(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号

特表2009-505687

(P2009-505687A)

(43)公表日　平成21年2月12日(2009.2.12)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61L 15/44	(2006.01)	A61L	15/03		4C081
A61L 17/00	(2006.01)	A61L	17/00		4L035
D01F 2/28	(2006.01)	D01F	2/28	Z	4L047
D04H 1/42	(2006.01)	D04H	1/42	G	
D04H 3/00	(2006.01)	D04H	3/00	G	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 16 頁）

(21)出願番号　特願2008-521865 (P2008-521865)
(86)(22)出願日　平成18年7月17日 (2006.7.17)
(85)翻訳文提出日　平成20年3月21日 (2008.3.21)
(86)国際出願番号　PCT/EP2006/007019
(87)国際公開番号　WO2007/009728
(87)国際公開日　平成19年1月25日 (2007.1.25)
(31)優先権主張番号　MI2005A001415
(32)優先日　平成17年7月22日 (2005.7.22)
(33)優先権主張国　イタリア(IT)

(71)出願人　508020476
フィディア　アドバンスト　バイオポリマーズ　ソチエタ　ア　レスポンサビリタ　リミタータ
イタリア共和国　３５０３１　（パドヴァ）　アバーノ　テルメ　ヴィア　ポンテデッラ　ファッブリカ　３／ビー
(74)代理人　100106297
弁理士　伊藤　克博
(74)代理人　100129610
弁理士　小野　暁子
(72)発明者　ベッリーニ、　ダヴィデ
イタリア共和国　２５０２０　（パドヴァ）　アルビニャーゼゴ　ヴィア　パドヴァ　２８

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗菌活性および抗真菌活性を有する医療機器として使用するための、ヒアルロン酸誘導体と組み合わせた、亜鉛で塩化したカルボキシメチルセルロースをベースとする生体材料、ならびにその

(57)【要約】
様々な種類の創傷、褥瘡、火傷を治療する外科的処置において、そして創傷の治癒および保護処置が抗菌作用および／または抗真菌作用と関連することを必要とする全ての状態において用いられる、様々なパーセンテージでヒアルロン酸誘導体と組み合わせた、亜鉛で塩化したカルボキシメチルセルロースを含む不織布フェルトの形態の生体材料。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒアルロン酸誘導体を、亜鉛で塩化したカルボキシメチルセルロース（ＣＭＣ）と組み合わせることによって構成された、不織布フェルトの形態の生体材料。
【請求項２】
前記ヒアルロン酸誘導体がアルコールとのエステルである請求項１に記載の生体材料。
【請求項３】
前記ヒアルロン酸誘導体がベンジルエステルである請求項２に記載の生体材料。
【請求項４】
エステル化のパーセンテージが０．１～１００％である請求項２または３に記載の生体材料。
【請求項５】
エステル化のパーセンテージが５０～１００％である請求項４に記載の生体材料。
【請求項６】
前記ヒアルロン酸誘導体がＮ－アセチル－グルコサミン部分の過カルボキシル化誘導体である請求項１に記載の生体材料。
【請求項７】
過カルボキシル化度が２５～７５％である請求項６に記載の生体材料。
【請求項８】
前記カルボキシメチルセルロースが、１５～４０％のカルボキシル化度を有する請求項１～７のうちのいずれか１項に記載の生体材料。
【請求項９】
前記カルボキシメチルセルロースの重量パーセンテージが、前記ヒアルロン酸誘導体の９５～５％である請求項１～８のうちのいずれか１項に記載の生体材料。
【請求項１０】
前記カルボキシメチルセルロースの重量パーセンテージが、前記ヒアルロン酸誘導体の９０～１０％である請求項９に記載の生体材料。
【請求項１１】
前記カルボキシメチルセルロースの重量パーセンテージが、前記ヒアルロン酸誘導体の８０～２０％である請求項１０に記載の生体材料。
【請求項１２】
アルギン酸またはその塩、ジェランおよびコラーゲンから選択されるポリマーをさらに含む請求項１～１１のうちのいずれか１項に記載の生体材料。
【請求項１３】
ａ）カルボキシメチルセルロースのアンモニウム塩、ヒアルロン酸誘導体のアンモニウム塩、および任意選択で請求項１２記載のさらなるポリマーのアンモニウム塩の非プロトン性・非極性溶媒溶液を調製する工程；
ｂ）５～１０％エタノールのアルコール溶液中に塩化亜鉛または臭化亜鉛を含む凝固バッチにおいて、紡糸口金で湿式押出する工程；
ｃ）押出によって得られた糸状物をエタノール中ですすぐ工程；
ｄ）熱風気流中で乾燥させる工程；
ｅ）乾燥させた糸状物を梳く工程
を有する請求項１～１２のうちのいずれか１項に記載の生体材料の製造方法。
【請求項１４】
前記カルボキシメチルセルロース塩がテトラブチルアンモニウム塩またはベンザルコニウム塩である請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
前記溶媒がジメチルスルホキシドである請求項１３または１４に記載の方法。
【請求項１６】
直径が１０～６０μｍである請求項１３～１５のうちのいずれか１項に記載の方法によ

って得ることができる繊維。
【請求項１７】
様々な原因の創傷および火傷の治療用の器具または機器の製造のための請求項１～１２のうちのいずれか１項に記載の生体材料の使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、様々な種類の創傷、特に感染創、褥瘡、火傷を治療する外科的処置において、そして創傷の治癒および保護処置が抗菌作用および／または抗真菌作用と関連することを必要とする全ての状態において用いられる、様々なパーセンテージでヒアルロン酸誘導体と組み合わせた、亜鉛で塩化したカルボキシメチルセルロースを含む不織布フェルトの形態の新規な生体材料を述べるものである。本発明はまた、その生体材料を製造する方法に関するものでもある。
【背景技術】
【０００２】
皮膚擦過傷、火傷または様々な種類の潰瘍（糖尿病性潰瘍、褥瘡、静脈性もしくは動脈性潰瘍）という、感染または高い感染の危険性を特徴とする様々な重度の創傷の治療は、外傷を保護し、創傷の治癒を促進し、壊死を防ぎ、生成する滲出液をすべて吸収し、そして特には抗菌／抗細菌／抗真菌特性を有する物質を放出するようになっている一連の医療機器を用いることで行われる。
【０００３】
現在市販されている機器は、実質的に、抗菌剤として銀金属を含んでおり、その特徴に基づいて、下記のものに細分することができる。
【０００４】
親水コロイド（接着性および非接着性発泡体）：例えば、ＣＯＬＯＰＬＡＳＴのＣｏｎｔｒｅｅｔ（登録商標）などの親水コロイド物質（ゼラチン、ペクチン）と組み合わせたポリウレタンフォーム。
【０００５】
低アレルギー性錠剤：ＤＥＶＥＲＧＥ’Ｍ．＆Ｍ．の微粉銀金属緩衝剤を含むＫａｔｏｍｅｄ（登録商標）など。
【０００６】
ポリエチレンメッシュ：ナノ結晶銀でコーティングされた２つの非接着性ポリエチレンメッシュの間の吸収性のコアからなる多層体であるＡｃｔｉｃｏａｔ（登録商標）（Ｓｍｉｔｈ　＆　Ｎｅｐｈｅｗ）など。
【０００７】
粉剤および生理食塩水溶液：いずれもＤＥＶＥＲＧＥ’Ｍ．＆Ｍ．のＫａｔｏｘｙｎ（登録商標）（微粉金属銀ベースの粉末）およびＶｕｌｎｏｐｕｒ（登録商標）（銀を含む生理食塩水溶液）など。
【０００８】
ハイドロファイバードレッシング材：Ｈｙｄｒｏｆｉｂｅｒ（登録商標）（セルロースカルボキシメチル繊維）および銀イオンで作られているドレッシング材であるＡｑｕａｃｅｌ（登録商標）Ａｇなど。
【０００９】
使用される機器は、満足すべき要件に応じて、そして創傷の種類と、その創傷に放出されるべき銀の量、すなわち感染または感染の危険性のレベルの両方に応じて選択される。
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【００１０】
実際には、状態によっては、かなりの量の銀を早急に塗布する必要がある場合もあり（重度に感染した外傷）、また、ゆっくりと、しかし絶えず金属が放出される必要がある場

合もある（部分層または全層の褥瘡）。
【００１１】
上記の銀ベースのドレッシング材の使用は、銀が過敏化現象を起こすことが多いという点で、若干制限され（Chronic exposure to Silver or Silver salts, Patty’s Industrial Hygiene and Toxicology, Vol.2°, G.D. Clayton, F.E.
Clayton, Eds. Wiley-Interscience, New York, 3rd ed., 1981, pp.1881-1894 を参照のこと。）、それは特に、細菌感染を防ぐのに高用量の金属が必要な場合、詳細には黄色ブドウ球菌；大腸菌；カンジダアルビカンス；黒色アスペルギルス；緑膿菌などの細菌株および／または真菌株の場合である。
【００１２】
可能性としてセルロース誘導体と組み合わせてもよい、ヒアルロン酸誘導体の繊維ベースの不織布フェルトは、特に血塊形成を目的とする生体材料として既に報告されている。例えば、ＥＰ６１８８１７を参照のこと。しかし、それには、抗菌活性を有する金属イオンを含む生体材料は記載されていない。
【課題を解決するための手段】
【００１３】
公知の技術の限界および欠点は、生体接着性、弾力性、吸収特性、生体分解性／生体吸収性および広範囲の抗菌活性を特徴とする機器を提供する方法によって製造される、ヒアルロン酸誘導体を亜鉛で塩化したカルボキシメチルセルロース（ＣＭＣ）と組み合わせることによって得ることができる、本発明の主題である生体材料によって克服された。
【００１４】
本発明の機器は、繊維中に亜鉛が存在するために、それを当てる組織が治癒するのに十分な時間in situに残り、創傷からの滲出液を放出することなく、それを吸収することにより、細菌汚染を防止するものである。さらに、ドレッシング材は取り扱いが容易であり、あらゆる形状および大きさの創傷に適合するように改造することができ、可撓性であるので、快適に使用することができる。
【００１５】
本発明によれば、亜鉛で塩化したＣＭＣは、抗菌活性を特徴とし、様々な原因の創傷の治療に適した医療機器を提供する方法によって、ヒアルロン酸誘導体と良好に組み合わされる。
【００１６】
亜鉛が抗菌活性を有することは以前から知られており、それに関する刊行物は下記のものなど、数多くある。
【００１７】
－ Yamamoto et al., “Effect of lattice constant of zinc oxide on antibacterial
characteristics”, J.Mater.Sci.Mater.Med., 2004, 15, 847-851；
－ Cho YH et al., “Antibacterial effect of intraprostatic zinc injection in a rat model
of chronic bacterial prostatitis”, Int.J.Antimicrob.Agents.,
2002, 19, 576-582；
－ G. M. Hill et al., “Effect of pharmacological concentrations of zinc oxide with or
without the inclusion of an antibacterial agent on nursery pig performance”, J. Anim.Sci., 2001, 79, 934-941。
【００１８】
他の刊行物には、亜鉛の創傷の治癒を促進する能力が記載されている。
【００１９】
－ Kerry A. et al., “Zinc-containing wound dressings encourage autolytic debridement of

dermal burns”, WOUNDS, 1998, 10, 54-58；
－ Joe A. Vinson et al., “Age related differences in topical zinc absorption from different
formulations: Implications for health and disease”, J.Geriatr.Dermatol., 1997, 5, 276-280。

【００２０】

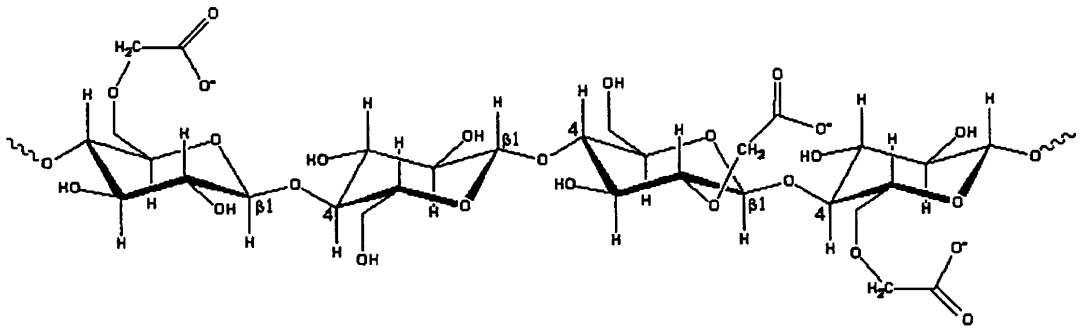
さらに、ＥＰ５２６５４１には、酸性樹脂に結合した亜鉛が口腔疾患の治療に有用であることが開示されている。そして、この樹脂はアレルギー誘発性が非常に低いと報告されている。

【００２１】

亜鉛の毒性については広く報告・立証されている（DRAFT TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ZINC, U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry September 2003）。

【００２２】

【化１】



カルボキシメチルセルロースの構造

カルボキシメチルセルロースは、高い粘度と、２１，０００～５００，０００の間の分子量（ＭＷ）を有する半合成親水性セルロース誘導体（セルロースのポリカルボキシメチルエーテルのナトリウム塩）であり、顆粒状もしくは繊維状の粉末のような形状で、白色、黄色がかった色もしくは灰色がかった色をしており、わずかに吸湿性で、無味無臭である。

【００２３】

そのポリマーは、次の一般式：$C_6H_7O_2$（ＯＲ１）（ＯＲ２）（ＯＲ３）（式中、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３は－Ｈ、$－CH_2COONa$、または$－CH_2COOH$である。）を有する無水グルコースの置換単位を含む。

【００２４】

それは、懸濁液および乳濁液中の作用薬として、錠剤用の賦形剤として、薬剤の製剤における粘度を上げる薬剤として広く使用されている。多くの注射可能なステロイド製剤中に存在する他に、それは下剤として経口投与され、また、Ｘ線の造影剤として用いられるバリウム粥中の成分として経口投与あるいは直腸投与される。カルボキシメチルセルロースに対する循環特異的ＩｇＥの存在が実証されており、この賦形剤を含むステロイドを服用した直後に反応を経験した患者は、皮膚プリックテストにおいて試験結果は陽性であった。

【００２５】

ヒアルロン酸（ＨＡ）は以前から知られている。それは、交互に存在するＤ－グルクロン酸残基とＮ－アセチル－Ｄ－グルコサミン残基から成るヘテロ多糖類である。それは直鎖を有しており、それの抽出源および／またはそれの製造に用いた方法に応じて、５０，０００～１３×１０^{6}Ｄａの範囲の分子量を有する。それは、天然には、細胞周囲のゲル中、脊椎動物の結合組織の主物質中（それの主要成分の一つである）、関節の滑液、硝子体液および臍帯中に存在する。

【００２６】
従って、ＨＡは、特に皮膚、腱、筋肉および軟骨などの多くの組織の細胞の機械的支持剤として、生物体にとって非常に重要である。
【００２７】
それの膜受容体であるＣＤ４４を通して、ヒアルロン酸は、組織水和および関節潤滑などの他の機能の他に、細胞の増殖、移動、分化および脈管形成などの細胞の生理学および生物学に関係する多くの様々なプロセスを調節する。さらに、ＨＡが、構造上の観点から（細胞外マトリックスの構築、およびそれの水和の調節において）と、直接および間接的に介入する幅広い一連のプロセス（血塊形成、食細胞活性、線維芽細胞増殖、新血管新生、再上皮化など）に対する刺激において、その両方で組織修復プロセスにおいて非常に重要な役割を果たすことが実証されている（Weigel P. et al., J.Theoretical Biol., 1986:219-234；Abatangelo G. et al., J.Surg.Res., 1983, 35:410-416；Goa K. et al., Drugs, 1994, 47:536-566）。
【００２８】
これらの広く認められた特性は、様々な原因の創傷、潰瘍および皮膚損傷用のドレッシング材の製造に利用されてきた。
【００２９】
ヒアルロン酸は様々な方法で化学的に修飾されて、出発ポリマーの生理的／薬理的特徴を維持しながら、より加工しやすく、より良好な機械的性能を与えるポリマーが得られている。本発明の目的に特に好適なのは、下記の方法によって得られるヒアルロン酸誘導体である。
【００３０】
脂肪族、アリール脂肪族、脂環式、芳香族、環状および複素環式アルコールによるエステル化であって、エステル化のパーセンテージは、使用されるアルコールの種類および長さに応じて、０．１～１００％、好ましくは５０～１００％の間であることができ、非エステル化ＨＡの残りのパーセンテージは有機塩基および／または無機塩基で塩化することができる（ＨＹＡＦＦ（登録商標）－ＥＰ２１６４５３Ｂ１）。これらの材料の優れた吸収特性も知られている（ＥＰ９９９８５９Ｂ１）。
【００３１】
Ｎ－アセチル－グルコサミン部分の１級ヒドロキシルを酸化することによって得られる過カルボキシル化であり、過カルボキシル化度は０～１００％、好ましくは２５～７５％である（ＨＹＯＸＸ（商標）－特許出願番号ＥＰ１３３９７５３）。
【００３２】
本発明において使用されるヒアルロン酸は、任意の供給源から、例えば雄鶏のとさかからの抽出によって（ＥＰ１３８５７２Ｂ１）、または発酵によって（ＥＰ７１６６８８Ｂ１）、または科学技術的手段によって得ることができ、その分子量は４００～3×10^{6}Ｄａの範囲内であることができる。
【００３３】
本明細書に記載の誘導体は、適当なパーセンテージでＣＭＣ亜鉛塩と組み合わせられ、湿式押出法によって、それから繊維が得られ、その繊維を用いて、新規な生体適合性で生体分解性の高吸収性、弾性、可撓性、生体接着性の医療機器が作られ、この医療機器はあらゆる形状および大きさの、様々な種類の創傷に適合するように改造することができ、抗菌活性および／または抗真菌活性を有している。
【発明を実施するための最良の形態】
【００３４】
本発明は、感染しているか、または感染する危険性がある様々な種類の創傷（例えば、皮膚擦過傷、深いすり傷、切り傷）および火傷の治療において、単独で、または他のものと組み合わせて使用される医療機器の製造に好適な、不織布フェルトの形態の新規な生体材料、およびそれの製造方法に関するものである。本発明の生体材料は、完全に生体適合性かつ生体分解性であり（従って、それは、使用部位から取り除く必要がない）、生体接

着性、弾性、可撓性で、創傷に適合するように改造可能であり、高吸収性で、高い抗菌活性および／または抗真菌活性を発揮することができる。これらの特徴は、その新規な生体材料を構成するポリマー、すなわち所定のパーセンテージで混合され、下記に記載の湿式押出によって加工される、亜鉛で塩化したＣＭＣおよびヒアルロン酸誘導体によるものである。

【００３５】

前述のように、ＣＭＣは、セルロースが１５～４０％程度までカルボキシル化されるとヒドロゲルを形成することができる。これらは、生理水溶液の吸収に優れた特性を有する化合物を得るのに理想的な状態である。

【００３６】

ヒアルロン酸を様々な方法で化学的に修飾して、出発ポリマーの生理特性／薬理特性を維持しながら、より良好な機械的特性（例えば、より良好な抵抗、およびより容易な加工と取り扱い）および調節可能な生体分解性を有するポリマーを得ることはよく知られている。

【００３７】

水和しやすいという点で、本発明の特に好ましい誘導体は、下記によって得られるものである。

【００３８】

・様々な種類のアルコール、特にはベンジルアルコールによるエステル化であり、エステル化度が０．１～１００％、好ましくは５０～１００％であるもの（ＨＹＡＦＦ（登録商標）－１１）；

・Ｎ－アセチル－グルコサミン部分の過カルボキシル化であり、過カルボキシル化度が０～１００％、好ましくは２５～７５％であるもの（ＨＹＯＸＸ（商標））。

【００３９】

ヒアルロン酸部分の水和性は、創傷の治癒に有利である湿潤環境を維持し、滲出液の吸収においてＣＭＣ亜鉛塩の作用をサポートすることで、感染、新たな組織の壊死および異常な瘢痕が残るのを防止するために重要である。ヒアルロン酸は、様々な面で介入することにより、生理作用／薬理作用を発揮する。実際に、それは、細胞外マトリックスの構築、およびそれの水和の調節において活性であり、それが直接あるいは間接的に介入する幅広い一連のプロセス（血塊形成、食細胞活性、線維芽細胞増殖、新血管新生、再上皮化）を刺激する。ＣＭＣの生体分解性が遅いために、in situでそれが長く存在することによって、これらの組み合わせられた効果が高められる。

【００４０】

所望に応じて、アルギン酸またはその塩、ジェランおよびコラーゲンなどのさらに別のポリマーをＣＭＣおよびヒアルロン酸誘導体に加えることができる。

【００４１】

本発明の生体材料の製造方法によって、ポリマーの加工を効率的に行い、それを工業的要求に容易に適合させることが可能になる。また、それにより、現在入手可能な公知の製品と比較して、有利な特徴を有する医療機器を得ることができる。

【００４２】

本発明の方法は、適当な条件でのポリマーの混合物の湿式押出を含むものである。特には、その方法は、下記の別個の２工程を含む。

【００４３】

１．ポリマーの非極性・非プロトン性溶媒（例えば、ジメチルスルホキシド－ＤＭＳＯ）の溶液の調製

テトラブチルアンモニウム塩またはベンザルコニウム塩などのＣＭＣのアンモニウム誘導体と、ヒアルロン酸誘導体とを、それぞれ９５％および５％、好ましくは９０％および１０％、より好ましくは８０％および２０％のパーセンテージで混合することにより、溶液を調製する。使用されるＣＭＣは、Ｗａｌｏｃｅｌ（登録商標）ＣＲＴ１０００（Ｂａｙｅｒ）など市販されており、一方、ヒアルロン酸誘導体は、エステル、好ましくはベン

ジルエステルであり、エステル化度は様々であり、例えば７５％（ＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５）または１００％（ＨＹＡＦＦ（登録商標）１１）である。さらに別のポリマーを前記の混合物に加えてもよく、例えば同じく塩の形態（テトラブチルアンモニウムまたはベンザルコニウム）のアルギン酸またはジェランなどがあり、パーセンテージはＣＭＣ／Ｈｙａｆｆ（登録商標）混合物の５～５０重量％の範囲である。ジェランは、ＣＰ Ｋｅｌｃｏ ＵＳから市販されており（Ｋｅｌｃｏｇｅｌ ＣＧ－ＬＡ ジェランガム）、一方、アルギン酸、特にはアルギン酸ナトリウムは、ＰＲＯＮＯＶＡが製造している。次に、生成物を非プロトン性・非極性溶媒（ＤＭＳＯ）に１００～１４０ｍｇ／ｍＬの濃度で溶解する。

【００４４】

２．押出

溶液をタンクに入れ、定量ポンプによって、それぞれが直径６５μｍである３０００個の孔を有する湿式押出紡糸口金に送る。

【００４５】

５～１０％アルコール（無水エタノール）溶液中に塩化亜鉛または臭化亜鉛を含む凝固浴で押出を行う。紡糸口金から吐出される糸塊を、ローラーによって、純エタノールのみが入った２つの連続した、すすぎ浴中に搬送する。

【００４６】

すすぎ工程の終了後、糸塊を熱風気流中で乾燥させる。

【００４７】

このようにして得られた繊維を梳いて、不織布フェルトを得る。

【００４８】

前記方法によって得られた繊維は１０～６０μｍの直径を有しており、不織布フェルトは重量が２０～５００ｇ／ｍ^{2}で、幅が０．２～５ｍｍとすることができる。

【００４９】

生体材料は、通常の方法によって（例えば、γ線）、包装段階で滅菌することができる。

【実施例】

【００５０】

本発明の繊維の製造についての詳細な実施例を以下に報告する。

【００５１】

実施例１：ＣＭＣ亜鉛塩（９０％）およびＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５（１０％）の混合物から成る不織布フェルトの製造

ＣＭＣ Ｗａｌｏｃｅｌ（登録商標）ＣＲＴ１０００を出発原料として、水酸化テトラブチルアンモニウムを担持した強スルホン酸樹脂Ｄｏｗｅｘ Ｍ１５を用いてイオン交換して得られたＣＭＣテトラブチルアンモニウム塩９ｇを、１ｇの粉末状のＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５と混合し、ＤＭＳＯ１００ｍＬに溶解させた。

【００５２】

溶解が完了したら、溶液をタンクに入れ、定量ポンプによって、それぞれが直径６５μｍである３０００個の孔を有する湿式押出紡糸口金に送った。５％純粋エタノールのアルコール溶液中に塩化亜鉛を含む凝固浴で押出を行った。

【００５３】

紡糸口金から吐出される糸塊を、ローラーによって、純粋エタノールが入った２つの連続すすぎ浴中に搬送し、その後、熱風気流中で乾燥させた。

【００５４】

このようにして得られた繊維を梳いて、不織布フェルトを得た。

【００５５】

最終製品である不織布フェルトは厚さ２ｍｍのものであり、それを１０×１０ｃｍのピースに切り分け、γ線によって滅菌した。

【００５６】

実施例２：ＣＭＣ亜鉛塩（９５％）およびＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５（５％）の混合物から成る不織布フェルトの製造

ＣＭＣ　Ｗａｌｏｃｅｌ（登録商標）ＣＲＴ１０００を出発原料として、塩化ベンザルコニウムでイオン交換して得られたＣＭＣベンザルコニウム塩１９ｇを、１ｇの粉末状のＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５と混合し、ＤＭＳＯ１６０ｍＬに溶解させた。

【００５７】

溶解が完了したら、溶液をタンクに入れ、定量ポンプによって、それぞれが直径６５μｍである３０００個の孔を有する湿式押出紡糸口金に送った。７％純粋エタノールのアルコール溶液中に臭化亜鉛を含む凝固浴で押出を行った。

【００５８】

紡糸口金から吐出される糸塊を、ローラーによって、純粋エタノールが入った２つの連続すすぎ浴中に搬送し、その後、熱風気流中で乾燥させた。

【００５９】

このようにして得られた繊維を梳いて、不織布フェルトを得た。

【００６０】

最終製品である不織布フェルトは厚さ１ｍｍのものであり、それを５×５ｃｍのピースに切り分け、γ線によって滅菌した。

【００６１】

実施例３：ＣＭＣ亜鉛塩（９５％）およびＨＹＯＸＸ（登録商標）（５％）の混合物から成る不織布フェルトの製造

ＣＭＣ　Ｗａｌｏｃｅｌ（登録商標）ＣＲＴ１０００を出発原料として、塩化ベンザルコニウムでイオン交換して得られたＣＭＣベンザルコニウム塩９．５ｇを、粉末状のＨＹＯＸＸ（登録商標）０．５ｇと混合し、ＤＭＳＯ１００ｍＬに溶解させた。

【００６２】

溶解が完了したら、溶液をタンクに入れ、定量ポンプによって、それぞれが直径６５μｍである３０００個の孔を有する湿式押出紡糸口金に送った。５％純粋エタノールのアルコール溶液中に塩化亜鉛を含む凝固浴で押出を行った。

【００６３】

紡糸口金から吐出される糸塊を、ローラーによって、純粋エタノールが入った２つの連続すすぎ浴中に搬送し、その後、熱風気流中で乾燥させた。

【００６４】

このようにして得られた繊維を梳いて、不織布フェルトを得た。

【００６５】

最終製品である不織布フェルトは厚さ１ｍｍのものであり、それを５×５ｃｍのピースに切り分け、γ線によって滅菌した。

【００６６】

実施例４：ＣＭＣ亜鉛塩（９０％）およびＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５（１０％）、およびアルギン酸（ＣＭＣ／ＨＹＡＦＦ（登録商標）混合物基準で４０％）の混合物から成る不織布フェルトの製造

ＣＭＣ　Ｗａｌｏｃｅｌ（登録商標）ＣＲＴ１０００を出発原料として、水酸化テトラブチルアンモニウムを担持した強スルホン酸樹脂Ｄｏｗｅｘ　Ｍ１５を用いてイオン交換して得られたＣＭＣテトラブチルアンモニウム塩９ｇを、１ｇの粉末状のＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５と混合し、ＤＭＳＯ１００ｍＬに溶解させた。塩化ベンザルコニウムでイオン交換して得られたアルギン酸ベンザルコニウム塩４ｇを、別個に、ＤＭＳＯ４０ｍＬに溶解させ、ＣＭＣ／ＨＹＡＦＦ（登録商標）混合物に加えて、ＣＭＣ／ＨＹＡＦＦ（登録商標）混合物重量基準で４０％の量のアルギン酸を加えた混合物を得た。

【００６７】

得られた材料をタンクに入れ、定量ポンプによって、それぞれが直径６５μｍである３０００個の孔を有する湿式押出紡糸口金に送った。５％純粋エタノールのアルコール溶液中に塩化亜鉛を含む凝固浴で押出を行った。

【００６８】

実施例５：ＣＭＣ亜鉛塩（８０％）およびＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５（２０％）、およびジェラン（ＣＭＣ／ＨＹＡＦＦ（登録商標）混合物基準で２５％）の混合物から成る不織布フェルトの製造

ＣＭＣ　Ｗａｌｏｃｅｌ（登録商標）ＣＲＴ１０００を出発原料として、水酸化テトラブチルアンモニウムを担持した強スルホン酸樹脂Ｄｏｗｅｘ　Ｍ１５を用いてイオン交換して得られたＣＭＣテトラブチルアンモニウム塩８ｇを、２ｇの粉末状のＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５と混合し、ＤＭＳＯ１００ｍＬに溶解させた。Ｋｅｌｃｏｇｅｌ　ＣＧ－ＬＡを出発原料として、水酸化テトラブチルアンモニウムを担持した強スルホン酸樹脂Ｄｏｗｅｘ　Ｍ１５を用いてイオン交換して得られたジェラン２．５ｇを、別個に、ＤＭＳＯ２５ｍＬに溶解させ、ＣＭＣ／ＨＹＡＦＦ（登録商標）混合物に加えて、ＣＭＣ／ＨＹＡＦＦ（登録商標）混合物重量基準で２５％の量のジェランを加えた混合物を得た。

【００６９】

得られた材料をタンクに入れ、定量ポンプによって、それぞれが直径６５μｍである３０００個の孔を有する湿式押出紡糸口金に送った。５％純粋エタノールのアルコール溶液中に塩化亜鉛を含む凝固浴で押出を行った。

【００７０】

このようにして製造した各不織布フェルトについて、特定の試験を行い、ＣＭＣ繊維によって含有される亜鉛の量および放出される亜鉛の量の両方を評価し、幾つかの細菌種および真菌種の増殖を阻害する上での亜鉛の有効性を実証した。

【００７１】

以下、試験について説明する。

【００７２】

３７℃の人工血漿中での処理後の９５／５混合物でのＣＭＣ亜鉛塩とＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５の不織布フェルト中における亜鉛イオン含有量の評価

実施例２に記載の方法で得られた不織布フェルトについて、３７℃の温度で、２時間、４時間、６時間、２４時間、４８時間および７２時間の設定間隔にて人工血漿で処理することにより、繊維中に存在する亜鉛イオンの放出動態を調べた。

【００７３】

不織布フェルト１００ｍｇを１０ｍＬ無菌ガラスバイアル６本に入れ、人工血漿５ｍＬで処理した。全てのバイアルを、設定時間の間、３７℃の温度に保持した。インキュベーション期間後、各サンプルを０．２μｍフィルターで濾過し、溶液を凍結乾燥した。時間ゼロに関しては、人工血漿のみを０．２μｍフィルターで濾過し、凍結乾燥した。

【００７４】

実験中に放出された亜鉛の量を図１に示す。

【００７５】

亜鉛は、人工血漿と接触した状態の最初の２時間にわたり、一定の割合で不織布フェルトから放出され（繊維中に存在する亜鉛イオンのパーセンテージ、合計１４％に対して７．６％）、その後、さらに４８～７２時間かけて徐々に放出されて、全ての亜鉛が放出される。

【００７６】

９０／１０混合物でのＣＭＣ亜鉛塩とＨＹＡＦＦ（登録商標）１１ｐ７５の不織布フェルトの阻害活性の寒天拡散による分析

実施例１に従って得られた不織布フェルトについて、緑膿菌；大腸菌；黄色ブドウ球菌；カンジダアルビカンス；黒色アスペルギルスの菌株に対する抗菌活性を調べた。

【００７７】

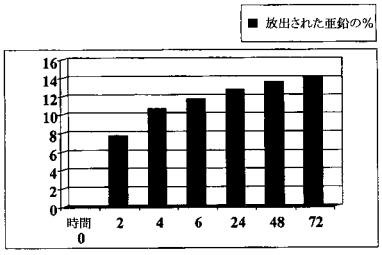
陰性の対照として、出発ＣＭＣであるＷａｌｏｃｅｌ（登録商標）ＣＲＴ１０００を用いた。

【００７８】

各細菌株について、無菌状態で、手順を繰り返した。

【００７９】
シャーレ２枚を準備し、それぞれに、固化させた特定の不完全寒天培地１５ｍＬの層を設け、４５℃で融解させた特定の培養液５ｍＬを加え、予め、培地中の濃度が約10^4ＵＦＣ／ｍＬになるように、試験微生物を接種した。培地を放置して固化させた。
【００８０】
直径１０ｍｍのウェル３個を各シャーレに設けた。
【００８１】
シャーレ１枚はサンプル用に、他方は陰性対照用に用いた。
【００８２】
試験サンプルおよび陰性対照を次のようにして準備した。０．６ｇを無菌蒸留水９ｍＬに溶解して、ゼラチン状の粘度の混合物を得た。シャーレに設けたウェルを、この混合物小量（約１００μＬ）で縁まで満たした。
【００８３】
上記の試験手順と並行して、各細菌株について、特定の不完全寒天培地１５ｍＬ未満の層と特定の培養液５ｍＬ超の層を設け、培地中の濃度が約10^4ＵＦＣ／ｍＬになるように試験微生物を予め接種したシャーレを準備することにより、培地の繁殖力を調べた。
【００８４】
このようにして準備したシャーレを、３０℃±１℃で４８～７２時間インキュベートした。
【００８５】
インキュベーション期間終了後、シャーレは、ウェル周囲の阻害輪（inhibiting halo）の有無について目視で調べた。さらに、対照の培地の繁殖力について準備したシャーレで微生物の増殖を評価した。
【００８６】
黄色ブドウ球菌、大腸菌、カンジダアルビカンスおよび黒色アスペルギルスのサンプルを含むシャーレでは明らかな阻害輪が認められたが、緑膿菌を接種したシャーレではやや限られた阻害輪が認められた。
【００８７】
いずれの陰性対照シャーレでも、阻害輪は認められなかった。
【００８８】
培地の繁殖力を調べた全てのシャーレで、微生物の増殖が認められた。
【００８９】
結論として、上記の試験条件では、試験した製品が、黄色ブドウ球菌および大腸菌の菌株に対して優れた殺菌活性を有し、緑膿菌に対してはより穏やかな殺菌活性を有し、黒色アスペルギルスおよびカンジダアルビカンスに対して殺菌活性を有することが確認された。
【図面の簡単な説明】
【００９０】
【図１】実施例２に記載の方法で得られた不織布フェルトについて、３７℃での人工血漿での処理中に放出された亜鉛の量を示すグラフである。

【図１】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/007019

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61L15/28 A61L15/22 A61L15/46

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)
A61L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/04828 A (FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS SRL [IT]; RIVAROSSA ALBERTO [IT]; PRESSATO) 4 February 1999 (1999-02-04) the whole document	1-17
A	WO 02/18448 A (FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS SRL [IT]; BELLINI DAVIDE [IT]; CRESCENZI VI) 7 March 2002 (2002-03-07) the whole document	1-17
A	WO 96/13282 A (INNOVATIVE TECH LTD [GB]; QIN YIMIN [GB]; GILDING KEITH DENNIS [GB]) 9 May 1996 (1996-05-09) the whole document	1-17

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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 document 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	Date of mailing of the international search report
26 March 2007	05/04/2007

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	FISCHER, J

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/007019

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 618 817 B1 (MURST ITALIAN [IT] M U R S T [IT]) 18 April 2001 (2001-04-18) cited in the application the whole document	1-17
A	WO 02/076518 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO [US]; CHEN WAI YUEN JOHN [GB]; CLAY CHRISTOPHE) 3 October 2002 (2002-10-03) example 7	1-17
A	EP 1 245 239 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO [US]) 2 October 2002 (2002-10-02) paragraph [0028]; claims	1-17

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2006/007019

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9904828	A	04-02-1999	AT	311208 T	15-12-2005
			AU	749627 B2	27-06-2002
			AU	9255598 A	16-02-1999
			CA	2298733 A1	04-02-1999
			DE	69832616 D1	05-01-2006
			DE	69832616 T2	17-08-2006
			DK	0999859 T3	27-03-2006
			EP	0999859 A2	17-05-2000
			ES	2253827 T3	01-06-2006
			HK	1028210 A1	28-04-2006
			IT	PD970170 A1	28-01-1999
			JP	2001510713 T	07-08-2001
WO 0218448	A	07-03-2002	AU	9181501 A	13-03-2002
			CA	2420618 A1	07-03-2002
			EP	1339753 A2	03-09-2003
			IT	PD20000208 A1	28-02-2002
			JP	2004507586 T	11-03-2004
			US	2003181689 A1	25-09-2003
WO 9613282	A	09-05-1996	AU	3706695 A	23-05-1996
			DE	69529298 D1	06-02-2003
			DE	69529298 T2	06-11-2003
			EP	0788378 A1	13-08-1997
			ES	2189830 T3	16-07-2003
EP 0618817	B1	18-04-2001	AT	200630 T	15-05-2001
			AU	669147 B2	30-05-1996
			BG	98863 A	31-05-1995
			BG	302 Y1	31-05-1999
			CA	2126085 A1	24-06-1993
			DE	69231796 D1	23-05-2001
			DE	69231796 T2	15-11-2001
			DK	618817 T3	30-07-2001
			WO	9311803 A1	24-06-1993
			EP	0618817 A1	12-10-1994
			ES	2155832 T3	01-06-2001
			FI	942894 A	18-08-1994
			GR	3036197 T3	31-10-2001
			HU	68680 A2	28-07-1995
			IT	1254704 B	09-10-1995
			JP	3411033 B2	26-05-2003
			JP	7502430 T	16-03-1995
			NO	942330 A	17-08-1994
			NZ	246575 A	24-04-1997
			PT	618817 T	30-08-2001
			RO	115017 B1	29-10-1999
			RU	2133127 C1	20-07-1999
			US	5520916 A	28-05-1996
WO 02076518	A	03-10-2002	NONE		
EP 1245239	A	02-10-2002	US	2003040690 A1	27-02-2003

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 テッラッサン、 マッシモ
イタリア共和国 ３５０２０ （パドヴァ） アルビニャーゼゴ ヴィア マルコーニ ３
(72)発明者 パヴェシオ、 アレッサンドラ
イタリア共和国 ３５１４１ パドヴァ リビエラ パレオカパ ９

Ｆターム(参考) 4C081 AA02 AA12 AC02 BA14 CD021 CD042 CD081 CD122 CE01 DA04
DA05 EA03
4L035 BB03 BB14 BB16 BB59 DD19 FF01 JJ15 JJ19
4L047 AA08 AA29 AB03 AB07 BA09 CB10 CC03

(54)【発明の名称】抗菌活性および抗真菌活性を有する医療機器として使用するための、ヒアルロン酸誘導体と組み合わせた、亜鉛で塩化したカルボキシメチルセルロースをベースとする生体材料、ならびにその製造方法