

(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2012-509932

(P2012-509932A)

(43) 公表日 平成24年4月26日 (2012.4.26)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A O 1 N 33/12 (2006.01)	A O 1 N 33/12 1 O 1	4 C O 7 6
A O 1 P 3/00 (2006.01)	A O 1 P 3/00	4 C O 8 4
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	4 C 2 O 6
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 H O 1 1
A 6 1 K 31/14 (2006.01)	A 6 1 K 31/14	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 37 頁) 最終頁に続く		

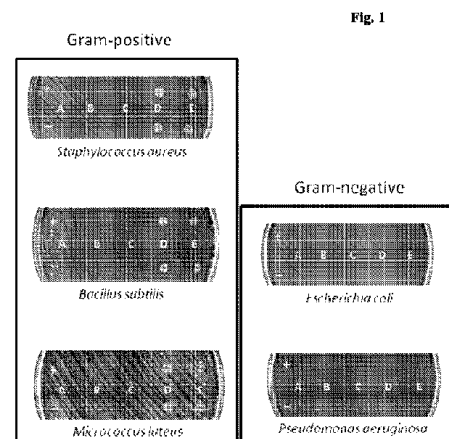
(21) 出願番号 特願2011-538084 (P2011-538084)
(86) (22) 出願日 平成21年11月20日 (2009.11.20)
(85) 翻訳文提出日 平成23年7月8日 (2011.7.8)
(86) 国際出願番号 PCT/IB2009/055242
(87) 国際公開番号 W02010/061330
(87) 国際公開日 平成22年6月3日 (2010.6.3)
(31) 優先権主張番号 61/118,374
(32) 優先日 平成20年11月26日 (2008.11.26)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508342219
ビロブロック エスアー
V I R O B L O C K S . A .
スイス国 プラン レ ズアット CH-
1 2 2 8 シュマン デ ザル18
Chemin des Aulx 18,
CH-1228 Plan-les-O
uates, Switzerland
(74) 代理人 100090398
弁理士 大淵 美千栄
(74) 代理人 100090387
弁理士 布施 行夫
(72) 発明者 ティエリー ペレ
スイス国 CH-1219 ル リノン
アヴェニュー ドゥ リノン 66
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非リン脂質脂質小胞を使用してグラム陽性菌を抑制する方法

(57) 【要約】

本発明は、全体として、抗菌剤分野に関し、細菌による疾患の治療、抑制及び予防に関する。より詳細には、本発明は、少なくとも1種の非リン脂質脂質小胞を含む組成物によってグラム陽性菌を抑制するための方法に関する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

グラム陽性菌を不活性化させるための方法であって、前記グラム陽性菌を、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) を含む組成物に接触させることを含む方法。

【請求項 2】

請求項 1 において、前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含む、方法。

【請求項 3】

請求項 2 において、前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B)、臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B)、臭化セトリモニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム (C T A B)、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、塩化セトリモニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、コカミドプロピルベタイン (C A P B)、臭化テトラ - n - ブチルアンモニウム (T B A B) からなる群から選択される、方法。

10

【請求項 4】

請求項 3 において、前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B) 又は臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B) である、方法。

【請求項 5】

請求項 2 において、前記脂質のモル比が約 0 . 0 1 % ~ 約 1 % である、方法。

【請求項 6】

請求項 5 において、前記脂質のモル比が約 0 . 1 % ~ 約 0 . 5 % である、方法。

20

【請求項 7】

請求項 6 において、前記脂質のモル比が約 0 . 3 % である、方法。

【請求項 8】

請求項 1 又は 2 において、前記 n P L V がコレステロールを含まない、方法。

【請求項 9】

請求項 1 又は 2 において、前記組成物がシクロデキストリン又はその誘導体を含む、方法。

【請求項 10】

請求項 1 又は 2 において、前記 n P L V がユニラメラ、少重膜又はマルチラメラ (多重層) である、方法。

30

【請求項 11】

請求項 4 において、前記シクロデキストリンが、 α - シクロデキストリン、 β - シクロデキストリン、 γ - シクロデキストリン及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、方法。

【請求項 12】

請求項 9 において、前記誘導体が、ジメチル - β - シクロデキストリン、トリメチル - β - シクロデキストリン、ランダムメチル化 β - シクロデキストリン、ヒドロキシエチル - β - シクロデキストリン、2 - ヒドロキシプロピル - β - シクロデキストリン、3 - ヒドロキシプロピル - β - シクロデキストリン、2 , 3 - ジヒドロキシプロピル - β - シクロデキストリン、2 - ヒドロキシイソブチル - β - シクロデキストリン、スルホブチルエーテル - β - シクロデキストリン、グルコシル - β - シクロデキストリン、マルトシル - β - シクロデキストリン及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、方法。

40

【請求項 13】

請求項 1 において、前記グラム陽性菌が、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、ブドウ状球菌 (コアグラエ陰性)、肺炎連鎖球菌 (ビリダンス連鎖球菌)、連鎖球菌 (B 群)、化膿連鎖球菌、腸球菌、炭疽菌、セレウス菌、ピフィズス菌、乳酸杆菌、リステリア菌、ノカルジア菌、ロドコッカス・エキイ菌 (球桿菌)、豚丹毒菌、ジフテリア菌、座瘡プロピオンバクテリウム、放線菌、ボツリヌス菌、クロストリジウムディフィシレ、ウェルシュ菌、破傷風菌、モビルンカス属菌及びペプトストレプトコッカス属菌からなる群から選

50

択される、方法。

【請求項 14】

対象物の抗菌活性を増加させるための方法であって、前記対象物を、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞を含む組成物に接触させることを含む方法。

【請求項 15】

請求項 14 において、前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含む、方法。

【請求項 16】

請求項 14 において、前記対象物が、医療用機器、医療用装置及び病院用品からなる群から選択される、方法。

【請求項 17】

請求項 14 において、前記対象物が、表面、手術用手袋、手術器具及びマスクからなる群から選択される、方法。

【請求項 18】

請求項 14 において、前記組成物が水性懸濁液又はヒドロゲル内の分散液である、方法。

【請求項 19】

患者のグラム陽性菌関連疾患を治療、抑制又は予防するための方法であって、治療有効量の、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞を含む医薬組成物を、必要に応じて 1 種以上の製薬学的に許容し得る担体と共に前記患者に投与することを含み、前記医薬組成物を前記グラム陽性菌に近接する位置に送達する方法。

【請求項 20】

請求項 19 において、前記患者が哺乳動物である、方法。

【請求項 21】

請求項 19 において、前記患者がヒトである、方法。

【請求項 22】

請求項 19 において、前記前記疾患が感染である、方法。

【請求項 23】

請求項 22 において、前記疾患が薬物耐性及び / 又は多剤耐性細菌感染である、方法。

【請求項 24】

請求項 23 において、前記疾患が、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (M R S A)、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌 (M R S E)、メチシリン耐性コアグラエゼ陰性ブドウ球菌 (M R C N S)、バンコマイシン耐性大便連鎖球菌及び / 又はバンコマイシン耐性エンテロコッカスフェシウムの上記 1 以上によるものである、方法。

【請求項 25】

請求項 19 において、前記 n P L V を少なくとも 1 種の他の抗菌剤と共に共投与する、方法。

【請求項 26】

請求項 25 において、前記少なくとも 1 種の他の抗菌剤が、アミノグルコシド、 β -ラクタム抗生物質、セファロスポリン、マクロライド、各種抗生物質、ペニシリン、テトラサイクリン、抗真菌剤、抗マラリア薬、抗結核薬、抗細菌性、抗らい菌薬、各種抗感染症薬、キノロン、スルホンアミド、尿中抗感染症薬、経鼻抗生物質、点眼抗生物質、点眼抗細菌剤、キノロン点眼剤、スルホンアミド点眼剤、皮膚及び粘膜抗生物質、皮膚及び粘膜抗真菌剤、皮膚及び粘膜抗菌剤、皮膚及び粘膜各種抗感染症薬、皮膚及び粘膜疥癬虫撲滅薬抗疥癬薬及び殺シラミ薬、皮膚及び粘膜抗新生物薬、ニトロフラン及びオキサゾリジノンからなる群から選択される、方法。

【請求項 27】

請求項 25 において、前記 n P L V を前記少なくとも 1 種の他の抗菌剤と同時に又は順次投与する、方法。

【請求項 28】

10

20

30

40

50

請求項 19 において、前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含む、方法。

【請求項 29】

請求項 28 において、前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B)、臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B)、臭化セトリモニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム (C T A B)、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、塩化セトリモニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、コカミドプロピルベタイン (C A P B)、臭化テトラ - n - ブチルアンモニウム (T B A B) からなる群から選択される、方法。

【請求項 30】

請求項 29 において、前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B) 又は臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B) である、方法。

【請求項 31】

少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、少なくとも 1 種の他の抗菌剤と、製薬学的に許容し得る担体又は希釈剤と、を含む抗菌組成物。

【請求項 32】

請求項 31 において、少なくとも 1 種のシクロデキストリン又はその誘導体をさらに含む、抗菌組成物。

【請求項 33】

製薬学的に許容し得る量の少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、必要に応じて 1 種以上の製薬学的に許容し得る担体と、を含む医薬組成物。

【請求項 34】

請求項 33 において、少なくとも 1 種のシクロデキストリン又はその誘導体をさらに含む、医薬組成物。

【請求項 35】

グラム陽性菌関連疾病の治療又は予防のための薬剤の調製における請求項 33 又は 34 に記載の医薬組成物の使用。

【請求項 36】

患者のグラム陽性菌感染を治療、抑制又は予防するためのキットであって、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、試薬及び / 又は取扱説明書と、を含むキット

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、全体として、抗菌剤分野に関し、細菌による疾患の治療、抑制及び予防に関する。より詳細には、本発明は、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞を含む組成物によってグラム陽性菌を抑制するための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

抗菌耐性は、近年急速に現れた世界的な臨床的及び公的な健康問題であり、近い将来増加することは確実である。耐性は、共同体並びに細菌の伝染 (感染) が大きく増加する医療環境における問題である。多剤耐性が深刻さを増しているため、医師は有効な治療がない感染に現在直面している。そのような感染の罹患率、死亡率及び財政的なコストにより、世界中 (特に資源が限られている国々) の医療システムの負担が増加している。これらの問題に対処するための計画は、薬剤耐性の監視強化、抗菌薬の監視強化及び使用法の改良、専門的・公共的教育、新薬の開発並びに代替治療法の評価について強調している。

【0003】

グラム陽性菌は、グラム染色によって濃い青又は紫に染まる菌である。通常、グラム陽性菌は、細胞壁構造の部品としてペプチドグリカン及び多糖類及び / 又はテイコ酸を有することを特徴とする。ペプチドグリカンはムレインとも呼ばれ、短いペプチドを介して架

10

20

30

40

50

橋したグリカン鎖のヘテロポリマーである。一般に、グラム陽性菌は内生芽胞型であり、通常は外毒素を放出する。

【0004】

6種類のグラム陽性微生物が通常はヒトにおいて病原性を有する。これらのうち、連鎖球菌属とスタフィロコッカス属は球菌（丸い細菌）である。残りの微生物は桿菌であり、胞子を形成する能力に基づいて分類することができる。コリネバクテリウム属とリステリア属は胞子を形成しないが、バシラス属とクロストリジウム属は胞子を形成する。胞子形成細菌は呼吸に基づいて分類することができる。すなわち、バシラス属は通性嫌気性菌であり、クロストリジウム属は偏性嫌気性細菌である。

【0005】

細菌感染による死亡率及び罹患率の上昇の主要な原因の1つは、薬剤耐性細菌の蔓延である。抗生物質耐性の深刻さの例は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）及び現在使用されているほぼ全ての抗生物質に耐性を有するようになったバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌の出現である。

【0006】

MRSA感染を治療するためにバンコマイシンを多用した結果、米国における細菌感染の第3番目の原因であり、バンコマイシン耐性を有する腸球菌の新種が出現した。エンテロコッカス属は細菌性心内膜炎の症例の15%の原因となっており、髄膜炎並びに尿路、胃及び腸の感染も引き起こす。これらのバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）による感染は現在の療法に反応しない場合が多く、多くの場合には致命的である。

【0007】

リボソームは、医薬組成物又は化粧品組成物の供給のために医薬を輸送するために使用することができる。例えば、国際出願第WO96/12472号（Chinoïn Gyogyszer Es Vegyeszeti Termékek Gyára Rt. et al.）は、（-）-N- α -ジメチル-N-（2-プロピニルフェニルエチルアミン）（セレギリン）及び/又はその塩を活性成分として含むリボソーム組成物を開示している。国際出願第WO96/12472号に開示された組成物は、0.1~40重量%のセレギリン及び/又はその塩と、2~40重量%の脂質、好ましくはリン脂質と、0~10重量%のコレステロールと、0~20重量%のアルコールと、0~25重量%のグリコールと、0~3重量%の酸化防止剤と、0~3重量%の保存剤と、0~2重量%の粘度調節剤と、0~50重量%のシクロデキストリン又はシクロデキストリン誘導体と、30~90重量%の水と、を含有する。国際出願第WO96/12472号は、アルツハイマー病、パーキンソン病、鬱病、発作、乗物酔い又は脊髄炎の治療のための前記組成物の投与についても開示している。

【0008】

リン脂質及び非リン脂質はリボソームを製造するために使用することができる。リン脂質リボソームは非リン脂質リボソームと比較して非常に高価かつ不安定であり、予防に必要な量を用意することは困難である。また、リン脂質リボソームを製造するための方法は、細胞毒性の主要源である有機溶媒の使用を通常は必要とする。さらに、低いコレステロール含有量を有するリン脂質リボソームを製造することはより困難である。

【0009】

国際特許出願第WO2005/030170号（Universit @Pasteur et al.）は、生体適合性リン脂質リボソーム（隠れリボソーム（furtive liposome）とも呼ばれる）の制御された破壊を開始し、リボソームを環境に放出する方法を開示している。放出剤（好ましくは α -シクロデキストリン）は生体適合性分子である。

【0010】

米国特許第5,561,062号（Varanelli et al.）は、（好ましくは非リン脂質を有する）少重膜脂質小胞を使用することによりエンベロープウイルスを不活性化させるin vitro法と不活性化を達成する際に有用な製剤を開示している

10

20

30

40

50

。この方法は、主要な材料としての（好ましくは非リン脂質を有する）少重膜脂質小胞はエンベロープウイルスと融合することができ、融合直後にウイルスの核酸が変性するという知見に基づくものである。通常、少重膜脂質小胞は核酸退行物質を含む油溶液又は水溶液で満たされている。

【0011】

欧州特許出願第1 304 103 A1号(D. F. H. Wallach)は、全脂質が非リン脂質である脂肪小胞及び特にAIDSの予防等の治療用途におけるそれらの賦形剤としての使用を開示している。開示された非リン脂質脂質小胞賦形剤は、コレステロール科から選択される二分子層修飾脂質を含む少なくとも1種の外部安定化二分子層と、小胞内水性空間(intravesicular aqueous space)と、内部脂質単分子層によって取り囲まれた少なくとも1種の小胞内マイクロエマルション粒子と、を含む。HIVウイルスの不活性化は、非リン脂質脂質小胞とウイルスの膜との融合によって行われる。この融合性はおそらくは修飾性脂質二重層におけるコレステロールの存在によるものであり、コレステロール含有非リン脂質脂質小胞とHIVウイルスの膜との間には脂質交換はない。上述したnPLVとエンベロープウイルスの膜との間の融合は、長い時間が必要となるためにエンベロープウイルスを生体内で不活性化させるには適していない。

10

【0012】

国際公開第WO2007/135523号は、非リン脂質脂質小胞(nPLV)を含む、エンベロープウイルスを不活性化するための組成物を開示している。不活性化作用は、非リン脂質脂質小胞によってエンベロープウイルスからコレステロールが抽出されるためと考えられる。非リン脂質脂質小胞は、nPLVとエンベロープウイルスの膜との間の脂質交換を高める物質を含むことができ、コレステロールを含まないものであることができる。

20

【0013】

上記文献は、細菌、特にグラム陽性菌に対するリボソームの作用について検討していない。エンベロープウイルスとグラム陽性菌は構造的に異なっている。グラム陽性菌はペプチドグリカン(N-アセチルグルコサミンとN-アセチルムラミン酸の繰り返し単位)からなる細胞壁を有するが、エンベロープウイルスはリボタンパク膜(エンベロープ)に取り囲まれている。本願発明者らは、非リン脂質脂質小胞はグラム陽性菌の増殖又は伝播を抑制することができることを見出した。この知見は、ウイルスに対する非リン脂質脂質小胞の作用は非リン脂質脂質小胞とウイルスエンベロープとの膜脂質交換によって媒介され、グラム陽性菌はペプチドグリカンからなる細胞壁を有することを考えると驚くべきものである。

30

【0014】

生体外及び生体内において迅速かつ効率的にグラム陽性菌を抑制する新規な方法が求められている。

【発明の概要】

【0015】

一実施形態において、本発明は、グラム陽性菌を不活性化させるための方法であって、前記グラム陽性菌を、少なくとも1種の非リン脂質脂質小胞(nPLV)を含む組成物に接触させることを含む方法に関する。特定の実施形態において、前記nPLVは、第4級アンモニウム頭部基を含む脂質を含む。特定の実施形態において、前記第4級アンモニウム脂質は、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム(HTAB)、臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム(DHAB)、臭化セトリモニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム(CTAB)、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、塩化セトリモニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、コカミドプロピルベタイン(CAPB)、臭化テトラ-n-ブチルアンモニウム(TBAB)からなる群から選択される。

40

【0016】

50

通常、前記脂質のモル比は約 0.01% ~ 約 1% である。一実施形態において、前記モル比は約 0.1% ~ 約 0.5% である。特定の実施形態において、前記脂質のモル比は約 0.3% である。

【0017】

前記 n P L V は、ユニラメラ、少重膜又はマルチラメラ（多重層）であってもよい。ある実施形態では、前記 n P L V はコレステロールを含まない。別の実施形態において、前記 n P L V を含む組成物はシクロデキストリン又はその誘導体を含む。好ましくは、前記シクロデキストリンは、 α -シクロデキストリン、 β -シクロデキストリン、 γ -シクロデキストリン及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。好適な誘導体は、ジメチル- β -シクロデキストリン、トリメチル- β -シクロデキストリン、ランダムメチル化 β -シクロデキストリン、ヒドロキシエチル- β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、3-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、2,3-ジヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシイソプロピル- β -シクロデキストリン、スルホブチルエーテル- β -シクロデキストリン、グルコシル- β -シクロデキストリン、マルトシル- β -シクロデキストリン及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。

本発明の n P L V 組成物は、あらゆるグラム陽性菌を不活性化させるために使用することができる。好ましくは、前記グラム陽性菌は、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、ブドウ状球菌（コアグラ-ゼ陰性）、肺炎連鎖球菌（ビリダンス連鎖球菌）、連鎖球菌（B 群）、化膿連鎖球菌、腸球菌、炭疽菌、セレウス菌、ピフィズス菌、乳酸杆菌、リステリア菌、ノカルジア菌、ロドコッカス・エキイ菌（球桿菌）、豚丹毒菌、ジフテリア菌、座瘡プロピオンバクテリウム、放線菌、ボツリヌス菌、クロストリジウムディフィシレ、ウェルシュ菌、破傷風菌、モビルンカス属菌及びペプトストレプトコッカス属菌からなる群から選択される。

【0018】

また、本発明は、1 以上の対象物の抗菌活性を増加させるための方法であって、前記 1 以上の対象物を、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞を含む組成物に接触させることを含む方法に関する。一実施形態において、前記 n P L V は、第 4 級アンモニウム頭部基を含む第 2 の脂質を含む。別の実施形態において、消毒する前記対象物は、医療用機器、医療用装置及び病院用品からなる群から選択される。特定の実施形態において、前記対象物は、表面、手術用手袋、手術器具及びマスクからなる群から選択される。本発明の組成物は、水性懸濁液又はヒドロゲル内の分散液であってもよい。

【0019】

また、本発明は、患者のグラム陽性菌関連疾患を治療、抑制又は予防するための方法であって、治療有効量の、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞を含む医薬組成物を、必要に応じて 1 種以上の製薬学的に許容し得る担体と共に前記患者に投与することを含み、前記医薬組成物を前記グラム陽性菌に近接する位置に送達する方法に関する。一実施形態において、前記患者はヒト等の哺乳動物である。別の実施形態において、前記疾患は、薬物耐性及び/又は多剤耐性細菌感染等の感染であり、例えば、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌（MRSE）、メチシリン耐性コアグラ-ゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）、バンコマイシン耐性大便連鎖球菌及び/又はバンコマイシン耐性エンテロコッカスフェシウムの 1 以上による感染である。特定の実施形態において、前記感染はグラム陽性菌による感染である。

【0020】

一実施形態において、前記 n P L V は少なくとも 1 種の他の抗菌剤と共に共投与する。好適な抗菌剤としては、アミノグルコシド、 β -ラクタム抗生物質、セファロsporin、マクロライド、各種抗生物質、ペニシリン、テトラサイクリン、抗真菌剤、抗マラリア薬、抗結核薬、抗細菌性、抗らい菌薬、各種抗感染症薬、キノロン、スルホンアミド、尿中抗感染症薬、経鼻抗生物質、点眼抗生物質、点眼抗細菌剤、キノロン点眼剤、スルホンアミド点眼剤、皮膚及び粘膜抗生物質、皮膚及び粘膜抗真菌剤、皮膚及び粘膜抗菌剤、皮膚

及び粘膜各種抗感染症薬、皮膚及び粘膜疥癬虫撲滅薬抗疥癬薬及び殺シラミ薬、皮膚及び粘膜抗新生物薬、ニトロフラン及びオキサゾリジノンが挙げられる。前記 n P L V は、前記少なくとも 1 種の他の抗菌剤と同時に又は順次投与することができる。

【 0 0 2 1 】

また、本発明は、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、少なくとも 1 種の他の抗菌剤と、製薬学的に許容し得る担体又は希釈剤と、を含む抗菌組成物に関する。

【 0 0 2 2 】

また、本発明は、患者のグラム陽性菌感染を治療、抑制又は予防するためのキットであって、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、試薬及び / 又は取扱説明書と、を含むキットに関する。

10

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 3 】

【 図 1 】 各種グラム陽性及びグラム陰性菌に対する n P L V を含む組成物の抑制作用を示す。P C E : ポリオキシエチレンセチルエーテル、P A : パルミチン酸、H T A B : 臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、D H A B : 臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム。n P L V を含む組成物はグラム陽性菌を抑制する。

【 図 2 】 n P L V 0 3 (9 9 . 9 % P C E 及び 0 . 1 % 臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B)) の最小発育阻止濃度 (M I C) を示す。

【 図 3 】 n P L V 0 3 及び n P L V 0 4 の組成物に使用される第 4 級アンモニウムイオン分子の概略図を示す。

20

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 4 】

本願明細書において、特に「複数」と記載していない場合には「少なくとも 1」又は「1 以上」を意味する。

【 0 0 2 5 】

本願明細書において使用する「リボソーム」及び「脂質小胞」という用語は、大部分が水によって構成される中心腔を取り囲む脂質シェルからなる小球を意味し、同じ意味で使用する。脂質は、タマネギ状構造の二分子層又はラメラ状である。

【 0 0 2 6 】

非リン脂質脂質小胞 (n P L V) とは、高い脂質含有率を有する材料からなる球状構造体である小胞を意味する。これらの脂質は好ましくは非リン脂質を含み、表 2 に記載する化合物からなる群から選択することができる。

30

【 0 0 2 7 】

本願明細書において使用する「ユニラメラ (一枚膜)」、「少重膜 (p a u c i l a m e l l a r)」及び「マルチラメラ (多重層) (m u l t i l a m e l l a r)」という用語は、リボソーム (特に本発明の n P L V) の中心腔を取り囲む二分子層の数を意味する。ユニラメラ n P L V は中心腔を取り囲む 1 つの二分子層からなり、マルチラメラ n P L V は 2 以上の二分子層からなる。マルチラメラ n P L V のサブクラスとみなされる少重膜 n P L V は 2 ~ 8 個の二分子層からなる。

40

【 0 0 2 8 】

n P L V の分子状二分子層 (m o l e c u l a r b i l a y e r) は、リン脂質二重層と類似する物理的構造を有する。例えば、C₁₆ (P E G)₂ エーテル小胞の X 線回折では、両親媒性物質の水和二重層の膜厚 (5 . 8 ~ 6 . 1 n m) を示す単純かつ主要な反射が見られ、リン脂質二重層と同様に高いコレスレオールレベルで小さな間隔が見られる。6 . 1 n m の間隔は 2 つの両親媒性分子の最大伸長と結合水層に対応する (M i t c h e l l e t a l . , 1 9 8 3 ; A d a m e t a l . , 1 9 8 4) 。 L a n t z s c h e t a l . (1 9 9 6) は、蛍光移動法を使用して 1 - パルミトイル - 2 - オレオイルホスファチジルコリン / C₁₂ (P E G)_{1 - 8} リボソームにおける界面活性剤 C₁₂ (P E G)_N の表面を測定した。N が 1 ~ 3 の場合には、表面膨張は C₁₂ (P E G

50

)_N の 1 分子あたりの液晶炭化水素相と同等である。N が 4 ~ 8 の場合には、界面活性剤の 1 分子あたりの表面積は次第に増加し、エチレングリコールセグメントあたり 2 つの水分子を有する分子の巻き上げ構成 (rolled up configuration) を示唆している。また、1, 2 - テトラデシル又は 1, 2 - ヘキサデシルホスファチジルコリンの水系分散液は C₁₆ (PEG)₄ の大部分を受容する (Madler et al., 1998)。

【0029】

本願明細書において使用する「相互作用」という用語は、直接的な接触によって、あるいは距離を置いて互いに影響を及ぼすことを意味する。

【0030】

予期せぬことに、本願発明者らは、非リン脂質脂質小胞を含む組成物はグラム陽性菌を不活性化させることができることを見出した。この知見は、ウイルスに対する非リン脂質脂質小胞の作用は非リン脂質脂質小胞とウイルスエンベロープとの膜脂質交換によって媒介され、グラム陽性菌はペプチドグリカンからなる細胞壁を有すると仮定すれば驚くべきものである。グラム陽性菌種の例としては、例えば、マイクロコッカス属 (Micrococcus)、ペプトコッカス属 (Peptococcus)、ペプトストレプトコッカス属 (Peptostreptococcus)、エンテロコッカス属 (Enterococcus)、バシラス属 (Bacillus)、クロストリジウム属 (Clostridium)、ラクトバシラス属 (Lactobacillus)、リステリア属 (Listeria)、エリジペロスリックス属 (Erysipelothrix)、プロピオン酸菌属 (Propionibacterium)、ユーバクテリウム属 (Eubacterium)、コリネバクテリウム属 (Corynebacterium) が挙げられる。

【0031】

グラム陽性球菌の例としては、連鎖球菌 (Streptococcus) (例えば、肺炎連鎖球菌 (Streptococcus pneumoniae)、ブドウ球菌 (Staphylococcus) (例えば、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus))、腸球菌 (Enterococcus) が挙げられる。グラム陽性桿菌の例としては、例えば、コリネバクテリア (Corynebacteria) (ジフテリア菌 (Corynebacterium diphtheriae)、リステリア菌 (Listeria monocytogenes)、炭疽菌 (Bacillus anthracis) (anthrax) が挙げられる。グラム陽性枝分かれ微生物 (branching organism) の例としては放線菌 (Actinomycetes) が挙げられる。グラム陽性菌の例としては、炭疽菌 (Bacillus anthracis)、枯草菌 (Bacillus subtilis)、ボツリヌス菌 (Clostridium botulinum)、ウェルシュ菌 (Clostridium perfringens)、破傷風菌 (Clostridium tetani)、ジフテリア菌 (Corynebacterium diphtheriae)、乳酸菌 (Lactobacillus spp.)、リステリア菌 (Listeria monocytogenes)、ハンセン菌 (Mycobacterium leprae)、結核菌 (Mycobacterium tuberculosis)、マイコプラズマ肺炎菌 (Mycoplasma pneumoniae)、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus)、溶血連鎖球菌 (Streptococcus spp.) が挙げられる。マイコバクテリウム属は抗酸菌染色性だが、系統的にはグラム陰性よりもグラム陽性に密接に関連付けられる。マイコプラズマ属はグラム陰性だが、系統的にはグラム陰性よりもグラム陽性に密接に関連付けられる (細胞壁がないため)。その他のグラム陽性菌は例えば、放線菌を除く全てのグラム陽性菌を記載した 6 節を含む Bergey's Manual、vol. 2 に記載されている。これらの節において、細菌は、形状、内生芽胞形成能、抗酸性、酸素との関係、一時的に菌糸体を形成する能力及びその他の特性に基づいて分類されている。

【0032】

また、ヒト医薬に関連するグラム陽性菌としては、以下の表 1 に記載するグラム陽性菌も挙げられる。

【 0 0 3 3 】

【表 1】

好気性グラム陽性球菌	好気性グラム陽性桿菌	嫌気性グラム陽性桿菌	嫌気性グラム陽性球菌
黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	脾脱疽菌 (<i>Bacillus anthracis</i>)	放線菌 (<i>Actinomyces</i> sp.)	ペプトストレプトコッカス属 (<i>Peptostreptococcus</i> sp.)
表皮ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	セレウス菌 (<i>Bacillus oereus</i>)	ボツリヌス菌 (<i>Clostridium botulinum</i>)	
ブドウ球菌属 (<i>Staphylococcus</i> sp.) (コアグララーゼ陰性 (Coagulase-negative))	ビフィズス菌 (<i>Bifidobacteriu bifidum</i>)	クロストリジウムデフィシル (<i>Clostridium difficile</i>)	
肺炎連鎖球菌 (<i>Streptococcus pneumoniae</i>) (ビリダンス連鎖球菌 (<i>Viridans group</i>))	乳酸杆菌 (<i>Lactobacillus</i> sp.)	ウェルシュ菌 (<i>Clostridium perfringens</i>)	
連鎖球菌 (<i>Streptococcus agalactiae</i>) (B群)	リステリア菌 (<i>Listeria monocytogenes</i>)	破傷風菌 (<i>Clostridium tetani</i>)	
化膿連鎖球菌 (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	ノカルジア属 (<i>Nocardia</i> sp.)	モビルンカス属 (<i>Mobiluncus</i> sp.)	
腸球菌属 (<i>Enterococcus</i> sp.)	ロドコッカス・エクイ (<i>Rhodococcus equi</i>) (球杆菌 (<i>coccobacillus</i>))		
	豚丹毒菌 (<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>)		
	ジフテリア菌 (<i>Corynebacterium diphtheriae</i>)		
	座瘡プロピオンバクテリウム (<i>Propionibacterium acnes</i>)		

10

20

30

40

【0034】

様々なグラム陽性菌が敗血症を引き起こし得る。敗血症に關与する最も一般的な微生物

50

は、黄色ブドウ球菌、肺炎連鎖球菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌、 β 型溶血連鎖球菌及び腸球菌だが、あらゆるグラム陽性菌が敗血症に関与し得る（例えば、Bone, (1993) J. Critical Care 8: 51-59を参照）。従って、本発明の組成物及び方法は、グラム陽性細菌が関与する敗血症の治療又は予防計画の一部として使用することができる。

【0035】

また、本発明の組成物及び方法は、薬剤耐性細菌によって引き起こされる細菌感染の治療又は予防計画の一部として使用することができる。そのような薬剤耐性細菌の例としては、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌（MRSE）、メチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）、バンコマイシン耐性大便連鎖球菌、バンコマイシン耐性エンテロコッカスフェシウム及び現在使用されているほぼ全ての抗生物質に耐性を示すバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌が挙げられる。

10

【0036】

本願明細書に開示する非リン脂質脂質小胞（nPLV）は好ましくは非リン脂質を含み、表2に記載する化合物からなる群から選択することができる。

【0037】

【表 2】

分類	炭化水素鎖	結合	頭部基
1. 脂族アルコール	$C_{12}-C_{20}$ (0~1個の不飽和結合)		-OH
2. 脂肪酸	$C_{12}-C_{20}$ (0~1個の不飽和結合)		-COOH
3. エチレンオキシド付加 脂族アルコール	$C_{12}-C_{20}$ (0~1個の不飽和結合)	-O	$-(CH_2CH_2O)_{2-5}H$
4. 脂肪酸のグリコールエステル	$C_{12}-C_{20}$ (0~1個の不飽和結合)	-CO-O	$-CH_2CH_2OH$
5. エチレンオキシド付加脂肪酸	$C_{12}-C_{20}$ (0~1個の不飽和結合)	-CO-O	$-(CH_2CH_2O)_{2-8}H$
6. グリセリン脂肪酸モノエステル	$C_{12}-C_{20}$ (0~1個の不飽和結合)	-CO-O	$-CH_2CHOHCH_2OH$
7. グリセリン脂肪酸ジエステル	$C_{12}-C_{18}$ (1個の不飽和結合) $C_{12}-C_{18}$ (1個の不飽和結合)	-CO-O -CO-O	-CH-CHO -CH ₂
8. エチレンオキシド付加 グリセリン脂肪酸エステル	$C_{16}-C_{18}$ (0個の不飽和結合)	-CO-O	$-CH_2CHOHCH_2O(CH_2CH_2O)_9H$
9. 脂肪酸ジエタノールアミド	$C_{12}-C_{20}$ (0~2個の不飽和結合)	-CO-N	$-(CH_2CH_2OH)_2$
10. 脂肪酸ジメチルアミド	$C_{12}-C_{20}$ (0~2個の不飽和結合)	-CO-N	$-(CH_3)_2$
11. 脂肪酸サルコシン	$C_{12}-C_{18}$ (0個の不飽和結合)	-CO-N-CH ₃	$-CH_2-COOH$
12. アルキド	C_{10} (0個の不飽和結合)	-O-CO	
13. アルキド	$C_{12}-C_{18}$ (0~4個の不飽和結合) $C_{12}-C_{18}$ (0~4個の不飽和結合)	-CO-O -CO-O	$-(CH_2)_2-O-CO-$ 

10

20

30

40

【0038】

より好ましくは、本発明の非リン脂質は、ポリオキシエチレンセチルエーテル（PCE）、パルミチン酸（PA）、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム（HTAB）、臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム（DHAB）、オレイン酸（OA）及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0039】

50

一実施形態において、 $nPLV$ は、第4級アンモニウム頭部基を含む脂質を含む。そのような第4級アンモニウム含有脂質は $NR_4^+B^-$ （式中、 NR_4^+ は第4級アンモニウムカチオンを示し、 B^- はアニオンを示し、 R は同一又は異なるアルキル基であってもよい）で示される構造によって表すことができる。第4級アンモニウム脂質は、第4級アンモニウムカチオンとアニオンの塩である。第4級アンモニウムカチオンは、アンモニア又は他のアミンの完全アルキル化等の高知の方法によってすることが合成できる。多くの第4級アンモニウム脂質は市販されている。

【0040】

第4級アンモニウム脂質の例としては、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム（HTAB）、臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム（DHAB）、臭化セトリモニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム（CTAB）、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、塩化セトリモニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、コカミドプロピルベタイン（CAPB）、臭化テトラ- n -ブチルアンモニウム（TBAB）が挙げられる。一実施形態において、第4級アンモニウム脂質は、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム（HTAB）及び臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム（DHAB）を含む。

10

【0041】

非リン脂質脂質小胞における非第4級アンモニウム脂質の比率（例えば、モル比）は、約0.01%～約1%、好ましくは約0.1%～約0.5%、より好ましくは約0.1%～約0.3%である。一実施形態において、前記比率は0.3%である。

20

【0042】

別の実施形態において、 $nPLV$ はコレステロールを（実質的に）含有していなくてもよい（すなわち、コレステロール（又は微量のコレステロール）、例えば、PEGコレステロール、イオノゲンコレステロール、表面安定化コレステロール、 β -シトステロール、エルゴステロール、フィトステロール等のコレステロール誘導体を含まない）。

【0043】

通常、本発明の $nPLV$ は組成物に含まれる。

【0044】

一実施形態において、 $nPLV$ を含む組成物は他の物質を含むことができる。特定の実施形態において、上記物質はシクロデキストリン又はステロイド誘発性急性調節（StAR）タンパク質であってもよい。好ましくは、上記物質はシクロデキストリン又はその誘導体である。

30

【0045】

シクロデキストリン（CD）は、小分子及び大きな化合物の一部と共に水溶性包接複体を形成することができるグルコースの環状オリゴマーである。化学的には、シクロデキストリンは、 α -（1,4）グルコシド結合によって結合した少なくとも6つのD-（+）グルコピラノース単位を含む環状オリゴ糖である。環の大きさと溶解性が異なる3種類の天然シクロデキストリン（ α -CD、 β -CD、 γ -CD）が存在する。これらの生体適合性を有するシクロデキストリン（環状オリゴ糖）は免疫応答を誘発せず、動物とヒトにおける毒性が低い。シクロデキストリンは薬剤の生物学的利用性を向上させる等の多くの目的のために医薬用途で使用されており、 β -CDは細胞膜からコレステロールを選択的に抽出することができる。高濃度の β -CDは細胞毒性を示し、細胞分解又は細胞死（アポトーシス）を引き起こし得る。

40

【0046】

シクロデキストリン（CD）の誘導体は米国特許第5,760,017号（発明者：Djedaini-Pillardら）及び国際出願公開第WO91/13100号（発明者：Coatesら）に開示されている。上記文献の開示内容はこの参照によって本願明細書に援用する。シクロデキストリン（CD）の誘導体の例としては、ジメチル- β -シクロデキストリン、トリメチル- β -シクロデキストリン、ランダムメチル化 β -シクロデキストリン、ヒドロキシエチル- β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシプロピル- β

50

- シクロデキストリン、3 - ヒドロキシプロピル - β - シクロデキストリン、2 , 3 - ジヒドロキシプロピル - β - シクロデキストリン、2 - ヒドロキシイソブチル - β - シクロデキストリン、スルホブチルエーテル - β - シクロデキストリン、グルコシル - β - シクロデキストリン、マルトシル - β - シクロデキストリンが挙げられる。

【0047】

通常、上記物質は組成物に添加される。この場合、適当な濃度のシクロデキストリン (CD) を水又はPBSを使用して調製し、必要な濃度となるように組成物に添加する。

【0048】

好ましくは、本発明の組成物におけるシクロデキストリン又はシクロデキストリン誘導体の濃度は0.01mM~50mMである。最も好ましくは、シクロデキストリン又はシクロデキストリン誘導体の濃度は0.1~10mMである。そのような低濃度では、 β -CDの細胞の完全性は限定されている。

10

【0049】

あるいは、上記物質はステロイド誘発性急性調節 (StAR) タンパク質であってもよい。ステロイド誘発性急性調節 (StAR) タンパク質は、cAMP - 依存性経路を介した副腎・生殖腺細胞におけるステロイド生合成の調節における必須成分である。多くの場合、cAMPによる転写誘導は、標的遺伝子のプロモーターに発見されたコンセンサス cAMP 応答配列 (CRE; 5' - TGACGTCA - 3') による cAMP 応答配列結合タンパク質 (CREB) 科の相互作用を介して行われる (Pulak R. Manna et al. (2002), Molecular Endocrinology 16 (1): 184~199)。

20

【0050】

StARの欠失型 (例えば、N62 StAR; Tuckey et al., 2002 及びAlpy et al., 2005) も、上記他の物質として使用することができる。StARの欠失型はリン脂質リボソーム間のコレステロール移動を5~10倍高めることが明らかになっている。

【0051】

好ましくは、StARタンパク質は溶液として組成物に含まれる。

【0052】

組成物は、液体、固体 (粉末等) 又は半固体であってもよい。

30

【0053】

通常は、組成物に含まれるnPLVは0.2 μ m~10 μ mの直径を有する。

【0054】

nPLV (及び本発明のnPLV) の製造方法については、米国特許第4,911,928号 (実施例1)、米国特許第5,147,723号、米国特許第5,032,457号、米国特許第4,895,452号、米国特許出願第761,253号、国際公開第WO2007/135523号に記載されており、上記文献の開示内容はこの参照によって本願明細書に援用する。

【0055】

また、本発明は、薬学的に許容し得る量の本願明細書に開示するnPLVと、必要に応じて1種以上の薬学的に許容し得る担体と、を含む医薬組成物も含む。

40

【0056】

別の実施形態において、医薬組成物は、上述したエンハンサー物質を含むことができる。好ましくは、エンハンサー物質は少なくとも1種のシクロデキストリン又はその誘導体である。

【0057】

「製薬学的に許容し得る」とは、生理的に許容でき、ヒトに投与した際に異常高進や眩暈感等のアレルギー性又は同様な有害反応を通常は生じさせない分子及び組成物を意味する。

【0058】

50

許容し得る担体、賦形剤、安定化剤は採用される投与量及び濃度において被投与者に無毒であり、例えば、リン酸塩、クエン酸塩、その他の有機酸等の緩衝液；アスコルビン酸やメチオニン等の酸化防止剤；保存剤（例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；低分子量（約10未満の残基）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、イムノグロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、リジン等のアミノ酸；グルコース、マンノース、デキストリン等の単糖類、二糖類、その他の糖類；EDTA等のキレート化剤；蔗糖、マンニトール、トレハロース、ソルビトール等の糖類；ナトリウム等の塩形成対イオン；金属錯体が挙げられる。

【0059】

10

医薬組成物は全身又は局所的に投与することができる。例えば、医薬組成物は、皮下、静脈内、皮内、腹腔内、鼻腔内、経皮的、筋肉内、口腔投与（好ましくは吸入）等の非経口投与、埋込型装置による投与又は蠕動手段による投与によって投与することができる。

【0060】

本発明の医薬組成物は、生体吸収性マトリックスに組み込むか、含浸させることができ、マトリックスは懸濁液、ゲル又は固形担体として投与する。また、マトリックスはバイオポリマーを含むことができる。

【0061】

生体内投与に使用される製剤が無菌である必要がある場合には、例えば本発明の組成物の調製に無菌化合物を使用することによって容易に達成される。

20

【0062】

本発明の医薬組成物の好適な投与量は、被投与者の年齢、性別、健康状態、体重、同時治療の種類、所望の作用に応じて異なる。

【0063】

適正な投与形態は、疾病、n P L V、脂質交換を高める物質、投与方法に応じて異なる。例えば、気道への噴霧又はその他のエアロゾル手段が挙げられる。阻害溶液を局所的に塗布するためのその他の方法としては、クリーム、うがい薬、歯科用軟膏、目薬、溶液、軟膏、腔ゲル等のゲル、コンドーム潤滑剤等の潤滑剤が挙げられる。

【0064】

細菌（グラム陽性菌等）感染の治療のための化合物の任意の用量は、約1～50又は1～20mg/kg（体重）/日、より一般的には0.1～約100mg/kg（体重）/日である。製薬学的に許容し得る塩及びプロドラッグの有効用量範囲は、投与する親ヌクレオシドの重量に基づいて算出することができる。塩又はプロドラッグが活性を示す場合には、有効用量は、塩又はプロドラッグの重量を使用して推定するか、当業者に公知の他の手段によって推定することができる。

30

【0065】

必要に応じて、活性成分は、活性化合物のピーク血漿濃度が約0.2～70M、例えば、約1.0～10μMとなるように投与する。上記濃度は、例えば、必要に応じて生理的食塩水で希釈した活性成分の0.1～5%溶液の静脈内注入又は活性成分のボーラス投与によって達成することができる。医薬組成物における活性化合物の濃度は、医薬の吸収率、不活性化及び排泄速率並びに当業者に公知のその他の要因に応じて異なる。また、特定の患者の場合には、各患者のニーズ並びに組成物を投与するか、組成物の投与を監督する者の専門的な判断に応じて特別の用量計画を調節すべきであり、本願明細書に記載する濃度範囲は一例であり、請求の範囲に記載する組成物の範囲又は実施を限定するものではない。活性成分は一度に投与するか、小用量に分割し、異なる時間間隔で投与することができる。

40

【0066】

化合物は、適当な単位剤形（例えば、単位剤形あたり7～3000mg又は70～1400mgの活性成分を含む）で簡便に投与することができる。必要に応じて、50～1000mgの用量とすることができる。

50

【 0 0 6 7 】

また、本発明は、宿主、例えば、動物、通常はヒトの細菌感染を予防、抑制又は治療する方法であって、前記細菌感染がグラム陽性菌によるものである場合に、必要に応じて製薬学的に許容し得る担体又は希釈剤と共に、治療量の本発明の n P L V 組成物を投与することを含む方法を提供する。

【 0 0 6 8 】

また、本発明は、グラム陽性菌を抑制するための方法であって、前記グラム陽性菌を、1 種以上の n P L V を含む組成物に接触させる工程を含む方法を提供する。細胞内における細菌複製の抑制又は感染の治療は、細胞内における細菌複製が、発明の化合物又は組成物を投与していない同一の細胞におけるレベルよりも低いレベルに減少したことを示すことによって測定することができる。細菌複製の減少は、約 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 % 又は約 9 9 . 9 % 以上であることができる。細胞内における細菌複製レベルは、公知の方法によって調べることができる。例えば、細胞内における細菌複製レベルは、細胞又は細胞に関連する流体又は残屑内における、細菌タンパク質、細菌酵素又は細菌核酸等の細菌粒子の数又は細菌成分の量を評価することによって調べることができる。細胞内における感染性細菌の数は、例えば、ブランクアッセイによって評価することができる。細胞内における細菌タンパク質又は酵素等の細菌成分のレベルは、タンパク質生化学の標準的な解析手法、例えば、細菌酵素活性分析又は細菌タンパク質のウェスタンブロッティング又は定量的ゲル電気泳動法を使用して評価することができる。細胞内における細菌核酸レベルは、ノーザンブロッティング、サザンブロッティング又はポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) 等の標準的な解析手法を使用して評価することができる。本願明細書に開示する方法に使用できる n P L V としては、上述した n P L V が挙げられる。

【 0 0 6 9 】

一実施形態において、グラム陽性菌を抑制するために使用する n P L V は、第 4 級アンモニウム頭部基を含む。脂質含有第 4 級アンモニウムについては本願明細書に開示されている。別の実施形態において、n P L V 内における脂質含有第 4 級アンモニウムは、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B) 及び臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B) を含む。別の実施形態において、n P L V は、組成物に添加される他の物質を含むことができる。特定の実施形態において、上記物質はシクロデキストリン又はステロイド誘発性急性調節 (S t A R) タンパク質であってもよい。好ましくは、上記物質はシクロデキストリン又はその誘導体である。シクロデキストリン又はその誘導体については本願明細書に開示されている。別の実施形態において、n P L V はコレステロールを含んでいなくてもよい。

【 0 0 7 0 】

n P L V によって抑制されるグラム陽性菌種の例は本願明細書に開示されている (例えば、ミクロコッカス属、ペプトコッカス属、ペプトストレプトコッカス属、エンテロコッカス属、バシラス属、クロストリジウム属、ラクトバシラス属、リステリア属、エリジペロスリックス属、プロピオン酸菌属、ユーバクテリウム属、コリネバクテリウム属、連鎖球菌属 (例えば、肺炎連鎖球菌)、スタフィロコッカス属 (例えば、黄色ブドウ球菌)、エンテロコッカス属)。グラム陽性桿菌の例としては、例えば、コリネバクテリア (ジフテリア菌)、リステリア・モノサイトゲネス、炭疽菌、ブタ丹毒菌が挙げられる。グラム陽性枝分かれ微生物 (b r a n c h i n g o r g a n i s m) の例としては放線菌が挙げられる。グラム陽性菌の例としては、炭疽菌、枯草菌、ボツリヌス菌、ウェルシュ菌、破傷風菌、ジフテリア菌、乳酸菌、リステリア菌、ハンセン菌、結核菌、マイコプラズマ肺炎菌、黄色ブドウ球菌、連鎖球菌が挙げられる。マイコバクテリウム属は抗酸菌染色性だが、系統的にはグラム陰性よりもグラム陽性に密接に関連付けられる。マイコプラズマ属はグラム陰性だが、系統的にはグラム陰性よりもグラム陽性に密接に関連付けられる (細胞壁がないため)。その他のグラム陽性菌は例えば、放線菌を除く全てのグラム陽性菌を記載した 6 節を含む B e r g e y ' s M a n u a l、v o l . 2 に記載されている。これらの節において、細菌は、形状、内生芽胞形成能、抗酸性、酸素との関係、一時的

に菌糸体を形成する能力及びその他の特性に基づいて分類されている。一実施形態において、不活性化することができるグラム陽性菌としては、ヒト医薬に関連するグラム陽性菌（例えば、表1に記載するグラム陽性菌）が挙げられる。特定の実施形態において、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌（MRSE）、メチシリン耐性コアグラエゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）、バンコマイシン耐性大便連鎖球菌、バンコマイシン耐性エンテロコッカスフェシウム及びバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌等の薬剤耐性細菌を不活性化するためにnPLVを使用することができる。

【0071】

最小発育阻止濃度（MIC）は、一晚の培養後に微生物の目に見える成長を阻害する抗菌剤の最低濃度である。

10

【0072】

通常、MICは観点又はブロス（例えば、LBブロス）希釈法によって測定することができる。nPLVを含む組成物についてMICを測定する標準的な方法は、各種濃度のnPLVを含む組成物の存在下で、LBブロス培地内において接種細菌（例えば、 5×10^5 細菌/mL）を一晚増殖させ、各培養試料を逐次希釈し、寒天平板培地に固定し、力価測定のために37℃で一晩培養することを含む。そのような方法は、Determination of minimum inhibitory concentrations, Jennifer M. Andrews, Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2001) 48, Suppl. S1, 5-16に開示されている。また、MICの測定ガイドラインは、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)、British Society for Antimicrobial Chemistry (BSAC) 又は European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease (EUCAST) 等から入手することができる。また、Etest strips 及び Oxoid MIC Evaluator 等の市販の方法もある。

20

【0073】

MICは、微生物の抗菌剤に対する耐性を確認する診断研究所において重要である。臨床的には、患者に投与する抗生物質の量及び種類が使用した抗生物質の量を決定するために最小発育阻止濃度を使用することができる。そのような判定により、特定の抗菌剤に対する微生物耐性が生じる可能性を低下させることができる。

30

【0074】

様々なグラム陽性菌に対するnPLVのMICは、上述した標準的な方法又はその他の公知の方法を使用して測定することができる。得られたMICは、グラム陽性菌を抑制するために使用することができる各nPLVの最低量を決定するために使用することができる。

【0075】

また、本発明は、患者のグラム陽性菌関連疾病を治療又は予防する方法であって、グラム陽性菌に近接する位置において、本願明細書に記載する医薬組成物を前記患者に投与する工程を含む方法を提供する。投与形態としては、気道への噴霧又はその他のエロゾル手段、クリーム、うがい薬、歯科用軟膏、溶液、軟膏、腔ゲル等のゲル、目薬、コンドーム潤滑剤等の潤滑剤、皮膚又は粘膜面（例えば、角膜、皮膚の切り傷又は擦傷、火傷、細菌感染部位）への外部投与のためのクリーム、ローション又は溶液が挙げられる。

40

【0076】

本発明の組成物とグラム陽性菌の気道における相互作用は、細菌感染性（肺内での伝播（予防治療））を妨げる。生理学的処理により組成物と不活性化細菌を洗い流す。また、部分的又は完全に不活性化された細菌は、咳又はくしゃみによって体外に排出された場合に周囲に広がることは制限される（集団予防（population prophylaxis））。

【0077】

50

「治療する」という用語は治療を意味し、「予防する」という用語は予防的措置を意味する。治療を要する患者には、既に疾患を有する者及び疾患を予防すべき者が含まれる。治療対象の患者は、障害を有すると診断されたか、障害にかかりやすい可能性がある患者である。

【0078】

好ましくは、患者は動物又はヒトである。

【0079】

最も好ましくは、「動物」という用語は、家畜（例えば家禽）、動物園の動物、スポーツ用動物、イヌ、ウマ、ネコ、ウシ、サル等のペット等を意味する。

【0080】

また、本発明の範囲には、グラム陽性菌関連疾病の治療又は予防のための薬剤の調製における本願明細書に記載した医薬組成物の使用が含まれる。

【0081】

また、本発明は、大規模生体適合性殺菌剤の調製における本発明の組成物の使用を含む。従って、本発明の組成物を必要に応じて希釈して水性懸濁液又はヒドロゲル内の分散液、ペースト又は噴霧剤を調製する。

【0082】

本発明の殺菌剤は、上述した活性成分に加えて、所望の用途に応じてその他の通常使用される成分を含むことができる。特に、殺菌溶液のpH範囲を6未満に保つために酸性化剤を使用することができる。プロトン化化合物及び/又はその他の活性成分のための適当な溶媒を使用することができる。溶媒は、好ましくは水又は水混和性有機溶媒である。溶液は、圧縮空気又は当業者に公知のその他の噴射剤を使用して容易に噴霧することができる。

【0083】

本発明の殺菌剤は、病院、動物病院、歯科、診療所等の医学関連環境における表面消毒に好適である。本発明の溶液は手術器具の滅菌に使用することが特に好ましい。また、これらの殺菌剤は、学校、交通機関、レストラン、ホテル、ランドリー等の公共区域でも有用である。また、殺菌剤は、トイレ、ボウル、キッチンの消毒薬として家庭で使用することもできる。本願明細書に開示する組成物を含む殺菌剤は、医療機器、手術器具、手術用手袋又はマスクを消毒するために使用することができる。また、殺菌剤は、医療スタッフ及び患者の手術部位を消毒するために外科手術の準備にも有用である。例えば、本発明の組成物によって手術器具をコーティングして外科手術前に無菌コーティングを準備することができる。

【0084】

また、本発明は、抗菌コーティング剤の調製における本発明の組成物の使用を提供する。コーティング剤は、例えば、手術用手袋、手術用装置、手術用機器、男性用コンドーム、マスクをコーティングするか、細菌感染されやすい留置カテーテル及び同様なインプラントをコーティングするために使用することができる。

【0085】

本発明の別の態様は、グラム陽性菌を抑制するためのキットであって、本発明のnPLV組成物と、必要に応じて試薬及び/又は取扱説明書と、を含むキットを提供する。

【0086】

細菌の薬剤耐性変異株が抗菌薬剤による長期処理後に現れる場合がある。細菌感染に対する医薬の効能は、例えば、主要な医薬とは活性の異なる部位において、第2及びおそらくは第3の抗菌剤と共に又は交互に化合物を投与することによって長期化、増大又は回復させることができる。あるいは、そのような併用又は交互療法により、医薬の薬物動態、生体内分布又はその他のパラメータを変化させることができる。通常は、細菌に対して多発同時的なストレスを引き起こす併用療法が典型的である。

【0087】

従って、本発明のキットは、他の抗菌剤を含む医薬製剤をさらに含むことができる。好

10

20

30

40

50

適な抗生物質製剤は、例えば、Physician's Desk 30 Reference (PDR), Medical Economics Company (Montvale, N.J.), (53rd Ed.), 1999; Mayo Medical Center Formulary, Unabridged Version, Mayo Clinic (Rochester, Minn.), January 1998; Merck Index An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals (11th Ed.), Merck & Co., Inc. (Rahway, N.J.), 1989; University of Wisconsin Antimicrobial Use Guide, <http://www.medsch.wisc.edu/clinisci/5amcg/amcg.html>; Introduction on the Use of the Antibiotic Classes, Thomas Jefferson University, http://jeffline.tju.edu/CWIS/OAC/antibiotics_guide/intro.html 並びに本願明細書に引用する参考文献に開示されている。

10

【0088】

抗生物質の例としては、例えば、スルホンアミド、ペニシリン、セファロスポリン、アミノグルコシド、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、マクロライド、リンコサミド、ストレプトグラミン、グリコペプチド、リファマイシン、ニトロイミジアゾール、キノロン、トリメトプリン、オキサゾリジノンエステル、リボペプチドが挙げられる。

20

【0089】

具体的な化合物の例としては、例えば、Amikacin (硫酸アミカシン)、Cramyein (硫酸ゲンタマイシン)、Nebcin (硫酸トブラマイシン)、Netromycin (硫酸ネチルマイシン)、Streptomycin Sulfate、TOBI (トブラマイシン)、Azactam (アズトレオナム)、Cefotan (セホタン)、Lorabid (ロラカルベフ)、Mefoxin (セフォキシチン)、Merrem (メロペナム)、Primaxin (注射懸濁液用イミペナム及びシラスタチン)、Ancef (セファゾリン)、Cecclor (セファクロル)、Cedax (セフチブテン)、Cefizox (セフチゾキシムナトリウム)、Cefobid (セホペラゾンナトリウム)、Ceftin (セフロキシムアキセチル)、Cefzil (セフプロジル)、Ceptaz (セフタジダイム)、Claforan (セホタキシム)、Duricef (セファドロキシルー水和物)、Fortaz (セフタジダイム)、Keflex (セファレキシン)、Keftab (セファレキシンHCl)、Kefurox (セフロキシム)、Kefzol (セファゾリン)、Mandol (セファマンドールナファート)、Maxipime (セフェピムHCl)、Monocid (セホニシドナトリウム)、Omnicef (セフジニール)、Rocephin (セフトリアキソン)、Suprax (セフィキシム)、Tazicef (セフタジダイム)、Tazidime (セフタジダイム)、Vantin (セフボドキシムプロキセチル)、Zinacef 5 (セフロキシム)、Biaxin (クラリスロマイシン)、Dynabac (ジリトロマイシン)、E.E.S. 200 (エリスロマイシンエチルサクシネート)、E.E.S. 400 (エリスロマイシンエチルサクシネート)、Ery-Ped 200 (エリスロマイシンエチルサクシネート)、EryPed 400 (エリスロマイシンエチルサクシネート)、Ery-Tab (エリスロマイシン遅延放出錠)、Erythrocine Stearate (ステアリン酸エリスロマイシン)、Ilosone (エリスロマイシンエステル)、PCE Disperstab (錠剤内のエリスロマイシン粒子)、Pediazole (経口懸濁剤用エリスロマイシンエチルサクシネート及びスルフイソキサゾールアセチル)、Tao (トロレアンドマイシン)、Zithromax (アジスロマイシン)、Erythromycin、Cleocin HCl (塩酸クリンダマイシン)、Cleotina Phosphate (クリンダマイシンフォスフェート)、Coly-M

30

40

50

y c i n M (コリスチンメタナトリウム)、V a n c o c i n H C l (塩酸バンコマイシン)、A m o x i l (アモキシシリン)、A u g m e n t i n (アモキシシリン / クラブラン酸塩カリウム)、B i c i l l i n C - R 9 0 0 / 3 0 0 (ペニシリン G ベンザチン及びペニシリン G プロカイン懸濁液)、B i c i l l i n C - R (ペニシリン G ベンザチン及びペニシリン G プロカイン懸濁液)、B i c i l l i n L - A (ペニシリン G ベンザチン懸濁液)、G e o e i l l i n (カルベニシリンインタニルナトリウム)、M e z l i n (無菌メジロシリンナトリウム)、O m n i p e n (アンピシリン)、P e n - V e e K (ペニシリン V カリウム)、P f i z e r p e n (ペニシリン G カリウム)、P i p r a c i l (ピペラシリンナトリウム)、S p e e t r o b i d (バカンピシリン - H C l)、T i c a r (チカルシリンジナトリウム)、T i m e n t i n (チカルシリン二ナトリウムとクラブラン酸カリウム)、U n a s y n (アンピシリンナトリウム / スルバクタムナトリウム)、Z o s y n (ピペラシリンナトリウムとタゾバクタムナトリウム)、ジクロキサシリンナトリウム、A c h r o m y c i n V (テトラサイクリン H C l)、D e c l o m y c i n (デメクロサイクリン H C l)、D y n a c i n (ミノサイクリン (m i n o c y c l i c i n e) H C l)、M i n o c i n (塩酸ミノサイクリン)、M o n o d o x (ドキシサイクリン一水和物カプセル剤)、T e r r a m y c i n (オキシテトラサイクリン (o x y t e t r a c y c l i n e))、V e c t r i n (塩酸ミノサイクリン)、V i b r a m y c i n カルシウム (ドキシサイクリンナトリウム)、V i b r a m y c i n ヒクラー (ドキシサイクリンヒクラー)、V i b r a m y c i n 一水和物 (ドキシサイクリン一水和物)、V i b r a - T a b s (ドキシサイクリン水和物)、D e c l o m y c i n (デメクロサイクリン H C l)、V i b r a m y c i n (ドキシサイクリン)、D y n a c i n (ミノサイクリン (M i n o c y c l i n e) H C l)、T e r r a m y c i n (オキシテトラサイクリン H C l)、A c h r o m y c i n V カプセル 5 (テトラサイクリン H C l)、L i n c o - m y c i n s、C l e o t i n H C l (クリンダマイシン H C l)、A b e l c e t (アンホテリシン B 脂質錯体)、A m B i s o m e (アンホテリシン B)、A m p h o t e c (アンホテリシン B コレステロールサルフェート錯体)、A n c o b o n (フルシトシン)、D i f l u c a n (フルコナゾール)、F u l v i c i n P / ガンマ (超微小サイズグリセオフルビン)、F u l v i c i n P / G 1 6 5 及び 3 3 0 (超微小サイズグリセオフルビン)、G r i f f u l v i n V (グリセオフルビン)、G a l s - P E G (グリセオフルビン (g x i s e o f u l v i n) 超微小サイズ)、L a m i s i l (塩酸テルビナフィン)、N i z o r a l (ケトコナゾール)、アンホテリシン B、L o t r i m i n (クロトリマゾール)、D a p s o n e 錠剤 (ダブソン)、D i f l u c a n (フルコナゾール)、M o n i s t a t - D e r m クリーム剤 (ミコナゾール)、M y c o s t a l i n C R C . a m (ニスタチン)、S p o r a n o x (イトラコナゾール)、A r a l e n 塩酸塩 (クロロキン H C l)、A r a l e n ホスファート (リン酸クロロキン)、D a t a p r i m (ピリメタミン)、L a d a m (メフロキン H C l)、P l a q u e n i l (硫酸ヒドロキシクロロキン (h y d r o x y c h l o r o q n i n e))、C a p a s t a t サルフェート (硫酸カプレオマイシン)、M y a m b u t o l (塩酸エタンブトール)、M y c o b u t i n (リファブチンカプセル剤)、N y d r a z i d (イソニアジド注射剤)、P a s e r (アミノサリチル酸)、P r i f i i n (リファペンチン)、P y r a z i n a m i d e 錠剤 (ピラチナミド)、R i f a d i n (リファンピンカプセル剤)、R i f a d i n I V (リファンピン注射剤)、R i f a m a t e (リファンピンとイソニアジド)、R i f a t e r (リファンピン、イソニアジド及びピラチナミド)、S e r o m y c i n (シクロセリンカプセル剤)、硫酸ストレプトマイシン、T i c e B C G (B C G ワクチン)、シクロセリン (s e r o m y c i n カプセル剤)、U r i s e d (メテナミン)、T r e c a t o r - S C (エチオナミド錠剤)、A l f e r o n N (インターフェロンアルファ - n 3)、C r i x i v a n (硫酸インジナビル)、C y t o v e n e (ガンシクロビル)、C y t o v e n e - I V (ガンシクロビルナトリウム)、E p i v i r (ラミブジン)、F a m v i r (ファムシクロビル)、F l u m a d i n e (リマンタ

ジンHCl)、Foscavir (フォスカルネット (foscamet) ナトリウム)、Hivid (ザルシタピン)、Intron A (インターフェロンアルファ - 2b)、Invirase (サキナビルメシラート)、Norvir (リトナビル)、Rebetrol (リバビリン) とイントロンA (インターフェロンアルファ - 2b) を含む Rebetron 併用療法、Rescriptor (デラビルジンメシラート)、Retrovir (ジドブジン (ziduvudine))、Retrovir IV (ジドブジン)、Symmetrel (アマンタジンHCl)、Synagis (パリビズマブ)、Valtrex (バラシクロビルHCl)、Videx (ジダノシン)、Viracept (ネルフィナビル (nefamavir) メシラート)、Viramune (ネビラピン)、Virazole (リバビリン)、Vistide (シドフォビル)、Zerit (スタブジン (d4T))、Symmetrel シロップ剤 (アマンタジンHCl)、Combivir 錠剤 (ラミブジン (lamiduvine))、Zovirax (アシクロビル)、Dapsone 錠剤 (ダブソン)、Daraprim (ピリメタミン)、Flagyl 375 (メトロニダゾール)、Flagyl ER 錠剤 (メトロニダゾール)、Flagyl I.V. (メトロニダゾール)、Furoxone (フラゾリドン)、Mepron (アトパコン)、Neutrexin (トリメトレキセート (tfimetrexate) グルクロナート)、Cipro (シプロフロキサシンHCl)、Floxin (オフロキサシン)、Levaquin (レボフロキサシン)、Mazquin (ロメフロキサシン (lomefloxacin) HCl)、Noroxin (ノルフロキサシン)、Penetrex (エノキサシン)、Raxar (グレバフロキサシンHCl)、Trovan (トロバフロキサシン (trovafloxacin) メシラート)、Zagam (スパルフロキサシン)、Bactrim. (トリメトプリムとスルファメトキサゾール)、Bactrim DS (トリメトプリムとスルファメトキサゾールのダブルストレングス)、Pediazole (エチルコハク酸エリスロマイシンとスルフイソキサゾールアセチル)、Septtra (トリメトプリムとスルファメトキサゾール)、Septtra DS (トリメトプリムとスルファメトキサゾール)、コトリモキサゾール、スルファジアジン、Bactrim I.V. 注入剤 (スルファメトキサゾール)、スルファピリジン及び Pediazole (エチルコハク酸エリスロマイシンとスルフイソキサゾールアセチル)、Furadantin (ニトロフラントイン)、Macrobid (ニトロフラントイン - 水和物微結晶)、Macrofantin (ニトロフラントイン微結晶)、Monuro1 サシェ (ホスホマイシントロメタミン)、NegGram カブレット (ナリジキシム酸)、Septtra (トリメトプリムとスルファメトキサゾール)、Septtra DS (トリメトプリムとスルファメトキサゾール)、Urised (防腐剤メテナミン、メチレンブルー、サリチル酸フェニル、安息香酸及び副交感神経遮断薬 (硫酸アトロピン) ヒヨスチアミンの組み合わせ)、(オキシテトラサイクリンHCl、スルファメチゾール及びフェナゾピリジンHCl)、(マンデル酸メテナミン)、Bactroban (ムピロシン)、眼用 Chloromycetin (クロラムフェニコール (Chloramphenical))、Cortisporin (ネオマイシンと硫酸ポリミキシン [3 と酢酸ヒドロコルチゾンのクリーム剤)、Ilotycin (エリスロマイシン眼軟膏剤)、NeoDecadron (硫酸ネオマイシン - リン酸デキサメタゾン ナトリウム)、Polytrim (トリメトプリムと硫酸ポリミキシン (polythyxin) [3 の点眼剤)、Terra-Cortril (オキシテトラサイクリンHCl と酢酸ヒドロコルチゾン)、Terramycin (オキシテトラサイクリン)、TobraDex (トブラマイシンとデキサメタゾンの眼懸濁液及び軟膏剤)、Vita-A 眼軟膏剤、(ビダラビン (vidatabine))、(ノルフロキサシン点眼剤、Ciloxan 点眼剤及び軟膏剤 (シプロフロキサシンHCl)、Ocuflox 点眼剤 (オフロキサシン)、Blephamide 眼軟膏剤 (スルファセタミドナトリウムと酢酸ブレドニゾロン)、Blephamide 眼懸濁液 (スルファセタミドナトリウムと酢酸ブレドニゾロン (predrdsolone))、A/T/S (エリスロマイシン)、Bactroban (ムピロシン)、Benzamycin (エリスロマイシン - 過酸化

ベンゾイル局所ゲル)、Betadine (ポビドン - ヨウ素 (odine))、Cleotinin T (リン酸クリンダマイシン局所液剤)、Clindets (リン酸クリンダマイシン綿撒系)、Cortisporin (ネオマイシン、硫酸ポリミキシンB及び酢酸ヒドロコルチゾンのクリーム剤)、Emgel (エリスロマイシン)、Erycette (エリスロマイシン局所液剤)、Garamycin (硫酸ゲンタマイシン)、Klaron (ナトリウムスルファセタミドローション剤)、Mycostatin (ニスタチンクリーム剤)、Theramycin Z (エリスロマイシン局所液剤)、T-Stat (エリスロマイシン)、クロロマイセチン (クロラムフェニコール眼軟膏剤)、Cortisporin (ネオマイシン及び硫酸ポリミキシンB、バシトラシン亜鉛及びヒドロコルチゾン眼軟膏剤)、Ilotycin (エリスロマイシン)、NeoDee adron (硫酸ネオマイシン - リン酸デキサメタゾンナトリウム)、Polytrim (トリメトプリム及び硫酸ポリミキシンB)、Terra-Cortril (オキシテトラサイクリンHClと酢酸ヒドロコルチゾン)、Terramycin (オキシテトラサイクリン)、Exelder (硝酸スルコナゾール)、ファンギゾン (アンホテリシンB経口懸濁液剤)、Lamisil (塩酸テルビナフィン (terbinafine) クリーム剤)、Loprox (シクロピロクスオラミン)、Lotrimin (クロトリマゾール)、Lotrisone (クロトリマゾールとジプロピオン酸 (dipropionate) ベタメタゾン)、Mentax (ブテナフィンHCl)、Monistat-Den (硝酸ミコナゾール)、Mycellex (クロトリマゾール)、Mycostatin (ニスタチン)、Naffin (ナフチフィン (nattifine) HCl)、Nizoral (ケトコナゾール (Ocetoconazole)、Nystop (ニスタチン)、Oxistat (硝酸オキシコナゾール)、Selsun Rx (2.5% 硫化セレンローション剤)、Spectazole (硝酸エコナゾール)、Denavir (ペンシクロビルクリーム剤)、Zovirax (アシクロビル)、Benzashave 過酸化ベンゾイル (Coenzoyl)、Betadine (ポビドン - ヨウ素)、Beta Sept (グルコン酸クロルヘキシジン)、Cetaphil (石鹸代替品)、Clorapactin WCS-90 (ナトリウムオキシクロロセン)、Dapsone 錠剤 (ダプソン)、Desquam-E 過酸化ベンゾイル (Coenzoyl)、Desquam-X (過酸化ベンゾイル)、Hibiclens (グルコン酸クロルヘキシジン)、Hibistat (グルコン酸クロルヘキシジン (ehlorhexidine))、Impregon (テトラクロロサリチルアニリド2%)、Metro Cream (メトロニダゾール)、Metro Gel (メトロニダゾール)、Noritate (メトロニダゾール)、pHisoHex (ヘキサクロロフェン洗浄剤)、Sulfacet-R (ナトリウムスルファセタミド10%と硫黄5%)、Sulfamylon (酢酸マフェニド (materfide))、Tfiax 過酸化ベンゾイル (Coenzoyl)、Vanoxide-HC 過酸化ベンゾイル (Coenzoyl) ヒドロコルチゾン)、Acticin (ペルメトリン)、Elimite (ペルメトリン)、Eurax (クロタミトン)、Efudex (フルオロウラシル)、Fluoroplex、リファペンチン、キヌプリスチン / ダルフォプリスチン、モキシフロキサシン、ガチフロキサシン、リネゾリド、セフジトレンピボキシル、エルタペネム、ゲミフロキサシン、ダブトマイシン、テリチオマイシン及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0090】

あるいは、本発明のnPLV組成物は、上記他の抗菌剤及びそれらの組み合わせをさらに含むことができる。

【0091】

併用療法では、有効用量の2種以上の薬剤を同時に投与し、交互又は逐次段階療法では、有効用量の各薬剤を逐次又は順次投与する。用量は、医薬の吸収率、不活性化及び排泄速率並びに当業者に公知のその他の要因に応じて異なる。また、用量は軽減する症状の重症度に応じて異なる。また、特定の患者の場合には、各患者のニーズ並びに組成物を投与するか、組成物の投与を監督する者の専門的な判断に応じて特別の用量計画を調節すべき

である。いくつかの実施形態においては、 $10 \sim 15 \mu\text{M}$ 以下又は通常は $1 \sim 5 \mu\text{M}$ 未満の EC_{50} を示す抗菌剤が望ましい。

【0092】

通常、キットは、容器と、容器上又は容器内に設けられたラベル又は包装挿入物を含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、注射器等が挙げられる。容器は、ガラス又はプラスチック等の各種材料で形成することができる。容器は、症状を治療するために有効な組成物を保持し、無菌アクセス口（例えば、容器は静脈注射用溶液バッグ又は皮下注射針を貫通させることができるストッパーを有するバイアル又はエーロゾル噴霧装置であってもよい）を有することができる。ラベル又は包装挿入物は、組成物を細菌感染等の任意の症状を治療するために使用することを表示する。

10

【0093】

あるいは又はさらに、キットは、静菌剤注射用蒸留水（B W F I）、燐酸緩衝食塩水、リンガー溶液、デキストロース溶液等の製薬学的に許容し得る緩衝液を含む第2（又は第3）の容器をさらに含むことができる。キット、その他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、注射器等の市販又はユーザーの見地から望ましいその他の材料をさらに含むことができる。

【0094】

当業者には、具体的に説明した実施形態以外に本発明を容易に変更及び変形することができることは明らかであろう。本発明は、本発明の精神又は基本的特徴から逸脱することなく、そのような変更及び変形を含む。また、本発明は、本願明細書において参照又は例示した全ての工程、特徴、組成物及び化合物を個々又は一括して含み、複数の工程又は特徴の全ての組み合わせを含む。従って、本願の開示は例示した態様に限定されるものではなく、本発明は特許請求の範囲及び本発明の範囲に含まれる均等物の意味及び範囲に含まれるあらゆる変形を含む。

20

【0095】

本願明細書において各種参考文献を引用しているが、各参考文献の内容は各参照によって本願明細書に援用するものとする。

【0096】

上記説明は以下の実施例を参照することによりさらに十分に理解されるだろう。ただし、以下の実施例は本発明を実施する方法の例示に過ぎず、本発明の範囲を限定するものではない。

30

【実施例】

【0097】

実施例 1

材料及び方法

細菌株

グラム陽性菌の異なる菌株（黄色ブドウ球菌、枯草菌、ルテウス菌）及びグラム陰性菌の異なる菌株（大腸菌、緑膿菌）を使用した。細菌は、公知の標準プロトコルに従って増殖させ、保管した。

【0098】

40

n P L V の調製

使用した主要な脂質はポリオキシエチレンセチルエーテル（P C E）であり、単独あるいは以下に記載するモル比でパルミチン酸（P A）、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム（H T A B）又は臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム（D H A B）と混合して使用した。

【0099】

脂質混合物を50 に加熱し、2注射器法（2 - s y r i n g e s m e t h o d）を使用して50 に予熱したリン酸緩衝生理食塩水（P B S）と混合した。次に、0.5 gの脂質混合物を含有する注射器（10 m l）を、10 m lのリン酸緩衝生理食塩水（P B S）を含有する第2の注射器（10 m l）に接続した（最終脂質濃度：5%）。次に、脂

50

質混合物をPBSを含有する注射器に注入し、混合物を約20回素早く振って均質な懸濁液を得た。次に、位相差顕微鏡でnPLVの品質を確認した。nPLV01:100%ポリオキシエチレンセチルエーテル(PCE); nPLV02:99.9%PCE及び0.1%パルミチン酸(PA); nPLV03:99.9%PCE及び0.1%臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム(HTAB); nPLV04:99.9%PCE及び0.1%臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム(DHAB)からなる4種類のnPLVを調製した。nPLVについて、5mMシクロデキストリンを含むnPLV及びシクロデキストリンを含まないnPLVを調製した。

【0100】

不活性化アッセイ

10

細菌を寒天平板培地に固定した後、シクロデキストリンを含むか、シクロデキストリンを含まないnPLV組成物を培地に添加した。100μLの各組成物を0.5mg/mL(50mg総脂質)の濃度で添加した。寒天平板培地内で細菌を37℃で一晩培養した。白斑によって増殖が阻害されたことが示された。

【0101】

実施例2 - 最小発育阻止濃度(MIC)の測定

細菌株

枯草菌を実験に使用した。

【0102】

nPLVの調製

20

nPLVは実施例1と同様に調製した。

【0103】

アッセイ

各種濃度のnPLV03(99.9%PCE及び0.1%臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム(HTAB))の存在下で、LBブロス培地内において接種枯草菌(5×10^5 細菌/mL)を一晩増殖させた。次に、各培養試料を逐次希釈し、力価測定のために寒天平板培地に固定した。

【0104】

実施例3 - 結果

本願明細書に開示する組成物を使用して細菌を抑制する可能性を探るために、グラム陽性菌及びグラム陰性菌に対する組成物の抑制(阻害)作用について試験を行った。

30

【0105】

異なる脂質化合物を使用して以下の4種類のnPLVを合成した。すなわち、nPLV01:100%ポリオキシエチレンセチルエーテル(PCE); nPLV02:99.9%PCE及び0.1%パルミチン酸(PA); nPLV03:99.9%PCE及び0.1%臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム(HTAB); nPLV04:99.9%PCE及び0.1%臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム(DHAB)である。また、各nPLVについて、5mMシクロデキストリンを含むnPLV及びシクロデキストリンを含まないnPLVを調製した。

【0106】

40

図1から明らかなように、第4級アンモニウム(合計50ng)を含む小胞は細菌の増殖を抑制した。この濃度における抑制作用は、シクロデキストリンの存在に依存しないように思われた。

【0107】

図2から明らかなように、nPLV03(シクロデキストリンを使用せず)の最小発育阻止濃度は総脂質の23.4mg/L(23.4μg/LのHTAB)だった。

【0108】

参考文献

Adam CD, Durrant, JA, Lowry MR, Tiddy G. J. Gel and liquid-crystal Phase structures of the trioxyethyleneglycol monohexadecyl ether/water system.

50

- J. Chem. Soc. Faraday Trans 1984;80:789-01.
- Aloia, RC, Tian H, Jensen FC. Lipid composition and fluidity of the human immunodeficiency virus envelope and host cell plasma membranes, *Proc. Natl Acad Sci* 1993;90:5181-85
- Bai, J. and R.E. Pagano, Measurement of spontaneous transfer and transbilayer movement of BODIPY-labeled lipids in lipid vesicles. *Biochemistry* 1997; 36:8840-48.
- Brahmbhatt M. Avian influenza: Economic and social impacts. <http://web.worldbank.org>
- Bright RA, Medina M-J, Xu X, Perez-Oronoz G, Wallis TA, , Davis XM, Povinelli L, Coc NJ, Kimov A. Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005; a cause for concern. 2005. *Lancet* DOL: 10.1016/50140-6736. Sep. 22. pg 1-7
- El Baraka M, Pecheur EI, Wallach DFH, Philippot JR. Non-phospholipid fusogenic liposomes. *Biochim. Biophys. Acta* 1996; 1280, 107-114.
- Greenberg M and Cammack N. Resistance to enfuvirtide the first HIV fusion inhibitor. 2004. *J. Antimicrobial Chemotherapy* 54;:333-40.
- Heerklotz H. Triton promotes domain formation in lipid rafts. *Biophys J* 2002;83: 2693-701.
- Hersberger M, Nusbaumer C, Scholer A, Knoefli V, Eckardstein AV. Influence of practicable virus inactivation procedures on tests for frequently measured analytes in plasma. *Clin Chem* 2004;50;944-46.
- HIV/AIDS and work: global estimates, impact and response 2004; ILO Programme on HIV/AIDS and the world of work.
- Jefferson T, Rivetti D, Rivetti A, Rudin M, Pietrantonj CD, Demichelli V. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines in elderly people: a systematic review. *Lancet* DOL 1016/50140-.
- Kilby J.M., Enron J.J. Mechanisms of disease. Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry. *New Engl J Med*, 2003;48: 2228-38.
- Lantzsch G, Binder H, Heerklotz H, Wendling M. Klose W. Surface areas and packing constraints in POPC/C12EO_n membranes; a time-resolved fluorescence study. *Biophys Chem* , 1996; 58: 289-02.
- McLean LR, Phillips M.C. Mechanism of cholesterol and phosphatidylcholine exchange or transfer between unilamellar vesicles. *Biochemistry* 1981;12: 2893-90.
- Mitchell J, Tiddy, GJT, Waring, L, Bostock T, McDonald M.P. Phase behavior of polyoxyethylene surfactants with water. *J. Chem. Soc. Faraday Trans* 1983, 79:975-1000.
- Moscona A. NANASE Inhibitors for influenza. *New. Engl. J. Med.* 2005;353;1363-73..
- Mukherjee S, Chattopadhyay A., Membrane organization at low cholesterol concentrations: a study using 7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl -labelled cholesterol. *Biochemistry*.1996; 35:1311-22.
- Ono A, Freed E.O. Plasma membrane rafts play a critical role in HIV-1 assembly and release. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 13925-30.
- Pelet T, Miazza V, Mottet G, Roux L. High throughput screening assay for negative single stranded rna virus polymerase inhibitors. *J Virol Methods* 2005;128:1-2;:29-36.
- Rockstroh JK Mauss S. Clinical perspective of fusion inhibitors for treatment of HIV. 2004. *J. Antimicrobial Chemotherapy* 54:700-702...
- Roberts P. Resistance of vaccinia virus to inactivation by solvent/detergent treatment

atment of blood products. *Biologicals* 200;28:29-32.

Rou sso I, Mixon MB, Chen BK, Kim PS. Palmitoylation of the HIV-1 envelope glyco protein is critical for viral infectivity. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97:1353-25.

Scheiffele P, Rietveld A, Wilk T, Simons K. Influenza viruses select ordered lip id domains during budding from the plasma membrane, *J Biol Chem* , 1999; 274:2038 -44.

Simons K, Eehalt R. Cholesterol, lipid rafts and disease, *J Clin Invest* 2002;11 0:597-03.

Small DJ. Role of ABC transporters in secretion of cholesterol from liver to bil e. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 100:4-7.

Steck TL, Straus JH, Wallach D.F.H. A model for the behavior of vesicles in dens ity gradients: Implications for fractionation. *Biochim Biophys. Acta* 1970;.23:38 5-93.

Steck TL, Ye J, Lange Yvonne . Probing red cell membrane cholesterol movement wi th cyclodextrin; *Biophys J* 2000,;283:2118-25.

Tashima KT, Carpenter C.C.J. Fusion Inhibition - A major but costly step forward in the treatment of HIV-1. *N Engl J Med.* 2003; 348:2249-22.

Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM,, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterizat ion of the 1918 influenza virus polymerase genes. 2005. *Nature* 437/6:889-93.

Tumpey, TT, Basler CF, Aguillar PV, Zeng H,Solorzano A, Swayne DE, Cox NJ, Katz JM,

Characterization of the reconstructed 1918 spanish influenza pandemic virus. 200 5. *Science*;310:77-80.

Varanelli C, Kumar S. Wallach D.F.H. 1996, Method of inhibiting viral reproducti on using nonphospholipid vesicles. U.S. Patent 5,561,062

Wallach DFH1990a,. Lipid vesicles formed of surfactants and steroids. U.S. Pate nt 4,197,951.

Wallach DFH. 1990b Paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent 4,911,928.

Wallach DFH. 1992, Paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent 5,147,723.

Wallach DFH. 1996, Paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent 5,474,848

Wallach DFH., 1997, Hybrid paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent 5,628,936.

Wallach DFH, Varanelli C., 1997, Lipid vesicle fusion as a method of transmittin g a biologically active material to a cell. U.S .Patent 5,665,380.

Wallach DFH1990a,. Lipid vesicles formed of surfactants and steroids. U.S. Pate nt 4,197,951.

Wallach DFH. 1990b Paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent, 4,911,928.

Wallach DFH. 1992, Paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent 5,147,723.

Wallach DFH. 1996, Paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent 5,474,848

Wallach DFH., 1997, Hybrid paucilamellar lipid vesicles. U.S. Patent 5,628,936.

Wallach DFH, Varanelli C., 1997, Lipid vesicle fusion as a method of transmittin g a biologically active material to a cell. U.S .Patent 5,665,380.

Wallach DFH New non-phospholipid vesicles (nPLV) and their use in cosmetic, the rapeutic and prophylactic applications, 2001. European Patent application 1, 304 ,103, PCT, US extension 2005.

Working committee of the World Health organisation (Who). Avian influenza (H5N1) infection

Wallach DFH New non-phospholipid vesicles (nPLV) and their use in cosmetic, the rapeutic and prophylactic applications, 2001. European Patent application 1, 304 ,103, PCT, US extension 2005.

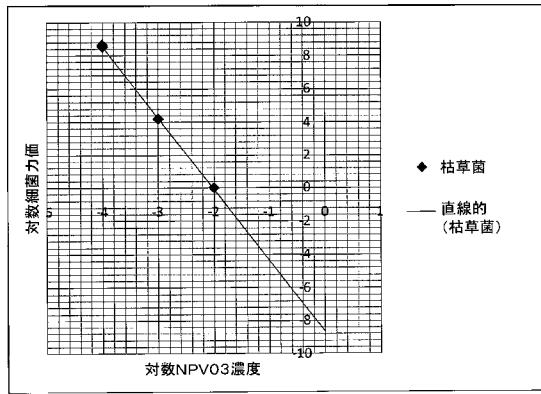
10

20

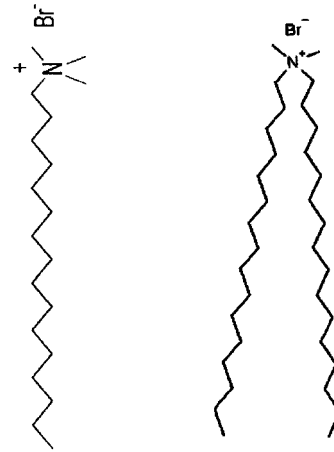
30

40

【図 2】



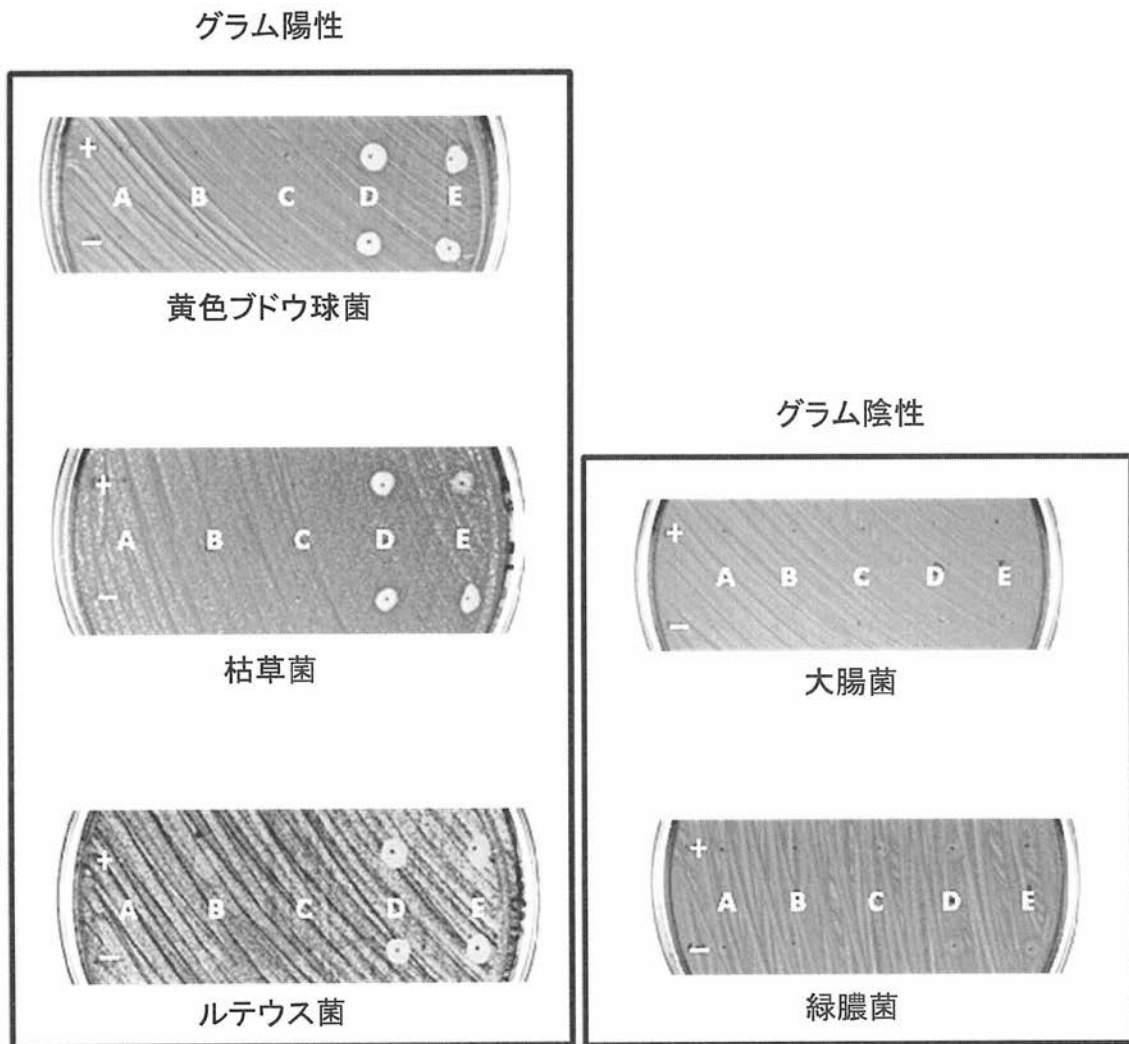
【図 3】



HTAB

DHAB

【図 1】



【手続補正書】

【提出日】平成22年9月14日(2010.9.14)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

グラム陽性菌を不活性化させるための方法であって、

前記グラム陽性菌を、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) を含む組成物に接触させることを含み、

前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含み、

前記脂質のモル比が約 0 . 0 1 % ~ 約 1 % である、方法。

【請求項 2】

請求項 1 において、

前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B)、臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B)、塩化セトリモニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、コカミドプロピルベタイン (C A P B)、臭化テトラ - n - ブチルアンモニウム (T B A B) からなる群から選択される、方法。

【請求項 3】

請求項 2 において、

前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (HTAB) 又は臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (DHAB) である、方法。

【請求項 4】

請求項 1 において、

前記脂質のモル比が約 0.1% ~ 約 0.5% である、方法。

【請求項 5】

請求項 4 において、

前記脂質のモル比が約 0.3% である、方法。

【請求項 6】

請求項 1 又は 2 において、

前記 nPLV がコレステロールを含まない、方法。

【請求項 7】

請求項 1 又は 2 において、

前記組成物がシクロデキストリン又はその誘導体を含む、方法。

【請求項 8】

請求項 1 又は 2 において、

前記 nPLV がユニラメラ、少重膜又はマルチラメラ (多重層) である、方法。

【請求項 9】

請求項 7 において、

前記シクロデキストリンが、 α -シクロデキストリン、 β -シクロデキストリン、 γ -シクロデキストリン及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、方法。

【請求項 10】

請求項 7 において、

前記誘導体が、ジメチル- β -シクロデキストリン、トリメチル- β -シクロデキストリン、ランダムメチル化 β -シクロデキストリン、ヒドロキシエチル- β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、3-ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、2,3-ジヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシイソプロピル- β -シクロデキストリン、スルホプロピルエーテル- β -シクロデキストリン、グルコシル- β -シクロデキストリン、マルトシル- β -シクロデキストリン及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、方法。

【請求項 11】

請求項 1 において、

前記グラム陽性菌が、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、ブドウ状球菌、コアグラーゼ陰性、肺炎連鎖球菌、ビリダンス連鎖球菌、B 群の連鎖球菌、化膿連鎖球菌、腸球菌、炭疽菌、セレウス菌、ピフィズス菌、乳酸杆菌、リステリア菌、ノカルジア菌、ロドコッカス・エクイ菌、豚丹毒菌、ジフテリア菌、座瘡プロピオンバクテリウム、放線菌、ボツリヌス菌、クロストリジウムディフィシレ、ウェルシュ菌、破傷風菌、モビルンカス属菌及びペプトストレプトコッカス属菌からなる群から選択される、方法。

【請求項 12】

対象物の抗菌活性を増加させるための方法であって、

前記対象物を、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (nPLV) を含む組成物に接触させることを含み、

前記 nPLV が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含み、

前記脂質のモル比が約 0.01% ~ 約 1% である、方法。

【請求項 13】

請求項 12 において、

前記 nPLV が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含む、方法。

【請求項 14】

請求項 1 2 において、

前記対象物が、医療用機器、医療用装置及び病院用品からなる群から選択される、方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 2 において、

前記対象物が、表面、手術用手袋、手術器具及びマスクからなる群から選択される、方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 2 において、

前記組成物が水性懸濁液又はヒドロゲル内の分散液である、方法。

【請求項 1 7】

患者のグラム陽性菌関連疾患を治療、抑制又は予防するための方法であって、

治療有効量の、少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) を含む医薬組成物を、必要に応じて 1 種以上の製薬学的に許容し得る担体と共に前記患者に投与することを含み、

前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含み、

前記脂質のモル比が約 0 . 0 1 % ~ 約 1 % である、

前記医薬組成物を前記グラム陽性菌に近接する位置に送達する方法。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 において、

前記患者が哺乳動物である、方法。

【請求項 1 9】

請求項 1 7 において、

前記患者がヒトである、方法。

【請求項 2 0】

請求項 1 7 において、

前記前記疾患が感染である、方法。

【請求項 2 1】

請求項 2 0 において、

前記疾患が薬物耐性及び / 又は多剤耐性細菌感染である、方法。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 において、

前記疾患が、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (M R S A)、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌 (M R S E)、メチシリン耐性コアグラエゼ陰性ブドウ球菌 (M R C N S)、バンコマイシン耐性大便連鎖球菌及び / 又はバンコマイシン耐性エンテロコッカスフェシウムの 1 以上によるものである、方法。

【請求項 2 3】

請求項 1 7 において、

前記 n P L V を少なくとも 1 種の他の抗菌剤と共に共投与する、方法。

【請求項 2 4】

請求項 2 3 において、

前記少なくとも 1 種の他の抗菌剤が、アミノグルコシド、 β -ラクタム抗生物質、セファロsporin、マクロライド、各種抗生物質、ペニシリン、テトラサイクリン、抗真菌剤、抗マラリア薬、抗結核薬、抗細菌性、抗らい菌薬、各種抗感染症薬、キノロン、スルホンアミド、尿中抗感染症薬、経鼻抗生物質、点眼抗生物質、点眼抗細菌剤、キノロン点眼剤、スルホンアミド点眼剤、皮膚及び粘膜抗生物質、皮膚及び粘膜抗真菌剤、皮膚及び粘膜抗菌剤、皮膚及び粘膜各種抗感染症薬、皮膚及び粘膜疥癬虫撲滅薬抗疥癬薬及び殺シラミ薬、皮膚及び粘膜抗新生物薬、ニトロフラン及びオキサゾリジノンからなる群から選択される、方法。

【請求項 2 5】

請求項 2 3 において、

前記 n P L V を前記少なくとも 1 種の他の抗菌剤と同時又は順次投与する、方法。

【請求項 2 6】

請求項 1 7 において、

前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含む、方法。

【請求項 2 7】

請求項 2 6 において、前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B)、臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B)、塩化セトリモニウム、塩化セシルトリメチルアンモニウム、塩化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、コカミドプロピルベタイン (C A P B)、臭化テトラ - n - ブチルアンモニウム (T B A B) となる群から選択される、方法。

【請求項 2 8】

請求項 2 7 において、前記脂質が、臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム (H T A B) 又は臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B) である、方法。

【請求項 2 9】

少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、少なくとも 1 種の他の抗菌剤と、製薬学的に許容し得る担体又は希釈剤と、を含む抗菌組成物であって、

前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含み、前記脂質のモル比が約 0 . 0 1 % ~ 約 1 % である、抗菌組成物。

【請求項 3 0】

請求項 2 9 において、少なくとも 1 種のシクロデキストリン又はその誘導体をさらに含む、抗菌組成物。

【請求項 3 1】

製薬学的に許容し得る量の少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、必要に応じて 1 種以上の製薬学的に許容し得る担体と、を含み、グラム陽性菌関連疾患の治療のために使用される医薬組成物であって、

前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含み、前記脂質のモル比が約 0 . 0 1 % ~ 約 1 % である、医薬組成物。

【請求項 3 2】

請求項 3 1 において、

少なくとも 1 種のシクロデキストリン又はその誘導体をさらに含む、医薬組成物。

【請求項 3 3】

患者のグラム陽性菌感染を治療、抑制又は予防するためのキットであって、

少なくとも 1 種の非リン脂質脂質小胞 (n P L V) と、試薬及び / 又は取扱説明書と、を含み、

前記 n P L V が、第 4 級アンモニウム頭部基を含む脂質を含み、前記脂質のモル比が約 0 . 0 1 % ~ 約 1 % である、キット。

【手続補正書】

【提出日】平成 23 年 8 月 15 日 (2011.8.15)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 3】

【図 1】各種グラム陽性及びグラム陰性菌に対する n P L V を含む組成物の抑制作用を示す。P C E : ポリオキシエチレンセチルエーテル、P A : パルミチン酸、H T A B : 臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム、D H A B : 臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム。n P L V を含む組成物はグラム陽性菌を抑制する。図中凡例：「A」は n P L V なし；「B」は n P L V 0 1；「C」は n P V 0 2；「D」は n P L V 0 3；「E」は n P

L V 0 4 ; 「 + 」は 5 m M のヒドロキシ - β - シクロデキストリンあり ; 「 - 」はヒドロキシ - β - シクロデキストリンなし。

【図 2】n P L V 0 3 (9 9 . 9 % P C E 及び 0 . 1 % 臭化ジメチルジヘキサデシルアンモニウム (D H A B)) の最小発育阻止濃度 (M I C) を示す。

【図 3】n P L V 0 3 及び n P L V 0 4 の組成物に使用される第 4 級アンモニウムイオン分子の概略図を示す。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 0 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 0 0】

不活性化アッセイ

細菌を寒天平板培地に固定した後、シクロデキストリンを含むか、シクロデキストリンを含まない n P L V 組成物を培地に添加した。1 0 0 μ L の各組成物を 0 . 5 m g / m L (5 0 m g 総脂質) の濃度で添加した。寒天平板培地内で細菌を 3 7 で一晩培養した。白斑によって増殖が阻害されたことが示された。n P L V の培養品は、それぞれ、「 A 」は n P L V なし ; 「 B 」は n P L V 0 1 ; 「 C 」は n P V 0 2 ; 「 D 」は n P L V 0 3 ; 「 E 」は n P L V 0 4 ; 「 + 」は 5 m M のヒドロキシ - β - シクロデキストリンあり ; 「 - 」はヒドロキシ - β - シクロデキストリンなし ; で示された。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/055242

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A01N33/12 A01N25/28 A61K9/127 A01P1/00

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)

A01N A61K

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, BIOSIS, EMBASE, COMPENDEX, 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.
X	CAMPANHA M T N ET AL: "Interactions between cationic liposomes and bacteria: the physical-chemistry of the bactericidal action" JOURNAL OF LIPID RESEARCH, BETHESDA, MD, US, vol. 40, 1 January 1999 (1999-01-01), pages 1495-1500, XP007911923 ISSN: 0022-2275	1-3,8, 10,13, 33-34
Y	abstract page 1495, column 2, paragraph 2 page 1496, column 1, paragraph 3 table 1 page 1500, column 1, paragraph 2 -/-	1-36

☒ 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.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 February 2010

Date of mailing of the international search report

10/03/2010

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentean 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Molina de Alba, José

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/055242

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/135523 A2 (VIROBLOCK S A [CH]; PELET THIERRY [CH]; WALLACH DONALD F H [CH]) 29 November 2007 (2007-11-29) cited in the application	33-34
Y	page 19, line 14 - line 17 page 20, line 20 - line 28 page 21, line 21 - line 25	1-36
X	EP 0 352 282 A1 (MICRO VESICULAR SYSTEMS [US]) 31 January 1990 (1990-01-31) cited in the application	33
Y	page 5, line 5 - line 10; examples 1-16	1-36
Y	DITIZIO V ET AL: "A liposomal hydrogel for the prevention of bacterial adhesion to catheters" BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 19, no. 20, 1 October 1998 (1998-10-01), pages 1877-1884, XP004161461 ISSN: 0142-9612 abstract	14-18
Y	DATABASE EMBASE ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL; 2007, A. Danion et al.: "Antibacterial activity of contact lenses bearing surface-immobilized layers of insect liposomes loaded with levofloxacin" XP002570513 Database accession no. emb-2007471744 abstract	14-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2009/055242

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007135523 A2	29-11-2007	AU 2007252967 A1	29-11-2007
		CA 2652362 A1	29-11-2007
		CN 101448486 A	03-06-2009
		EA 200802358 A1	28-04-2009
		EP 2023896 A2	18-02-2009
		JP 2009537508 T	29-10-2009
		KR 20090014178 A	06-02-2009
EP 0352282 A1	31-01-1990	AU 605581 B2	17-01-1991
		AU 1541688 A	10-10-1988
		BR 8807410 A	10-04-1990
		CA 1289419 C	24-09-1991
		HU 53279 A2	28-10-1990
		JP 2502094 T	12-07-1990
		JP 2589173 B2	12-03-1997
		NZ 223843 A	26-04-1990
		WO 8806883 A1	22-09-1988
		US 4911928 A	27-03-1990

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 9/127 (2006.01)		A 6 1 K 9/127	
A 6 1 K 47/40 (2006.01)		A 6 1 K 47/40	

(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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 フランク マチュ

フランス国 F - 7 4 8 0 0 ボッツェリエ ル デ クリー 1 0

F ターム(参考) 4C076 AA19 AA20 AA21 CC31 DD09F DD39F DD41 EE39

4C084 AA19 MA02 MA24 NA05 ZB351 ZC751

4C206 AA01 AA02 FA41 MA02 MA05 MA44 NA14 ZB35

4H011 AA02 BA01 BB04 BC18 DA13 DC05 DD07