

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6133858号  
(P6133858)

(45) 発行日 平成29年5月24日(2017.5.24)

(24) 登録日 平成29年4月28日(2017.4.28)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 31/155	(2006.01)
A 61 K 33/06	(2006.01)
A 61 K 33/14	(2006.01)
A 61 K 33/30	(2006.01)
A 61 L 15/12	(2006.01)
	A 61 K 31/155
	A 61 K 33/06
	A 61 K 33/14
	A 61 K 33/30
	A 61 L 15/12

請求項の数 2 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-522919 (P2014-522919)
(86) (22) 出願日	平成24年7月23日 (2012.7.23)
(65) 公表番号	特表2014-521649 (P2014-521649A)
(43) 公表日	平成26年8月28日 (2014.8.28)
(86) 國際出願番号	PCT/US2012/047786
(87) 國際公開番号	W02013/016255
(87) 國際公開日	平成25年1月31日 (2013.1.31)
審査請求日	平成27年7月22日 (2015.7.22)
(31) 優先権主張番号	61/512,655
(32) 優先日	平成23年7月28日 (2011.7.28)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	505005049 スリーエム イノベイティブ プロパティ ズ カンパニー アメリカ合衆国, ミネソタ州 55133 -3427, セント ポール, ポスト オ フィス ボックス 33427, スリーエ ム センター
(73) 特許権者	514023472 リージェンツ オブ ザ ユニバーシティ オブ ミネソタ アメリカ合衆国, ミネソタ 55455, ミネアポリス, オーク ストリート サウ スイースト 200, スイート 360
(74) 代理人	100099759 弁理士 青木 篤

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】創傷治癒組成物及び使用方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

組成物であって、

薬学的に許容される担体と、

カリウム塩、亜鉛塩、カルシウム塩、及びルビジウム塩を含む無機固体の有効な量の活性成分と、

創傷部位における生存微生物の数を減少させるのに有効な量を含むポリヘキサメチレン  
ビグアニドと、を含み、

前記塩の各々が、薬学的に許容されるアニオンを含む、組成物。

## 【請求項 2】

請求項 1 に記載の組成物と、

支持体と、を含む、創傷包帯。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

(関連出願の相互参照)

本出願は、参照によりその全てが本明細書に組み込まれる、2011年7月28日出願の米国仮特許出願第61/512,655号の利益を主張する。

## 【背景技術】

## 【0002】

水性オーク樹皮抽出物の組成物、及びオーク樹皮抽出物の主要な活性成分を含有する合成組成物は、真菌感染症、軽度の感染症、虫刺され、軽い火傷、日焼け、有毒オーク、毒ツタ、毒ウルシ、創傷治癒、膿皮症、皮膚炎、搔痒性皮膚病、湿疹、褥瘡性潰瘍、熱帯性潰瘍、褥瘡、乾癬、膿痂疹、カポジ肉腫、イボ、壞疽、虚血性潰瘍、角化症、及び皮膚癌を含む様々な皮膚状態の治療のために開示されている。

#### 【0003】

皮膚潰瘍、具体的には、褥瘡性潰瘍又は褥瘡の治療に用いるオーク樹皮抽出物が、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,080,900号に記載されている。W H I T F I E L D 医薬軟膏ベースのこの物質は、軽度の皮膚のかぶれの治療に用いる、商標名B E N C E L O K (登録商標)でも販売されている(Whitfield及びBencelokは、医薬軟膏の商標である)。しかしながら、これらの物質中のオーク樹皮抽出物の量は、比較的低かった。例えば、B E N C E L O K (登録商標)調製物は、その調製物の総重量に基づいて、0.25~3重量%の灰由来の成分を含有している。

10

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0004】

ある皮膚創傷は、最終的に創傷治癒につながる生物学的事象の進行を維持することができない。これらの皮膚創傷は、「膠着状態の創傷」と指定されている。この治癒不足の根本的な原因(複数を含む)は、十分に理解されていない。膠着状態の創傷の治療の必要性が存在する。

20

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0005】

一般に、本発明は、概して、皮膚創傷(例えば、外科創傷、褥瘡、切開、摩耗等)の治療に関する。具体的には、本開示は、皮膚創傷を治療するための組成物及び包帯並びにそれらの使用方法に関する。本発明の組成物は、抗菌性ビゲアニド化合物、並びにカリウム、亜鉛、カルシウム、及びルビジウムの塩を含む無機固体の活性成分を含む。単独で、又は創傷包帯と組み合わせて使用される本発明の組成物は、創傷治癒に関連した生物学的プロセスを直接的及び/又は間接的に促進する。

#### 【0006】

一態様において、本開示は、組成物を提供する。この組成物は、薬学的に許容される担体、無機固体の有効な量の活性成分、及び創傷部位における生存微生物の数を減少させるのに有効な量を含むビゲアニド化合物を含み得る。この活性成分は、カリウム塩、亜鉛塩、カルシウム塩、及びルビジウム塩を含み得、これらの塩の各々が、薬学的に許容されるアニオンを含む。

30

#### 【0007】

組成物の任意の実施形態において、無機固体の活性成分は、10~80部のカリウムイオン、0.00001~20部の亜鉛イオン、0.01~10部のカルシウムイオン、及び最大40部までのルビジウムイオンを含み得、前記部は、無機固体の重量部として表される。上述の実施形態のうちのいずれかにおいて、ビゲアニド化合物は、ポリヘキサメチレンビゲアニド、クロルヘキシジン、オクテニジン、それらの誘導体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。上述の実施形態のうちのいずれかにおいて、ビゲアニド成分を有しない組成物と比較して、ビゲアニド化合物を有する組成物は、炎症に関連したポリペプチドの蓄積を抑制し得る。いくつかの実施形態において、活性成分を有しない組成物と比較して、活性成分を有する組成物は、炎症に関連したポリペプチドの蓄積を抑制する。

40

#### 【0008】

別の態様において、本開示は、創傷包帯を提供する。創傷包帯は、組成物及び支持体の上述の実施形態のうちのいずれかを含み得る。包帯の任意の実施形態において、支持体は、繊維状物質、膜、ゲル、発泡体、親水コロイド、アルギン酸塩、ヒドロゲル、多糖類ペースト、複数の顆粒、複数のビーズ、又は上述のうちの任意の2つ以上の組み合わせを含

50

み得る。

【0009】

更に別の態様では、本開示は、創傷を治療する方法を提供する。本方法は、創傷を上述の組成物の実施形態のうちのいずれかと接触させることを含み得る。

【0010】

更に別の態様では、本開示は、創傷を治療する方法を提供する。本方法は、創傷を上述の創傷包帯の実施形態のうちのいずれかと接触させることを含み得る。

【0011】

用語「好ましい」と「好ましくは」とは、特定の状況下で、特定の利益をもたらすことができる、本発明の実施形態を指す。しかしながら、他の実施形態もまた、同じ状況又は他の状況下で、好ましい場合がある。更には、1つ以上的好ましい実施形態の詳細説明は、他の実施形態が有用ではないことを意味するものではなく、かつ本発明の範囲から他の実施形態を排除することを意図するものではない。10

【0012】

本明細書で使用される「皮膚創傷」は、例えば、外傷（例えば、穿刺、裂傷、若しくは摩耗）又は手術に起因し得る一続きの皮膚バリアの破損を指す。

【0013】

本明細書で使用される「慢性創傷」、「治癒しない創傷」、「治癒に時間のかかる創傷」、又は「膠着状態の創傷」は、創傷の初めから創傷部位における皮膚の完全な閉鎖までの典型的な期間（例えば、8～12週間）にわたって治癒できない創傷のカテゴリを指す。20

【0014】

用語「含む」とその変化形は、これらの用語が、本説明及び特許請求の範囲に現れる場合、限定する意味を有するものではない。

【0015】

本明細書で使用するところの「a」、「an」、「the」、「少なくとも1つの」及び「1つ以上の」は、互換可能に使用される。したがって、例えば、ポリペプチドは、「1つ以上の」ポリペプチドという意味に解釈され得る。

【0016】

用語「及び／又は」とは、列記される要素のうちの1つ若しくは全て、又は列記される要素のうちの任意の2つ以上の組み合わせを意味する。30

【0017】

また本明細書では、終端点による数値範囲の詳細説明は、その範囲内に含まれる全ての数を包含する（例えば、1～5は、1、1.5、2、2.75、3、3.80、4、5などを包含する）。

【0018】

上記の本発明の課題を解決するための手段は、開示される実施形態のそれぞれ、又は本発明のあらゆる実施を説明することを意図するものではない。以下の説明により、例示的実施形態を、より具体的に例示する。本出願の全体にわたる幾つかの箇所で、実施例のリストを通じて指針が提供され、それらの実施例は、様々な組み合わせで使用することができる。いずれの場合でも、記載されるリストは、代表的な群としての役割のみを果たすものであり、排他的なリストとして解釈するべきではない。40

【0019】

これらの及び他の実施形態の更なる詳細が、添付の図面及び以下の説明に記載されている。他の特徴、目的、及び利点は、その説明と図面、及び特許請求の範囲から明らかとなろう。

【発明を実施するための形態】

【0020】

「慢性」若しくは「治癒に時間のかかる」創傷、「治癒しない」創傷、又は「膠着状態の創傷」と指定される皮膚創傷は、静脈性潰瘍、糖尿病性潰瘍、具体的には、糖尿病性足部潰瘍、又はこれらの2つの実体の組み合わせとして臨床現場で共通して観察される。同50

様の治癒しない創傷は、頻度の低い状態、例えば、自己免疫障害において観察され得るが、病因にかかわらず、創傷は、臨床的に期待される期間内に治癒することができないという特徴を共有する。経験的に、創傷の最初の観察から治癒までにかかる期間が12週間よりも長い創傷は、「慢性」、「治癒しない」、又は「治癒に時間のかかる」カテゴリに該当すると見なされる。「膠着状態の創傷」という用語は、治癒できないいくつかの創傷も含む。しかしながら、「膠着状態の創傷」は、より一般的に、治癒し始める一方で、理由は分からぬが、創傷の完全な閉鎖の前に治癒を停止する創傷と関連している。この治癒不足の根本的な原因（複数を含む）は、十分に理解されていない。自然治癒が生じ得ないため、これらの種類の創傷のうちのいずれかの治療の必要性が存在する。

## 【0021】

10

微生物学的感染に付隨し得る過度の炎症は、皮膚創傷における正常な治癒プロセスを阻害し得る。本開示は、皮膚創傷を治療するための組成物、物品、及び方法に関する。組成物及び物品は、抗菌性ビグアニド化合物、並びにカリウム、亜鉛、カルシウム、及びルビジウムの塩を含む無機固体の活性成分を含む。本発明の組成物の成分は、驚いたことに、炎症に関連した生化学的マーカー（例えば、ポリペプチド、例えばインターロイキン-8（IL-8）等のサイトカイン）の蓄積の抑制をもたらす相乗効果を提供する。

## 【0022】

本開示の組成物は、無機固体の活性成分を含む。本開示の無機固体の例示の活性成分は、それぞれ参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6,149,947号及び同第7,014,870号に記載されるように、オーク樹皮灰及び関連合成組成物で見いだされ得る。

20

## 【0023】

オーク樹皮抽出物の様々な成分の治療活性が分析されており、結果では、好適な対イオンと組み合わせた、カリウム、亜鉛、及びカルシウムイオンのみを含有する組成物に対し治療効果が示される。したがって、合成製剤は、薬学的に許容される対イオン（例えば、Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>、OH<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>）とともに、無機固体の10～80重量部、好ましくは、30～50重量部のカリウムイオン；0.00001～20重量部、好ましくは、1～10重量部の亜鉛イオン；0.01～10重量部、好ましくは、1～5重量部のカルシウムイオン；及び0～40重量部、好ましくは、1～30重量部のルビジウムイオンを含有する。任意に、組成物は、硫黄元素又は硫酸アニオンの形態で、最大5部の硫黄を更に含み得る。溶液は、他の無機カチオン、例えば、無機固体の最大10重量部のコバルト、銅、鉄、マンガン、ニッケル、ストロンチウム、又はアルミニウムイオンも含有し得、好ましくは、前述のうちのいずれかが、最大1重量部まで組成物中に存在し得る。更に、組成物は、水又は軟膏又はクリーム基剤等の薬学的に許容される担体を含み得、約4～7（境界値も含む）の範囲のpHを有する治療組成物をもたらす。好ましくは、組成物は、約4.5～5.5（境界値も含む）の範囲のpHを有する。本明細書で使用される「PHI塩」を含む組成物は、薬学的に許容される対イオンとともに、カリウム、亜鉛、カルシウム、及びルビジウムカチオンを含む組成物を指す。

30

## 【0024】

オーク樹皮抽出物又は無機固体の関連合成混合物は、本明細書に記載されるように、様々な皮膚状態の治療に様々な有益な治療特性を提供することが見出されている。

40

## 【0025】

本発明に従う組成物は、摩耗及び他の部分的に厚みのある創傷の治療にも有用である。有用な組成物は、例えば、少なくともカリウム、亜鉛、及びカルシウムイオンを含む。この組成物は、ある一定の期間（例えば、数時間～数日間）、クリーム又は軟膏基剤で有利に適用される。

## 【0026】

任意の特定の作用機構によって束縛されることを意図することなく、オーク樹皮抽出物及びオーク樹皮抽出物の主要な成分を含有する合成混合物が、アルカリ性ホスファターゼ、炭酸脱水酵素、カルボキシペプチダーゼ、様々なデヒドロゲナーゼ、アルギナーゼ、力

50

ルノシナーゼ、デヒドロペプチダーゼ、グリシンジペプチダーゼ、ヒスチジンデアミナーゼ及びトリペプチダーゼ、オキサロ酢酸カルボキシラーゼ、並びにいくつかのレシチナーゼ及びエノラーゼを含むが、これらに限定されない生体膜及び／又は酵素と相互作用する錯化イオンを提供することによって創傷治癒を高める機能を果たすようである。これらの酵素は、創傷治癒、例えば、コラーゲン生合成に必要な多数の生合成経路に関与しており、錯化イオンの存在下でより効率的に機能すると考えられている。

#### 【0027】

本開示の組成物は、抗菌性ビグアニド化合物を更に含む。例示の抗菌性ビグアニド化合物は、例えば、ポリヘキサメチレンビグアニド(PHMB)である。生合成セルロース創傷包帯におけるPHMBの使用は、Mulder et al.(参照によりその全てが本明細書に組み込まれる、「Polyhexamethylene Biguanide (PHMB) : Antimicrobial Agents in Wound Care」; Wounds; 19(7):173~182; 2007)によって説明されている。他の好適なビグアニドには、例えば、クロルヘキシジン及びオクテニジンが含まれる。ビグアニド化合物の組み合わせを含む組成物も含まれる。

10

#### 【0028】

ビグアニド化合物は、創傷部位において抗菌作用(例えば、殺菌作用及び／又は静菌作用)を提供するのに有効な量で組成物中に存在する。本開示の組成物は、約0.1重量パーセント～約0.5重量パーセントのビグアニド化合物(例えば、ポリヘキサメチレンビグアニド)を含み得る。

20

#### 【0029】

組成物の成分のうちの1つ以上は、薬学的に許容される担体中に溶解及び／又は懸濁され得る。任意の実施形態において、担体は、水、ゲル、又は軟膏(例えば、WHITFIELDの軟膏)であり得る。本明細書で使用される「薬学的に許容される」は、担体が接觸する創傷の治癒プロセスを実質的に妨害する成分を含まない担体を指す。いくつかの実施形態において、担体は、エチルヘキシルグリセリン、コカミドプロピルヒドロキシスルタイン、乳酸、水酸化ナトリウム、グリセリン、キシリトール、ポリビニルピロリドン、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシステアリン酸ポリエチレングリコール660、又は上述のうちの任意の2つ以上の組み合わせの水性溶液又は水性懸濁液も含み得る。有利に、上述の薬学的に許容される担体は、創傷への組成物の浸透も促進し、且つ／又は創傷治癒の利益となり得る局所pH変化も提供し得る。

30

#### 【0030】

本開示は、創傷包帯を更に提供する。創傷包帯は、支持体及び本明細書に開示の組成物のうちのいずれかを含み、該組成物は、薬学的に許容される担体；カリウム塩、亜鉛塩、カルシウム塩、及びルビジウム塩を含む無機固体の有効な量の活性成分；並びに創傷部位における生存微生物の数を減少させるのに有効な量を含むビグアニド化合物を含む。いくつかの実施形態において、組成物は、コーティング(例えば、使用時に創傷に向かって配置される包帯の表面上のコーティング)として包帯に適用され得る。いくつかの実施形態において、創傷包帯は、組成物が染み込んでいる(例えば、組成物で飽和した状態である)場合がある。

40

#### 【0031】

本開示の創傷包帯は、纖維状物質、膜、ゲル、発泡体、親水コロイド、アルギン酸塩、ヒドロゲル、多糖類ペースト、複数の顆粒、複数のビーズ、又は上述のうちの任意の2つ以上の組み合わせを含むが、これらに限定されない様々な支持体物質を含み得る。いくつかの実施形態において、包帯は、裏打ち(例えば、創傷包帯を保護し、且つ任意に、患者の皮膚に包帯の接着安定性を提供するための接着性裏打ち)を更に含み得る。

#### 【0032】

本開示は、創傷を治療する方法を更に提供する。いくつかの実施形態において、該方法は、創傷を任意の本開示の組成物と接觸させることを含み、該組成物は、薬学的に許容される担体；カリウム塩、亜鉛塩、カルシウム塩、及びルビジウム塩を含む無機固体の有効

50

な量の活性成分；並びに創傷部位における生存微生物の数を減少させるのに有効な量を含むビグアニド化合物を含む。該組成物は、例えば、液体（例えば、液体で創傷を洗浄することによって）で、又はゲル若しくは軟膏で創傷に適用され得る。液体組成物は、治癒組織へのイオンの実質的に即時の直接送達を提供し得る。対照的に、ゲル及び軟膏は、長時間にわたるイオンの送達を提供し得る。いくつかの実施形態において、組成物は、創傷と実質的に接觸する創傷包帯に適用され得る。有利に、該組成物を含む包帯は、ある一定の期間（例えば、数時間～1日間、又はそれ以上）、創傷と接觸し、それによって、P H I カチオン及び抗菌性ビグアニドで濃縮された湿潤環境を提供して、皮膚の治癒を促進し得る。

## 【0033】

10

## 実施形態

実施形態1は、組成物であり、

薬学的に許容される担体と、

カリウム塩、亜鉛塩、カルシウム塩、及びルビジウム塩を含む無機固体の有効な量の活性成分と、

創傷部位における生存微生物の数を減少させるのに有効な量を含む抗菌性ビグアニド化合物と、を含み、

前記塩の各々が、薬学的に許容されるアニオンを含む、組成物である。

## 【0034】

20

実施形態2は、前記無機固体の活性成分が、10～80部のカリウムイオン、0.00001～20部の亜鉛イオン、0.01～10部のカルシウムイオン、及び最大40部までの量のルビジウムイオンを含み、前記部は、無機固体中の重量部として表される、実施形態1に記載の組成物である。

## 【0035】

実施形態3は、前記ビグアニド化合物が、ポリヘキサメチレンビグアニド、クロルヘキシジン、オクテニジン、それらの誘導体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態1又は実施形態2に記載の組成物である。

## 【0036】

実施形態4は、前記組成物が、約0.1重量パーセント～約0.5重量パーセントのビグアニド化合物を含む、実施形態1～3のいずれか一項に記載の組成物である。

30

## 【0037】

実施形態5は、前記ビグアニド成分を有しない組成物と比較して、前記ビグアニド化合物を有する組成物が、炎症に関連したポリペプチドの蓄積を抑制する、実施形態1～4のいずれか一項に記載の組成物である。

## 【0038】

実施形態6は、前記活性成分を有しない組成物と比較して、前記活性成分を有する組成物が、炎症に関連したポリペプチドの蓄積を抑制する、実施形態1～4のいずれか一項に記載の組成物である。

## 【0039】

40

実施形態7は、前記炎症に関連したポリペプチドが、サイトカインを含む、実施形態5又は実施形態6に記載の方法である。

## 【0040】

実施形態8は、前記サイトカインが、インターロイキン-8を含む、実施形態7に記載の方法である。

## 【0041】

実施形態9は、

実施形態1～8のいずれか一項に記載の組成物と、

支持体と、を含む、創傷包帯である。

## 【0042】

実施形態10は、前記支持体が、繊維状物質、膜、ゲル、発泡体、親水コロイド、アル

50

ギン酸塩、ヒドロゲル、多糖類ペースト、複数の顆粒、複数のビーズ、又は上述のうちの任意の2つ以上の組み合わせを含む、実施形態9に記載の創傷包帯である。

【0043】

実施形態11は、裏打ち層を更に含む、実施形態9又は実施形態10に記載の創傷包帯である。

【0044】

実施形態12は、創傷を実施形態1~8のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、創傷を治療する方法である。

【0045】

実施形態13は、創傷を実施形態9~11のいずれか一項に記載の創傷包帯と接触させることを含む、創傷を治療する方法である。 10

【実施例】

【0046】

本発明の目的及び利点は、以下の実施例によって更に例示されるが、これらの実施例において列挙された特定の材料及びその量は、他の諸条件及び詳細と同様に本発明を過度に制限するものと解釈されるべきではない。特に指示がない限り、部及び百分率は全て重量基準であり、水は全て蒸留水であり、分子量は全て重量平均分子量である。

【0047】

材料・実施例の調製において利用される物質が、表1~3に示される。

【0048】

【表1】

表1. 物質の表

成分	説明	供給元
正常なブタ膣粘膜	全層扁平上皮	University of Minnesota, St. Paul, MN
RPMI-1640	細胞培養培地	Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA
トッド・ヒューイットプロス (TH)	細菌培養培地	Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ
リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)	等張緩衝液	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO

20

【0049】

【表2】

表2. PHMB中和剤溶液成分

成分	説明	供給元	g/L
リン酸カリウム、一塩基性	リン酸カリウム、一塩基性	JT Baker	0.4
リン酸ナトリウム、二塩基性	リン酸ナトリウム、二塩基性	Sigma	10.1
トリトンX-100	ポリエチレングリコールtert-オクチルフェニルエーテル	Aldrich	1.0
レシチン	ホスファチジルコリン	Alpha Aesar	3.0
Tween 80	モノオレイン酸ポリエチレングリコールソルビタン	Fluka	30.0
チオ硫酸ナトリウム、五水和物	チオ硫酸ナトリウム、五水和物	Sigma-Aldrich	1.0
水	水(蒸留)	水道	適量~1L

40

【0050】

## 【表3】

表3. PHMBゲル成分

成分	説明	供給元	重量%
Cosmocil CQ (20%のPHMB)	ポリヘキサメチレンビグアニド(PHMB)	Arch Chemicals	2.5
Sensiva SC 50	エチルヘキシルグリセリン	Schulke and Mayr	0.3
Mackam 50 SB	コカミドプロピルヒドロキシスルタイン	Rhodia Novocare	2.5
Hi Pure 90	乳酸	Purac	5
水酸化ナトリウム	水酸化ナトリウム	Spectrum Chemicals	0.8
グリセリン	グリセリン	Spectrum Chemicals	5
Xylisorb	キシリトール	Roquette Pharma	5
PVP-K90	ポリビニルピロリドン	BASF	2
Tylose H 4070 NG	ヒドロキシエチルセルロース	ShinEtsu	1
Solutol HS-15	ヒドロキシステアリン酸 ポリエチレングリコール660	BASF	1
水			75

10

20

## 【0051】

## MSSA調製物

メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA、菌株MN8、毒素性ショック症候群毒素1(TSST-1<sup>+</sup>)を产生する臨床的粘膜単離株)を凍結原料由来の寒天プレート上に画線した。この寒天プレートから、一晩経った細菌培養物をTHプロス中で調製した。この培養物を洗浄し、新鮮なRPMI 1640中に希釈して、約 $5 \times 10^8$  CFU/mLの濃度にした。

## 【0052】

## 組織調製物

30

正常なブタ臍粘膜の検体を食肉処理場の動物から切除し、RPMI-1640ですすいだ。5mmの生検パンチを用いて、均一な大きさの組織プラグをブタ臍組織から得た。外科用メスを用いて過度の筋肉組織を切り落とした。組織外植片をRPMI-1640培地内で洗浄した。この外植片を、粘膜面を上にして滅菌ペトリ皿に設置し、新鮮なRPMI-1640で洗浄した。外植片を37℃で30分間インキュベートし、その後、0.75mLのRPMI-1640を含有する0.4μmの細胞培養トランスウェル挿入物を用いて、粘膜面を上にして6ウェルプレートに移した。

## 【0053】

ピペットを用いて、希釈したMSSA調製物をそれぞれの組織サンプルの粘膜表面に塗布した。37℃で2時間インキュベートした後、感染組織をインキュベータから除去し、TEGADERMマトリックス(3M Health Care, St. Paul, MN)及び/又はPHMBゲルで処理した。

40

## 【0054】

## PHMBゲル

表3の成分を用いてPHMBゲルを調製した。簡潔に、ヒドロキシエチルセルロース及びグリセロールを除く全ての成分を、水の約80%と混合した。この混合物を透明になるまで攪拌し、その後、乳酸又は水酸化ナトリウムを用いてpHを3.5に調整した。残りの水をこの混合物に添加した。グリセロール及びヒドロキシエチルセルロースを混合してスラリーを形成し、このスラリーを攪拌しながら水性混合物に添加した。結果として生じた溶液を、室温で一晩攪拌及び濃厚化させた。

50

## 【0055】

実施例1. 無機イオン(PhI塩)の活性成分を含む包帯及びビグアニド化合物を含む組成物での組織外植片の治療

ブタ臍組織を上述のようにM R S Aで感染させた。その後、10マイクロリットルのP H M B ゲルを組織に塗布した。P H M B ゲルの塗布直後、小さい正方形(0.5 cm<sup>2</sup>)のT E G A D E R Mマトリックス包帯を組織上のP H M B ゲルに適用した。組織外植片を18時間、37のインキュベータに戻した。2つの別個の実験を行い、それぞれの実験で異なる動物由来の外植片物質を用いた。別個の実験由来のサンプルを、微生物阻害試験及びインターロイキン-8蓄積試験(以下に説明される)に供し、別個の実験の結果を、それぞれ、表4及び表5に示す。

10

## 【0056】

比較例1. 無機イオンの活性成分を含む包帯での組織外植片の治療。

小さい正方形(0.5 cm<sup>2</sup>)のT E G A D E R Mマトリックス包帯をM S S Aに感染させた組織に塗布した。組織外植片を18時間、37のインキュベータに戻した。2つの別個の実験を行い、それぞれの実験で異なる動物由来の外植片物質を用いた。別個の実験由来のサンプルを、微生物阻害試験及びインターロイキン-8蓄積試験(以下に説明される)に供し、別個の実験の結果を、それぞれ、表4及び表5に示す。

## 【0057】

比較例2. P H M B ゲルでの組織外植片の治療。

ブタ臍組織を上述のようにM R S Aで感染させた。その後、10マイクロリットルのP H M B ゲルを組織に塗布した。P H M B ゲルを塗布した後、組織外植片を18時間、37のインキュベータに戻した。サンプルを微生物阻害試験及びインターロイキン-8蓄積試験(以下に説明される)に供し、それらの結果を表5に示す。

20

## 【0058】

対照

微生物阻害試験の対照は、上述のように感染させた寒天プレートから成り、P H I 及びP H M B が塗布されていないものであった。

## 【0059】

I L - 8 試験用の対照は、上述のようにM R S Aに感染させた臍組織から成り、P H I 及びP H M B が塗布されていないものであった。バックグラウンド読み取り値も記録し、これは、非感染臍組織由来のI L - 8濃縮物から成った。

30

## 【0060】

試験方法

微生物阻害試験

実施例の項で説明されたT E G A D E R Mマトリックス及び/又はP H M B ゲルでの治療後、並びにインキュベーション工程後、外植片をトランスウェルから取り出し、250 μLのP H M B 中和剤溶液で均質化した。この均質化された組織の連続希釀物を滅菌P B S中で調製し、5%のヒツジ血液を有するトリプシン大豆寒天(B e c t o n D i c k i n s o n )上に蒔いた。このプレートを37で24時間インキュベートした後、それぞれのプレート上の細菌コロニーの数を計数して記録した。

40

## 【0061】

インターロイキン-8(I L - 8)蓄積試験

微生物阻害試験において説明されたように調製されたサンプルを250 μLのP B S緩衝液中に設置し、均質化し、遠心分離して透明にした。上清を1.5 mLの管に移し、E L I S A分析まで凍結させた。ブタI L - 8 E L I S A開発キット(カタログ番号D Y 535、R & D Systems、Minneapolis, MN)を用いて、均質化された組織由来の上清中のI L - 8を測定した。P H M B 中和溶液中の希釀されていないP H M B サンプルがI L - 8を検出する能力を妨害したため、これらのサンプルを、滅菌水で1:4に希釀した後に、I L - 8を測定したことに留意する。

## 【0062】

50

## 【表4】

表4. 第1の組の組織外植片の微生物阻害及びIL-8蓄積試験の結果。

示された全ての結果は、二重反復試験サンプルにおいて測定された平均値に基づく。

丸括弧内のマイクログラムの数は、組織外植片に塗布されたPHMBゲルの量を指す。

サンプル	微生物阻害* (CFU/g 組織のLog <sub>10</sub> 減少)	IL-8蓄積
対照	—	3907±941
比較例1	-2.15	693±363
実施例1 (1.2 μg)	4.33	16±3
実施例1 (2 μg)	1.88	0±0
実施例1 (4 μg)	1.27	18±19

10

\* 微生物阻害は、対照プレート上のコロニー数と比較した、MSSAコロニー形成単位の数のLog<sub>10</sub>減少として報告される。

## 【0063】

## 【表5】

表5. 第2の組の組織外植片の微生物阻害及びIL-8蓄積試験の結果。

20

バックグラウンドを除いて、微生物阻害試験について示された全ての結果は、二重反復試験の平均及び標準偏差を含む。

サンプル	微生物阻害* (CFU/g 組織のLog <sub>10</sub> 減少)	IL-8蓄積
対照	—	4674±1527
比較例1	-5.26	52±201
比較例2	0.73	3740±1428
実施例1	2.47	0**

\* 微生物阻害は、対照プレート上のコロニー数と比較した、MSSAコロニー形成単位の数のLog<sub>10</sub>減少として報告される。

30

\*\* これらのサンプルにおいて得られた吸収度読み取り値は、バックグラウンド対照を下回り、したがって、IL-98蓄積は、「0」と報告される。

## 【0064】

表4及び表5に示された結果は、PHI塩を有するPHI塩を含む組成物を塗布することで、PHI塩又はPHMBで処理されていない対照と比較して、感染組織上の細菌の数の1.27~4.33のLog<sub>10</sub>減少をもたらしたことを示す。対照的に、PHI塩のみで処理された感染組織は、細菌を阻害しないように見え、PHMBゲルのみで処理された感染組織は、微生物の数のより小さいLog<sub>10</sub>減少(0.73)をもたらした。更に、PHI塩及びPHMBを含む組成物で処理された組織は、PHI塩のみ又はPHMBのみで処理された組織と比較して、より低い(すなわち、事実上検出不可能な)IL-8蓄積を示した。

40

## 【0065】

本明細書に引用する全ての特許、特許出願及び公開公報、並びに電子的に入手可能な資料の開示内容の全体を援用する。本出願の開示内容と本明細書に援用されたいずれかの文書の開示内容との間になんらかの矛盾が存在する場合には、本出願の開示内容が優先するものとする。上記の詳細な説明及び実施例はあくまで理解を助けるために示したものである。これらによって不要な限定をするものと理解されるべきではない。本発明は、図示及び説明された厳密な詳細に限定されるものではなく、当業者には明らかな変形例は特許請求の範囲によって定義された本発明に含まれるものとする。

## 【0066】

50

全ての見出しあは、読者の利便性のためであり、指定のない限り、その見出しに続く本文の意味を限定するために使用するべきではない。

【 0 0 6 7 】

本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、様々な修正を行ってもよい。これらの及び他の実施形態は、以下の特許請求の範囲に含まれる。

---

 フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
 A 6 1 P 17/02 (2006.01) A 6 1 P 17/02  
 A 6 1 P 31/04 (2006.01) A 6 1 P 31/04

(74)代理人 100077517  
 弁理士 石田 敬  
 (74)代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次  
 (74)代理人 100173107  
 弁理士 胡田 尚則  
 (74)代理人 100111903  
 弁理士 永坂 友康  
 (74)代理人 100128495  
 弁理士 出野 知  
 (72)発明者 パトリック ジェイ・パークス  
 アメリカ合衆国、ミネソタ 55133-3427, セントポール, ポストオフィス ボック  
 ス 33427, スリーエム センター  
 (72)発明者 マーニー エル・ピーターソン  
 アメリカ合衆国、ミネソタ 55455, ミネアポリス, オークストリート サウスイースト  
 200, スイート 360  
 (72)発明者 マイケル ジェイ・アンダーソン  
 アメリカ合衆国、ミネソタ 55455, ミネアポリス, オークストリート サウスイースト  
 200, スイート 360

審査官 井関 めぐみ

(56)参考文献 特表2005-515191 (JP, A)  
 特表2008-528595 (JP, A)  
 特表2009-523474 (JP, A)  
 特表2007-536233 (JP, A)  
 特表2011-506470 (JP, A)  
 特表2010-505740 (JP, A)  
 特表2009-514884 (JP, A)  
 特表2005-502392 (JP, A)  
 特開昭60-239421 (JP, A)  
 特表2007-534620 (JP, A)  
 特表平8-503462 (JP, A)  
 Eye & Contact Lens, 2011年 3月, Vol.37, No.2, p.85-89

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 A 6 1 K 31 / 155  
 A 6 1 K 33 / 06  
 A 6 1 K 33 / 14  
 A 6 1 K 33 / 30  
 A 6 1 L 15 / 12  
 A 6 1 P 17 / 02  
 A 6 1 P 31 / 04  
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I )

(13)

JP 6133858 B2 2017.5.24

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )