、その他の水分が付着すると、クロルヘキシジングルコン酸塩が溶出してしまう。そのため、クロルヘキシジングルコン酸塩の濃度によっては、クロルヘキシジングルコン酸塩が溶出してしまうと、人体に対するアナフィラキシーショックが起こるリスクがある。また、物品に対する抗ウイルス効果の持続性が低いという問題がある。

[0064] また、本発明に係る抗ウイルス性を有する物品において、基材に配置されるクロルヘキシジンは、 $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上である。基材に配置されるクロルヘキシジンの上限濃度Cは以下の式(1)で規定される。

$$C = 1000 t p \rho \quad [\text{mg}/\text{cm}^2] \cdots \cdots (1)$$

ただし、 t (cm) は浸透させる表面の皮膜又は層の厚み ($1 \times 10^{-5} < t < 0.3$)、 p は多孔質膜の場合は空隙率であり樹脂材料等では浸透成分の基材に対する限界体積比率 (無次元, $0.01 < p < 0.9$) である。 ρ は低溶解度クロルヘキシジンの密度 ($0.8 < \rho < 2.2$, 代表的値は $1.4 \text{ g}/\text{cm}^3$) である。クロルヘキシジンは、極めて低い濃度であってもウイルスを破壊して、不活性化させることができる。クロルヘキシジンは、口腔ケアにも用いられる物質である。仮に、クロルヘキシジンが、水分などに溶け出したとしても、人体への安全性も確保することができる。ここで指定される上限濃度Cを超えてクロルヘキシジンが配置されると基材から溢れて肌

触りを悪くしたり、ぬめりを生じたり、表面に粉末を生じて使用に適さない。典型的な上限濃度Cは、 $10\text{ }\mu\text{m}$ 厚で、70%の体積比で、密度 $1.4\text{ g}/\text{cm}^3$ の低溶解度クロルヘキシジンが浸透する場合、 $1\text{ mg}/\text{cm}^2$ 以下であることが望ましい。

[0065] また、クロルヘキシジンの溶解度は、クロルヘキシジングルコン酸塩と比較して十分に低いため、クロルヘキシジンが基材の表面に付着した水分に溶出することを抑制することができる。基材の表面に付着したクロルヘキシジンによる抗ウイルス効果を長期間にわたって持続させることができる。つまり、物品に対する抗ウイルス効果の持続性を向上させることができる。

[0066] 抗ウイルス性が付与された物品を長期間使用する場合には、基材に抗ウイルス剤を噴霧若しくは塗布、又は基材を抗ウイルス剤に含侵させて、溶媒を蒸発させてもよい。これにより、物品に対して繰り返し抗ウイルス性を付与することができる。

[0067] また、基材としてプラスチックを用いた場合、プラスチックの種類と抗ウイルス剤に含まれる溶媒の種類によっては、プラスチックの表面が溶媒によってアタックされて、プラスチックの内部にクロルヘキシジンが浸透することがある。このような物品の表面にウイルスの飛沫液や、その他の水分が付着すると、プラスチックの内部からクロルヘキシジンが徐放される。徐放されたクロルヘキシジンにより、ウイルスを攻撃し、破壊して、不活性化させることができる。

[0068] また、クロルヘキシジンを用いた抗ウイルス剤は、短時間でウイルスを不活性化することができる。

[0069] 上述したように、クロルヘキシジン自体は溶解度が低いため、一般に使用される消毒薬としてはクロルヘキシジングルコン酸塩として広く用いられている。非特許文献1において、クロルヘキシジングルコン酸塩の溶解度が高い理由について考察されている。クロルヘキシジングルコン酸塩は、クロルヘキシジンの脂溶性部分が混成ミセルによってマスクされることで、溶解度が高くなると考えられている。この場合、グルコン酸は混成ミセル中に存在

し、溶解度の上昇を補助するが、クロルヘキシジンは混合ミセルによってマスクされているので、微生物に対する攻撃性を弱めている可能性がある。

[0070] 本発明の一実施形態に係る抗ウイルス性を有する物品は、低溶解度クロルヘキシジンを有する。当該低溶解度クロルヘキシジンが水分中に溶出しても、混成ミセルによってマスクされず、単体で水分中に存在することが可能である。そのため、クロルヘキシジンの抗微生物効果は減弱することなく、非エンベロープ型ウイルスに対しても、抗ウイルス効果を有すると考えられる。グルコン酸や酢酸、塩酸など酸由来の陰イオンを含まないクロルヘキシジンが非エンベロープ型ウイルスに対して抗ウイルス効果を有することは公知ではなく、本発明者らによって初めて見出されたものである。

[0071] 本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤を表面に塗布する物品として、例えば、人の手が触れるドアノブ、電気スイッチ、キーボード、手すり、履物や衣類や脇パッドなど人の汗が触れるものが挙げられる。また、物品として、家族感染の原因と指摘のあるトイレの床材や便座、タクシーなど乗用車の座面、浄水やエアコンのフィルター等が挙げられる。また、物品として、電車のシートやつり革、エスカレータの手すり、建造物の建材、包装素材等が挙げられる。このように、本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤は、多岐にわたる物品に対して塗布することが可能である。

[0072] また、感性拡大防止に有効性が指摘され常態的にエチケットとして広く使われるフェイスマスクは、通常は布（不織布）や紙などで作られており不透明なため、会話時における相手の表情の読み取りや漏話者の唇の読み取りを妨げるものとしての課題を抱えている。これに対し、本発明で透明な樹脂フィルム上に抗ウイルス性や、その維持性が高い抗ウイルス剤を施せば、透明性と柔軟性に加え抗ウイルス効果を有する素材を提供できる。また、マスクの唇を囲む領域に部分的に抗ウイルス剤を使用すれば、表情の読み取りや会話時の唇の動きを読み取ることができ、その抗ウイルス効果からも長時間使用しても安全性が大幅に向上する。

[0073] （第2実施形態）

本実施形態では、本発明の一実施形態に係る抗菌効果を有する抗菌剤について説明する。なお、本明細書等における「抗菌効果」とは、殺菌効果や制菌効果を包含する概念である。すなわち、特定の細菌の生菌数を減少させる作用だけでなく、特定の細菌の増殖スピードを抑制する作用が確認された場合も「抗菌効果」を有しているとみなされる。

[0074] 本発明の一実施形態に係る抗菌剤は、例えば、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、バンコマイシン中等度耐性黄色ブドウ球菌、緑膿菌野生株、緑膿菌耐性遺伝子4重破壊株、フェカーリス菌、バンコマイシン耐性フェカーリス菌、及びバンコマイシン耐性フェカーリス菌等に対して抗菌効果を発揮する。また、本発明の一実施形態に係る抗菌剤は、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌、ペニシリン耐性肺炎球菌、基質拡張型ベータラクタマーゼ産生菌、Amp^C産生菌、多剤耐性緑膿菌、薬剤耐性アシネトバクターなどの耐性菌についても抗菌効果を発揮する。クロルヘキシジンの作用部位が細菌の細胞膜（脂質膜）である。そのため、本発明の一実施形態に係る抗菌剤は、上記で例示した以外の細菌及び耐性菌についても同様に抗菌効果を発揮する。

[0075] <抗菌剤の構成>

本発明の一実施形態に係る抗菌剤は、溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンとを、を有する。抗菌剤として用いることが可能な低溶解度クロルヘキシジン及び溶媒は、第1実施形態で説明したものと同様のものを用いることが可能であるため、詳細な説明については、第1実施形態を参照すればよい。

[0076] 抗菌剤において、低溶解度クロルヘキシジンの濃度は、0.0016質量%以上0.15質量%以下である場合、細菌を攻撃して減少させる効果を発揮させることができる。また、抗菌剤において、低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、0.028質量%より大きく0.08質量%以下である場合、より人体への安全性を確保することができる。さらに、制菌効果としては、低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、少なくとも0.00005質量%以上であればよい。低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、0.00005質量%以

上であれば、細菌の育成を阻止することができ、細菌の増殖スピードを抑制することができる。

[0077] <抗菌性を付与する方法>

次に、本発明の一実施形態に係る抗菌剤を用いて、物品に抗菌効果を付与する方法について説明する。なお、抗菌効果を付与することが可能な基材は、第1実施形態で説明した基材と同様の基材を用いることができる。

[0078] 基材に抗菌剤を噴霧又は塗布することにより付着させる。また、基材を抗菌剤に含浸させることで、基材に抗菌剤を付着させてもよい。

[0079] 次に、基材に付着した抗菌剤に含まれる溶媒を蒸発させる。溶媒を蒸発させる方法としては、自然乾燥、及び赤外線照射などが挙げられる。以上の工程により、基材に20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下の低溶解度クロルヘキシジンが付着させることができる。これにより、物品に抗菌性を付与することができる。

[0080] <抗菌性を有する物品>

上述した抗菌性を付与する方法により、本発明に一実施形態に係る抗菌性を有する物品において、基材の表面に20℃における水への溶解度が80mg/100mLのクロルヘキシジンが配置されている。抗菌性を有する物品では、基材の表面に細菌が付着した場合、基材に配置されたクロルヘキシジンが、細菌を攻撃し、破壊して、不活性化させることができる。

[0081] また、本発明に係る抗菌性を有する物品において、基材に配置されるクロルヘキシジンは、 $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上である。基材に配置されるクロルヘキシジンの上限濃度Cは、第1実施形態で説明した式(1)で規定される。

[0082] クロルヘキシジンが細菌を破壊するメカニズムについては、ウイルスを破壊するメカニズムと同様である。クロルヘキシジンは、Nを多く含むことで帯電している。そのため、クロルヘキシジンが細菌の細胞膜に接近する場合には、細胞膜表面の負電荷を利用して接近する。細胞膜の表面に、クロルヘキシジンの六員環などの大きな構造52a、52b、及び構造53が挿入さ

れることで、細胞膜の安定性を大きく乱すことができる。なお、クロルヘキシジンの正電荷と、細胞膜の表面の負電荷とが強固に結合しているため、クロルヘキシジンを細胞膜の表面からはがれにくくすることができる。さらに、クロルヘキシジンの疎水基によってエンベロープを不安定化させることができる。また、6員環などの大きな構造52a、52b及び正電荷の一部、及び疎水性が高い構造53は、細菌の表層タンパク質に結合し、表層タンパク質の安定性を大きく乱す。

[0083] 本発明の一実施形態に係る抗菌剤は、このようなクロルヘキシジンがウイルスを破壊するメカニズムを利用したものである。クロルヘキシジンの溶解度は、クロルヘキシジングルコン酸塩と比較して十分に低いため、クロルヘキシジンが基材の表面に付着した水分に溶出することを抑制することができる。基材の表面に付着したクロルヘキシジンによる抗菌効果を長期間にわたって持続させることができる。つまり、物品に対する抗菌効果の持続性を向上させることができる。

[0084] (第3実施形態)

本実施形態では、本発明の一実施形態に係る抗真菌効果を有する抗真菌剤について説明する。なお、本明細書等における「抗真菌効果」とは、殺真菌効果や真菌増殖抑制効果を包含する概念である。すなわち、特定の真菌の生菌数を減少させる作用だけでなく、特定の真菌の増殖スピードを抑制する作用が確認された場合も「抗真菌効果」を有しているとみなされる。

[0085] 本発明の一実施形態に係る抗真菌剤は、アスペルギルス属、クリプトコックス属、ニューモシスチス属、トリコスポロン属、白癬菌属、マラセチア属、スポロトリクス属、黒色真菌、マラセチア属、フサリウム属、*Trichothecium*属、*Cepharosporium*属、*Rhizoctonia*属、*Ceratobasidium*属、*Magnaporthe*属、*Ophiostoma*属、*Cryphonectria*属、*Ustilago*属、*Alternaria*属についても抗真菌効果を発揮する。本発明の一実施形態に係る抗真菌剤は、具体的には、カンジダ菌に対して抗真菌効

果を発揮する。クロルヘキシジンの作用部位は、真菌の細胞膜（脂質膜）である。そのため、本発明の一実施形態に係る抗真菌剤は、上記で例示した以外の真菌についても同様に抗真菌効果を発揮する。

[0086] <抗真菌剤の構成>

本発明の一実施形態に係る抗真菌剤は、溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンとを、を有する。抗真菌剤として用いることが可能な低溶解度クロルヘキシジン及び溶媒は、第1実施形態で説明したものと同様のものを用いることが可能であるため、詳細な説明については、第1実施形態を参照すればよい。

[0087] 抗真菌剤において、低溶解度クロルヘキシジンの濃度は、0.0016質量%以上0.15質量%以下である場合、真菌を攻撃して減少させる効果を発揮させることができる。また、抗真菌剤において、低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、0.028質量%より大きく0.08質量%以下である場合、より人体への安全性をより確保することができる。さらに、真菌増殖抑制効果としては、低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、少なくとも0.0002質量%以上であればよい。低溶解度クロルヘキシジンの濃度が、0.0002質量%以上であれば、真菌の育成を阻止することができ、真菌の増殖スピードを抑制することができる。

[0088] <抗真菌性を付与する方法>

次に、本発明の一実施形態に係る抗真菌剤を用いて、物品に抗真菌効果を付与する方法について説明する。なお、抗真菌効果を付与することが可能な基材は、第1実施形態で説明した基材と同様の基材を用いることができる。

[0089] 基材に抗真菌剤を噴霧又は塗布することにより付着させる。また、基材を抗真菌剤に含浸させることで、基材に抗真菌剤を付着させてもよい。

[0090] 次に、基材に付着した抗真菌剤に含まれる溶媒を蒸発させる。溶媒を蒸発させる方法としては、自然乾燥、及び赤外線照射などが挙げられる。以上の工程により、基材に20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下の低溶解度クロルヘキシジンを付着させることができる。これにより、

物品に抗真菌性を付与することができる。

[0091] <抗真菌性を有する物品>

上述した抗真菌性を付与する方法により、本発明に一実施形態に係る抗真菌性を有する物品において、基材の表面に20℃における水への溶解度が80mg/100mLのクロルヘキシジンが配置されている。抗真菌性を有する物品では、基材の表面に真菌が付着した場合、基材に配置されたクロルヘキシジンが、真菌を攻撃し、破壊して、不活性化させることができる。

[0092] また、本発明に係る抗真菌性を有する物品において、基材に配置されるクロルヘキシジンは、 $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上である。基材に配置されるクロルヘキシジンの上限濃度Cは、第1実施形態で説明した式(1)で規定される。

[0093] クロルヘキシジンが真菌を破壊するメカニズムについては、ウイルスを破壊するメカニズムと同様である。クロルヘキシジンは、Nを多く含むことで帯電している。そのため、クロルヘキシジンが真菌の細胞膜に接近する場合には、細胞膜表面の負電荷を利用して接近する。細胞膜の表面に、クロルヘキシジンの六員環などの大きな構造52a、52b、及び構造53が挿入されることで、細胞膜の安定性を大きく乱すことができる。なお、クロルヘキシジンの正電荷と、細胞膜の表面の負電荷とが強固に結合しているため、クロルヘキシジンを細胞膜の表面からはがれにくくすることができる。さらに、クロルヘキシジンの疎水基によってエンベロープを不安定化させることができる。また、6員環などの大きな構造52a、52b及び正電荷の一部、及び疎水性が高い構造53は真菌の表層タンパク質に結合し、表層タンパク質の安定性を大きく乱す。

[0094] 本発明の一実施形態に係る抗真菌剤は、このようなクロルヘキシジンがウイルスを破壊するメカニズムを利用したものである。クロルヘキシジンの溶解度は、クロルヘキシジングルコン酸塩と比較して十分に低いため、クロルヘキシジンが基材の表面に付着した水分に溶出することを抑制することができる。基材の表面に付着したクロルヘキシジンによる抗真菌効果を長期間に

わたって持続させることができる。つまり、物品に対する抗真菌効果の持続性を向上させることができる。

[0095] 第1実施形態～第3実施形態において、抗ウイルス剤、抗菌剤、及び抗真菌剤のそれぞれについて説明したが、本発明の一実施形態はこれに限定されない。本発明の一実施形態では、抗ウイルス効果、抗菌効果、及び抗真菌効果を併せもつ抗微生物剤として機能させることができる。ここで、微生物とは、ウイルス、細菌、及び真菌を含む。抗微生物剤として、溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンと、を含んでいればよい。また、抗微生物剤における低溶解度クロルヘキシジンの濃度が0.0016質量%以上0.15質量%以下である場合、抗微生物剤は、抗ウイルス効果、抗菌効果、及び抗真菌効果を併せもつことができる。また、抗微生物剤における低溶解度クロルヘキシジンの濃度が0.028質量%より大きく0.08質量%以下である場合、抗微生物剤は、抗ウイルス効果、抗菌効果、及び抗真菌効果を併せもつとともに、人体への安全性をより確保することができる。また、抗微生物剤の構成、抗微生物性を付与する方法、及び抗微生物性を有する物品の詳細な説明については、第1実施形態～第3実施形態の各々の記載を参酌できる。

[0096] 以上、本発明の実施形態を詳細に説明したが、特許請求の範囲から逸脱することなく改造、変形及び変更を行うことができることは理解すべきである。

[0097] 本発明において、上述した実施形態によりもたらされる作用効果とは異なる他の作用効果であっても、本明細書の記載から明らかなもの、又は、当業者において容易に予測し得るものについては、当然に本発明によりもたらされるものと解される。

実施例

[0098] 本実施例では、本発明の一実施形態に係る抗ウイルス剤を用いて、非エンベロープ型のウイルス活性を検証した結果について説明する。

実施例 1

[0099] 本実施例では、非エンベロープ型ウイルスとしてネコカリシウイルスを用

いた。

[0100] (実施例 1)

試験検体として、クロルヘキシジンを $128 \mu\text{g}/\text{mL}$ を含む水溶液を用いた。

[0101] (比較例 1)

比較例 1 として、緩衝液 (PBS: Phosphate-buffered saline) を用いた。

[0102] (比較例 2)

比較例 2 として、MilliQ を用いた。

[0103] 実施例 1、比較例 1、比較例 2 のそれぞれに、 $685000 \text{ PFU}/\text{mL}$ を含むネコカリシウイルス懸濁液を滴下した。

[0104] 処理時間を、0 分、0.5 分、2 分、10 分、30 分として、活性のあるウイルス数 (PFU/mL) をカウントした。

[0105] 表 1 は、比較例 1 及び比較例 2 と、実施例 1 とを比較した結果をまとめた表である。以降の表中又は図中において、クロルヘキシジンを CHX と表記する。

[0106] [表1]

	時間 (min)	PFU/mL	log (PFU/mL)	残存ウイルス活性		
				R	残存率 (%)	不活性化率 (%)
比較例 1 (コントロール)	0	685000	5.84	~	~	~
	30	605000	5.78	~	100	~
比較例 2 (MilliQ)	0	685000	5.84	~	~	~
	30	590000	5.77	~	100	~
実施例 1 (CHX $128 \mu\text{g}/\text{mL}$)	0	685000	5.84	~	~	~
	0.5	765000	5.88	~	111.7	~11.68
	2.0	505000	5.70	~	73.7	26.28
	10	190000	5.28	~	27.7	72.26
	30	6950	2.84	1.94	1.0	98.99

[0107] ここで、不活性化率とは、対照サンプルと試験サンプルとのそれぞれの活性のあるウイルス数 (PFU/mL) から算出されるウイルスの不活性化の割合をいう。ここでは、対照サンプルを比較例 1 とし、試験サンプルを実施例

1とした。不活性化率の算出には、以下の式を用いた。

[0108] [数1]

$$\frac{\text{対照サンプルの活性のあるウイルス数(PFU/ml)} - \text{試験サンプルの活性のあるウイルス数(PFU/ml)}}{\text{対照サンプルの活性のあるウイルス数(PFU/ml)}} \times 100$$

[0109] 図3は、時間（min）と残存ウイルス（PFU/mL）との関係を示すグラフである。実施例1と比較例1とを比較すると、実施例1は、30分後において、不活性化率が98.82という、高い抗ウイルス効果が確認された。

実施例 2

[0110] 本実施例では、基材上に、抗ウイルス剤を塗布した場合において、非エンベロープ型ウイルスとしてネコカリシウイルスを用いて、ISO21702準拠試験を行った結果について説明する。図4A～図4Dは、ISO21702準拠試験の概要を説明する図である。

[0111] （実施例2）

実施例2として、4cm×4cmのSUS基板上に、AD法（Aerosol Deposition Method）によって3μmのアルミナ（Al₂O₃）の多孔質膜（ナノポーラス膜）を4cm×4cmとして形成した。当該多孔質膜に、128μg/cm²のクロルヘキシジン塗布した。

[0112] （比較例3）

比較例3として、SUS基板（4cm×4cm）を用いた。

[0113] 次に、ISO21702に基づいて抗ウイルス試験を行った概要について説明する。

[0114] 図4Aに示すように、試験片301（実施例2及び比較例3のそれぞれ）に、1000000PFU/mLを含むネコカリシウイルスのウイルス懸濁液302を9cm²あたり0.225mL滴下し、フィルム303で覆った。

[0115] 次に、図4Bに示すように、試験片301を、乾燥を防ぎながら、25℃で24時間、静置した。次に、試験片301の表面を10mLのSCDLP

培地で洗浄して、残存ウイルスを回収した。次に、1%ペニシリンストレプトマイシン含有EMEM培地で回収液の10倍希釈系列を作成した。

[0116] 次に、図4Cに示すように、各希釈液を、CRFK細胞(ネコ腎臓細胞)を培養したシャーレ305に塗布し、続けて培養した(プラーク法という)。

[0117] 次に、図4Dに示すように、生細胞を染色し、染色されなかった(細胞が死に剥離)領域をカウントした。最後に、カウント数と希釈倍率からウイルス感染価を算出した。

[0118] ウイルス感染価の算出には下記の式を用いた。

$$V = (10 \times C \times D) / A$$

V : 試験片1cm²当たりのウイルス感染価(PFU/cm²)

C : プラーク数

D : 洗い出し液の希釈倍率

A : 試験片とウイルスとの接触面積

[0119] 以下の式に従い、抗ウイルス活性値を算出した。

$$\text{抗ウイルス活性値} = \log(V_b) - \log(V_c)$$

Log(V_b) : 24時間後の比較例1の1cm²当たりのウイルス感染価の常用対数値

Log(V_c) : 24時間後の実施例1の1cm²当たりのウイルス感染値の常用対数値

[0120] 抗ウイルス活性値が3.0以上の場合、抗ウイルス効果を有していると評価した。

[0121] 表2は、コントロールポリエチレン板と、比較例3と、実施例2とを比較した結果をまとめた表である。ここで、不活性化率とは、対照サンプルと試験サンプルのそれぞれにおける活性のあるウイルス数(PFU/mL)から算出されるウイルスの不活性化の割合をいう。ここでは、対照サンプルを、コントロールポリエチレン板とし、試験サンプルは、比較例3及び実施例2である。

[0122]

[表2]

	時間	PFU/cm ²			log (PFU/ cm ²)	抗ウイルス活性		
		1	2	平均		R	残存率 (%)	不活性化率 (%)
コントロール ポリエチレン板	0min	666667	1000000	833334	5.92	--	--	--
	24hr	122222	133333	127778	5.11	--	100	--
比較例3 (ステンレス板)	24hr	88889	100000	94445	4.98	0.13	73.9132	26.0868
実施例2 (CHX 128 μ g/cm ²)	24hr	111	111	111	2.05	>3.06	0.0869	99.9131

[0123] 実施例2と比較例3とを比較すると、実施例2は、24時間後における抗ウイルス活性値は>3.06、不活性化率は、99.9131%という、高い抗ウイルス効果が確認された。

実施例 3

[0124] 本実施例では、基材上に、抗ウイルス剤を塗布した場合において、エンベロープ型ウイルスとしてA型インフルエンザを用いて、ISO21702準拠試験を行った結果について説明する。

[0125] (実施例3)

実施例3として、4cm×4cmのSUS基板上に、AD法によって3 μ mのアルミナ (Al₂O₃) の多孔質膜 (ナノポーラス膜) を4cm×4cmとして形成した。当該多孔質膜に、16 μ g/cm²のクロルヘキシジン塗布した。

[0126] 次に、ISO21702に基づいて抗ウイルス試験を行った概要について説明する。

[0127] 図4Aに示すように、試験片301 (実施例3) に、10000000PFU/mLを含むA型インフルエンザウイルスのウイルス懸濁液302を9cm²あたり0.225mL滴下し、フィルム303で覆った。

[0128] 次に、図4Bに示すように、試験片301を、乾燥を防ぎながら、25℃で2時間、静置した。次に、試験片301の表面を10mLのSCDLPで洗浄して、残存ウイルスを回収した。次に、SCDLPで回収液の10倍希釈系列を作成した。

[0129] 次に、図4Cに示すように、各希釈液を、MDC K細胞(イヌ腎細胞)を培養したシャーレ305に塗布し、続けて培養した。

[0130] 次に、図4Dに示すように、生細胞を染色し、染色されなかった(細胞が死んで剥離した)領域をカウントした。最後に、カウント数と希釈倍率からウイルス感染価を算出した。さらに、実施例2と同様にして、抗ウイルス活性値を算出した。

[0131] 表3は、コントロールポリエチレン板と、実施例3とを比較した結果をまとめた表である。ここでは、対照サンプルを、コントロールポリエチレン板とし、試験サンプルは、実施例3とした。

[0132] [表3]

	時間	PFU/cm ²			log (PFU/cm ²)	抗ウイルス活性		
		1	2	平均		R	残存率(%)	不活性化率(%)
コントロール ポリエチレン板	0min	562500	812500	687500	5.83	—	—	—
	2hr	293750	306250	300000	5.48	—	100	—
実施例3 (QHX 128 μg/cm ²)	2hr	178	244	211	2.32	3.16	0.0703	99.9297

[0133] 実施例3は、2時間後における抗ウイルス活性値は3.16、不活性化率は、99.9297%という、高い抗ウイルス効果が確認された。このように、実施例3については、2時間という短時間であっても、高い抗ウイルス効果が得られることが確認された。

実施例 4

[0134] 次に、本発明の一実施形態に係る物品において、抗ウイルス効果が長期間持続することを確認した結果について説明する。

[0135] (実施例4)

まず、クロルヘキシジンを1mg/mLとなるようにアセトン中に溶解させた。次に、16cm²のSUS基板にクロルヘキシジンを含む溶液を塗布した。その後、アセトンを揮発させることにより、基材上にクロルヘキシジンを125μg/cm²配置させた。

[0136] (比較例4)

クロルヘキシジングルコン酸塩を 1 mg/mL となるようにアセトン中に溶解させた。次に、 16 cm^2 の SUS 基板にクロルヘキシジングルコン酸塩を含む溶液を塗布した。その後、アセトンを揮発させることにより、基材上にクロルヘキシジングルコン酸塩を $125 \mu\text{g/cm}^2$ 配置させた。

[0137] 実施例 4 及び比較例 4 について、 0 min 、 2 min 、 10 min 、 30 min 、 60 min の 25°C の水中で超音波洗浄を行った。

[0138] その後、水中に溶出したクロルヘキシジンの濃度及びクロルヘキシジングルコン酸塩の濃度を、 UV-Vis （比色法）により測定し、その濃度から基板上に残存するクロルヘキシジンの量及びクロルヘキシジングルコン酸塩の量を逆算した。

[0139] 図 5 は、超音波洗浄時間（ min ）と、残存クロルヘキシジン量及び残存クロルヘキシジングルコン酸塩量（ $\mu\text{g/cm}^2$ ）との関係を示す図である。超音波洗浄時間 2 分において、クロルヘキシジンの残存量は、 $45.4 \mu\text{g/cm}^2$ であり、クロルヘキシジングルコン酸塩の残存量は、 $12.7 \mu\text{g/cm}^2$ であった。超音波洗浄 10 分においては、クロルヘキシジンの残存量は、 $43.0 \mu\text{g/cm}^2$ であり、クロルヘキシジングルコン酸塩の残存量は、算出することができなかった。つまり、超音波洗浄 10 分においては、クロルヘキシジングルコン酸塩が全て溶出したものと考えられる。

[0140] 以上説明した通り、抗ウイルス剤として、クロルヘキシジングルコン酸塩を用いた場合、基材の表面に水が付着するとクロルヘキシジングルコン酸塩が直ちに溶出してしまうことが示唆された。これに対して、抗ウイルス剤として、クロルヘキシジンを用いた場合、基材の表面に水が付着してもクロルヘキシジンは溶出しにくいことが示唆された。したがって、クロルヘキシジンを抗ウイルス剤として用いた物品では、長期間、抗ウイルス効果が持続することが示された。

実施例 5

[0141] 本実施例では、クロルヘキシジンの界面活性剤作用による膜損傷性について検証した結果について、図 6～図 7 を参照して説明する。

[0142] まず、ウイルス組成人工膜とバクテリア組成人工膜を模したリポソームを作成した。

[0143] (実施例5)

ウイルス組成人工膜の作製方法について説明する。まず、ホスファチジルコリン (PC: phosphatidyl choline) とコレステロールを用いて、モル比を4:3として調整した。

[0144] 次に、ジエチルエーテル1.5 mLにリン脂質およびコレステロールを溶解させ、カルセイン-KOH (100 mM) を1 mL加えた。この混合液を、超音波ホモジナイザーを用いて氷中で1分間超音波処理し、均質なエマルジョンを得た。

[0145] 次に、エマルジョン内のジエチルエーテルを、ロータリーエバポレーターで減圧下 (アスピレーターを使用)、25℃で蒸発処理した後、窒素ガスの噴射により完全に除去した。得られたリポソームを分離用小型超遠心機で遠心分離 (100 k rpm、5分間、4℃) し、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS: Phosphate-buffered saline; 150 mM NaCl、10 mM $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、pH 7.2) で2回洗浄して、リポソーム外のカルセイン-KOHを除去した。得られたリポソームを、PBSに懸濁することで懸濁液を得た。また、得られたリポソームをウイルス組成人工膜と呼ぶ。

[0146] (実施例6)

次に、バクテリア組成人工膜の作製方法について説明する。ホスファチジルエタノールアミン (PE: phosphatidylethanolamine) とホスファチジルグリセロール (PG: phosphatidyl glycerol) を用いて、モル比を4:1として調製したこと以外は、ウイルス組成人工膜の作製方法と同様にして、バクテリア組成人工膜を作製した。

[0147] 次に、ウイルス組成人工膜及びバクテリア組成人工膜のそれぞれに対して、カルセイン流出率を測定した。マイクロチューブにPBS、カルセイン-

KOHを封入したリポソーム懸濁液100 μ L（ウイルス組成人工膜又はバクテリア組成人工膜）、及びDMSO（Dimethyl sulfoxide）に溶解したクロルヘキシジン20 μ Lを加えて、全量を1 mLとした。クロルヘキシジンの濃度は、1 μ M、2 μ M、4 μ M、8 μ M、16 μ M、32 μ M、64 μ M、128 μ Mと条件振りをした。

[0148] 30℃で30分間振盪した後、分離用小型超遠心機で遠心分離（100 k rpm、5分間、4℃）した。その後、上澄み液0.7 mLを採取し、ファイバーマルチ分光器を用いて、励起波長380 nm、蛍光波長520 nm付近で蛍光強度を測定し、カルセイン流出率を求めた。カルセイン流出率0%の決定として、マイクロチューブにPBS、リポソーム懸濁液100 μ L、及びDMSO20 μ Lを加え、また、カルセイン流出率100%の決定として、PBS、リポソーム懸濁液100 μ L、メリチン（最終濃度20 μ M）10 μ Lを加え、いずれも全量が1 mLとなるようにした。表4は、クロルヘキシジンの濃度に対するウイルス組成人工膜及びバクテリア組成人工膜のカルセイン流出率についてまとめた表である。

[0149] [表4]

濃度		カルセイン流出率 (%)			
μ M	μ g/mL	ウイルス組成人工膜	±	バクテリア組成人工膜	±
128	64.70	120.9	5.9	104.5	7.9
64	32.35	108.3	6.3	92.9	14.8
32	16.17	91.6	7.6	95.1	4.3
16	8.09	85.7	4.1	91.9	6.3
8	4.04	68.5	6.9	54.0	26.2
4	2.02	39.8	13.0	11.5	5.1
2	1.01	15.9	5.8	2.8	1.8
1	0.51	6.5	1.9	-2.7	1.0

[0150] 図6は、ウイルス組成人工膜に対するカルセイン流出率の結果である。図7は、バクテリア組成人工膜に対するカルセイン流出率の結果である。図6及び図7の横軸は、クロルヘキシジンの濃度（ μ g/mL）であり、縦軸は、カルセイン流出率（%）である。

[0151] 図6及び図7に示すように、ウイルス組成人工膜及びバクテリア組成人工膜の両方において、カルセイン流出率のクロルヘキシジンの濃度依存性が確認された。また、ウイルス人工膜においては、 $0.51 \mu\text{g}/\text{mL}$ (0.00051%) においてもカルセインが流出することが確認された。また、バクテリア組成人工膜においては、 $1.01 \mu\text{g}/\text{mL}$ (0.000101%) においてもカルセインが流出することが確認された。

[0152] 以上の結果より、クロルヘキシジンにより、ウイルス組成人工膜及びバクテリア組成人工膜の双方に、分子量622.55の大きさのカルセインが通過できるほどの孔を形成できることが確認された。形成された孔の大きさが小さいイオン (K^+ , H^+) が通過できる孔のサイズに比べ、格段に大きい孔を形成できることから、クロルヘキシジンの膜破壊能力が高いことが示された。また、測定は水溶液中であり、クロルヘキシジン濃度は溶解度の $80 \text{ mg}/100 \text{ mL}$ より低い濃度において十分な効果を発揮するといえる。

実施例 6

[0153] 次に、クロルヘキシジングルコン酸塩及びクロルヘキシジンについて、ヒトへの安全性として赤血球の破壊作用を用いて測定した結果について、図8を参照して説明する。

[0154] ヒツジ脱繊維血液 $25 \mu\text{L}$ と Tyrode 溶液 (NaCl 137 mM , KCl 2.7 mM , CaCl_2 1.0 mM , HEPES 10 mM (pH 7.4)) とクロルヘキシジングルコン酸又はクロルヘキシジン液を混和した。ヒツジ脱繊維血液 $25 \mu\text{L}$ と Tyrode 溶液 $975 \mu\text{L}$ を混和したものをコントロールとし、ヒツジ脱繊維血液 $25 \mu\text{L}$ と精製水 $975 \mu\text{L}$ 混和したものを完全溶血とした。 37°C にて30分間、静置した。その後、混和した液を遠心分離し、上清を回収する。 545 nm の吸光度を測定した。以下の式に従って、溶血率を算出した。

[0155] [数2]

$$\text{溶血率}(\%) = 100 \times \frac{((\text{サンプル吸光度}) - (\text{コントロール吸光度}))}{((\text{完全溶血の吸光度}) - (\text{コントロール吸光度}))}$$

[0156] 図8は、クロルヘキシジングルコン酸及びクロルヘキシジンにおける赤血球の破壊作用を測定した結果である。横軸は、クロルヘキシジングルコン酸及びクロルヘキシジンの濃度であり、縦軸は、溶血活性(%)である。なお、クロルヘキシジングルコン酸の濃度(%)における括弧内の数値は、クロルヘキシジングルコン酸の濃度をクロルヘキシジンの濃度に換算した数値である。

[0157] 0.05%のクロルヘキシジングルコン酸(分子量897.76)(クロルヘキシジン(分子量505.4)としては0.028%)では、溶血活性は9.3%であった。これに対し、0.028%のクロルヘキシジンでは11.7%であった。また、0.1%のクロルヘキシジングルコン酸(クロルヘキシジン(分子量505.4)としては0.056%)では、溶血活性は75.8%であった。これに対し、0.056%のクロルヘキシジンでは30.2%であった。よって、0.056%のクロルヘキシジンでは、0.1%(0.056%)クロルヘキシジングルコン酸と比較して、溶血活性を低くできることが確認された。クロルヘキシジンの溶解度は最大で水溶媒中で0.08%(80mg/100mL)であり、この濃度においても溶血活性は50%程度と推測できる。これは、クロルヘキシジングルコン酸に比べてクロルヘキシジンは溶解度が低いことによるものであり、水存在下でのクロルヘキシジンの安全性の高さが示された。クロルヘキシジンの溶解度以内(水溶媒中で0.08%以下)で使用するにより、従来のクロルヘキシジン系消毒薬に比べ、格段に安全に使用できることが示された。

実施例 7

[0158] 次に、クロルヘキシジンの細菌及び真菌に対する効果を検証した結果について説明する。

[0159] まず、細菌に対する最小生育阻止濃度の測定方法について説明する。まず、96穴のテストプレートに1穴あたり100 μ Lで、試薬濃度が2倍希釈系列になるように20mg/LのCa₂⁺、10mg/LのMg₂⁺を添加したミュラーヒントン培地(CAMHB)(必要に応じて血液添加)を用いて作

成した。試薬としては、実施例としてクロルヘキシジンを用い、比較例として抗生物質であるノルフロキサシンを用いた。各細菌をCAMHB（必要に応じて血液添加）で培養し、テストプレートの各穴あたり約10000CFU/mLとなるように加えた。37℃で20時間培養し、目視にて菌の生育を確認し、菌の生育がない最小の濃度を最小生育阻止濃度（MIC：Minimum Inhibitory Concentration）とした。

[0160] 細菌としては、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌209P、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌N3115、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌OM584、バンコマイシン中等度耐性黄色ブドウ球菌Mu50、緑膿菌野生株PAO1、緑膿菌耐性遺伝子4重破壊株YM64、フェカールリス菌ATCC29212、バンコマイシン耐性フェカールリス菌ATCC51299、バンコマイシン耐性フェカールリス菌NCTC12201を用いた。

[0161] 薬剤感受性菌及び薬剤耐性菌に対して、最小生育阻止濃度（MIC）を測定した。表5は、薬剤感受性菌及び薬剤耐性菌に対するクロルヘキシジン及びノルフロキサシンの最小育成阻止濃度（MIC）である。

[0162]

[表5]

	クロルヘキシジン ($\mu\text{g/mL}$)	ノルフロキサシン ($\mu\text{g/mL}$)
メチシリン感受性黄色 ブドウ球菌 209P	0.5	2
メチシリン耐性黄色ブ ドウ球菌 N3115	1	4
メチシリン耐性黄色ブ ドウ球菌 OM584	4	≥ 64
バンコマイシン中等度 耐性黄色ブドウ球菌 Mu50	2	≥ 64
緑膿菌野生株 PAO1	16	2
緑膿菌耐性遺伝子4 重破壊株 YM64	2	0.12
フェッカーリス菌 ATCC29212	2	16
バンコマイシン耐性 フェッカーリス菌 ATCC51299	4	8
バンコマイシン耐性 フェッカーリス菌 NCTC12201	4	16

[0163] 表5に示すように、クロルヘキシジンを用いた場合、 $0.5\mu\text{g/mL}$ (0.00005%) という濃度で、ノルフロキサシンと比較して、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌209Pの育成を阻止することが確認された。また、クロルヘキシジンを用いた場合、 $1\mu\text{g/mL}$ (0.0001%) という濃度で、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌N3115の育成を阻止することが確認された。また、クロルヘキシジンを用いた場合、 $2\mu\text{g/mL}$ (0.0002%) という濃度で、バンコマイシン中等度耐性黄色ブドウ球菌Mu50、緑膿菌耐性遺伝子4重破壊株YM64、フェッカーリス菌ATCC29212の育成を阻止することが確認された。また、クロルヘキシジンを用いた

場合、 $4\text{ }\mu\text{g/mL}$ (0.0004%) という濃度で、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 OM584、バンコマイシン耐性フェカリス菌 ATCC 51299、バンコマイシン耐性フェカリス菌 NCTC 12201 の育成を阻止することが確認された。

[0164] 表5に示すように、クロルヘキシジンを用いた場合は、ノルフロキサシンよりを用いた場合よりも、細菌の育成を阻止できることが示された。なお、緑膿菌野生株 PAO1 について、クロルヘキシジンを用いた場合は $16\text{ }\mu\text{g/mL}$ (0.0016%) であったのに対し、ノルフロキサシンを用いた場合は $2\text{ }\mu\text{g/mL}$ (0.0002%) であった。緑膿菌野生株 PAO1 については、クロルヘキシジン又はノルフロキサシンとの相性の結果であると考えられる。しかしながら、緑膿菌野生株 PAO1 に対しても、クロルヘキシジンの濃度は、 $16\text{ }\mu\text{g/mL}$ であることから、十分に細菌の育成を阻止することができる。

[0165] 次に、真菌に対する最小生育阻止濃度の測定方法について説明する。96穴のテストプレートに1穴あたり $100\text{ }\mu\text{L}$ で、試薬濃度が2倍希釈系列になるように RPMI 1640 を用いて作成した。菌を RPMI 1640 で培養し、テストプレートの各穴あたり約 200 CFU/mL となるように加えた。 37°C で48時間培養し、目視にて菌の生育を確認し、菌の生育がない最小の濃度を MIC とした。真菌として、カンジダ菌 ATCC 12201 を用いた。試薬としては、実施例としてクロルヘキシジンを用い、比較例として、抗生物質として抗カビ剤のフルコナゾールを用いた。

[0166] カンジダ菌に対して、最小生育阻止濃度 (MIC) を測定した。その結果、フルコナゾールを用いた場合は $0.25\text{ }\mu\text{g/mL}$ であったのに対し、クロルヘキシジンを用いた場合は、最小育成阻止濃度は、 $2\text{ }\mu\text{g/mL}$ (0.0002%) であった。クロルヘキシジンを用いた場合、フルコナゾールを用いた場合よりも、最小育成阻止濃度が高くなったが、 $2\text{ }\mu\text{g/mL}$ (0.0002%) という十分に低い結果が得られた。したがって、カンジダ菌に対しても、十分に真菌の育成を阻止することができる。

[0167] 以上説明した通り、本発明の一実施形態に係る抗菌剤及び抗真菌剤は、十分に濃度が低い低溶解度クロルヘキシジンを含むことで、細菌及び真菌の育成を阻止できることが確認された。抗菌剤の場合はクロルヘキシジンを0.00005%含み、抗真菌剤の場合はクロルヘキシジンを0.0002%含むことで、細菌及び真菌の育成を阻止できるとともに、人体への安全性を確保することができることが確認された。

符号の説明

[0168] 301：試験片、302：ウイルス懸濁液、303：フィルム、305：シャーレ

請求の範囲

- [請求項1] 溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンと、を有する、抗ウイルス剤。
- [請求項2] 前記低溶解度クロルヘキシジンの20℃における水への溶解度は、150mg/100mL以下である、請求項1に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項3] 前記低溶解度クロルヘキシジンは、陰イオンを含まないクロルヘキシジンまたはクロルヘキシジン塩酸塩である、請求項1又は2に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項4] 前記低溶解度クロルヘキシジンの濃度は、0.0016質量%～0.15質量%である、請求項1に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項5] 前記溶媒は、酢酸メチル、アセトン、アルコール、及び水の少なくとも一つである、請求項1に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項6] エンベロープ型ウイルス及び／又は非エンベロープ型ウイルスを不活性化する、請求項1に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項7] 前記非エンベロープ型ウイルスは、ネコカリシウイルスである、請求項6に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項8] 添加剤として、ZnOナノ粒子をさらに含む、請求項1に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項9] 添加剤として、アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩、アルキルベタイン、アルキルアミノオキシドのいずれか一つをさらに含む、請求項1に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項10] 添加剤として、アルキルグリコシド、脂肪酸アルカノールアミド、ポリオキシエチレンアルキルエーテルのいずれか一つをさらに含む、請求項1に記載の抗ウイルス剤。
- [請求項11] 請求項1に記載の抗ウイルス剤を、基材に塗布若しくは噴霧、又は前記抗ウイルス剤に前記基材を含浸させた後、前記溶媒を蒸発させることで、前記基材に20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下の前記低溶解度クロルヘキシジンを付着させる、抗ウイルス剤。

ス性を付与する方法。

[請求項12] 基材に、20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下のクロルヘキシジンが配置された抗ウイルス性を有する物品。

[請求項13] 前記基材に配置されるクロルヘキシジンは、 $0.01 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上、下記式(1)で表される上限濃度C以下である、請求項12に記載の抗ウイルス性を有する物品。

$$\text{上限濃度 } C = 1000 t p \rho [\text{mg}/\text{cm}^2] \quad (1)$$

(式中、 $t(\text{cm})$ は浸透させる表面の皮膜又は層の厚み、 p は多孔質膜の場合は空隙率、樹脂材料の場合は浸透成分の前記基材に対する限界体積比率(無次元)、 ρ は低溶解度クロルヘキシジンの密度(g/cm^3)である。)

[請求項14] 前記基材は、繊維、紙、布、樹脂、金属、又はセラミックスである、請求項12に記載の抗ウイルス性を有する物品。

[請求項15] 溶媒と、低溶解度クロルヘキシジンと、を有する、抗菌剤。

[請求項16] 基材に、20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下のクロルヘキシジンが配置された抗菌性を有する物品。

[請求項17] 溶剤と、低溶解度クロルヘキシジンと、を有する、抗真菌剤。

[請求項18] 基材に、20℃における水への溶解度が150mg/100mL以下のクロルヘキシジンが配置された抗真菌性を有する物品。