(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2017-530165
(P2017-530165A)
(43)公表日　平成29年10月12日(2017.10.12)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 38/46	***(2006.01)***	A61K	38/46	4C076
A61K 45/00	***(2006.01)***	A61K	45/00	4C084
A61K 9/08	***(2006.01)***	A61K	9/08	4C086
A61K 47/38	***(2006.01)***	A61K	47/38	4C206
A61K 47/36	***(2006.01)***	A61K	47/36	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 39 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-518221 (P2017-518221)
(86)(22)出願日　平成27年10月8日 (2015.10.8)
(85)翻訳文提出日　平成29年5月25日 (2017.5.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/054682
(87)国際公開番号　WO2016/057788
(87)国際公開日　平成28年4月14日 (2016.4.14)
(31)優先権主張番号　14/511,912
(32)優先日　平成26年10月10日 (2014.10.10)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　515117660
ロチャル　インダストリーズ，エルエルシー
アメリカ合衆国，テキサス州　７８２３０，サンアントニオ，クレインズ　ミル　１２７１９
(74)代理人　100080089
弁理士　牛木　護
(74)代理人　100161665
弁理士　高橋　知之
(74)代理人　100121153
弁理士　守屋　嘉高
(74)代理人　100178445
弁理士　田中　淳二

最終頁に続く

(54)【発明の名称】酵素による創傷清拭のための組成物とキット、およびそれを用いた方法

(57)【要約】
タンパク質分解酵素活性に依存しないが、代わりに酵素のアミラーゼ族を利用する壊死組織用の創傷清拭酵素が記載されている。アミラーゼ（α-、β-、γ-アミラーゼ）は、多糖類のα-グリコシド結合を開裂し、低分子量の炭水化物／糖断片が得られることが知られている。現在では、α-アミラーゼは、失活した組織の創傷清拭において有効であることが見出されている。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
創傷清拭組成物の総重量に基づいて0.001重量%～60重量％の非タンパク質分解酵素創傷清拭成分を含み、
非タンパク質分解酵素創傷清拭成分が、非アミラーゼ分解酵素成分の重量に基づき、少なくとも80重量％のアミラーゼを含む、創傷清拭組成物。
【請求項２】
ヒト、動物、細菌、植物、真菌および遺伝子組換えによるものから選択されるアミラーゼを含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。
【請求項３】
前記アミラーゼが少なくとも80重量％のα-アミラーゼを含む生空孔１に記載の創傷清拭組成物。
【請求項４】
β-アミラーゼ、γ-アミラーゼ、およびそれらの組み合わせから選択されるアミラーゼを20重量％まで含む、請求項３に記載の創傷清拭組成物。
【請求項５】
薬学的に許容される担体または賦形剤を含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。
【請求項６】
前記非タンパク質分解酵素創傷清拭成分が、プロテアーゼ、コンドロイチナーゼ、ヒアルロニダーゼ、リパーゼ、グリコシダーゼ、ヘパラナーゼ、デルマタナーゼ、プルラナーゼ、N-アセチルグルコサミニダーゼ、ラクターゼ、ホスホリパーゼ、トランスグルコシラーゼ、エステラーゼ、チオエステルヒドロリアーゼ、スルファターゼ、エスカラーゼ、ヌクレアーゼ、ホスファターゼ、ホスホジエステラーゼ、マンナナーゼ、マンノシダーゼ、イソアミラーゼ、リアーゼ、イヌリナーゼ、ケラチナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、グルカナーゼ、アラビノシダーゼ、ペクチナーゼ、セルラーゼ、キチナーゼ、キシラナーゼ、クチナーゼ、ペクチン酸リアーゼ、ヘミセルラーゼ、およびそれらの組み合わせから選択される他の加水分解酵素を20重量％まで含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。
【請求項７】
ヒトの膵臓、動物の膵臓、および細菌から選択されるα-アミラーゼを含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。
【請求項８】
前記非タンパク質分解酵素創傷清拭成分が、オキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、カタラーゼ、オキシドレダクターゼ、フェノールオキシダーゼ、ラッカーゼ、リポキシゲナーゼ、イソメラーゼおよびリグニナーゼから選択される酵素を20重量％まで含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。
【請求項９】
少なくとも1種のポリマービグアニドを、創傷清拭組成物の重量に基づいて、少なくとも0.01重量パーセント（100ppm）～1.0重量パーセント（10,000ppm）の量でさらに含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物を対象とする。
【請求項１０】
ポリマービグアニドは、ポリ（ヘキサメチレンビグアニド）およびその塩を含む、請求項９に記載の創傷清拭組成物を対象とする。
【請求項１１】
創傷清拭組成物の重量に基づいて、0.01重量％～50重量％の濃度の水溶性ポリマーをさらに含前記水溶性ポリマーは、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、グアーガム、ヒドロキシエチルグアー、ヒドロキシプロピルグアー、ヒドロキシプロピルメチルグアー、カルボキシメチルグアー、カルボキシメチルキトサン、ローカストビーンガム、カラギーナン、キサンタンガム、ジェランガム、アロエベラゲル、スクレログルカン、スキゾフィラン、アラビアガム、タマリンドゴム、ポリ（ビニルアルコール

）、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（メチルビニルエーテル）、カルボマーおよびその塩、ポリ（アクリル酸）およびその塩、ポリ（メタクリル酸）およびその塩、ポリ（2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸）ナトリウム、ポリアクリルアミド、ポリ（N,N-ジメチルアクリルアミド）、ポリ（N-ビニルアセトアミド）、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリル酸）、ポリ（グリセリルメタクリル酸）、ポリ（N-ビニルピロリドン）、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）およびポリ（N-ビニルカプロラクタム）、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１に記載の創傷清拭組成物。

【請求項１２】

創傷清拭組成物の重量に基づいて、0.01重量％～1重量％の濃度でキレート剤をさらに含み、前記キレート剤はエチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ニトリロ三酢酸、ニトリロトリプロピオン酸、ジエチレントリアミン五酢酸、2-ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸、1,6-ジアミノヘキサメチレン四酢酸、1,2-ジアミノシクロヘキサン四酢酸、エチレングリコール0,0'-ビス（2-アミノエチル）四酢酸、1,3-ジアミノプロパン四酢酸、N,N'-ビス（2-ヒドロキシベンジル）エチレンジアミン-N,N'-二酢酸、エチレンジアミン-N,N'-二酢酸、エチレンジアミン-N,N'-ジプロピオン酸、トリエチレンテトラアミンヘキサ酢酸、エチレンジアミン-N,N'-ビス（メチレンホスホン酸）、イミノ二酢酸、モノナトリウム-N-ラウリル-β-イミノジプロピオン酸、ラウリミノジプロピオン酸ナトリウム、N,N'-ビス（2-ヒドロキシエチル）グリシン、1,3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパン四酢酸、1,2-ジアミノプロパン四酢酸、イミノ二酢酸、ビホスホン酸塩、エディトロン酸塩およびそれらの塩からなる群から選択される、請求項１に記載の創傷清拭組成物。

【請求項１３】

1,2-プロパンジオール（プロピレングリコール）、1,2-ブタンジオール、1,2-ペンタンジオール、1,2-ヘキサンジオール、1,2-ヘプタンジオール、1,2-オクタンジオール（カプリリルグリコール）、1,2-ノナンジオール、1,2-デカンジオール、1,2-ウンデカンジオール、1,2-ドデカンジオール、1,2-トリデカンジオール、1,2-テトラデカンジオール、1,2-ペンタデカンジオール、1,2-ヘキサデカンジオール、1,2-ヘプタデカンジオール、1,2-オクタデカンジオール、2-メチル-2,4-ペンタンジオール、1,3-ブタンジオール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、グリコールビス（ヒドロキシエチル）エーテル、およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるモノアルキルグリコールをさらに含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。

【請求項１４】

1-0-ヘプチルグリセロール、1-0-オクチルグリセロール、1-0-ノニルグリセロール、1-0-デシルグリセロール、1-0-ウンデシルグリセロール、1-0-ドデシルグリセロール、1-0-トリデシルグリセロール、1-0-テトラデシルグリセロール、1-0-ペンタデシルグリセロール、1-0-ヘキサデシルグリセロール（キミルアルコール）、1-0-ヘプタデシルグリセロール、 1-0-オクタデシルグリセロール（バチルアルコール）、1-0-オクタデカ-9-エニルグリセロール（セラチルアルコール）、グリセロール1-（2-エチルヘキシル）エーテル、2-エチルヘキシルグリセリン、グリセロール1-ヘプチルエーテル、グリセロール1-オクチルエーテル、グリセロール1-デシルエーテル、およびグリセロール1-ドデシルエーテル、グリセロール1-トリデシルエーテル、グリセロール1-テトラデシルエーテル、グリセロール1-ペンタデシルエーテル、グリセロール1-ヘキサデシルエーテル、グリセロール1-オクタデシルエーテル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるグリセロールアルキルエーテルをさらに含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。

【請求項１５】

創傷清拭組成物の重量に基づいて、少なくとも0.01重量％の量の少なくとも1つのポリマービグアニドと、

0.01重量％～1重量％の濃度のキレート化剤と、

0.05重量％～4重量％の濃度のモノアルキルグリコールおよびモノアルキルグリセロールから選択される隣接ジオール成分とを含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。

【請求項１６】
少なくとも1つの鎮痛剤、麻酔剤、神経因性疼痛剤、またはそれらの組み合わせをさらに含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物。
【請求項１７】
前記少なくとも1つの鎮痛剤、麻酔剤、または神経因性疼痛剤が、リドカイン、カプサイシン、ベンゾカイン、テトラカイン、プリロカイン、ブピバカイン、レボブピバカイン、プロカイン、カルボカイン、エチドカイン、メピバカイン、ノルリピレン、アミトリプチリン、プレガバリン、ジクロフェナク、フェンタニル、ガバペンチン、非ステロイド性抗炎症剤、サリチレート、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項１６に記載の創傷清拭組成物。
【請求項１８】
粉末、水溶液、有機液体溶液、シリコーン、ゲル、クリーム、フィルム、ラテックス、エアロゾル、スラリー、ペースト、軟膏および泡からなる群から選択される形態を有する、請求項１に記載の創傷清拭組成物を対象とする。
【請求項１９】
包帯、天然または合成繊維、メッシュ、親水コロイド、アルギン酸塩、ヒドロゲル、半透膜、透過性フィルム、または天然あるいは合成ポリマー上に吸着されている、請求項１に記載の創傷清拭組成物を対象とする。
【請求項２０】
緩衝剤をさらに含む、請求項１に記載の創傷清拭組成物にを対象とする。
【請求項２１】
請求項１に記載の創傷清拭組成物；および
失活した組織の創傷清拭のための創傷清拭組成物を使用するための使用説明書を含むキット。
【請求項２２】
前記使用説明書が、創傷清拭を必要とする皮膚の領域に創傷清拭組成物を接触させる工程を含む、請求項２１に記載のキット。
【請求項２３】
請求項１に記載の創傷清拭組成物を、創傷清拭を必要とする皮膚の領域と接触させる工程を含む、失活した組織の創傷清拭方法。
【請求項２４】
前記接触させる工程が少なくとも1日に1回繰り返される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
皮膚の前記領域から創傷清拭された組織を除去する工程をさらに含む、請求項２３に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
創傷における壊死組織の創傷清拭は、外科的デブリドマンが利用できないか望ましくない場合によく利用される。本発明は、概して、酵素、特に、タンパク質のペプチド結合の開裂と対照的に、アミラーゼ系酵素のように多糖類の炭水化物α-1，4-グリコシド結合を開裂する酵素を用いた失活組織の創傷清拭に関する。
【背景技術】
【０００２】
創傷治癒は壊死組織の存在により弱められ、壊死組織は、第二度（深い部分厚）および第三度（全層）熱傷（痂皮）と、慢性潰瘍（例えば糖尿病潰瘍）とにおける死滅細胞および死滅組織を含む。壊死組織は失活組織であり、その蓄積は、長期の炎症反応と、上皮再形成が妨げられる創面収縮過程の機械的閉塞とをもたらし、創傷を治癒させず、必要に応じて、創傷床に植皮を取らせない。壊死組織は細菌感染症に感染しやすく、これにより、創傷の治癒がさらに妨げられ、重症例では敗血症を誘導する場合がある。壊死組織が黄色

または黄褐色で外観が繊維状のかたまりである場合、それは通常かさぶたと称され、その組織が乾燥して厚くガサガサの組織を形成している場合、それは痂皮と称される。失活組織の創傷清拭（除去）は創傷閉鎖を高めるために必要である。本発明の創傷清拭組成物はこのように、創傷の治療に有用である。

【０００３】

壊死組織を取り除くことは、創傷への酸素の運搬が治癒のために大変重要であるので、傷口での血行を回復させるのに役立つ。壊死組織を創傷清拭する方法は、外科的デブリドマン、酵素による創傷清拭、自己分解の創傷清拭、生物学的創傷清拭および機械的創傷清拭を含み、外科的デブリドマンおよび酵素による創傷清拭が最も普及している。外科的デブリドマンは、最も速く最も効果的な創傷清拭の方法であり、熟練の医療従事者／外科医によって行われる。しかしながら、壊死組織と生活組織との間の境界が明確でないために生活組織が不注意で取り除かれる可能性があり、創傷部が拡大したり、失血が増加する結果となる。酵素による創傷清拭は、少ない訓練を活用し、通常、看護師／医療従事者により行われ、大抵は壊死組織を取り除くのに長い治療期間を必要とする。酵素による創傷清拭は、死んでいる組織を取り除くために体外から得られた酵素の使用を含む。創傷清拭酵素は、生体物質の大きな化学成分、特に生体高分子を、溶かして取り除くことができる小分子に開裂（切除、消化、加水分解）する。ほとんどの創傷清拭酵素はタンパク質ポリマー鎖を開裂することでプロテアーゼとして機能し、種々様々なプロテアーゼがこれに関して研究されてきた。創傷清拭酵素は、壊死組織のかさぶたを作る即効性の触媒である。線維素溶解酵素は血漿酵素であり、血漿酵素は、活性化された後、血栓および滲出液内のフィブロイン成分を攻撃する。デオキシリボヌクルアーゼは、特に化膿性滲出液の核タンパク質成分を攻撃する膵酵素である。トリプシンおよびキモトリプシンは、非特異性膵酵素であるが、タンパク質骨格を特定のアミノ酸残基で断ち切ることができる。他の動物からの酵素は、南極オキアミに由来するプロテアーゼであるクリラーゼを含む。熱帯結実植物は創傷清拭酵素の主要な供給源を提供する。ブロメラインは、３つのシステインプロテアーゼを含むユーコミスの茎からのタンパク質分解酵素に分類される。パパインは、壊死組織内の種々様々な物質を開裂するパパイヤラテックスからの非特異性システインプロテアーゼであり、フィブロイン、コラーゲン、およびエラスチンを含む。フィシンは、同様の作用pH特性の非特異性システインプロテアーゼであり、イチジク（無花果）植物の植物ラテックスに由来する。バクテリアもまた創傷清拭酵素源である。枯草菌に由来するスブチリシンは、壊死組織を分解させる非特異性の水溶性セリン・プロテアーゼの混合物である。メタロペプチターゼであるコラゲナーゼは、コラーゲンを分解するタンパク質分解酵素であり、ヒストリチクム菌に由来する。ビブリオリシンは、別のコラーゲン攻撃メタロペプチターゼであり、バクテリアのビブリオ・プロテオリチカスに由来する。サーモリシンは、高温でも極めて優れた生産性をもって非特異的に振る舞うバチルス・サーモプロテオリチカスからの細菌創傷清拭酵素である。連鎖球菌類からのフィブリゲン活性化プロテアーゼであるストレプトキナーゼ、および、溶血連鎖球菌からのデオキシリボヌクレアーゼもまた、創傷清拭で使用されている（米国特許出願第2008/0044459号）。

【０００４】

2009年以前、酵素による創傷清拭として、多数の非FDA規制の局所タンパク質分解酵素製品が市場で売られていたが、有害なアレルギー事故および／または有効性の欠如のために、FDAにより製造および販売が止められ、それらは、パパイン（パパイヤ）、トリプシンとキモトリプシン（膵酵素）、および枯草菌プロテアーゼを含んでいた。現在、米国で入手できるタンパク質分解酵素による創傷清拭製品は２つあり、三重らせんコラーゲンを選択的に消化し、白色ワセリン1グラムあたり250コラゲナーゼユニットを利用するヒストリチクム菌に由来のコラゲナーゼである、FDA認可のSantyl（登録商標）Ointment（Smith & Nephew）と、パイナップル由来のブロメライン酵素の混合物である、Debrase（登録商標）Gel Dressing（NexoBrid）である。重要なことは、銀系およびヨウ素系抗菌剤はコラゲナーゼを失活させるので、Santyl（登録商標）Ointmentをそれらと同時に使用することができないことである。Debrase（登録商標）（MediWound Ltd.）は、最近、痂皮創傷清

拭に関するFDAの希少薬の地位を与えられた。

【０００５】

米国特許第4,668,228号は、非ゲル、非生体内分解性、生体適合性であり、密封または半密封の裏地に粘着剤を有し、接着表面に乾燥粉末状の有効量の創傷清拭タンパク質分解酵素が置かれた創傷清拭テープを開示している。粉末が傷口の滲出液に接触されたら、すぐに多量の酵素が放出される。

【０００６】

米国特許第5,206,026号では、創傷へタンパク質分解酵素を即座に運ぶための薄膜が開示されている。水性液体に曝されると、薄膜はすぐに溶解し、同時にその酵素の内容物を放出する。

【０００７】

米国特許出願第2002/0114798号では、タンパク質分解酵素と無水親水性ポロキサマー担体とを組み合わせて使用する、酵素による創傷清拭が開示されている。

【０００８】

米国特許第5,120,656号では、骨膜を正常にさせる摘出された骨の創傷清拭のプロセスが提供され、当該プロセスは、骨表面の根本から骨膜をほぐす状況を促進する酵素活性の下、タンパク質分解コラーゲン昇華酵素およびそれらの混合物の群から選択される酵素の溶液に骨膜を接触させる工程と、骨からほぐされた骨膜を取り除く工程とを備える。

【０００９】

米国特許第7,368,128号では、創傷内の壊死組織および成長できない組織の創傷清拭のための包帯が記載されており、包帯は、分解性ポリマーに組み込まれた１つ以上の有効量のタンパク質分解酵素を備える。当該発明の包帯は、酵素が長い時間をかけて放出されるので、長時間にわたって効果的な壊死創傷の創傷清拭を提供する。

【００１０】

国際公開特許公報第WO 2012/155027号では、創傷清拭組成物は、タンパク質分解酵素セアプローゼ（真菌アスペルギルスメレウスからのプロテアーゼSとしても知られる）を含む。セアプローゼの主要酵素は、約31kDaの分子量をもつセミアルカリプロテアーゼである。セアプローゼは、アミラーゼや、炭水化物を分解する加水分解酵素等のその他の酵素も含むことができる。

【００１１】

国際公開特許公報第WO 2012/155027号では、皮膚表面創傷のための局所軟膏が記載され、それは、複数のプロテアーゼと共に、創傷治療パパイン、ブロメライン、トリプシン、キモトリプシン、パンクレアチン、リパーゼ、アミラーゼ、アロエエキス、および、浸透性および非浸透性皮膚軟化オイルと多価アルコール皮膚軟化剤との担体混合物で調合された有機収斂剤からなる。軟膏は、皮膚表面の部位で炎症を減少させ、体の正常な抗炎症活性を高めるよう作用すると報告されている。

【００１２】

米国特許第6,548,556号では、タンパク質分解酵素は、一部においてまたは全体において、ペプチドアミド結合を加水分解する能力を有し、そのような酵素はまた、タンパク質分解活性と関係している固有の脂肪分解活性および／またはデンプン分解活性も有し、好ましいタンパク質分解酵素はパパインであると報告されている。その他の適切なタンパク質分解酵素は、トリプシン、キモトリプシン、ストレプトキナーゼ、ストレプトドルナーゼ、フィシン、ペプシン、カルボキシペプチダーゼ、アミノペプチダーゼ、キモパパイン、ブロメラインを含み、同様に、パンクレアチン、トリプシン、コラゲナーゼ、ケラチナーゼ、カルボキシラーゼ、アミノペプチダーゼ、エラスターゼ、およびアスペルギルスペプチダーゼ等の酵素も含む。パンクレアチンは、ペプチドヒドロラーゼ／プロテアーゼ（トリプシン、キモトリプシン、エラスターゼ、カルボキシペプチダーゼA、カルボキシペプチダーゼB）、脂肪分解酵素（リパーゼ、ホスホリパーゼA2、ホスホリパーゼB、コリンエステラーゼ、コレステロール・エステラーゼ）、グリコシダーゼ（α－アミラーゼ、グルコシダーゼ）、および、ヌクレアーゼ（デオキシリボヌクレアーゼI、デオキシリボヌ

クレアーゼII、リボヌクレアーゼ）の混合物を含む。

【００１３】

枯草菌からの混合創傷清拭物質酵素は、米国特許第3,409,719号に記載されている。当該酵素製品は、カゼイン（リンタンパク質）に対してタンパク質分解活性を示し、ヘモグロビン（金属タンパク質）に対しても同様の活性を示す。それは、ゼラチン化デンプンに対してデンプン分解活性も示す。創傷内の主要組織タンパク質成分であると報告されているフィブリン、変性コラーゲン、エラスチンおよび滲出液の急速な溶解も可能である。混合酵素組成物は、米国特許第3,409,719号の表Iに示されており、アミラーゼ6.3%かつプロテアーゼ93.7%からアミラーゼ18.2%かつプロテアーゼ81.8%の範囲のプロテアーゼに対する最小限のアミラーゼを含む。

【００１４】

深刻な火傷は、抗菌剤をすぐに塗り包帯をあてて感染症の危険性を減らし（例えば米国特許第4,772,465号の緑膿菌敗血症）、治療とそれに続く皮膚移植のために創傷床を整えることを目的として、外科的デブリドマンを必要とする。生活組織の除去により出血が強まる可能性があるので、酵素による創傷清拭は壊死組織の除去であることが好ましい。創傷治療はまた、心血管不全および神経障害のために糖尿病患者にとって難しいので、外科的デブリドマンによって糖尿病潰瘍の大きさを大きくすることは望ましくなく、改良された糖尿病潰瘍の創傷清拭の存在が必須の義務である。

【００１５】

国際公開特許公報第WO 1999046368号では、有効量の炭水化物活性酵素を塗布するステップを含む創傷の処理方法が議論され、熱傷およびその他の創傷を創傷清拭する広い特異性を有することが報告されている。皮膚内ではグリコサミノグリカン（GAGs）の濃度が高いので、火傷患者内でグリコサミノグリカンを分解させる酵素が、火傷創傷清拭の有益な付加物であると考えられている。グリコサミノグリカンは、酸性多糖の反復型のポリマーで構成される糖鎖であり、酸性多糖は以下の糖成分の様々な組み合わせからなる：ガラクトース、グルコース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、グルクロン酸、ガラクツロン酸、およびイズロン酸。炭水化物は、生体の機能で重要な役割を有することが知られている。それらの代謝の役割に加え、炭水化物は、タンパク質（すなわち糖タンパク質）等の多数の他の構成要素と共有結合している人体の構成成分である。ヒトの皮膚は、10重量%のグリコサミノグリカンを含み（ヘパリン、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸（ヒアルロナン）、デルマタン硫酸、およびケラタン硫酸を含む）、コンドロイチン硫酸が最も普及しているグリコサミノグリカンである。コンドロイチン硫酸はまた、主要単量体単位の間でβ-1, 3-およびβ-1,4-結合を有する。「炭化水素活性酵素」との用語は、炭化水素還元酵素を具体的に含むものとして使用され、当該酵素は例えば、ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ、デルマタナーゼ、ヘパラナーゼ、ヘパリナーゼ、およびケラタナーゼ等のグリコサミノグリカンを含み、コンドロイチナーゼおよびヒアルロニダーゼの炭化水素活性酵素が好ましい。

【００１６】

感染対策もまた、創傷清拭で取り組まれていない重要な責務である。焼痂は通常乾いた壊死組織でありすぐに感染はしないが、第二度および第三度熱傷とともに敗血症が起こり得るので、焼痂（壊死組織）除去の早い段階の間に焼痂および創傷床に抗菌剤を有することが非常に望ましい。焼痂と対照的に、慢性的な傷（糖尿病潰瘍）の壊死組織は、水や死滅細胞および破片からの栄養源の存在に支えられて、細菌定着を促進する。創傷内の壊死組織は、感染と関係があり、慢性的な傷の大多数が微生物生体膜に感染する。

【００１７】

壊死組織の創傷清拭に対するタンパク質分解酵素の使用の難しさは、不利なアレルギー事故、過敏性および／または効能不足を伴う潜在的な困難性に加え、水溶液での事故消化の能力である。このように、壊死組織に対して高い創傷清拭効能を有し、臨床的に使いやすく、適した品質保持期間を示し、非アレルギー性である創傷清拭組成物を特定することが望ましい。

【図面の簡単な説明】
【００１８】
【図１】異なる酵素による処理前後のコラーゲンゲルに関する周波数対弾性率のグラフである。
【図２】異なる酵素による処理前後のコラーゲンゲルに関する周波数対複素弾性率のグラフである。
【図３】室温、１時間後で消化された煮沸豚皮膚の重量パーセント対α-アミラーゼ濃度のグラフである。
【発明を実施するための形態】
【００１９】
発明の詳細な説明
本願では、従来の酵素による創傷清拭製品でなされてきたようなプロテアーゼによるコラーゲンのペプチド結合の開裂ではなく、グリコサミノグリカン多糖およびコラーゲン原線維内、および／またはそれらの間のグリコシド結合の推定開裂を使った酵素による創傷清拭の新規な組成物および方法について検討する。デンプンの低分子量糖類への触媒加水分解等でのα-1,4-グリコシド結合の開裂で知られている酵素、アミラーゼが、失活組織または壊死組織の創傷清拭に効果的であることが思いがけなく見出された。これらの独特の組成物は、適切な保存期間を有し、アレルギー反応がなく、効果の高い酵素による創傷清拭組成物を提供する。
【００２０】
本明細書で説明する創傷清拭製剤は、様々な種類の酵素アミラーゼを含む。アミラーゼ（α-、β-、γ-アミラーゼ）は、多糖のα-グリコシド結合を選択的に加水分解する酵素の一つの族であり、低分子量の炭水化物／糖フラグメンを生じさせる。ある実施形態では、α-アミラーゼはアミラーゼとして使用される。アミラーゼはヒトおよびその他の哺乳動物に天然に存在し、植物、バクテリアおよび菌類においても見出される。
【００２１】
皮膚組織の物理的挙動は、主として細胞外マトリックス（ECM）によって決定される。ECMは、線維性タンパク質およびグリコサミノグリカン（GAG）のインターロックメッシュでできている。GAGは炭水化物ポリマーであり、通常ECMタンパク質に結合してプロテオグリカンを形成している。皮膚内では、1型コラーゲンがECMの主要なタンパク質成分であり、プロテオグリカンの主成分はデコリンおよびバーシカンである。おそらく、これらのコアタンパク質が1型コラーゲン原線維の表面に結合し、皮膚の機械的強度をもたらしている。プロテオグリカン結合は、ECMでの適切なコラーゲン原線維の集合に必要であり、マトリックスメタロプロテアーゼによるコラーゲン原線維の開裂を抑制する。プロテオグリカンは、1つまたはいくつかのGAG鎖が共有結合している糖タンパク質コアから構成される。脊椎動物、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸、ケラタン硫酸、およびヘパラン硫酸／ヘパリンには、4つの異なるクラスのグリコサミノグリカンが存在する。ヒアルロナン（ヒアルロン酸）は、細胞外マトリックスの主成分の1つであり、細胞増殖および移動に大いに寄与する。しかし、他のグリコサミノグリカンとは異なり、ヒアルロナンはタンパク質に結合してプロテオグリカンを形成するのではなく、水分子に結合して保持し、コラーゲン原線維の間の隙間を埋める。
【００２２】
GAGはグリコシドβ-1,4-（主にコンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸）およびα-1,4-結合（主にヘパラン硫酸／ヘパリンによる）の両方によってコアタンパク質のセリン残基に結合し、主たるGAGはコンドロイチン硫酸である。内部結合のために、ヒアルロン酸およびコンドロイチン硫酸は主にβ-1,3-およびβ-1,4-結合から構成され、デルマタン硫酸は主にα-1,3-およびβ-1,4-結合を有し、ヘパリン／ヘパラン硫酸はβ-1,4-結合の混合物を有し、ここで第一の反復単位はα-アミラーゼによる開裂のために必要とされる、3つ以上のα-1,4-結合を含まない（グリコサミノグリカンおよびプロテオグリカン、sigma.com/glycobiology）。

【００２３】
以前の研究では、有効量の炭水化物活性酵素を投与する工程を含む創傷の治療方法が議論され、当該酵素は、優先的に、（1-4）-β-D結合および（1-3）-β-D結合を含有するプロテオグリカン上のコンドロイチン鎖の加水分解に触媒作用を及ぼす酵素であるコンドロイチナーゼであり、コンドロイチンおよびコンドロイチン硫酸を分解する能力が制限された、β-1,4-およびβ-1,3-グリコシド結合を含むヒアルロナンを開裂する酵素であるヒアルロニダーゼである（国際公開特許公報第WO 1999046368号）。
【００２４】
本明細書に記載の組成物および方法は、壊死組織創傷清拭のための非プロテアーゼ加水分解酵素の使用に関するものであり、α-アミラーゼ、β-アミラーゼおよびγ-アミラーゼを含むアミラーゼの族が、神経組織類似体：ボイルした豚の皮膚（米国特許第8,119,124号）、ならびに新しく切除したラットの皮膚、を消化および分解できることが思いがけなく見つかった。
【００２５】
アミラーゼは、多糖類の糖残基の結合の開裂を助ける消化酵素である。それは、人体の2つの主なタイプである唾液アミラーゼおよび膵臓アミラーゼに見出される。唾液中では、唾液アミラーゼは、デンプンおよびグリコーゲンの、グルコース、マルトースおよびデキストリンへの分解に関与する。膵臓アミラーゼは、消化器系のデンプンをさらに分解する。
【００２６】
いくつかの実施形態において、非タンパク質分解性成分は、創傷清拭組成物のタンパク質分解性成分よりも大きい。いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物中の非タンパク質分解酵素対タンパク質分解酵素の比は、少なくとも4：1、少なくとも5：1、または少なくとも10：1、少なくとも20：1、少なくとも40： 少なくとも60：1、少なくとも80：1、または少なくとも100：1である。タンパク質分解酵素の量が0であり、非タンパク質分解酵素の量が0より大きい場合、比は∞：1である。いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物は、創傷清拭組成物の総重量に基づいて、0.01重量％未満のタンパク質分解酵素、または0.001重量％未満のタンパク質分解酵素を含む。いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物は、20重量％までのタンパク質分解酵素、または15重量％までのタンパク質分解酵素、または10重量％までのタンパク質分解酵素を含む。
【００２７】
アミラーゼの3つの形態と比較して、α-アミラーゼ（1,4-α-D-グルカングルカノヒドロラーゼとも呼ばれる）は、すべての生きている生物に見出されるエンドアミラーゼである。これは、最終的にグルコースおよびマルトースを産生するα-1,4-グリコシド結合を有するデンプン、グリコーゲンおよび関連する多糖類およびオリゴ糖、ならびにより大きなオリゴ糖の多重攻撃機構によって無作為に機能し、これらのいずれもヒトの皮膚に存在しない。α-アミラーゼは、3つ以上の1,4-α結合D-グルコース単位を含む多糖類中の1,4-α-D-グルコシド結合を加水分解する（Sigma Aldrich、http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/carbohydrate-analysis.html）。しかしながら、α-アミラーゼは、グリコーゲンおよびアミロペクチン中のα-1，6結合を加水分解することができない。
【００２８】
βアミラーゼ（1,4-α-D-グルカンマルトヒドロラーゼとも呼ばれる）およびγ-アミラーゼ（アミログルコシダーゼ、グルカン1,4-αグルコシダーゼ、およびグルコアミラーゼとも呼ばれる）は、植物および微生物に専ら見出されるエキソアミラーゼである。αアミラーゼのように、βアミラーゼは1,6-α結合を加水分解することができない。βアミラーゼ酵素は、αアミラーゼと同じ基板上に作用するが、非還元末端から連続するマルトース単位を除去する。γアミラーゼは、β-D-グルコースを、多糖鎖の非還元末端から連続して放出する。種々の形態のγ-アミラーゼは、配列中の次の結合が1,4-結合である場合に、1,6-α-D-グルコシド結合を加水分解し、そしていくつかの製剤は、他の多糖類で、1,6

-および1,3-α-D-グルコシド結合を加水分解することができる。アミラーゼ酵素の組合せは、食品製造、甘味料、デンプン糖化、醸造および蒸留産業などの様々な調合で使用されている。

【００２９】

カルシウムおよび塩化物イオンは、α-アミラーゼの活性にとって必須である。1つのCa^{2+}は各酵素分子に強く結合しており、加水分解活性のための適切な配座を促進し、塩化物イオンは酵素の天然活性剤とみなされてきた。過剰のカルシウムはα-アミラーゼを熱に対して安定化させる。 触媒活性は、40℃～45℃の温度範囲および7.0～7.5のpHで最適である。

【００３０】

この研究において、アミラーゼによる酵素創傷清拭の新規な組成物および方法は、グリコサミノグリカン多糖類およびコラーゲン原線維中、および／または、それらの間のグリコシド結合の開裂によって検討され、従来の酵素創傷清拭製品に対して行われてきたコラーゲンのペプチド結合の開裂によるものではない。創傷清拭製剤は、様々なタイプの酵素アミラーゼを含有する。すべてのアミラーゼ（α-、β-、γ-アミラーゼ）は、多糖のα-グリコシド結合を選択的に加水分解する酵素の族であり、低分子量炭水化物／糖の破片を生じる。α-アミラーゼは、デンプンの直鎖状アミロース鎖中の隣接するグルコース単位間の1,4-α-D-グリコシド結合をランダムに開裂する。α-アミラーゼの重要な利点は、それがヒトおよび他の哺乳動物に生来存在し、植物、細菌および真菌においても見出されることである。いくつかの実施形態では、アミラーゼは微生物アミラーゼを含む。植物および動物起源のものは、フェノール化合物（植物由来）、内因性酵素阻害剤、およびプロテアーゼを含む、微生物に基づくアミラーゼよりも有害な物質を含みうる。

【００３１】

アミラーゼは、タンパク質分解性ではないので、水中で自己消化せず、同様の水性条件下でタンパク質分解酵素と比較してより安定である。アミラーゼの高い安定性は、ペトロラタムベースのタンパク分解性創傷清拭軟膏とは異なり、壊死創傷清拭後に容易に除去することができる親水性製剤中でのその保存を容易にする。

【００３２】

タンパク質分解酵素創傷清拭におけるアミラーゼの存在は、主に、これらの手順においてプロテアーゼよりもはるかに少ない量で報告されており、大抵、膵臓タンパク分解酵素の不純物である（米国特許第3,409,719号；米国特許第8,540,983号）。コンドロイチナーゼおよびヒアルロニダーゼに基づく炭水化物活性酵素製剤は、火傷および他の創傷を創傷清拭することが報告されている（国際公開特許公報第WO 1999046368号）。これらの酵素はおそらく、コンドロイチン硫酸の優勢なプロテオグリカンのような、皮膚のコラーゲンに関連するプロテオグリカンに対して活性であることが予想される。アミラーゼは、細胞外マトリックスに関与しない炭水化物であるデンプンのようなα-1,4-グリコシド結合のみを分解すると推定されるため、アミラーゼを主酵素消化剤とする壊死組織の酵素による創傷清拭については何ら報告されていない。

【００３３】

デンプン分子は、α-1,4-およびα-1,6-グリコシド結合によって連結されたグルコースポリマーであり、線状アミロースおよび分枝状アミロペクチン成分からなる。デンプンに貯蔵された炭素およびエネルギーを利用するために、ヒト消化器系の一部としてのアミラーゼは、複数の点でデンプンを開裂し、デンプンを最終的にグルコース単位に変換するより小さい糖に変換する。α-1,4-およびα-1,6-グリコシド結合の2つのタイプの結合の存在のために、デンプン分子に関し異なる構造が可能である。α-1,4-グルコシド結合のみを有する非分枝鎖状の単鎖ポリマーはアミロースと呼ばれる。一方、α-1,6-グルコシド結合の存在はアミロペクチンの分枝グルコースポリマーをもたらす。ヒトおよび動物細胞におけるグルコース貯蔵として機能する別の密接に関連する化合物はグリコーゲンと呼ばれる。グリコーゲンは、グリコーゲンの分枝がより短くより多くなる傾向があることを除いて、アミロペクチンの構造に類似した構造を有する。アミロース、アミロペクチン、グ

リコーゲンのいずれも、細胞外マトリックスのコラーゲンを安定化または相互作用する成分としてヒトまたは動物の皮膚に存在するとは考えられていない。

【００３４】

α-アミラーゼによって攻撃される結合の特異性は、酵素の供給源に依存する。現在、2つの主要なクラスのα-アミラーゼが微生物発酵によって商業的に生産されている。グルコースポリマー鎖のどこにおいて開裂が起こるかに基づいて、デンプンのランダム解重合における最初の工程は、大きな鎖を種々のより小さなサイズのセグメントに分割することである。大きなセグメントの分解は、ゼラチン化したデンプン溶液の粘度を大幅に低下させ、溶液の粘度の低下により液状化がもたらされる。解重合の最終段階は糖化であり、主に単糖類、二糖類および三糖類の形成に帰着する。

【００３５】

細菌のα-アミラーゼはα-1,4-結合のみをランダムに攻撃するため、液化カテゴリに属する。他方、真菌α-アミラーゼは糖化カテゴリに属し、直鎖セグメントの非還元末端（すなわち、C4末端）から第2の結合を攻撃し、結果として2つのグルコース単位が一度に分裂し、二糖マルトースが得られる。このように、糖化酵素は液化酵素よりも結合破壊がより広範囲に起こる。デンプン鎖は文字通り小さな小片に切り刻まれている。最後に、γ-アミラーゼは、非還元末端の最後の結合を選択的に攻撃し、α-1,4-グルコシド結合とα-1,6-グルコシド結合の両方に1:20の相対速度で作用し、単純なグルコース単位が溶液へ分裂する。α-アミラーゼおよびγ-アミラーゼを一緒に使用して、デンプンを単糖に変換することができる。

【００３６】

アミラーゼはまた、国際公開特許公報第WO 2007/144856号に記載されているように、硬質表面および布帛の洗浄にも使用されおり、これらは、万能または「強力」洗剤、特に洗濯洗剤と；液体、ゲルまたはペーストの形態の汎用洗浄剤、特にいわゆる強力液体タイプと；液状のファイン・ファブリック合成洗剤と；手洗い食器洗い剤または軽質食器洗い剤、特に高発泡タイプのものと；家庭用および施設用の様々な錠剤、粒状、液体およびすすぎ補助剤を含む機械式洗浄剤と；抗菌手洗いタイプ、洗濯用バー、うがい薬、義歯洗浄剤、自動車またはカーペットシャンプー、浴室用洗浄剤などの液体洗浄および消毒剤と；ヘアシャンプーおよびヘアリンスと；シャワージェル、泡浴および金属クリーナーとを含み；同様に漂白添加剤および「ステインスティック」または前処理タイプのような洗浄補助剤を含む。

【００３７】

アミラーゼは、産業界で使用されている主要な酵素の1つである。アミラーゼは、食品、発酵および製薬産業のような幅広い産業プロセスにおいて潜在的な応用がある。α-アミラーゼは、植物、動物および微生物から得ることができるが、真菌および細菌源に由来する酵素は、バシラス属およびアスペルギルス属の微生物を含む産業界において優勢であり、最も商業的なアミラーゼは、リケニホルミス菌、バシラス・アミロリケファシエンス、枯草菌、またはバチルス・ステアロサーモフィルスのような細菌源から産生される。

【００３８】

本明細書に記載の創傷清拭組成物は、液体、ゲル、粉末、ペースト、軟膏、ローション、エマルション、またはマイクロエマルションとして処方することができ、泡、噴霧、包帯、メッシュ、救急絆として、壊死組織または失活組織に提供されることができ、後者は、フィルム形成ポリマー、半透過性または透過性ポリマー、または包帯、救急絆あるいは発泡材料のような分解性または非分解性基材を含んでもよい。創傷清拭組成物は、酵素による創傷清拭組成物と適合する1つ以上の薬学的または化粧品的に許容される担体を含むことができる。薬学的または化粧品的に許容される担体の例には、これらに限定されないが、水、生理食塩水（等張性生理食塩水）、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水（DPBS）、リン酸緩衝食塩水（PBS）、塩化カルシウムを加えた生理食塩水、リンゲル液、グリセリン、プロピレングリコール、エタノール、イソプロパノール、ブタン-1，3-ジオール、液体ポリ（アルキレングリコール）（例えば、ポリ（エチレングリコール）、メチルエーテ

ル末端ポリ（エチレングリコール）、ポリ（エチレングリコール-ブロック-プロピレングリコール-ブロック-エチレングリコール））、および水溶性液状シリコーンポリエーテルと、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、鉱物油、ジメチコーンおよびペトロラタム等の水不溶性媒体が挙げられる。いくつかの実施形態において、賦形剤は、創傷清拭組成物の重量に基づいて0％～99.9重量％の範囲の量で存在し得る。

【００３９】

創傷清拭組成物はまた、湿潤剤、緩衝剤、ゲル化剤、界面活性剤、キレート剤および乳化剤を含むことができる。他の賦形剤としては、pHが5.0～7.5である種々の水性緩衝剤、シリコーン、ポリエーテル共重合体、植物油および植物油脂、精油、親水性および疎水性アルコール、ビタミン、モノグリセリド、および、例えばラウリン酸エステル、ミリスチン酸エステル、パルミチン酸エステルおよびステアリン酸エステル等の浸透増強エステルを含むことができる。いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物は、液体、ゲル、ペースト、クリーム、エマルション、およびそれらの組み合わせから選択される形態であり得る。

【００４０】

いくつかの実施形態では、酵素創傷清拭組成物を凍結乾燥して乾燥粉末にする。凍結乾燥された酵素創傷清拭組成物は、粉末形態で使用され得るか、または粉末は、溶液、クリーム、ローション、ゲル、スプレー、泡、エアロゾル、フィルム、または他の製剤にさらに加工され得る。

【００４１】

いくつかの実施形態では、界面活性剤乳化剤を使用して、有機溶媒との相溶化を促進するエマルションを形成することができる。有機溶媒の例には、これらに限定されないが、油中水滴または水中油型エマルション、逆エマルション、ミニエマルション（ナノエマルション）、マイクロエマルション、および逆マイクロエマルションを形成するための揮発性シリコーン溶媒および揮発性アルカン等の非刺激性溶媒が含まれる。非刺激性揮発性シリコーン溶媒としては、これらに限られないが、ヘキサメチルジシロキサンまたはオクタメチルトリシロキサンのような低分子量ポリジメチルシロキサン;低分子量環状シロキサン、例えばヘキサメチルシクロトリシロキサンまたはオクタメチルシクロテトラシロキサン;プロパン、ブタンおよびイソブタン（加圧下のエアロゾル）、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、イソオクタンおよびそれらの異性体、石油蒸留物およびシクロヘキサンのような直鎖、分岐または環状アルカン;トリクロロモノフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、およびジクロロテトラフルオロエタンのようなクロロフルオロカーボン;テトラフルオロエタン、ヘプタフルオロプロパン、1,1-ジフルオロエタン、ペンタフルオロプロパン、パーフルオロヘプタン、パーフルオロメチルシクロヘキサンのようなフルオロカーボン; 1,1,1,2-テトラフルオロエタンおよび1,1,1,2,3,3,3-ヘプタフルオロプロパンのエアロゾルなどのヒドロフルオロアルカン、それらの組み合わせなど;空気、亜酸化窒素、および液体二酸化炭素のような加圧下の揮発性ガス;またはそれらの混合物である。高圧下で貯蔵する場合、二酸化炭素は室温で液体の形態で存在することができると理解される。いくつかの実施形態において、揮発性溶媒は、ヘキサメチルジシロキサン、イソオクタン、およびそれらの混合物であり得る。いくつかの実施形態では、揮発性溶媒はヘキサメチルジシロキサンであってもよい。いくつかの実施形態において、溶媒は、創傷清拭組成物の重量に基づいて0重量％～99.9重量％の範囲の量で存在し得る。

【００４２】

本明細書で使用できる水溶性粘性界面活性剤は、これらに限定されるものではないが、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、グアーガム、ヒドロキシエチルグアー、ヒドロキシプロピルグアー、ヒドロキシプロピルメチルグアー、カルボキシメチルグアー、カルボキシメチルキトサン、ローカストビーンガム、カラギーナン、キサンタンガム、ジェランガム、アロエベラゲル、スクレログルカン、シゾフィラン、アラビアゴム、タマリンドガム、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（エチレンオキシド）、

ポリ（エチレングリコール）、ポリ（メチルビニルエーテル）、カルボマーおよびその塩、ポリ（アクリル酸）およびその塩、およびポリ（メタクリル酸）およびその塩、ポリ（2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸）ナトリウム、ポリアクリルアミド、ポリ（N、N-ジメチルアクリルアミド）、ポリ（N-ビニルアセトアミド）、ポリ（N-ビニルホルムアミド）、ポリ（メタクリル酸-2-ヒドロキシエチル）ポリ（メタクリル酸グリセリル）、ポリ（N-ビニルピロリドン）、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）およびポリ（N-ビニルカプロラクタム）（これらの2つは下限臨界溶解温度以下で水和した）同様のもの、およびそれらの組み合わせを含む。

【００４３】

いくつかの実施形態では、中性であり、アミラーゼによって酵素的に分解されない水溶性ポリマーを粘度上昇剤として使用することができる。そのような粘度上昇剤の例には、これらに限定されないが、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（ビニルアルコール）およびポリ（N-ビニルピロリドン）が含まれる。本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用な他の粘度上昇剤には、これらに限定されないが、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の単糖単位間のβ結合を有する中性多糖類が含まれる。本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用なさらに他の粘度上昇剤には、これらに限定されないが、カルボマーおよびその塩、ポリ（アクリル酸）およびその塩、並びにポリ（メタクリル酸）およびその塩等の電荷を帯びたアニオン性のものが含まれる。さらに他の粘度上昇剤は、カルボキシメチルセルロースなどの単糖単位の間にβ結合を有するアニオン性多糖類である。このような粘度上昇剤は、粘性ゲルまたはペーストの調製のために創傷清拭組成物の約0.01～約50.0重量％の範囲の量で使用することができる。粘度上昇剤は、0.1重量％～45重量％、0.5重量％～25重量％、または1.0重量％～10.0重量％の範囲の量で存在することができる。

【００４４】

精油はまた、香料または芳香剤として、および／または、抗菌剤として製剤に添加され得る。本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用な精油の例には、これらに限定されないが、チモール、メントール、サンダルウッド、カンファー、カルダモン、シナモン、ジャスミン、ラベンダー、ゼラニウム、ジュニパー、メントール、パイン、レモン、ローズ、ユーカリ、クローブ、オレンジ、オレガノ、ミント、リナロール、スペアミント、ペパーミント、レモングラス、ベルガモット、シトロネラ、ヒノキ、ナツメグ、スプルース、ティーツリー、ウィンターグリーン（サリチル酸メチル）、バニラなどを含む。いくつかの実施形態では、精油は、チモール、サンダルウッド油、ウィンターグリーン油、ユーカリプトール、パイン油、およびそれらの組み合わせから選択することができる。いくつかの実施形態では、精油は、創傷清拭組成物の重量に基づいて0重量％～5重量％の範囲の量で存在し得る。いくつかの実施形態において、精油は、創傷清拭組成物の重量に基づいて、少なくとも0.1重量％、または少なくとも0.25重量％、または少なくとも0.5重量％の量で存在し得る。

【００４５】

いくつかの実施形態では、葉緑素の水溶性半合成誘導体であるクロロフィリンを用いて創傷臭を抑制し、抗炎症性を付与することもできる。いくつかの実施形態において、クロロフィリンは、創傷清拭組成物の重量に基づいて0重量％～5重量％の範囲の量で存在し得る。いくつかの実施形態において、クロロフィリンは、創傷清拭組成物の重量に基づいて、少なくとも0.1重量％、または少なくとも0.25重量％、または少なくとも0.5重量％の量で存在し得る。

【００４６】

角質溶解剤を消化組成物に添加して、痂皮組織を消化するのを助けることもできる。例えば、角質溶解剤は、表皮の軟化および剥離を促進することができる。本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用な角質溶解剤には、これらに限定されないが、尿素、サリチル酸、および、乳酸、グリコール酸およびクエン酸等のα-ヒドロキシ酸が含まれる。例えば、

尿素は、創傷治癒を助けるため、壊死創傷の死んだ組織を除去するのを助けるのに使用することができる（米国特許第8,754,045号）。いくつかの実施形態では、角質溶解剤は、創傷清拭組成物の重量に基づいて0重量％～15重量％の範囲の量で存在することができる。いくつかの実施形態において、精油は、創傷清拭組成物の重量に基づいて、少なくとも0.1重量％、または少なくとも0.25重量％、または少なくとも0.5重量％の量で存在し得る。

【００４７】

いくつかの実施形態において、失活または壊死組織を創傷清拭することができる創傷清拭組成物中の非タンパク質分解酵素の総量は、創傷清拭組成物の総重量に基づいて少なくとも0.001重量％~60重量％であり得る。いくつかの実施形態において、非タンパク質分解酵素の総量は、少なくとも1重量％～50重量％、または少なくとも2重量％～40重量％、または少なくとも5重量％～35重量％、または少なくとも10重量％~30重量％である。いくつかの実施形態では、非タンパク質分解酵素はアミラーゼである。いくつかの実施形態では、非タンパク質分解酵素はα-アミラーゼである。

【００４８】

いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物中の失活した組織または壊死組織を壊死させることができる非タンパク質分解酵素創傷清拭成分の量は、100重量％、または少なくとも99.5重量％、または少なくとも99重量％、または少なくとも95重量％、または少なくとも90重量％、または少なくとも85重量％、または少なくとも80重量％である。いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物中の失活した組織または壊死組織を創傷清拭することができる非タンパク質分解酵素創傷清拭成分の量は、100重量％まで、または99.5重量％まで、または99重量％まで、または95重量%まで、または90重量％まで、または85重量％まで、または80重量％までの量であり得る。いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物中の失活した組織または壊死組織を創傷清拭させることができる非タンパク質分解酵素創傷清拭成分の量は、少なくとも0.001重量％、または少なくとも0.01重量％、または少なくとも0.05重量％、または少なくとも0.075重量％、または少なくとも0.1重量％、または少なくとも0.15重量％である。

【００４９】

いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物中のアミラーゼの量は、創傷清拭組成物中の100重量％、少なくとも99.5重量％、少なくとも99重量％、少なくとも95重量％、少なくとも90重量％、少なくとも85重量％、または少なくとも80重量％である。いくつかの実施形態では、非タンパク質分解酵素創傷清拭成分中のアミラーゼの量は、100重量％、少なくとも99.5重量％、少なくとも99重量％、少なくとも95重量％、少なくとも90重量％、少なくとも85重量％、または少なくとも80重量％であり、残りの非タンパク質分解酵素創傷清拭成分は他の非タンパク質分解酵素である。α-アミラーゼの量は、少なくとも10重量％、少なくとも20重量％、少なくとも30重量％、少なくとも40重量％、少なくとも50重量％、少なくとも60重量％、少なくとも70重量％、少なくとも80重量％、少なくとも90重量％、または100重量％のアミラーゼ含量を有する。いくつかの実施形態では、非タンパク分解酵素創傷清拭成分の残りの部分（20重量％以下、15重量％以下、10重量％以下、5重量％以下、1重量％以下、0.5重量％以下）は、これらに限定されるものではないが、リパーゼ、ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ、ヘパラナーゼ、ヘパリナーゼ、ペルオキシダーゼ、キシラナーゼ、ヌクレアーゼ、ホスホリパーゼ、エステラーゼ、ホスファターゼ、イソアミラーゼ、マルターゼ、グリコシラーゼ、ガラクトシダーゼ、クチナーゼ、ラクターゼ、イヌラーゼ、ペクチナーゼ、マンナナーゼ、グルコシダーゼ、インベルターゼ、ペクチン酸リアーゼ、レダクターゼ、オキシダーゼ、フェノールオキシダーゼ、リポキシゲナーゼ、リグニナーゼ、プルラナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、グルカナーゼ、アラビノシダーゼ、スルファターゼ、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、ラッカーゼ、これらの混合物等を含む加水分解性、溶解性および酸化/還元性酵素とすることができる。創傷清拭組成物中に存在し得るタンパク質分解酵素の例としては、これらに限定されないが、プロテアーゼおよびケラチナーゼが挙げられる。

【００５０】
創傷清拭組成物は、水性媒体を含むことができる。いくつかの実施形態では、水性媒体は、3.0～10.0、または4.5～8.0、または5.5～7.5の範囲のpHを有することができる。いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物は、10～340mOsm / kgの浸透圧を有することができる。創傷清拭組成物が水性ベースの溶液、ゲルまたはペーストである場合、水溶性ポリマーを添加して溶液粘度を増加させ、壊死組織上、創傷表面上、または創傷の皮下の酵素組成物の滞留時間を長くすることができる。
【００５１】
酵素による創傷清拭組成物は、壊死組織片を創傷の中および周囲に溶解させるために、必要に応じて失活組織に適用することができる。例えば、いくつかの実施形態では、酵素創傷清拭組成物は、約1～48時間、1～24時間、1～12時間、1～8時間、1～4時間、または1～2時間、除去する前に失活組織と接触させることができる。
【００５２】
いくつかの実施形態では、アミラーゼ製剤は、拭き取ることによって、または、生理食塩水あるいは水で濯ぐことによって傷から除去することができる。これらのステップは、必要に応じて繰り返すことができる。全身および部分厚火傷、糖尿病性潰瘍、潰瘍性病変、主に圧力（褥瘡）潰瘍、静脈性潰瘍、栄養性潰瘍、切断などの外科創傷、切開生、外傷性および化膿性創傷、微生物による感染傷、ドナーおよびレセプター皮膚移植傷、悪性腫瘍、嚢胞、放射線創傷、日焼けおよび凍傷を含む多種多様の創傷は、本明細書に記載の創傷清拭組成物で治療することができる。
【００５３】
いくつかの実施形態において、酵素創傷清拭組成物は、失活した組織に注入することができる。浸透増強剤はまた、溶液、ゲル、クリーム、ローション、エアロゾル、およびスプレーの経皮送達を増強するために利用され得る。本明細書に記載の創傷清拭組成物に使用することができる浸透増強剤は、これらに限定されないが、脂肪酸、例えば分枝状および直鎖C_6～C_{18}飽和酸、不飽和酸、例えばC_{14}～C_{22}オレイン酸、シス-9-オクタデセン酸、リノール酸、リノレン酸、脂肪族アルコール、例えば飽和C_8-C_{18}テルペン、例えばｄα-リモネン、α-ピネン、3-カレン、メントン、フェンコン、プレゴン、ピペリトン、ユーカリプトール、ヘノポジ油、カルボン、メントール、α-テルピネオール、テルピネン-4-オール、カルベオール、リモネンオキシド、ピネンオキシド、シクロペンタンオキシド、トリアセチン、シクロヘキサンオキシド、アスカリドール、7-オキサビシクロ[2,2,1]ヘプタン、1,8-シネオール、グリセロールモノエーテル、グリセロールモノラウレート、グリセロールモノオレエート、イソステアリン酸イソステアリル、ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、イソプロピルラノレート等のN-メチル-2-ピロリド、1-エチル-2-ピロリドン、5-メチル-2-ピロリドン、1,5-ジメチル-2-ピロリドン、2-ピロリドン-5-カルボン酸、N-ヘキシル-2-ピロリドン、N-ラウリル-2-ピロリドン、1-ドデシルアザシクロヘプタン-2-オン、4-デシルオキサゾリジン-2-オン、N-ドデシルカプロラクタム、1-メチル-3-ドデシル-2-ピロリドンN-n-ブチル-N- n-ドデシルアセトアミド、N、N-ジ-n-ドデシルアセトアミド、N, N-ジ- n-ドデシルアセトアミド、N-シクロヘプチル- N- n-ドデシルアセトアミドおよびN, N-ジ- n-プロピルドデカンアミド、尿素、1-ドデシル尿素、1,3-ジドデシル尿素、1,3-ジフェニル尿素、ジメチルスルホキシド、デシルメチルスルホキシド、テトラデシルメチルスルホキシド、シクロデキストリン、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される。有効な浸透増強剤には、1-アルキル-2-ピペリジノン、1-アルキル-2-アザシクロヘプタノン、例えば1-ドデシアザシクロヘプタン-2-オン、1,2,3-アルカントリオール、例えば1,2,3-ノナントリオール、1 、2-アルカンジオール、n-, 2-（1-アルキル）-2-メチル-1,3-ジオキソラン、オキサゾリジノン、例えば4-デシルオキサゾリジン-2-オン、N、N-ジメチルアルカンアミド、1,2-ジヒドロキシプロピルアルカノエート例えば1,2-ジヒドロキシプロピルデカノエート、1,2-ジヒドロキシプロピルオクタノエート、デオキシコール酸ナトリウム、トランス-3-アルケン-1-オール、シス-3-アルケン-1-オール、トランス - ヒドロキシプロリン-N-アルカンアミド-C - エチルア

ミド、およびそれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの実施形態において、浸透増強剤は、疎水性ミリスチン酸イソプロピルエステル、パルミチン酸イソプロピル、またはそれらの組み合わせを含み得る。

【００５４】

失活した壊死組織における感染の可能性があるため、創傷清拭組成物は、微生物を妨害または根絶するのに十分な量の生物剤を含むことができる。そのような生物学的薬剤には、これらに限定されないが、抗生物質、防腐剤、抗感染剤、抗微生物剤、抗菌剤、抗真菌剤、抗ウイルス剤、抗原虫剤、殺胞子剤、駆虫剤が含まれる。いくつかの実施形態では、生物学的薬剤は、ヒトおよび動物細胞に対して生分解性であり、細胞毒性ではない。有用な殺生物剤には、これらに限定されないが、ポリ（ヘキサメチレンビグアニド塩酸塩）（PHMB）、低分子量合成ポリカチオン、クロルヘキシジン、および、例えばクロルヘキシジンジグルコネート（CHG）等のその塩、およびアレキシジンとその塩等のビグアニドが挙げられ、後者の2つはビス（ビグアニド）である。

【００５５】

いくつかの実施形態において、ビグアニドは、その生分解性および低い細胞傷害性と組み合わされて微生物に対する殺生物活性が高いので、PHMBである。PHMBは、主に、グラム陰性細菌およびグラム陽性細菌、真菌およびウイルスに対して活性があり、防腐剤としても働く。細菌性の耐性が生じる調節された医薬品と考えられる抗生物質とは対照的に、そのような耐性はPHMBでは起こらない。一般に、抗菌剤は、微生物を死滅させるか、または、増殖あるいは複製を阻害する物質として定義され、抗感染剤は、微生物などの感染性物質を殺すこと、またはそれらが広がるのを防ぐことによって感染を妨げる物質として定義される。しばしば、この2つの用語は同じ意味で使用される。本明細書では、PHMBは抗菌剤とみなされる。

【００５６】

いくつかの実施形態では、創傷清拭組成物は水性創傷清拭組成物である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の水性創傷清拭組成物は、創傷清拭組成物の全重量に基づいて0.01wt％（100ppm）～1wt％（10,000ppm）、または0.05wt％（500ppm）～0.5wt％（5,000ppm）の範囲、あるいは0.1重量％（1,000ppm）～0.15重量％（1,500ppm）の範囲の濃度で殺生物性PHMBを含むことができる。アレキシジン並びにその塩およびクロルヘキシジン並びにその塩等のビス（ビグアニド）も、0.001重量％（10ppm）～4.0重量％（40,000ppm）の濃度で抗菌組成物に添加することができる。

【００５７】

低分子量PHMBポリカチオン（分子量～2,400ダルトン）と生理学的pHで負に荷電した高分子量アミラーゼ（分子量55,000ダルトン）であるアミラーゼとの相互作用は、アミラーゼとイオン相互作用したPHMBのタンパク質-高分子電解質複合体を生成することができる。創傷では、PHMBは、アニオン性アミラーゼ部位とのカチオンPHMBイオン相互作用を置換する体液（ナトリウム、カリウム、カルシウムおよびマグネシウムイオン等）中の低分子量カチオンの量の関数として、連続放出するようにしてタンパク質-高分子電解質複合体から放出され得る。

【００５８】

治療用アミラーゼ組成物が投与される投与量は、アミラーゼの供給源、活性（すなわち、関与する単位の数）、壊死組織の大きさ、患者の年齢、臨床ケアの可能性、および感染の発生率に依存する。1日2回まで投与することができる治療用アミラーゼの量は、粉末（100重量％）から希釈溶液（約0.001重量％）までの範囲であり得る。いくつかの実施形態では、アミラーゼの活性は、創傷清拭組成物1グラム中、酵素1グラム当たり250単位～250,000単位の範囲であり得る。

【００５９】

壊死組織上の創傷治癒組成物は、患者がそれ以上の医学的困難に陥らないように、臨床医によって実施することができる。創傷清拭のアミラーゼ法は、他の公知の創傷清拭法と組み合わせて行うことができる。

【００６０】
本明細書で使用する「創傷清拭」は、その標準的な意味を有し、健康な組織を暴露するために、創傷床から裂傷、脱皮、死んだ、損傷した、感染したまたは汚染された組織、異物および他の破片を除去することを含む。生存不能または壊死組織は、痂皮またはかさぶたのいずれかであり得る。
【００６１】
本明細書で使用する「壊死組織」は、その標準的な意味を有し、瀕死細胞の断片化の結果として、死細胞および破片を含む死組織を含む。壊死組織の色は赤くなってから茶色、黒色または紫色に変わり、脱水が増し、最終的には火傷およびすべての種類の慢性創傷を含む様々な創傷の種類で起こりうる、黒くて乾燥した厚いガサガサの痂皮構造が生じる。
【００６２】
本明細書中で使用する「痂皮」は、その標準的な意味を有し、壊死組織の形態を含む。それは皮の表面の傷の革のような覆いであり、硬質または柔軟性がある。
【００６３】
本明細書中で使用する「かさぶた」は、その標準的な意味を有し、湿った壊死組織を含む。このタイプの失活した組織は、堅さは柔らかく、しっとりしており、大抵繊維状であり、通常は黄色、白色または灰色である。
【００６４】
本明細書で使用する「失活した組織」は、その標準的な意味を有し、活力または生命のない組織、すなわち死んだ組織を含む。
【００６５】
本明細書中で使用する「タンパク質分解酵素」は、その標準的な意味を有し、タンパク質の長鎖ポリマー分子をペプチドのより短い断片に、そして最終的にはアミノ酸の基本成分に独立に開裂（消化、分解、加水分解）する酵素を含む。
【００６６】
本明細書で使用する「排出物」は、その標準的な意味を有し、深部真皮（皮下組織および深部組織を含む）を通るメスまたは他の鋭い器具を利用して切開を必要とする外科手術を含む。
【００６７】
本明細書で使用されるように、炭水化物分子と別の分子との間に、特に2つの単糖部分の間に形成される共有結合は、「グリコシド結合」または「糖鎖結合」である。
【００６８】
本明細書中で使用される場合、「α-1,4-グリコシド結合」は、多糖中の1つの糖上の炭素-1と別の糖部分上の炭素-4との間に通常形成される結合である。炭素-1上の-OH基がグルコース環の平面より下にあるとき、α-グリコシド結合が形成される。一方、β-グリコシド結合は、平面の上にあるときに形成される。例えば、セルロースは、1-4個のβ-グリコシド結合によって連結されたグルコース分子から形成され、一方、デンプンは、1-4個のα-グリコシド結合から構成される。
【００６９】
本明細書中で使用される場合、「α-アミラーゼ」には、天然α-アミラーゼならびに組換えα-アミラーゼが含まれ、組換えα-アミラーゼは、天然α-アミラーゼをコードするDNA遺伝子配列が、天然に存在するα-アミラーゼと比較して、α-アミラーゼ配列中の1つまたは複数のアミノ酸の置換、挿入または欠失をコードする変異DNA配列を生じるように修飾されるα-アミラーゼを意味する。
【００７０】
本明細書中で使用される場合、「デンプン分解性」は、特にアミラーゼにより、デンプンをデキストリンおよび糖類に酵素消化することによって特徴付けられるか、またはデンプンをデキストリンおよび糖類に酵素消化することができる。
【００７１】
本明細書中で使用される場合、利用される酵素の量は重量パーセントで表され、その活

性は1グラム当たりの活性単位で与えられ、「単位（Unit：ユニット）」は基質の1分当たり1マイクロモルの変換を触媒する酵素の量として定義される。

【００７２】

本明細書で使用する「界面活性剤」は、その標準的な意味を有し、2つの液体間または液体と固体との間の表面張力（または界面張力）を低下させる化合物を含み、乳化剤、乳化機、洗浄剤、湿潤剤および界面活性剤を含む。

【００７３】

本明細書で使用する「マイクロエマルション」は、その標準的な意味を有し、油、水（および／または親水性化合物）および界面活性剤の熱力学的に安定な混合物を含む。マイクロエマルションには、直接（水に分散された油、ｏ／ｗ）、逆（油中に分散された水、ｗ／ｏ）、および同形の3つの基本タイプが含まれる。分散したミセルは、直径が可視光の波長未満（例えば、380ナノメートル未満、200ナノメートル未満、または100ナノメートル未満）であるため、マイクロエマルションは光学的に透明である。乳白剤が存在しない場合、マイクロエマルションは光学的に透明な等方性液体である。

【００７４】

本明細書で使用する「逆マイクロエマルション」は、その標準的な意味を有し、連続油相に懸濁した親水相を含むマイクロエマルションを含む。逆マイクロエマルションは、逆エマルション界面活性剤によって油相中で安定化された親水性相（例えば、水、アルコール、または両者の混合物）の液滴を含むことができる。そのような場合、親水性活性剤を液滴中に可溶化することができる。しかしながら、他の例では、逆マイクロエマルションは、水および／またはアルコールを含まなくてもよく、親水性活性剤は、逆エマルション界面活性剤によって油相に直接可溶化され得る。

【００７５】

本明細書中で使用される場合、「親水性」は、その標準的な意味を有し、水と親和性を有し、イオン性または中性であり得るか、または構造中に水を引き付ける極性基を有する化合物を含む。例えば、親水性化合物は、水に混和性、膨潤性または可溶性であり得る。

【００７６】

本明細書で使用される場合、「水性」組成物は、これらに限定されるものではないが、可溶化成分を有する水中の均一溶液、界面活性剤または親水性ポリマーによって安定化された水中の乳化溶液、および粘性またはゲル状均質または乳化水中の溶液を含む水系溶液の範囲をいう。

【００７７】

本明細書中で使用されるように、溶媒系中に存在する酵素の量が溶液中に沈殿物または目に見える膨潤したゲル粒子を形成する酵素なしに溶媒系に溶解される場合、酵素は「可溶性」または「可溶化」である。

【００７８】

本明細書中で使用される場合、「非刺激性」とは、製剤が、生物学的表面との接触の結果として、鋭敏な痛み、刺激性の痛み、燃焼性の痛みまたはヒリヒリする痛みを引き起こさないことを意味する。

【００７９】

本明細書中で使用される場合、「揮発性」は、その標準的な意味を有し、すなわち、常温常圧で急速に蒸発することができる。例えば、溶媒の1滴（0.05mL）が5分以内に、または4分以内に、または3分以内に、または2分以内に、または1分以内に、または30秒以内に、または15秒以内に20～25℃で完全に蒸発する場合、溶媒は揮発性である。

【００８０】

本明細書中で使用される場合、「抗菌剤」は、微生物を殺すか、またはその増殖または複製を阻害する物質として定義され、抗感染剤は、微生物等の感染性物質を殺すことによって感染を妨げるか、または広がることを防ぐ物質として定義される。しばしば、この2つの用語は同じ意味で使用される。抗生物質は、最初に微生物によって産生された物質、または別の微生物の増殖を殺滅または防止する活性特性で合成された物質と考えられてい

る。抗生物質という用語は、感染を排除しようとするほとんど全ての処方された薬物を指すために一般的に使用される。抗菌剤は、抗生物質で起こり得るような殺生物抵抗性を引き起こさず、薬物に対する抗生物質耐性が生じ得る。抗菌剤は、細菌、真菌、ウイルス、原生動物およびプリオンに対して広範囲の活性を有する。抗菌剤の例には、ビグアニドを含み、例えばポリ（ヘキサメチレンビグアニド塩酸塩）（PHMB）、クロルヘキシジンおよびその塩、アレキシジンおよびその塩、ポビドン／ヨード、カデキソマーヨウ素、スルファジアジン銀、銀ナノ結晶銀、銀イオン銀、蜂蜜、希釈した漂白剤、例えば次亜塩素酸ナトリウム、次亜塩素酸、過酸化水素、（過酸化）ベンゾイルペルオキシド等の有機過酸化物、エタノール、イソプロパノール等のアルコール類、トリクロカルバン等のアニリド類、トリクロサン等のビスフェノール類、二酸化塩素、N-クロラミン等の塩素化合物、第四級アンモニウム化合物、ミコナゾール、クロトリマゾール、ケトコナゾール、フルコナゾール、クリスタルバイオレット、アンホテリシンB、ティーツリーオイルなどのように、例えば塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化セチルピリジニウム、臭化アルキルトリメチルアンモニウムがある。ビグアニド（例えば、PHMB）は、本明細書に記載の創傷清拭組成物において有用である。

【００８１】

本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用なポリマー性ビグアニドは、コスモシル（Cosmocil）（登録商標）CQの商標でジョージア州スマーナのアーチ・ケミカルズ・インコーポレイテッドから市販されているポリ（ヘキサメチレンビグアニド）である。ポリ（ヘキサメチレンビグアニド）ポリマーは、ポリ（ヘキサメチレンビグアニド）（PHMB）、ポリ（ヘキサメチレンビスビグアニド）（PHMB）、ポリ（ヘキサメチレングアニド）（PHMB）、ポリ（アミノプロピルビグアニド）（PAPB）、ポリ[アミノプロピルビス（ビグアニド）]（PAPB）、ポリヘキサニド、およびポリ（イミノイミドカルボニル）イミノヘキサメチレン塩酸塩ともいうが、PHMBが好ましい省略形である。PHMBは、広範囲の抗菌薬であり、コンタクトレンズ多目的溶液、創傷洗浄溶液、創傷被覆材、手術前洗浄製品、うがい薬、表面消毒剤、食品消毒剤、獣医用途、化粧品防腐剤、紙防腐剤、二次的油回収消毒剤、工業用水処理、スイミングプールの洗剤等で使用されてきた。これは、通常、水中で塩酸塩形態で商業的に得られる。ポリクオタニウム1、ポリクオタニウム6、ポリクオタニウム10、カチオン性グアー、およびキトサンの水溶性誘導体のような他の抗菌ポリマーも添加することができる。

【００８２】

本明細書中で使用される場合、「抗生物質」は、通常、様々な微生物によって産生され、微生物の増殖を阻害するか微生物を破壊し、感染性の処置において主に使用される、ペニシリン、ストレプトマイシン、クロラムフェニコールおよびテトラサイクリン等として通常処方される薬剤または薬品である。抗生物質は、もともと微生物によって産生された物質、または別の微生物の生育を阻止または防止することができる活性特性と関連して合成された物質と考えられている。抗生物質という用語は、感染を排除しようとするほとんど全ての処方された薬物を指すために一般的に使用される。

【００８３】

本明細書で使用される「抗生物質耐性」は、細菌および他の微生物が、一度感受性であった抗生物質の効果に抵抗する能力である。

【００８４】

本明細書に記載の創傷清拭組成物は、殺虫性モノアルキルグリコール、グリセロールアルキルエーテルおよびモノアシルグリセロールを、創傷清拭組成物の重量に基づいて、0.05重量％（500ppm）～4重量％（4,000ppm）、または0.1重量％（1,000ppm）～1重量％（10,000ppm）、または0.4重量％（4,000ppm）～0.6重量％（6,000ppm）の複合濃度で、含むことができる。モノアルキルグリコール、グリセロールアルキルエーテルおよびモノアシルグリセロールは、疎水性であり得る。

【００８５】

本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用なモノアルキルグリコールの例としては、これ

らに限定されないが、1,2-プロパンジオール（プロピレングリコール）、1,2-ブタンジオール、1,2-ペンタンジオール、1,2-ヘキサンジオール、1,2-ヘプタンジオール、1,2-オクタンジオール（カプリリルグリコール）、1,2-ノナンジオール、1,2-デカンジオール、1,2-ウンデカンジオール、1,2-ドデカンジオール、1,2-トリデカンジオール、1,2-テトラデカンジオール、1,2-ペンタデカンジオール、1,2-ヘキサデカンジオール、1,2-ヘプタデカンジオールおよび1,2-オクタデカンジオールが挙げられる。殺菌活性を高めるために、非隣接グリコールも添加することができる。例示的な非隣接グリコールには、2-メチル-2,4-ペンタンジオール、1,3-ブタンジオール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコールおよびグリコールビス（ヒドロキシエチル）エーテルが含まれるが、これらに限定されない。

【００８６】

本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用なグリセロールアルキルエーテルの例としては、これらに限定されないが、1-0-ヘプチルグリセロール、1-0-オクチルグリセロール、1-0-ノニルグリセロール、1-0-デシルグリセロール、1-0-ウンデシルグリセロール、1-0-ドデシルグリセロール、1-0-トリデシルグリセロール、1-0-テトラデシルグリセロール、1-0-ペンタデシルグリセロール、1-0-ヘキサデシルグリセロール（キミルアルコール）、1-0-ヘプタデシルグリセロール、1-0-オクタデシルグリセロール（バチルアルコール）、1-0-オクタデカ-9-エニルグリセロール（セラチルアルコール）、グリセロール1-（2-エチルヘキシル）エーテル（オクトキシグリセリン、2-エチルヘキシルグリセリン、3-（2-エチルヘキシルオキシ）プロパン-1,2-ジオール、およびSensiva（登録商標）SC 50としても知られる）、グリセロール1-ヘプチルエーテル、グリセロール1-オクチルエーテル、グリセロール1-デシルエーテルおよびグリセロール1-ドデシルエーテル、グリセロール1-トリデシルエーテル、グリセロール1-テトラデシルエーテル、グリセロール1-ペンタデシルエーテル、グリセロール1-ヘキサデシルエーテルおよびグリセロール1-オクタデシルエーテルが挙げられる。

【００８７】

本明細書に記載の創傷清拭組成物に有用なモノアシルグリセロールの例としては、これらに限定されないが、1-0-デカノイルグリセロール（モノカプリン）、1-0-ウンデカノイルグリセロール、1-0-ウンデセノイルグリセロール、1-0-ドデカノイルグリセロール（モノラウリン、グリセロールモノラウレートおよびRauricidin（登録商標）とも呼ばれる）、1-0-トリデカノイルグリセロール、1-0-テトラデカノイルグリセロール（モノミリスチン）、1-0-ペンタデカノイルグリセロール、1-0-ヘキサデカノイルグリセロール、1-0-ヘプタデカノイルグリセロールおよび1-0-オクタノイルグリセロール（モノカプリリン）を含む。一般に、1-0-位で置換されたグリセロールは、2-0-位で置換されたものよりも、または1-0および2-0位で二置換されたものよりも好ましい。

【００８８】

本明細書中で使用される場合、「疎水性」は、水をはじき、水に不溶性または比較的不溶性であり、水に対して親和性がないことを指す。ビシナルジオールのような親水性置換基を有する疎水性化合物は、界面活性剤を添加してもしなくても、水中にエマルションを形成することができる。

【００８９】

本明細書で使用される場合、「両性」は、全電荷が局所的にpH依存性である一方で、「両性」が広いpH範囲にわたって等しい数のカチオン電荷およびアニオン電荷を有する分子またはポリマー上のカチオン電荷およびアニオン電荷の混合物を指す。

【００９０】

本明細書で使用される場合、「賦形剤」は、酵素または他の添加成分を可溶化または分散させる、液体、流体またはゲルなどの伝達媒体を形成する通常は不活性な物質である。

【００９１】

アミラーゼ組成物は、壊死組織除去を増強するための1つ以上の追加の界面活性剤を含むことができる。適切な界面活性剤には、これらに限定されないが、カチオン性、アニオ

ン性、非イオン性、両性および両性イオンの界面活性剤が含まれる。いくつかの実施形態において、界面活性剤は、非イオン性および両性界面活性剤である。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、創傷清拭組成物の重量に基づいて0重量％～10重量％の範囲の量で存在することができる。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、創傷清拭組成物の重量に基づいて、少なくとも0.01重量％、または少なくとも0.1重量％、または少なくとも0.25重量％、または少なくとも0.5重量％、または少なくとも1重量％の量で存在することができる。界面活性剤は、溶液中の酵素の触媒構造を維持し、添加された抗菌剤の殺菌活性を妨げないで、非細胞傷害性溶液を促進するために、18～30のHLB（親水性-親油性バランス）値を有することができる。HLBの高い値は、低いHLB値を有するものよりも親水性の界面活性剤を示す。

【００９２】

適切な非イオン性界面活性剤としては、これらに限定されないが、ポロキサマー、逆ポロキサマー、ポロキサミン、および逆ポロキサミンのエチレンオキシド／プロピレンオキシドブロックコポリマーが挙げられる。ポロキサマーおよびポロキサミンが好ましく、ポロキサマーが最も好ましい。ポロキサマーおよびポロキサミンは、BASF Corp.からPluronic（登録商標）およびTetronic（登録商標）のそれぞれの商品名で入手可能である。適切なプルロニック界面活性剤には、これらに限定されないが、HLBが31のプルロニックF38、HLBが29のプルロニックF68、HLBが26のプルロニック68LF、HLBが25のプルロニックF77、HLBが24のプルロニックF87、HLBが28のプルロニックF88、HLBが28のプルロニックF98、HLBが27のプルロニックF108、HLBが18～23のプルロニックF127（ポロキサマー407としても知られている）、およびHLBが19のプルロニックL35を含む。このタイプの例示的なポロキサミン界面活性剤は、HLBが24のTetronic 1107（Poloxamine 1107としても知られている）である。

【００９３】

上記に加え、例えば、脂肪酸のポリエチレングリコールエステル、例えばココナッツ、ポリソルベート、高級アルカンのポリオキシエチレンエーテルまたはポリオキシプロピレンエーテル（C_{12}-C_{18}）、Tween 20の商標名で入手可能なポリソルベート20、Brij 35の商標名で入手可能なポリオキシエチレン（23）ラウリルエーテル、Myrj 52の商標名で入手可能なステアリン酸ポリオキシエチレン（40）、およびAtlas G 2612の商標名で入手可能なポリオキシエチレン（25）プロピレングリコールステアレート（Akzo Nobel、Chicago、IL）等の他の中性界面活性剤を添加してもよい。他の中性界面活性剤には、ノニルフェノールエトキシレート、トリトンX-100、ポリオキシエチレン植物ベースの脂肪族エーテルのBrij界面活性剤、Tween 80、デシルグルコシド、およびラウリルグルコシドなどのノニルフェノールエトキシレートが含まれる。

【００９４】

本発明の抗菌組成物に使用するのに適した両性界面活性剤には、Miranol（Rhodia）の商標名で市販されている種類の物質が含まれる。別の有用な種類の両性界面活性剤としては、ココアミドプロピルベタイン、ウンデシレンアミドアルキルベタインおよびラウラミドアルキルベタインおよびココアンホ酢酸ナトリウムを含むベタインによって例示される。両性界面活性剤は非常に穏和で、優れた皮膚科学的特性を有し、パーソナルケア用途での使用に特に適している。

【００９５】

創傷清拭組成物は、0.01重量％～1重量％の濃度のキレート剤をさらに含んでもよい。例えば、キレート剤は、少なくとも0.01重量％、または少なくとも0.03重量％、または少なくとも0.05重量％、または少なくとも0.1重量％、または少なくとも0.50重量％、または少なくとも0.75重量％、または少なくとも1.0重量％の量で存在することができる。キレート剤は、これらに限定されないが、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ニトリロ三酢酸、ニトリロ三プロピオン酸、ジエチレントリアミン五酢酸、2-ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸、1,6-ジアミノヘキサメチレン四酢酸、1,2-ジアミノシクロヘキサン四酢酸、O,O'-ビス（2-アミノエチル）エチレングリコール四酢酸、1,3-ジアミノプロパン

四酢酸、N,N'-ビス（2-ヒドロキシベンジル）エチレンジアミン-N,N'-二酢酸、エチレンジアミン-N、N'-二酢酸、エチレンジアミン-N、N'-ジプロピオン酸、トリエチレンテトラミン六酢酸、エチレンジアミン-N、N'-ビス（メチレンホスホン酸）、イミノ二酢酸、モノナトリウム-N-ラウリル-β-イミノジプロピオン酸（ラウリミノジプロピオン酸ナトリウム、Deriphat（登録商標）160C）、N、N-ビス（2-ヒドロキシエチル）グリシン、1,3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパン四酢酸、1,2-ジアミノプロパン四酢酸、エチレンジアミンテトラキス（メチレンホスホン酸）、N-（2-ヒドロキシエチル）イミノ二酢酸、ビスホスソン酸、エディトロネート、およびそれらの塩を含む群から選択されることができる。

【００９６】

創傷清拭組成物はまた、局所炎症を軽減し、治癒を促進し、臭気を抑制するために、クロロフィリンおよびその水溶性誘導体を含有することができる。創傷清拭を必要とする創傷の治療において、タンパク質分解の最終生成物のいくつかは粘性タンパク質であり、前記最終生成物と接触する組織に対して刺激作用および他の有害な作用を生じることが多いことが報告されている。このような望ましくない作用を制御するために、水溶性クロロフィル誘導体の組み込みは、一般に全組成物の0.05重量%～1重量％、好ましくは0.1重量％～0.5重量％の量でタンパク質分解創傷清拭製剤に組み入れられている（米国特許第2,917,433号）。上記の目的のために使用され得る水溶性クロロフィルは、米国特許第2,120,667号明細書に開示されたものであり、特に、銅クロロフィリンナトリウムまたは銅クロロフィリンカリウム、マグネシウムクロロフィリンナトリウムまたはマグネシウムクロロフィリンカリウム、鉄クロロフィリンナトリウムまたは鉄クロロフィリンカリウムが含まれる。この目的のための好ましい水溶性クロロフィルは、銅クロロフィリンナトリウム、および、銅クロロフィリンカリウム、主にカリウム塩の混合物であった。

【００９７】

創傷治療におけるクロルフィリンの他の用途は、国際公開特許第WO2008 / 063229号公報によって例示されており、プロテアーゼ酵素創傷清拭組成物は、死細胞によって放出される化合物から健常な正常細胞への損傷を最小限にする補充剤をさらに含む親水性軟膏であり、薬剤は場合により銅クロロフィリンナトリウムであり、投与される創傷清拭酵素のモル数に対するクロロフィリンのモル比の化学量論比の範囲は、場合により0.1~10.0、0.3~3.0または1.0である。

【００９８】

銅クロロフィリンナトリウムは食用着色剤でもあり、天然グリーン3として知られている。創傷清拭製品にその添加物を加えることによって、創傷清拭組成物の除去を視覚化するのに役立つ着色も加えられる。

【００９９】

創傷清拭中の痛みの軽減が必要である場合、製剤はさらに、鎮痛薬、麻酔薬、神経障害痛薬、例えばリドカイン、カプサイシン、ベンゾカイン、テトラカイン、プリロカイン、ブピバカイン、レボブピバカイン、プロカイン、カルボカイン、エチドカイン、メピバカイン、ノルトリプチリン、アミトリプチリン、プレガバリン、ジクロフェナク、フェンタニル、ガバペンチン、非ステロイド性抗炎症剤、サリチルレート、それらの組み合わせ等を含むことができる。

【０１００】

しかしながら、α-アミラーゼはグルコースポリマーの内部α-（1-4）結合の主要反応としての加水分解に触媒作用を及ぼすが、いくつかのα-アミラーゼ、特に糖化アミラーゼは加水分解に加えて転移反応に触媒作用を及ぼす（米国特許第8,486,664号、国際公開特許第WO2012 / 013646号）。これらのα-アミラーゼは、グリコシダーゼのトランスフェラーゼ活性に関連する特性で、グリコシド残基を低分子量アルコールおよび水に転移させることができる。そのようなトランスグリコシル化プロセスが、本発明に関連する壊死組織の創傷清拭において有効であるかどうかは知られていない。

【０１０１】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の変形例のいずれかによる創傷清拭組成物を

含む容器と、失活した組織の創傷清拭のための創傷清拭組成物の使用説明書とを含むキットが記載される。使用説明書は、創傷清拭を必要とする皮膚領域に創傷清拭組成物を接触させることを含むことができる。使用説明書は、接触工程を規則的な間隔で繰り返すことを含むことができる。定期的な間隔は、少なくとも1日1回、または少なくとも1日2回（12時間ごと）、または少なくとも1日3回（8時間ごと）とすることができる。使用説明書には、創傷清拭組成物を溶媒または他のキャリア液体中で混合または希釈することが含まれ得る。使用説明書には、拭き取りおよび溶媒リンスによって創傷清拭組成物で処理される壊死組織の除去が含まれ得る。

【０１０２】

失活した組織の創傷清拭の方法も記載されている。この方法は、本明細書に記載の変形例のいずれかによる創傷清拭組成物を、粉末、液体、ゲル、ヒドロゲル、泡、ペースト、スプレーまたはフィルム等により、創傷清拭を必要とする皮膚の領域に接触させることを含むことができる。いくつかの実施形態において、創傷清拭組成物は、ガーゼ、布、繊維、アルギン酸塩、親水コロイド、複合体、またはフィルム等の創傷被覆材に適用される。いくつかの実施形態において、創傷被覆材は、天然または合成成分、またはそれらの組み合わせからなる。この方法はまた、所定の期間の後に創傷清拭組成物を研磨および／または除去することを含むことができる。この方法は、接触工程を規則的な間隔で繰り返すことを含むことができる。いくつかの実施形態では、規則的な間隔は、少なくとも1日1回、または少なくとも1日2回（12時間ごと）、または少なくとも1日3回（8時間ごと）であり得る。いくつかの実施形態では、この方法は、皮膚の領域から創傷清拭された組織を除去することも含む。

【０１０３】

本明細書に記載された組成物、キット、および方法の目的は、壊死屑および痂皮の酵素による創傷清拭を提供することである。

【０１０４】

本明細書に記載された組成物、キットおよび方法の目的は、慢性創傷、急性創傷および熱傷創傷の酵素による創傷清拭治療を提供することである。

【０１０５】

本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、主としてプロテアーゼによるペプチド開裂／加水分解に基づかない壊死組織の酵素による創傷清拭を提供することである。

【０１０６】

本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、多糖類中の炭水化物α-1,4-グリコシド結合またはタンパク質とのグリコシド結合を開裂する創傷清拭用の酵素を提供することである。

【０１０７】

本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、酵素のアミラーゼ族に基づく酵素創傷清拭のための炭水化物加水分解酵素を提供することである。

【０１０８】

本明細書に記載された組成物、キット、および方法のさらなる目的は、有効量のアミラーゼ酵素を投与する工程を含む、壊死創傷を治療することである。

【０１０９】

本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、α-アミラーゼに基づく酵素創傷清拭のための炭水化物加水分解酵素を提供することである。

【０１１０】

本明細書に記載された組成物、キット、および方法のさらなる目的は、β-アミラーゼに基づく酵素創傷清拭のための炭水化物加水分解酵素を提供することである。

【０１１１】

本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、α-アミラーゼおよびβ-アミラーゼと組み合わせたγ-アミラーゼに基づく酵素創傷清拭のための炭水化物

加水分解酵素を提供することである。
【０１１２】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、α-アミラーゼ、β-アミラーゼおよびγ-アミラーゼの組み合わせから選択される、アミラーゼ族に基づく酵素創傷清拭のための炭水化物加水分解酵素を提供することである。
【０１１３】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、最小限（20重量％以下）の他の酵素族を有する、α-アミラーゼに主に基づく酵素による組織創傷清拭を提供することである。
【０１１４】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、アミラーゼ以外の加水分解酵素族が20重量％以下のプロテアーゼ、コンドロイチナーゼ、ヒアルロニダーゼ、リパーゼ、ヘパラナーゼ、デルマタナーゼ、プルラナーゼ、N-アセチルグルコサミニダーゼ、ラクターゼ、ホスホリパーゼ、トランスグリコシラーゼ、エステラーゼ、チオエステル加水分解酵素、スルファターゼ、エスカラーゼ、ヌクレアーゼ、ホスファターゼ、ホスホジエステラーゼ、マンナナーゼ、マンノシダーゼ、イソアミラーゼ、リアーゼ、イヌイナーゼ、ケラチナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、グルカナーゼ、アラビノシダーゼ、ペクチナーゼ、セルラーゼ、キチナーゼ、キシラナーゼ、クチナーゼ、ペクチン酸リアーゼ、ヘミセルラーゼ、それらの組み合わせ等を含む酵素組織創傷清拭を提供することである。
【０１１５】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、アミラーゼ以外の酵素族が20重量％以下のオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、カタラーゼ、オキシドレダクターゼ、フェノールオキシダーゼ、ラッカーゼ、リポキシゲナーゼ、イソメラーゼ、リグニナーゼ、およびそれらの組み合わせ等を含む酵素組織創傷清拭を提供することである。
【０１１６】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、粉末、ゲル、ペースト、液体、軟膏、泡、救急絆、メッシュまたは包袋として投与されるα-アミラーゼに基づく創傷清拭を提供することである。
【０１１７】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、局所的にまたは皮下的に投与されるα-アミラーゼに基づく創傷清拭を提供することである。
【０１１８】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、α-アミラーゼが親水性または水性媒体に適用される、α-アミラーゼに基づく創傷清拭を提供することである。
【０１１９】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、創傷清拭組成物に好ましい香気を提供することである。
【０１２０】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、クロロフィリンを創傷に適用して局所的炎症を軽減し、治癒を促進し、臭気を抑制することである。
【０１２１】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、ガーゼ、メッシュ、布、繊維、泡またはフィルムからなるアミラーゼ処置の創傷被覆材を提供することである。
【０１２２】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、アミラーゼの保存された処方物を提供することである。

【０１２３】
本明細書に記載された組成物、キット、および方法のさらなる目的は、アミラーゼの抗菌性製造剤を提供することである。
【０１２４】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、創傷および生物学的表面におけるグラム陽性細菌およびグラム陰性細菌を低減し、排除するアミラーゼの抗菌剤を提供することである。
【０１２５】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、創傷および生物学的表面における酵母を減少または除去するアミラーゼの抗菌性製造剤を提供することである。
【０１２６】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、組成物の抗菌活性を増強するために抗菌エッセンシャルオイルを組み込んだ抗菌性アミラーゼ製剤を提供することである。
【０１２７】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、失活した組織または食物を可溶化、膨潤または水和することができる界面活性剤による、α-アミラーゼに基づく創傷清拭を提供することである。
【０１２８】
本明細書に記載された組成物、キットおよび方法のさらなる目的は、粘性を増加させることができ、または製剤のゲル化を引起こすことができる親水性ポリマーによる、α-アミラーゼベースの創傷清拭を提供するすることである。
【０１２９】
本明細書に記載された組成物、キット及び方法のさらなる目的は、創傷および壊死組織の治療のためのキット形態のアミラーゼを提供することである。
【実施例】
【０１３０】
以下の成分およびそれらの略語が本発明において使用される：
【０１３１】
酵素
α-アミラーゼ＃1、ブタ膵臓、30U / mg、Sigma Aldrich、A3176-500KU、ロットSLBF3831V。
アルファ - アミラーゼ＃2、ブタ膵臓（0.2％プロテアーゼ含有）、230U / mg、Lee BioSolutions、ロットM60404。
α-アミラーゼ＃3、ブタ膵臓（0.05％プロテアーゼ含有）、210U / mg、Lee BioSolutions、ロット P70442。
α-アミラーゼ＃4、ヒト唾液、117.5U / mg、Sigma Aldrich、ロット SLBB8953V。
α-アミラーゼ＃5、リケニホルミス菌、500-1500U / mg、Sigma Aldrich、ロット SLBG8595V。
α-アミラーゼ＃6、枯草菌種、粉末、7278U / mg、Dyadic International、ロット ADY4001。
α-アミラーゼ＃7、枯草菌種、溶液、1269U / mg、Dyadic International、ロット ASP3001。
β-アミラーゼ、大麦、41.6U / mg、Sigma Aldrich、ロット SLBC2932V。
γ-アミラーゼ＃1、Aspergillus niger、129.2U / mg、Sigma Aldrich、ロットBCBD1453V。
γ-アミラーゼ＃2、リゾプス種、MyBiosource Inc.、ロット22200303。
ブロメライン、パイナップル茎、3-7U / mg、Sigma Aldrich、ロット SLBG2202V
コラゲナーゼ、I型、ヒストリチクム菌、125U / mg、Sigma Aldrich、C0130-100UG、ロッ

ト SLBH5757V。
リパーゼ＃1、ブタ膵臓、30~90U / mg、Sigma Aldrich、ロット SLBH6427V。
リパーゼ＃2、ブタ膵臓（<0.05％プロテアーゼ含有）、360U / mg、Lee BioSolutions、400-10、ロット R24160。
【０１３２】
その他の成分
AC，抗菌組成物，水，95.5 wt %，PHMB 0.1 wt %，EDTA 0.065 wt %，P407 2 wt %，HPMC，2 wt %，SC50，0.3 wt %，SC10，0.1 wt %，pH 5.5.
CHG，グルコン酸クロルヘキシジン，Spectrum Chemicals，ロット ZQ1023.
コラーゲン、I型，rat tail，Corning Inc.，354236，ロット 3298599.
DC 193，PEG-12ジメチコーン，Dow Corning，ロット 0002250697
ダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水，DPBS，pH 7.1，Sigma Aldrich，D8537，ロット RNBC1143.
EDTA，エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム塩、三ナトリウム塩，Spectrum Chemicals，ロット 1AE0430，YL0044.
グリセリン，Quality Choice，ロット 519675.
ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)，Amerchol Corp.，ロット WF15012N01.
鉱油，CVS，ロット 5BF0201.
PEG 400，ポリ（エチレングリコール），400 Mn，Sigma-Aldrich，ロット MKBD2642V.
ペトロラタム,ワセリン，ロット 02011HU00.
PHMB，ポリ（ヘキサメチレンビグアニド塩酸塩），Cosmocil™ CQ，Arch Chemical，ロット 11RC116995.
P407，ポロキサマー407、プルロニックF127，Spectrum Chemicals，ロット 1AD0265.
ポリマー JR-30M，Amerchol，ロット XL2850GRXA.
SC10，Sensiva(R) SC 10，1,2-ジヒドロキシオクタン，Schulke & Mayr，ロット 1178933.
SC50，Sensiva(R) SC 50，グリセロール1-（2-エチルヘキシル）エーテル，Schulke & Mayr，ロット 1179743.
水酸化ナトリウム、ピュリタン50% NaOH，UN1824，ロット 011043.
尿素，Sigma Aldrich，ロット SLBF4607V.
水，脱イオン化されてpH 7に調整.
【０１３３】
コラーゲンゲル消化
α-アミラーゼがプロテアーゼを含み、コラーゲンゲル（すなわち、タンパク質ベースのゲル）を開裂することができたかどうかを決定するために、コラーゲンゲル消化を、α-アミラーゼおよびコラゲナーゼを可能性のある消化酵素として用いて、様々な周波数条件下でのレオロジーによって調査した。α-アミラーゼがコラーゲンゲルの消化を有さない場合、その組織の創傷清拭活性は、プロテアーゼによるいかなる汚染にも基づいていないので、コラーゲンポリマー鎖のペプチド結合の加水分解によるものではない。
【０１３４】
コラーゲンゲルは、コラーゲンI型を用いて2.0mg / mLで調製した。ゲルは、コラーゲン500μL（～4.1mg / mL）、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水（DPBS）500μL、および1N NaOH（Puritan 50％NaOHから希釈した）を混合して調整した。固体コラーゲンヒドロゲルは、37℃のインキュベーター内で30分後に形成された。ゲルを37℃で24時間、以下の酵素で培養した：
2mg（250U）のコラゲナーゼ
8mg（250U）のα-アミラーゼ＃1
【０１３５】
流動学的試験は、25mm平行プレート（固体ゲル用）および25mmコーンおよびプレート（完全に液状化したゲル用、すなわちコラゲナーゼで処理したコラーゲンゲル用）を用いて

Anton Paar MCR 302レオメーターで行った。すべての周波数掃引は、37℃および1％歪み（歪振幅掃引によって決定される線形粘弾性領域）で行った。データは、アミラーゼ処置コラーゲンゲルおよびコラゲナーゼ処理コラーゲンゲルに関し、貯蔵および損失弾性率対周波数についての図1、および、未処理コラーゲンゲルの複素弾性率についての図2に示されている。

【０１３６】

図1では、未処理のコラーゲンゲル対照群、250単位のコラゲナーゼで処理したコラーゲンゲル、および250ユニットのα-アミラーゼ＃1で処理したコラーゲンゲルについて、貯蔵（G '）および損失（G "）弾性率対周波数を示す。貯蔵弾性率は固体様性質を示し、損失弾性率は粘弾性コラーゲンゲルの液体様性質を示す。未処理のコラーゲンゲルとα-アミラーゼ＃1で処理したゲルとの貯蔵弾性率および損失弾性率には有意な差はなく、α-アミラーゼによるコラーゲン（タンパク質）ゲル消化を示さない。プロテアーゼコラゲナーゼは、コラーゲンゲルを完全に液化したが、これは著しく低い貯蔵および損失弾性率によって示されている。

【０１３７】

図2において、未処理のコラーゲンゲル対照群、250単位コラゲナーゼで処理したコラーゲンゲル、および250単位α-アミラーゼ＃1で処理したコラーゲンゲルについて、複素弾性率（G*）を周波数に対してプロットする。複素弾性率は、貯蔵弾性率（固体様挙動）および損失弾性率（液体様挙動）を説明し、これはゲルの剛性と相関する。α-アミラーゼ＃1は、未処理のコラーゲンゲル対照群と比較して、コラーゲンゲルを消化しない（複素弾性率における統計的に有意な差はない）。

【０１３８】

これらの図は、プロテアーゼであるコラゲナーゼが24時間以内にコラーゲンゲルを完全に液化するが、酵素タンパク質であるα-アミラーゼ＃1はα結合多糖、例えばデンプンおよびグリコーゲンの開裂に注目したが、未処理のコラーゲンゲル対照群と比較して、コラーゲンを消化しなかったことを示す（貯蔵弾性率、損失弾性率、または複素弾性率に統計学的に有意な差はない）。これらの図から、弾性率は、試験したポリマー（コラーゲン）の粘弾性のために周波数と共に増加することが観察される。高周波では、コラーゲンポリマー鎖は緩和する時間がなく、観察されるより硬い粘弾性挙動を生じる。コラゲナーゼで処理したコラーゲンゲルのデータは、結果として得られるコラーゲンゲルの消化の液体様の性質のためにノイズがあるように見える。コラゲナーゼは完全に分解し、コラーゲンゲルを液化し、得られた酵素分解溶液は、レオメーター上で円錐およびプレートの幾何学的形状を用いて評価しなければならなかった。ゲルが液化されている間、得られた溶液は、溶液中に残っているコラーゲンおよびペプチドの性質のために依然として粘弾性であった。

【０１３９】

レオロジーデータは、プロテアーゼによる汚染に依存しないとして、α-アミラーゼによる失活組織の創傷清拭活性を支持する。

【０１４０】

生体外における種々の酵素の消化効力を評価するための方法

米国特許第8,119,124号では、ヒトのそれと類似しているため、若いブタの皮膚を用いた生体内（生体外）熱傷創傷モデルが報告されている。我々の調査では、冷凍ブタ皮膚のいくつかのサンプルをCulebra Meat Market、サンアントニオ、テキサス州から得て、創傷清拭類似体として使用した。各消化実験のために、ブタの皮膚を水中で1分間煮沸し、次いで小さな正方形の断片に切断した。沸騰したブタの皮膚を、創傷清拭製剤の適用の直前に秤量した。次いで、1gの各創傷清拭配合物と共に、pH7の水中において、34℃で16時間培養し、ペーパータオルで軽く拭いて消化した組織を除去した。残りの組織を計量した。対照群として、沸騰したブタの皮膚を、同じ手順で活性酵素なしで処理した。ブタ皮膚の消化率は、以下の数式を用いて計算した。

【数１】

$$\text{ブタ皮膚の消化率}(\%) = \frac{\text{W2 enz}}{\text{W1 enz} * \frac{\text{W 2 veh}}{\text{W 1 veh}}} * 100\%$$

ここで、
W_1 enz：1つ以上の活性酵素を含有する製剤中の消化前のブタ皮膚の重量、
W_1 veh：活性酵素を除いて同じ処方で消化する前のブタ皮膚の重量、
W_2 enz：1つ以上の活性酵素を含有する製剤中の消化後のブタ皮膚の重量、
W_2 veh：活性酵素を除いて同じ処方での消化後のブタ皮膚の重量、である。

【０１４１】

消化結果、豚の皮膚

異なる供給源からの、または単位（U）で表される異なる活性レベルのアミラーゼは、異なるレベルの生体外創傷清拭活性を示した（表1）。Sigma Aldrich（α-アミラーゼ＃1）およびLee BioSolutions（α-アミラーゼ＃2、α-アミラーゼ＃3）の両方からのブタの膵臓由来のα-アミラーゼは、高い創傷清拭効果を示しており、ここで1グラムの製剤は250Uの酵素を含有する。驚くべきことに、より多量のプロテアーゼ不純物（α-アミラーゼ＃2）を含むα-アミラーゼ（Lee BioSolutions、0.2%プロテアーゼ）は、より少ない量のプロテアーゼ不純物を含むα-アミラーゼ（BioSolutions、0.05%プロテアーゼ）（α-アミラーゼ＃3）よりもわずかに低い創傷清拭効果を有しており、アミラーゼ創傷清拭活性はプロテアーゼ汚染の結果ではないという結論をさらに裏付けている。ヒト唾液由来のα-アミラーゼ（α-アミラーゼ＃4）は、試験した濃度でブタ皮膚を消化するのに効果がなかった。バクテリアに由来するα-アミラーゼの活性は、細菌の菌株および供給元によって大きく異なる。リケニホルミス菌由来のα-アミラーゼ（α-アミラーゼ＃5）は、非常に弱い創傷清拭効果を示したが、枯草菌種由来のα-アミラーゼは、特に1グラムの製剤中で250,000単位の酵素の活性において、高い創傷清拭効果を示した（α-アミラーゼ＃6、α-アミラーゼ＃7）。β-アミラーゼは、α-アミラーゼと同じ基質に作用するが、異なる触媒機構を有するその能力に基づいて、ブタ皮膚を消化するのにいくらかの活性を示したが、γ-アミラーゼ＃1および＃2はこの創傷清拭モデルにおいて効果がなかった。

【０１４２】

表１．水中における煮沸したブタの皮膚に対する種々の供給源に由来するアミラーゼの生体外創傷清拭効果

【表１】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	96.30%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #2	99.891/0.109	1g/250U	96.60%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #3	99.88/0.12	1g/250U	97.90%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #4	99.8/0.2	1g/250U	4.30%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #5	99.95g/0.05	1g/250U	0%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #5	99.9/0.1	1g/500U	13.50%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.9966/0.0033	1g/250U	17.50%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.966/0.034	1g/2,500U	70.80%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	96.6/3.4	1g/250,000U	100%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #7	99.9803/0.0197	1g/250U	15.00%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #7	99.803/0.197	1g/2,500U	77.60%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #7	80.3/19.7	1g/250,000U	100%
H_2O/β-ｱﾐﾗｰｾﾞ	99.4/0.6	1g/250U	18.60%
H_2O/β-ｱﾐﾗｰｾﾞ	94/6	1g/2500U	38.90%
H2O/γ-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.8/0.2	1g/250U	0%
H2O/γ-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99/1	1g/1,250U	0%
H2O/γ-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	98/2	1g/2,500U	0%
H2O/γ-ｱﾐﾗｰｾﾞ #2	99.4/0.6	1g/250U	0%

【０１４３】

表2には、煮沸したブタの皮膚を用いたα-アミラーゼ＃1の創傷清拭効果に対する種々の添加物および賦形剤の効果が列挙されている。DPBS緩衝溶液、鉱油中の配合物、DPBS中の親水性、粘度増加ポリマーHPMCの製剤、および粘度増加カチオンポリマー、ポリマー JR（カチオン性ヒドロキシエチルセルロース）の製剤が含まれる。結果を、pH7の水中のα-アミラーゼ＃1と比較する。各製剤は、同じ量のα-アミラーゼ＃1、すなわち250単位を含有する。処方の稠度は、アミラーゼ創傷清拭の効果に影響を与えることが分かる。DPBS緩衝液の添加は水中のα-アミラーゼと比較して創傷清拭効果を増強すると思われたが、鉱油は酵素の溶解性および活性のための水分の不足のために創傷清拭効果を大きく低下させ；DPBS中の中性セルロースベースのHPMCおよび水中のカチオン性セルロースベースのポリマーJRの水溶性ポリマーは、水中のα-アミラーゼ＃1自体と比較して、製剤中の水の含有量がより低いために、創傷清拭効果を幾分低下させた。

【０１４４】

表２．煮沸したブタの皮膚に対する種々の製剤でのα-アミラーゼの生体外創傷清拭効果

【表２】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	96.30%
DPBS/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	100%
鉱油/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	62.90%
HPMC/DPBS/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	5/94.2g/0.8	0.05g/0.95g/250U	80.10%
ﾎﾟﾘﾏｰ JR-30M/H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	5/94.2g/0.8	0.05g/0.95g/250U	84.30%

【０１４５】

表3には、バチルス・ズブチルス由来の細菌α-アミラーゼ（α-アミラーゼ＃6）を植物由来β-アミラーゼと併用したα-アミラーゼとβ-アミラーゼの組み合わせが記載されている。このモデルでは、より多くの量のβ-アミラーゼが、煮沸したブタの皮膚の全消化を妨げるようであった。

【０１４６】

表３．煮沸したブタの皮膚に対する水中のβ-アミラーゼと併用したα-アミラーゼ＃6による生体外創傷清拭効果

【表３】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.66/0.34	1g/250U	79.20%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6/β-ｱﾐﾗｰｾﾞ	96.6/0.34/3.16	1g/250U/131U	53.70%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6/β-ｱﾐﾗｰｾﾞ	99.32/0.34/0.34	1g/250U/14U	72.30%

【０１４７】

表4では、リパーゼに対して100重量％、90重量％、および80重量％のアミラーゼ含量を使用して、煮沸したブタ皮膚を消化する際にα-アミラーゼ＃3に別の非タンパク質加水分解酵素であるリパーゼの添加が示される。リパーゼは、脂質（トリグリセリド、脂肪、および油）中のエステル結合の加水分解を触媒するその能力について注目されている。膵臓、肝臓、腸、舌、胃、および多くの他の細胞ならびに植物の種子によって産生されるので、リパーゼの複数の供給源がある。α-アミラーゼへのリパーゼの添加は、脂肪組織が関与する創傷清拭における主要な補助剤であり得る。試験したブタモデルでは、リパーゼ含量の増加に伴ってアミラーゼ＃3の量が減少したにもかかわらず、試験した3つのサンプルについて、消化されたブタの皮膚の消化率は、0.2重量％の総酵素濃度を用いて比較的一定であり、両方の非タンパク質分解酵素が煮沸したブタの皮膚の消化に寄与した。

【０１４８】

表４．煮沸したブタの皮膚に対する水中のリパーゼ＃2と併用したα-アミラーゼ＃3による生体外創傷清拭効果

【表４】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #3	99.8/0.2	1g/420U	83.90%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #3/ﾘﾊﾟｰｾﾞ #2	99.8/0.18/0.02	1g/378U/72U	84.10%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #3/ﾘﾊﾟｰｾﾞ #2	99.8/0.16/0.04	1g/336U/144U	81.20%

【０１４９】

表5には、局所炎症を軽減し、治癒を促進し、臭気を制御するためのクロロフィリン、および尿素とクロロフィリンとの組合せを伴う、角質溶解剤尿素を用いた水中でのα-アミラーゼ＃1で消化したブタの皮膚の結果が示されている。クロロフィリンを含む溶液は全て緑色であった。同様の条件下で行われた表1のものと比較して、ブタの皮膚の異なる供給源が消化レベルの低下を示したことが分かる。尿素の添加は、α-アミラーゼによる消化効力を増加させるようであり、クロロフィリンの添加は2つの濃度とも、アミラーゼ効力を減少させるようであった。3つの成分の組み合わせは、クロロフィリンおよびα-アミラーゼよりも大きく、尿素およびアミラーゼのそれよりも、またはα-アミラーゼそれ自体よりも低い消化効力を示した。

【０１５０】

表５．煮沸したブタの皮膚に対する水中の尿素およびクロロフィリンと併用したα-アミラーゼ＃1による生体外創傷清拭効果

【表５】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	78.60%
H_2O/尿素/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	89.2/10/0.8	1g/250U	84.90%
H_2O/ｸﾛﾛﾌｨﾘﾝ/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	98.7/0.5/0.8	1g/250U	54.80%
H_2O/ｸﾛﾛﾌｨﾘﾝ/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	98.2/1/0.8	1g/250U	59.30%
H_2O/尿素/ｸﾛﾛﾌｨﾘﾝ/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	88.7/10/0.5/0.8	1g/250U	67.20%

【０１５１】

壊死組織は細菌感染の影響を受けやすく、創傷治癒をさらに阻害し、重篤な症例において敗血症を誘発し得る。壊死性創傷および損傷および刺激組織に感染する可能性があるため、微生物を妨害または根絶する生物学的薬剤の添加が望まれる。この点で、我々は、創傷ケアに使用されるポリ（ヘキサメチレンビグアニド塩酸塩）（PHMB）およびクロルヘキシジンジグルコネート（CHG）の2つの抗菌ビグアニドを調べた。表6は、α-アミラーゼ＃6とPHMBの水溶液の3つの製剤と、α-アミラーゼ＃6とCHGの製剤とを、全てα-アミラーゼ＃6と同じ重量％で比較したものである。PHMBベースの溶液では、0.15重量％（1500ppm）のPHMBレベルが高いほどアミラーゼ活性がわずかに低下する可能性があるが、これらの活性はα-アミラーゼ単独のものと類似しているか、わずかに多かった。しかしながら、CHGの使用は、アミラーゼ消化能力を顕著に低下させるようであった。

【０１５２】

表６．煮沸したブタの皮膚に対する水中のPHMBおよびCHGと併用したα-アミラーゼ＃6による生体外創傷清拭効果

【表６】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.66/0.34	1g/25,000U	83.90%
H_2O/PHMB/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.51/0.15/0.34	1g/25,000U	81.30%
H_2O/PHMB/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.56/0.1/0.34	1g/25,000U	84.90%
H_2O/PHMB/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.61/0.05/0.34	1g/25,000U	86.80%
H_2O/CHG/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	97.66/2/0.34	1g/25,000U	60.50%

【０１５３】

消化結果、ラット皮膚

新しく切除したラット皮膚組織を、IACUC承認プロトコールのもと、テキサス州サンアントニオのテキサス大学サンアントニオ校の実験動物資源センターからの9ヵ月齢および11カ月齢の2匹の成体ラットから得た。各雄性Sprague-Dawleyラットの背部から大量の皮膚を回収した。皮膚の半分を切断し、水中で60秒間煮沸した。皮膚の煮沸および非煮沸の両方の半分をより小さな部分に切断し、各小片の重量が0.23g～0.25gになるようにトリミングした。1つの小さな皮膚片を1グラムの各創傷清拭製剤に浸し、34℃で24時間培養して創傷清拭した。24時間の培養後、皮膚を創傷清拭製剤から取り出した。創傷清拭した皮膚（たるんで崩れた組織）をペーパータオルでやさしく拭き取り、残っている非創傷清拭皮膚を秤量した。次いで、創傷清拭処置の前後の重量に基づいて、創傷清拭された皮膚の割合を計算した。

【０１５４】

表7および8は、デンプン分解酵素α-アミラーゼ＃1およびα-アミラーゼ＃6並びにブロメラインおよびコラゲナーゼのプロテアーゼ酵素を用いて、全てpH7の水中で、それぞれ、非煮沸および煮沸条件下で創傷清拭したものから、新しく切除したラット皮膚の創傷清

拭結果を提示する。非煮沸のラット皮膚（表7）に関し、コラゲナーゼは79％のラットの皮膚の消化で最も有効であるが、いずれのアミラーゼよりも2つのプロテアーゼ酵素がより効果的であることが分かった。しかしながら、失活した壊死組織に類似した沸騰ラット皮膚（表8）では、デンプン分解酵素は、ラット皮膚を消化する能力においてタンパク質分解酵素に匹敵していた。

【０１５５】

表７．非煮沸のラット皮膚に対する水中のα-アミラーゼ、ブロメラインおよびコラゲナーゼによる生体外創傷清拭

【表７】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	31.80%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.66/0.34	1g/25,000U	29.80%
H_2O/ﾌﾞﾛﾒﾗｲﾝ	90/10	1g/250U	51.90%
H_2O/ｺﾗｹﾞﾅｰｾﾞ	99.8/0.2	1g/250U	79%

【０１５６】

表８．煮沸のラット皮膚に対する水中のα-アミラーゼ、ブロメラインおよびコラゲナーゼによる生体外創傷清拭

【表８】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	86.80%
H_2O/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.66/0.34	1g/25,000U	90.40%
H_2O/ﾌﾞﾛﾒﾗｲﾝ	90/10	1g/250U	92.90%
H_2O/ｺﾗｹﾞﾅｰｾﾞ	99.8/0.2	1g/250U	86%

【０１５７】

壊死組織が微生物バイオフィルムに感染した場合、潜在的に細菌起源である可能性があるバイオフィルム微生物から生じる追加の多糖類（時にはスライムと呼ばれる細胞外高分子物質の成分）で壊死組織を潜在的にさらに覆い、バイオフィルムの除去および減少は、壊死組織または失活組織の除去を促進し得る。表9および表10は、バイオフィルムの減少において創傷清拭効果が実証された、pH5.5の水性抗菌組成物（AC）を使用した結果を示す（米国特許第8,829,053号）。抗菌組成物は、皮膚軟化および抗菌特性のためにPHMBの高分子ビグアニド抗菌剤、キレート化およびpH安定化剤としてのEDTA、増粘ポリマーとしてのHPMC、洗浄のためのP407の中性界面活性剤、および2-エチルヘキシルグリセリンと1,2-オクタンジオールの組み合わせを含む。抗菌組成物（表9）中の非煮沸状態のラット皮膚では、α-アミラーゼ＃1およびα-アミラーゼ＃6のいずれも、水中の非煮沸ラット皮膚について同じ酵素によって示されたもの（表7）と比較して、消化に効果的ではなかった。抗菌組成物中のブロメラインは、非煮沸ラット皮膚のアミラーゼ（表9）よりも効果的であったが、その消化効果は、ラット皮膚を水で消化した場合（表7）の消化効果よりも低かった。コラゲナーゼは水中での非沸騰および沸騰ラット皮膚消化の両方に非常に有効であったが（表7および8）、抗菌組成物の存在下での非沸騰ラット皮膚については、消化におけるその効果は無視できた（表9）。この効果は、α-アミラーゼ＃1、α-アミラーゼ＃6、およびブロメラインが非常に有効であったが、抗菌組成物（表10）中の煮沸したラット皮膚を有するコラゲナーゼについても生じた（表10）。抗菌組成物は、金属イオンキレート剤であるEDTAを含有するので、金属プロテイナーゼ（亜鉛エンドペプチダーゼ）である不活性化コラゲナーゼを有する可能性がある。アミラーゼのカルシウム複合体はEDTA

キレート化の影響を受けないようであり、α-アミラーゼの抗菌組成物は、微生物バイオフィルムに感染した壊死組織の有効な非タンパク質分解処理である。抗微生物組成物（表9）中の未煮沸の、新しく摘出したラット皮膚に対するα-アミラーゼ＃1およびα-アミラーゼ＃6の低い創傷清拭効果はまた、周囲の生体組織にではなく、失活した組織に高度に特異的なデンプン分解創傷清拭組成物を裏付ける。

【０１５８】

表９．非煮沸のラット皮膚に対する抗菌組成物中のα-アミラーゼ、ブロメラインおよびコラゲナーゼによる生体外創傷清拭

【表９】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
AC/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	6.00%
AC/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.66/0.34	1g/250U	0%
AC/ﾌﾞﾛﾒﾗｲﾝ	90/10	1g/250U	18.20%
AC/ｺﾗｹﾞﾅｰｾﾞ	99.8/0.2	1g/250U	4.70%

【０１５９】

表１０．煮沸のラット皮膚に対する抗菌組成物中のα-アミラーゼ、ブロメラインおよびコラゲナーゼによる生体外創傷清拭

【表１０】

製剤	処方比率 (wt %)	処方 (Units)	消化率
AC/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U	96.50%
AC/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #6	99.66/0.34	1g/250U	100%
AC/ﾌﾞﾛﾒﾗｲﾝ	90/10	1g/250U	100%
AC/ｺﾗｹﾞﾅｰｾﾞ	99.8/0.2	1g/250U	0%

【０１６０】

賦形剤

水および緩衝溶液（表2）に加えて、粉末形態で利用される場合、アミラーゼは、ペトロラタムおよび鉱油の疎水性炭化水素、グリセリンおよびPEG400のアルコールを含有する親水性-OHおよび両親媒性液体PEG-12ジメチコーン、シリコーンポリエーテルを含むいくつかの賦形剤を混合することができる。それぞれの場合において、α-アミラーゼ＃1は賦形剤中に分散され得る（表11）。他の賦形剤としては、pHが5.0～7.5の種々の水ベースの緩衝剤、界面活性剤、シリコーン、ポリエーテルコポリマー、ポリオキシエチレンエーテル、植物油および植物油脂、精油、親水性および疎水性アルコール、ビタミン、モノグリセリド、ラウリン酸エステル、ミリスチン酸エステル、パルミテートエステル、およびステアレートエステルを、好ましくは液体、ゲルまたはペーストの形態で、またそれらの組み合わせ等を含むことができる。いくつかの実施形態において、賦形剤は、創傷清拭組成物の重量に基づいて、0重量％～99.9重量％の範囲の量で存在し得る。

【０１６１】

表１１．α-アミラーゼ＃1に対する賦形剤

【表１１】

製剤	処方比率 (wt％)	処方 (Units)
ﾍﾟﾄﾛﾗﾀﾑ/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U
鉱油/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U
ｸﾞﾘｾﾘﾝ/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U
PEG 400/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U
DC 193/α-ｱﾐﾗｰｾﾞ #1	99.2/0.8	1g/250U

【０１６２】

効果的なα-アミラーゼ濃度

壊死組織の創傷清拭に必要なα-アミラーゼの量を決定するために、α-アミラーゼ濃度に対する創傷清拭効果（例えば、消化重量％）を測定するための研究を行った。図3の結果は、α-アミラーゼ＃6の濃度対室温、1時間で消化された煮沸したブタ皮膚の重量％を示す。鐘型曲線は、α-アミラーゼ3.4％～54.5％の全範囲にわたって効力が10重量％以上であるが、13.6～27.2重量％の範囲の最大アミラーゼ濃度で創傷清拭活性が生じることを示す。

【０１６３】

具体的な実施態様

第1の特定の実施形態は、創傷清拭組成物の総重量に基づいて0.001重量％～60重量％の非タンパク質分解酵素創傷清拭成分を含み、非タンパク質分解酵素創傷清拭成分が非アミラーゼ分解酵素成分の重量に基づき少なくとも80重量％のアミラーゼを含む創傷清拭組成物を対象とする。

【０１６４】

第2の特定の実施形態は、ヒト、動物、細菌、植物、真菌および遺伝子組換えによるものから選択されるアミラーゼを含む具体的な実施形態1の創傷清拭組成物を対象とする。

【０１６５】

第3の特定の実施形態は、アミラーゼが少なくとも80重量％のα-アミラーゼを含む上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１６６】

第4の具体的な実施形態は、β-アミラーゼ、γ-アミラーゼ、およびそれらの組み合わせから選択されるアミラーゼを20重量％まで含む、第3の特定の実施形態の創傷清拭組成物を対象とする。

【０１６７】

第5の特定の実施形態は、薬学的に許容される担体または賦形剤を含む、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１６８】

第6の特定の実施形態は、上記の具体的な実施例のいずれかの創傷清拭組成物を対象とし、前記非タンパク質分解酵素創傷清拭成分は、プロテアーゼ、コンドロイチナーゼ、ヒアルロニダーゼ、リパーゼ、グリコシダーゼ、ヘパラナーゼ、デルマタナーゼ、プルラナーゼ、N-アセチルグルコサミニダーゼ、ラクターゼ、ホスホリパーゼ、トランスグルコシラーゼ、エステラーゼ、チオエステルヒドロリアーゼ、スルファターゼ、エスカラーゼ、ヌクレアーゼ、ホスファターゼ、ホスホジエステラーゼ、マンナナーゼ、マンノシダーゼ、イソアミラーゼ、リアーゼ、イヌリナーゼ、ケラチナーゼ、タンナーゼ、ペントサナーゼ、グルカナーゼ、アラビノシダーゼ、ペクチナーゼ、セルラーゼ、キチナーゼ、キシラナーゼ、クチナーゼ、ペクチン酸リアーゼ、ヘミセルラーゼ、およびそれらの組み合わせから選択される他の加水分解酵素を20重量％まで含む。

【０１６９】

第7の特定の実施形態は、ヒトの膵臓、動物の膵臓、および細菌から選択されるα-アミ

ラーゼを含む、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。
【０１７０】
第8の具体的な実施形態は、上記の具体的な実施例のいずれかの創傷清拭組成物を対象とし、前記非タンパク質分解酵素創傷清拭成分は、オキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、カタラーゼ、オキシドレダクターゼ、フェノールオキシダーゼ、ラッカーゼ、リポキシゲナーゼ、イソメラーゼおよびリグニナーゼから選択される酵素を20重量％まで含む。
【０１７１】
第9の具体的な実施形態は、少なくとも1種のポリマービグアニドを、創傷清拭組成物の重量に基づいて少なくとも0.01重量パーセント（100ppm）～1.0重量パーセント（10,000ppm）の量でさらに含む、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。
【０１７２】
第10の具体的な実施形態は、ポリマービグアニドは、ポリ（ヘキサメチレンビグアニド）およびその塩を含む第9の特定の実施形態の創傷清拭組成物を対象とする。
【０１７３】
第11の具体的な実施形態は、創傷清拭組成物の重量に基づいて、0.01重量％～50重量％の濃度の水溶性ポリマーをさらに含む上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とし、さらに前記水溶性ポリマーは、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、グアーガム、ヒドロキシエチルグアー、ヒドロキシプロピルグアー、ヒドロキシプロピルメチルグアー、カルボキシメチルグアー、カルボキシメチルキトサン、ローカストビーンガム、カラギーナン、キサンタンガム、ジェランガム、アロエベラゲル、スクレログルカン、スキゾフィラン、アラビアガム、タマリンドゴム、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（メチルビニルエーテル）、カルボマーおよびその塩、ポリ（アクリル酸）およびその塩、ポリ（メタクリル酸）およびその塩、ポリ（2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸）ナトリウム、ポリアクリルアミド、ポリ（N,N-ジメチルアクリルアミド）、ポリ（N-ビニルアセトアミド）、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリル酸）、ポリ（グリセリルメタクリル酸）、ポリ（N-ビニルピロリドン）、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）およびポリ（N-ビニルカプロラクタム）、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される。
【０１７４】
第12の特定の実施形態は、創傷清拭組成物の重量に基づいて、0.01重量％～1重量％の濃度でキレート剤をさらに含む上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とし、キレート剤はエチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ニトリロ三酢酸、ニトリロトリプロピオン酸、ジエチレントリアミン五酢酸、2-ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸、1,6-ジアミノヘキサメチレン四酢酸、1,2-ジアミノシクロヘキサン四酢酸、エチレングリコール0,0'-ビス（2-アミノエチル）四酢酸、1,3-ジアミノプロパン四酢酸、N,N'-ビス（2-ヒドロキシベンジル）エチレンジアミン-N,N'-二酢酸、エチレンジアミン-N,N'-二酢酸、エチレンジアミン-N,N'-ジプロピオン酸、トリエチレンテトラアミンヘキサ酢酸、エチレンジアミン-N,N'-ビス（メチレンホスホン酸）、イミノ二酢酸、モノナトリウム-N-ラウリル-β-イミノジプロピオン酸、ラウリミノジプロピオン酸ナトリウム、N,N'-ビス（2-ヒドロキシエチル）グリシン、1,3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパン四酢酸、1,2-ジアミノプロパン四酢酸、イミノ二酢酸、ビホスホン酸塩、エディトロン酸塩およびそれらの塩からなる群から選択される。
【０１７５】
第13の具体的な実施形態は、1,2-プロパンジオール（プロピレングリコール）、1,2-ブタンジオール、1,2-ペンタンジオール、 1,2-ヘキサンジオール、1,2-ヘプタンジオール、1,2-オクタンジオール（カプリリルグリコール）、1,2-ノナンジオール、1,2-デカンジ

オール、1,2-ウンデカンジオール、1,2-ドデカンジオール、1,2-トリデカンジオール、1,2-テトラデカンジオール、1,2-ペンタデカンジオール、1,2-ヘキサデカンジオール、1,2-ヘプタデカンジオール、1,2-オクタデカンジオール、2-メチル-2,4-ペンタンジオール、1,3-ブタンジオール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、グリコールビス（ヒドロキシエチル）エーテル、およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるモノアルキルグリコールをさらに含む、上記の具体的な実施例のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１７６】

第14の具体的な実施形態は、1-0-ヘプチルグリセロール、1-0-オクチルグリセロール、1-0-ノニルグリセロール、1-0-デシルグリセロール、1-0-ウンデシルグリセロール、1-0-ドデシルグリセロール、1-0-トリデシルグリセロール、1-0-テトラデシルグリセロール、1-0-ペンタデシルグリセロール、1-0-ヘキサデシルグリセロール（キミルアルコール）、1-0-ヘプタデシルグリセロール、 1-0-オクタデシルグリセロール（バチルアルコール）、1-0-オクタデカ-9-エニルグリセロール（セラチルアルコール）、グリセロール1-（2-エチルヘキシル）エーテル、2-エチルヘキシルグリセリン、グリセロール1-ヘプチルエーテル、グリセロール1-オクチル エーテル、グリセロール1-デシルエーテル、およびグリセロール1-ドデシルエーテル、グリセロール1-トリデシルエーテル、グリセロール1-テトラデシルエーテル、グリセロール1-ペンタデシルエーテル、グリセロール1-ヘキサデシルエーテル、グリセロール1-オクタデシルエーテル、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるグリセロールアルキルエーテルをさらに含む、上記の具体的な実施例のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１７７】

第15の特定の実施形態は、創傷清拭組成物の重量に基づいて、少なくとも0.01重量％の量の少なくとも1つのポリマービグアニドと、0.01重量％～1重量％の濃度のキレート化剤と、0.05重量％～4重量％の濃度のモノアルキルグリコールおよびモノアルキルグリセロールから選択される隣接ジオール成分とを含む、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１７８】

第16の特定の実施形態は、少なくとも1つの鎮痛剤、麻酔剤、神経因性疼痛剤、またはそれらの組み合わせをさらに含む、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１７９】

第17の具体的な実施形態は、少なくとも1つの鎮痛剤、麻酔剤、または神経因性疼痛剤が、リドカイン、カプサイシン、ベンゾカイン、テトラカイン、プリロカイン、ブピバカイン、レボブピバカイン、プロカイン、カルボカイン、エチドカイン、メピバカイン、ノルリピレン、アミトリプチリン、プレガバリン、ジクロフェナク、フェンタニル、ガバペンチン、非ステロイド性抗炎症剤、サリチレート、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、第16の特定の実施形態の創傷清拭組成物を対象とする。

【０１８０】

第18の特定の実施形態は、粉末、水溶液、有機液体溶液、シリコーン、ゲル、クリーム、フィルム、ラテックス、エアロゾル、スラリー、ペースト、軟膏および泡からなる群から選択される形態を有する、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１８１】

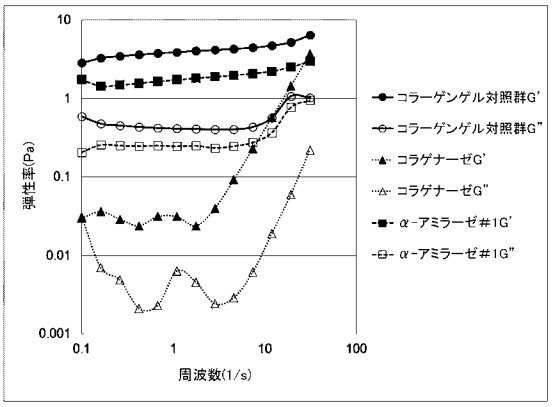
第19の特定の実施形態は、包帯、天然または合成繊維、メッシュ、親水コロイド、アルギン酸塩、ヒドロゲル、半透膜、透過性フィルム、または天然あるいは合成ポリマー上に吸着されている上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を対象とする。

【０１８２】

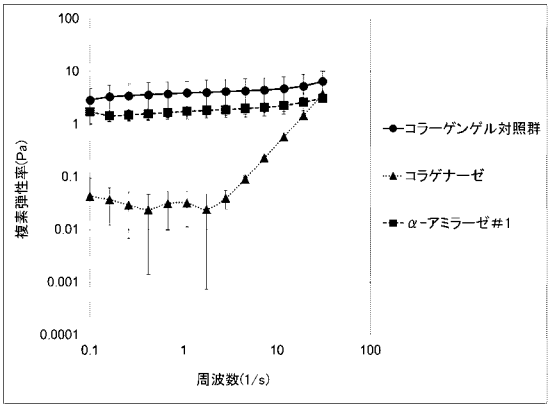
第20の特定の実施形態は、緩衝剤をさらに含む、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物にを対象とする。

【０１８３】
第21の特定の実施形態は、上記の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物；および失活した組織の創傷清拭のための創傷清拭組成物を使用するための使用説明書を含むキットを対象とする。
【０１８４】
第22の特定の実施形態は、使用説明書が、創傷清拭を必要とする皮膚の領域に創傷清拭組成物を接触させる工程を含む、第21の特定の実施形態のキットを対象とする。
【０１８５】
第23の具体的な実施形態は、第1～20の特定の実施形態のいずれかの創傷清拭組成物を、創傷清拭を必要とする皮膚の領域と接触させる工程を含む、失活した組織の創傷清拭方法を対象とする。
【０１８６】
第24の特定の実施形態は、前記接触させる工程が少なくとも1日に1回繰り返される第23の特定の実施形態の方法を対象とする。
【０１８７】
第25の特定の実施形態は、皮膚の前記領域から創傷清拭された組織を除去する工程をさらに含む第23または第24の特定の実施形態の方法を対象とする。
【０１８８】
上記の明細書には多くの詳細が含まれているが、これらは本発明の範囲を限定するものではなく、その好ましい実施形態の例として解釈されるべきである。多くの他の変形が可能である。したがって、本発明の範囲は、示された実施形態によってではなく、添付の特許請求の範囲およびその法的同等物によって決定されるべきである。

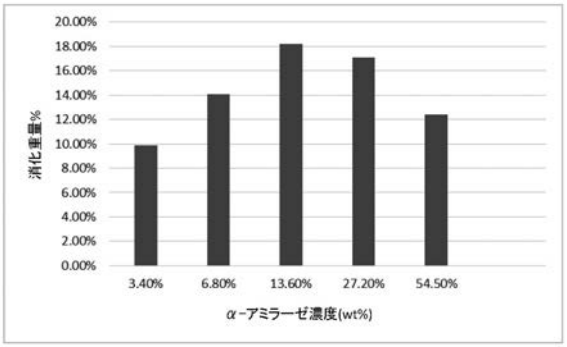
【図１】



【図２】



【図３】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 2015/054682

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 38/47 *(2006.01)*
A61P 17/02 *(2006.01)*

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)

A61K 38/50, 38/47, 38/46, 38/43, 38/16, 38/00, A61P 17/02, 17/00

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 practicable, search terms used)

EAPATIS, RUPAT, Patentscope, DWPI, NCBI (PubMed), SpringerLink

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/080830 A1 (CUREMARK LLC et al.) 15.07.2010, p. 18, p. 47, lines 20-28, p. 55, lines 19-27, p. 45, line 30 - p. 46, line 10, p. 47, lines 21-25, p. 55, p. 28, line 22, p. 25, line 10, p. 35, line 20, p. 43, line 28, p. 43, lines 10-11, p. 25, line 23, p. 34, line 28, p. 28, line 10	1, 5, 6, 11-13, 16-25
Y		2-4, 7-10, 14, 15
Y	WO 2002/008377 A1 (NOVOZYMES A/S) 31.01.2002, p. 22, line 32 - p. 23, line 2, p. 23, lines 24-28, p. 3, line 31, p. 4, line 24	2-4, 7-10, 15
Y	US 4652524 A (IVAN E. MODROVICH) 24.03.1987, col. 7, lines 20-24	4
Y	US 5591442 A (RECKITT & COLMAN INC.) 07.01.1997, col. 5, Formulation B	14
A	WO 1984/002846 A1 (ADVANCED DRUG TECHNOLOGY CORPORATION) 02.08.1984	1-25

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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
25 November 2015 (25.11.2015)	04 February 2016 (04.02.2016)
Name and mailing address of the ISA/RU: Federal Institute of Industrial Property, Berezhkovskaya nab., 30-1, Moscow, G-59, GSP-3, Russia, 125993 Facsimile No: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37	Authorized officer D. Rubaylo Telephone No. (495)531-64-81

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ 47/32	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/32	
Ａ６１Ｋ 47/34	*(2017.01)*	Ａ６１Ｋ	47/34	
Ａ６１Ｋ 47/18	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/18	
Ａ６１Ｋ 47/12	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/12	
Ａ６１Ｋ 47/10	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/10	
Ａ６１Ｋ 47/08	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/08	
Ａ６１Ｋ 9/14	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/14	
Ａ６１Ｋ 9/06	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/06	
Ａ６１Ｋ 9/12	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	9/12	
Ａ６１Ｋ 31/165	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/165	
Ａ６１Ｋ 31/245	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/245	
Ａ６１Ｋ 31/167	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/167	
Ａ６１Ｋ 31/445	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/445	

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

(74)代理人 100188994
弁理士 加藤 裕介
(74)代理人 100194892
弁理士 齋藤 麻美
(74)代理人 100207653
弁理士 中村 聡
(72)発明者 サラモーネ，ジョーセフ，チャールズ
アメリカ合衆国，テキサス州 ７８２３０，サンアントニオ，クレインズ ミル １２７１９
(72)発明者 リョン，ケリー，シャオユウ－チェン
アメリカ合衆国，テキサス州 ７８２５６，サンアントニオ，グラナダ ヒル ２１６１８
(72)発明者 サラモーネ，アン，ビール
アメリカ合衆国，テキサス州 ７８２３０，サンアントニオ，クレインズ ミル １２７１９
(72)発明者 ライリー，ケイトリン，エリザベス
アメリカ合衆国，テキサス州 ７８２３０，サンアントニオ，ウィスパー スプリング １１２３４

Ｆターム(参考) 4C076 AA09 AA12 AA24 AA29 AA72 BB31 CC18 DD37 DD38 DD39 DD41 DD42 DD49 EE30 EE32
4C084 AA02 AA03 AA19 BA44 DC02 MA02 MA05 MA17 MA63 NA05 ZA891 ZA892
4C086 AA01 AA02 BC21 MA03 MA05 MA17 MA28 MA43 MA63 NA05 ZA89 ZC75
4C206 AA01 AA02 FA36 FA37 FA38 GA03 GA19 GA28 GA31 MA03 MA05 MA33 MA37 MA48 MA83 NA05 ZA89 ZC75