

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6456897号
(P6456897)

(45) 発行日 平成31年1月23日(2019. 1. 23)

(24) 登録日 平成30年12月28日(2018. 12. 28)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 38/17 (2006. 01)

A 6 1 K 38/17

A 0 1 N 63/00 (2006. 01)

A 0 1 N 63/00

A

A 6 1 P 17/02 (2006. 01)

A 6 1 P 17/02

A 6 1 P 31/04 (2006. 01)

A 6 1 P 31/04

A 6 1 K 35/60 (2006. 01)

A 6 1 K 35/60

請求項の数 8 (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2016-197206 (P2016-197206)

(22) 出願日 平成28年10月5日(2016. 10. 5)

(65) 公開番号 特開2018-58789 (P2018-58789A)

(43) 公開日 平成30年4月12日(2018. 4. 12)

審査請求日 平成30年6月15日(2018. 6. 15)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 000003274

マルハニチロ株式会社

東京都江東区豊洲三丁目2番20号

(74) 代理人 100123788

弁理士 宮崎 昭夫

(74) 代理人 100127454

弁理士 緒方 雅昭

(72) 発明者 江成 宏之

茨城県つくば市和台16-2 マルハニチ

ロ株式会社 中央研究所内

(72) 発明者 庵原 啓司

茨城県つくば市和台16-2 マルハニチ

ロ株式会社 中央研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗菌性及び創傷治癒促進性を有する創傷治癒剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

皮膚の抗菌及び創傷治癒促進のための有効成分として、プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種からなる単一有効成分を含み、

創傷被覆材と、該創傷被覆材に塗布された前記有効成分を有する局所用の被覆剤であることを特徴とする創傷治癒剤。

【請求項 2】

前記創傷被覆材が、滅菌パッド、ガーゼ、海綿被覆材、スポンジ、発泡体、不織布、ポリウレタン、包帯、絆創膏、乾燥シート、乾式不織布シート、凍結乾燥シート、固体ゲルシートから選択される請求項1に記載の創傷治癒剤。

【請求項 3】

プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される1種を単一有効成分として含む請求項1または2に記載の創傷治癒剤。

【請求項 4】

前記創傷被覆材と前記プロタミンの合計量に対して、0.1質量%以上10質量%以下のプロタミンを含む、請求項1乃至3のいずれか1項に記載の創傷治癒剤。

【請求項 5】

皮膚の抗菌及び創傷治癒促進のための有効成分を含む創傷治癒剤の製造における、プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種の、前記創傷治癒剤の単一有効成分としての使用方法であって、

前記創傷治癒剤が、創傷被覆材と、該創傷被覆材に塗布された前記有効成分を有する局所用の被覆剤であることを特徴とする使用方法。

【請求項 6】

前記創傷被覆材が、滅菌パッド、ガーゼ、海綿被覆材、スポンジ、発泡体、不織布、ポリウレタン、包帯、絆創膏、乾燥シート、乾式不織布シート、凍結乾燥シート、固体ゲルシートから選択される請求項 5 に記載の使用方法。

【請求項 7】

プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される 1 種を前記創傷治癒剤の単一有効成分として使用する請求項 5 に記載の使用方法。

10

【請求項 8】

前記創傷治癒剤が、前記創傷被覆材と前記プロタミンの合計量に対して、0.1 質量%以上 10 質量%以下のプロタミンを含む、請求項 5 乃至 7 のいずれか 1 項に記載の使用方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、プロタミンを有効成分とする抗菌性及び創傷治癒促進性を有する創傷治癒剤に関する。

【背景技術】

20

【0002】

創傷においては、感染予防および治癒促進が重要であることから、創傷の治療に関して、上記効能を有した創傷治癒剤が提案されている。

感染予防に効果があり、創傷治療に利用できる組成物として、特許文献 1 には、抗菌剤および EDTA（エチレンジアミン四酢酸）を含み、該抗菌剤はヨウ素および銀イオン含有化合物から選択され、かつ、EDTA は、ジ -、トリ - 及びテトラ - 塩基性塩とされており、pH が 4 ~ 8 である抗菌組成物が開示されている。特許文献 1 には、この抗菌組成物によって創傷において形成されるバイオフィルムを破壊することができることが記載されている。

特許文献 2 には、(a) 硫酸プロタミンおよび (b) 塩化ベンザルコニウム、(a) メタ過ヨウ素酸塩および (b) 5 - フルオロウラシル、(a) メタ過ヨウ素酸塩および (b) クロルヘキシジン、または、(a) 硫酸プロタミンおよび (b) 銀ナノ粒子を含む、微生物バイオフィルムを阻害する組成物や、硫酸プロタミンとビスグアニドを含む、微生物バイオフィルムを阻害または分散する組成物が開示されている。特許文献 2 には、これらの組成物用途として創傷ケアが記載されている。

30

【0003】

治癒促進に効果のある組成物として、特許文献 3 には、血小板由来の血管形成因子および成長因子、ならびにキャリアーを含有する創傷治療用組成物が開示されている。特許文献 4 には、ポリスチレン、並びにアミノ基、カルボキシル基及び硫酸基からなる群より選ばれた表面基で誘導体化されたポリスチレンからなる群より選ばれた材料から製造されるマイクロスフェアからなる創傷治癒促進用の組成物が開示されている。特許文献 4 には、ポリスチレンの誘導体化に用いる表面基を導入するための化合物として、プロタミン、硫酸プロタミン等のプロタミン塩、等が例示されている。

40

【0004】

抗菌作用を有する銀含有化合物については、細胞毒性があることなどが示唆されており、表皮角化細胞が活発に増殖している創部では極力スルファジジン銀は使用すべきではないとの報告が非特許文献 1 にある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

50

【特許文献 1】特開 2 0 1 6 - 4 0 2 9 4 号公報
【特許文献 2】特表 2 0 1 2 - 5 1 5 7 2 6 号公報
【特許文献 3】特表昭 6 2 - 5 0 1 6 2 8 号公報
【特許文献 4】特表 2 0 0 2 - 5 0 2 4 1 3 号公報
【非特許文献】

【 0 0 0 6 】

【非特許文献 1】Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA: Effect of silver on burn wound infection control and healing Review of the literature: Burns, 2007; 33: 139 - 148

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7 】

特許文献 1 に記載の抗菌剤および E D T A を含む抗菌組成物については、抗菌剤による感染予防が期待できるが、その一方で、銀イオン、ヨウ素等の細胞毒性による創傷治癒の阻害や、臓器をはじめとした体内への銀の蓄積などが懸念される。更に、特許文献 1 に記載の抗菌組成物は、複数種の有効成分の組合せからなり、その製造プロセスが煩雑となる場合がある。

特許文献 2 に記載の微生物バイオフィルムを阻害または分散させるための組成物については、バイオフィルム阻害効果が期待できるが、その一方で、複数種の有効成分を含む組成物であるため製造プロセスが煩雑といった問題や、銀ナノ粒子のような金属やメタ過ヨウ素酸塩のような無機材料、あるいはビスグアニド等の殺菌剤を併用することから、これらの併用成分の生体への影響や副作用を考慮する必要があり、その用量や用法が制限される場合があるという課題を有する。

20

【 0 0 0 8 】

特許文献 3 に記載の創傷治療用組成物については、血管形成因子および成長因子をキャリアーに担持しているが、これらの因子は調製過程で取扱いが難しく、調製過程でこれらの因子がキャリアーから失われたり、失活したりする可能性がある。

特許文献 4 に記載のマイクロスフェアからなる組成物については、シュードモナス種による創傷の感染に対する間接的制菌作用が特許文献 4 に示唆されている点で優れている。その一方で、マイクロスフェアの主要構成材料は、コアを形成しているポリスチレンであり、好適な微小サイズのポリスチレン粒子を合成するための特別な工程や製造装置が必要となる。更に、ポリスチレンからなるコアの表面へのアミノ基等の表面基の導入にも、そのための特別な工程や処理装置が必要となる。

30

以上説明した背景技術から、単一の有効成分を含む場合においても、細胞毒性がなく体内への蓄積が無いなどの生体適合性が高く、かつ抗菌性と創傷治癒促進性を有し、より簡便な製造方法や製造装置により製造可能である創傷治癒剤が求められている。

本発明の目的は、生体適合性が高く、かつ抗菌性と創傷治癒促進性を有し、より簡便な製造方法や製造装置により製造可能である単一有効成分を含む創傷治癒剤の提供にも対応することのできる創傷治癒剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

40

【 0 0 0 9 】

従来抗菌性の創傷治癒剤としては、銀を配合したものが市販されており、基材としては不織布、ハイドロコロイド、フォーム材などが利用され、基材分子に銀をイオン結合させたもの、あるいは銀塩、有機銀化合物、銀ナノ結晶などを複合化したものがある。しかしこれらは、細胞毒性があることなどが示唆されており、先に述べたように、表皮角化細胞が活発に増殖している創部では極力スルファジジン銀は使用すべきではないとの報告もある（非特許文献 1）。

また、複数種の成分を有効成分とする治癒剤では、その製造や品質管理、コストの観点から不利であり、単一成分を有効成分とすることは産業面で有効である。

抗菌性と治癒促進性は、細胞活性の観点からは逆の作用で、抗菌性は菌の活性を下げ、

50

治癒促進性はヒトの細胞活性を上げる作用であり、この相反する作用を有する単一の有効成分とすることは、通常想到することは困難な課題である。更に、従来技術では、数多くの有効成分が開示されているが、前述の考えから、単一の有効成分によって、抗菌性と創傷治癒促進性を兼ね備えた創傷治癒剤があるとの考えに基づいて、単一で抗菌性と創傷治癒促進性を兼ね備えた化合物の検索を試みることにについての検討はこれまでなされてこなかった。更には、先行技術文献で開示されている有効成分は非常に沢山あり、これらを一つ一つ動物実験等を行うことは極めて困難なことであった。

【 0 0 1 0 】

本発明者らは、鋭意検討を積み重ねた結果、種々の抗菌物質の中で、プロタミン及びその薬学的に許容される塩において、創傷治癒効果があることを新たに発見し、本発明に到った。プロタミンは、抗菌性を有することは公知の効果であるが、その創傷治癒効果はこれまで知られていない。

10

【 0 0 1 1 】

本発明にかかる創傷治癒剤は、抗菌及び創傷治癒促進のための有効成分として、プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種を含むことを特徴とする。

【 0 0 1 2 】

抗菌及び創傷治癒促進のための有効成分として、プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種を含む本発明にかかる創傷治癒剤を用いることによって、創傷罹患患者に対して、感染を防止し、かつ、創傷治癒促進を図る治療を行うことができる。

20

【 0 0 1 3 】

本発明にかかるプロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種の創傷治癒剤の製造における使用方法は、プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種を前記創傷治癒剤の抗菌及び創傷治癒促進のための有効成分として使用することを特徴とする。

【発明の効果】

【 0 0 1 4 】

創傷治癒促進用の有効成分としてプロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種を含む創傷治癒剤によれば、創傷における抗菌効果および創傷治癒促進効果を得ることができる。プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種は、単一有効成分として創傷治癒剤に配合することができ、このような配合において、抗菌効果および創傷治癒促進効果を得ることが可能であり、生体適合性が高く、創傷治癒剤製造時には有効成分として1種の添加で良いことから産業面でも有効な創傷治癒剤として創傷治癒に利用することが可能である。

30

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 5 】

【図1】治癒試験の結果を平均値±標準誤差で示した図である。図1に示された結果から、対照区（塗布なし）や硫酸銀区と比較して、塩酸プロタミン区と硫酸プロタミン区は創傷治癒促進効果を有することが確認できる。

40

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 6 】

プロタミンは抗菌性を有することが知られており、従来から食品保存料などとして使用されてきた安全性の高い素材である。一方、本発明者が検討を重ねたところ、プロタミンは抗菌性を有するだけでなく、創傷治癒の促進効果も有し、プロタミン成分を単一有効成分として抗菌性を備えた創傷治癒剤の提供が可能であることを新たに見出した。

【 0 0 1 7 】

なお、プロタミン及び/又はその塩を、止血目的や剤形自体の保存目的等で創傷治癒（促進）剤の中に含有させることも考えられるが、この場合であっても、プロタミン及び/又はその塩が抗菌及び創傷治癒用の有効成分であることには変わりはない。

50

【 0 0 1 8 】

更に、プロタミンはタンパク質素材であることから、銀のように臓器をはじめとした体内への蓄積の心配が無い、安全性の高い素材である。

また、特性や構造が大きく異なる複数種の化合物を有効成分として組み合わせた医薬組成物では、その製造の際に、各有効成分毎に必要なとされる品質管理や、複数の有効成分の混合工程などを要するため、単一有効成分を用いる製造プロセスと比較して、製造プロセスがより複雑となる。プロタミン及びその薬学的に許容される塩は、食品保存料用の材料としての安全性に関する知見が蓄積されており、その品質管理方法が既に確立されている。

プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択された少なくとも1種の化合物を単一有効成分として用いて創傷治癒剤を製造する場合には、創傷治癒剤の製造プロセスを簡素化することが可能である。

プロタミンの薬学的に許容される塩は、プロタミンからなる部分が目的とする効果を発揮することにおいて作用効果がプロタミンと共通しており、プロタミン及びその薬学的に許容される塩を創傷治癒剤の有効成分として利用する際にこれらを同等に取り扱うことができる。従って、プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択した複数種の化合物を有効成分として用いて創傷治癒剤を製造する場合にも、これらを分子構造及び作用効果の点において同じ化合物として取り扱うことができ、創傷治癒剤の製造プロセスを簡素化することが可能である。

【 0 0 1 9 】

本発明にかかる創傷治癒剤は、プロタミン及びその薬学的に許容される塩の少なくとも1種を有効成分として含む。

本発明にかかる創傷治癒剤は、抗菌性と創傷治癒促進効果を有するプロタミン及びその薬学的に許容される塩の少なくとも1種を利用する利点を損なわない範囲内で、他の抗菌剤や創傷治癒剤を有効成分として併用することができる。

製造プロセスの簡易化、有効成分の安全性の観点からは、有効成分がプロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種からなる、すなわち、有効成分がプロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種からなる単一有効成分である創傷治癒剤が好ましく、プロタミン及びその薬学的に許容される塩の1種を単一有効成分とする創傷治癒剤がより好ましい。

本発明にかかる創傷治癒剤においては、プロタミン及びその薬学的に許容される塩から選択される少なくとも1種（以下、「プロタミン成分」という）の有する抗菌性による感染予防と創傷治癒促進効果の両方により創傷治癒促進効果を得ることができる。

創傷とは損傷、外傷ともいい、身体表面、粘膜面、臓器表面などが外的刺激によって断裂し、開放部をもつものをいう。

本発明により治癒が促進される創傷の種類は特に限定されない。治療対象となる創傷としては、切創、割創、刺創、挫創、裂創、挫創、剥皮創、デコルマン、擦過傷、挫滅創、挫傷、銃創、爆傷、咬創、擦創、爆創、咬創、打撲傷、外傷創、褥瘡、手術創、熱傷創、銃撃傷創、皮下膿瘍、縫合された裂傷、汚染された裂傷、うっ血性潰瘍、下腿潰瘍、足部潰瘍、静脈性潰瘍、糖尿病性潰瘍、虚血性潰瘍、圧迫潰瘍、急性・慢性の創傷、開放性損傷、非開放性損傷などを挙げることができる。

また、本発明により創傷治癒が促進される治療対象は特に限定されない。治療対象としては、例えば、ヒト、イヌ、ネコ、ラット、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、イルカなど、ヒト、愛玩動物、商用動物、家畜、競技用動物などを挙げることができる。

【 0 0 2 0 】

プロタミンは、サケ、ニシン、マス等の魚類の精子核中にDNAと結合したヌクレオプロタミンとして存在する強塩基性蛋白質であり、原料の違いによって、例えばサルミン（サケ）、クルペイン（ニシン）等と称され、それぞれ若干構造も異なる。何れのプロタミンも有効成分として使用可能である。

プロタミン誘導体としての、プロタミンの薬学的に許容される塩としては、酸または塩

10

20

30

40

50

基との塩が利用できる。塩を得るための酸としては、無機酸及び有機酸の少なくとも１種を用いることができる。また、塩を得るための塩基としては、無機塩基及び有機塩基の少なくとも１種を用いることができる。

プロタミンの塩としては、以下に挙げる塩形成用の酸または塩基を用いて得られる薬学的に許容される塩を好ましく用いることができる。

酸付加塩形成用の無機酸及び有機酸としては、例えば、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、メタンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸及びフマル酸等のジカルボン酸、酢酸、プロピオン酸及び酪酸等のモノカルボン酸等を挙げる事ができる。

塩形成用の無機塩基としては、例えば、アンモニア、ナトリウム、リチウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム等の水酸化物、炭酸塩及び重炭酸塩等を挙げる事ができる。

塩形成用の有機塩基としては、例えば、メチルアミン、ジメチルアミン、トリエチルアミン等のモノ - 、ジ - 及びトリ - アルキルアミン、モノ - 、ジ - 及びトリ - ヒドロキシアルキルアミン、グアニジン、N - メチルグルコサミン等を挙げる事ができる。

これらのプロタミン誘導体は必要に応じて単独であるいはこれらの２種以上を組み合わせ使用することができる。

【 0 0 2 1 】

本発明にかかる創傷治癒剤の有する抗菌効果の対象となる菌は特に限定されない。本発明にかかる創傷治癒剤による抗菌効果の対象となる菌としては、例えば、細菌、カビ、酵母などが挙げられる。細菌としては、グラム陽性菌でもグラム陰性菌でもよい。細菌としては、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、大腸菌、枯草菌、サルモネラ菌、乳酸菌等を挙げる事ができる。カビとしてはカンジダ菌等を挙げる事ができる。酵母としては、産膜酵母等を挙げる事ができる。

【 0 0 2 2 】

本発明にかかる創傷治癒剤は、有効成分として、プロタミン成分をそのまま用いて、あるいは、賦形剤、担体、希釈剤などを適宜用いて、目的とする適用形態に応じた剤形に製剤化することができる。本発明にかかる創傷治癒剤の製造のために、有効成分としてプロタミン成分のみを用いることができ、更にプロタミン成分を単一有効成分として用いることができる。

利用し得る剤形としては、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、経口液剤、シロップ剤、経口ゼリー剤、口腔用錠剤、口腔用スプレー剤、口腔用半固形剤、含嗽剤、注射剤、吸入剤、点眼剤、眼軟膏剤、点耳剤、点鼻剤、坐剤、直腸用半固形剤、注腸剤、腔錠、腔用坐剤、外用散剤、外用固形剤、外用液剤などを挙げる事ができる。

粉末状等のプロタミン成分をそのまま利用して、外用、すなわち局所用の塗布剤として利用することができる。例えば、基材にプロタミン成分を塗布して創傷部位に貼付して創傷治癒剤として利用することができる。基材としては、例えば、ガーゼ、海綿被覆材、スポンジ、発泡体、不織布、ポリウレタン、包帯、絆創膏、親水性創傷被覆材や密封性創傷被覆材などの創傷被覆材、乾燥シート、乾式不織布シート、凍結乾燥シート、固体ゲルシートなどのゲルシート、ハイドロゲルや粘性ゲルなどのゲルを用いることができる。また、例えば、プロタミン成分を有効成分として含む、軟膏、ローション、クリーム、リンス、浸漬液などの局所用塗布剤を創傷部位に塗布しても良い。局所用の塗布剤は、例えば、スプレーやアプリケーションャーを使用して創傷部位に塗布可能な組成や形態とすることもできる。

【 0 0 2 3 】

本発明にかかる創傷治癒剤に含まれるプロタミン成分の配合量や、創傷部位への適用量は、治療対象や治療目的に応じて適宜選択され、特に限定されない。例えば、基材としての仁丹メディケア滅菌パッドT（森下仁丹社製）にプロタミンを塗布して創傷部位に貼付して使用する際には、基材とプロタミンの合計量に対して、プロタミンの量は、0 . 0 0 1 質量 % 以上で 5 0 質量 % 以下が好ましい。プロタミンの量の下限値は、0 . 0 1 質量 %

以上がより好ましく、0.1質量%以上がさらに好ましく、0.125質量%以上が最も好ましい。プロタミンの量の上限値は、10質量%以下がより好ましく、2質量%以下がさらに好ましく、1.25質量%以下が最も好ましい。0.125質量%～1.25質量%の範囲のプロタミンの塗布量を選択することが好ましく、この塗布量の範囲中では、1.25質量%が更に好ましい。軟膏、ローション、クリーム、リンス、浸漬液などの局所用塗布剤についても、同様の塗布量となるように、これらの塗布剤に含まれるプロタミン成分の濃度を選択することができる。

【0024】

プロタミン成分に対して滅菌処理を行うことができる。滅菌処理は、製剤化工程への供給前、製剤化工程中及び製剤化工程後の少なくとも1つの段階でプロタミン成分に対して行うことができる。プロタミンの滅菌処理に利用する滅菌方法はプロタミン成分が有する目的とする効果を損なわず、かつ、目的とする滅菌効果が得られる方法であれば、特に限定されない。滅菌方法としては、線滅菌、放射線滅菌、酸化エチレンガス（EOG）滅菌、ガス滅菌、電子線滅菌、オートクレーブ滅菌、蒸気滅菌、乾熱滅菌、火炎滅菌、煮沸消毒、高周波滅菌、プラズマ滅菌、紫外線滅菌、溶液状として利用する場合のフィルター濾過などが挙げられる。

【0025】

抗菌性及び創傷治癒促進効果の両方を有するプロタミン成分を、抗菌性による感染予防と創傷治癒促進のための有効成分として用いることで、金属などの他の有効成分の併用を必要とすることなく、プロタミン成分単独で抗菌効果および創傷治癒促進効果を得ることができる。その結果、プロタミン成分を単一有効成分として創傷治癒剤を製造することができる。プロタミン成分を単一有効成分とする創傷治癒剤においては、銀等の金属成分とそのほかの成分の併用等、複数の異なる化合物を有効成分として併用する場合と比較して、銀等の金属の体内蓄積・毒性等が軽い点で安全性の向上を図ることができ、また単一有効成分のみを使えばよい点で製造プロセスの簡素化が可能となる。

抗菌性とは、抗菌作用、抗菌効果ともいい、細菌の生育や増殖を阻止したり、細菌を死滅させたりする効果をいう。創傷においては、例えば黄色ブドウ球菌などの細菌が感染症を引き起こすことが懸念される。プロタミン成分は抗菌性を有することから、創傷部位にプロタミン成分を適用することで、創傷部位の感染を予防することが可能である。

プロタミン成分の抗菌性は、「JIS L 1902:2015 繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果」（ISO 20743）における抗菌活性値から評価することができ、対象素材の抗菌活性値が2.0以上であれば、抗菌性を有すると判断できる。プロタミン成分については、黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性値が2.0以上となる。

【0026】

プロタミン成分は抗菌性だけでなく、創傷治癒促進効果も有する。

創傷治癒促進効果とは、創傷をより迅速に回復させる効果をいう。創傷を迅速に回復させることで、創傷による生活の質の低下の期間を短縮することなどが可能となる。プロタミン成分は、創傷治癒促進効果を有することから、創傷治癒剤を使用しない場合と比較して、プロタミン成分の適用によって、より迅速に創傷を回復させることが可能である。また、抗菌性を有する硫酸銀と比較して、プロタミン成分は、より迅速に創傷を回復させることが可能であることから、本発明において利用されるプロタミン成分の創傷治癒促進効果は、単に抗菌性に起因するものではなく、プロタミン成分に特有の効果である。

プロタミン成分の創傷治癒促進効果は、マウスやラットなどの動物を用いた治癒試験から評価することができる。具体的には、創傷治癒剤を使用しない対照区と比較して、プロタミン成分を使用した試験区で創傷の回復が早まれば、創傷治癒促進効果を有すると判断できる。本発明者らによる治癒試験を用いた検討によれば、プロタミン成分は、創傷治癒剤を使用しない対照区と比較して、創傷の回復を早めることが可能であることが確認された。

【実施例】

【0027】

本発明を以下の実施例によって具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

【実施例 1】 抗菌性試験

標準布を $0.40 \text{ g} \pm 0.05 \text{ g}$ の質量で、適切な大きさに裁断した。滅菌水（対照試料）および各試験試料溶液（塩酸プロタミン；マルハニチロ社製、硫酸プロタミン；マルハニチロ社製、硫酸銀；和光純薬工業社製）を準備し、フィルター濾過した。フィルター濾過した各溶液を0.125質量%、1.25質量%になるように標準布にそれぞれ個々に塗布して3種の試験片を作製した後、オートクレーブ滅菌済の別々のバイアル瓶に入れた。

黄色ブドウ球菌菌液をそれぞれの試験片上に0.2 mLずつ数箇所に分けて接種した。接種直後に一部のバイアル瓶に20 mLの洗い出し用生理食塩水を添加し、黄色ブドウ球菌を洗い出した後、生菌数を測定した。洗い出さなかった残りのバイアル瓶を 37 ± 2 で18~24時間培養した。培養後、バイアル瓶に20 mLの洗い出し用生理食塩水を添加し、黄色ブドウ球菌を洗い出した後、生菌数を測定した。式（1）に従って、抗菌活性値を計算し、抗菌活性値2.0以上を抗菌性ありと判断した。

$$A = (\log C_t - \log C_0) - (\log T_t - \log T_0) \cdots \text{式 (1)}$$

A：抗菌活性値

$\log C_t$ ：18 - 24時間培養後の対照試料の生菌数の算術平均の常用対数

$\log C_0$ ：接種直後の対照試料の生菌数の算術平均の常用対数

$\log T_t$ ：18 - 24時間培養後の試験試料の生菌数の算術平均の常用対数

$\log T_0$ ：接種直後の試験試料の生菌数の算術平均の常用対数

得られた結果を表1に示す。塩酸プロタミン、硫酸プロタミン、硫酸銀のいずれも抗菌活性値2.0以上であった。このことから、塩酸プロタミン、硫酸プロタミン、硫酸銀のいずれも抗菌性が認められた。

【0028】

【表1】

表1

試験試料	濃度	抗菌活性値
塩酸プロタミン	0.125 質量%	≥ 2.0
	1.25 質量%	≥ 2.0
硫酸プロタミン	0.125 質量%	≥ 2.0
	1.25 質量%	≥ 2.0
硫酸銀	0.125 質量%	≥ 2.0
	1.25 質量%	≥ 2.0

【0029】

【実施例 2】 治癒試験

基材（仁丹メディケア滅菌パッドT、森下仁丹社製）を用意し、各基材にフィルター濾過済の各試験試料溶液（塩酸プロタミン、硫酸プロタミン、硫酸銀）がそれぞれ1.25質量%となるように均質に塗布した。8週齢のBrIHan：WIST@Jcl (GALAS) ラット（各試験区4匹）の片側側腹部に2.5 cm×2.5 cmの大きさの皮膚全層切開創を作製した。

各試験試料溶液をそれぞれ個々に塗布した基材（試験区）もしくは、何も塗布していない基材（対照区）を貼付した後、ドレッシング材（3Mテガダームスームスフィルムロール、スリーエムジャパン社製）で固定した。基材及びドレッシング材は毎日1回交換し、交換の際に切開創をデジタルカメラで撮影した後、画像解析ソフト（ImageJ, National Institutes of Health, USA）を用いて創傷面積を求めた。切開創作製日（観察0日目）の創傷面積を100%として、各観察日における創傷の面積割合（%）を求めた。

得られた結果を図1に示す。観察1～4日目において、対照区及び試験区としての硫酸銀区と比較して、試験区としての塩酸プロタミン区及び硫酸プロタミン区で創傷治癒が促

進する効果が認められた。硫酸銀、塩酸プロタミン、硫酸プロタミンはいずれも抗菌性を有するが、創傷治癒促進効果は塩酸プロタミン、硫酸プロタミンのみで認められたことから、プロタミンの創傷治癒促進効果は、単に抗菌性に起因するものではなく、プロタミン成分の抗菌性とは別に得られる特有の効果であった。

【 0 0 3 0 】

【実施例 3】 滅菌処理の検討

塩酸プロタミン粉末、硫酸プロタミン粉末をそれぞれ滅菌バッグ（IDS両用ロールバッグ、ホギメディカル社製）に封入した。対照区（未処理）は滅菌処理を行わず、残りをEOG滅菌処理（EOG濃度20%、滅菌時間4時間、温度55℃）およびγ線滅菌処理（30 kGy）した。標準布を0.40 g±0.05 gの質量で、適切な大きさに裁断した。各試験粉末（塩酸プロタミン、硫酸プロタミン）を滅菌水に溶解した後、フィルター濾過した。フィルター濾過した各試験溶液を0.125質量%又は1.25質量%になるように標準布に塗布して試験片を作製した後、オートクレーブ滅菌済の別々のバイアル瓶に入れた。黄色ブドウ球菌菌液を試験片上に0.2 mLずつ数箇所に分けて接種した。接種直後に一部のバイアル瓶に20 mLの洗い出し用生理食塩水を添加し、黄色ブドウ球菌を洗い出した後、生菌数を測定した。洗い出さなかった残りのバイアル瓶を37℃±2℃で18～24時間培養した。培養後、バイアル瓶に20 mLの洗い出し用生理食塩水を添加し、黄色ブドウ球菌を洗い出した後、生菌数を測定した。式（1）に従って、抗菌活性値を計算し、抗菌活性値2.0以上を抗菌性ありと判断した。

得られた結果を表2に示す。EOG滅菌処理及びγ線滅菌処理を行った塩酸プロタミン、硫酸プロタミンはいずれも抗菌活性値が2.0以上であり、塩酸プロタミン、硫酸プロタミンは滅菌処理を行っても抗菌性が失われないことを確認した。

【 0 0 3 1 】

【表 2】

表 2

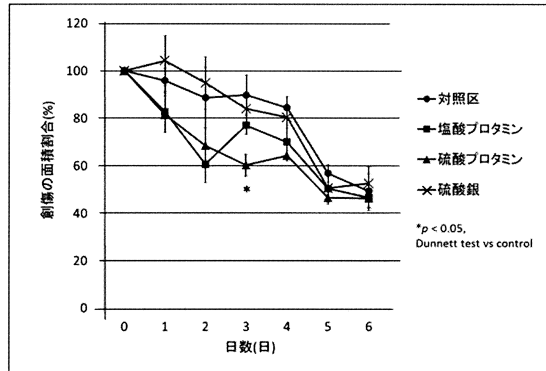
試験試料	濃度	処理	抗菌活性値
塩酸プロタミン	1.25 質量%	未処理	≥2.0
		EOG 滅菌	≥2.0
		γ線滅菌	≥2.0
硫酸プロタミン	1.25 質量%	未処理	≥2.0
		EOG 滅菌	≥2.0
		γ線滅菌	≥2.0

【産業上の利用可能性】

【 0 0 3 2 】

本発明によれば、プロタミン成分単独でも抗菌効果および創傷治癒促進効果を得ることができ、プロタミン成分を単一有効成分として含む創傷治癒剤を提供することができる。

【図 1】



フロントページの続き

(72)発明者 鎌田 彰

茨城県つくば市和台16-2 マルハニチロ株式会社 中央研究所内

(72)発明者 小泉 大輔

茨城県つくば市和台16-2 マルハニチロ株式会社 中央研究所内

審査官 渡部 正博

(56)参考文献 特開昭61-253065(JP,A)

国際公開第2010/110067(WO,A1)

J Hard Tissue Biol, 2015年, Vol.24, No.1, p.91-98

木村全孝、ほか8名、皮膚欠損ラットに対するDMXによる創傷治癒の免疫組織化学的研究, Jpn Pharmacol Ther, 2014年, Vol.42, No.3, p203-210, 特にAbstract, p204左欄第1段落

REIMONDEZ-TROITINO, Sonia, et al., Polymeric nanocapsules: a potential new therapy for corneal wound healing, Drug Deliv and Transl Res, 2016年 7月 8日, Vol.6, p708-721, Abstract, Figs 5,6

高林勇気、ほか11名, Skin Surg, 2015年, Vol.24, No.1, p66, 演題P8

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00 - 38/58

A61K 35/00 - 35/768

A01P 3/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)