

(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2018-530618
(P2018-530618A)

(43) 公表日 平成30年10月18日(2018.10.18)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 38/44 (2006.01)	A 61 K 38/44	4 C 076
A61P 17/02 (2006.01)	A 61 P 17/02	4 C 084
A61P 31/04 (2006.01)	A 61 P 31/04	4 C 086
A61P 43/00 (2006.01)	A 61 P 43/00	1 2 1
A61K 9/70 (2006.01)	A 61 K 9/70	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-538944 (P2018-538944)	(71) 出願人	518129802 シスタジエニックス ウンド マネージメント, リミテッド Systagenix Wound Management, Limited
(86) (22) 出願日	平成28年10月14日 (2016.10.14)		
(85) 翻訳文提出日	平成30年6月7日 (2018.6.7)		
(86) 國際出願番号	PCT/EP2016/074817		
(87) 國際公開番号	W02017/064311		
(87) 國際公開日	平成29年4月20日 (2017.4.20)		
(31) 優先権主張番号	1518348.6	(74) 代理人	110001302 特許業務法人北青山インターナショナル
(32) 優先日	平成27年10月16日 (2015.10.16)	(72) 発明者	ブーディロン, ケイティ イギリス ヨークシャー ピーディー23 3アールエックス, ガーディアン, シー /オー シスタジエニックス 最終頁に続く
(33) 優先権主張国	英國 (GB)		

(54) 【発明の名称】オキシドレダクターゼ酵素を含む組成物及びその抗菌的使用

(57) 【要約】

病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防において使用するための、オキシドレダクターゼ酵素と、その酵素の基質とを含む組成物である。本組成物は、創傷治癒の促進において使用するために、創傷被覆材中に組み込むことができる。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

病原性細菌の集団によるバイオフィルムの形成を処置又は予防する方法において使用するための、オキシドレダクターゼ酵素と、前記酵素の基質とを含む組成物であって、前記方法が、前記組成物を患者に投与することを含むことを特徴とする、組成物。

【請求項 2】

請求項 2 に記載の組成物において、前記オキシドレダクターゼ酵素がグルコースオキシダーゼであり、前記基質がグルコースであることを特徴とする、組成物。

【請求項 3】

請求項 1 又は請求項 2 に記載の組成物において、前記病原性細菌の集団が、緑膿菌 (Pseudomonas aeruginosa)、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) 及び / 又は表皮ブドウ球菌 (Staphylococcus epidermidis) を含むことを特徴とする、組成物。 10

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の組成物において、前記病原性細菌の集団が、緑膿菌 (Pseudomonas aeruginosa) を含むことを特徴とする、組成物。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物において、前記組成物が、ラクトペルオキシダーゼを含まないことを特徴とする、組成物。 20

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物において、前記組成物が、酵素と、基質と、薬学的に許容される担体とからなることを特徴とする、組成物。

【請求項 7】

病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防において使用するための装飾被覆材であって、前記創傷被覆材が、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項で定義された組成物を含むことを特徴とする、創傷被覆材。

【請求項 8】

表面上の病原性細菌バイオフィルムの形成を予防する、又は表面から病原性細菌バイオフィルムを除去する方法であって、オキシドレダクターゼ酵素と、前記酵素の基質とを含む組成物を、前記表面に投与するステップを含むことを特徴とする、方法。 30

【請求項 9】

請求項 8 に記載の方法において、エクスピボ又はインビトロで実施されることを特徴とする、方法。

【請求項 10】

請求項 8 に記載の方法において、インビボで実施されることを特徴とする、方法。

【請求項 11】

病原性細菌の集団による表面上のバイオフィルム形成の処置又は予防のための方法であって、オキシドレダクターゼ酵素と、基質とを含む組成物の治療的量を前記表面へ投与するステップを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 12】

病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防のための方法であって、オキシドレダクターゼ酵素と、基質とを含む組成物の治療的量を、必要とする患者に投与するステップを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 13】

請求項 8 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法において、前記オキシドレダクターゼ酵素がグルコースオキシダーゼであり、前記基質がグルコースであることを特徴とする、方法。

【請求項 14】

請求項 8 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法において、前記病原性細菌の集団が、緑膿

10

20

30

40

50

菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 及び / 又は表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) を含むことを特徴とする、方法。

【請求項 15】

請求項 8 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法において、前記病原性細菌の集団が、綠膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) を含むことを特徴とする、方法。

【請求項 16】

請求項 8 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法において、前記組成物が、ラクトペルオキシダーゼを含まないことを特徴とする、方法。

【請求項 17】

請求項 8 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法において、前記組成物が、酵素と、基質と、薬学的に許容される担体とからなることを特徴とする、方法。

【請求項 18】

請求項 8 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法において、前記組成物が、前記患者の創傷に投与されることを特徴とする、方法。

【請求項 19】

病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防のための方法であって、オキシドレダクターゼ酵素と、前記酵素の基質と、薬学的に許容される担体とからなる組成物の治療的量を、必要とする患者に投与するステップを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 20】

病原性細菌の集団によるバイオフィルムの形成を処置又は予防するために、創傷を処置する方法であって、オキシドレダクターゼ酵素と、前記酵素の基質と、任意選択的に薬学的に許容される担体とを含む組成物を、前記創傷の部位に投与するステップを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 21】

請求項 20 に記載の方法において、前記組成物を組み込む創傷被覆材を適用するステップを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 22】

請求項 21 に記載の方法において、前記創傷被覆材が、前記組成物を含むフォーム又はガーゼを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 23】

請求項 20 ~ 22 のいずれか一項に記載の方法において、前記酵素及び基質が、別個の成分として、任意選択的に、創傷被覆材の別個の層で投与されることを特徴とする、方法。

【請求項 24】

請求項 20 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法において、バイオフィルムを形成する病原性細菌の集団を含む創傷、又はバイオフィルムを形成する病原性細菌の集団による感染の危険にさらされている創傷を特定する先行ステップを含むことを特徴とする、方法。

【請求項 25】

請求項 20 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法において、前記創傷が慢性創傷であることを特徴とする、方法。

【請求項 26】

請求項 20 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法において、前記創傷を処置する前記方法が、陰圧閉鎖療法を更に含むことを特徴とする、方法。

【請求項 27】

本明細書に実質的に記載される方法、組成物又は使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、病原性細菌バイオフィルムの処置において有用な組成物に関する。

10

20

30

40

50

【背景技術】

【0002】

バイオフィルムは、分泌ポリマーでそれら自体を取り囲み、協調された多細胞挙動で三次元の微生物群集を形成する、表面に接着する微生物の集合体である。これらの複雑な群集を形成するための細菌の能力は、宿主防御の活動を妨害し、バイオフィルム集団を備えた病原体に対する処置は、抗菌処置に対する耐性を示すことが多いと信じられている。

【0003】

細菌バイオフィルムは、虫歯、囊胞性線維症患者の肺における緑膿菌 (Pseudomonas) 感染症、及び人工心臓弁上で成長するバイオフィルムに起因する心内膜炎が含まれる様々な医学的状態に関連することが知られている。バイオフィルムがまた、創傷治癒の遅延、特に慢性創傷における遅延に寄与し得るという証拠が増えてきている。

10

【0004】

体内の微生物感染症のうちの 60 ~ 80 % が、自由浮遊する細菌と対照的に、バイオフィルムとして成長する細菌によって引き起こされると推定されている。

【0005】

バイオフィルムは、創傷を含む大部分の表面上で成長することができ、炎症を誘発し、それによって創傷治癒を遅延させると考えられている。

【0006】

栄養細菌に対して抗菌効果を実証している組成物もまた、同じ細菌によって形成されたバイオフィルムに対して、多くの場合有効ではないことは十分に確立されている。これは、抗生物質、及び銀、ヨウ素並びに蜂蜜などの広域スペクトルの防腐剤の両方にとっても事実である (Saginur et al. 2006; Antimicrob Agents and Chemother 50 (1) 55 - 61)。

20

【発明の概要】

【0007】

病原性細菌バイオフィルムの効果的な処置に対する継続する要求がある。

【0008】

オキシドレダクターゼ酵素と、この酵素の基質とを含む組成物、及びそのような組成物に関する方法又は使用が本明細書に記載される。オキシドレダクターゼ酵素と、この酵素の基質とを含む組成物は、病原性細菌の集団によるバイオフィルムの形成を処置又は予防するために、例えば、表面上の病原性細菌バイオフィルムの形成を低減若しくは逆転させるために、又は病原性細菌バイオフィルムを表面から除去するために使用することができる。したがって、このような組成物の投与若しくは適用による、バイオフィルム形成の処置又は予防方法が記載される。本組成物の使用は、患者の身体内又は患者の身体上での（例えば、創傷の部位での）バイオフィルムの形成を処置又は予防するための防腐剤であってもよく、若しくは無生物の中又はその上（例えば、医療装置上）でのバイオフィルムの形成を処置又は予防するための消毒剤であってもよい。

30

【0009】

一態様において、患者の身体内又は患者の身体上で病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防において使用するための、オキシドレダクターゼ酵素と、この酵素の基質とを含む組成物が開示される。

40

【0010】

バイオフィルムの形成には、バイオフィルムの構築及び／又はバイオフィルム様成長が含まれる。

【0011】

本組成物は、バイオフィルムの形成を処置又は予防するための、酵素及び基質の治療有効量を含む。

【0012】

一実施形態では、本組成物は、ラクトペルオキシダーゼを含まない。

【0013】

50

本組成物は、オキシドレダクターゼ酵素と、この酵素の基質と、薬学的に許容される担体とからなることができる。

【0014】

使用時に、本組成物は、例えば創傷滲出液によって水和されることができ、これは、酵素が酵素基質を代謝して、過酸化水素を生成するプロセスを支援する。例えば、グルコースオキシダーゼは、グルコースを代謝して、過酸化水素を生成する。

【0015】

通常、本明細書に記載される方法及び使用は、酵素及びその基質の両方を適用若しくは投与することを含むであろう。しかしながら、処置される部位において、この酵素の適切な基質が存在するか、又は存在することが予想される場合には、酵素が単独で適用若しくは投与されてもよく、酵素は処置される適用部位又は表面においてその基質と組み合わせてもよい。

10

【0016】

本組成物は、当業者によって、未処置バイオフィルムに対して統計的に有意な減少と見なされるバイオフィルムの形成における減少を引き起こすことによって、バイオフィルムの形成を処置する。有意な減少は、少なくとも 110 g_{10} 単位のバイオフィルム総生菌数における $1 -$ 減少である。バイオフィルムの形成における減少は、少なくとも 2 、少なくとも 3 、少なくとも 4 、又は少なくとも 510 g_{10} 単位のバイオフィルム総生菌数における $1 -$ 減少とすることもできる。

20

【0017】

好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はグルコースオキシダーゼであり、基質はグルコースである。グルコースは蜂蜜として提供され得る。蜂蜜のグルコース含量は、 100 g 当たり 20 g を超えることができ、例えば、 100 g 当たり $25\text{ g} \sim 40\text{ g}$ である。

【0018】

更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はフルクトースオキシダーゼであり、基質はフルクトースである。更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はヘキソースオキシダーゼであり、基質はヘキソース糖である。更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はコレステロールオキシダーゼであり、基質はコレステロールである。更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はガラクトースオキシダーゼであり、基質はガラクトースである。更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はピラノースオキシダーゼであり、基質はピラノースである。更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はコリンオキシダーゼであり、基質はコリンである。更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はピルビン酸オキシダーゼであり、基質はピルビン酸である。更に好みの実施形態では、オキシドレダクターゼ酵素はグリコール酸オキシダーゼであり、基質はグリコール酸である。

30

【0019】

オキシドレダクターゼ酵素とそれらの対応する基質との混合物も使用することができる。例えば、グルコースオキシダーゼ、グルコース、フルクトースオキシダーゼ、及びフルクトースを使用することができる。

40

【0020】

本組成物は、実質的に中性のpHとすることができます。

【0021】

更なる実施形態では、pHは、 $4.5 \sim 6.5$ とすることができます、例えば、pH $4.5 \sim 5.5$ である。

【0022】

本組成物は、イオン性銀、ヨウ素、抗生物質、Prontosan（登録商標）、PHMB、クロルヘキシジン、銅、又は界面活性剤などの他の抗菌処置、若しくは治癒を促進する活性成分（酸化再生セルロース、抗酸化剤、又は抗炎症薬など）と組み合わせることができます。

50

【0023】

オキシドレダクターゼ酵素は、0.2U/mL ~ 60.0U/mL、好ましくは少なくとも1U/mL、少なくとも2U/mL、少なくとも6U/mL、少なくとも10U/mL、又は少なくとも15U/mL、例えば2U/mL ~ 20U/mLの濃度で使用することができる。

【0024】

基質は、10 ~ 85重量(w/w)%、好ましくは少なくとも20重量%、例えば、少なくとも30重量%、又は少なくとも40重量%の濃度で使用することができる。

【0025】

本組成物は、任意の種類の病原細菌によって形成されるバイオフィルムを処置又は予防するために使用することができる。病原性細菌は、ヒト及び/又は動物に対して感染性である細菌である。細菌は、シュードモナス属(*Pseudomonas*)、ブドウ球菌属(*Staphylococcus*)連鎖球菌属(*Streptococcus*)、サルモネラ属(*Salmonella*)、大腸菌属(*Escherichia*)、クレビシエラ属(*Klebsiella*)、バチルス属(*Bacillus*)、クロストリジウム属(*Clostridium*)、カンピロバクター属(*Campylobacter*)、カブノサイトファーガ属(*Capnocytophaga*)、プロテウス属(*Proteus*)、シゲラ属(*Shigella*)、バクテロイデス属(*Bacteroides*)、プレボテラ属(*Prevotella*)、フソバクテリウム属(*Fusobacterium*)、アエロモナス属(*Aeromonas*)、及びアシネットバクター属(*Acinetobacter*)からなる群から選択され得る。

10

20

30

【0026】

好ましい実施形態では、本明細書で言及される細菌の集団は、緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)を含むか、又はこれからなる。更に好ましい実施形態では、本明細書で言及される細菌の集団は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(*methicillin resistant S. aureus*)(*MRSA*)を含める黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)を含むか、又はこれらからなる。更に好ましい実施形態では、本明細書で言及される細菌の集団は、表皮ブドウ球菌(*Staphylococcus epidermidis*)を含むか、又はこれからなる。更に好ましい実施形態では、本明細書で言及される細菌の集団は、緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)と黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)との組み合わせを含むか、又はこれからなる。

30

【0027】

バイオフィルムは、表面創傷部上、カテーテルなどの医療装置上、及び病院の通気口などの外部表面上に形成することができる。本明細書に開示される組成物は、これらの表面を含めるいかなる種類の表面上のバイオフィルムも処置するために使用することができる。

【0028】

本明細書に開示される組成物は、前記表面のうちの1つに適用するのに好適な任意の形態とすることができます。好ましい実施形態では、本組成物は局所投与に好適な形態であり、例えば、軟膏、クリーム、ゲル、液剤、又は経皮パッチの形態である。

40

【0029】

本明細書に開示される組成物は、基質及び酵素に加えて、1つ以上の薬学的に許容される担体を含むか、又はこれらからなる。好ましい実施形態では、担体は、局所送達用に好適である。

【0030】

本組成物は、創傷の表面へ直接塗布するための液剤、半固体若しくは固体組成物とすることができるか、又は組成物は、創傷被覆フォーム、ガーゼ又はフィルムなどの固体の創傷接触層の表面に塗布され、若しくはその中に組み込まれる。好ましくは、創傷被覆組成

50

物は、0.2U/mL～60.0U/mLの酵素と、10～85重量%の基質とを、創傷への局所塗布用の1つ以上の従来の薬学的担体と組み合わせて含む流体又はゲルである。

【0031】

好適な担体には、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシピロピルメチルセルロース、及びこれらの混合物が含まれるセルロース誘導体を含有するヒドロゲル；並びにポリアクリル酸（カルボポール）を含有するヒドロゲル、局所用医薬製剤に使用されるクリーム／軟膏、例えば、セトマクロゴール乳化軟膏、アルギン酸塩などの増粘剤、ベンジルアルコールなどの防腐剤、リン酸水素二ナトリウム／リン酸二水素ナトリウムなどのpHを制御するための緩衝液、塩化ナトリウムなどの浸透圧を調整するための薬剤、精製水、及びEDTAなどの安定剤が挙げられる。

10

【0032】

本明細書に開示される実施形態は、緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)を含む病原性細菌の集団によって創傷内のバイオフィルム形成の処置又は予防において使用するための、グルコースオキシダーゼ、グルコース、及び薬学的に許容される担体からなる組成物である。

【0033】

更なる実施形態は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(*methicillin resistant S. aureus*)を含める黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)を含む病原性細菌の集団によって創傷内のバイオフィルム形成の処置又は予防において使用するための、グルコースオキシダーゼ、グルコース、及び薬学的に許容される担体からなる組成物である。

20

【0034】

本明細書に開示される組成物は、少なくとも1日1回、例えば、1日2回、処置領域に投与することができる。この処置は、少なくとも1週間、例えば、少なくとも2週間、継続することができる。

【0035】

更なる態様は、病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防において使用するための、本明細書に開示された組成物を含む創傷被覆材に関する。

30

【0036】

本明細書に開示される組成物は、創傷被覆材として使用するためのフォームに組み込むことができる。創傷被覆材は、ヒドロポリマーフォーム混合物（例えば、*Systage nix*によって製造された*Tie11e*（登録商標））、コラーゲン及び酸化再生セルロースを含む凍結乾燥複合材（例えば、*Systagenix*によって製造された*Proromogran*（登録商標））、又はシリコーン被覆材（例えば、*Systagenix*によって製造された*Adaptic Touch*（登録商標））とすることができます。

【0037】

フォームは、創傷液の良好な透過性を可能にする網状連続気泡ポリウレタン若しくはポリエーテルフォームであり得る。使用されている1つのこのようなフォーム材料は、テキサス州サンアントニオ(San Antonio)の*Kinetic Concepts, Inc.*(KCI)から入手可能な*V.A.C.*(登録商標)*Granufoam*(商標)被覆材である。*Granufoam*(商標)被覆材料の網状気孔は、約400～600ミクロンの範囲にある。*Granufoam*(商標)被覆材料よりも高い、又は低い密度（より小さな気孔サイズ）を有する材料は、場合によっては望ましいことがある。

40

【0038】

フォーム材料はまた、材料の組み合わせ又は積層であってもよく、例えば、親水性フォームの第1の層が、疎水性フォームの第2の層に隣接して配設され、フォームを形成してもよい。フォームはまた、その後、その最初の厚さの約半分より小さい厚さにフェルト状にされる網状フォームであってもよい。

【0039】

50

オキシドレダクターゼ酵素及び基質は、酵素と基質とが互いに物理的に分離されるよう に、創傷被覆材に組み込まれ得る。例えば、これは、オキシドレダクターゼ酵素を被覆材 の 1 つの層に含ませて、基質を別の層に含ませることによって、達成することができる。被 覆材が、例えば創傷滲出液によって水和されるとき、オキシドレダクターゼ酵素は、基 質の代謝を開始して、過酸化水素を生成することができる。

【 0 0 4 0 】

シート又は層状形態の創傷被覆組成物は、例えば、約 1 cm² ~ 約 400 cm²、特に 約 2 cm² ~ 約 100 cm² の面積を有することができる。シートの坪量は、通常、約 1 0 0 g / m² ~ 約 5 0 0 0 g / m²、例えば、約 4 0 0 g / m² ~ 約 2 0 0 0 g / m² で ある。組成物のシートは、被覆材の活性層を形成するであろう。

10

【 0 0 4 1 】

被覆材における前記活性層は、通常は、使用時での創傷接触層であるが、いくつかの実 施形態では、これは、液体透過性表面シートによって創傷から分離され得る。好ましくは、 活性層の面積は、約 1 cm² ~ 約 400 cm²、より好ましくは、約 4 cm² ~ 約 10 0 cm² である。

【 0 0 4 2 】

創傷被覆材は、組成物の活性層から本質的になってもよく、この場合、被覆材は、通常、 好適な二次被覆材と併せて使用されるであろう。他の実施形態では、創傷被覆材は、活性層の創傷対面側に対向する活性層を超えて延びる基材シートを含む。好ましくは、基材 シートは、幅 1 mm ~ 50 mm、好ましくは 5 mm ~ 20 mm の辺縁部が、活性層の周り に延びて、いわゆる島状被覆材を形成するように、活性層よりも大きい。このような場合、 基材シートは、好ましくは、少なくともその辺縁部において医療グレードの感圧接着剤 で被覆される。

20

【 0 0 4 3 】

好ましくは、基材シートは、実質的に液体不透過性である。基材シートは、半透性である ことが好ましい。すなわち、基材シートは、好ましくは、水蒸気に対しては透過性であるが、 液状水又は創傷滲出液に対して透過性ではない。好ましくは、基材シートは、微生物不透過性 でもある。

【 0 0 4 4 】

基材シートを形成するのに好適なポリマーには、GB-A-1280631号明細書に 開示されるものなどの、ポリウレタン及びポリアルコキシアルキルアクリレート並びにメ タクリレートが挙げられる。好ましくは、基材シートは、主として独立気泡である高密度 ブロックポリウレタンフォームの連続層を含む。接着剤層(存在する場合)は、透湿性で あるべきか、及び/又は水蒸気のそれらの通過を可能にするべきである。接着剤層は、連 続透湿性であることが好ましく、この種の感圧接着剤層は、通常、島状型創傷被覆材に使 用される。ポリウレタン系感圧接着剤が好ましい。

30

【 0 0 4 5 】

創傷被覆材は、特に、被覆材が、滲出性創傷上で使用するためのものである場合、活性 層と基材層との間に吸収層を更に含んでもよい。任意の吸収層は、ガーゼ、不織布、超吸 収体、ヒドロゲル及びこれらの混合物が含まれる、創傷治癒術において創傷液、血清又は 血液を吸収するために通常使用される層のいずれかであってもよい。

40

【 0 0 4 6 】

取り外し可能なカバーシートは、被覆材の創傷に面する表面を保護し得る。カバーシートは、通常、可撓性熱可塑性材料から形成される。好適な材料には、ポリエステル及びポ リオレフィンが挙げられる。好ましくは、カバーシートの接着剤に面する表面は、剥離面 である。すなわち、カバーシートの取り外しを補助するために、基材シート上の活性層及 び接着剤に弱く接着しているだけの表面である。例えば、カバーシートは、フルオロポリ マーなどの比接着性プラスチックから形成されてもよく、又はこれに、シリコーン又はフルオロポリマー剥離コーティングなどの剥離コーティングが施されてもよい。

【 0 0 4 7 】

50

本明細書に開示される創傷被覆材は、バイオフィルムの形成が起こり得る広範囲の創傷の種類、例えば、急性又は慢性創傷を処置するために使用することができる。

【0048】

本明細書で使用される場合、「創傷」という用語は、皮膚における破損を意味する。創傷の例には、皮膚潰瘍（例えば、床擦れ、糖尿病性潰瘍及び下肢潰瘍）、熱傷、外科的創傷及び擦過傷が挙げられる。創傷は、例えば、慢性、急性、外傷性、亜急性、裂創、中間層熱傷、潰瘍（糖尿病性、床擦れ又は静脈不全潰瘍など）、皮弁性若しくは移植片性のものであってもよい。

【0049】

慢性創傷の場合、被覆材は、少なくとも1時間、少なくとも6時間、及び少なくとも12時間の期間にわたって慢性創傷に適用され得る。処置は、被覆材が適宜交換されて、数日間、1、2、3週間、又はそれ以上延長されてもよい。

10

【0050】

創傷は、非感染性とすることができます、この場合、被覆材は感染を防止する。あるいは、創傷は感染している場合があり、創傷被覆材は、バイオフィルムの形成を処置することによって感染症を処置又は低減する。

【0051】

本組成物は、陰圧閉鎖療法と併せて使用することができる。例えば、本組成物は、陰圧閉鎖療法でも処置されることになる創傷に直接適用することができるか、又は本組成物は、陰圧閉鎖療法に真空で使用されるべきである創傷被覆材中に組み込むことができる。

20

【0052】

創傷被覆材は無菌包装内にパッケージされ、線照射などの日常的な方法を使用して滅菌されるであろう。

【0053】

更なる態様は、病原性細菌バイオフィルム（病原性細菌の集団によって形成されたバイオフィルムである）の形成を予防し、又は病原性バイオフィルムを表面から除去するエクスピボ若しくはインビボでの方法に關し、本方法は、オキシドレダクターゼ酵素と、その酵素の基質とを含む組成物を前記表面に投与することを含む。

【0054】

エクスピボでの方法では、本組成物は、例えば、医療装置を、装置の使用の前に、本組成物で部分的に又は完全に被覆することによって、医療装置上のバイオフィルムの形成を予防するために使用することができる。

30

【0055】

更なる態様は、オキシドレダクターゼ酵素と、基質とを含む組成物の治療的量を、それを必要としている患者に投与することを含む、病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防のための方法に関する。

【0056】

更なる態様は、オキシドレダクターゼ酵素と、基質と、薬学的に許容される担体とからなる組成物の治療的量を、それを必要としている患者に投与することを含む、病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防のための方法に関する。

40

【0057】

更なる態様は、オキシドレダクターゼ酵素と、基質とを含む創傷被覆材を創傷部位に適用することによる、創傷内の病原性細菌の集団によるバイオフィルム形成の処置又は予防の方法に関する。

【0058】

方法は、バイオフィルムを含有する創傷、又はバイオフィルムを形成する細菌による感染の危険にさらされている創傷を特定することと、本発明の組成物を創傷に適用することによって、創傷を処置することとを含んでもよい。

【0059】

本組成物は、オキシドレダクターゼ酵素及び基質の混合物として適用されてもよく、又

50

はこれらの2つの成分は、別個に、例えば、2つの溶液として適用されてもよい。酵素及び基質は、任意選択的に、組み合わされた調製物として、創傷被覆材の別個の成分として、又は二液系溶液として、同時に投与されてもよい。

【0060】

本発明の組成物は、上述したように、創傷被覆材に組み込まれてもよい。したがって、組成物を組み込んだフォーム又はガーゼなどの創傷被覆材を介して、組成物を適用することが便利であり得る。更なる態様は、本明細書に開示される組成物を製造する方法に関する。本組成物は、任意の好適なプロセスの方法によって製造され得る。例えば、オキシドレダクターゼ酵素及び酵素の基質の本明細書に開示される組成物は、本明細書にまた記載されるように、薬学的に許容される担体と混合することができる。

10

【0061】

本明細書に開示される組成物を含むキットも企図される。本キットは、組成物を含む容器と、バイオフィルムの形成を処置又は予防するための組成物の使用説明書とを含むことができる。酵素及び基質は、キット内の別個の容器に及び／又は別個の溶液中に提供されてもよい。

【0062】

本明細書に開示される、バイオフィルムを「処置する」又は「予防する」とは、バイオフィルム内の微生物の殺傷及び／若しくは微生物の成長の阻害、並びに／又は表面上のバイオフィルムの形成若しくは成長の予防的阻止を含む、表面からのバイオフィルムの低減又は排除を指す。

20

【0063】

細菌バイオフィルムの処置又は予防は、本明細書の実施例に例示するように実験的に決定され得る。組成物のバイオフィルムに及ぼす効果は、以下のステップを含む方法によって決定されてもよい。

- a) 細菌培養物を提供するステップと、
- b) 対照及び試験培養ウェルのそれぞれの無菌ディスクを、細菌培養物からの接種材料で接種するステップと、
- c) 組成物を試験培養ウェルに添加するステップと、
- d) 試験及び対照培養ウェルを、細菌がバイオフィルムを形成する条件下でインキュベートするステップと、
- e) 試験及び対照培養ウェルのそれぞれからのディスク上の細菌の数又は濃度を決定するステップであって、対照ウェルと比べて試験ウェル中のより少ない数又はより低い濃度が、本組成物が細菌によるバイオフィルム形成の処置又は予防において好適であることを示す、決定するステップである。

30

【0064】

いかなる減少の統計的有意性も決定することができる。上記ステップについての例示的な方法が、実施例に記載されている。

【0065】

本明細書に開示される第2の後続の態様の好ましい特徴は、第1の態様に関するものを準用する。

40

【図面の簡単な説明】

【0066】

本発明は、以下の実施例及び図面を参照することによって、ここで更に説明されるが、これら実施例及び図面は、例示の目的のために提供されているにすぎず、本発明を限定するものとして解釈されるべきではない。以下の図面が参照される。

【0067】

【図1】図1は、24時間経過した緑膿菌(*P. aeruginosa*)バイオフィルムに対して24時間の蜂蜜、グルコースオキシダーゼ及び蜂蜜／グルコースオキシダーゼの暴露の効果を示す。

【図2】図2は、24時間経過した黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)バイオフィルム

50

に対して24時間の蜂蜜、グルコースオキシダーゼ及び蜂蜜／グルコースオキシダーゼの暴露の効果を示す。

【実施例】

【0068】

実施例1 バイオフィルムモデル

方法

T S B 中に増殖させた黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 及び緑膿菌 (*P. aeruginosa*) の静止期培養物を、0.5マクファーランド (McFarland) (c. 1.5 × 10⁸ CFU / mL) に調整し、1:4の比 (1 mL の接種材料を 3 mL の 1.1% バクトペプトンで) 更に希釈した。生菌数を、各接種調製物からとった。24ウェル培養プレート内に収容した無菌ディスク (直径 6 mm × 1.0 mm) を 80 μL の培養物で接種した。次いで、0.2 mL の試験培地を添加し、アッセイプレートをパラフィルムで密閉して、80 rpm で振盪しながら摂氏 37 度で 24 時間インキュベートし、バイオフィルムを形成させた。未使用のウェルに PBS を充填し、湿度を増加させて、蒸発を防止した。

【0069】

24時間のインキュベーション後に、セルロースディスク／バイオフィルムを PBS で濯ぎ、いかなる接着栄養細胞も除去して、150 μL の新鮮な培地に移した。

【0070】

蜂蜜 (グルコースの供給源としての) 及び ProntoSan (登録商標) については、30 μL を各試験ディスクに添加した。

【0071】

グルコースオキシダーゼについては、100 U / mL の原液を以下のように作製した；グルコースオキシダーゼを、100,000 ~ 250,000 U / g 凍結乾燥粉末として供給する。最低濃度 (100,000 U / g) と仮定して、3.5 mg (350 U) を、3.5 mL の DPBS に添加し、100 U / mL の作業溶液を得て、これをフィルター滅菌した。

【0072】

緑膿菌 (*Pseudomonas*) の実験については、作業溶液を PBS 中で希釈して、10 U / mL 溶液を得て、その 30 μL をディスク／バイオフィルムに添加した。

【0073】

黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) の実験については、100 μL 及び 300 μL の原液を、5 mL の容量の PBS 中で希釈して、「低」及び「高」グルコースオキシダーゼ単独溶液を調製して、その 30 μL をディスク／バイオフィルムに添加した。

【0074】

蜂蜜／グルコースオキシダーゼ混合物については、2種の蜂蜜／グルコースオキシダーゼ混合物を試験した：

A - 「低」と称される 2 U / g (2 U / mL) - 5 g の蜂蜜 + 100 μL のグルコースオキシダーゼ原液 (100 U / mL)

B - 「高」と称される 6 U / g (6 U / mL) - 5 g の蜂蜜 + 300 μL のグルコースオキシダーゼ原液 (300 U / mL)

それぞれの 30 μL をディスク／バイオフィルムに添加した。

【0075】

アッセイプレートをパラフィルムで密閉して、80 rpm で振盪しながら、37 度で 24 時間インキュベートして、バイオフィルムを分解させた。未使用のウェルに PBS を充填し、湿度を増加させて、蒸発を防止した。

【0076】

37 度でのインキュベーション (振盪しながら) 後に、ディスク／バイオフィルムを取り出し、665 μL の DE 中和プロス中に 10 分間置き (1:20 希釈)、3 分間激しくボルテックスし、次いで、段階希釈にかけて、マイルス (Miles) 及びミスラ (Mi

10

20

30

40

50

s r a) 法によって、T S A 上で生菌数を計測した (1 : 1 0 の段階希釈、寒天上で 1 0 μ l のスポットを三通り) 。

【 0 0 7 7 】

結果

蜂蜜及びグルコースオキシダーゼの両方を含む組成物は、緑膿菌 (*P. aeruginosa*) 及び黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) の 2 4 時間経過した単一種のバイオフィルムの有意な阻害を実証したが、一方蜂蜜を単独で含む及びグルコースオキシダーゼを単独で含む組成物は、バイオフィルムの阻害を示さなかった。 *ProntoSAN* (登録商標) ゲルは、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) に対しては高度に活性であったが、緑膿菌 (*P. aeruginosa*) バイオフィルムに対してはほとんど活性を有さなかった (図 1 及び 2 を参照) 。

10

【 図 1 】

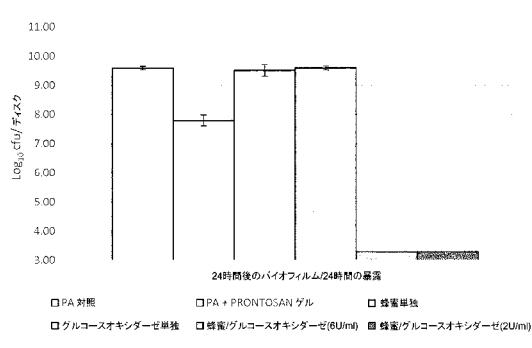


図 1

【 図 2 】

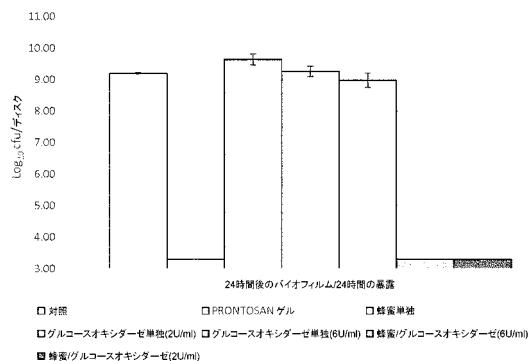


図 2

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/074817

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K38/44 A61P31/04
ADD.

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

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)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2 510 944 A1 (NAT UNIV IRELAND [IE]) 17 October 2012 (2012-10-17) *cf. page 2, section [0001], page 3, section [0013], page 4, sections [0020] to [0031], page 5, sections [0035] and [0036], claims 1,6,9 and 13* -----	1-27
X	WO 01/93875 A1 (PHARMACAL BIOTECHNOLOGIES LLC [US]) 13 December 2001 (2001-12-13) *cf. abstract, page 2, line 2ff, page 8, 2nd para., in combination with 2nd para. at page 16, claims 1 and 10* ----- -/-	1-27

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 application or patent 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

14 December 2016

21/12/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stoltner, Anton

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/074817

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 2009/009156 A2 (LACLEDE INC [US]; PELLICO MICHAEL A [US]) 15 January 2009 (2009-01-15) *cf. abstract, section [0002] at page 1, section [0005] at page 2, sections [0016] and [0017] at page 5, section [0023] at page 6, furthermore section [0046] at pages 13/14 and para. [0048] at page 15, section [0066] at page 20, section [0139] at page 37*</p> <p>-----</p>	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2016/074817

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
EP 2510944	A1 17-10-2012	AU 2012241705 A1	BR 112013026491 A2	CA 2833078 A1	31-10-2013
				CN 103648522 A	06-09-2016
				EP 2510944 A1	18-10-2012
				EP 2696890 A1	19-03-2014
				JP 2014510777 A	17-10-2012
				NZ 616550 A	19-02-2014
				US 2014134213 A1	29-04-2016
				WO 2012140272 A1	15-05-2014
					18-10-2012
WO 0193875	A1 13-12-2001	AU 6542501 A	WO 0193875 A1		17-12-2001
					13-12-2001
WO 2009009156	A2 15-01-2009	AU 2008275542 A1	CA 2692791 A1	EP 2175864 A2	15-01-2009
				JP 5702601 B2	15-04-2010
				JP 2010532788 A	21-04-2010
				JP 2014028821 A	14-10-2010
				KR 20100061441 A	13-02-2014
				US 2011059062 A1	07-06-2010
				US 2016144004 A1	10-03-2011
				WO 2009009156 A2	26-05-2016
					15-01-2009

フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 9/10 (2006.01)	A 6 1 K 9/10	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 31/7004 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1 A 6 1 K 31/7004	

(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,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,C1,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,DJ,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,KW,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

(72)発明者 ウエストモーランド, マシュー

イギリス ヨークシャー ピーディー 2 3 3 アールエックス, ガーグレイヴ, シー / オー システージェニックス

(72)発明者 レーガン, ソフィ

イギリス ヨークシャー ピーディー 2 3 3 アールエックス, ガーグレイヴ, シー / オー システージェニックス

F ターム(参考) 4C076 AA06 AA09 AA12 AA27 AA71 BB31 CC18 CC32 FF02
4C084 AA01 AA02 AA17 BA44 DC23 MA17 MA28 MA32 MA63 NA05
NA14 ZA891 ZA892 ZB351 ZB352 ZC201 ZC202 ZC751 ZC752
4C086 AA01 AA02 EA01 MA02 MA04 MA17 MA28 MA32 MA63 NA05
NA14 ZA89 ZB35 ZC20 ZC75