

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7096599号

(P7096599)

(45)発行日 令和4年7月6日(2022.7.6)

(24)登録日 令和4年6月28日(2022.6.28)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 36/73 (2006.01) A 6 1 K 36/73
 A 6 1 K 36/48 (2006.01) A 6 1 K 36/48
 A 6 1 K 36/61 (2006.01) A 6 1 K 36/61
 A 6 1 K 36/82 (2006.01) A 6 1 K 36/82
 A 6 1 K 36/45 (2006.01) A 6 1 K 36/45

請求項の数 24 (全129頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-545855(P2019-545855)
 (86)(22)出願日 平成29年11月1日(2017.11.1)
 (65)公表番号 特表2020-506218(P2020-506218
 A)
 (43)公表日 令和2年2月27日(2020.2.27)
 (86)国際出願番号 PCT/EP2017/077956
 (87)国際公開番号 WO2018/083115
 (87)国際公開日 平成30年5月11日(2018.5.11)
 審査請求日 令和2年10月20日(2020.10.20)
 (31)優先権主張番号 1660588
 (32)優先日 平成28年11月2日(2016.11.2)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 フランス(FR)
 (31)優先権主張番号 16197217.9
 (32)優先日 平成28年11月4日(2016.11.4)
 最終頁に続く

(73)特許権者 519155181
 アルファノソス・ソシエテ・パール・ア
 クシオン・サンプリフィエ
 ALPHANOSOS S. A. S.
 フランス63200リオン、ゾーヌ・ア
 ンデュストゥリエル・ラ・ヴァレンヌー
 リュ・アンリ・エ・ジルベルト・グディ
 エ20-22番
 (74)代理人 100145403
 弁理士 山尾 憲人
 (74)代理人 100156144
 弁理士 落合 康
 (72)発明者 パスカル・メイエ
 フランス63200リオン、ゾーヌ・ア
 ンデュストゥリエル・ラ・ヴァレンヌー
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤としての薬草組成物の抽出物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、およびArctostaphylos uva-ursiの中から
 選択される少なくとも2つの乾燥植物と、Vitis vinifera var. tinctoria、Eugenia car
 yophyllus、およびDesmodium adscendensの中から選択される少なくとも1つの植物
 とを含む、薬草組成物の抽出物。

【請求項2】

前記薬草組成物が、Achillea millefolium、Acorus calamus、Agrimonia eupatoria
 、Agropyrum repens、Agropyrum repens、Alchemilla vulgaris、Alkanna tincto
 ria、Althaea officinalis、Anethum graveolens、Angelica archangelica、Arbutu
 s unedo、Arnica montana、Artemisia pontica、Artemisia vulgaris、Asparagus
 officinalis、Asparagus officinalis、Asperula odorata、Betula pendula、Borrag
 o officinalis、Buxus sempervirens、Calamintha officinalis、Calendula officina
 lis、Calluna vulgaris、Carum carvi、Cassia angustifolia、Centaurea cyanus、C
 entaurium erythraea、Centella asiatica、Cetraria islandica、Chamaemelum no
 bile、Chamomilla recutita、Chrysanthellum americanum、Cichorium endivia、
 Cichorium intybus、Cinnamomum zeylanicum、Citrus aurantium、Combretum
 micranthum、Crataegus oxyacantha、Cuminum cyminum、Cupressus sempervi
 rens、Curcuma zedoaria、Cynara scolymus、Cytisus scoparius、Desmodium ad
 scendens、Elettaria cardamomum、Eleutherococcus senticosus、Epilobium pa

rviflorum、Erysimum officinale、Eucalyptus globulus、Eugenia caryophyllus、Eupatorium cannabinum、Foeniculum vulgare、Fraxinus excelsior、Fucus vesiculosus、Fumaria officinalis、Galium odoratum、Gentiana lutea、Geranium robertianum、Ginkgo biloba、Glechoma hederacea、Glycyrrhiza glabra、Handroanthus impetiginosus、Harpagophytum procumbens、Hieracium pilosella、Humulus lupulus、Hypericum perforatum、Hyssopus officinalis、Illicium verum、Inula helenium、Juglans regia、Juniperus communis、Lamium album、Lavandula angustifolia、Levisticum officinale、Lippia citriodora、Lotus corniculatus、Lythrum salicaria、Malva sylvestris、Marrubium vulgare、Medicago sativa、Melissa officinalis、Mentha×piperita、Morus nigra、Myrtus communis、Olea europaea、Origanum majorana、Panax ginseng、Papaver rhoeas、Parietaria officinalis、Passiflora incarnata、Petroselinum crispum、Peumus boldus、Phaseolus vulgaris、Pimpinella anisum、Plantago lanceolata、Plantago ovata、Potentilla anserina、Quercus robur、Rhamnus frangula、Rheum palmatum、Rosa centifolia、Rosmarinus officinalis、Rubia tinctorum、Rubus idaeus、Salix alba、Salvia officinalis、Sambucus nigra、Satureja montana、Silybum marianum、Solanum dulcamara、Tabebuia impetiginosa、Tanacetum vulgare、Taraxacum officinalis、Thymus serpyllum、Thymus vulgaris、Tilia tomentosa、Tiliacordata、Trigonella foenum-graecum、Tussilago farfara、Vaccinium myrtillus、Valeriana officinalis、Verbascum thapsus、Verbena officinalis、Viscum album、Zea mays、およびZingiber officinaleの中から選択される1つ以上の追加の乾燥植物をさらに含む、請求項1に記載の抽出物。

10

20

【請求項3】

前記薬草組成物が、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Arctostaphylos uva-ursi、Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Vitis vinifera tinctoria、Desmodium adscendes、Eugenia caryophyllus、およびEucalyptus globulusの中から選択される3～7つの乾燥植物を含み、そのような植物のうちの少なくとも2つが、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、およびArctostaphylos uva-ursiの中から選択され、そのような植物のうちの少なくとも1つが、Vitis vinifera tinctoria、Desmodium adscendes、およびEugenia caryophyllusの中から選択される、請求項1または2に記載の抽出物。

30

【請求項4】

前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、およびArctostaphylos uva-ursiを含む、請求項1～3のいずれかに記載の抽出物。

【請求項5】

前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、およびArctostaphylos uva-ursiを含む、請求項1～4のいずれかに記載の抽出物。

【請求項6】

前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Eugenia caryophyllus、およびArctostaphylos uva-ursiを含む、請求項1～5のいずれかに記載の抽出物。

40

【請求項7】

前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Eucalyptus globulus、Arctostaphylos uva-ursi、Mentha spicata、およびRubia tinctoriumを含む、請求項1～6のいずれかに記載の抽出物。

【請求項8】

50

前記薬草組成物が、以下の16個：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Satureja montana、Valeriana officinalis、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Fucus vesiculosus、Foeniculum vulgare、Arctostaphylos uva-ursi、Arbutus unedo、Eugenia caryophyllus、Juniperus communis、Combretum micranthum、Lippia citrodora、およびTanacetum vulgareの中から選択される少なくとも14個または15個の乾燥植物を含む、請求項1～7のいずれかに記載の抽出物。

【請求項9】

前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Satureja montana、Valeriana officinalis、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Fucus vesiculosus、Foeniculum vulgare、Arctostaphylos uva-ursi、Arbutus unedo、Eugenia caryophyllus、Juniperus communis、Combretum micranthum、およびLippia citrodoraを含む、請求項1～8のいずれかに記載の抽出物。

10

【請求項10】

前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Satureja montana、Valeriana officinalis、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Fucus vesiculosus、Foeniculum vulgare、Arctostaphylos uva-ursi、Arbutus unedo、Eugenia caryophyllus、Juniperus communis、Combretum micranthum、Lippia citrodora、およびTanacetum vulgareを含む、請求項1～9のいずれかに記載の抽出物。

20

【請求項11】

請求項1～10のいずれかに記載の抽出物の凍結乾燥物。

【請求項12】

請求項1～10のいずれかに記載の抽出物、または請求項11に記載の凍結乾燥物を、少なくとも1つの賦形剤とともに活性成分として含む、フードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、動物用組成物もしくは化粧品組成物、または機能性食品、または食品添加物。

【請求項13】

経口または局所投与用に製剤化された、請求項12に記載のフードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、動物用組成物もしくは化粧品組成物、機能性食品、または食品添加物。

30

【請求項14】

抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤として使用するための、請求項1～10のいずれか1項に記載の抽出物、請求項11に記載の凍結乾燥物、または請求項12もしくは13に記載の医薬組成物もしくは動物用組成物。

【請求項15】

微生物感染の治療、予防、または診断において抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤として使用するための、請求項1～10のいずれか1項に記載の抽出物、請求項11に記載の凍結乾燥物、または請求項12もしくは13に記載の医薬組成物もしくは動物用組成物。

40

【請求項16】

前記感染が、Escherichia、Klebsiella、Listeria、Pseudomonas、Salmonella、Streptococcus、Candida、またはStaphylococcusによって引き起こされる、請求項15に記載の抽出物、凍結乾燥物、または医薬組成物もしくは動物用組成物。

【請求項17】

前記感染が、Staphylococcus aureus、Staphylococcus epidermidis、またはStaphylococcus pseudintermediusによって引き起こされる、請求項15に記載の抽出物、凍結乾燥物、または医薬組成物もしくは動物用組成物。

【請求項18】

50

【請求項 19】

10

前記抽出溶媒が、水である、請求項 19 に記載のプロセス。

20

【請求項 22】

【請求項 23】

30

40

50

iva、Melissa officinalis、Mentha×piperita、Morus nigra、Myrtus communis、Olea europaea、Origanum majorana、Panax ginseng、Papaver rhoeas、Parietaria officinalis、Passiflora incarnata、Petroselinum crispum、Peumus boldus、Phaseolus vulgaris、Pimpinella anisum、Plantago lanceolata、Plantago ovata、Potentilla anserina、Quercus robur、Rhamnus frangula、Rheum palmatum、Rosa centifolia、Rosmarinus officinalis、Rubia tinctorum、Rubus idaeus、Salix alba、Salvia officinalis、Sambucus nigra、Satureja montana、Silybum marianum、Solanum dulcamara、Tabebuia impetiginosa、Tanacetum vulgare、Taraxacum officinalis、Thymus serpyllum、Thymus vulgaris、Tilia tomentosa、Tiliacordata、Trigonella foenum-graecum、Tussilago farfara、Vaccinium myrtillus、Valeriana officinalis、Verbascum thapsus、Verbena officinalis、Viscum album、Vitis vinifera var. tinctoria、Zea mays、およびZingiber officinaleの中から選択される1つ以上の追加の乾燥植物をさらに含む、請求項22に記載の薬草組成物。

10

【請求項24】

請求項1～10のいずれかに記載の抽出物、または請求項11に記載の凍結乾燥物を少なくとも1つの賦形剤と混合することを含む、請求項12または13に記載のフードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、動物用組成物もしくは化粧品組成物、機能性食品、または食品添加物を調製するためのプロセス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

本発明は、抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤として有用な少なくとも2つの異なる乾燥植物を含む薬草組成物の抽出物に関する。そのような抽出物において、活性成分が相乗的にそれらの生物学的効果を発揮することも見出された。

【背景技術】

【0002】

あらゆる生体と同様に、植物は、低分子量の化学物質、ポリペプチド、多糖類、酵素を含む多数の化学的実体を含有する。したがって、植物抽出物は、天然に存在する化学的実体のミックスの些細な例である。

【0003】

30

植物から得られる多くの化学的実体のミックスの生物学的および治療的活性は、世俗的な知識であり、多数の原稿にまとめられている（例えば、Encyclopedia of Herbal Medicine: The Definitive Home Reference Guide to 550 Key Herbs with all their Uses as Remedies for Common Ailments Hardcover-November 15, 2000, Andrew Chevallier著を参照されたい）。

【0004】

現代の科学は、多数の生物に対する、植物から得られた化学的実体の組み合わせの生物学的および治療的効果を観察することを可能にする。

【0005】

例えば、Scheggi (Scheggi S. et al, Pharm. Biol. 2016 Jan 5:1-11. [印刷前のEpub]) に、ラットモデルが植物から得られた化学的実体の組み合わせの抑制に対する効果を試験することを可能にする方法が記載されている。

40

【0006】

Zhipeng QU (Oncotarget. 2016 Sep 1 Epub) には、機能ゲノミクスを使用して複方苦参注射液の抗癌分子機構の候補を同定することが可能である方法が示されている。複方苦参注射液 (CKI) は、15年以上にわたり、様々な種類の固形腫瘍を治療するために中国で臨床的に使用されてきた。しかしながら、そのような伝統中国医学 (TCM) 調製物は、植物の二次代謝産物の複雑な混合物であるため、系統的にそれらの基礎となる分子メカニズムを探究することが不可欠である。この研究は、CKIがMCF-7細胞の増殖を阻害し、用量依存的にアポトーシスを誘発することを示す。複数の経路が摂動されてい

50

ることがわかり、細胞周期は、MCF-7細胞におけるCKIの潜在的な一次標的経路として同定された。CKIはまた、p53非依存性機構を介して、MCF-7細胞においてアポトーシスを誘発し得る。加えて、彼らは、新規のlncRNAを同定し、それらの多くがCKI治療に対する応答として発現され得ることを示した。

【0007】

細菌および真菌などの微生物の成長に対する、例えば、植物、真菌、または細菌から得られた化学的実体の混合物の効果は、例えば、(Venkatadri B. et al., Indian J. Pharm. Sci. 2015 Nov-Dec;77(6):788-91) に何度も記載されている。

【0008】

バイオフィーム（表面に付着したポリマーマトリックス中に埋め込まれた微生物の群集）の形成に対する、例えば、植物、真菌、または細菌から得られた化学的実体の組み合わせの効果も、例えば、Suntar (Suntar I. et al., Pharm. Biol. 2016 Jun;54(6):1065-70 Epub 2015 Oct 29) に何度も記載されている。

【0009】

Shimizu M. ら (Antimicrob Agents Chemother. 2001 Nov;45(11):3198-201) は、*Arctostaphylos uva-ursi* の抽出物が、メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* に対する、オキサシリンおよびセフメタゾールなどのβラクタム系抗生物質のMIC（最小阻止濃度）を著しく低減することを見出した。同じグループはまた、有効な化合物を単離し、それをコリラギンと同定した。

【0010】

別のグループ (Denev P. et al., Acta Biochim. Pol. 2014;61(2):359-67. Epub 2014 Jun 18) は、6つの薬用植物—ブラックベリー (*Rubus fruticosus*) の葉、チョークベリー (*Aronia melanocarpa*) の葉、サンザシ (*Crataegus monogyna*) の葉、レディスマントル (*Alchemilla glabra*) の地上部、シモツケ (*Filipendula ulmaria*) の地上部、およびラズベリー (*Rubus idaeus*) の葉からの抽出物の抗酸化、抗菌、および好中球調節活性を研究した。11個のヒト病原体に対する調査された抽出物の抗菌活性は、3つの異なる方法を使用して調査され、この研究の結果は、シモツケおよびブラックベリーの葉の抽出物が、試験された微生物に対して最も高い抗菌効果および最も低い最小阻止濃度 (MIC) を有したと結論付けることができた。

【0011】

Yam T. ら (FEMS Microbiol Lett. 1997 Jul 1;152(1):169-74) は、彼らの研究を、茶 (*Camellia sinensis*) の全粗抽出物および分画粗抽出物、ならびに茶成分の微生物学的活性に集中させた。異なる種類の、かつ様々な供給源からの茶 (*Camellia sinensis*) の水性抽出物が試験され、メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* を含む広範囲の病原菌を阻害することがわかった。茶抽出物は、「1杯の茶」濃度を大きく下回る濃度で、*staphylococci* および *Yersinia enterocolitica* に対して殺菌性であった。活性は、分配クロマトグラフィによって緑茶抽出物から得られた4つの分画のうちの1つに限定された。純粋な茶化合物および密接に関連した化学物質の試験は、緑茶の抽出物の抗菌活性がそのエピガロカテキン、エピガロカテキンガレート、およびエピカテキンガレートの含有量によって説明され得ることを示唆した。紅茶抽出物において、テアフラビンおよびそのガレートは、追加の抗菌活性成分である。

【0012】

国際公開第2009/031041号は、(a) 所与の化学構造式を有する抗菌化合物、(b) lant hionine bacteriocins、茶 [*Camellia sinensis*] 抽出物、ホップ [*Humulus lupulus* L] 抽出物、ブドウ皮抽出物、ブドウ種子抽出物、*Uva Ursi* [*Arctostaphylos uva-ursi*] 抽出物、およびそれらの組み合わせを含む組成物を報告している。

【0013】

国際公開第99/20289号は、濃縮薬草抽出物と充填液とを含む透明な薬草抽出物溶液を報告している。濃縮薬草抽出物は、植物抽出物の長いリストから選択されると報告され、そのようなリストは、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および *Arctostaphylos*

10

20

30

40

50

uva-ursiを含む。しかしながら、国際公開第99／20289号は、特許請求されている薬草溶液のいかなる特定の治療的使用または医学的使用にも言及していない。

【0014】

米国特許第2015/0056255号は、医薬品用途、化粧用途、着色用途、または皮膚科学的用途の製品を報告しており、製品は、繊維状植物生成物の層と、繊維状植物生成物の層に塗布された植物抽出物とを含む。植物抽出物は、1つ以上の植物の1つ以上の特定の部分からの物質を含むと言われており、植物は、植物の長いリストのうちの少なくとも1つから選択される。

【0015】

Azanida NN ("Med. "Aromat. Plants, 4:3, p.1-6, 2015) は、薬用植物抽出物を調製するための最も一般的に使用されている方法の説明および比較を報告する概説を発表した。著者らは、「普遍的な抽出方法は、理想的な方法ではなく、各抽出手順は、植物に特有である」と述べて論文を締めくくった（「結論」の5～7行目を参照されたい）。

【0016】

Selman A. Wachsmanら (Bacteriology, 31, p. 157-164, 1945) は、同じ細菌種の異なる株がストレプトマイシンに対するそれらの耐性において大きく異なり得ることを報告している。ストレプトマイシンの活性を試験するために、そのような論文では異なる *Staphylococcus aureus* 細菌株が使用されている。しかしながら、植物抽出物は同じ株に対して試験されておらず、したがってそのような文献から明確な指針を引き出すことはできない。

【0017】

先の実施例で企図されたような生物学的効果は、標準的な薬物におけるような単一の化学的実体、または抽出物におけるような異なる化学的実体の相乗効果のいずれかによって誘発され得る。場合によっては、生物学的効果は、抽出物に含有される単一の化学的実体にほぼ完全に起因する。この場合、抽出物は、精製された活性の化学的実体によって置き換えられ得る。

【0018】

化学的実体の生物学的効果は、生物を構成する化学的実体との化学反応（変換）によるもの、または生物を構成する化学的実体、特に巨大分子への一時的または永久的な結合によるもののいずれかであり得る。そのような結合は、生物の化学的実体、特に巨大分子の活性を調節し、例えば、酵素の活性を増加または減少させる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0019】

残念なことに、化学的実体は決して、生物に対して単一の効果を有しない。特に、巨大分子成分との相互作用は、非常に多い。実際のところ、天然であろうと化学合成から生じたものでであろうと、いかなる化学的実体も、用量依存的に生物（ヒト、動物、植物、マイクロフローラなど）に有害な影響を及ぼすであろうことが十分に実証されている。最終的には、用量依存的なプラス効果または治療効果もまた観察され得る。化学的実体が産業的に興味深いものであるためには、プラス効果または治療効果を観察するのに必要な用量が、有害な効果が許容できなくなる用量よりも低い必要があることは明らかである。

【0020】

それらの化学組成または構造が異なる化学的実体は、生物を構成する異なる巨大分子と異なる親和性（または結合定数）を有し、したがって異なる作用機序が、観察された有害な影響、プラス効果、および治療効果をもたらす。

【0021】

有害な影響に関与する巨大分子およびプラス効果または治療効果に関与する巨大分子は、多くの場合において異なる。それらの化学組成が異なる化学的実体は、ほとんどの場合、生物を構成する多数の異なる巨大分子と非常に異なる親和性（または結合定数）を有する。

【0022】

10

20

30

40

50

ほとんどの場合、異なる化学的実体は、所与の巨大分子と異なる親和性（または結合定数）を有する。まれに、異なる化学的実体が、プラス効果または治療効果に関与する同じ巨大分子または巨大分子のセットと同様の親和性（または結合定数）を有する。これらの場合の中で、これらの異なる化学的実体が所与の有害な影響に関与する巨大分子と同等の親和性（または結合定数）を有することはまれである。

【0023】

したがって、異なる化学的実体のミックスは、累積的な所与の有害な影響を伴わずに相乗的なプラス効果または治療効果を有し得る。したがって、所与のプラス効果または治療効果のために、ミックス中の各個々の異なる化学的実体に必要な用量は、その所与のプラス効果または治療効果を得るために個々に考慮される化学的実体の各々によって必要とされる用量よりも低い。各異なる化合物によって誘発される有害な影響が異なるか、または異なる巨大分子病因を有する場合、ミックスの各有害な影響は、個々に考慮される化学的実体の有害な影響よりも低くなり、それは、ミックス中でより低い用量で使用されるためである。

10

【0024】

低減された用量の異なる化学的実体の同時投与の相乗的状況が、それらの標準用量で投与される異なる治療効果を有する異なる薬物（化学的実体）の同時投与とは異なることに留意されたい。後者の状況では、薬物相互作用による副作用の増加がよく知られている。副作用の原因の1つは、異なる薬物（化学的実体）の起こり得る化学的相互作用である。相乗的状況では、各化学的実体は、低減された濃度で、したがってはるかに低い化学的相互作用速度で存在する。例示目的で、10個の異なる化学的実体（薬物）の相乗的ミックスが、個々に投与される化学的実体（薬物）に必要とされる濃度（用量）の10分の1で各々が投与されると、薬物間化学反応の速度が、普遍的な質量作用の法則によって暗示されているように100倍低減される。

20

【0025】

したがって、有害な影響を低減し、所与のプラス効果もしくは治療効果を得るために、または所与のレベルの異なる有害な影響を伴って、増大したプラス効果もしくは治療効果を得るために、異なる化学的実体の相乗的ミックスを使用することは、興味深い。実際、いくつかの抽出物が、単離された化学的実体と比較して相乗的な活性を有することが知られている（例えば、Deharo E. et al., Malar. J. 2011 Mar 15;10 Suppl 1:S5を参照されたい）。

30

【0026】

相乗的な化学的実体のミックスからなる天然抽出物は、例えば、単一植物粉末の多数の天然抽出物、または少なくとも2つ以上の異なる植物粉末を含有する薬草組成物を系統的に試験することによって発見され得る。

【課題を解決するための手段】

【0027】

発明の説明

Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、およびArctostaphylos uva-ursiの中から選択される少なくとも2つの乾燥植物を含む薬草組成物の抽出物が、例えば、Escherichia、Klebsiella、Listeria、Pseudomonas、Salmonella、Streptococcus、もしくはStaphylococcusなどの細菌によって、または例えば、Candidaなどの真菌によって引き起こされる微生物感染の治療または予防において、抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤として有用である。そのような抽出物において、活性成分が相乗的にそれらの生物学的効果を発揮することも見出された。

40

【0028】

したがって、本発明の1つの目的は、有効量の、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、およびArctostaphylos uva-ursiから選択される少なくとも2つの乾燥植物を含む薬草組成物の抽出物、前述の抽出物の凍結乾燥物、または前述の抽出物もしくは前述の凍結乾燥物の医薬組成物もしくは動物用組成物を、それを必要としている対象に投与するこ

50

とを含む、上記の微生物感染の治療または予防のための方法である。

【0029】

本発明の別の目的は、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および *Arctostaphylos uva-ursi*の中から選択される少なくとも2つの乾燥植物と、*Vitis vinifera* var. *tinctoria*、*Eugenia caryophyllus*、および *Desmodium adscendens*の中から選択される少なくとも1つの植物とを含む、薬草組成物の抽出物である。

【0030】

前述の薬草組成物は、以下の中から選択される1つ以上の追加の乾燥植物をさらに含んでもよい。

Achillea millefolium、*Acorus calamus*、*Agrimonia eupatoria*、*Agropyrum repens*、*Agropyrum repens*、*Alchemilla vulgaris*、*Alkanna tinctoria*、*Althaea officinalis*、*Anethum graveolens*、*Angelica archangelica*、*Arbutus unedo*、*Arnica montana*、*Artemisia pontica*、*Artemisia vulgaris*、*Asparagus officinalis*、*Asparagus officinalis*、*Asperula odorata*、*Betula pendula*、*Borrago officinalis*、*Buxus sempervirens*、*Calamintha officinalis*、*Calendula officinalis*、*Calluna vulgaris*、*Carum carvi*、*Cassia angustifolia*、*Centaurea cyanus*、*Centaureum erythraea*、*Centella asiatica*、*Cetraria islandica*、*Chamaemelum nobile*、*Chamomilla recutita*、*Chrysanthellum americanum*、*Cichorium endivia*、*Cichorium intybus*、*Cinnamomum zeylanicum*、*Citrus aurantium*、*Combretum micranthum*、*Crataegus oxyacantha*、*Cuminum cyminum*、*Cupressus sempervirens*、*Curcuma zedoaria*、*Cynara scolymus*、*Cytisus scoparius*、*Elettaria cardamomum*、*Eleutherococcus senticosus*、*Epilobium parviflorum*、*Erysimum officinale*、*Eucalyptus globulus*、*Eupatorium cannabinum*、*Foeniculum vulgare*、*Fraxinus excelsior*、*Fucus vesiculosus*、*Fumaria officinalis*、*Galium odoratum*、*Gentiana lutea*、*Geranium robertianum*、*Ginkgo biloba*、*Glechoma hederacea*、*Glycyrrhiza glabra*、*Handroanthus impetiginosus*、*Harpagophytum procumbens*、*Hieracium pilosella*、*Humulus lupulus*、*Hypericum perforatum*、*Hyssopus officinalis*、*Illicium verum*、*Inula helenium*、*Juglans regia*、*Juniperus communis*、*Lamium album*、*Lavandula angustifolia*、*Levisticum officinale*、*Lippia citriodora*、*Lotus corniculatus*、*Lythrum salicaria*、*Malva sylvestris*、*Marrubium vulgare*、*Medicago sativa*、*Melissa officinalis*、*Mentha × piperita*、*Morus nigra*、*Myrtus communis*、*Olea europaea*、*Origanum majorana*、*Panax ginseng*、*Papaver rhoeas*、*Parietaria officinalis*、*Passiflora incarnata*、*Petroselinum crispum*、*Peumus boldus*、*Phaseolus vulgaris*、*Pimpinella anisum*、*Plantago lanceolata*、*Plantago ovata*、*Potentilla anserina*、*Quercus robur*、*Rhamnus frangula*、*Rheum palmatum*、*Rosa centifolia*、*Rosmarinus officinalis*、*Rubia tinctorum*、*Rubus idaeus*、*Salix alba*、*Salvia officinalis*、*Sambucus nigra*、*Satureja montana*、*Silybum marianum*、*Solanum dulcamara*、*Tabebuia impetiginosa*、*Tanacetum vulgare*、*Taraxacum officinalis*、*Thymus serpyllum*、*Thymus vulgaris*、*Tilia tomentosa*、*Tilia cordata*、*Trigonella foenum—graecum*、*Tussilago farfara*、*Vaccinium myrtillus*、*Valeriana officinalis*、*Verbascum thapsus*、*Verbena officinalis*、*Viscum album*、*Zea mays*、および *Zingiber officinale*。

【0031】

本発明のさらなる目的は、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、*Arctostaphylos uva-ursi*、*Rheum palmatum*、*Rosmarinus officinalis*、*Vitis vinifera tinctoria*、*Desmodium adscendes*、*Eugenia caryophyllus*、および *Eucalyptus globulus*の中から選択される3～7つの乾燥植物を含む薬草組成物の抽出物であり、そのような植物のうちの少なくとも2つは、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および *Arctostaphylos uva-ursi*の中から選択され、そのような植物のうちの少なくとも1つは、*Vitis vinifera tinctoria*、*Desmodium adscendes*、および *Eugenia caryophyllus*の中から

10

20

30

40

50

選択される。

【0032】

本発明の別の目的は、以下の乾燥植物：Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、およびArctostaphylos uva-ursiを含む薬草組成物の抽出物である。

【0033】

本発明の別の目的は、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、およびArctostaphylos uva-ursiを含む薬草組成物の抽出物である。

【0034】

本発明の別の目的は、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Eugenia caryophyllus、およびArctostaphylos uva-ursiを含む薬草組成物の抽出物である。

【0035】

本発明のさらなる目的は、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Eucalyptus globulus、Arctostaphylos uva-ursi、Mentha spicata、およびRubia tinctoriumを含む薬草組成物の抽出物である。

【0036】

本発明の別の目的は、以下の16個：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Satureja montana、Valeriana officinalis、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Fucus vesiculosus、Foeniculum vulgare、Arctostaphylos uva-ursi、Arbutus unedo、Eugenia caryophyllus、Juniperus communis、Combretum micranthum、Lippia citrodora、およびTanacetum vulgareの中から選択される少なくとも14個または15個の乾燥植物を含む薬草組成物の抽出物である。

【0037】

本発明の別の目的は、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Satureja montana、Valeriana officinalis、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Fucus vesiculosus、Foeniculum vulgare、Arctostaphylos uva-ursi、Arbutus unedo、Eugenia caryophyllus、Juniperus communis、Combretum micranthum、およびLippia citrodoraを含む薬草組成物の抽出物である。

【0038】

本発明の別の目的は、以下の乾燥植物：Rheum palmatum、Rosmarinus officinalis、Filipendula ulmaria、Satureja montana、Valeriana officinalis、Camellia sinensis、Vitis vinifera tinctoria、Fucus vesiculosus、Foeniculum vulgare、Arctostaphylos uva-ursi、Arbutus unedo、Eugenia caryophyllus、Juniperus communis、Combretum micranthum、Lippia citrodora、およびTanacetum vulgareを含む薬草組成物の抽出物である。

【0039】

対応する抽出物の調製における中間体として、上記の薬草組成物の全ても本発明の目的である。

【0040】

抽出物は、フードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物もしくは化粧品組成物、または機能性食品、または食品添加物の活性成分を構成し得る。

【0041】

本発明の抽出物は、それ自体で、または乾燥もしくは凍結乾燥形態で使用され得る。

【0042】

好適な賦形剤とともに上で定義された抽出物を含有するフードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、動物用組成物、もしくは化粧品組成物、または機能性食品、または食

10

20

30

40

50

品添加物は、本発明のさらなる目的である。

【0043】

そのようなフードサプリメント、栄養補助組成物、医薬品組成物、動物用組成物、もしくは化粧品組成物、または機能性食品、または食品添加物は、例えば、粉末、顆粒、カプセル、丸薬、錠剤（通常放出または制御放出）、チューインガムなどの固体形態、または一般にシロップ、ドロップ、エリキシル剤、溶液、および懸濁液などの液体形態を含む、経口投与に好適な任意の形態で製剤化され得る。

【0044】

さらに、本発明に従った抽出物は、クリーム、軟膏、ゲル、ミルク、ペースト、水ベースのクリーム、エマルジョン、セラム、マスク、バーム、流体、スプレー、坐剤、膣坐剤、経皮パッチ、および練り歯磨き、歯周用ゲル、洗口液などの他の製剤に組み込まれ得る。

【発明を実施するための形態】

【0045】

本発明によると、「薬草組成物」という表現は、1つ以上の異なる粉碎乾燥植物を含有する粉末を指す。単一乾燥植物の粉末は、植物全体から得られている場合があるか、またはその特定の部分、例えば、花、つぼみ、果物、茎、葉、種子、根などを形成していてもよい。

【0046】

本発明によると、抽出物は、室温で、薬草組成物を抽出溶媒とともに（糖を添加してまたは添加せずに）単純にインキュベートすることによって得ることができる。

【0047】

本発明に従った好適な抽出溶媒は、水、ならびに食料品および食品成分の製造で使用することが認可されている全ての非水性溶媒である。例えば、Directive 2009/32/ECによると、そのような非水性溶媒のリストには、プロパン、ブタン、酢酸エチル、エタノール、二酸化炭素、アセトン、亜酸化窒素が含まれる。本発明の特定の実施形態によると、抽出溶媒は、水、エタノール、酢酸エチル、およびそれらの任意の混合物の中から選択される。

【0048】

別の代替の実施形態によると、抽出物は、薬草組成物を抽出溶媒とともに（糖を添加してまたは添加せずに）インキュベートし、続いて遠心分離および濾過を用いてまたは用いずに加熱することによって得ることができる。

【0049】

別の実施形態によると、水抽出物は、薬草組成物を水と（糖を添加してまたは添加せずに）インキュベートし、続いて加熱することによって（例えば、得られる液体調製物を60℃～134℃、好ましくは119～121℃の範囲の温度で、5～60分、好ましくは20～30分の範囲の時間、加熱することによって）得ることができる。

【0050】

「糖」という用語を用いて、我々は、本明細書において、例えば、デキストロース、ラクトース、無水ラクトース、マンニトール、ソルビトール、マルトース、ガラクトース、またはスクロースなどの医薬品または食物グレードの糖を意味することを意図している。

【0051】

本発明の特定の実施形態によると、そのような糖は、スクロースである。

【0052】

前述の糖は、1～100 g/L、任意選択に50～75 g/Lの異なる濃度で使用され得る。

【0053】

「フードサプリメント」という用語は、本明細書において、一般的な食事を補うことを意図した、ビタミンおよびミネラルなどの濃縮栄養源、または単位用量形態の栄養学的効果もしくは生理学的効果を有する他の物質である食品を意味する（Directive 2002/46/EC of 10 June 2002も参照されたい）。

【0054】

10

20

30

40

50

「機能性食品」という表現は、健康の維持および／または疾病の予防にプラス効果をもたらす生物の1つ以上の生理学的機能（生体調節）と多かれ少なかれ選択的に相互作用する、天然に存在するか、または添加される成分（一般に非栄養素）の存在による追加の効果によって特徴付けられる食品を含むことを意味する。食品は、幸福および健康の状態に関連するように、または病気のリスク低減のために、十分な栄養効果に加えて、身体の1つ以上の機能に対するその有益な影響が十分に証明されている場合、「機能性」と見なされ得る。有益な効果には、幸福もしくは健康の状態の維持および促進、ならびに／または疾病過程もしくは疾病のリスクの低減の両方が含まれ得る（AT Diplock et al: Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus Document, British Journal of Nutrition 1999, 81 (Suppl. 1), S1-S27を参照されたい）。

10

【0055】

本発明によると、「栄養補助組成物」という表現は、食事を補うだけでなく、疾病および／または疾患の予防および／または治療にも役立つべきである製品を意味することを意図している。この表現は、1989年にStephen L. DeFelice (MD, Foundation for Innovation in Medicine (FIM) の創設者および会長) が「栄養」および「医薬品」の概念を結び付けたことによって作られた。

【0056】

「賦形剤」という用語は、本明細書において、従来の賦形剤、すなわち、組成物の活性成分に対する不活性化化合物を指すことを意図する。

【0057】

賦形剤は、得られる製剤において果たすことが意図されている役割に応じて、様々な機能的分類に、例えば、それらが希釈剤（例えば、ラクトース、微結晶セルロース）、崩壊剤（例えば、デンプングリコール酸ナトリウム、クロスカルメロースナトリウム）、結合剤（例えば、PVP、HPMC）、潤滑剤（ステアリン酸マグネシウム）、流動促進剤（コロイド状SiO₂）、または香味剤（ペパーミント、レモン油）として作用し得る固体剤形に分割され得る。液体剤形では、それらは、溶媒、共溶媒、または可溶化剤（例えば、プロピレングリコール、グリセロール、エタノール、ソルビトール、デキストロース）、緩衝剤（例えば、リン酸ナトリウム）、抗菌剤（例えば、ソルビン酸カリウム）、湿潤剤（例えば、ポリソルベートまたはTween）、消泡剤（例えば、ポリジメチルシロキサン二酸化ケイ素）、増粘剤（例えば、メチルセルロースもしくはヒドロキシエチルセルロース）、または甘味剤（例えば、ソルビトール、アセスルファム-K）として作用し得る。

20

【0058】

既に述べたように、本発明の抽出物は、抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤であり、それは、ヒトおよび動物における微生物感染の治療、予防、および／または診断で有利に使用される。

【0059】

したがって、本発明の別の目的は、微生物感染の治療、予防、または診断用の薬剤の製造における本発明の抽出物の使用である。そのような薬剤は、動物のヒトにとって有用であり得る。

【0060】

本発明によると、「治療」または「治療すること」という表現は、症状を治癒する、軽減する、または疾病もしくは病状の進行を遅らせるように設計された活動を意図している。

40

【0061】

「予防」または「予防すること」という表現は、疾病または病状の発生率または影響を最小限に抑えるように設計された活動を指すことを意図している。例えば、微生物感染の場合、予防とは、本明細書において特に、細胞、組織、および器官への病原性微生物の付着および定着を防止することを意味する。

【0062】

「診断」または「診断すること」という表現は、判断された疾病または病状の存在および程度を評価するために、一連の生理学的パラメータを同定するように設計された活動を指

50

すことを意図している。

【0063】

「抗菌剤」という表現は、本明細書において、微生物細胞の成長を阻害することが可能である薬剤を意味するために使用される。微生物細胞が病原性微生物細胞である場合、抗菌剤は、ヒトまたは動物における微生物感染の治療のための医薬組成物または動物用組成物の活性成分として使用され得る。

【0064】

「抗バイオフィルム剤」という表現は、本明細書において、微生物細胞によるバイオフィルムの形成を阻害すること、および／または予め形成されたバイオフィルムの分散を促進することが可能である薬剤を意味するために使用される。従来の抗菌剤とは対照的に、抗バイオフィルム剤は、微生物の生存に直接影響を及ぼさず、したがってこれらの薬剤に対する耐性は、容易には生じないことが予測される。

【0065】

本発明によると、「相乗的」という用語は、対応する単一乾燥植物の抽出物の効果または活性の合計よりも大きい、本発明の薬草組成物の抽出物（すなわち、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および *Arctostaphylos uva-ursi* の名から選択される少なくとも2つの乾燥植物を含む）によって示される、生物学的効果または活性（本明細書において、抗菌剤または抗バイオフィルム）を指すことを意図している。

【0066】

そのようなより大きい生物学的効果または活性は、例えば、浮遊成長の阻害（抗菌活性）、バイオフィルム形成阻害（抗バイオフィルム活性）、またはこれらの活性のうち的一方または両方が同定され得る株の数に関して例示され得る。

【0067】

本発明の特定の実施形態によると、微生物感染は、例えば、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Listeria innocua*、*Listeria monocytogenes*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis*、*Salmonella enterica* 亜種 *enterica* serovar *Typhimurium*、*Streptococcus pneumoniae*、*Streptococcus equi* 亜種 *zooepidemicus*、*Streptococcus pyogenes* などの細菌によって、または *Candida albicans* などの真菌によって引き起こされる。

【0068】

本発明の別の特定の実施形態によると、微生物感染は、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、または *Staphylococcus pseudintermedius* によって引き起こされる。

【0069】

片利共生グラム陽性細菌である *Staphylococcus aureus* は、皮膚および軟組織の感染から重度の敗血症、中毒性 choc、または肺炎に至るまで、ヒトにおける幅広い疾病位を引き起こす可能性がある主要な病原体である。*Staphylococcus aureus* は、院内感染の重要な原因であり、*Staphylococcus aureus* の多くの院内株は、抗生物質、最も具体的にはメチシリンに対して耐性を得ている。利用可能なワクチンはまだないが、*Staphylococcus aureus* の様々な標的に対する能動的および受動的免疫療法を開発するために重要な努力が行われている。

【0070】

本発明の抽出物および比較試料についてそのような生物学的活性を評価するために、多くの異なる株が使用されており、実施例の節で言及される。

【0071】

特に、以下の細菌株が、本発明の抽出物の抗菌活性および抗バイオフィルム活性の両方を試験するために使用されている。

【0072】

Seattle 1945 としても既知の ATCC 25923 は、学術研究で広く使用されている *Staphylococcus aureus* 株である（2016年10月現在、627の出版物で引用されている（NI

10

20

30

40

50

H-NCBI-Pubmedを参照されたい))。その抗生物質耐性挙動は、完全に特徴付けられている(例えば、Reimer L. G. et al., Antimicrob. Agents Chemother. 1981 Jun; 19(6):1050-5を参照されたい)。

【0073】

ATCC 29213もまた、学術研究で広く使用されているStaphylococcus aureus株である(2016年10月現在、327の出版物で引用されている(NIH-NCBI-Pubmedを参照されたい))。それは、バイオフィーム研究で使用されている(例えば、Ceri H. et al., J. Clin. Microbiol. 1999 Jun;37(6):1771-6を参照されたい)。

【0074】

ATCC 1228は、Staphylococcus epidermidis株である(2016年10月現在、101の出版物で引用されている(NIH-NCBI-Pubmedを参照されたい))。Code of Federal Regulations (FDA) は、そのような株をネオマイシンのための好ましいアッセイ生物として列挙している(Robertson J.H. et al., Appl. Microbiol. 1971 Dec;22(6):1164-5も参照されたい)。

【0075】

ATCC 43300は、臨床研究から単離されたStaphylococcus aureus株である(2016年10月現在、Lubenko et al., J. Antimicrob. Chemother. 2008 Nov; 62(5): 1065-9)を含む81の出版物で引用されている(NIH-NCBI-Pubmedを参照されたい))。

【0076】

Staphylococcus aureus株Newmanは、1952年にヒト感染から単離され、その強い病原性表現型のためにブドウ球菌感染の動物モデルにおいて広く使用されている(Baba T. et al., Journal of bacteriology, 190: 300-310 (2008)を参照されたい)。院内感染MRSA(メチシリン耐性Staphylococcus aureus)とは対照的に、Staphylococcus aureus Newmanは、ごく少数の挿入配列(IS)を担持、保有し、既知の抗生物質耐性決定基を欠いている。

【0077】

実施例で使用される他の菌株もまた、学術研究または業界で品質管理(QC)に一般的に使用されている。それらのほとんどもまた、メチシリン耐性である。

【0078】

ATCC 33591の参照のために、Reyes N.ら,J.Antimicrob.Chemother.2006 Aug;58(2):462-5,Epub 2006 May 30を参照されたい。ATCC 33592の参照のために、Teka A.ら,BMC Complement Altern "Med. "2015 Aug 18;15:286を参照されたい。NCTC 12493の参照のために、Carey B. E. ら, J. Antimicrob. Chemother. 2006 Aug ; 58(2):455-7, Epub 2006 Jun 20を参照されたい。ATCC 700698の参照のために、Kirker K. R. ら, Int. J. Antimicrob Agents, 2015 Oct; 46(4) :451-5, Epub 2015 Jul 9を参照されたい。ATCC 700699の参照のために、Sy C. L. ら, J. Clin . Microbiol. 2016 Mar ;54(3): 565-8, Epub 2015 Dec 16を参照されたい。ATCC 9144の参照のために、Carson C. F. ら, Antimicrob. Agents Chemother. 2002 Jun; 46(6): 1914-20を参照されたい。ATCC BAA-44の参照のために、Monecke S. ら, PLoS One. 2011 Apr 6; 6(4): e17936を参照されたい。ATCC 14990の参照のために、Bernardo T.H.ら, Scientific World Journal. 2015; 751791, Epub 2015 Jun 3)を参照されたい。ATCC 49444の参照のために、Ramsey KJら, J Food Prot. (2010)を参照されたい。ATCC 60193の参照のために、Petrikaite Vら, Medicina (Kaunas) . 2007; 43(8): 657-63を参照されたい。ATCC 11775の参照のために、sman Hら, Afr J Tradit Complement Altern"Med. "2007 Jun 10; 4(4): 488-94を参照されたい。ATCC 13883の参照のために、Supardy NAら, J Microbiol Biotechnol. 2012 Jun; 22(6): 872-81を参照されたい。ATCC 33090の参照のために、Le Marc Yら, Int J Food Microbiol. 2002 Mar; 73(2-3): 219-37を参照されたい。ATCC 19115の参照のために、Vodnar DC., Chem CentJ.2012 Jul 28; 6(1): 74. doi:10.1186/1

10

20

30

40

50

752-153X-6-74を参照されたい。ATCC 27853の参照のために、Reimer LGら, *Antimicrob Agents Chemother.* 1981 Jun; 19(6): 1050-5を参照されたい。ATCC 13076の参照のために、Fioretto Fら, *Braz J Med Biol Res.* 2005 Aug; 38(8): 1259-65. Epub 2005 Jul 30を参照されたい。ATCC 13311の参照のために、Leguerinel Iら, *Int J Food Microbiol.* 2007 May 1; 116(1): 88-95. Epub 2007 Jan 13を参照されたい。ATCC 27336の参照のために、Chen Sら, *Appl Environ Microbiol.* 2013 Jul; 79(13): 4015-23. doi:10.1128/AEM.00704-13. Epub 2013 Apr 19を参照されたい。ATCC 43079の参照のために、Farrow JA and Collins MD., *Syst. Appl. Microbiol.* 5:483-493, 1984を参照されたい。ATCC BAA-1323の参照のために、Svensson Mikael Dら, *Microbiology* 148: 3933-3945, 2002を参照されたい。

10

【0079】

本発明のフードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、または化粧品組成物は、異なる投与経路用に適切に製剤化され得る。そのような投与経路には、耳介、口腔、皮膚、歯科、鼻腔、眼科、経口、口腔咽頭、直腸、呼吸器（吸入）、舌下、局所、または膣が含まれる。

【0080】

一般に、本発明の抽出物を含む組成物は、「治療有効量」で投与される。

【0081】

本説明および以下の特許請求の範囲の目的で、「含むこと (comprising)」という用語はまた、「から本質的になる」または「からなる」という用語を含む。

20

【0082】

実際に投与される組成物の量は、典型的には、治療される状態、選択された投与経路、実際に投与される組成物、個々の対象の年齢、体重、および応答、対象の症状の重症度などを含む関連状況の観点から、医師によって決定される。いずれの組成物についても、治療有効用量は、最初に細胞培養アッセイまたは動物モデル、通常はマウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ、またはブタのいずれかで推定され得る。

【0083】

動物モデルはまた、適切な濃度範囲および投与経路を決定するためにも使用され得る。次いで、そのような情報が使用されて、ヒトにおける有用な用量および投与経路を決定することができる。ヒト等価用量 (HED) を計算する際には、Guidance for Industry and Reviewers document (2005, U.S. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, アメリカ合衆国) に提供されている変換表を使用することが推奨される。

30

【0084】

本発明によると、ヒトに投与される抽出物の用量は、それを調製するために使用される薬草組成物、したがって薬草組成物中に存在する粉碎された単一乾燥植物の量を参照して調節され得る。通常、0.001~500 g、任意選択に0.01~100 gの各粉碎乾燥植物が、最終抽出物を調製するために使用される。そのような抽出物は、それ自体で、または凍結乾燥形態、乾燥形態、もしくはフリーズドライ形態で、ヒトまたは動物に使用するための最終組成物中で使用され得るか、あるいはそれは、さらに希釈され得る。

【0085】

ヒト対象に対する正確な有効用量は、疾病または状態の重症度、対象の一般的健康、対象の年齢、体重、および性別、食事、投与の時間および頻度、他の同時療法、反応感受性、ならびに治療に対する耐性／応答によって決まる。この量は、日常的な実験によって決定され得、臨床医の判断の範囲内である。

40

【0086】

投薬治療は、単回投与計画または複数回投与計画であってもよい。

【0087】

本発明の別の目的は、本発明の抽出物を調製するためのプロセスである。そのようなプロセスは、以下のステップ：

a) 少なくとも2つの単一乾燥植物を別々に、または混合物中でみじん切りまたは粉碎し

50

て、対応する植物粉末を得ることと、

b) 少なくとも2つの異なる植物粉末を混合して、薬草組成物を得ることと、

c) 抽出溶媒を前述の薬草組成物に添加して、対応する液体調製物（または抽出物）を得ることと、

d) 5～15分の範囲の時間、室温で前述の液体調製物をインキュベートすることと、任意選択に、

e) 5～60分の範囲の時間、60℃～134℃の範囲の温度で前述の液体調製物を加熱することと、任意選択に、

f) 上清を遠心分離および収集し、収集された上清を濾過することと、任意選択に、

g) ステップe) またはf) から得られた液体調製物を濃縮および／または乾燥もしくはフリーズドライすることと、を概略的に含む。

10

【0088】

本出願によると、「凍結乾燥物」という用語は、本発明に従ったフリーズドライ（脱水）抽出物および乾燥抽出物の両方を指す。

【0089】

単一乾燥植物は、薬局または薬草店の乾燥植物コレクションの一部として購入され得る商品である。乾燥植物コレクションのリストは、最適な薬草店の各薬局で入手可能であり、そのようなコレクションで入手可能な乾燥植物は、国によって異なり得る。

【0090】

例えば、ベルギー、フランス、イタリアは、製造業者が欧州法（EC Regulation 852/2004）の品質要件を満たすという条件で、2012年に、使用が許可され得る植物の共通リストを協力して作成することを決定した。3人の世間に認められた専門家（Robert Anton, Luke Delmulle、およびMauro Serafini）の大変な努力のおかげで、プロジェクトは、1,029個の植物および11個のキノコのリストの確立をもたらした（BelFritのリストを、http://www.economie.gouv.fr/files/files/directions_services/dgccrf/images/breve/2014/documents/harmonized_list_Section_A.pdfで参照されたい）。

20

【0091】

ここで、本発明が、以下の非限定的な実施例を参照することによって説明される。

【0092】

実施例で使用した植物のリスト

30

以下のリスト中の植物および植物の部分は、異なる実施例で使用されている。簡潔にするために、各植物は、実施例全体を通して使用されるコードによって識別される。200μL（目盛り付きスプーンの体積）の植物粉末に対応する重量も示されている（表0-1）。医薬品グレードの乾燥植物PA00～PB12を「Pharmacie Fontgieve」（Clermont-Ferrand, フランス）から入手し、医薬品グレードの乾燥植物PB13～PD08を「Pharmacie St Herem」（Clermont-Ferrand, フランス）から入手した。実施例に示される場合、植物を「Herboristerie Cailleau」（Chemille, フランス）またはSiccarapam（Aubiat, フランス）からも入手した。

40

【表 1 - 1】

表 0 - 1 : 関連コードおよび 1 つの目盛り付きスプーンに対する乾燥粉末の重量を伴う植物のリスト

植物 コード*	植物名	使用部分	重量 (g)	植物 コード*	植物名	使用部分	重量 (g)
PA00	Sambucus ni gra	花	0.0684	PB32	Tabebuia imp etiginosa	樹皮	0.0775
PA01	Plantaga afra	種子	0.1357	PB33	Glechoma he deracea	地上部	0.0601
PA02	Equisetum a rvense	地上部	0.0578	PB35	Cetraria islan dica	地上部	0.0776
PA05	Aloysia citro dora	葉	0.0712	PB36	Rubus idaeus	葉	0.0553
PA06	Glycyrrhiza glabra	根	0.0774	PB38	Fraxinus exc elsior	葉	0.1241
PA07	Camellia sin ensis	葉	0.07	PB39	Lavandula an gustifolia	花	0.0207
PA08	Solidago virg aurea	地上部	0.0394	PB41	Cassia angus tifolia	果実	0.0568
PA10	Taraxacum o fficinale	根	0.0585	PB42	Fragaria vesc a	葉	0.0692
PA11	Rheum palm atum	根および 根茎	0.1016	PB45	Aspalathus li nearis	葉	0.0684
PA12	Rosmarinus officinalis	葉	0.0545	PB46	Trigonella fo enum-graecu m	種子	0.1342
PA13	Filipendula u lmaria	花	0.095	PB47	Foeniculum v ulgare	果実	0.0818
PA14	Satureja mon tana	葉	0.0619	PB48	Alkanna tinct oria	根	0.0606
PA15	Calendula off icinalis	花卉	0.0383	PB49	Mentha spica ta	葉	0.0694
PA16	Salvia officin alis	葉	0.0415	PB50	Eupatorium c annabinum	地上部	0.0529
PA17	Passiflora in carnata	地上部	0.0423	PB51	Echinacea pu rpurea	根	0.0915
PA18	Plantago lan ceolata	葉	0.0626	PB55	Eucalyptus gl obulus	葉	0.0666
PA19	Tussilago far fara	花序	0.0494	PB57	Rosaxcentifoli a	つぼみ	0.0819
PA20	Valeriana offi cinalis	根	0.1142	PB58	Solanum dulc amara	茎	0.0709

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

PA21	Camellia sinensis	葉	0.135	PB60	Arbutus unedo	葉	0.0891
PA22	Vitis vinifera var.tinctoria	葉	0.0762	PB61	Borrigo officinalis	地上部	0.0754
PA23	Thymus vulgaris	葉	0.0373	PB76	Eleutherococcus senticosus	根	0.0571
PA24	Cassia angustifolia	若葉	0.0648	PB77	Cupressus sempervirens	堅果	0.0862
PA25	Tilia cordata	辺材	0.0391	PB78	Curcuma longa	根	0.0946
PA26	Thymus serpyllum	地上部	0.0442	PB79	Cuminum cyminum	果実	0.1109
PA27	Tilia tomentosa	苞葉	0.0775	PB81	Salvia officinalis	葉	0.0536
PA28	Rubus idaeus	葉	0.0463	PB82	Salix alba	樹皮	0.0522
PA29	Fucus vesiculosus	葉身	0.1702	PB83	Saponaria officinalis	地上部	0.0602
PA30	Lavandula angustifolia	花	0.0216	PB85	Lythrum salicaria	地上部	0.0581
PA31	Trigonella foenum-graecum	種子	0.1043	PB86	Citrus limon (L.)Burn.f.	皮	0.098
PA32	Lotus corniculatus	地上部	0.0497	PB88	Centella asiatica	地上部	0.0685
PA33	Handroanthus impetiginosus	樹皮	0.0814	PB92	Plantago ovata	種子	0.1266
PA34	Viscum album	葉	0.0783	PB97	Agropyrum repens	根茎	0.0555
PA35	Fumaria officinalis	花頂	0.0661	PB98	Cichorium intybus	葉	0.0715
PA36	Humulus lupulus	果実	0.0307	PB99	Potentilla anserina	葉	0.0298
PA37	Fraxinus excelsior	葉	0.0647	PC01	Quercus robur	樹皮	0.06
PA38	Cytisus scoparius	花	0.0253	PC02	Chelidonium majus	地上部	0.0608
PA39	Foeniculum vulgare	果実	0.081	PC04	Prunus cerasus	花柄	0.0199
PA40	Origanum majorana	葉	0.0345	PC06	Asparagus officinalis	根	0.0812

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

PA41	Citrus aurantium var. dulcis	葉	0.0574	PC08	Medicago sativa	種子	0.113
PA44	Hyssopus officinalis	花頂	0.0677	PC11	Juglans regia	葉	0.0641
PA45	Mentha × piperita	葉	0.07	PC12	Olea europaea	葉	0.0561
PA46	Melissa officinalis	葉	0.0747	PC14	Myrtus communis	葉	0.0716
PA47	Fragaria vesca	植物全体	0.0692	PC15	Trifolium rubens	花	0.0484
PA48	Phaseolus vulgaris	果実	0.0608	PC17	Curcuma zedoaria	根茎	0.077
PA51	Marrubium vulgare	地上部	0.0457	PC19	Vitis vinifera var. tinctoria	葉	0.0695
PA52	Malva sylvestris	花	0.0355	PC20	Eugenia caryophyllus	小鱗茎	0.0852
PA53	Citrus aurantium var. dulcis	花卉	0.0851	PC21	Althaea officinalis	根	0.0642
PA55	Ginkgo biloba	葉	0.0701	PC22	Alpinia officinarum	根茎	0.0658
PA57	Lamium album	花	0.0591	PC23	Ginkgo biloba	葉	0.0775
PA60	Olea europaea	葉	0.0572	PC24	Panax ginseng	側根	0.1782
PA61	Ilex paraguariensis	葉	0.0598	PC25	Zingiber officinale	根茎	0.078
PA62	Artemisia vulgaris	葉	0.0447	PC26	Juniperus communis	果実	0.0505
PA67	Epilobium parviflorum	地上部	0.0549	PC27	Geranium robertianum	地上部	0.0639
PA69	Chamomilla recutita	花序	0.0399	PC28	Gentiana lutea	根	0.0992
PA70	Sisymbrium officinale	地上部	0.0334	PC29	Rubia tinctorium	根	0.0868

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

PA72	Asparagus officinalis	根	0.0523	PC32	Jasminum officinale	花	0.0616
PA73	Pimpinella anisum	果実	0.0993	PC33	Combretum micranthum	葉	0.0769
PA74	Ribes nigrum	果実	0.0769	PC34	Satureja montana	葉	0.0715
PA75	Crataegus oxyacantha	花頂	0.0656	PC35	Cassia angustifolia	若葉	0.0881
PA76	Chamaemelum nobile	花序	0.0193	PC36	Verbena officinalis	地上部	0.0603
PA79	Eucalyptus globulus	葉	0.0703	PC37	Lippia citrodora	葉	0.0813
PA80	Prunus cerasus	花柄	0.0141	PC38	Veronica officinalis	全部	0.0781
PA81	Acorus calamus	根茎	0.0631	PC41	Calendula officinalis	花卉	0.0523
PA82	Calluna vulgaris	花	0.0493	PC42	Sambucus nigra	樹皮	0.0593
PA83	Papaver rhoeas	花卉	0.0278	PC45	Solidago gigantea	地上部	0.0612
PA85	Cuminum cyminum	果実	0.102	PC49	Tanacetum vulgare	地上部	0.0577
PA86	Centaurea erythraea	地上部	0.0591	PC50	Galium odoratum	地上部	0.041
PA88	Vaccinium myrtillus	果実	0.0939	PC51	Rhamnus frangula	樹皮	0.0726
PA89	Vaccinium myrtillus	葉	0.0711	PC52	Betula alba	樹皮	0.0806
PA90	Angelica archangelica	果実	0.0388	PC53	Verbascum thapsus	樹皮	0.0435

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

PA92	Borago officinalis	花	0.067	PC54	Peumus boldus	葉	0.0695
PA93	Alchemilla vulgaris	地上部	0.0588	PC55	Centaurea cyanus	花卉	0.0456
PA94	Artemisia pontica	花頂	0.431	PC57	Illicium verum	果実	0.1027
PA95	Illicium verum	果実	0.0793	PC58	Inula helenium	根	0.0904
PA96	Chrysanthellum americanum	地上部	0.0768	PC60	Cinnamomum zeylanicum	樹皮	0.1374
PA97	Harpagophytum procumbens	根	0.0853	PC61	Chamaemelum nobile	花	0.0316
PA98	Betula pendula	葉	0.0633	PC62	Calamintha officinalis	地上部	0.0726
PA99	Plantago lanceolata	地上部	0.0718	PC63	Arctostaphylosuva-ursi	葉	0.088
PB00	Agropyrum repens	根茎	0.0646	PC64	Ononis spinosa	根	0.0832
PB01	Carum carvi	果実	0.1089	PC65	Calluna vulgaris	花	0.0446
PB02	Buxus sempervirens	葉	0.0631	PC66	Morus nigra	葉	0.1032
PB03	Cichorium endothia	根	0.1513	PC67	Hypericum perforatum	花頂	0.0829
PB04	Rosa canina	果実	0.1227	PC68	Achillea millefolium	花頂	0.0332
PB05	Silybum marianum	地上部	0.0502	PC70	Mentha × piperita	葉	0.071
PB06	Asperula odorata	地上部	0.062	PC71	Melissa officinalis	葉	0.0847
PB07	Desmodium ascendens	葉	0.0493	PC72	Cochlearia officinalis	花	0.0497
PB08	Combretum micranthum	葉	0.0709	PC73	Malva sylvestris	花	0.0615
PB09	Peumus boldus	小葉	0.0574	PC74	Cynara scolymus	葉	0.0458
PB10	Rhamnus frangula	樹皮	0.0682	PC75	Arnica montana	花	0.0254

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

PB11	Arctium lappa	根	0.1166	PC7 6	Artemisia vulgaris	地上部	0.0289
PB12	Arctostaphylos uva-ursi	葉	0.122	PC7 8	Angelica archangelica	全部	0.0909
PB13	Cichorium intybus	根	0.0924	PC7 9	Anethum graveolens	果実	0.1335
PB14	Fragaria vesca	根茎	0.0529	PC8 2	Ballota nigra	地上部	0.0368
PB15	Citrus aurantium var. dulcis.	皮	0.0817	PC8 3	Origanum majorana	葉	0.0539
PB16	Elettaria cardamomum	果実	0.0606	PC8 4	Zea mays	柱頭	0.0632
PB17	Althaea officinalis	葉	0.0302	PC8 6	Agrimonia eupatoria	地上部	0.0721
PB18	Malva sylvestris	葉	0.0809	PC8 8	Levisticum officinale	地上部	0.0848
PB19	Althaea officinalis	葉	0.0322	PC9 4	Phaseolus vulgaris	果実	0.0686
PB20	Tilia cordata	花頂	0.0596	PC9 7	Hieracium pilosella	地上部	0.0406
PB22	Betula pendula	葉	0.0609	PC9 8	Parietaria officinalis	地上部	0.0349
PB24	Tilia cordata	辺材	0.0368	PC9 9	Passiflora incarnata	地上部	0.0817
PB25	Fucus vesiculosus	葉身	0.1119	PD0 0	Rumex patientia	根	0.1208
PB26	Borago officinalis	花	0.0342	PD0 2	Petroselinum crispum	果実	0.1084
PB27	Vaccinium myrtillus	果実	0.1553	PD0 5	Urtica dioica	地上部	0.0584
PB28	Verbascum thapsus	花	0.045	PD0 6	Cola acuminata	堅果	0.1556
PB29	Citrus aurantium	花弁	0.0477	PD0 7	Capsella bursa-pastoris	地上部	0.0535
PB31	Galega officinalis	地上部	0.0678	PD0 8	Centaurea erythraea	地上部	0.058

10

20

30

40

【0093】

薬草組成物を調製するための方法（方法A）

各乾燥植物を、コーヒー豆粉砕機（Type 8100, SEB, フランス）を使用して粉砕した。得られた粉末（植物粉末）を2mmメッシュのふるいを使用して篩過し、60mLの容器（Labbox, フランス）に保存した。

【0094】

異なる粉砕乾燥植物（または植物粉末）の混合物を、200μLの粉末を収集することを可能にする目盛り付きスプーンを用いて、固定体積の植物粉末を収集することによって調

50

製した。収集した体積の重量は、特定の植物粉末に依存する（表 0-1 を参照されたい）。

【0095】

異なる粉碎乾燥植物（または植物粉末）ならびに単一乾燥植物のそのようなミックスまたは混合物は、本明細書において「薬草組成物」とも呼ばれる。

【0096】

水抽出物を調製するための方法（この実施例の節では「処理試料」、「抽出物」、または「ミックス抽出物」とも呼ばれる）（方法 B）

そのような薬草組成物を 50 mL のファルコンチューブ（Falcon, アメリカ合衆国）内に配置し、100 g/L の食物グレードのスクロース（Daddy, フランス）を含有する 20 mL または 40 mL の（実施例に示されるような）食物グレードの天然水を添加した。科学グレードの対応物ではなくむしろ、食物グレードのスクロースおよび水の選択は、食品中および食品上で使用するための香味料および香味特性を有するある特定の食品成分に対する 2008 年 12 月 16 日の Regulation (EC) No 1334/2008 の下で、直接消費され得る「香味料」のクラスに入る食用組成物を得るという目的によって決定された。

【0097】

そのような液体調製物を含む各ファルコンチューブをボルテックスミキサ（ThermoFisher, アメリカ合衆国）を使用して 10 秒間攪拌し、室温で 10 分間インキュベートし、オートクレーブ（MED 12, JP Selecta, スペイン）内に配置し、示されるように、119°C または 121°C で 20 分間の滅菌サイクルを受けた。冷却後、滅菌した調製物を使用時まで -20°C に保持した。

【0098】

操作の日に、調製物を 37°C で解凍した。調製物を 4000 rpm で 10 分間遠心分離するか（Multifuge 35-R, Heraeus, ドイツ）、または（実施例に示されるような）デカンテーションのために室温でインキュベートした。2 mL の上清を 10 mL シリンジで収集し、0.2 μm フィルタ（Minisart Syringe Filters, Sartorius, ドイツ）を使用して濾過し、2 mL エッペンドルフチューブに収集した。残りの滅菌調製物は、さらなる使用のために -20°C に保持される。

【0099】

このようにして得られた試料は、本明細書において「処理試料」とも呼ばれ、対応する薬草組成物に与えられた同じ名称またはコードによって識別される（例えば、「ミックス [2P] - 1」という名称は、生物学的活性が決定される組成物および対応する抽出物（または処理試料）を識別するために使用される）。

【0100】

抗菌活性および抗バイオフィルム活性を決定するための方法（方法 C）

各処理試料の生物学的活性を、各実験（または実施例）に示される株を使用することによって決定した。各測定について、cryobeads（Technical Service, イギリス）上に -80°C で貯蔵された各細菌は、TS 寒天プレート（Tryptic Soy Broth, Sigma, アメリカ合衆国；Agar, Fisherbrand, アメリカ合衆国）上にプレーティングされ、37°C で一晩インキュベートされる。いくつかのコロニーが接種ループを使用して収集され、食塩水に懸濁される。光学密度が測定され、Staphylococcus aureus 株および Staphylococcus pseudintermedius 株に対して $2 \cdot 10^5 \cdot 5$ 細菌/mL、Staphylococcus epidermidis に対して $2 \cdot 10^5$ 細菌/mL の濃度を得るために、TS ブロス中で希釈が実施される。

【0101】

各処理試料の生物学的活性を、各実験（または実施例）に示される株および細菌なしの対照を使用して、96 ウェルプレート上で測定した。各ウェルは、Staphylococcus aureus 株および Staphylococcus pseudintermedius 株に対して $10^5 \cdot 5$ 細菌/mL、Staphylococcus epidermidis に対して 10^5 細菌/mL（もしくは全ての他の種に対して実施例に示される濃度で）で接種されたか、または 1:10、1:20、1:40、および 1:80 の最終濃度、もしくは 1:20、1:63、および 1:200（実施例に示されるように）で、対照および希釈処理試料もしくは陰性対照（植物を含まない 100 g/L

のスクロース溶液) に対して細菌を有しない 190 μL の T S ブロスを含む。

【0102】

各プレートをインキュベータ (HettCube 400, Hettich, ドイツ) 中で 37℃において 17時間インキュベートした。

【0103】

市販のドキュメントスキャナ (V 220, Epson, 日本) を使用して得られたプレートの ImageJソフトウェア (NIH, アメリカ合衆国) (しかし任意の他の同等のソフトウェアが使用され得る) 画像を用いた分析に基づき、測定を実施した。走査領域上に位置付けられたプレートの画像は、スキャナに備わっているソフトウェアを使用して 600 dpi で取得される。各プレートについて、3つの画像を取得し、第1の画像は、インキュベーション前 (T0)、第2の画像は、17時間のインキュベーション後 (Tf)、第3の画像は、Optimization of microtitre plate assay for the testing of biofilm formation ability in different Salmonella serotypes (Agarwal, R.K. et al., International Food Research Journal 18(4): 1493-1498, 2011) に記載されるようなクリスタルバイオレット (CV) 染色の後である。

【0104】

対象となる各ウェルについて、第1、第2、および第3の画像のそれぞれから、ウェルに対して中心にある、それぞれ 14、14、および 76 ピクセルの直径の円形領域を、ImageJマクロを使用して特徴付けて、領域の 1%強度が小さいピクセルの平均 M1 および M2、ならびに領域の全てのピクセルの平均 M3 をそれぞれ計算した。14 ピクセルの直径領域の領域の 1%強度が小さいピクセルの平均を、既知の濁度の細菌溶液を含むウェルから測定した独立した実験で得られた参照曲線を使用して、ウェル内の細菌溶液の濁度を M1 および M2 から推定した。76 ピクセルの直径領域の領域のピクセルの平均を、既知の光学密度のクリスタルバイオレット溶液を含むウェルから測定した独立した実験で得られた参照曲線を使用して、ウェル内のクリスタルバイオレット溶液の光学密度を M3 から推定した。

【0105】

各処理試料および所与の細菌について、MIC は、4つの試験された処理試料 (1:10、1:20、1:40、1:80) の中で最高阻害希釈 (HID) から決定され、17時間以内に目に見える成長。試験した希釈物のいずれも細菌の成長を防止していなかった場合に「0」を割り当てた。

【0106】

処理試料および所与の細菌を含む各ウェルについて、細菌浮遊成長の阻害率を以下の式に従って確立した。

【数1】

$$\text{浮遊成長阻害(\%)} = \left(1 - \frac{Tf(\text{処理試料}) - T0(\text{処理試料})}{Tf(\text{陰性対照}) - T0(\text{陰性対照})} \right) * 100$$

式中、Tf (処理試料) は、試料ウェルの第2の画像からの濁度であり、T0 (処理試料) は、同じウェルの第1の画像の濁度であり、Tf (陰性対照) は、処理試料なしで同じ細菌を含むウェルの第2の画像からの濁度であり、T0 (陰性対照) は、同じウェルの第1の画像の濁度である。

【0107】

処理試料および所与の細菌を含む各ウェルについて、バイオフィーム形成の阻害率 (IBF) を以下の式に従って確立した。

【数2】

$$\text{バイオフィーム形成阻害(\%)} = \left(1 - \frac{CV(\text{処理試料}) - CV(\text{対照試料})}{CV(\text{陰性対照}) - CV(\text{対照試料})} \right) * 100$$

式中、C V（処理試料）は、試料ウェルの第3の画像からのODであり、C V（陰性対照）は、処理試料なしの同じ細菌を含むウェルの第3の画像からのODであり、C V（対照試料）は、細菌なしの同じ希釈で同じ試料または陰性対照を含むウェルの第3の画像のODである。I B Fの負の値は、試験した混合物がバイオフィルムの形成を促進していることを意味する。

【実施例】

【0108】

実施例1

この実施例において、我々は、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、*Arctostaphylos uva-ursi*の3つのうち2つの植物の開示された組成物の*Staphylococcus aureus*に対する同時の抗菌活性および抗バイオフィルム活性を例示する。医薬品グレードの乾燥植物を「Herboristerie Cailleau」（Chemille，フランス）から入手した。

【0109】

そのような3つの異なる植物粉末から出発して、6つの薬草組成物を以前に報告された方法Aに従って調製し、その内容物は、表1-1に報告される。

【表2】

表1-1：処理試料の薬草組成物

薬草組成物	PA13（nbスプーン）	PA21（nbスプーン）	PB12（nbスプーン）
PA13	1		
PA21		1	
PB12			1
ミックス[2P]-1	1	1	
ミックス[2P]-2		1	1
ミックス[2P]-3	1		1

【0110】

表1-1に示されるように、最初の3つの薬草組成物は、単一植物粉末のみを含有し、一方で、最後の3つの組成物は、3つの異なる植物粉末のうちの2つを含有する。

【0111】

表1-1に報告された各薬草組成物から出発して、水抽出のために100 g/Lのスクロースを含有する20 mLの水を使用し、濾過前の遠心分離ステップを含む以前に報告された方法Bに従って、対応する処理試料を調製した。

【0112】

1：10の希釈での2植物ミックスおよび関連する分離された本実施例1の植物の処理試料の細菌浮遊成長および抗バイオフィルム形成阻害率を、以前に報告された方法Cに従って、以下の*Staphylococcus aureus*株：ATCC 25923およびATCC 29213を使用することによって決定し、表1-2に示される。

【表 3】

表 1－2：1：10の希釈での2植物混合物処理試料および単一植物処理試料の浮遊成長およびバイオフィルム形成阻害（IBF）

		PA13	PA21	ミックス[2P]-1
ATCC 25923	浮遊成長阻害	20%	26%	82%
	バイオフィルム形成阻害	32%	44%	78%
ATCC 29213	浮遊成長阻害	16%	27%	100%
	バイオフィルム形成阻害	33%	17%	85%
		PA21	PB12	ミックス[2P]-2
ATCC 25923	浮遊成長阻害	26%	17%	104%
	バイオフィルム形成阻害	44%	51%	88%
ATCC 29213	浮遊成長阻害	27%	8%	100%
	バイオフィルム形成阻害	17%	28%	83%
		PA13	PB12	ミックス[2P]-3
ATCC 25923	浮遊成長阻害	20%	17%	82%
	バイオフィルム形成阻害	32%	51%	93%
ATCC 29213	浮遊成長阻害	16%	8%	66%
	バイオフィルム形成阻害	33%	28%	78%

10

20

【0113】

PA13、PA21、およびPB12は、既知の抗生物質効果を有する。浮遊成長（27%未満）およびバイオフィルム形成（51%未満）の制限された阻害を、1：10の希釈で測定したが、2植物ミックス抽出物の3つの芳香族調製物は、試験した株、ATCC 25923およびATCC 29213の両方に対して抗菌効果（66%超）および抗バイオフィルム効果（78%超）を示す。

【0114】

全てのミックス（ミックス[2P]-1、ミックス[2P]-2、ミックス[2P]-3）について、2つの植物の相乗効果が、試験した2つの株に対する抗菌効果について観察される。

30

【0115】

比較例1

比較例として、我々は、*Staphylococcus aureus*に対する抗菌活性および抗バイオフィルム活性が全くないか、または不十分であることがわかっており、かつ2つの異なる植物粉末を含有する対応する薬草組成物から得られた、いくつかの処理試料の活性を例示する。

【0116】

2つの追加の植物粉末：PA74（*Ribes nigrum*果実粉末）およびPC72（*Cochlearia officinalis*花粉）を使用して、5つの処理試料を調製した。

40

【0117】

単一乾燥植物粉末を実施例1に記載されるように処理し、5つの薬草組成物を以前に記載された方法Aに報告されたプロトコルに従って調製した。そのような5つの薬草組成物は、表1－3に報告される内容物を有した。

50

【表 4】

表 1－3：処理試料の薬草組成物

薬草組成物	PA74 (nbスプーン)	PC72 (nbスプーン)	PA13 (nbスプーン)	PA21 (nbスプーン)
PA74	1			
PC72		1		
ミックス1	1	1		
ミックス2	1		1	
ミックス3		1		1

10

【0118】

水抽出のために 100 g / L のスクロースを含有する 20 mL の水を使用し、濾過前の遠心分離ステップを含む方法 B に従って、各薬草組成物を処理して、対応する処理試料を得た。

【0119】

各処理試料の生物学的活性を、以前に記載された方法 C に従って、以下の *Staphylococcus aureus* 株：ATCC 25923 および ATCC 29213 を使用することによって決定した。

20

【0120】

1：10 の希釈での 2 植物ミックスおよび関連する分離された植物の処理試料の細菌浮遊成長および抗バイオフィルム形成阻害率は、表 1－4 に示される。

【表 5】

表 1－4：1：10 の希釈での 2 植物混合物処理試料および単一植物処理試料の浮遊成長およびバイオフィルム形成阻害（IBF）

		PC72	PA74	ミックス1
ATCC 25923	浮遊成長阻害	-9%	0%	-3%
	バイオフィルム形成阻害	12%	36%	24%
ATCC 29213	浮遊成長阻害	-10%	-7%	-6%
	バイオフィルム形成阻害	13%	5%	-2%
		PA13	PA74	ミックス2
ATCC 25923	浮遊成長阻害	20%	0%	19%
	バイオフィルム形成阻害	32%	36%	48%
ATCC 29213	浮遊成長阻害	16%	-7%	13%
	バイオフィルム形成阻害	33%	5%	37%
		PA21	PC72	ミックス3
ATCC 25923	浮遊成長阻害	26%	-9%	25%
	バイオフィルム形成阻害	44%	12%	51%
ATCC 29213	浮遊成長阻害	27%	-10%	18%
	バイオフィルム形成阻害	17%	13%	29%

30

40

【0121】

PC72 および PA74、ならびに関連するミックス1は、1：10 の希釈で、試験した株の両方に対して抗菌活性を示さず、限られた抗バイオフィルム活性を示した。各場合において、相乗効果は観察されなかった。

50

【0122】

PA13およびPA21を含有する全てのミックス（ミックス2および3）について、そのようなミックスがPC72またはPA74も含有した場合、1：10の希釈で試験した2つの株に対する抗菌効果に関して、相乗効果は認められなかった。

【0123】

*Ribes nigrum*および*Cochlearia officinalis*の両方が、抗菌効果を有することが知られていたことに注目することは興味深い。

【0124】

この比較例は、既知の抗菌活性および／または抗バイオフィルム活性を有する単一乾燥植物間のいかなる無作為な組み合わせも、相乗的活性が観察される水抽出物を得ることを可能にしないことを例示する。

【0125】

実施例2

この実施例では、我々は、実施例1で報告された3つのうち2つの植物を含有する薬草組成物から得られた異なる水抽出物の（そのような水抽出物が異なる方法に従って調製される場合の）、*Staphylococcus aureus*に対する同時の抗菌活性および抗バイオフィルム活性を例示する。

【0126】

医薬品グレードの乾燥植物を「Herboristerie Cailleau」（Chemille, フランス）から入手した。

【0127】

その内容物が表2-1に報告される20個の薬草組成物を、以前に報告された方法Aに従って調製した。

【表6】

表2-1：処理試料の薬草組成物

薬草組成物	PA13 (nbスプーン)	PA21 (nbスプーン)	PB12 (nbスプーン)
ミックス1		1	1
ミックス2	1		1

【0128】

各薬草組成物について、20個の液体（水）調製物を以下のように調製した。

収集した粉末を20本の50mLファルコンチューブ（Falcon, アメリカ合衆国）内に配置した。0、25、50、75、または100g/Lの食物グレードのスクロース（Daddy, フランス）を含有する20mLの食物グレードの天然水（Volvic, フランス）溶液を、条件毎に4本のフラコンチューブに添加した。そのような液体調製物を含む各ファルコンチューブを、ボルテックスミキサ（ThermoFisher, アメリカ合衆国）を使用して10秒間攪拌し、室温で10分間インキュベートし、次いで4つの異なる加熱処理を各条件に適用した。

－低温注入（遠心分離および濾過の前に加熱しない）：

室温でインキュベートした後、調製物を4,000rpmで10分間遠心分離し（Multifuge 35-R, Heraeus, ドイツ）、2mLの上清を10mLシリンジで収集し、0.2μmフィルタ（Minisart Syringe Filters, Sartorius, ドイツ）を使用して濾過し、2mLエッペンドルフチューブに収集し、使用するまで-20℃に保持した。操作の日に、調製物を37℃で解凍した。

－60℃で30分間加熱：

室温でインキュベートした後、調製物をオートクレーブ（VWR, アメリカ合衆国）内皮配置し、60℃で20分のサイクルを受けた。冷却した後、処理した調製物を4000r

pmで10分間遠心分離し（Multifuge 35-R, Heraeus, ドイツ）、2 mLの上清を10 mLシリンジで収集し、0.2 μMフィルタ（Minisart Syringe Filters, Sartorius, ドイツ）を使用して濾過し、2 mLエッペンドルフチューブに収集し、使用するまで-20℃に保持した。操作の日に、調製物を37℃で解凍した。

ー119℃で20分間加熱：

室温でインキュベートした後、調製物をオートクレーブ（VWR, アメリカ合衆国）内皮配置し、119℃で20分の滅菌サイクルを受けた。冷却した後、処理した調製物を使用するまで-20℃に保持した。操作の日に、調製物を37℃で解凍し、4000 rpmで10分間遠心分離し（Multifuge 35-R, Heraeus, ドイツ）、1 mLの上清を10 mLシリンジで収集し、0.2 μMフィルタ（Minisart Syringe Filters, Sartorius, ドイツ）を使用して濾過し、2 mLエッペンドルフチューブに収集した。

【0129】

これらの試料は、本明細書において、「処理試料」と呼ばれる。

【0130】

各処理試料の生物学的活性を、前述した方法Cに従って、Staphylococcus aureus株ATCC 25923を使用することによって決定した。

【0131】

1:10の希釈で、前に提示した異なる加熱処理の各々の後に薬草組成物から出発して調製した、20個の処理試料の細菌浮遊成長率が、表2-2に示される。

【表7】

表2-2：薬草組成物（表2-1のミックス1およびミックス2）から出発して調製した、1:10の希釈での20個の処理試料を用いたATCC 25923の浮遊成長

温度処理	スクロース濃度 (g/L)	ミックス1 処理試料	ミックス2 処理試料
低温注入	100	-4%	48%
	75	-3%	52%
	50	-4%	31%
	25	-4%	31%
	0	1%	0%
60℃ 30分	100	0%	82%
	75	4%	83%
	50	1%	83%
	25	1%	86%
	0	-4%	16%
119℃ 20分	100	103%	92%
	75	103%	91%
	50	70%	94%
	25	103%	99%
	0	96%	99%

【0132】

ミックス1から調製した全ての処理試料は、119℃での温度処理後にのみATCC 25923に対して抗菌効果を示したが、ミックス2は、スクロースなしの条件を除いて、全ての濃度のスクロースについて低温注入後（31～52%の阻害）、および処理試料がわずかに16%の浮遊成長阻害を示した60℃で処理されたスクロース添加なしの条件を除いて、全ての試験した温度処理後（82%超の阻害）に限られた抗菌効果を示した。温度処理は、

ミックス 2 の抗菌効果を高めた。ミックス 1 およびミックス 2 について試験した処理の中で最適な温度処理は、119℃、20 分間であった。

【0133】

抗菌効果に対するスクロース濃度の影響は、適用される温度処理に依存する。119℃で20 分間処理したミックス 1 について、100、75、25、および0 g/L のスクロースで同じ抗菌効果が得られ、50 g/L でより低い活性が観察された。ミックス 2 については、119℃の温度処理に対して、スクロース濃度にかかわらず同じ抗菌効果が得られた。

【0134】

1：10 の希釈で、前に提示した異なる加熱処理の各々の後に薬草組成物から出発して調製した、20 個の処理試料のバイオフィーム形成阻害（IBF）率が、表 2-3 に示される。

【表 8】

表 2-3：薬草組成物（表 2-1 のミックス 1 およびミックス 2）から出発して調製した、1：10 の希釈での 20 個の処理試料を用いた ATCC 25923 のバイオフィーム形成阻害（IBF）

温度処理	スクロース濃度（g/L）	ミックス 1 処理試料	ミックス 2 処理試料	温度処理	スクロース濃度（g/L）	ミックス 1 処理試料	ミックス 2 処理試料
低温注入	100	34%	74%	119℃ 20 分	100	91%	89%
	75	29%	72%		75	91%	88%
	50	22%	60%		50	75%	89%
	25	30%	55%		25	92%	87%
	0	54%	50%		0	90%	89%
60℃ 30 分	100	48%	91%				
	75	34%	94%				
	50	26%	91%				
	25	26%	88%				
	0	48%	78%				

【0135】

全ての試験条件において、処理試料は、ある程度の抗バイオフィーム効果を示した。

【0136】

ミックス 1 について、低温注入および 60℃の温度処理で、全ての濃度のスクロースに対して限られた抗バイオフィーム活性が観察された（22～55%の阻害）。75%の阻害を示した 50 g/L を除いて、全ての濃度のスクロースに対して 119℃の温度処理で、高い抗バイオフィーム活性（90%超の阻害）が観察された。

【0137】

ミックス 2 については、60℃および 119℃の温度処理に対して、スクロース濃度にかかわらず同等の抗バイオフィーム活性が得られた（77%超の阻害）。低温注入後、ミックス 2 は、スクロース濃度に応じて中程度から良好な抗バイオフィーム効果（50%～74%の阻害）を示し、スクロース濃度が高ければ高いほど、調製物はより活性であった。

【0138】

実施例 3

この実施例では、我々は、2～7 個の植物を含有する 12 個の混合物の *Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* に対する同時の抗菌活性および抗バイオフィーム活性を例示する。

【0139】

医薬品グレードの乾燥植物を、「Herboristerie Cailleau」（Chemille，フランス）から入手した。

【0140】

2～7個の植物粉末を含む薬草組成物を、200μLの粉末を収集することを可能にする目盛り付きスプーンを用いて、固定体積の植物粉末を収集することによって調製した。

前述した方法Aに従って、12個の薬草組成物を以下のように（表3－1）調製した。

【表9】

表3－1：処理試料の薬草組成物

薬草組成物	PA13 (nbスプーン)	PA21 (nbスプーン)	PB12 (nbスプーン)	PA11 (nbスプーン)	PA12 (nbスプーン)	PA22 (nbスプーン)	PA79 (nbスプーン)
ミックス[2P]-1	1	1					
ミックス[2P]-2		1	1				
ミックス[2P]-3	1		1				
ミックス[3P]-1	1	1	1				
ミックス[4P]-1	1	1	1	1			
ミックス[4P]-2	1	1	1		1		
ミックス[4P]-3	1	1	1			1	
ミックス[5P]-1	1	1	1		1	1	
ミックス[5P]-2	1	1	1	1		1	
ミックス[5P]-3	1	1	1	1	1		
ミックス[6P]-1	1	1	1	1	1	1	
ミックス[7P]-1	1	1	1	1	1	1	1

【0141】

水抽出のために100g/Lのスクロースを含有する20mLの水を使用し、濾過前の遠心分離ステップを含む、前述した方法Bに従って、12個の対応する処理試料を各薬草組成物から出発して調製した。

【0142】

処理試料の生物学的活性を、前述した方法Cに従って、以下のStaphylococcus aureus株：ATCC 25923、ATCC 29213、NCTC 12493、ATCC 33591、ATCC 33592、ATCC 43300、ATCC 700698、ATCC 700699、ATCC 9144、およびATCC BAA-44、ならびに以下のStaphylococcus epidermidis株：ATCC 12228、ATCC 700296、ATCC 49461、およびATCC 14990を使用することによって決定した。

【0143】

HIDの形態での12個の処理試料で観察された最小阻害濃度（MIC）、ならびにStaphylococcus aureusおよびStaphylococcus epidermidisの株全てにわたる平均有効性が、表3－2に示される。

【表 10】

表 3－2：Staphylococcus aureus の 10 個の株および Staphylococcus epidermidis の 4 つの株に対する 12 個の処理試料の H I D

		1 希釈 [2P]	2 希釈 [2P]	3 希釈 [2P]	1 希釈 [3P]	1 希釈 [4P]	2 希釈 [4P]	3 希釈 [4P]	1 希釈 [5P]	2 希釈 [5P]	3 希釈 [5P]	1 希釈 [6P]	1 希釈 [7P]
S.aureus	ATCC 25923	10	10	10	10	10	10	10	10	10	20	10	20
	ATCC 29213	10	10	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	NCTC 12493	10	10	10	10	10	20	20	20	20	20	20	20
	ATCC 33591	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20	20
	ATCC 33592	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	10	20
	ATCC 43300	10	10	0	10	10	10	10	10	10	10	10	20
	ATCC 700698	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	10	20
	ATCC 700699	10	10	10	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	ATCC 9144	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	10	20
	ATCC BAA-44	10	10	10	10	10	20	20	20	20	20	20	20
	平均	10.0	10.0	8.0	11.0	11.0	13.0	13.0	17.0	17.0	18.0	14.0	19.0
S.epidermidis	ATCC 12228	10	10	10	20	20	20	20	20	20	20	20	40
	ATCC 700296	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	40
	ATCC 49461	10	10	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	ATCC 14990	10	20	10	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	平均	12.5	15	15	20	20	20	20	20	20	20	20	30
	総平均	10.7	11.4	10.0	13.6	13.6	15.0	15.0	17.9	17.9	18.6	15.7	22.1

【0144】

この実施例において、観察された H I D がほとんどの場合、1：10～1：20 であるため、細菌浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の計算のための基準の希釈として、1：20 の希釈を選択した。1：20 の希釈での 12 個の処理試料の細菌浮遊成長阻害率、ならびに Staphylococcus aureus および Staphylococcus epidermidis の株全てにわたる平均有効性が、表 3－3 に示される。

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 3－3：1：20 の希釈での *Staphylococcus aureus* の 10 個の株および *Staphylococcus epidermidis* の 4 つの株に対する 12 個の処理試料の浮遊成長阻害

		12P 1	12P 2	12P 3	13P 1	14P 1	14P 2	14P 3	15P 1	15P 2	15P 3	16P 1	17P 1
S.aureus	ATCC 25923	12%	12%	9%	11%	20%	11%	20%	34%	41%	35%	21%	96%
	ATCC 29213	11%	11%	7%	11%	19%	11%	11%	33%	33%	33%	29%	45%
	NCTC 12493	19%	8%	5%	25%	21%	101%	97%	98%	108%	108%	96%	100%
	ATCC 33591	12%	8%	8%	12%	19%	16%	34%	104%	107%	111%	83%	98%
	ATCC 33592	19%	15%	12%	18%	26%	23%	26%	86%	105%	98%	38%	100%
	ATCC 43300	18%	11%	11%	15%	18%	18%	18%	33%	34%	37%	16%	97%
	ATCC 700698	11%	8%	8%	11%	11%	11%	16%	107%	97%	73%	40%	98%
	ATCC 700699	43%	36%	38%	87%	98%	99%	99%	100%	108%	112%	116%	98%
	ATCC 9144	12%	7%	8%	12%	24%	17%	24%	80%	97%	73%	43%	94%
	ATCC BAA-44	30%	11%	12%	32%	28%	83%	102%	100%	107%	110%	114%	103%
	平均	19%	13%	12%	23%	28%	39%	45%	78%	84%	79%	60%	93%
S.epidermidis	ATCC 12228	49%	49%	66%	94%	99%	99%	98%	99%	99%	104%	114%	97%
	ATCC 700296	87%	83%	78%	94%	99%	99%	95%	101%	98%	102%	105%	92%
	ATCC 49461	68%	68%	70%	93%	101%	101%	97%	102%	102%	106%	112%	93%
	ATCC 14990	38%	71%	61%	92%	103%	100%	95%	102%	102%	106%	107%	93%
	平均	61%	68%	69%	94%	100%	100%	96%	101%	100%	104%	109%	94%
総平均		31%	28%	28%	43%	49%	56%	59%	84%	88%	86%	74%	93%

【0145】

1：20 の希釈での 12 個の処理試料のバイオフィルム形成阻害（IBF）率、ならびに *Staphylococcus aureus* および *Staphylococcus epidermidis* の株全てにわたる平均有効性が、表 3－4 に示される。試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害およびバイオフィルム形成阻害率の平均有効性は、異なる細菌株に対する抗菌有効性および抗バイオフィルム有効性の優れた指標である。

10

20

30

40

50

【表 1 2】

表 3－4：1：20の希釈でのStaphylococcus aureusの10個の株およびStaphylococcus epidermidisの4つの株に対する12個の処理試料のバイオフィルム形成阻害（IBF）

		シックス [2 P] 1	シックス [2 P] 2	シックス [2 P] 3	シックス [3 P] 1	シックス [4 P] 1	シックス [4 P] 2	シックス [4 P] 3	シックス [5 P] 1	シックス [5 P] 2	シックス [5 P] 3	シックス [6 P] 1	シックス [7 P] 1
S.aureus	ATCC 25923	37%	14%	22%	18%	29%	36%	35%	51%	41%	40%	38%	90%
	ATCC 29213	49%	12%	38%	27%	33%	38%	25%	35%	38%	34%	38%	41%
	NCTC 12493	49%	-6%	47%	36%	35%	88%	87%	92%	92%	89%	47%	93%
	ATCC 33591	38%	-21%	30%	16%	20%	25%	19%	92%	91%	89%	57%	93%
	ATCC 33592	51%	-10%	26%	25%	43%	47%	31%	60%	78%	70%	43%	91%
	ATCC 43300	33%	-19%	24%	2%	18%	26%	2%	-15%	-22%	-18%	-19%	68%
	ATCC 700698	27%	-8%	20%	10%	25%	23%	13%	62%	61%	39%	24%	88%
	ATCC 700699	61%	34%	63%	64%	79%	78%	86%	89%	87%	86%	87%	90%
	ATCC 9144	33%	-10%	22%	16%	21%	10%	16%	37%	59%	28%	0%	81%
	ATCC BAA-44	50%	22%	47%	40%	39%	48%	89%	92%	90%	87%	91%	93%
	平均	43%	1%	34%	25%	34%	42%	40%	59%	62%	54%	41%	83%
S.epidermidis	ATCC 12228	62%	-32%	78%	84%	95%	92%	92%	92%	91%	93%	96%	96%
	ATCC 700296	61%	39%	78%	73%	85%	86%	84%	80%	75%	76%	79%	87%
	ATCC 49461	18%	15%	72%	84%	90%	90%	90%	88%	88%	86%	90%	94%
	ATCC 14990	68%	39%	68%	88%	94%	91%	92%	90%	90%	89%	91%	90%
	平均	52%	15%	74%	82%	91%	90%	89%	87%	86%	86%	89%	92%
	総平均	45%	5%	45%	42%	50%	56%	54%	67%	69%	63%	54%	85%

【0146】

2植物ミックス抽出物は、試験した10個のStaphylococcus aureus株のうち2個（ATCC 29213およびATCC 43300）に対して試験した希釈で抗菌性を示さなかったミックス [2 P] - 3を除いて、試験した10個のStaphylococcus aureus株で1：10の希釈において完全な抗菌活性を示した（表3－2を参照されたい）。

【0147】

3つの2植物ミックス抽出物は、試験した4個のStaphylococcus epidermidis株に対して異なる抗菌活性を示した。ミックス [2 P] - 1は、3つの株（ATCC 12228、ATCC

10

20

30

40

50

49461, およびATCC 14990) に対して1:10のHID、ならびにATCC 700296株に対して1:20のHIDを有した。ミックス[2P]-2は、2つの株(ATCC 12228 およびATCC 49461) に対して1:10のHID、および他の2つの株(ATCC 700296 およびATCC 14990) に対して1:20のHIDを有した。一方で、ミックス[2P]-3は、2つの株(ATCC 12228およびATCC 14990) に対して1:10のHID、ならびに他の2つの株(ATCC 700296およびATCC 49461) に対して1:20のHIDを示した(表3-2を参照されたい)。

【0148】

ミックス[2P]-1、ミックス[2P]-2、およびミックス[2P]-3に含まれる3つの植物から得られたミックス[3P]-1は、3つの2植物ミックスよりも広い抗菌活性を示した(試験した9つのStaphylococcus aureus株に対して1:10のHID、ATCC 700699に対して1:20のHID、4つのStaphylococcus epidermidisに対して1:20のHID)(表3-2を参照されたい)。抗菌活性の増加は、各植物ミックスの浮遊成長阻害率の計算によって確認される(表3-3を参照されたい)。

10

【0149】

3つの異なる植物、PA11、PA12、およびPA22を3植物ミックスであるミックス[3P]-1に添加して、3つの4植物ミックス抽出物、ミックス[4P]-1、ミックス[4P]-2、およびミックス[4P]-3のそれぞれを得た。これらの4植物ミックス抽出物は、3植物ミックス抽出物であるミックス[3P]-1と同じHIDまたはより良好なHIDを示し(表3-2を参照されたい)、3植物ミックス抽出物での23%と比較して、より高い浮遊成長阻害率である28%~45%の平均が、10個のStaphylococcus aureus株に対する4植物ミックス抽出物で得られる(表3-3を参照されたい)。

20

。それらはまた、3植物ミックス抽出物での25%と比較して、より高いバイオフィルム形成阻害率である34%~42%の平均が、10個のStaphylococcus aureus株に対する4植物ミックス抽出物で得られることを示した(表3-4を参照されたい)。

【0150】

5植物ミックスを、3つの選択された追加の植物の中の2つの植物を添加することによって調製した。3つの5植物ミックス抽出物は全て、4植物ミックス抽出物よりも高い抗菌活性および抗バイオフィルム活性を示した(表3-2、3-3、および3-4を参照されたい)。

30

【0151】

ミックス[6P]-1は、以前に試験された処理試料の調製に使用された6つの植物からなる。興味深いことに、6植物ミックス抽出物は、5植物ミックス抽出物よりも低い抗菌活性および抗バイオフィルム活性を示したが、4植物ミックス抽出物よりも高い抗菌効果およびより高いから同等の抗バイオフィルム効果を示した。抗菌活性および抗バイオフィルム活性は、新しい植物(PA79)の添加によって回復および増強された(表3-2、3-3、および3-4を参照されたい)。

【0152】

ミックス中の植物の数を増やすことは、抗菌活性および抗バイオフィルム活性が増強され、これらの活性のうち的一方または両方が同定され得る株の数が増加した、対応する水抽出物を調製することを可能にした。

40

【0153】

実施例4

この実施例では、我々は、実施例1に記載された3つの植物の中の少なくとも2つの植物と、3~10個の植物の混合物を形成するための追加の植物とを含む薬草組成物から得られた196個の水抽出物のStaphylococcus aureusに対する、同時の抗菌活性および抗バイオフィルム活性を例示する。

【0154】

医薬品グレードの乾燥植物を、「Pharmacie Fontgieve」(Clermont-Ferrand, フランス、植物PA00~PB12)、および「Pharmacie St Herem」(Clermont-Ferra

50

nd, フランス、植物 P B 1 3 ~ P D 0 8) から得た。

【 0 1 5 5】

4つの参照薬草組成物、ミックス [2 P] - 1、ミックス [2 P] - 2、ミックス [2 P] - 3、ミックス [3 P] - 1、および 196 個の新しい薬草組成物を、前述した方法 A に従って調製し、リスト 4 - 1 に報告される内容物を有した。

リスト 4 - 1 : 処理試料の薬草組成物

ミックス [2 P] - 1 : P A 1 3 ; P A 2 1 ;	
ミックス [2 P] - 2 : P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [2 P] - 3 : P A 1 3 ; P B 1 2 ;	
ミックス [3 P] - 1 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	10
ミックス [3 P] - 2 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ;	
ミックス [3 P] - 3 : P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [3 P] - 4 : P A 1 3 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [3 P] - 5 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P C 6 3 ;	
ミックス [3 P] - 6 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [3 P] - 7 : P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 2 9 ;	
ミックス [3 P] - 8 : P A 1 3 ; P B 1 2 ; P C 2 9 ;	
ミックス [3 P] - 9 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [4 P] - 1 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [4 P] - 2 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	20
ミックス [4 P] - 3 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;	
ミックス [4 P] - 4 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ;	
ミックス [4 P] - 5 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [4 P] - 6 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [4 P] - 7 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P B 1 2 ;	
ミックス [4 P] - 8 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [4 P] - 9 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [4 P] - 10 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 2 9 ;	
ミックス [5 P] - 1 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;	
ミックス [5 P] - 2 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;	30
ミックス [5 P] - 3 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ;	
ミックス [5 P] - 4 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;	
ミックス [5 P] - 5 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;	
ミックス [5 P] - 6 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ;	
ミックス [5 P] - 7 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [5 P] - 8 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 2 9 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 1 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;	
ミックス [6 P] - 2 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 3 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 4 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	40
ミックス [6 P] - 5 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 6 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 7 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 8 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 9 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 10 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P C 6 3 ;	
ミックス [6 P] - 11 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;	
ミックス [7 P] - 1 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2	50

; PA 7 9 ;
M [7 P] - 2 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PB 1 2 ; PB
4 9 ;
M [7 P] - 3 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PB 1 2 ; PC
2 9 ;
M [7 P] - 4 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PB 1 2 ; PC
6 3 ;
M [9 P] - 1 1 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; PB 1 2 ; P
B 4 9 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 2 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; PB 1 2 ; P
B 4 9 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 3 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; PB 1 2 ; P
B 4 9 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 4 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; PB 1 2 ; P
B 4 9 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 5 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 7 9 ; PB 1 2 ; P
B 4 9 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 6 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PB 1 2 ; P
B 4 9 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 7 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; P
B 4 9 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 8 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; P
B 1 2 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 1 9 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; P
B 1 2 ; PB 4 9 ; PC 6 3 ;
M [9 P] - 2 0 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 9 ; P
B 1 2 ; PB 4 9 ; PC 2 9 ;
M [1 0 P] - 4 0 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 2 3 ;
PA 6 7 ; PB 1 2 ; PC 2 7 ; PC 6 0 ;
M [1 0 P] - 4 4 : PA 1 3 ; PA 4 0 ; PA 4 1 ; PA 6 2 ; PA 7 5 ; PB 1 8 ;
PC 2 2 ; PC 6 3 ; PC 6 4 ; PD 0 5 ;
M [1 0 P] - 7 1 : PA 2 1 ; PA 8 5 ; PB 1 4 ; PB 1 8 ; PB 8 5 ; PC 1 9 ;
PC 6 1 ; PC 6 3 ; PD 0 5 ; PD 0 8 ;
M [1 0 P] - 7 5 : PA 0 2 ; PA 1 0 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 8 ; PA 2 1 ;
PA 2 7 ; PA 7 9 ; PB 8 6 ; PC 2 6 ;
M [1 0 P] - 8 4 : PA 1 0 ; PA 2 1 ; PA 2 7 ; PB 1 2 ; PB 1 5 ; PC 2 6 ;
PC 6 8 ; PD 0 5 ; PD 0 6 ; PD 0 8 ;
M [1 0 P] - 9 8 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ;
PA 2 7 ; PB 1 6 ; PB 1 8 ; PD 0 6 ;
M [1 0 P] - 1 0 2 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 9 ; PA 2 1 ; PA 4 1 ; PA 7 9
; PB 1 0 ; PC 2 6 ; PC 6 1 ; PC 6 4 ;
M [1 0 P] - 1 0 3 : PA 1 3 ; PA 1 7 ; PA 2 1 ; PA 2 4 ; PB 0 8 ; PB 4 9
; PB 8 5 ; PC 1 5 ; PC 2 9 ; PD 0 5 ;
M [1 0 P] - 1 0 5 : PA 1 0 ; PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 8 ; PA 1 9 ; PA 2 1
; PA 2 2 ; PB 1 2 ; PC 6 3 ; PD 0 8 ;
M [1 0 P] - 1 0 9 : PA 1 0 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 7 ; PA 7 5
; PB 1 4 ; PB 1 6 ; PC 4 5 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 1 1 2 : PA 0 8 ; PA 1 3 ; PA 1 5 ; PA 1 7 ; PA 1 8 ; PA 2 1
; PA 2 7 ; PB 1 8 ; PB 4 1 ; PB 8 1 ;
M [1 0 P] - 1 1 5 : PA 1 3 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 6 2 ; PA 7 9

10

20

30

40

50

; PB08; PB19; PC15; PC61;
M [10P] -119: PA11; PA13; PA14; PA24; PB12; PB41
; PB49; PC51; PD06; PD08;
M [10P] -123: PA10; PA13; PA15; PA20; PA21; PA75
; PB12; PB18; PB49; PC63;
M [10P] -124: PA08; PA13; PA21; PA24; PA27; PB08
; PB41; PB49; PC64; PD05;
M [10P] -125: PA13; PA14; PA19; PA21; PA75; PB12
; PC15; PC26; PC61; PC63;
M [10P] -129: PA08; PA12; PA18; PA21; PA41; PB08
; PB85; PC63; PC64; PD08;
M [10P] -130: PA12; PA13; PA21; PA24; PA27; PB10
; PB41; PB49; PC15; PC61;
M [10P] -132: PA12; PA20; PA21; PA24; PC15; PC26
; PC61; PC63; PC64; PD08;
M [10P] -134: PA21; PA22; PA24; PA27; PB10; PB12
; PB49; PC15; PC29; PD05;
M [10P] -136: PA10; PA11; PA12; PA13; PA18; PA21
; PB16; PB18; PC26; PC29;
M [10P] -140: PA13; PA15; PA21; PA24; PA62; PA79
; PB10; PB12; PC63; PC64;
M [10P] -142: PA11; PA12; PA13; PA19; PA21; PB12
; PB85; PC15; PC26; PC64;
M [10P] -144: PA13; PA15; PA21; PA24; PA75; PB49
; PC51; PC61; PC64; PD05;
M [10P] -145: PA12; PA13; PA17; PA20; PA21; PA79
; PB08; PB16; PB85; PC63;
M [10P] -148: PA10; PA13; PA20; PA24; PB08; PB12
; PB49; PC26; PC51; PC64;
M [10P] -149: PA13; PA14; PA15; PA19; PA21; PB08
; PB10; PB41; PC15; PC61;
M [10P] -150: PA10; PA12; PA13; PA14; PA21; PA62
; PB10; PC26; PC64; PD06;
M [10P] -151: PA10; PA13; PA21; PA22; PA24; PA41
; PB49; PC15; PC61; PC63;
M [10P] -152: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA27
; PA75; PB12; PB49; PB85;
M [10P] -154: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79
; PB12; PB49; PC29; PC63;
M [10P] -156: PA15; PA21; PA22; PB10; PB85; PC26
; PC29; PC61; PC63; PC64;
M [10P] -157: PA11; PA13; PA15; PA19; PA21; PB18
; PB41; PC15; PC51; PD08;
M [10P] -158: PA10; PA17; PA21; PA24; PA27; PA41
; PB49; PC26; PC61; PC63;
M [10P] -160: PA10; PA12; PA13; PA15; PA18; PA20
; PA21; PA24; PB12; PC26;
M [10P] -162: PA12; PA13; PA21; PA27; PA79; PB12
; PB16; PB18; PC63; PC64;
M [10P] -164: PA12; PA13; PA15; PA19; PA21; PA27

10

20

30

40

50

; PB08; PB12; PB49; PD05;
M [10P] -165: PA13; PA15; PA22; PA75; PA79; PB12
; PB18; PC15; PC26; PC29;
M [10P] -167: PA12; PA13; PA75; PB08; PB12; PB85
; PC15; PC51; PC61; PC63;
M [10P] -168: PA11; PA13; PA17; PA21; PA27; PA62
; PA79; PB16; PB49; PC64;
M [10P] -169: PA12; PA17; PA21; PA24; PA75; PA79
; PB10; PB12; PB85; PC15;
M [10P] -170: PA11; PA13; PA15; PA20; PA21; PA22
; PC26; PC29; PC63; PC64;
M [10P] -172: PA13; PA20; PA21; PA75; PB10; PB12
; PB18; PB49; PC29; PC61;
M [10P] -173: PA10; PA12; PA13; PA14; PA19; PA20
; PA21; PA79; PC15; PC63;
M [10P] -174: PA11; PA12; PA13; PA27; PA62; PB12
; PB16; PB49; PB85; PC26;
M [10P] -175: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA75
; PB10; PB49; PC15; PC63;
M [10P] -176: PA11; PA13; PA21; PA24; PA62; PB12
; PC15; PC26; PC61; PC64;
M [10P] -178: PA11; PA14; PA15; PA18; PA19; PA21
; PA22; PB16; PC15; PC63;
M [10P] -180: PA08; PA11; PA12; PA13; PA15; PA17
; PA21; PA62; PB12; PC63;
M [10P] -181: PA13; PA19; PA21; PA22; PA79; PB08
; PB10; PB18; PC15; PC29;
M [10P] -182: PA11; PA15; PA20; PA21; PA22; PA75
; PB12; PC29; PC63; PC64;
M [10P] -183: PA11; PA12; PA13; PA27; PA79; PB16
; PB18; PB49; PC15; PC63;
M [10P] -184: PA11; PA13; PA15; PA20; PA21; PA22
; PA27; PA75; PB12; PC29;
M [10P] -186: PA11; PA15; PA19; PA20; PA21; PA22
; PA27; PB10; PB12; PB85;
M [10P] -188: PA11; PA12; PA13; PA19; PA21; PA75
; PA79; PB49; PC15; PC63;
M [10P] -190: PA11; PA13; PA21; PA22; PA27; PA75
; PB10; PB12; PB49; PC63;
M [10P] -191: PA13; PA19; PA20; PA21; PA79; PB10
; PB18; PB85; PC29; PC61;
M [10P] -192: PA12; PA13; PA19; PA21; PA27; PA75
; PB12; PB49; PC63; PC64;
M [10P] -193: PA13; PA15; PA20; PA21; PA79; PB16
; PC15; PC26; PC29; PC61;
M [10P] -194: PA11; PA17; PA21; PA22; PA27; PB12
; PB49; PC15; PC63; PC64;
M [10P] -196: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA75
; PB10; PB18; PC51; PC63;
M [10P] -197: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA24

10

20

30

40

50

; PA 7 9 ; PB 4 9 ; PC 6 1 ; PC 6 4 ;
M [1 0 P] - 1 9 8 : PA 1 2 ; PA 1 5 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PB 1 2 ; PB 1 6
; PB 8 5 ; PC 1 5 ; PC 2 6 ; PC 2 9 ;
M [1 0 P] - 1 9 9 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 5 ; PA 2 1 ; PA 7 5
; PB 1 2 ; PC 1 5 ; PC 6 3 ; PC 6 4 ;
M [1 0 P] - 2 0 1 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 7
; PA 7 5 ; PB 1 2 ; PB 4 9 ; PC 6 4 ;
M [1 0 P] - 2 0 2 : PA 1 1 ; PA 2 1 ; PA 7 5 ; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PB 6 1
; PC 2 6 ; PC 2 9 ; PC 4 2 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 0 5 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 1 9 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 7
; PA 7 5 ; PB 1 2 ; PB 4 1 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 0 7 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 7 5 ; PB 1 0 ; PB 1 2
; PB 4 1 ; PB 5 1 ; PC 4 5 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 0 9 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 4 ; PA 7 5 ; PB 1 2
; PB 1 6 ; PB 4 9 ; PB 6 0 ; PC 1 5 ;
M [1 0 P] - 2 1 0 : PA 1 3 ; PA 1 5 ; PA 2 0 ; PA 2 2 ; PA 2 7 ; PB 0 8
; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PB 1 8 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 1 2 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 7 ; PA 7 5
; PB 1 2 ; PB 1 6 ; PC 1 5 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 1 4 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 5 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 5
; PB 1 2 ; PB 4 9 ; PC 1 5 ; PC 6 1 ;
M [1 0 P] - 2 1 5 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 5 ; PB 1 2
; PC 0 2 ; PC 2 9 ; PC 5 1 ; PC 6 4 ;
M [1 0 P] - 2 1 6 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 7 ; PA 7 5
; PA 8 5 ; PB 1 8 ; PB 4 9 ; PC 4 9 ;
M [1 0 P] - 2 1 7 : PA 1 8 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 5 ; PB 1 0
; PB 1 2 ; PB 1 6 ; PB 8 5 ; PC 6 4 ;
M [1 0 P] - 2 1 8 : PA 1 0 ; PA 1 3 ; PA 1 5 ; PA 2 0 ; PA 2 2 ; PA 2 7
; PB 1 8 ; PB 4 9 ; PC 5 1 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 1 9 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 5 ; PA 1 9 ; PA 2 1 ; PA 2 2
; PA 7 5 ; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PC 2 6 ;
M [1 0 P] - 2 2 0 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 9 ; PA 2 1 ; PA 2 2
; PA 2 7 ; PB 1 2 ; PB 4 9 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 2 1 : PA 1 3 ; PA 1 5 ; PA 1 9 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 4 1
; PA 7 5 ; PB 1 2 ; PC 1 5 ; PC 6 0 ;
M [1 0 P] - 2 2 2 : PA 0 5 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 5 ; PA 7 9
; PB 4 9 ; PC 2 6 ; PC 2 9 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 2 3 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 2 ; PA 2 5 ; PA 7 5
; PB 1 2 ; PB 4 9 ; PC 6 1 ; PC 6 4 ;
M [1 0 P] - 2 2 5 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 7 ; PB 1 0 ; PB 1 2
; PC 2 9 ; PC 6 3 ; PC 6 4 ; PD 0 8 ;
M [1 0 P] - 2 2 6 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 2 1 ; PA 3 9 ; PA 7 9 ; PB 1 8
; PB 4 9 ; PB 8 5 ; PC 6 1 ; PC 6 3 ;
M [1 0 P] - 2 2 7 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 5 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 2 2
; PB 1 2 ; PB 4 2 ; PC 1 5 ; PC 2 6 ;
M [1 0 P] - 2 2 9 : PA 1 3 ; PA 2 0 ; PA 6 2 ; PA 7 9 ; PB 1 2 ; PB 4 6
; PB 8 5 ; PC 2 9 ; PC 6 4 ; PD 0 8 ;
M [1 0 P] - 2 3 0 : PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 7 5
; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PB 5 8 ; PC 6 1 ;
M [1 0 P] - 2 3 2 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 5 ; PA 2 2 ; PA 2 7 ; PA 8 3

10

20

30

40

50

; PB12; PB49; PC26; PC63;
M [10P] - 235: PA12; PA13; PA15; PA20; PA21; PA22
; PC29; PC51; PC63; PC65;
M [10P] - 236: PA12; PA13; PA20; PA21; PA27; PA75
; PB50; PB85; PC29; PC64;
M [10P] - 237: PA11; PA13; PA15; PA21; PA27; PA75
; PB10; PB12; PC63; PC70;
M [10P] - 239: PA10; PA11; PA12; PA20; PA21; PB10
; PB41; PB49; PC63; PD08;
M [10P] - 240: PA11; PA12; PA15; PA21; PA27; PA79
; PB46; PC29; PC51; PC63;
M [10P] - 241: PA11; PA14; PA20; PA21; PA22; PA75
; PB12; PB18; PC15; PC29;
M [10P] - 242: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79
; PB18; PB49; PC51; PC63;
M [10P] - 244: PA11; PA12; PA13; PA20; PA22; PA27
; PB10; PB12; PC63; PC64;
M [10P] - 246: PA11; PA12; PA13; PA21; PA61; PA79
; PB10; PB12; PB18; PB85;
M [10P] - 247: PA11; PA12; PA21; PA27; PB16; PB49
; PC21; PC51; PC61; PC63;
M [10P] - 248: PA11; PA13; PA14; PA19; PA21; PA75
; PA79; PB14; PB49; PC15;
M [10P] - 250: PA11; PA12; PA15; PA20; PA21; PA41
; PA75; PB49; PC26; PC63;
M [10P] - 251: PA12; PA13; PA21; PA22; PA27; PA79
; PB10; PB12; PB13; PB16;
M [10P] - 252: PA11; PA13; PA20; PA21; PA44; PB08
; PB12; PB18; PB88; PD06;
M [10P] - 253: PA10; PA11; PA12; PA13; PA15; PA21
; PA22; PA27; PA79; PC63;
M [10P] - 255: PA11; PA13; PA21; PA75; PB12; PB18
; PB49; PC15; PC26; PC63;
M [10P] - 256: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA23
; PA75; PA79; PC29; PC64;
M [10P] - 257: PA13; PA20; PA21; PA27; PB12; PB49
; PB83; PC29; PC63; PD00;
M [10P] - 258: PA12; PA13; PA20; PA21; PA22; PA75
; PB10; PB12; PC15; PC63;
M [10P] - 262: PA11; PA12; PA21; PA31; PA75; PB49
; PB85; PC61; PC63; PC64;
M [10P] - 264: PA21; PA24; PA27; PA31; PA79; PB10
; PB18; PB49; PC15; PC63;
M [10P] - 267: PA11; PA12; PA21; PA22; PA75; PC29
; PC51; PC52; PC61; PC63;
M [10P] - 268: PA11; PA12; PA13; PA15; PA27; PA75
; PB10; PB12; PB45; PC64;
M [10P] - 269: PA13; PA20; PA21; PA22; PA79; PB10
; PB11; PB49; PC61; PC63;
M [10P] - 270: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA75

10

20

30

40

50

; PB12; PB14; PB18; PC49;
M [10P] - 271: PA11; PA13; PA20; PA22; PA27; PA45
; PB08; PB12; PB49; PC64;
M [10P] - 272: PA13; PA21; PA24; PA79; PB10; PB12
; PB41; PC15; PC29; PC63;
M [10P] - 273: PA11; PA15; PA21; PA22; PA27; PA75
; PB12; PB14; PC64; PD00;
M [10P] - 274: PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PB49
; PC26; PC51; PC63; PC64;
M [10P] - 278: PA13; PA15; PA21; PA22; PA75; PA79
; PB10; PB12; PB49; PC63;
M [10P] - 280: PA11; PA12; PA15; PA21; PB08; PB12
; PB18; PB49; PB58; PC51;
M [10P] - 281: PA11; PA12; PA20; PA21; PA22; PA27
; PA29; PA75; PB16; PC63;
M [10P] - 282: PA10; PA13; PA21; PA22; PA27; PA79
; PB12; PC15; PC29; PC61;
M [10P] - 284: PA11; PA13; PA20; PA21; PA22; PA27
; PA95; PC15; PC29; PC63;
M [10P] - 285: PA11; PA13; PA14; PA21; PA79; PB10
; PB12; PB18; PB49; PB82;
M [10P] - 286: PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA21
; PA79; PC51; PC64; PC82;
M [10P] - 287: PA12; PA13; PA19; PA20; PA75; PB10
; PB12; PC26; PC63; PD08;
M [10P] - 289: PA12; PA13; PA15; PA19; PA20; PA21
; PB10; PB12; PC29; PC51;
M [10P] - 290: PA11; PA12; PA13; PA22; PA27; PA75
; PB85; PC29; PC63; PD07;
M [10P] - 292: PA12; PA13; PA15; PA75; PA79; PB10
; PB12; PC29; PC45; PC63;
M [10P] - 293: PA00; PA11; PA12; PA13; PA21; PA27
; PA75; PB18; PB85; PC26;
M [10P] - 294: PA12; PA13; PA15; PA21; PA22; PA79
; PB12; PB49; PC51; PC63;
M [10P] - 296: PA11; PA13; PA15; PA17; PA21; PA62
; PA79; PB10; PB12; PC63;
M [10P] - 300: PA12; PA13; PA17; PA48; PB10; PB12
; PB16; PC26; PC29; PC63;
M [10P] - 301: PA11; PA12; PA13; PA20; PA21; PA75
; PB08; PC15; PC35; PC51;
M [10P] - 302: PA11; PA12; PA13; PA21; PA70; PB12
; PB16; PB18; PC26; PC63;
M [10P] - 303: PA11; PA12; PA15; PA21; PA75; PA79
; PB10; PB12; PC29; PC64;
M [10P] - 307: PA12; PA13; PA21; PB10; PB12; PB18
; PB78; PC51; PC63; PD08;
M [10P] - 308: PA17; PA21; PA22; PA27; PB12; PB49
; PB85; PC15; PC26; PC29;
M [10P] - 309: PA13; PA22; PA27; PA53; PA62; PA75

10

20

30

40

50

; P B 1 0 ; P C 5 1 ; P C 6 3 ; P D 0 6 ;
 M [1 0 P] - 3 1 1 : P A 1 2 ; P A 1 5 ; P A 1 9 ; P A 2 1 ; P A 7 9 ; P B 1 2
 ; P B 4 9 ; P C 2 6 ; P C 6 3 ; P C 8 3 ;
 M [1 0 P] - 3 1 2 : P A 0 0 ; P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9
 ; P A 7 5 ; P B 1 0 ; P B 8 5 ; P C 2 9 ;
 M [1 0 P] - 3 1 3 : P A 1 3 ; P A 1 5 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 7 ; P A 7 5
 ; P B 4 9 ; P C 5 1 ; P C 6 1 ; P C 6 3 ;
 M [1 0 P] - 3 1 4 : P A 0 8 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 1 0 ; P B 1 2
 ; P B 4 9 ; P C 1 5 ; P C 3 2 ; P C 6 4 ;
 M [1 0 P] - 3 1 5 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 4 7 ; P A 7 5 ; P B 1 6
 ; P B 8 3 ; P C 1 5 ; P C 5 1 ; P C 6 3 ;
 M [1 0 P] - 3 1 7 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 9 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 7 9
 ; P B 1 0 ; P B 1 6 ; P C 2 9 ; P C 6 3 ;
 M [1 0 P] - 3 1 9 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 2 ; P A 7 5 ; P A 7 9 ; P A 9 8
 ; P B 0 8 ; P B 1 0 ; P B 8 5 ; P C 6 3 ;
 M [1 0 P] - 3 2 1 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2
 ; P B 4 9 ; P B 8 5 ; P C 5 5 ; P C 6 3 。

【 0 1 5 6 】

水抽出のために 1 0 0 g / L のスクロースを含有する 2 0 m L の水を使用し、濾過前の遠心分離ステップを含む、前述した方法 B に従って、そのような薬草組成物の対応する水抽出物（または処理試料）を調製した。

【 0 1 5 7 】

前述した方法 C に従って、以下の処理試料の最終希釈：1 0 スプーン未満の植物粉末を含有する処理試料（M [2 P] ～ M [9 P] ）に対して 1 : 1 0 、1 : 2 0 、1 : 4 0 、および 1 : 8 0 、または 1 0 スプーンの植物粉末を含有する処理試料（M [1 0 P] ）に対して 1 : 2 0 、1 : 6 3 、および 1 : 2 0 0 で、以下の *Staphylococcus aureus* 株：ATCC 25923、ATTC 49476、ATTC 6538、ATTC 51740、ATCC 29213、および ATTC 14775 を使用することによって、処理試料の生物学的活性を決定した。

【 0 1 5 8 】

1 : 2 0 の希釈でのミックス [2 P] - 1 の 2 つの植物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均が、表 4 - 1 に示される。

10

20

30

40

50

【表 1 3】

表4-1: 1:20の希釈でのミックス[2P]-1に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均

(A)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-1	22%	36%
M[10P]-124	28%	47%
M[10P]-236	24%	50%
M[10P]-193	27%	54%
M[10P]-286	45%	38%
ミックス[5P]-6	39%	45%
M[10P]-197	32%	55%
M[10P]-112	40%	49%
M[10P]-157	41%	52%
M[10P]-136	39%	55%
M[10P]-144	45%	52%
M[10P]-191	39%	57%
M[10P]-168	44%	53%
M[10P]-115	44%	54%
M[10P]-98	48%	51%
M[10P]-102	51%	54%
M[10P]-150	49%	59%
M[10P]-103	51%	58%
M[10P]-130	57%	61%
M[10P]-149	56%	63%
M[10P]-181	65%	70%

(B)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-1	22%	36%
M[10P]-75	23%	40%
M[10P]-216	22%	41%
M[10P]-256	19%	47%
M[10P]-248	14%	48%

(C)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-1	22%	36%
ミックス[3P]-2	27%	26%
ミックス[4P]-4	27%	29%
M[10P]-293	28%	32%
M[10P]-301	28%	28%
M[10P]-312	40%	37%

【 0 1 5 9】

5 または 1 0 個の植物を含有する薬草組成物から得られた 2 0 個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス [2 P] - 1 よりも高い抗バイオフィーム活性および抗菌活性を有することが見出された (表 4 - 1 A) 。 4 つの 1 0 植物ミックス抽出物が、より高い抗バイオフィーム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された (表 4 - 1 B) 。 3 、 4 、または 1 0 個の植物を含有する 5 つの処理試料は、より高い抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィーム活性を有することが見出された (表 4 - 1 C) 。

【 0 1 6 0】

1 : 2 0 の希釈でのミックス [2 P] - 2 の 2 つの植物を含有する薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィーム形成阻害率平均が、表 4 - 2 に示される。

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 1】

表4-2: 1:20の希釈でのミックス[2P]-2に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均。(A)より高い抗菌活性および抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物。(B)抗バイオフィーム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を示すミックス抽出物。(C)抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物。

(A)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-2	12%	-3%
M[10P]-308	16%	13%
ミックス[3P]-7	23%	9%
M[10P]-264	15%	29%
M[10P]-317	36%	9%
M[10P]-217	17%	28%
M[10P]-280	21%	27%
ミックス[6P]-7	36%	16%
M[10P]-267	17%	36%
ミックス[3P]-3	27%	28%
M[10P]-247	16%	40%
M[10P]-214	23%	33%
M[10P]-303	35%	22%
M[10P]-281	17%	42%
M[10P]-273	19%	41%

(B)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-2	12%	-3%
M[10P]-84	9%	27%
M[10P]-158	12%	30%
M[10P]-071	11%	35%
M[10P]-227	12%	42%
M[10P]-250	11%	44%
M[10P]-226	13%	51%

(C)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-2	12%	-3%
ミックス[4P]-6	19%	-5%

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 2】

ミックス[5P]-4	34%	27%
M[10P]-198	16%	46%
M[10P]-241	26%	38%
M[10P]-132	23%	41%
M[10P]-239	28%	44%
M[10P]-262	25%	48%
M[10P]-129	28%	46%
M[10P]-186	31%	44%
M[10P]-311	40%	38%
M[10P]-134	32%	48%
M[10P]-182	40%	44%
M[10P]-178	39%	45%
M[10P]-202	37%	50%
M[10P]-156	40%	48%
M[10P]-194	41%	49%
M[10P]-105	47%	44%
M[10P]-240	42%	61%
M[10P]-169	53%	57%
M[9P]-13	100%	86%

10

20

【 0 1 6 1】

3、5、9、または10個の植物を含有する薬草組成物から得られた33個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス[2P]-2よりも高い抗バイオフィルム活性および抗菌活性を有することが見出された(表4-2A)。6つの10植物ミックス抽出物が、より高い抗バイオフィルム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された(表4-2B)。1つの4植物ミックス抽出物が、より高い抗菌活性および同等の抗バイオフィルム活性を有することが見出された(表4-2C)。

30

【 0 1 6 2】

1:20の希釈でのミックス[2P]-3の2つの植物を含有する薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均が、表4-3に示される。

40

50

【表 15】

表4-3: 1:20の希釈でのミックス[2P]-3に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均。(A)より高い抗菌活性および抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物。(B)抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物。

(A)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-3	12%	28%
M[10P]-44	15%	35%
M[10P]-271	13%	47%
M[10P]-218	19%	42%
M[10P]-268	16%	46%
ミックス[3P]-4	17%	47%
M[10P]-210	22%	42%
M[10P]-165	22%	42%
ミックス[5P]-5	29%	36%
M[10P]-287	34%	31%
M[10P]-148	28%	41%
M[10P]-290	31%	39%
M[10P]-229	15%	56%
M[6P]-8	34%	40%
M[10P]-319	38%	37%
M[10P]-244	21%	56%
M[10P]-223	23%	55%
M[10P]-232	25%	61%
M[10P]-119	42%	48%
M[10P]-183	39%	51%
M[10P]-292	47%	48%
M[10P]-174	47%	59%
M[10P]-167	80%	71%
M[9P]-14	90%	83%

(B)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-3	12%	28%
ミックス[4P]-7	17%	5%
ミックス[3P]-8	19%	14%
M[10P]-300	20%	15%
M[10P]-309	33%	2%

10

20

30

【0163】

3、5、9、または10個の植物を含有する薬草組成物から得られた23個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス[2P]-3よりも高い抗バイオフィーム活性および抗菌活性を有することが見出された(表4-3A)。3、4、または10個の植物を含有する薬草組成物から得られた4つの処理試料は、より高い抗バイオフィーム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された(表4-3B)。

40

【0164】

1:20の希釈でのミックス[3P]-1の3つの植物を含有する薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィーム形成阻害率平均が、表4-4に示される。

50

【表 16-1】

表4-4: 1:20の希釈でのミックス[3P]-1に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus 株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均。(A)より高い抗菌活性および抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物。(B)抗バイオフィーム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を示すミックス抽出物。(C)抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物。

(A)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[3P]-1	31%	15%
ミックス[4P]-8	37%	20%
ミックス[6P]-10	33%	25%
M[10P]-314	34%	24%
ミックス[4P]-2	37%	22%
ミックス[6P]-11	35%	27%
ミックス[4P]-3	41%	24%
M[10P]-315	39%	27%
M[10P]-284	41%	31%
M[10P]-321	37%	39%
M[10P]-109	36%	43%
M[10P]-302	44%	35%
ミックス[5P]-8	43%	40%
M[6P]-9	51%	35%
M[10P]-160	35%	52%
M[10P]-212	43%	45%
M[10P]-274	38%	51%
M[10P]-246	34%	56%
M[10P]-205	42%	48%
M[10P]-285	52%	39%
M[10P]-201	37%	54%
M[10P]-222	32%	59%
ミックス[4P]-10	52%	40%
M[10P]-230	38%	54%
M[10P]-220	43%	50%
ミックス[5P]-2	51%	42%
ミックス[5P]-1	50%	44%
M[10P]-215	38%	55%

(B)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[3P]-1	31%	15%
ミックス[3P]-6	16%	20%
ミックス[4P]-9	30%	21%
ミックス[3P]-9	19%	23%
M[10P]-282	24%	26%
ミックス[3P]-5	29%	36%
M[10P]-269	14%	37%
M[10P]-278	18%	40%
M[10P]-219	30%	42%
M[10P]-255	20%	43%
M[10P]-270	15%	43%
M[10P]-251	13%	44%
M[10P]-258	20%	44%
M[10P]-209	21%	45%
M[10P]-221	17%	49%
M[10P]-253	21%	49%
M[10P]-252	18%	50%
M[10P]-257	18%	51%
M[10P]-242	29%	54%

(C)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[3P]-1	31%	15%
ミックス[4P]-1	37%	15%
M[10P]-313	38%	12%

10

20

30

40

50

【表 16-2】

ミックス[6P]-6	56%	38%
M[10P]-235	40%	54%
M[10P]-207	43%	53%
ミックス[5P]-3	51%	48%
M[10P]-307	58%	43%
M[10P]-289	60%	41%
M[10P]-272	40%	62%
M[10P]-184	48%	55%
M[10P]-151	48%	57%
M[10P]-123	51%	55%
M[6P]-1	60%	50%
M[6P]-5	61%	51%
M[7P]-3	61%	54%
M[10P]-192	57%	60%
M[10P]-164	58%	59%
M[7P]-1	62%	57%
M[10P]-296	63%	60%
M[6P]-4	73%	51%
ミックス[5P]-7	64%	60%
M[6P]-2	68%	57%
M[10P]-225	60%	66%
M[10P]-188	65%	61%
ミックス[4P]-5	61%	66%
M[10P]-125	66%	62%
M[10P]-173	65%	67%
M[10P]-237	69%	63%
M[7P]-3	71%	64%
M[10P]-294	71%	65%
M[10P]-199	70%	69%
M[10P]-142	71%	69%
ミックス[6P]-3	72%	68%
M[10P]-145	72%	69%
M[10P]-180	72%	70%
M[10P]-140	72%	71%
M[10P]-162	73%	70%
M[10P]-176	74%	70%
M[10P]-172	72%	73%
M[10P]-152	71%	74%
M[10P]-40	77%	68%

10

20

30

40

50

【表 16-3】

M[7P]-4	72%	76%
M[10P]-170	80%	74%
M[10P]-196	78%	77%
M[10P]-190	82%	76%
M[10P]-154	80%	79%
M[10P]-175	84%	77%
M[9P]-20	93%	81%
M[9P]-17	95%	84%
M[9P]-19	95%	86%
M[9P]-11	96%	91%
M[9P]-18	98%	89%
M[9P]-12	103%	91%
M[9P]-15	106%	88%
M[9P]-16	106%	91%

10

【0165】

20

4、5、6、7、9、または10個の植物を含有する薬草組成物から得られた80個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス[3P]-1よりも高い抗バイオフィルム活性および抗菌活性を有することが見出された(表4-4A)。3、4、または10個の植物を含有する薬草組成物から得られた18個の処理試料は、より高い抗バイオフィルム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された(表4-4B)。4および10個の植物の薬草組成物から得られた2つの処理試料は、より高い抗菌活性および同等の抗バイオフィルム活性を有することが見出された(表4-4C)。

【0166】

比較例2

比較例として、我々は、*Staphylococcus aureus*に対して抗菌活性および抗バイオフィルム活性を全く有しないか、不十分であることが見出された、実施例1の3つの植物(PA13、PA21、PB12)のうちの1つの植物のみを含有する薬草組成物から得られたいくつかの3または10植物ミックス抽出物を例示する。

30

【0167】

その内容物がリスト4-8に報告される10個の薬草組成物を、前述した方法Aに従って調製した。

リスト4-8：処理試料の薬草組成物

M[3P]-31: PA21; PA05; PB06;
M[3P]-35: PA21; PA76; PB50;
M[3P]-37: PA21; PB06; PB50;
M[3P]-43: PB12; PA05; PC34;
M[3P]-45: PB12; PA76; PB50;
M[10P]-65: PA01; PA08; PA25; PA29; PA37; PB12;
PB50; PC15; PC37; PD05;
M[10P]-70: PA10; PA16; PA21; PA25; PA37; PA75;
PB18; PB45; PC04; PC57;
M[10P]-72: PA08; PA21; PA62; PA70; PA85; PB19;
PB31; PB45; PB49; PC26;
M[10P]-89: PA10; PA13; PA18; PA19; PA37; PA41;
PA75; PB49; PC21; PC67;

40

50

M [10P] - 306 : PA15 ; PA21 ; PA22 ; PA62 ; PA75 ; PB18 ; PB49 ; PB85 ; PC49 ; PC61 ;

【0168】

対応する薬草組成物から出発して、10個の水抽出物（または処理試料）を調製した。

【0169】

1 : 20の希釈でのそのような処理試料についての試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均を、以前に報告された方法Cに従って決定し、表4-5に示す。

【表17】

表4-5 : 1 : 20の希釈での処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害率の有効性の平均。

	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
ミックス [2P] - 1	22%	36%
ミックス [2P] - 2	12%	-3%
ミックス [2P] - 3	12%	28%
M [3P] - 45	-4%	-5%
M [3P] - 35	0%	-8%
M [3P] - 37	2%	-9%
M [3P] - 31	2%	-9%
M [3P] - 43	1%	-1%
M [10P] - 72	3%	1%
M [10P] - 70	1%	15%
M [10P] - 306	10%	6%
M [10P] - 65	3%	17%
M [10P] - 89	10%	27%

【0170】

実施例1の3つの植物（PA13、PA21、PB12）の中の1つの植物を含んだ3または10個の植物からなる薬草組成物から得られた試験した全ての処理試料は、参照ミックス [2P] - 1（PA13およびPA21から得られる）、ミックス [2P] - 2（PA21およびPB12から得られる）、ならびにミックス [2P] - 3（PA13およびPB12から得られる）の3つの2植物ミックス抽出物よりも低い抗菌活性、ならびにミックス [2P] - 1およびミックス [2P] - 3よりも低い抗バイオフィルム活性を示した。

【0171】

実施例5

この実施例では、我々は、実施例1に記載された3つの植物（表1-1参照）の中の少なくとも2つの植物と、9~20個の植物の混合物を作るための追加の植物とを含む薬草組成物から得られた390個の混合物抽出物のStaphylococcus aureusに対する、同時の抗菌活性および抗バイオフィルム活性を例示する。

【0172】

医薬品グレードの乾燥植物を、「Pharmacie Fontgieve」（Clermont-Ferrand, フランス、植物PA00~PB12）、および「Pharmacie St Herem」（Clermont-Ferrand, フランス、植物PB13~PD02）から得た。

【0173】

9~20個の植物粉末を含有する薬草組成物を、前述した方法Aに従って調製した。

【0174】

以下に示される内容物を有する4つの参照薬草組成物、ミックス〔2P〕－1、ミックス〔2P〕－2、ミックス〔2P〕－3、ミックス〔3P〕－1、および390個の新しい薬草組成物を調製した（リスト5－3）。

リスト5－3：処理試料の薬草組成物

ミックス〔2P〕－1：PA13；PA21；

ミックス〔2P〕－2：PA21；PB12；

ミックス〔2P〕－3：PA13；PB12；

ミックス〔3P〕－1：PA13；PA21；PB12；

M〔09P〕－1：PA13；PA14；PA20；PA21；PA23；PA67；PB12；PC27；PC60；

10

M〔09P〕－2：PA11；PA14；PA20；PA21；PA23；PA67；PB12；PC27；PC60；

M〔09P〕－3：PA11；PA13；PA20；PA21；PA23；PA67；PB12；PC27；PC60；

M〔09P〕－4：PA11；PA13；PA14；PA21；PA23；PA67；PB12；PC27；PC60；

M〔09P〕－6：PA11；PA13；PA14；PA20；PA23；PA67；PB12；PC27；PC60；

M〔09P〕－6：PA11；PA13；PA14；PA20；PA21；PA67；PB12；PC27；PC60；

20

M〔09P〕－7：PA11；PA13；PA14；PA20；PA21；PA23；PB12；PC27；PC60；

M〔09P〕－8：PA11；PA13；PA14；PA20；PA21；PA23；PA67；PC27；PC60；

M〔09P〕－9：PA11；PA13；PA14；PA20；PA21；PA23；PA67；PB12；PC60；

M〔09P〕－10：PA11；PA13；PA14；PA20；PA21；PA23；PA67；PB12；PC27；

M〔09P〕－21：PC49；PC37；PA13；PA13；PA13；PA11；PA29；PA21；PB12；

30

M〔10P〕－41：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；

M〔10P〕－303：PC49；PC37；PA13；PA13；PA13；PA11；PA29；PA21；PB12；PC33；

M〔11P〕－1：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；PA11；

M〔11P〕－2：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；PA14；

M〔11P〕－3：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；PA25；

40

M〔11P〕－4：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；PA26；

M〔11P〕－5：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；PA28；

M〔11P〕－6：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；PA29；

M〔11P〕－7：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；PB33；PB60；PB88；PC20；PA67；

M〔11P〕－8：PA13；PA20；PA21；PB02；PB12；PB27；P

50

B 3 3 ; P B 6 0 ; P B 8 8 ; P C 2 0 ; P A 7 5 ;
 M [1 1 P] - 9 : P A 1 3 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P B 0 2 ; P B 1 2 ; P B 2 7 ; P
 B 3 3 ; P B 6 0 ; P B 8 8 ; P C 2 0 ; P C 4 9 ;
 M [1 1 P] - 1 0 : P A 1 3 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P B 0 2 ; P B 1 2 ; P B 2 7 ;
 P B 3 3 ; P B 6 0 ; P B 8 8 ; P C 2 0 ; P C 6 0 ;
 M [1 1 P] - 1 1 : P C 4 9 ; P C 3 7 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 1 ;
 P A 2 9 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ;
 M [1 1 P] - 1 2 : P A 1 1 ; P C 3 7 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P B 6 0 ; P C 2 6 ;
 P B 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ;
 M [1 2 P] - 1 : P C 4 9 ; P C 3 7 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 1 ; P
 A 2 9 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P A 2 2 ;
 M [1 2 P] - 2 : P A 1 1 ; P C 3 7 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P B 6 0 ; P C 2 6 ; P
 B 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 9 ;
 M [1 3 P] - 1 : P C 4 9 ; P C 3 7 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 1 ; P
 A 2 9 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P A 2 2 ; P A 2 0 ;
 M [1 3 P] - 2 : P A 1 1 ; P C 3 7 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P B 6 0 ; P C 2 6 ; P
 B 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 9 ; P C 2 0 ;
 M [1 4 P] - 1 : P C 4 9 ; P C 3 7 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 1 ; P
 A 2 9 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P A 2 2 ; P A 2 0 ; P C 2 6 ;
 M [1 4 P] - 2 : P A 1 1 ; P C 3 7 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P B 6 0 ; P C 2 6 ; P
 B 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 9 ; P C 2 0 ; P C 4 9 ;
 M [1 5 P] - 1 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 5 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P
 A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 3 3 ; P B 0 8 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P B 8 8 ; P C 1 2 ; P
 C 2 0 ;
 M [1 5 P] - 5 : P C 4 9 ; P C 3 7 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 1 ; P
 A 2 9 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P A 2 2 ; P A 2 0 ; P C 2 6 ; P
 C 2 0 ;
 M [1 6 P] - 1 : P A 0 0 ; P A 1 0 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 4 ; P
 A 2 9 ; P A 5 7 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P C 1 1 ; P C 1 2 ; P C 2 0 ; P C 5 1 ; P
 C 5 5 ; P C 6 7 ;
 M [1 6 P] - 2 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P
 A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P C 2 6 ; P C 3 3 ; P
 C 3 7 ; P C 4 9 ;
 M [1 6 P] - 3 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 4 ; P A 1 4 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P
 A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P C 2 6 ; P C 3 3 ; P
 C 3 7 ; P C 4 9 ;
 M [1 6 P] - 5 : P C 4 9 ; P C 3 7 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 1 ; P
 A 2 9 ; P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P A 2 2 ; P A 2 0 ; P C 2 6 ; P
 C 2 0 ; P A 1 2 ;
 M [1 6 P] - 6 : P A 1 1 ; P C 3 7 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P B 6 0 ; P C 2 6 ; P
 B 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 9 ; P C 2 0 ; P C 4 9 ; P
 A 1 4 ; P A 1 4 ;
 M [1 7 P] - 1 : P A 0 0 ; P A 1 0 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 4 ; P
 A 2 9 ; P A 5 7 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P C 1 1 ; P C 1 1 ; P C 1 2 ; P C 2 0 ; P
 C 5 1 ; P C 5 5 ; P C 6 7 ;
 M [1 7 P] - 2 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 4 ; P A 2 0 ; P
 A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P C 2 6 ; P
 C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
 M [1 7 P] - 3 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 2 0 ; P
 A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P C 2 6 ; P

10

20

30

40

50

C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 7 P] - 5 : P A 0 0 ; P A 1 0 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 4 ; P
A 2 9 ; P A 5 7 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P C 1 1 ; P C 1 1 ; P C 1 2 ; P C 2 0 ; P
C 5 1 ; P C 5 5 ; P C 6 7 ;
M [1 7 P] - 4 : P A 1 0 ; P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 5 ; P A 2 0 ; P
A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 3 3 ; P B 0 8 ; P B 1 2 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P
B 8 8 ; P C 1 2 ; P C 2 0 ;
M [1 7 P] - 6 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 4 ; P A 1 8 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P
A 2 9 ; P A 6 7 ; P B 0 0 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 7 7 ; P C 1 1 ; P
C 5 2 ; P C 6 0 ; P C 7 1 ;
M [1 7 P] - 8 : P A 1 1 ; P C 3 7 ; P C 3 3 ; P A 3 9 ; P B 6 0 ; P C 2 6 ; P
B 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 9 ; P C 2 0 ; P C 4 9 ; P
A 1 4 ; P A 1 4 ; P A 2 2 ;
M [1 7 P] - 9 : P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P C 4 9 ; P C 3 7 ; P A 1 1 ; P
A 2 0 ; P A 2 2 ; P A 1 2 ; P C 2 6 ; P B 6 0 ; P A 3 9 ; P C 3 3 ; P C 2 0 ; P
A 1 4 ; P A 1 4 ; P A 2 1 ;
M [1 8 P] - 1 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 8 ; P A 2 1 ; P
A 2 3 ; P A 2 9 ; P A 6 7 ; P B 0 0 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 7 7 ; P
C 1 1 ; P C 5 2 ; P C 6 0 ; P C 7 1 ;
M [1 8 P] - 2 : P A 1 1 ; P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 4 ; P
A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 3 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 4 ; P
A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 4 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 4 ; P
A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 5 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 4 ; P
A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 6 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P
A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 7 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P
A 1 4 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 9 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P
A 1 4 ; P A 2 0 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 9 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P
A 1 4 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P
C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 1 0 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ;
P A 1 4 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ;
P C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 1 1 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ;
P A 1 4 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ;
P C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 8 P] - 1 2 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ;

10

20

30

40

50

PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB60; PC20;
PC26; PC33; PC37; PC49;
M [18P] -13: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PC20;
PC26; PC33; PC37; PC49;
M [18P] -14: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60;
PC26; PC33; PC37; PC49;
M [18P] -15: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60;
PC20; PC33; PC37; PC49;
M [18P] -16: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60;
PC20; PC26; PC37; PC49;
M [18P] -17: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60;
PC20; PC26; PC33; PC49;
M [18P] -18: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60;
PC20; PC26; PC33; PC37;
M [18P] -23: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12;
PC20; PC51; PC55; PC67;
M [18P] -19: PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21;
PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12;
PB60; PB88; PC12; PC20;
M [18P] -20: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA21;
PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12;
PB60; PB88; PC12; PC20;
M [18P] -21: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20;
PA20; PA21; PA23; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12;
PB60; PB88; PC12; PC20;
M [18P] -22: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20;
PA20; PA21; PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08;
PB60; PB88; PC12; PC20;
M [18P] -24: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC12;
PC20; PC51; PC55; PC67;
M [18P] -25: PA10; PA11; PA13; PA14; PA18; PA21;
PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77;
PC11; PC52; PC60; PC71;
M [18P] -31: PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26;
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28;
PB38; PB60; PC37; PC52;
M [18P] -33: PA11; PA11; PA13; PA14; PA14; PA26;
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28;
PB38; PB60; PC37; PC52;
M [18P] -34: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA26;
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28;
PB38; PB60; PC37; PC52;

10

20

30

40

50

M [18 P] - 34 : PA11 ; PA11 ; PA13 ; PA13 ; PA13 ; PA14 ;
 PA14 ; PA28 ; PA52 ; PA67 ; PB00 ; PB12 ; PB27 ; PB28 ;
 PB38 ; PB60 ; PC37 ; PC52 ;
 M [18 P] - 35 : PC49 ; PC37 ; PA13 ; PA13 ; PA13 ; PA11 ;
 PA29 ; PA21 ; PB12 ; PC33 ; PA39 ; PA22 ; PA20 ; PC26 ;
 PC20 ; PA12 ; PA14 ; PA14 ;
 M [18 P] - 36 : PA11 ; PC37 ; PC33 ; PA39 ; PB60 ; PC26 ;
 PB12 ; PA13 ; PA13 ; PA13 ; PA21 ; PA29 ; PC20 ; PC49 ;
 PA14 ; PA14 ; PA22 ; PA20 ;
 M [18 P] - 37 : PA13 ; PA13 ; PA13 ; PC49 ; PC37 ; PA11 ;
 PA20 ; PA22 ; PA12 ; PC26 ; PB60 ; PA39 ; PC33 ; PC20 ;
 PA14 ; PA14 ; PA21 ; PA29 ;
 M [19 P] - 1 : PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ; PA26 ; P
 A28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 2 : PA11 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ; PA26 ; P
 A28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 3 : PA11 ; PA13 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ; PA26 ; P
 A28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 4 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA21 ; PA25 ; PA26 ; P
 A28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 5 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA25 ; PA26 ; P
 A28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 6 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA26 ; P
 A28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 7 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ; P
 A28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 8 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ; P
 A26 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 9 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ; P
 A26 ; PA28 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ; P
 B60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 10 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ;
 PA26 ; PA28 ; PA29 ; PA75 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ;
 PB60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 11 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ;
 PA26 ; PA28 ; PA29 ; PA67 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ;
 PB60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 12 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ;
 PA26 ; PA28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB12 ; PB27 ; PB33 ;
 PB60 ; PB88 ; PC20 ; PC49 ; PC60 ;
 M [19 P] - 13 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA25 ;
 PA26 ; PA28 ; PA29 ; PA67 ; PA75 ; PB02 ; PB27 ; PB33 ;

10

20

30

40

50

PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;
M[19P] -14: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25;
PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB33;
PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;
M[19P] -15: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25;
PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27;
PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;
M[19P] -16: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25;
PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27;
PB33; PB88; PC20; PC49; PC60;
M[19P] -17: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25;
PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27;
PB33; PB60; PC20; PC49; PC60;
M[19P] -18: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25;
PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27;
PB33; PB60; PB88; PC49; PC60;
M[19P] -19: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25;
PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27;
PB33; PB60; PB88; PC20; PC60;
M[19P] -20: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25;
PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27;
PB33; PB60; PB88; PC20; PC49;
M[19P] -21: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11;
PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;
M[19P] -22: PA10; PA11; PA13; PA13; PA14; PA18;
PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M[19P] -23: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60;
PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;
M[19P] -24: PA11; PA11; PA12; PA13; PA13; PA13;
PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60;
PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;
M[19P] -25: PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20;
PA21; PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12;
PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;
M[19P] -26: PA10; PA10; PA13; PA15; PA20; PA20;
PA21; PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12;
PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;
M[19P] -27: PA10; PA10; PA11; PA15; PA20; PA20;
PA21; PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12;
PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;
M[19P] -28: PA10; PA10; PA11; PA13; PA20; PA20;
PA21; PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12;
PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;
M[19P] -29: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20;
PA21; PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12;
PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;
M[19P] -30: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20;

10

20

30

40

50

50

M [19P] -48: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11;
PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;
M [19P] -49: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11;
PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;
M [19P] -50: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11;
PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;
M [19P] -51: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11;
PC11; PC20; PC51; PC55; PC67;
M [19P] -52: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11;
PC11; PC12; PC51; PC55; PC67;
M [19P] -53: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11;
PC11; PC12; PC20; PC55; PC67;
M [19P] -54: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11;
PC11; PC12; PC20; PC51; PC67;
M [19P] -55: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24;
PA29; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11;
PC11; PC12; PC20; PC51; PC55;
M [19P] -56: PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18;
PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -57: PA10; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18;
PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -58: PA10; PA11; PA13; PA13; PA14; PA18;
PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -59: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA18;
PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -60: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -62: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -62: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -63: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -64: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PB00; PB07; PB12; PB33;

10

20

30

40

50

PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -65: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB07; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -66: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB12; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -67: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB33;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -68: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12;
PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -69: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12;
PB33; PC11; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -70: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12;
PB33; PB77; PC52; PC60; PC71;
M [19P] -71: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12;
PB33; PB77; PC11; PC60; PC71;
M [19P] -72: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12;
PB33; PB77; PC11; PC52; PC71;
M [19P] -73: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; P
A18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; P
B33; PB77; PC11; PC52; PC60;
M [19P] -89: PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14;
PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27;
PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
M [19P] -91: PA11; PA11; PA13; PA13; PA14; PA14;
PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27;
PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
M [19P] -92: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27;
PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
M [19P] -93: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27;
PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
M [19P] -93: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA26; PA26; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27;
PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
M [19P] -95: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA26; PA26; PA28; PA67; PB00; PB12; PB27;
PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
M [19P] -96: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PB00; PB12; PB27;
PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
M [19P] -96: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;

10

20

30

40

50

PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB12; PB27;
 PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
 M [19P] -98: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
 PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12;
 PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;
 M [19P] -100: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
 ; PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12
 ; PB27; PB38; PB60; PC37; PC52;
 M [19P] -100: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14
 ; PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12
 ; PB27; PB28; PB60; PC37; PC52;
 M [19P] -101: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14;
 PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12;
 PB27; PB28; PB38; PC37; PC52;
 M [19P] -102: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14
 ; PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12
 ; PB27; PB28; PB38; PB60; PC52;
 M [19P] -103: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14
 ; PA14; PA26; PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12
 ; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37;
 M [19P] -104: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11
 ; PA29; PA21; PB12; PC33; PA39; PA22; PA20; PC26
 ; PC20; PA12; PA14; PA14; PB60;
 M [19P] -105: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26
 ; PB12; PA13; PA13; PA13; PA21; PA29; PC20; PC49
 ; PA14; PA14; PA22; PA20; PA12;
 M [19P] -106: PA13; PA13; PA13; PC49; PC37; PA11
 ; PA20; PA22; PA12; PC26; PB60; PA39; PC33; PC20
 ; PA14; PA14; PA21; PA29; PB12;
 M [20P] -29: PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA15;
 PA16; PA17; PA18; PA19; PA20; PA21; PA22; PA23;
 PA24; PA25; PA26; PA27; PA28; PA29;
 M [20P] -240: PA21; PA24; PA26; PA33; PA37; PA39
 ; PA67; PB00; PB10; PB12; PB26; PB28; PB33; PB82
 ; PB88; PC20; PC21; PC52; PC60; PC97;
 M [20P] -296: PA00; PA11; PA13; PA15; PA21; PA22
 ; PA24; PA26; PA28; PA33; PA39; PA94; PB08; PB12
 ; PB20; PB28; PB33; PB99; PC26; PC52;
 M [20P] -297: PA10; PA11; PA13; PA14; PA20; PA21
 ; PA25; PA26; PA29; PA33; PA57; PA67; PA69; PB07
 ; PB12; PB60; PC20; PC37; PC49; PC98;
 M [20P] -335: PA00; PA10; PA11; PA21; PA26; PA27
 ; PA31; PA34; PA67; PA69; PA81; PA89; PB01; PB10
 ; PB12; PB25; PB58; PC11; PC86; PC97;
 M [20P] -340: PA11; PA13; PA15; PA18; PA21; PA26
 ; PA34; PA36; PA69; PA79; PA95; PB00; PB05; PB07
 ; PB25; PB48; PB60; PC35; PC74; PC84;
 M [20P] -349: PA10; PA11; PA13; PA16; PA20; PA33
 ; PA69; PA94; PB07; PB08; PB12; PC01; PC27; PC28
 ; PC49; PC50; PC53; PC55; PC60; PC67;

10

20

30

40

50

M [20P] -371: PA05; PA14; PA15; PA21; PA22; PA23
; PA25; PA27; PA32; PA34; PA35; PA57; PA72; PA89
; PB12; PB39; PB88; PC20; PC55; PC74;
M [20P] -374: PA06; PA13; PA21; PA24; PA25; PA26
; PA27; PA57; PB12; PB24; PB28; PB29; PB35; PB38
; PB61; PC11; PC37; PC54; PC74; PC86;
M [20P] -375: PA11; PA15; PA19; PA20; PA21; PA22
; PA28; PA29; PA67; PA81; PB10; PB12; PB26; PB28
; PC23; PC52; PC58; PC60; PC73; PC98;
M [20P] -377: PA07; PA10; PA11; PA13; PA14; PA21
; PA22; PA24; PA29; PA32; PA33; PA35; PA57; PB10
; PB28; PB36; PB82; PC49; PC52; PC94;
M [20P] -380: PA13; PA15; PA16; PA21; PA24; PA28
; PA33; PA38; PA40; PA72; PB12; PB26; PB27; PB82
; PC14; PC33; PC55; PC57; PC58; PC98;
M [20P] -382: PA00; PA12; PA13; PA16; PA21; PA24
; PA25; PA26; PA28; PA29; PA35; PA57; PA75; PB33
; PB88; PC14; PC24; PC36; PC58; PC66;
M [20P] -383: PA10; PA21; PA22; PA23; PA25; PA27
; PA81; PA85; PB12; PB26; PB28; PB39; PB77; PB82
; PC01; PC17; PC37; PC50; PC52; PC67;
M [20P] -386: PA13; PA14; PA28; PA29; PA33; PA35
; PA40; PA57; PA67; PA79; PA88; PB00; PB01; PB07
; PB12; PB33; PB77; PB85; PC50; PC66;
M [20P] -387: PA00; PA05; PA10; PA21; PA23; PA24
; PA29; PA40; PA94; PA99; PB12; PB82; PB88; PB99
; PC11; PC20; PC24; PC34; PC37; PC61;
M [20P] -388: PA12; PA13; PA14; PA15; PA20; PA21
; PA26; PA29; PA35; PA40; PA67; PA89; PA98; PB12
; PB33; PC01; PC14; PC58; PC68; PC88;
M [20P] -392: PA11; PA14; PA21; PA23; PA26; PA29
; PA30; PA57; PA81; PA85; PA94; PB03; PB07; PB12
; PB29; PC33; PC51; PC53; PC71; PC73;
M [20P] -396: PA05; PA14; PA15; PA17; PA21; PA28
; PA29; PA35; PA37; PA39; PA40; PA69; PA72; PA89
; PB10; PB12; PC34; PC67; PC71; PC97;
M [20P] -401: PA13; PA15; PA16; PA23; PA26; PA29
; PA33; PA34; PA85; PB12; PB26; PB33; PC21; PC50
; PC52; PC53; PC55; PC58; PC67; PC71;
M [20P] -403: PA13; PA14; PA20; PA22; PA24; PA26
; PA33; PA35; PB08; PB12; PB26; PB33; PB50; PB61
; PC21; PC27; PC37; PC52; PC54; PC58;
M [20P] -407: PA20; PA21; PA22; PA25; PA29; PA48
; PA51; PA57; PA67; PA75; PA94; PB07; PB12; PC21
; PC34; PC41; PC51; PC53; PC55; PC97;
M [20P] -408: PA11; PA12; PA13; PA15; PA16; PA20
; PA21; PA22; PA25; PA26; PA27; PA28; PA29; PB10
; PB26; PC20; PC21; PC24; PC25; PC58;
M [20P] -409: PA10; PA15; PA21; PA28; PA35; PA69
; PA89; PA94; PA98; PB07; PB12; PB28; PB35; PB36

10

20

30

40

50

; PC11; PC23; PC49; PC52; PC73; PC98;
M [20P] - 416: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25
; PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27
; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;
M [20P] - 418: PA10; PA11; PA12; PA13; PA21; PA22
; PA23; PA24; PA26; PA39; PB07; PB12; PB38; PC11
; PC12; PC20; PC23; PC24; PC49; PC55;
M [20P] - 420: PA10; PA14; PA21; PA22; PA23; PA29
; PA30; PA33; PA37; PB01; PB12; PB26; PB33; PB99
; PC20; PC21; PC36; PC37; PC73; PC98;
M [20P] - 421: PA13; PA15; PA21; PA25; PA26; PA29
; PA39; PA40; PA75; PA94; PB20; PB55; PB82; PC06
; PC20; PC24; PC49; PC71; PC74; PC99;
M [20P] - 422: PA10; PA11; PA13; PA18; PA21; PA23
; PA25; PA29; PA33; PA57; PA70; PB01; PB07; PB12
; PB88; PC11; PC27; PC33; PC55; PC97;
M [20P] - 427: PA06; PA13; PA15; PA21; PA24; PA25
; PA27; PA29; PA33; PA75; PA98; PB00; PB28; PB60
; PC11; PC20; PC26; PC50; PC55; PC74;
M [20P] - 429: PA11; PA19; PA21; PA23; PA26; PA33
; PA40; PA75; PB00; PB03; PB12; PB60; PC11; PC21
; PC24; PC26; PC36; PC37; PC68; PC98;
M [20P] - 430: PA00; PA07; PA13; PA23; PA26; PA27
; PA34; PA40; PA75; PB07; PB12; PB18; PB28; PB88
; PC20; PC41; PC66; PC67; PC71; PC97;
M [20P] - 431: PA00; PA06; PA11; PA12; PA13; PA15
; PA18; PA21; PA22; PA25; PA28; PA33; PA81; PB09
; PB32; PB33; PB38; PC11; PC33; PC52;
M [20P] - 432: PA12; PA14; PA19; PA21; PA24; PA26
; PA33; PA67; PB05; PB09; PB12; PB28; PB32; PB46
; PB60; PC20; PC49; PC58; PC71; PC73;
M [20P] - 435: PA10; PA13; PA14; PA15; PA21; PA28
; PA33; PA40; PA55; PA57; PB07; PB12; PB58; PB88
; PB99; PC12; PC21; PC29; PC66; PC67;
M [20P] - 439: PA10; PA13; PA16; PA21; PA24; PA27
; PA29; PA34; PA40; PA60; PA75; PB12; PB27; PB35
; PB38; PC25; PC26; PC36; PC51; PC55;
M [20P] - 443: PA00; PA10; PA13; PA15; PA17; PA20
; PA29; PA33; PA35; PA40; PB07; PB12; PB26; PB27
; PB82; PC12; PC24; PC50; PC60; PD02;
M [20P] - 444: PA11; PA13; PA14; PA18; PA21; PA24
; PA28; PA39; PA40; PA57; PA60; PA67; PA88; PB20
; PB85; PB88; PC06; PC52; PC57; PC58;
M [20P] - 445: PA11; PA13; PA17; PA20; PA21; PA29
; PA30; PA33; PA35; PA40; PA57; PB00; PB12; PB28
; PB60; PC11; PC20; PC35; PC50; PC51;
M [20P] - 446: PA13; PA15; PA16; PA21; PA22; PA23
; PA25; PA26; PA27; PA29; PA39; PA67; PA75; PB12
; PB26; PB27; PC36; PC49; PC60; PC98;
M [20P] - 447: PA11; PA13; PA17; PA19; PA24; PA28

10

20

30

40

50

; PA 30 ; PA 33 ; PA 39 ; PA 40 ; PA 57 ; PA 92 ; PB 07 ; PB 08
; PB 12 ; PB 33 ; PB 61 ; PB 85 ; PC 58 ; PC 94 ;
M [20 P] - 4 4 9 : PA 10 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 15 ; PA 20
; PA 21 ; PA 24 ; PA 28 ; PA 40 ; PA 67 ; PA 75 ; PA 95 ; PB 12
; PB 20 ; PB 35 ; PC 14 ; PC 20 ; PC 52 ; PC 60 ;
M [20 P] - 4 5 3 : PA 10 ; PA 13 ; PA 15 ; PA 18 ; PA 21 ; PA 25
; PA 29 ; PA 34 ; PA 35 ; PA 67 ; PA 93 ; PB 06 ; PB 07 ; PB 09
; PB 12 ; PB 20 ; PB 26 ; PB 35 ; PB 99 ; PC 55 ;
M [20 P] - 4 5 5 : PA 00 ; PA 00 ; PA 11 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 14
; PA 18 ; PA 20 ; PA 25 ; PA 28 ; PA 33 ; PA 70 ; PA 75 ; PB 00
; PB 12 ; PC 20 ; PC 23 ; PC 26 ; PC 67 ; PC 67 ;
M [20 P] - 4 5 6 : PA 14 ; PA 21 ; PA 33 ; PA 34 ; PA 39 ; PB 00
; PB 07 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 27 ; PB 28 ; PB 38 ; PB 88 ; PC 20
; PC 23 ; PC 26 ; PC 49 ; PC 58 ; PC 67 ; PC 71 ;
M [20 P] - 4 5 7 : PA 00 ; PA 10 ; PA 11 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 13
; PA 14 ; PA 29 ; PA 29 ; PA 57 ; PA 67 ; PB 02 ; PB 07 ; PB 09
; PB 12 ; PB 38 ; PC 11 ; PC 60 ; PC 97 ; PC 98 ;
M [20 P] - 4 5 8 : PA 10 ; PA 11 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 13 ; PA 18
; PA 21 ; PA 26 ; PA 33 ; PA 57 ; PA 75 ; PA 98 ; PB 12 ; PB 33
; PB 33 ; PB 38 ; PB 82 ; PC 20 ; PC 55 ; PC 73 ;
M [20 P] - 4 5 9 : PA 00 ; PA 06 ; PA 21 ; PA 26 ; PA 26 ; PA 29
; PA 33 ; PA 75 ; PB 10 ; PB 10 ; PB 12 ; PB 18 ; PB 32 ; PB 85
; PC 20 ; PC 24 ; PC 49 ; PC 55 ; PC 66 ; PC 98 ;
M [20 P] - 4 6 1 : PA 06 ; PA 21 ; PA 29 ; PA 29 ; PA 33 ; PA 33
; PA 39 ; PA 57 ; PA 67 ; PB 07 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 26 ; PB 32
; PB 32 ; PB 85 ; PC 20 ; PC 27 ; PC 52 ; PC 58 ;
M [20 P] - 4 6 5 : PA 11 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 16 ; PA 21 ; PA 22
; PA 27 ; PA 29 ; PA 33 ; PA 69 ; PB 07 ; PB 26 ; PB 28 ; PB 32
; PB 77 ; PB 88 ; PB 88 ; PC 23 ; PC 60 ; PC 73 ;
M [20 P] - 4 6 7 : PA 00 ; PA 06 ; PA 21 ; PA 21 ; PA 23 ; PA 26
; PA 33 ; PA 33 ; PA 40 ; PA 67 ; PB 12 ; PB 38 ; PB 88 ; PC 11
; PC 23 ; PC 23 ; PC 27 ; PC 55 ; PC 71 ; PC 97 ;
M [20 P] - 4 6 9 : PA 00 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 13 ; PA 13 ; PA 21
; PA 29 ; PA 33 ; PA 33 ; PA 34 ; PA 57 ; PB 07 ; PC 11 ; PC 11
; PC 20 ; PC 23 ; PC 23 ; PC 55 ; PC 74 ; PC 97 ;
M [20 P] - 4 7 0 : PA 13 ; PA 14 ; PA 21 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 23
; PA 24 ; PA 24 ; PA 27 ; PA 29 ; PA 33 ; PA 67 ; PA 75 ; PB 07
; PB 07 ; PB 33 ; PB 33 ; PB 77 ; PC 37 ; PC 52 ;
M [20 P] - 4 7 2 : PA 10 ; PA 10 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 21 ; PA 25
; PA 25 ; PA 28 ; PA 33 ; PA 39 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 88 ; PC 12
; PC 12 ; PC 20 ; PC 20 ; PC 24 ; PC 55 ; PC 71 ;
M [20 P] - 4 7 4 : PA 00 ; PA 13 ; PA 20 ; PA 21 ; PA 26 ; PA 28
; PA 29 ; PA 33 ; PA 57 ; PA 67 ; PA 81 ; PA 81 ; PA 98 ; PB 02
; PB 12 ; PB 38 ; PB 60 ; PB 88 ; PC 11 ; PC 20 ;
M [20 P] - 4 7 5 : PA 11 ; PA 12 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 28 ; PA 28
; PA 29 ; PA 29 ; PA 32 ; PA 52 ; PA 52 ; PA 75 ; PA 81 ; PB 12
; PB 20 ; PB 33 ; PB 60 ; PC 21 ; PC 49 ; PC 51 ;
M [20 P] - 4 7 8 : PA 15 ; PA 16 ; PA 21 ; PA 21 ; PA 21 ; PA 23
; PA 25 ; PA 32 ; PA 34 ; PA 39 ; PB 12 ; PB 77 ; PB 85 ; PB 88
; PB 88 ; PB 88 ; PB 88 ; PC 11 ; PC 33 ; PC 37 ;

10

20

30

40

50

M [20P] -479: PA10; PA11; PA13; PA13; PA18; PA20
; PA21; PA28; PA32; PA40; PA67; PA69; PB07; PB07
; PB10; PB12; PB20; PC55; PC60; PC98;
M [20P] -480: PA00; PA06; PA13; PA22; PA23; PA26
; PA26; PA27; PA29; PA40; PA81; PB07; PB10; PB10
; PB12; PB12; PB18; PB32; PC49; PC71;
M [20P] -481: PA11; PA13; PA26; PA29; PA29; PA35
; PA69; PA75; PA75; PB02; PB12; PB33; PC20; PC23
; PC23; PC37; PC41; PC50; PC52; PC98;
M [20P] -482: PA06; PA10; PA11; PA11; PA11; PA13
; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA25; PA26; PA28
; PA39; PA67; PB12; PC11; PC24; PC74;
M [20P] -484: PA11; PA13; PA23; PA28; PA29; PA29
; PA35; PA39; PA40; PA60; PA75; PA98; PB02; PB12
; PB38; PB38; PB82; PC20; PC35; PC50;
M [20P] -485: PA13; PA14; PA14; PA21; PA21; PA21
; PA26; PA26; PA26; PA26; PA29; PA29; PA52; PA57
; PB00; PC11; PC11; PC21; PC51; PC67;
M [20P] -486: PA11; PA13; PA23; PA24; PA35; PA35
; PA35; PA69; PA69; PA75; PB07; PB12; PB27; PC20
; PC20; PC21; PC23; PC50; PC55; PC73;
M [20P] -490: PA10; PA11; PA11; PA14; PA21; PA24
; PA26; PA26; PA39; PA40; PA69; PA75; PB00; PB01
; PB12; PB12; PB18; PB28; PB60; PC20;
M [20P] -493: PA06; PA14; PA20; PA21; PA21; PA28
; PA29; PA33; PA69; PA81; PA98; PB12; PB38; PB60
; PC11; PC12; PC49; PC55; PC71; PD02;
M [20P] -494: PA06; PA10; PA11; PA11; PA13; PA13
; PA15; PA23; PA26; PA35; PB01; PB12; PB60; PC12
; PC20; PC37; PC41; PC49; PC49; PC52;
M [20P] -495: PA10; PA10; PA13; PA14; PA18; PA20
; PA21; PA26; PA29; PA29; PA57; PB02; PC11; PC11
; PC20; PC20; PC24; PC33; PC49; PC49;
M [20P] -496: PA00; PA18; PA21; PA24; PA26; PA27
; PA29; PA39; PA39; PA52; PA69; PA70; PA98; PB00
; PB02; PB12; PC12; PC24; PC55; PC67;
M [20P] -497: PA11; PA11; PA13; PA13; PA15; PA21
; PA23; PA24; PA25; PA26; PA28; PA39; PA52; PA67
; PB00; PB12; PB27; PB28; PC12; PC37;
M [20P] -499: PA13; PA21; PA21; PA21; PA29; PA30
; PA69; PA75; PB07; PB07; PB07; PB60; PC20; PC20
; PC21; PC37; PC37; PC49; PC55; PD02;
M [20P] -503: PA06; PA06; PA10; PA10; PA13; PA13
; PA20; PA21; PA25; PA26; PA29; PA33; PA39; PA70
; PB28; PC11; PC20; PC23; PC49; PC97;
M [20P] -506: PA11; PA16; PA21; PA23; PA29; PA39
; PA57; PB12; PB27; PB32; PB88; PB88; PB88; PC12
; PC20; PC21; PC37; PC71; PD02; PD02;
M [20P] -510: PA13; PA21; PA25; PA26; PA27; PA33
; PA39; PA40; PA69; PA81; PB01; PB28; PB60; PB85

10

20

30

40

50

; PB88; PC27; PC41; PC41; PC50; PC55;
M [20P] -514: PA11; PA12; PA13; PA13; PA21; PA21
; PA28; PA29; PA33; PA35; PA39; PA40; PA40; PA67
; PA67; PB12; PC14; PC20; PC41; PC55;
M [20P] -516: PA07; PA10; PA13; PA14; PA17; PA21
; PA28; PA29; PA39; PA40; PA40; PA69; PB07; PB12
; PC21; PC21; PC27; PC37; PD02; PD02;
M [20P] -520: PA11; PA11; PA12; PA13; PA14; PA15
; PA29; PA33; PA33; PA57; PA67; PA70; PA98; PB12
; PC20; PC23; PC33; PC52; PC55; PD02;
M [20P] -523: PA10; PA11; PA18; PA20; PA21; PA33
; PA39; PA67; PA67; PA69; PB07; PB12; PB28; PB88
; PB88; PC21; PC33; PC35; PC49; PC50;
M [20P] -524: PA00; PA11; PA11; PA12; PA13; PA20
; PA29; PA40; PB07; PB12; PB28; PB38; PB60; PB60
; PB77; PC20; PC20; PC49; PC49; PC98;
M [20P] -525: PA11; PA11; PA13; PA15; PA21; PA26
; PA26; PA27; PA28; PA29; PA29; PA30; PA40; PA52
; PA75; PB07; PB07; PC11; PC33; PC37;
M [20P] -527: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20
; PA20; PA21; PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08
; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;
M [20P] -532: PA14; PA20; PA20; PA21; PA22; PA25
; PA26; PA27; PA28; PA29; PA33; PA40; PA75; PB00
; PB12; PB12; PB60; PB85; PC12; PC51;
M [20P] -533: PA13; PA21; PA26; PA27; PA27; PA28
; PA32; PA60; PA70; PA75; PB18; PB32; PB38; PC23
; PC41; PC50; PC50; PC51; PC52; PC97;
M [20P] -535: PA11; PA21; PA26; PA28; PA29; PA29
; PA29; PA34; PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB33
; PB60; PC20; PC20; PC51; PC55; PC67;
M [20P] -536: PA00; PA10; PA11; PA12; PA12; PA13
; PA14; PA23; PA29; PA29; PA35; PA40; PA81; PB07
; PB07; PB12; PB27; PB33; PB60; PC20;
M [20P] -538: PA21; PA23; PA25; PA26; PA27; PA28
; PA75; PB07; PB12; PB27; PB32; PB88; PC11; PC11
; PC12; PC20; PC33; PC49; PC55; PC97;
M [20P] -541: PA10; PA11; PA13; PA20; PA24; PA28
; PA29; PA67; PA70; PB10; PB12; PB77; PC20; PC20
; PC23; PC41; PC51; PC52; PC52; PC97;
M [20P] -548: PA10; PA13; PA14; PA14; PA22; PA27
; PA27; PA28; PA29; PA29; PA33; PA39; PB10; PB12
; PB60; PB88; PC20; PC37; PC50; PC55;
M [20P] -551: PA12; PA13; PA13; PA20; PA22; PA23
; PA24; PA24; PA26; PA33; PA33; PA39; PA67; PB07
; PB07; PB12; PB33; PC20; PC55; PC98;
M [20P] -552: PA06; PA11; PA11; PA13; PA14; PA14
; PA20; PA21; PA21; PA21; PA24; PA35; PB00; PB02
; PB12; PB60; PB60; PC12; PC21; PC98;
M [20P] -555: PA00; PA10; PA11; PA18; PA20; PA20

10

20

30

40

50

; PA 21 ; PA 25 ; PA 26 ; PA 26 ; PA 39 ; PA 39 ; PA 39 ; PA 89
; PB12 ; PB12 ; PC20 ; PC20 ; PC49 ; PC74 ;
M [20P] -557 : PA00 ; PA10 ; PA20 ; PA21 ; PA23 ; PA24
; PA29 ; PA57 ; PB07 ; PB12 ; PB12 ; PB12 ; PB12 ; PC11
; PC11 ; PC12 ; PC20 ; PC51 ; PC55 ; PC67 ;
M [20P] -559 : PA00 ; PA11 ; PA12 ; PA13 ; PA20 ; PA22
; PA24 ; PA25 ; PA25 ; PA26 ; PA28 ; PA57 ; PA70 ; PA70
; PB07 ; PB12 ; PB88 ; PB88 ; PC11 ; PC60 ;
M [20P] -560 : PA10 ; PA10 ; PA11 ; PA12 ; PA13 ; PA14
; PA20 ; PA25 ; PA28 ; PA28 ; PA29 ; PA67 ; PB12 ; PB38
; PB60 ; PC24 ; PC35 ; PC41 ; PC51 ; PC97 ;
M [20P] -563 : PA12 ; PA13 ; PA20 ; PA20 ; PA21 ; PA24
; PA25 ; PA25 ; PA29 ; PA29 ; PA33 ; PA81 ; PB33 ; PB60
; PB60 ; PB88 ; PB88 ; PB88 ; PC11 ; PC41 ;
M [20P] -564 : PA07 ; PA13 ; PA13 ; PA21 ; PA26 ; PA37
; PA39 ; PA67 ; PA67 ; PB02 ; PB07 ; PB07 ; PB12 ; PB12
; PB28 ; PC12 ; PC37 ; PC97 ; PC97 ; PC97 ;
M [20P] -565 : PA07 ; PA11 ; PA13 ; PA20 ; PA29 ; PA29
; PA32 ; PA75 ; PA95 ; PA98 ; PB02 ; PB12 ; PB32 ; PB33
; PB60 ; PB85 ; PC20 ; PC24 ; PC35 ; PC41 ;
M [20P] -567 : PA10 ; PA13 ; PA14 ; PA16 ; PA21 ; PA26
; PA28 ; PA75 ; PA81 ; PB07 ; PB07 ; PB12 ; PB88 ; PC23
; PC24 ; PC24 ; PC33 ; PC52 ; PC55 ; PC67 ;
M [20P] -569 : PA13 ; PA14 ; PA21 ; PA26 ; PA27 ; PA39
; PA57 ; PA67 ; PB02 ; PB07 ; PB12 ; PB28 ; PC12 ; PC21
; PC49 ; PC55 ; PC55 ; PC67 ; PC67 ; PC98 ;
M [20P] -572 : PA13 ; PA14 ; PA21 ; PA27 ; PA29 ; PA33
; PA67 ; PA69 ; PA79 ; PB00 ; PB01 ; PB12 ; PB33 ; PB38
; PC37 ; PC41 ; PC49 ; PC51 ; PC55 ; PD02 ;
M [20P] -573 : PA10 ; PA11 ; PA13 ; PA13 ; PA13 ; PA14
; PA18 ; PA21 ; PA23 ; PA29 ; PA67 ; PB00 ; PB07 ; PB12
; PB33 ; PB77 ; PC11 ; PC52 ; PC60 ; PC71 ;
M [20P] -574 : PA13 ; PA21 ; PA22 ; PA23 ; PA25 ; PA29
; PA35 ; PA67 ; PB01 ; PB12 ; PB12 ; PB35 ; PB88 ; PC24
; PC37 ; PC37 ; PC51 ; PC52 ; PC52 ; PC66 ;
M [20P] -575 : PA11 ; PA11 ; PA13 ; PA13 ; PA13 ; PA14
; PA14 ; PA26 ; PA26 ; PA28 ; PA52 ; PA67 ; PB00 ; PB12
; PB27 ; PB28 ; PB38 ; PB60 ; PC37 ; PC52 ;
M [20P] -576 : PA11 ; PA11 ; PA12 ; PA13 ; PA13 ; PA13
; PA14 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA22 ; PA29 ; PA39 ; PB12
; PB60 ; PC20 ; PC26 ; PC33 ; PC37 ; PC49 ;
M [20P] -577 : PA06 ; PA13 ; PA13 ; PA14 ; PA22 ; PA22
; PA23 ; PA26 ; PA28 ; PA69 ; PA70 ; PB07 ; PB12 ; PB12
; PB32 ; PC12 ; PC20 ; PC24 ; PC24 ; PC98 ;
M [20P] -579 : PA12 ; PA13 ; PA13 ; PA13 ; PA14 ; PA26
; PA26 ; PA28 ; PA57 ; PA81 ; PB02 ; PB07 ; PB12 ; PC11
; PC12 ; PC20 ; PC51 ; PC55 ; PD02 ; PD02 ;
M [20P] -580 : PA00 ; PA11 ; PA12 ; PA13 ; PA20 ; PA21
; PA21 ; PA25 ; PA26 ; PA26 ; PA33 ; PA75 ; PA75 ; PA75
; PB28 ; PB88 ; PC20 ; PC76 ; PC98 ; PC98 ;

10

20

30

40

50

M [20P] -581: PA10; PA11; PA13; PA21; PA22; PA25
; PA29; PA67; PB07; PB60; PB88; PB88; PC20; PC21
; PC24; PC37; PC41; PC55; PC66; PC98;
M [20P] -582: PA10; PA11; PA12; PA13; PA20; PA21
; PA23; PA25; PA39; PA75; PB07; PB07; PB38; PB38
; PB60; PB60; PC20; PC24; PC41; PC66;
M [20P] -583: PA11; PA13; PA14; PA23; PA25; PA25
; PA26; PA26; PA28; PA67; PB12; PB18; PB88; PC24
; PC24; PC37; PC41; PC49; PC55; PC60;
M [20P] -584: PA00; PA14; PA21; PA26; PA26; PA28
; PA39; PA39; PA67; PA75; PB12; PB12; PB27; PB33
; PB60; PC11; PC41; PC49; PC55; PC97;
M [20P] -588: PA07; PA13; PA14; PA21; PA26; PA26
; PA26; PA26; PA32; PA67; PA67; PA75; PB12; PB27
; PB33; PB60; PC20; PC20; PC23; PC24;
M [20P] -589: PA13; PA13; PA22; PA25; PA25; PA27
; PA29; PA29; PA35; PA39; PA52; PA75; PB12; PB32
; PB38; PB85; PB88; PC11; PC23; PC98;
M [20P] -590: PA11; PA13; PA13; PA14; PA25; PA29
; PA33; PA35; PA35; PA35; PA39; PB02; PB12; PC11
; PC20; PC20; PC21; PC27; PC55; PC55;
M [20P] -592: PA10; PA10; PA11; PA11; PA13; PA14
; PA21; PA21; PA26; PA26; PA27; PA29; PA30; PA75
; PB07; PB07; PB12; PB38; PC20; PC24;
M [20P] -594: PA13; PA21; PA21; PA21; PA23; PA27
; PA28; PA39; PA60; PA69; PA70; PB02; PB09; PB12
; PB12; PB88; PC24; PC49; PC97; PC98;
M [20P] -595: PA11; PA13; PA22; PA23; PA25; PA28
; PA28; PA28; PA29; PA29; PA39; PA67; PA69; PB12
; PB60; PC12; PC20; PC24; PC49; PC55;
M [20P] -596: PA11; PA11; PA13; PA13; PA14; PA21
; PA22; PA23; PA26; PA26; PA67; PB12; PB60; PC11
; PC20; PC20; PC37; PC50; PC55; PC60;
M [20P] -599: PA13; PA13; PA14; PA16; PA26; PA29
; PA75; PA75; PB07; PB12; PB60; PB60; PB60; PB60
; PC12; PC20; PC20; PC37; PC37; PC52;
M [20P] -601: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA23
; PA26; PA29; PA29; PA35; PB02; PB10; PB12; PB33
; PC20; PC21; PC41; PC49; PC60; PC67;
M [20P] -602: PA00; PA10; PA10; PA14; PA14; PA14
; PA21; PA25; PA26; PA29; PA29; PB07; PB07; PB07
; PB12; PB12; PC20; PC52; PC55; PD02;
M [20P] -603: PA11; PA13; PA16; PA20; PA21; PA23
; PA23; PA26; PA26; PA28; PA33; PA39; PA39; PA67
; PB60; PB60; PC20; PC23; PC49; PC55;
M [20P] -604: PA10; PA13; PA14; PA14; PA18; PA21
; PA22; PA23; PA26; PA28; PA28; PA29; PB12; PB33
; PC11; PC11; PC51; PC51; PC60; PC71;
M [20P] -605: PA11; PA11; PA11; PA11; PA13; PA13
; PA13; PA20; PA25; PA29; PA39; PA39; PA69; PA81

10

20

30

40

50

; PB07; PB12; PB88; PC20; PC41; PC55;
M [20P] - 607: PA10; PA11; PA11; PA13; PA13; PA13
; PA22; PA22; PA26; PA33; PA35; PA75; PA75; PA81
; PB12; PB88; PC20; PC49; PC55; PC97;
M [20P] - 608: PA00; PA13; PA13; PA13; PA18; PA26
; PA27; PA29; PA35; PA57; PA69; PA75; PA98; PB12
; PB60; PC11; PC20; PC20; PC55; PC60;
M [20P] - 609: PA11; PA14; PA21; PA22; PA23; PA26
; PA34; PA52; PA67; PA69; PA69; PB07; PB12; PB12
; PB27; PB77; PC12; PC20; PC55; PC97;
M [20P] - 612: PA11; PA13; PA14; PA14; PA14; PA21
; PA22; PA23; PA52; PA81; PB00; PB07; PB12; PB33
; PB38; PB60; PC12; PC24; PC33; PC37;
M [20P] - 613: PA10; PA13; PA13; PA14; PA21; PA21
; PA22; PA23; PA26; PA28; PA28; PA29; PB12; PB12
; PB27; PB60; PC20; PC21; PC21; PC60;
M [20P] - 616: PA13; PA26; PA28; PA29; PA39; PA57
; PA67; PB07; PB12; PB38; PB60; PB77; PB77; PB88
; PC33; PC49; PC52; PC52; PC98; PC98;
M [20P] - 618: PA11; PA12; PA13; PA13; PA14; PA20
; PA21; PA22; PA23; PA26; PA29; PA67; PA79; PB88
; PC11; PC20; PC20; PC37; PC41; PC55;
M [20P] - 620: PA12; PA13; PA20; PA22; PA22; PA23
; PA26; PA26; PA28; PA39; PA69; PA95; PB12; PB60
; PB77; PC20; PC21; PC52; PC60; PC98;
M [20P] - 621: PA10; PA13; PA14; PA24; PA24; PA26
; PA27; PA29; PA32; PA35; PA67; PB12; PB12; PB12
; PB27; PB33; PB33; PB38; PB38; PB38;
M [20P] - 622: PA10; PA12; PA14; PA14; PA15; PA20
; PA21; PA26; PA27; PA32; PA40; PB10; PB12; PB12
; PB88; PC20; PC20; PC21; PC52; PC60;
M [20P] - 623: PA10; PA11; PA13; PA14; PA20; PA24
; PA25; PA26; PA26; PA28; PA39; PA81; PB09; PB12
; PB28; PB88; PC24; PC41; PC52; PC98;
M [20P] - 626: PA11; PA11; PA13; PA13; PA20; PA21
; PA21; PA25; PA27; PA27; PA28; PA39; PA39; PA40
; PA57; PB12; PB60; PC20; PC37; PC41;
M [20P] - 631: PA10; PA13; PA20; PA21; PA21; PA23
; PA23; PA26; PA29; PA39; PA39; PA67; PB10; PB38
; PB60; PC11; PC20; PC37; PC49; PC66;
M [20P] - 632: PA10; PA11; PA18; PA21; PA22; PA23
; PA28; PA29; PA33; PA34; PA69; PB07; PB12; PB60
; PC20; PC20; PC20; PC37; PC41; PC55;
M [20P] - 633: PA10; PA11; PA11; PA13; PA20; PA34
; PA39; PB00; PB07; PB12; PB12; PB60; PB88; PB88
; PC11; PC12; PC23; PC35; PC49; PC52;
M [20P] - 634: PA13; PA13; PA13; PA21; PA22; PA22
; PA25; PA25; PA28; PA28; PA29; PA67; PA81; PB00
; PB12; PB12; PB27; PB33; PC11; PC98;
M [20P] - 635: PA00; PA14; PA17; PA20; PA21; PA23

10

20

30

40

50

; PA 26 ; PA 27 ; PA 75 ; PA 81 ; PB 00 ; PB 12 ; PB 82 ; PC 11
; PC 20 ; PC 26 ; PC 51 ; PC 52 ; PC 55 ; PC 71 ;
M [20 P] - 638 : PA 00 ; PA 14 ; PA 17 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 24
; PA 28 ; PA 33 ; PA 52 ; PA 57 ; PA 75 ; PB 00 ; PB 07 ; PB 12
; PB 28 ; PB 88 ; PC 20 ; PC 37 ; PC 41 ; PC 97 ;
M [20 P] - 649 : PA 06 ; PA 10 ; PA 11 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 15
; PA 16 ; PA 20 ; PA 24 ; PA 30 ; PA 33 ; PA 98 ; PB 10 ; PB 12
; PB 28 ; PB 32 ; PB 60 ; PC 11 ; PC 20 ; PC 66 ;
M [20 P] - 654 : PA 00 ; PA 11 ; PA 15 ; PA 20 ; PA 21 ; PA 26
; PA 32 ; PA 34 ; PA 35 ; PA 39 ; PA 57 ; PB 10 ; PB 12 ; PB 18
; PC 11 ; PC 20 ; PC 21 ; PC 50 ; PC 55 ; PC 66 ;
M [20 P] - 655 : PA 11 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 20 ; PA 22 ; PA 26
; PA 28 ; PA 30 ; PA 40 ; PA 52 ; PA 57 ; PA 81 ; PB 12 ; PB 32
; PB 85 ; PC 41 ; PC 50 ; PC 55 ; PC 66 ; PC 71 ;
M [20 P] - 658 : PA 10 ; PA 11 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 15
; PA 17 ; PA 20 ; PA 21 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 52 ; PA 67 ; PB 10
; PB 12 ; PB 18 ; PB 60 ; PC 20 ; PC 41 ; PC 66 ;
M [20 P] - 659 : PA 00 ; PA 11 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 24 ; PA 26
; PA 27 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 33 ; PA 35 ; PA 81 ; PB 07 ; PB 12
; PB 18 ; PB 28 ; PB 85 ; PC 37 ; PC 49 ; PC 74 ;
M [20 P] - 663 : PA 06 ; PA 13 ; PA 20 ; PA 25 ; PA 26 ; PA 27
; PA 28 ; PA 40 ; PA 67 ; PA 81 ; PB 00 ; PB 12 ; PB 18 ; PB 33
; PB 61 ; PC 20 ; PC 24 ; PC 37 ; PC 41 ; PC 52 ;
M [20 P] - 666 : PA 06 ; PA 13 ; PA 21 ; PA 23 ; PA 27 ; PA 28
; PA 30 ; PA 40 ; PA 75 ; PB 00 ; PB 07 ; PB 10 ; PB 12 ; PB 18
; PB 28 ; PB 33 ; PC 20 ; PC 49 ; PC 52 ; PC 71 ;
M [20 P] - 668 : PA 10 ; PA 16 ; PA 17 ; PA 21 ; PA 24 ; PA 27
; PA 28 ; PA 33 ; PA 40 ; PA 57 ; PA 75 ; PA 79 ; PB 07 ; PB 08
; PB 12 ; PB 33 ; PB 88 ; PC 20 ; PC 35 ; PC 97 ;
M [20 P] - 670 : PA 11 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 20 ; PA 23
; PA 27 ; PA 28 ; PA 35 ; PA 39 ; PA 67 ; PA 79 ; PA 81 ; PA 89
; PB 10 ; PB 12 ; PB 18 ; PC 20 ; PC 21 ; PC 51 ;
M [20 P] - 678 : PA 06 ; PA 11 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 21 ; PA 23
; PA 29 ; PA 35 ; PA 39 ; PA 40 ; PB 00 ; PB 07 ; PB 10 ; PB 12
; PB 33 ; PB 60 ; PB 77 ; PC 11 ; PC 67 ; PC 76 ;
M [20 P] - 681 : PA 07 ; PA 10 ; PA 11 ; PA 21 ; PA 24 ; PA 26
; PA 30 ; PA 35 ; PA 39 ; PA 57 ; PA 75 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 28
; PB 88 ; PC 11 ; PC 49 ; PC 55 ; PC 58 ; PC 66 ;
M [20 P] - 686 : PA 00 ; PA 10 ; PA 13 ; PA 22 ; PA 24 ; PA 27
; PA 28 ; PA 33 ; PA 39 ; PA 40 ; PA 69 ; PB 12 ; PB 32 ; PB 38
; PB 85 ; PB 88 ; PC 20 ; PC 55 ; PC 60 ; PC 66 ;
M [20 P] - 692 : PA 07 ; PA 10 ; PA 13 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 26
; PA 34 ; PA 39 ; PA 40 ; PA 81 ; PB 12 ; PB 18 ; PB 32 ; PB 33
; PB 88 ; PC 35 ; PC 37 ; PC 52 ; PC 55 ; PC 76 ;
M [20 P] - 694 : PA 07 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 15 ; PA 16
; PA 21 ; PA 27 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 35 ; PA 39 ; PA 40 ; PA 75
; PB 12 ; PB 33 ; PB 88 ; PC 50 ; PC 51 ; PC 52 ;
M [20 P] - 697 : PA 00 ; PA 13 ; PA 16 ; PA 19 ; PA 21 ; PA 22
; PA 25 ; PA 27 ; PA 28 ; PA 39 ; PA 79 ; PA 81 ; PB 00 ; PB 12
; PB 32 ; PB 60 ; PB 99 ; PC 51 ; PC 58 ; PC 76 ;

10

20

30

40

50

M [20P] -703: PA00; PA13; PA14; PA15; PA24; PA26
; PA33; PA35; PA52; PA75; PA81; PB07; PB12; PB28
; PB85; PC20; PC21; PC35; PC41; PD02;
M [20P] -705: PA11; PA13; PA30; PA33; PA40; PA67
; PA75; PB07; PB12; PB28; PB35; PB88; PC20; PC21
; PC24; PC35; PC37; PC41; PC50; PC55;
M [20P] -708: PA07; PA13; PA23; PA25; PA27; PA29
; PA30; PA33; PA52; PA57; PA75; PB00; PB08; PB12
; PB38; PB60; PB77; PC50; PC76; PD02;
M [20P] -709: PA11; PA13; PA17; PA20; PA21; PA23
; PA26; PA27; PA28; PA40; PA69; PA81; PA92; PB00
; PB07; PB12; PC20; PC41; PC52; PC66;
M [20P] -712: PA12; PA13; PA15; PA20; PA22; PA26
; PA27; PA29; PA35; PA52; PA81; PB07; PB10; PB12
; PB33; PB88; PC11; PC20; PC41; PC52;
M [20P] -714: PA07; PA10; PA11; PA16; PA21; PA26
; PA33; PA40; PA67; PA81; PA98; PB00; PB07; PB12
; PB28; PC11; PC41; PC49; PC50; PC98;
M [20P] -716: PA11; PA13; PA15; PA19; PA22; PA26
; PA33; PA37; PA39; PA57; PB07; PB12; PB28; PB33
; PB88; PB99; PC14; PC23; PC35; PC67;
M [20P] -718: PA12; PA13; PA15; PA16; PA20; PA22
; PA25; PA26; PA39; PA40; PA92; PB07; PB12; PB27
; PB35; PB38; PB99; PC11; PC27; PC41;
M [20P] -721: PA19; PA20; PA21; PA24; PA25; PA27
; PA29; PA30; PA55; PA57; PB12; PB32; PB58; PB60
; PB88; PB99; PC41; PC50; PC60; PC67;
M [20P] -723: PA12; PA13; PA16; PA17; PA21; PA28
; PA29; PA33; PA34; PA40; PA60; PA89; PB28; PB60
; PB61; PC14; PC24; PC41; PC51; PC74;
M [20P] -724: PA13; PA23; PA25; PA35; PA57; PA67
; PB07; PB12; PB32; PB33; PB88; PB99; PC12; PC20
; PC23; PC49; PC50; PC66; PC67; PC94;
M [20P] -725: PA00; PA13; PA14; PA20; PA22; PA25
; PA26; PA28; PA33; PA40; PA57; PA81; PB12; PB16
; PB33; PB88; PC11; PC24; PC51; PC74;
M [20P] -733: PA11; PA13; PA15; PA21; PA28; PA30
; PA33; PA40; PB12; PB32; PB33; PB99; PC11; PC12
; PC20; PC60; PC73; PC74; PC94; PD02;
M [20P] -737: PA00; PA11; PA13; PA15; PA17; PA21
; PA24; PA28; PA29; PA30; PA67; PB07; PB27; PB28
; PB77; PC20; PC21; PC41; PC51; PC94;
M [20P] -740: PA11; PA13; PA14; PA15; PA22; PA23
; PA28; PA33; PA39; PA57; PA75; PA89; PB02; PB12
; PB28; PB33; PC12; PC21; PC24; PC55;
M [20P] -745: PA11; PA21; PA22; PA24; PA26; PA27
; PA28; PA29; PA57; PA89; PB07; PB12; PB28; PB33
; PC08; PC11; PC41; PC66; PC67; PC98;
M [20P] -746: PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA33
; PA39; PA40; PA81; PB06; PB07; PB12; PB32; PB60

10

20

30

40

50

; PC 20 ; PC 21 ; PC 24 ; PC 37 ; PC 50 ; PC 55 ;
M [20 P] - 7 4 8 : PA 11 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 17 ; PA 23 ; PA 26
; PA 32 ; PA 57 ; PA 60 ; PA 81 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 28 ; PB 32
; PB 33 ; PB 85 ; PB 99 ; PC 20 ; PC 21 ; PC 35 ;
M [20 P] - 7 5 2 : PA 11 ; PA 13 ; PA 18 ; PA 26 ; PA 28 ; PA 29
; PA 33 ; PA 35 ; PA 39 ; PA 67 ; PA 75 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 32
; PB 88 ; PB 99 ; PC 12 ; PC 50 ; PC 54 ; PC 62 ;
M [20 P] - 7 5 3 : PA 11 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 15 ; PA 29
; PA 32 ; PA 40 ; PA 57 ; PA 81 ; PB 00 ; PB 12 ; PB 33 ; PB 60
; PC 20 ; PC 21 ; PC 49 ; PC 52 ; PC 66 ; PD 02 ;
M [20 P] - 7 5 7 : PA 11 ; PA 13 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 23 ; PA 27
; PA 34 ; PA 35 ; PA 40 ; PA 57 ; PA 67 ; PB 10 ; PB 12 ; PB 22
; PB 58 ; PC 11 ; PC 14 ; PC 23 ; PC 55 ; PC 98 ;
M [20 P] - 7 5 8 : PA 10 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 20 ; PA 21 ; PA 23
; PA 28 ; PA 29 ; PA 30 ; PA 40 ; PA 69 ; PA 75 ; PA 81 ; PB 12
; PC 06 ; PC 20 ; PC 41 ; PC 52 ; PC 57 ; PC 74 ;
M [20 P] - 7 6 4 : PA 11 ; PA 13 ; PA 22 ; PA 29 ; PA 35 ; PA 40
; PA 57 ; PA 73 ; PA 75 ; PA 81 ; PB 08 ; PB 12 ; PB 33 ; PB 82
; PC 11 ; PC 20 ; PC 21 ; PC 29 ; PC 41 ; PC 52 ;
M [20 P] - 7 6 5 : PA 10 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 15 ; PA 26 ; PA 27
; PA 30 ; PA 35 ; PA 40 ; PA 89 ; PB 12 ; PB 22 ; PB 58 ; PB 60
; PC 34 ; PC 37 ; PC 55 ; PC 58 ; PC 67 ; PD 02 ;
M [20 P] - 7 6 6 : PA 11 ; PA 13 ; PA 17 ; PA 22 ; PA 24 ; PA 25
; PA 29 ; PA 30 ; PA 33 ; PA 34 ; PA 35 ; PA 81 ; PA 92 ; PB 00
; PB 12 ; PB 82 ; PC 24 ; PC 50 ; PC 74 ; PC 97 ;
M [20 P] - 7 6 7 : PA 11 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 33
; PA 37 ; PB 12 ; PB 60 ; PB 85 ; PB 88 ; PB 99 ; PC 14 ; PC 20
; PC 21 ; PC 41 ; PC 51 ; PC 55 ; PC 57 ; PC 98 ;
M [20 P] - 7 7 1 : PA 10 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 22 ; PA 26
; PA 27 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 35 ; PA 86 ; PA 89 ; PB 07 ; PB 12
; PB 28 ; PB 88 ; PB 99 ; PC 12 ; PC 21 ; PC 50 ;
M [20 P] - 7 7 7 : PA 11 ; PA 14 ; PA 15 ; PA 20 ; PA 21 ; PA 24
; PA 25 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 33 ; PA 75 ; PB 12 ; PB 85 ; PB 99
; PC 21 ; PC 51 ; PC 55 ; PC 62 ; PC 67 ; PD 02 ;
M [20 P] - 7 7 9 : PA 15 ; PA 19 ; PA 20 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 23
; PA 24 ; PA 25 ; PA 29 ; PA 30 ; PA 57 ; PA 67 ; PA 75 ; PA 89
; PB 07 ; PB 12 ; PB 32 ; PC 20 ; PC 51 ; PC 74 ;
M [20 P] - 7 8 1 : PA 10 ; PA 15 ; PA 21 ; PA 22 ; PA 39 ; PA 57
; PA 75 ; PB 08 ; PB 09 ; PB 12 ; PB 28 ; PB 35 ; PB 58 ; PB 60
; PC 12 ; PC 33 ; PC 37 ; PC 66 ; PC 67 ; PC 74 ;
M [20 P] - 7 8 2 : PA 10 ; PA 11 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 20
; PA 26 ; PA 30 ; PA 75 ; PA 89 ; PA 92 ; PB 05 ; PB 07 ; PB 12
; PB 32 ; PB 82 ; PB 99 ; PC 51 ; PC 58 ; PC 73 ;
M [20 P] - 7 8 5 : PA 16 ; PA 17 ; PA 21 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 30
; PA 32 ; PA 33 ; PA 55 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 77 ; PB 85 ; PB 88
; PB 99 ; PC 12 ; PC 20 ; PC 35 ; PC 67 ; PC 98 ;
M [20 P] - 7 8 6 : PA 11 ; PA 13 ; PA 14 ; PA 18 ; PA 19 ; PA 21
; PA 22 ; PA 27 ; PA 28 ; PA 29 ; PA 33 ; PA 40 ; PA 52 ; PA 57
; PA 81 ; PB 28 ; PC 11 ; PC 20 ; PC 21 ; PC 50 ;
M [20 P] - 7 8 7 : PA 10 ; PA 11 ; PA 13 ; PA 22 ; PA 23 ; PA 35

10

20

30

40

50

; PB07; PB12; PB22; PB85; PB99; PC11; PC20; PC41
; PC49; PC52; PC53; PC55; PC73; PD02;
M [20P] -789: PA10; PA11; PA13; PA22; PA23; PA27
; PA40; PA57; PA75; PA81; PB07; PB12; PB27; PB60
; PB88; PC11; PC20; PC23; PC35; PC41;
M [20P] -791: PA10; PA11; PA13; PA15; PA21; PA33
; PA35; PA40; PA57; PA69; PA85; PA98; PA99; PB07
; PB12; PB20; PB99; PC12; PC20; PC58;
M [20P] -793: PA11; PA13; PA14; PA15; PA19; PA26
; PA29; PA55; PA67; PA89; PB12; PB33; PB88; PC14
; PC20; PC21; PC34; PC37; PC67; PC97;
M [20P] -794: PA21; PA23; PA28; PA29; PA34; PA35
; PA57; PA75; PA81; PB07; PB12; PB18; PB32; PB58
; PC11; PC14; PC41; PC55; PC62; PC74;
M [20P] -795: PA10; PA13; PA20; PA23; PA27; PA29
; PA57; PA60; PA69; PB00; PB07; PB12; PB18; PB32
; PB85; PB88; PC20; PC66; PC74; PD02;
M [20P] -803: PA11; PA13; PA15; PA22; PA25; PA26
; PA29; PA30; PA33; PA40; PA75; PB07; PB12; PB28
; PC21; PC23; PC34; PC55; PC71; PC73;
M [20P] -804: PA11; PA12; PA13; PA20; PA22; PA23
; PA30; PA33; PA34; PA79; PB12; PB18; PB58; PB60
; PB85; PB88; PC20; PC50; PC67; PC68;
M [20P] -806: PA06; PA10; PA11; PA13; PA19; PA20
; PA21; PA23; PA25; PA28; PA52; PA73; PA75; PA98
; PB12; PB33; PB82; PB85; PB88; PC11;
M [20P] -816: PA11; PA13; PA19; PA25; PA28; PA29
; PA33; PA57; PA81; PA89; PB00; PB10; PB12; PB26
; PB28; PB99; PC11; PC12; PC76; PC97;
M [20P] -819: PA10; PA11; PA13; PA15; PA26; PA34
; PA60; PA81; PA92; PB07; PB12; PB38; PB85; PC01
; PC14; PC20; PC52; PC58; PC66; PC67;
M [20P] -823: PA00; PA11; PA12; PA13; PA14; PA17
; PA27; PA29; PA40; PA60; PA75; PA79; PA89; PB07
; PB12; PB99; PC20; PC52; PC66; PC71;
M [20P] -830: PA13; PA20; PA25; PA26; PA28; PA40
; PA75; PA89; PB00; PB07; PB12; PB32; PB88; PC06
; PC12; PC20; PC41; PC52; PC76; PC98;
M [20P] -831: PA11; PA15; PA21; PA25; PA33; PB12
; PB28; PB32; PB33; PB38; PB60; PB77; PB88; PC20
; PC23; PC35; PC37; PC49; PC58; PC66;
M [20P] -841: PA10; PA11; PA13; PA18; PA22; PA28
; PA29; PA30; PA35; PA40; PA55; PA75; PB07; PB12
; PB28; PB32; PB33; PC41; PC49; PC60;
M [20P] -844: PA11; PA15; PA21; PA24; PA26; PA29
; PA33; PA40; PA69; PA81; PA98; PB12; PB28; PB61
; PC49; PC67; PC71; PC73; PC74; PD02;
M [20P] -845: PA11; PA13; PA14; PA15; PA21; PA30
; PA34; PA39; PA60; PA79; PA81; PA89; PB07; PB18
; PC14; PC20; PC21; PC34; PC68; PC97;

10

20

30

40

50

M [20P] -846: PA11; PA13; PA25; PA27; PA29; PA32
 ; PA33; PA35; PA37; PA39; PA40; PB08; PB12; PB33
 ; PB88; PC24; PC41; PC52; PC58; PC62;
 M [20P] -847: PA10; PA19; PA20; PA21; PA28; PA29
 ; PA30; PA67; PA75; PA89; PB00; PB12; PB28; PB33
 ; PB60; PC12; PC55; PC73; PC74; PD02;
 M [20P] -848: PA07; PA11; PA13; PA15; PA20; PA22
 ; PA26; PA27; PA30; PA40; PA69; PA75; PB12; PB32
 ; PB85; PB88; PC34; PC37; PC66; PC68;
 M [20P] -849: PA00; PA13; PA25; PA27; PA28; PA29
 ; PA34; PA40; PA57; PA81; PB00; PB12; PB18; PB77
 ; PC20; PC24; PC35; PC41; PC50; PC51;
 M [20P] -852: PA00; PA11; PA13; PA15; PA19; PA22
 ; PA26; PA35; PA89; PB00; PB12; PB58; PB77; PC12
 ; PC20; PC29; PC62; PC71; PC94; PC98;
 M [20P] -853: PA00; PA11; PA21; PA24; PA25; PA33
 ; PA57; PA60; PB07; PB12; PB28; PB32; PB60; PB82
 ; PB88; PC24; PC41; PC50; PC51; PC58;
 M [20P] -857: PA00; PA11; PA13; PA26; PA28; PA75
 ; PA76; PA79; PB12; PB28; PB60; PB88; PC11; PC12
 ; PC20; PC37; PC50; PC52; PC67; PD02;
 M [20P] -873: PA10; PA13; PA26; PA27; PA30; PA34
 ; PA85; PA98; PB05; PB07; PB12; PB28; PB29; PB32
 ; PB60; PC14; PC20; PC26; PC41; PC76;
 M [20P] -880: PA11; PA13; PA17; PA20; PA22; PA24
 ; PA26; PA27; PA29; PA38; PA57; PB07; PB12; PB20
 ; PB29; PB97; PC24; PC37; PC51; PC71;
 M [20P] -888: PA10; PA12; PA15; PA16; PA21; PA27
 ; PA28; PA33; PA44; PB00; PB12; PB13; PB27; PC11
 ; PC20; PC51; PC58; PC73; PC75; PD02;
 M [20P] -890: PA00; PA11; PA13; PA15; PA16; PA25
 ; PA34; PA75; PA82; PA86; PB00; PB12; PB16; PB27
 ; PB33; PC20; PC49; PC50; PC57; PC98;
 M [20P] -894: PA12; PA18; PA21; PA24; PA26; PA27
 ; PA34; PA57; PA67; PA82; PB01; PB12; PB33; PB76
 ; PB98; PB99; PC11; PC24; PC33; PC83;
 M [20P] -902: PA12; PA13; PA21; PA26; PA29; PA39
 ; PA40; PA57; PA96; PB00; PB07; PB12; PB27; PC20
 ; PC50; PC53; PC61; PC62; PC75; PC94;
 M [20P] -904: PA06; PA13; PA20; PA23; PA25; PA27
 ; PA35; PA46; PA52; PA60; PA81; PA90; PA97; PB03
 ; PB12; PB57; PB99; PC20; PC52; PC73;
 M [20P] -907: PA00; PA07; PA14; PA21; PA24; PA25
 ; PA45; PA75; PA83; PA97; PB12; PB26; PB32; PB60
 ; PB92; PC06; PC20; PC35; PC37; PD02;
 M [20P] -909: PA12; PA14; PA20; PA21; PA29; PA39
 ; PA72; PA93; PB12; PB22; PB28; PB32; PC21; PC23
 ; PC24; PC41; PC52; PC73; PC79; PD02。

【0175】

注：上記および以下の類似リストで、同じ薬草組成物中に植物コードが2回以上現れる場

10

20

30

40

50

合は、2つ以上の目盛り付きスプーンの対応する粉碎乾燥植物が使用されたことを意味する。

【0176】

リスト6-3に列挙された薬草組成物から出発して、水抽出のために100g/Lのスクロースを含有する40mLの水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む前述した方法Bに従って、対応する水抽出物（または処理試料）を調製した。

【0177】

以下の処理試料の最終希釈：1：20、1：63、および1：200で、以下のStaphylococcus aureus株：ATCC 25923、ATTC 49476、ATTC 6538、ATTC 51740、ATCC 29213、およびATTC 14775を使用することによって、前述した方法Cに従って各処理試料の生物学的活性を決定した。

10

【0178】

1：20の希釈でのミックス[2P]-1の2つの植物を含む薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均が、表5-1に示される。

20

30

40

50

【表 18】

表5-1: 1:20の希釈でのミックス[2P]-1に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均。(A)より高い抗菌活性および抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物。(B)抗バイオフィーム活性および同等またはより低い抗菌活性を示すミックス抽出物。(C)抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィーム活性を示すミックス抽出物

(A)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-1	22%	36%
M[20P]-563	26%	40%
M[20P]-495	25%	43%
M[20P]-631	27%	42%
M[20P]-465	24%	50%
M[20P]-408	26%	50%
M[09P]-8	31%	48%
M[19P]-13	31%	50%
M[18P]-12	40%	50%
M[20P]-581	40%	50%
M[20P]-469	40%	55%
M[20P]-485	43%	52%
M[20P]-427	37%	66%
M[20P]-582	51%	54%
M[20P]-431	44%	65%
M[20P]-618	54%	57%
M[20P]-580	61%	59%
M[20P]-421	53%	70%
M[20P]-499	60%	67%
M[20P]-525	86%	77%
M[20P]-29	105%	93%

(B)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-1	22%	36%
M[20P]-723	11%	40%
M[20P]-786	20%	40%
M[20P]-737	22%	40%
M[20P]-340	11%	40%
M[20P]-382	13%	41%
M[20P]-444	18%	42%
M[20P]-603	12%	42%
M[20P]-470	19%	42%
M[20P]-503	12%	46%
M[19P]-67	18%	49%
M[20P]-533	21%	50%
M[20P]-845	16%	51%
M[20P]-377	21%	51%
M[20P]-510	7%	55%

(C)	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
ミックス[2P]-1	22%	36%
M[17P]-9	27%	29%
M[18P]-37	29%	36%

【0179】

9、18、19、または20個の植物を含有する薬草組成物から得られた20個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス[2P]-1よりも高い抗バイオフィーム活性および抗菌活性を有することが見出された(表5-1A)。14個の20植物ミックス抽出物が、より高い抗バイオフィーム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された(表5-1B)。17および18個の植物を含有する薬草組成物から得られた2つの処理試料は、より高い抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィーム活性を有することが見出された(表5-1C)。

【0180】

1:20の希釈でのミックス[2P]-2の2つの植物を含む薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィーム形成阻害率平均が、表5-2に示される。

10

20

30

40

50

【表 19 - 1】

表5-2: 1:20の希釈でのミックス[2P]-2に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害率の有効性の平均。(A)より高い抗菌活性および抗バイオフィルム活性を示すミックス抽出物。(B)抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィルム活性を示すミックス抽出物。

(A)	浮遊成長 阻害	バイオフィルム 形成阻害
ミックス[2P]-2	12%	-3%
M[17P]-5	17%	17%
M[20P]-654	16%	20%
M[16P]-1	14%	22%
M[17P]-1	16%	22%
M[20P]-779	14%	29%
M[20P]-746	15%	28%
M[20P]-635	17%	26%
M[20P]-844	15%	29%
M[20P]-831	17%	31%
M[20P]-894	18%	30%
M[20P]-888	23%	25%
M[20P]-407	19%	31%
M[20P]-907	21%	31%
M[20P]-335	19%	33%
M[20P]-714	17%	35%
M[20P]-668	15%	38%
M[20P]-584	14%	39%
M[20P]-777	16%	37%
M[20P]-853	20%	34%
M[20P]-785	16%	39%
M[20P]-622	21%	34%
M[09P]-2	17%	39%
M[19P]-46	18%	37%
M[20P]-387	13%	43%
M[20P]-767	18%	39%
M[18P]-23	24%	33%
M[20P]-745	20%	37%
M[20P]-478	22%	36%

(B)	浮遊成長 阻害	バイオフィルム 形成阻害
ミックス[2P]-2	12%	-3%
M[20P]-638	11%	13%
M[20P]-794	6%	16%
M[20P]-909	0%	19%
M[20P]-538	8%	22%
M[20P]-781	6%	24%
M[19P]-27	7%	26%
M[20P]-681	11%	24%
M[16P]-3	8%	28%
M[20P]-721	2%	28%
M[20P]-493	7%	28%
M[17P]-6	9%	29%
M[20P]-659	10%	30%
M[20P]-409	10%	30%
M[20P]-602	4%	31%
M[20P]-456	9%	31%
M[20P]-383	5%	32%
M[20P]-847	13%	33%
M[20P]-496	6%	34%
M[19P]-51	10%	34%
M[20P]-371	7%	36%
M[20P]-609	12%	36%
M[19P]-52	9%	36%
M[19P]-50	12%	36%
M[18P]-24	11%	36%
M[19P]-53	10%	40%

10

20

30

40

50

【表 19 - 2】

M[19P]-45	16%	42%
M[19P]-49	19%	40%
M[20P]-467	17%	42%
M[20P]-396	21%	38%
M[20P]-392	17%	42%
M[19P]-44	20%	42%
M[19P]-41	23%	40%
M[19P]-48	18%	46%
M[19P]-47	17%	46%
M[20P]-490	20%	44%
M[19P]-21	29%	35%
M[20P]-632	24%	40%
M[19P]-54	19%	45%
M[20P]-461	19%	46%
M[19P]-42	24%	41%
M[20P]-506	17%	49%
M[19P]-55	21%	46%
M[20P]-459	26%	42%
M[20P]-375	19%	52%
M[19P]-2	26%	49%
M[19P]-40	28%	48%
M[20P]-523	28%	51%
M[20P]-420	34%	56%
M[20P]-429	36%	59%
M[20P]-535	45%	55%
M[20P]-532	42%	60%
M[20P]-432	54%	72%
M[20P]-555	68%	65%
M[20P]-240	67%	78%
M[20P]-557	86%	78%

10

20

30

【0181】

9、16、17、18、19、または20個の植物を含有する薬草組成物から得られた58個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス〔2P〕-2よりも高い抗バイオフィルム活性および抗菌活性を有することが見出された（表5-2A）。16、17、19、または20個の植物を含有する薬草組成物から得られた25個の処理試料は、より高い抗バイオフィルム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された（表5-2B）。

40

【0182】

1：20の希釈でのミックス〔2P〕-3の2つの植物を含む薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均が、表5-3に示される。

50

【表 20-1】

表5-3: 1:20の希釈でのミックス[2P]-3に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害率の有効性の平均。(A)より高い抗菌活性および抗バイオフィルム活性を示すミックス抽出物。(B)抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィルム活性を示すミックス抽出物。

(A)	浮遊成長 阻害	バイオフィルム形 成阻害
ミックス[2P]-3	12%	28%
M[20P]-649	16%	29%
M[20P]-857	15%	32%
M[20P]-703	13%	36%
M[20P]-486	15%	35%
M[20P]-766	13%	37%
M[20P]-789	14%	36%
M[20P]-725	14%	37%
M[20P]-536	20%	32%
M[20P]-753	14%	38%
M[20P]-401	14%	38%
M[20P]-765	14%	38%
M[20P]-848	14%	39%
M[20P]-782	14%	40%
M[20P]-589	15%	39%
M[20P]-607	14%	40%
M[20P]-541	20%	34%
M[20P]-447	15%	39%
M[20P]-601	17%	38%
M[20P]-494	13%	43%
M[20P]-787	15%	40%
M[20P]-748	15%	41%
M[09P]-6	15%	41%
M[20P]-480	18%	38%
M[20P]-633	15%	41%
M[20P]-849	14%	42%
M[20P]-793	16%	42%
M[18P]-9	17%	41%
M[20P]-852	13%	45%
M[20P]-819	20%	39%
M[20P]-655	15%	44%
M[20P]-455	15%	44%
M[20P]-846	16%	44%
M[20P]-481	18%	41%
M[20P]-484	17%	42%
M[20P]-590	26%	34%
M[20P]-890	19%	42%
M[20P]-670	21%	40%

(B)	浮遊成長 阻害	バイオフィルム形 成阻害
ミックス[2P]-3	12%	28%
M[20P]-599	11%	32%
M[20P]-621	10%	32%
M[20P]-740	12%	33%
M[20P]-830	7%	33%
M[20P]-623	12%	34%
M[20P]-708	8%	35%
M[20P]-880	12%	35%
M[20P]-716	8%	35%
M[20P]-803	4%	36%
M[20P]-686	13%	36%
M[20P]-663	5%	36%
M[20P]-873	7%	36%
M[20P]-608	10%	37%
M[20P]-752	10%	37%
M[20P]-443	8%	37%
M[19P]-30	3%	37%
M[20P]-712	12%	37%
M[20P]-616	7%	38%
M[20P]-724	4%	38%
M[20P]-795	11%	38%
M[20P]-403	13%	38%
M[20P]-595	7%	38%
M[20P]-771	9%	39%
M[20P]-718	5%	39%
M[20P]-620	12%	39%
M[20P]-841	6%	40%
M[20P]-804	8%	40%
M[20P]-386	6%	41%
M[20P]-764	11%	42%
M[18P]-33	11%	42%
M[20P]-349	9%	43%
M[19P]-92	10%	46%
M[18P]-34	11%	47%
M[19P]-93	12%	50%
M[18P]-31	12%	51%
M[18P]-34	12%	51%
M[19P]-62	10%	56%

10

20

30

40

【表 20 - 2】

M[20P]-705	23%	39%
M[20P]-816	22%	39%
M[19P]-91	15%	48%
M[20P]-457	22%	43%
M[20P]-551	24%	41%
M[19P]-100	16%	50%
M[20P]-583	23%	43%
M[20P]-823	22%	44%
M[19P]-100	16%	50%
M[19P]-98	17%	50%
M[19P]-101	14%	54%
M[19P]-93	14%	53%
M[19P]-102	13%	54%
M[19P]-5	19%	49%
M[19P]-89	17%	51%
M[19P]-103	13%	55%
M[19P]-96	18%	52%
M[20P]-475	25%	45%
M[20P]-548	30%	42%
M[19P]-96	19%	53%
M[20P]-605	22%	50%
M[20P]-577	29%	44%
M[20P]-482	27%	46%
M[19P]-95	19%	55%
M[20P]-904	21%	55%
M[20P]-559	32%	47%
M[20P]-430	29%	71%
M[20P]-520	62%	67%
M[20P]-579	75%	66%
M[20P]-560	72%	70%
M[20P]-565	73%	73%
M[20P]-524	81%	79%
M[20P]-575	85%	76%

10

20

30

【0183】

40

9、19、または20個の植物を含有する薬草組成物から得られた70個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス〔2P〕-3よりも高い抗バイオフィルム活性および抗菌活性を有することが見出された（表5-3A）。18～20個の植物を含有する37個の処理試料は、より高い抗バイオフィルム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された（表5-3B）。

【0184】

1：20の希釈でのミックス〔3P〕-1の3つの植物を含む薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均が、表5-4に示される。

50

【表 2 1 - 1】

表5-4: 1:20の希釈でのミックス[3P]-1に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus 株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害率の有効性の平均。(A)より高い抗菌活性および抗バイオフィルム活性を示すミックス抽出物。(B)抗菌活性および同等のまたはより低い抗バイオフィルム活性を示すミックス抽出物。

(A)	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
ミックス[3P]-1	31%	15%
M[18P]-2	35%	42%
M[16P]-5	36%	41%
M[14P]-2	34%	44%
M[16P]-6	35%	44%
M[09P]-9	33%	47%
M[09P]-1	34%	45%
M[18P]-7	35%	45%
M[17P]-3	36%	44%
M[09P]-7	35%	49%
M[20P]-594	40%	46%
M[09P]-6	37%	51%
M[20P]-658	45%	43%
M[19P]-3	34%	54%
M[18P]-11	40%	49%
M[19P]-104	43%	46%
M[09P]-3	46%	44%
M[09P]-4	46%	45%
M[19P]-19	34%	57%
M[18P]-13	42%	50%
M[18P]-10	43%	49%
M[18P]-9	42%	51%
M[18P]-17	45%	51%
M[20P]-634	43%	56%
M[20P]-596	44%	55%
M[18P]-15	47%	52%
M[20P]-449	47%	56%
M[09P]-10	54%	50%
M[20P]-588	48%	56%
M[20P]-458	50%	56%
M[19P]-105	49%	56%
M[13P]-2	51%	56%

(B)	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
ミックス[3P]-1	31%	15%
M[20P]-692	11%	22%
M[20P]-612	6%	25%
M[18P]-22	4%	27%
M[20P]-388	9%	27%
M[20P]-380	12%	28%
M[11P]-12	22%	29%
M[19P]-33	8%	30%
M[19P]-35	6%	30%
M[17P]-2	12%	30%
M[20P]-678	10%	31%
M[19P]-22	17%	31%
M[20P]-552	16%	32%
M[17P]-4	9%	32%
M[20P]-806	12%	32%
M[12P]-1	19%	33%
M[14P]-1	18%	33%
M[19P]-28	6%	33%
M[12P]-2	22%	34%
M[18P]-1	16%	34%
M[19P]-36	6%	34%
M[20P]-479	23%	34%
M[15P]-1	23%	34%
M[09P]-21	22%	34%
M[20P]-446	10%	34%
M[19P]-34	7%	34%
M[19P]-106	29%	35%
M[10P]-41	8%	35%
M[13P]-1	22%	35%
M[18P]-5	18%	35%
M[19P]-39	-1%	35%
M[11P]-3	12%	35%

10

20

30

40

50

【表 2 1 - 2】

M[19P]-11	43%	67%
M[18P]-16	54%	59%
M[20P]-569	55%	60%
M[20P]-296	52%	62%
M[18P]-18	56%	61%
M[20P]-516	61%	68%
M[20P]-592	70%	71%
M[20P]-626	71%	71%
M[19P]-23	72%	72%
M[20P]-497	72%	77%
M[20P]-572	74%	78%
M[20P]-574	76%	79%
M[20P]-527	76%	80%
M[20P]-297	83%	81%
M[20P]-422	81%	83%
M[20P]-564	86%	82%
M[20P]-418	98%	87%
M[20P]-416	99%	89%
M[20P]-576	104%	86%
M[20P]-573	104%	93%

M[20P]-439	19%	36%
M[11P]-2	13%	36%
M[18P]-20	6%	36%
M[20P]-757	18%	36%
M[10P]-303	25%	36%
M[11P]-11	29%	37%
M[11P]-6	9%	37%
M[19P]-37	5%	37%
M[18P]-19	10%	37%
M[18P]-4	29%	37%
M[18P]-35	27%	37%
M[18P]-25	11%	37%
M[11P]-5	10%	38%
M[20P]-694	20%	38%
M[11P]-8	10%	38%
M[11P]-9	11%	38%
M[20P]-733	12%	38%
M[11P]-7	10%	38%
M[19P]-31	6%	38%
M[19P]-32	4%	38%
M[19P]-29	6%	38%
M[18P]-6	22%	38%
M[20P]-374	2%	38%
M[11P]-4	12%	39%
M[20P]-791	13%	39%
M[20P]-758	15%	39%
M[19P]-26	6%	39%
M[20P]-697	17%	39%
M[19P]-38	4%	40%
M[19P]-24	28%	40%
M[16P]-2	24%	40%
M[18P]-21	9%	40%
M[15P]-5	29%	40%
M[17P]-8	30%	40%
M[20P]-613	8%	41%
M[18P]-14	27%	41%
M[20P]-604	14%	41%
M[11P]-1	17%	41%
M[18P]-36	29%	41%
M[18P]-3	23%	42%
M[20P]-453	5%	42%
M[19P]-25	9%	42%
M[20P]-709	18%	42%
M[20P]-474	16%	45%

10

20

30

40

50

【表 2 1 - 3】

M[20P]-666	22%	45%
M[20P]-902	21%	46%
M[20P]-435	15%	46%
M[20P]-567	30%	47%
M[19P]-4	24%	47%
M[19P]-16	18%	47%
M[19P]-59	10%	48%
M[19P]-17	23%	48%
M[19P]-58	20%	49%
M[19P]-60	13%	49%
M[19P]-15	27%	50%
M[11P]-10	31%	50%
M[19P]-14	27%	50%
M[19P]-6	32%	51%
M[20P]-445	21%	51%
M[19P]-8	30%	51%
M[19P]-18	21%	52%
M[19P]-9	29%	52%
M[19P]-7	30%	52%
M[19P]-10	29%	52%
M[19P]-68	23%	53%
M[19P]-63	16%	53%
M[19P]-69	22%	53%
M[19P]-1	26%	54%
M[19P]-66	24%	54%
M[19P]-12	26%	54%
M[20P]-472	27%	54%
M[19P]-20	31%	54%
M[19P]-70	19%	55%
M[19P]-62	17%	56%
M[19P]-57	21%	56%
M[19P]-65	27%	57%
M[19P]-73	18%	57%
M[20P]-514	30%	58%
M[19P]-56	24%	58%
M[19P]-64	27%	59%
M[19P]-72	20%	60%
M[19P]-71	19%	61%

10

20

30

40

【0185】

9、16、17、18、19、または20個の植物を含有する薬草組成物から得られた51個の処理試料は、参照ミックス抽出物であるミックス〔3P〕-1よりも高い抗バイオフィルム活性および抗菌活性を有することが見出された（表5-4A）。9～20個の植物を含有する113個の処理試料は、より高い抗バイオフィルム活性および同等のまたはより低い抗菌活性を有することが見出された（表5-4B）。

【0186】

比較例3

50

比較例として、我々は、*Staphylococcus aureus*に対して抗菌活性および抗バイオフィルム活性を全く有しないか、不十分であることが見出された、実施例1の3つの植物（PA13、PA21、PB12）のうちの1つの植物のみを含有するいくつかの20植物ミックス抽出物を報告する。

【0187】

リスト5-8に報告される内容物を有する10個の薬草組成物を、前述した方法Aに従って調製した。

リスト5-8：処理試料の薬草組成物

M [20P] - 39 : PB00 ; PB01 ; PB02 ; PB03 ; PB04 ; PB05 ;
PB06 ; PB07 ; PB08 ; PB09 ; PB10 ; PB11 ; PB12 ; PB13 ;
PB14 ; PB15 ; PB16 ; PB17 ; PB18 ; PB19 ;

10

M [20P] - 239 : PA00 ; PA05 ; PA21 ; PA23 ; PA26 ; PA33
; PA39 ; PA60 ; PA85 ; PB00 ; PB06 ; PB32 ; PB79 ; PC02
; PC26 ; PC34 ; PC38 ; PC62 ; PC78 ; PC84 ;

M [20P] - 337 : PA00 ; PA10 ; PA11 ; PA15 ; PA18 ; PA21
; PA22 ; PA24 ; PA26 ; PA28 ; PA52 ; PA94 ; PA98 ; PB10
; PB20 ; PB26 ; PB29 ; PB82 ; PC67 ; PC97 ;

M [20P] - 362 : PA21 ; PA23 ; PA25 ; PA33 ; PA37 ; PA57
; PA69 ; PA81 ; PA92 ; PB16 ; PB25 ; PB26 ; PB28 ; PB29
; PB78 ; PC20 ; PC21 ; PC71 ; PC83 ; PD02 ;

20

M [20P] - 364 : PA15 ; PA21 ; PA25 ; PA28 ; PA39 ; PA75
; PA80 ; PA85 ; PA89 ; PA98 ; PB01 ; PB06 ; PB24 ; PB28
; PB35 ; PC24 ; PC25 ; PC57 ; PC75 ; PC82 ;

M [20P] - 540 : PA06 ; PA10 ; PA12 ; PA14 ; PA20 ; PA21
; PA26 ; PA27 ; PA27 ; PA57 ; PA57 ; PA57 ; PA69 ; PB07
; PB82 ; PC11 ; PC20 ; PC23 ; PC55 ; PC98 ;

M [20P] - 647 : PA10 ; PA11 ; PA24 ; PA26 ; PA28 ; PA33
; PA35 ; PA40 ; PA57 ; PA69 ; PB00 ; PB07 ; PB12 ; PB28
; PB33 ; PB38 ; PB60 ; PC55 ; PC67 ; PC97 ;

M [20P] - 652 : PA00 ; PA07 ; PA13 ; PA15 ; PA16 ; PA23
; PA26 ; PA28 ; PA33 ; PA39 ; PA57 ; PA92 ; PB28 ; PB38
; PC20 ; PC21 ; PC52 ; PC55 ; PC74 ; PC97 ;

30

M [20P] - 862 : PA11 ; PA15 ; PA18 ; PA21 ; PA25 ; PA27
; PA28 ; PA29 ; PA35 ; PA38 ; PA52 ; PA86 ; PA89 ; PA92
; PB07 ; PB28 ; PB88 ; PC11 ; PC55 ; PC98 ;

M [20P] - 872 : PA13 ; PA14 ; PA16 ; PA28 ; PA29 ; PA30
; PA33 ; PA35 ; PA39 ; PA81 ; PA90 ; PA92 ; PB00 ; PB32
; PC12 ; PC34 ; PC37 ; PC67 ; PC97 ; PD02。

【0188】

水抽出のために100 g / Lのスクロースを含有する40 mLの水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む、前述した方法Bに従って、対応する薬草組成物から10個の水抽出物（または処理試料）を調製した。

40

【0189】

各処理試料について、以下の最終希釈：1：20、1：63、および1：200で、前述した方法Cに従って、生物学的活性を決定した。

【0190】

1：20の希釈でのミックス処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均が、表5-5に示される。

【表 2 2】

表 5－5：1：20 の希釈での処理試料の 6 つの試験した *Staphylococcus aureus* 株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害率の有効性の平均。

	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
ミックス [2 P]－1	22 %	36 %
ミックス [2 P]－2	12 %	－3 %
ミックス [2 P]－3	12 %	28 %
M [20 P]－362	－1 %	－6 %
M [20 P]－364	－5 %	6 %
M [20 P]－039	1 %	6 %
M [20 P]－862	5 %	2 %
M [20 P]－337	0 %	9 %
M [20 P]－872	2 %	11 %
M [20 P]－540	5 %	10 %
M [20 P]－652	9 %	7 %
M [20 P]－239	9 %	7 %
M [20 P]－647	9 %	9 %

【0191】

実施例 1 の 3 つの植物（PA13、PA21、PB12）のうち 1 つのみの植物を含む 20 個の植物を含有する薬草組成物から得られた試験した全ての処理試料は、参照ミックス [2 P]－1（PA13 および PA21 から得られる）、ミックス [2 P]－2（PA21 および PB12 から得られる）、ならびにミックス [2 P]－3（PA13 および PB12 から得られる）の 3 つの 2 植物ミックス抽出物よりも低い抗菌活性、ならびにミックス [2 P]－1 およびミックス [2 P]－3 よりも低い抗バイオフィルム活性を示した。

【0192】

実施例 6

この実施例では、我々は、実施例 4 および 5 に記載された最良のミックスの中から選択される 2 つの処理試料の *Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、および *Staphylococcus pseudintermedius* に対する同時の抗菌活性および抗バイオフィルム活性を報告する。

【0193】

医薬品グレードの乾燥植物を、「Pharmacie Fontgieve」（Clermont-Ferrand, フランス）、および「Pharmacie St Herem」（Clermont-Ferrand, フランス）から得た。

【0194】

下記の表 6－1 に報告される乾燥植物粉末を含有する 2 つの薬草調製物を、前述した方法 A に従って調製した。

【表 2 3】

表 6 - 1

薬草組成物	M [2 0 P] - 5 7 6	M [1 0 P] - 1 5 4
植物 1	スプーン 2 杯分の P A 1 1	スプーン 1 杯分の P A 1 1
植物 2	スプーン 1 杯分の P A 1 2	スプーン 1 杯分の P A 1 2
植物 3	スプーン 3 杯分の P A 1 3	スプーン 1 杯分の P A 1 3
植物 4	スプーン 2 杯分の P A 1 4	スプーン 1 杯分の P A 2 1
植物 5	スプーン 1 杯分の P A 2 0	スプーン 1 杯分の P A 2 2
植物 6	スプーン 1 杯分の P A 2 1	スプーン 1 杯分の P A 7 9
植物 7	スプーン 1 杯分の P A 2 2	スプーン 1 杯分の P B 1 2
植物 8	スプーン 1 杯分の P A 2 9	スプーン 1 杯分の P B 4 9
植物 9	スプーン 1 杯分の P A 3 9	スプーン 1 杯分の P C 2 9
植物 1 0	スプーン 1 杯分の P B 1 2	スプーン 1 杯分の P C 6 3
植物 1 1	スプーン 1 杯分の P B 6 0	
植物 1 2	スプーン 1 杯分の P C 2 0	
植物 1 3	スプーン 1 杯分の P C 2 6	
植物 1 4	スプーン 1 杯分の P C 3 3	
植物 1 5	スプーン 1 杯分の P C 3 7	
植物 1 6	スプーン 1 杯分の P C 4 9	

10

20

【0 1 9 5】

そのような薬草組成物から出発して、水抽出のために 1 0 0 g / L のスクロースを含有する、M [2 0 P] - 5 7 6 に対して 4 0 m L および M [1 0 P] - 1 5 4 に対して 2 0 m L の水を使用し、濾過前の遠心分離ステップを含む前述した方法 B に従って、2 つの対応する水抽出物（または処理試料）を調製した。

【0 1 9 6】

以下の株を使用することによって、前述した方法 C に従って、処理試料の生物学的活性を決定した。

— Staphylococcus aureus 株 : ATCC 25923、ATTC 49476、ATTC 6538、ATTC 51740、ATCC 29213、ATTC 14775、NCTC 12493、ATCC 33591、ATCC 33592、ATCC 43300、ATCC 700698、ATCC 700699、ATCC 9144、および ATCC BAA-44

— Staphylococcus epidermidis 株 : ATCC 14990、ATCC 12228、ATCC 700296、ATTC 49134、および ATCC 49461

— Staphylococcus pseudintermedius 株 : ATCC 49444

【0 1 9 7】

H I D の形態での 2 つの処理試料で観察された最小阻害濃度 (M I C)、ならびに Staphylococcus aureus および Staphylococcus epidermidis の株全てにわたる平均有効性が、表 6 - 2 に示される。

30

40

50

【表 2 4】

表 6－2 : Staphylococcus aureus の 14 個の株、Staphylococcus epidermidis の 5 つの株、および Staphylococcus pseudintermedius の 1 つの株に対する 2 つの処理試料の H I D

		M[10P]-154	M[20P]-576
S. aureus	ATCC 25923	20	20
	ATTC 49476	40	40
	ATTC 6538	10	10
	ATTC 51740	20	40
	ATCC 29213	20	20
	ATTC 14775	20	20
	NCTC 12493	40	40
	ATCC 33591	20	40
	ATCC 33592	20	40
	ATCC 43300	20	40
	ATCC 700698	20	20
	ATCC 700699	40	20
	ATCC 9144	20	20
	ATCC BAA-44	40	20
	平均	25	28
S. epidermidis	ATCC 14990	40	20
	ATCC 12228	40	20
	ATCC 700296	40	20
	ATCC 49461	40	20
	ATTC 49134	80	80
	平均	48	32
S. pseudintermedius	ATCC 49444	40	40
	総平均	32	30

【0198】

M[10P]-154 および M[20P]-576 は、試験した全ての Staphylococcus aureus および Staphylococcus epidermidis に対して完全な抗菌活性を示した。M[10P]-154 は、1 つの Staphylococcus epidermidis 株に対して 1 : 80 で、4 つの Staphylococcus aureus 株、4 つの Staphylococcus epidermidis 株、および試験した Staphylococcus pseudintermedius 株に対して 1 : 40 で、9 つの Staphylococcus aureus 株に対して 1 : 20 で、かつ 1 つの Staphylococcus aureus 株に対して 1 : 10 で、完全な抗菌活性を示した。

【0199】

M[20P]-576 は、1 つの Staphylococcus epidermidis 株に対して 1 : 80 で、6 つの Staphylococcus aureus 株および試験した Staphylococcus pseudintermedius 株に対して 1 : 40 で、7 つの Staphylococcus aureus 株および 4 つの Staphylococcus epidermidis 株に対して 1 : 20 で、かつ 1 つの Staphylococcus aureus 株に対して 1 : 10 で、完全な抗菌活性を示した。

【0200】

1 : 20 の希釈での 2 つの処理試料の細菌浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害 (IBF) 率、ならびに Staphylococcus aureus および Staphylococcus epidermidis の株全てにわたる平均有効性が、表 6－3 に示される。

【表 2 5】

表 6－3：1：20 の希釈での 14 個の *Staphylococcus aureus* 株、5 つの *Staphylococcus epidermidis* 株、および 1 つの *Staphylococcus pseudintermedius* 株に対する 2 つの処理試料の浮遊成長阻害およびバイオフィルム形成阻害（IBF）

		浮遊成長阻害		バイオフィルム形成阻害(IBF)	
		M[10P]-154	M[20P]-576	M[10P]-154	M[20P]-576
S. aureus	ATCC 25923	96%	99%	90%	88%
	ATTC 49476	93%	109%	93%	95%
	ATTC 6538	49%	56%	45%	60%
	ATTC 51740	91%	106%	89%	96%
	ATCC 29213	94%	105%	91%	92%
	ATTC 14775	90%	105%	88%	90%
	NCTC 12493	99%	113%	93%	92%
	ATCC 33591	95%	113%	91%	93%
	ATCC 33592	97%	107%	91%	93%
	ATCC 43300	94%	110%	90%	92%
	ATCC 700698	92%	113%	89%	91%
	ATCC 700699	88%	95%	98%	96%
	ATCC 9144	82%	91%	88%	84%
	ATCC BAA-44	90%	101%	93%	94%
	平均	89%	102%	88%	90%
S. epidermidis	ATCC 14990	90%	101%	91%	90%
	ATCC 12228	90%	101%	93%	91%
	ATCC 700296	86%	90%	81%	82%
	ATCC 49461	90%	99%	93%	85%
	ATTC 49134	89%	96%	96%	90%
	平均	89%	98%	91%	88%
S. pseudintermedius	ATCC 49444	92%	103%	95%	93%
総平均		89%	101%	89%	89%

【0201】

1：20 の希釈では、M [10P]－154 は、試験した全ての *Staphylococcus aureus* 株に対して平均 88 % のバイオフィルム形成阻害を示したが、M [20P]－576 は、平均 90 % を示した。2 つのミックスは、1 つの株：ATTC 6538 に対してより低い抗菌活性を示した（M [10P]－154 に対して 45 %、M [20P]－576 に対して 60 %）。M [10P]－154 は、試験した全ての *Staphylococcus epidermidis* 株に対して平均 91 % の浮遊成長阻害を示したが、M [20P]－576 は、平均 88 % を示した。（表 6－3 参照）。2 つのミックスは、試験した *Staphylococcus pseudintermedius* に対して、より大きい、それぞれ 95 %（M [10P]－154）および 93 %（M [20P]－576）の阻害率を示した。したがって、M [10P]－154 および M [20P]－576 は、1：20 の希釈で、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、および *Staphylococcus pseudintermedius* に対して抗バイオフィルム活性を実証した。

【0202】

実施例 7

以下の製剤に使用したミックス〔20C〕-576（実施例6に記載）の溶液を、濾過ステップを除いて前述した方法AおよびBに従って調製し、濾過ステップは、この実施例では、5 cm厚の親水性綿層で充填されたブフナー漏斗での吸引濾過によって実施される。明確にするために、この綿濾過溶液は、以下の実施例においてSK576と称される。

〔0203〕

局所適用に使用される軟膏および2つのクリームを、以下のような乳化方法で調製した。一相Aおよび相Bを、2つの別々のビーカー内で以下の成分を軌道振とうしながら混合することによって調製した。

【表26】

	相 A	相 B
軟膏	- 73.8 g の有機アーモンド油 (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス) - 18.5 g の有機蜜蝋 (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス) - 9.7 g の有機シアバター (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス) - 1.0 mL の天然トコフェロール (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス)	- 実施例6に開示されるように調製した29.6 g のSK576 - 13.5 g の有機グリセリン (The Naissance Trading & Innovation, "Naissance™", UK) - 2.7 g のアスコルビン酸 (Hyteck "Aroma Zone™", フランス)
クリーム1	- 30.4 g の有機アーモンド油 (Hyteck, "Aroma Zone", フランス) : - 8.3 g の有機Olivem (登録商標) 1000 (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス) - 3.1 g のメントール (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス) - 1.0 mL の天然トコフェロール (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス)	- 実施例6に開示されるように調製した51.5 g のSK576 - 14.9 g の有機グリセリン (The Naissance Trading & Innovation "Naissance™", UK)
クリーム2	- 14.9 g の有機アーモンド油 (Hyteck "Aroma Zone™", フランス) : - 11.8 g の有機Olivem (登録商標) 1000 (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス) - 5.1 g の有機シアバター (Hyteck, "Aroma Zone™", フランス) - 1.0 mL の天然トコフェロール (Hyteck "Aroma Zone™", フランス)	- 実施例6に開示されるように調製した160.0 g のSK576 - 10 g の有機グリセリン (The Naissance Trading & Innovation, "Naissance™", UK)

10

20

30

40

50

－ 2つのビーカーを温水浴を使用して70℃に加熱し、蜜蝋の結晶化を回避するために10分間70℃に維持した。

－ 次いで、ビーカーを温水浴中に保持しながら、かつ機械的浸漬ブレンダ（Moulinex"Infinyforce__hand blender", フランス）により一定攪拌しながら、相Bをゆっくりと相Aに注入した。

－ 次いで、A相およびB相のミックスを含むビーカーを温浴から取り出し、浸漬「マヨネーズブレンダ」（Moulinex"Infinyforce_hand blender", フランス）を使用することによって、軟膏を形成した。

【0204】

局所適用に使用されるゲルを、以下によって調製した。

－ 親水性シリンジフィルタ（0.22 μm）で20.6gのSK576を濾過する。

－ 0.75gのキサンタン粉末（Hyteck"Aroma Zone™", フランス）および0.25gのアスコルビン酸（Hyteck"Aroma Zone™", フランス）を濾過した溶液に添加し、形成するなどのために5～10分間スパチュラで混合する。

【0205】

局所適用に使用される噴霧溶液を、以下によって調製した。

－ 5.5gのSK576を11.9gの無水エタノール（Sigma-Aldrich, フランス）と20mLビーカー内で混合し、これを5℃の冷蔵庫内で3時間貯蔵した。

－ 氷水浴中に低温混合物を有するビーカーを配置し、0.7gのKolliphor（登録商標）P-407（Sigma-Aldrich, フランス）を磁気棒および攪拌器で攪拌しながら静かに添加する。

－ 氷水浴中で30分間攪拌した後、溶液を投与のために試薬噴霧器（C A M A G, スイス）に充填した。

【0206】

これらの5つの調製物の各々のプロトコルは、各成分の同じ相対量を維持することによって、異なる量の調製物に容易に増減され得る。

【0207】

実施例 8

致死性Staphylococcus aureus感染のマウスモデルにおける本発明の水抽出物の生物学的活性

導入

S. aureus株Newmanは、1952年にヒト感染から単離され、その強い病原性表現型のためにブドウ球菌感染の動物モデルにおいて広く使用されている。

【0208】

雌OF1マウスは、Staphylococcus aureusによって誘発される病因を研究するために広く使用されている。Staphylococcus aureus感染の病因に関する初期の研究は、その技術的容易さにより、マウスを感染させ、かつ処置するために腹腔内攻撃接種経路を使用した。

【0209】

この実施例の目的は、致死用量のNewman Staphylococcus aureusに感染した雌OF1マウスにおいて、本発明の水抽出物の抗菌活性を評価することであった。感染の2日前から感染の7日後まで、Q1D×10のスケジュールに従って、経口経路によって処置を行った。死亡率のモニタリングをD0からD15まで実施した。

【0210】

ビヒクルを陰性対照として使用した。

【0211】

材料および方法

試験物質および対照

試験物質：水抽出物M [20C] 576（実施例6に記載されるように調製した120g/Lの薬草組成物から出発して得られた）。それを、1,200 μLの各々の水抽出物を

10

20

30

40

50

含む11個のバイアルで提供した。−20℃で貯蔵した。

【0212】

ビヒクル：スクロース10%水溶液。それは、−20℃で貯蔵される。

【0213】

細菌株：Newman Staphylococcus strain (Dr T. Foster, Trinity College, Dublin, Ireland)によって提供、バッチ番号No. 14156, LST4)。

【0214】

動物購入およびケーシング

6週齢の20匹のCrl:OF1(非近交系)雌マウスをCharles River (L'Arbresle, フランス)から購入した。

【0215】

動物飼育器は、French Ministries of Agriculture and Research (契約番号B35-288-1)によって承認された。動物実験を、動物実験の倫理指針(Principes d'ethique de l'experimentation animale, Directive n° 86/609 CEE du 24 Nov. 1986, Decret n° 87/848 du 19 Oct. 1987, Arrete d'Application du 19 Avril 1988)に従って実施した。

【0216】

動物を、温度(22±3℃)、湿度(50±20%)、光周期(明12時間/暗12時間)、空気交換、および低圧の制御条件下で「A2」の部屋に維持した。空気取り扱いシステムは、再循環なしで1時間に14回の空気交換のためにプログラムされている。

【0217】

ケージ上の金属製のふた内に配置した食物および水を自由に提供した。

【0218】

処置および実験設計

細菌の調製—攻撃接種のための細菌の増幅

1つのバイアルの細菌を解凍し、100μLの接種材料を50mLのTryptic Soy Broth (TSB, 参照43592または22902, Sigma)中で培養した。細菌を水平振とう器上で、110rpmで攪拌しながら37℃において20時間インキュベートした。細菌懸濁液は、1/20(100μL+1.9mLのTSB)で希釈され、光学密度は、680nm(O.D. 680nm)で読み取られる。

【0219】

次いで、10mLの細菌を4℃において10分間、5,200rpm(3400g)で遠心分離した。上清を捨て、細菌を10mLのDPBS(参照BE17-512F, Lonza, フランス)中に可溶化した。細菌懸濁液(C0)を1/20(100μL+1.9mLのDPBS)で希釈し、O.D. 680nmが測定される。

【0220】

遠心分離の前後で測定されたO.D. 680nmは、同様でなければならない。

【0221】

細菌溶液のCFU/mLの濃度を以下のように計算した：

$CFU/mL = (O.D. 680nm \times 20 \text{ (希釈係数)}) \times 6.5 \cdot 10^8 \text{ (CFU/U.D.O)}$

【0222】

ムチン調製物

ムチン(Sigma, フランス)を、以下に記載されるように処置の14~16日前に20%で調製した。

DPBS(ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水)を56℃で予熱し、最終体積の3/4をミキサに移し、次いでブタムチンが添加および混合される。ミキサを残りの体積のDPBSで洗浄した。次いで、20%ムチン溶液を三角フラスコに移し、1時間30分攪拌しながら37℃でインキュベートした。3/4の20%ムチン溶液を滅菌瓶に移した。残り1/4の溶液を個別に貯蔵した。次いで、3/4および1/4溶液をオートクレーブ滅菌した

10

20

30

40

50

。滅菌 20%ブタムチン溶液を +4℃で貯蔵した。

【0223】

感染前日に、20%ムチン溶液の 3/4 の pH を、濾過した NaOH 30% を添加することによって 7.4 に調整した。必要に応じて、残りの 1/4 溶液の一部を使用して pH を調整した。

【0224】

細菌調製物

O.D. 680nm の結果に従って、細菌 (C0) を DPBS で希釈して、 6.8×10^7 CFU/mL の濃度を得た。次いで、これらの懸濁液を 20%ブタムチンで 1/2 で希釈して、PBS-10%ブタムチン中で 3.4×10^7 CFU/mL の LD80 濃度を得た。処置に使用される懸濁液を、滅菌ガラスビーズ (4mm, 参照 068502, Dutscher, フランス) を含むチューブに入れた。懸濁液をボルテックスしなかったが、チューブを反転させることによって混合した。細菌を処置前に氷上に配置し、処置中に氷上に保持した。

【0225】

CFU の決定

動物に接種する前後の細菌懸濁液の正確な濃度を決定するために、細菌懸濁液を、深いウェル中で、表 8-1 に記載される DPBS-0.5% Tween 20 (Sigma, フランス) 中の 10 倍連続希釈で希釈した (50 μL の細菌 + 450 μL の DPBS-0.5% Tween 20)。次いで、 $6 \times 50 \mu\text{L}$ の細菌希釈物 3、4、5、および 6 を Tryptic Soy Agar プレート (Tryptic Soy Agar, Sigma) に播種し、37℃で一晩置いた。コロニーを計数して、接種材料の実際の CFU (コロニー形成単位) を決定した。

【0226】

計算を、20~100 コロニーを含有する液滴 (50 μL) で実現した。影付きボックスは、プレートに播種された希釈物に対応する。

【表 27】

表 8-1 : 接種材料の実際の CFU (生存率) を決定するための細菌懸濁液の希釈。影付きボックスは、プレートに播種された希釈物に対応する。

	希釈					
PBS 中の細菌の一晩懸濁液	1	2	3	4	5	6
	1/10	1/100	1/10 ³	1/10 ⁴	1/10 ⁵	1/10 ⁶
例えば、初期濃度: 3.4×10^7 CFU/mL	3.4x10 ⁶	3.4x10 ⁵	34000	3400	340	34
コロニー数/50 μL (1 滴)	1.7x10 ⁵	1.7x10 ⁴	1.7x10 ³	170	17	1.7

【0227】

無作為化

実験前 (D-2)、20 匹の健康な OFI 雌マウスを、体重基準に従って 10 匹/群の 2 群に無作為化し、これにより群の平均体重は、統計的に異ならなかった。

【0228】

処置

経口 (PO) 投与によって、D-2 から D7 (D0: 細菌接種日) まで、処置を実施した。細菌接種を腹腔内注射 (IP) によって行った。

【0229】

接種

D0 に、マウスに細菌懸濁液を接種した。各接種は、 3.4×10^7 CFU/mL (1.7×10^7 CFU/マウス) で、500 μL の懸濁液の腹腔内注射からなった。

【0230】

実験設計

動物をD-2からD7まで、試験物質の経口投与で処置した。D0に、細菌接種の1時間後に処置を実施した。

【0231】

実験群は、下記のように定義され、表8-2に要約される。

- ・群1の10匹のマウスは、処置スケジュールQ1DX10に従って、経口投与によってビヒクルを用いて、D-2からD7まで処置される。
- ・群2の10匹のマウスは、処置スケジュールQ1DX10に従って、経口投与によって試験物質を用いて、D-2からD7まで処置される。

【表28】

表8-2: 実験設計

群	マウスの数	試験物質	投与経路	投与体積	処置スケジュール	細菌モデル
1	10	ビヒクル	PO	10mL/kg	Q1DX10(D-2からD7まで)	IP致死性Newman Staphylococcus aureus(3.4×10^7 CFU/mL)500 μ L
2		試験物質				

【0232】

動物のモニタリング

D0からD1まで、死亡率に関してマウスを1日2回観察した。

【0233】

D2からD15まで、死亡率に関してマウスを1日1回観察した。

【0234】

実験の終わりまで、マウスの体重を週2回記録した。

【0235】

詳細な臨床観察（皮膚、毛、目、粘膜の変化、分泌物および排泄物の発生、呼吸機能、歩行の変化、姿勢）を、例えば、以下の表8-3に記載されるように週2回監視した。このリストの説明は、網羅的なものではなく、必要に応じて他の所見によって補完した。

10

20

30

40

50

【表 29】

表 8-3 臨床所見／パラメータ

パラメータ	説明	パラメータ	説明	パラメータ	説明
可動性／歩行	静止	挙動	怯える	毛	正常
	減少		正常		逆立つ
	正常		攻撃的		喪失
	過剰	呼吸	ゆっくり		色付き
構え	正常		正常		該当なし
	伏せる		速い	粘膜	正常
麻痺	なし		不規則		異常（鼻）
	右前	目	正常		異常
	左前		涙目		（口）
	右後ろ		閉じている		異常
	左後ろ	肌	正常		（鼻／口）
	右側		発赤	排泄物	ほとんどない
	左側		斑点		正常
	前側		創傷		十分
	後側		血腫		乾燥

10

20

【0236】

マウスの 殺

D15に、生存マウスを、必要に応じて、瀉血、続いて、頸椎脱臼によって 殺した。剖検を実施しなかった。

【0237】

結果

マウス生存の分析は、以下の表 8-4 および 8-5 に報告される結果を示した。

30

【表 30】

表8-4 1日当たりの生存マウス数

群	ND0	ND1	ND2	ND3	ND4	ND5	ND6	ND7	ND8
群1(ヒヒクル, PO, Q1D×10, 10mL/kg)	10	6	6	5	5	3	2	NA	0
群2(純TS, PO, Q1D×10, 10mL/kg)	10	6	6	6	6	6	4	NA	3

40

50

【表 3 1】

表8-5 1日当たりの生存マウスの割合

生存率									
群	ND0	ND1	ND2	ND3	ND4	ND5	ND6	ND7	ND8
群1(ヒビクル, PO, Q1D ×10, 10mL/kg)	100%	60%	60%	50%	50%	30%	20%	NA	0%
群2(純TS, PO, Q1D× 10, 10mL/kg)	100%	60%	60%	60%	60%	60%	40%	NA	30%

NA＝利用不可

10

【0238】

処置は、マウスの死亡率を100%から70%に低減することを可能にした。したがって、この動物試験は、本発明の水抽出物が経口経路で動物に投与される場合、インビトロで観察された、特許請求の範囲に記載された抗菌活性および抗バイオフィーム活性が治療効果に変換されることを示した。

【0239】

実施例9

20

この実施例において、我々は、Filipendula ulmaria PA13、Camellia sinensis PA21、Arctostaphylos uva-ursi PB12の3つのうち2つの植物、およびEugenia caryophyllus PC20、Vitis vinifera var. tinctoria PA22、Desmodium adscendens PB07の3つのうち1つの植物の開示された組成物のStaphylococcus aureusに対する同時の抗菌活性および抗バイオフィーム活性を例示する。医薬品グレードの乾燥植物を「Herboristerie Cailleau」（Chemille, フランス）から入手した。

【0240】

そのような3つの異なる植物粉末から出発して、6つの薬草組成物を以前に報告された方法Aに従って調製した。

リスト9-1：処理試料の薬草組成物

30

M [02P] - 064 : PA13 ; PA21 ;
M [03P] - 050 : PA13 ; PA21 ; PC20 ;
M [03P] - 053 : PA13 ; PA21 ; PB07 ;
M [03P] - 056 : PA13 ; PA21 ; PA22 ;
M [02P] - 065 : PA13 ; PB12 ;
M [03P] - 051 : PA13 ; PB12 ; PC20 ;
M [03P] - 054 : PA13 ; PB12 ; PB07 ;
M [03P] - 057 : PA13 ; PB12 ; PA22 ;
M [02P] - 066 : PA21 ; PB12 ;
M [03P] - 052 : PA21 ; PB12 ; PC20 ;
M [03P] - 055 : PA21 ; PB12 ; PB07 ;
M [03P] - 058 : PA21 ; PB12 ; PA22 ;
M [03P] - 059 : PA13 ; PB12 ; PA21 ;
M [04P] - 025 : PA13 ; PB12 ; PA21 ; PC20 ;
M [04P] - 026 : PA13 ; PB12 ; PA21 ; PB07 ;
M [04P] - 027 : PA13 ; PB12 ; PA21 ; PA22 ;

40

【0241】

リスト6-3に列挙された薬草組成物から出発して、水抽出のために100g/Lのスクロースを含有する40mLの水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む前述した方法Bに従って、対応する水抽出物（または処理試料）を調製した。

50

【0242】

以下の処理試料の最終希釈：バイオフィルム形成阻害に対して1：5、および成長阻害に対して1：10で、以下のStaphylococcus aureus株：ATTC 6538を使用することによって、前述した方法Cに従って、各処理試料の生物活性を決定した。成長阻害は、1：5の希釈で各ミックスについて100%に近く、バイオフィルム形成阻害は、1：10の希釈で全てのミックスについて0%に近いことに留意されたい。

【0243】

異なる薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害率が、以下の表9-1に報告される。

【表32】

表9-1: リスト9-1に示される組成物に基づく処理試料のStaphylococcus aureus株ATCC（登録商標）6538™に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィルム形成阻害率の有効性の平均。処理試料を、浮遊成長阻害試験については1:10の希釈、バイオフィルム形成阻害については1:5の希釈で使用した。

(A)	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
M[02P]-064	47%	34%
M[03P]-050	70%	56%
M[03P]-053	55%	35%
M[03P]-056	56%	38%

(B)	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
M[02P]-065	42%	15%
M[03P]-051	59%	36%
M[03P]-054	54%	22%
M[03P]-057	54%	34%

(C)	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
M[02P]-066	40%	23%
M[03P]-052	53%	28%
M[03P]-055	59%	27%
M[03P]-058	60%	33%

(D)	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
M[03P]-059	59%	87%
M[04P]-025	69%	90%
M[04P]-026	64%	90%
M[04P]-027	64%	89%

(A)は、PA13およびPA21を含有する薬草組成物から得られた抽出物を列挙し、PC20、PB07およびPA22の中の1つの添加は、活性を改善する。(B)は、PA13およびPB12を含有する薬草組成物から得られた抽出物を列挙し、PC20、PB07およびPA22の中の1つの添加は、活性を改善する。(C)は、PA13、PA21およびPB12を含有する薬草組成物から得られた抽出物を列挙し、PC20、PB07およびPA22の中の1つの添加は、活性を改善する。(D)は、PA13およびPA21を含有する薬草組成物から得られた抽出物を列挙し、PC20、PB07およびPA22の中の1つの添加は、活性を改善する。

【0244】

実施例10

この実施例において、我々は、Filipendula ulmaria (PA13)、Camellia sinensis (PA21)、Arctostaphylos uva-ursi (PB12)の3つのうち2つの植物、およびEugenia caryophyllus (PC20)、Vitis vinifera var. tinctorial (PA22)、Desmodium adscendens (PB07)の3つのうち1つの植物を含む開示された薬草組成物から得られた324個の混合物抽出物の、Staphylococcus aureusに対する同時の抗菌活性および抗バイオフィルム活性を例示する

【0245】

M[20C]-2083~M[20C]-20798のミックスについて、医薬品グレードの乾燥植物を「Herboristerie Cailleau」(Chemille, フランス)から入手した。M[20C]-2805~M[20C]-2957のミックスについて、医薬品グレードの

乾燥植物を「Pharmacie Fontgieve」（Clermont-Ferrand, フランス、植物 P A 0 0 ~ P B 1 2）および「Pharmacie St Herem」（Clermont-Ferrand, フランス、植物 P B 1 3 ~ P D 0 2）から入手した。

【0246】

3 ~ 20 個の植物粉末を含有する薬草組成物を、前述した方法 A に従って調製した。

【0247】

薬草組成物から出発して、水抽出のために 100 g / L のスクロースを含有する 40 mL の水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む前述した方法 B に従って、対応する水抽出物（または処理試料）を調製した。

【0248】

1 : 20 の処理試料の最終希釈で、以下の *Staphylococcus aureus* 株 : ATCC 25923、ATCC 49476、ATCC 6538、ATCC 51740、ATCC 29213、および ATCC 14775 を使用することによって、前述した方法 C に従って各処理試料の生物学的活性を決定した。

【0249】

リスト 10-1、リスト 10-2、リスト 10-3、およびリスト 10-4 のそれぞれの以下の薬草組成物から得られた処理試料の全ての試験した株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均は、表 10-1、表 10-2、表 10-3、および表 10-4 にそれぞれ示される。各セットにおいて、3 個または 4 個を超える植物を含有する薬草組成物から得られた抽出物は、3 個または 4 個のみの植物を含有するミックスのいずれよりも大きい浮遊成長阻害またはバイオフィルム形成阻害（または両方の阻害）を示すことがわかった。

リスト 10-1 : *Filipendula ulmaria* (P A 1 3)、*Camellia sinensis* (P A 2 1) の 3 つのうち 2 つの植物、および *Eugenia caryophyllus* (P C 2 0)、*Vitis vinifera* var. *tinctorial* (P A 2 2)、*Desmodium adscendens* (P B 0 7) の 3 つのうち 1 つの植物を含有する薬草組成物からの抽出物 :

M [03P] - 050 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P C 2 0 ;

M [03P] - 053 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P B 0 7 ;

M [03P] - 056 : P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ;

M [20C] - 2808 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 8 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 4 ; P A 2 8 ; P A 6 9 ; P B 0 7 ; P B 8 8 ; P C 2 3 ; P C 2 4 ; P C 4 9 ; P C 5 2 ; P C 5 5 (スプーン 2 杯分) ; P C 6 0 ; P C 9 7 ;

M [20C] - 2820 : P A 1 0 ; P A 1 1 (スプーン 2 杯分) ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 8 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 5 ; P A 2 9 ; P A 3 3 ; P A 3 5 ; P A 6 7 ; P A 7 5 ; P B 0 7 ; P B 6 0 ; P C 3 3 ; P C 3 5 ; P C 5 5 ;

M [20C] - 2821 : P A 1 1 ; P A 1 3 (スプーン 2 杯分) ; P A 1 9 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 5 ; P A 2 9 ; P A 3 3 ; P A 3 5 ; P A 7 5 ; P B 0 7 ; P B 3 6 ; P C 2 0 ; P C 3 3 (スプーン 2 杯分) ; P C 4 9 ; P C 5 5 ; P C 9 7 ;

M [20C] - 2826 : P A 1 1 ; P A 1 3 (スプーン 2 杯分) ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 4 ; P A 2 5 ; P A 2 9 ; P A 3 3 ; P A 3 4 ; P A 3 5 ; P A 5 2 ; P A 7 0 ; P A 7 5 ; P B 0 7 ; P C 1 1 ; P C 2 1 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 7 4 ;

M [20C] - 2827 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 3 (スプーン 2 杯分) ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 5 ; P A 2 6 ; P A 2 9 ; P A 3 3 ; P A 3 5 ; P A 5 7 ; P A 7 5 ; P B 0 2 ; P B 0 7 ; P B 2 8 ; P C 1 1 ; P C 2 3 ; P C 3 3 ; P C 4 9 ;

M [20C] - 2830 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 8 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 5 ; P A 2 9 ; P A 3 2 ; P A 3 4 ; P A 6 7 ; P B 0 7 ; P B 6 0 ; P B 8 8 ; P C 3 3 ; P C 3 5 ; P C 5 5 ; P C 9 8 ;

M [20C] - 2831 : P A 1 3 ; P A 1 3 ; P A 1 9 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 2 ; P A 2 5 ; P A 2 9 ; P A 3 2 ; P A 3 4 ; P B 0 7 ; P B 3 6 ; P B 8 8 ; P C 2 0 ; P C 3 3 ; P C 3 3 ; P C 4 9 ; P C 5 5 ; P C 9 7 ; P C 9 8 ;

M [20C] - 2833 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 2 1 ; P A 2

10

20

30

40

50

2 ; PA 2 4 ; PA 2 5 ; PA 2 6 ; PA 2 9 ; PA 3 2 ; PA 3 4 ; PB 3 3 ; PB 8
8 ; PB 8 8 ; PC 1 2 ; PC 2 3 ; PC 2 7 ; PC 3 3 ; PC 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 8 3 6 : PA 1 3 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 4 ; PA 2
5 ; PA 2 9 ; PA 3 2 ; PA 3 4 ; PA 3 4 ; PA 5 2 ; PA 7 0 ; PB 0 7 ; PB 8
8 ; PC 1 1 ; PC 2 1 ; PC 3 3 ; PC 3 7 ; PC 7 4 ; PC 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 8 3 7 : PA 1 0 ; PA 1 3 (スプーン 2 杯分) ; PA 2 1 ; PA 2 2
; PA 2 5 ; PA 2 6 ; PA 2 9 ; PA 3 2 ; PA 3 4 ; PA 5 7 ; PB 0 2 ; PB 0 7
; PB 2 8 ; PB 8 8 ; PC 1 1 ; PC 2 3 ; PC 3 3 ; PC 4 9 ; PC 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 8 3 8 : PA 1 2 ; PA 1 3 (スプーン 2 杯分) ; PA 1 8 ; PA 2 1
; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 4 ; PA 2 5 ; PA 2 9 ; PA 3 2 ; PA 3 4 ; PB 8 8
; PC 2 3 ; PC 3 3 ; PC 4 9 ; PC 5 2 ; PC 5 5 ; PC 9 7 ; PC 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 8 3 9 : PA 1 3 (スプーン 2 杯分) ; PA 1 4 ; PA 2 1 ; PA 2 2
; PA 2 5 ; PA 2 5 ; PA 2 6 ; PA 2 9 ; PA 3 2 ; PA 3 4 ; PA 3 9 ; PA 5 2
; PA 5 7 ; PB 3 3 ; PB 8 8 ; PC 3 3 ; PC 7 1 ; PC 9 7 ; PC 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 8 5 8 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 8 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 2
3 ; PA 2 4 ; PA 2 4 ; PA 6 7 ; PB 0 7 ; PB 2 8 ; PB 3 3 ; PC 1 2 ; PC 2
0 ; PC 2 1 ; PC 2 3 ; PC 4 9 ; PC 5 2 ; PC 5 5 ; PC 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 8 6 1 : PA 1 3 ; PA 1 9 ; PA 2 1 ; PA 2 2 (スプーン 2 杯分)
; PB 0 7 ; PB 2 8 ; PB 3 6 ; PB 6 0 ; PC 1 1 ; PC 2 0 ; PC 2 0 ; PC 2 3
; PC 3 3 ; PC 4 9 ; PC 5 5 (スプーン 2 杯分) ; PC 6 0 ; PC 7 4 ; PC 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 8 6 6 : PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 4 ; PA 3 4 ; PA 5
2 ; PA 7 0 ; PB 0 7 ; PB 2 8 ; PB 6 0 ; PC 1 1 (スプーン 2 杯分) ; PC 2 0
; PC 2 1 ; PC 2 3 ; PC 3 7 ; PC 5 5 ; PC 6 0 ; PC 7 4 (スプーン 2 杯分) ;
M [2 0 C] - 2 8 6 7 : PA 1 0 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 6 ; PA 5
7 ; PB 0 2 ; PB 0 7 ; PB 2 8 ; PB 2 8 ; PB 6 0 ; PC 1 1 (スプーン 2 杯分)
; PC 2 0 ; PC 2 3 ; PC 2 3 ; PC 4 9 ; PC 5 5 ; PC 6 0 ; PC 7 4 ;
M [2 0 C] - 2 8 6 8 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 8 ; PA 2 1 ; PA 2 1 ; PA 2
2 ; PA 2 4 ; PB 2 8 ; PB 6 0 ; PC 1 1 ; PC 2 0 ; PC 2 3 (スプーン 2 杯分)
; PC 4 9 ; PC 5 2 ; PC 5 5 (スプーン 2 杯分) ; PC 6 0 ; PC 7 4 ; PC 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 8 6 9 : PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 2 5 ; PA 2
6 ; PA 3 9 ; PA 5 2 ; PA 5 7 ; PB 2 8 ; PB 3 3 ; PB 6 0 ; PC 1 1 ; PC 2
0 ; PC 2 3 ; PC 5 5 ; PC 6 0 ; PC 7 1 ; PC 7 4 ; PC 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 8 7 1 : PA 1 0 ; PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 1 9 ; PA 2 1 ; PA 2
2 ; PA 3 5 ; PA 5 7 ; PB 0 7 ; PB 0 7 ; PB 3 6 ; PB 7 7 ; PC 2 0 (スプー
ン 2 杯分) ; PC 2 3 ; PC 3 3 ; PC 4 9 ; PC 5 5 ; PC 7 1 ; PC 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 8 7 6 : PA 1 0 ; PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2 4 ; PA 3
4 ; PA 3 5 ; PA 5 2 ; PA 5 7 ; PA 7 0 ; PB 0 7 (スプーン 2 杯分) ; PB 7 7
; PC 1 1 ; PC 2 0 ; PC 2 1 ; PC 2 3 ; PC 3 7 ; PC 7 1 ; PC 7 4 ;
M [2 0 C] - 2 8 7 7 : PA 1 0 ; PA 1 0 ; PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 2 1 ; PA 2
6 ; PA 3 5 ; PA 5 7 ; PA 5 7 ; PB 0 2 ; PB 0 7 ; PB 2 8 ; PB 7 7 ; PC 1
1 ; PC 2 0 ; PC 2 3 (スプーン 2 杯分) ; PC 4 9 ; PC 7 1 ;
M [2 0 C] - 2 8 7 8 : PA 1 0 ; PA 1 1 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 8 ; PA 2
1 ; PA 2 1 ; PA 2 4 ; PA 3 5 ; PA 5 7 ; PB 0 7 ; PB 7 7 ; PC 2 0 ; PC 2
3 ; PC 2 3 ; PC 4 9 ; PC 5 2 ; PC 5 5 ; PC 7 1 ; PC 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 8 7 9 : PA 1 0 ; PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 2 1 ; PA 2
5 ; PA 2 6 ; PA 3 5 ; PA 3 9 ; PA 5 2 ; PA 5 7 (スプーン 2 杯分) ; PB 0 7
; PB 3 3 ; PB 7 7 ; PC 2 0 ; PC 2 3 ; PC 7 1 (スプーン 2 杯分) ; PC 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 8 8 9 : PA 1 0 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 1 8 ; PA 2
1 ; PA 2 6 ; PA 2 6 ; PA 2 8 ; PA 2 9 ; PA 3 3 ; PA 3 9 ; PA 7 5 ; PB 3
6 ; PC 2 0 ; PC 5 2 ; PC 5 5 (スプーン 2 杯分) ; PC 6 0 ;

10

20

30

40

50

M[20C] - 2894 : PA11 (スプーン2杯分) ; PA13 ; PA21 ; PA28 ; PA39 ; PA39 ; PA70 ; PB02 ; PB02 ; PB07 ; PB99 (スプーン2杯分) ; PC14 ; PC20 ; PC49 ; PC71 ; PC97 ; PC98 ;
M[20C] - 2944 : PA10 ; PA11 (スプーン2杯分) ; PA13 ; PA14 ; PA21 ; PA28 ; PA39 ; PA70 ; PB02 ; PB07 ; PB27 ; PB99 ; PC11 ; PC20 ; PC23 ; PC67 ; PC71 ; PC97 ; PC98 ;
M[20C] - 2954 : PA11 ; PA12 ; PA13 ; PA14 ; PA21 ; PA23 ; PA28 ; PA33 ; PA39 ; PA70 ; PB01 ; PB02 ; PB07 ; PB99 ; PC20 ; PC27 ; PC52 ; PC71 ; PC97 ; PC98。

【表33】

表10-1: 1:20の希釈でリスト10-1の抽出物に基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均

	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
M[03C]-050	41%	31%
M[03C]-053	37%	23%
M[03C]-056	34%	21%
M[20C]-2808	66%	30%
M[20C]-2820	54%	27%
M[20C]-2821	53%	24%
M[20C]-2826	56%	25%
M[20C]-2827	51%	26%
M[20C]-2830	56%	37%
M[20C]-2831	64%	31%
M[20C]-2833	80%	39%
M[20C]-2836	59%	25%
M[20C]-2837	58%	25%
M[20C]-2838	70%	30%
M[20C]-2839	56%	30%

	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
M[20C]-2858	58%	32%
M[20C]-2861	58%	31%
M[20C]-2866	57%	43%
M[20C]-2867	62%	32%
M[20C]-2868	74%	36%
M[20C]-2869	85%	45%
M[20C]-2871	63%	26%
M[20C]-2876	66%	28%
M[20C]-2877	81%	43%
M[20C]-2878	65%	28%
M[20C]-2879	58%	28%
M[20C]-2889	62%	41%
M[20C]-2894	55%	29%
M[20C]-2944	68%	16%
M[20C]-2954	75%	27%

【0250】

リスト10-2 : Filipendula ulmaria (PA13)、Arctostaphylos uva-ursi (PB12)、およびEugenia caryophyllus (PC20)、Vitis vinifera var. tinctoria (PA22)、Desmodium adscendens (PB07) の3つのうち少なくとも1つを含む薬草組成物からの抽出物：

M[03C] - 051 : PA13 ; PB12 ; PC20 ;
M[03C] - 054 : PA13 ; PB12 ; PB07 ;
M[03C] - 057 : PA13 ; PB12 ; PA22 ;
M[20C] - 2083 : PA02 ; PA13 ; PA28 (スプーン2杯分) ; PA31 ; PA36 ; PA40 ; PA79 ; PA93 ; PB01 ; PB12 ; PB17 ; PB18 ; PB31 ; PB51 ; PB77 ; PC20 ; PC58 ; PC64 ; PC66 ;
M[20C] - 2084 : PA13 ; PA28 ; PA31 ; PA36 ; PA61 ; PA76 ; PA76 ; PA79 ; PA82 ; PB01 ; PB10 ; PB12 ; PB17 ; PB31 ; PB57 ; PC20 ; PC36 ; PC41 ; PC64 ; PC66 ;
M[20C] - 2085 : PA12 ; PA13 ; PA14 ; PA28 ; PA30 ; PA3

1 ; PA 3 6 ; PA 7 9 ; PA 9 4 ; PB 0 0 ; PB 0 1 ; PB 0 8 ; PB 1 2 ; PB 1
7 ; PB 3 1 ; PC 0 2 ; PC 1 4 ; PC 2 0 ; PC 6 4 ; PC 6 6 ;
M [2 0 C] - 2 0 9 0 : PA 0 8 ; PA 1 3 ; PA 2 0 ; PA 2 3 ; PA 2 6 ; PA 3
2 ; PA 4 6 ; PA 5 2 ; PA 5 7 ; PA 7 9 ; PA 9 5 ; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PB 3
3 ; PB 7 6 ; PB 8 2 ; PC 0 8 ; PC 2 0 ; PC 2 1 ; PD 0 0 ;
M [2 0 C] - 2 0 9 1 : PA 0 8 ; PA 1 3 ; PA 2 6 ; PA 5 2 ; PA 5 7 ; PA 7
2 ; PA 7 9 ; PA 8 8 ; PA 9 2 ; PA 9 5 ; PB 1 2 ; PB 6 0 ; PB 7 6 ; PB 8
3 ; PC 0 8 ; PC 1 1 ; PC 2 0 ; PC 2 6 ; PC 6 8 ; PD 0 0 ;
M [2 0 C] - 2 0 9 2 : PA 0 8 ; PA 1 3 ; PA 1 7 ; PA 2 6 ; PA 5 2 ; PA 5
3 ; PA 5 7 ; PA 7 9 ; PA 9 5 ; PB 0 6 ; PB 1 2 ; PB 5 0 ; PB 7 6 ; PC 0
8 ; PC 2 0 ; PC 2 0 ; PC 2 7 ; PC 9 7 ; PD 0 0 ; PD 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 1 0 0 : PA 1 3 ; PA 2 0 ; PA 2 3 ; PA 3 2 ; PA 4 1 ; PA 4
6 ; PA 5 3 ; PA 7 9 ; PA 8 0 ; PA 9 0 ; PB 0 8 ; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PB 3
3 ; PB 8 2 ; PB 8 5 ; PC 2 0 ; PC 2 1 ; PC 2 8 ; PC 7 5 ;
M [2 0 C] - 2 1 0 2 : PA 1 3 ; PA 1 7 ; PA 4 1 ; PA 5 3 ; PA 5 3 ; PA 7
9 ; PA 8 0 ; PA 9 0 ; PB 0 6 ; PB 0 8 ; PB 1 2 ; PB 5 0 ; PB 8 5 ; PC 2
0 ; PC 2 0 ; PC 2 7 ; PC 2 8 ; PC 7 5 ; PC 9 7 ; PD 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 1 0 4 : PA 1 3 ; PA 4 1 ; PA 5 3 ; PA 6 1 ; PA 7 6 ; PA 7
6 ; PA 7 9 ; PA 8 0 ; PA 8 2 ; PA 9 0 ; PB 0 8 ; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PB 5
7 ; PB 8 5 ; PC 2 0 ; PC 2 8 ; PC 3 6 ; PC 4 1 ; PC 7 5 ;
M [2 0 C] - 2 1 0 5 : PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 3 0 ; PA 4 1 ; PA 5
3 ; PA 7 9 ; PA 8 0 ; PA 9 0 ; PA 9 4 ; PB 0 0 ; PB 0 8 ; PB 0 8 ; PB 1
2 ; PB 8 5 ; PC 0 2 ; PC 1 4 ; PC 2 0 ; PC 2 8 ; PC 7 5 ;
M [2 0 C] - 2 1 1 0 : PA 0 0 ; PA 1 0 ; PA 1 3 ; PA 2 0 ; PA 2 3 ; PA 2
5 ; PA 3 0 ; PA 3 2 ; PA 4 6 ; PA 5 2 ; PA 7 9 ; PB 0 5 ; PB 1 0 ; PB 1
2 ; PB 3 3 ; PB 8 2 ; PC 0 1 ; PC 2 0 ; PC 2 1 ; PD 0 7 ;
M [2 0 C] - 2 1 1 1 : PA 0 0 ; PA 1 0 ; PA 1 3 ; PA 2 5 ; PA 3 0 ; PA 5
2 ; PA 7 2 ; PA 7 9 ; PA 8 8 ; PA 9 2 ; PB 0 5 ; PB 1 2 ; PB 6 0 ; PB 8
3 ; PC 0 1 ; PC 1 1 ; PC 2 0 ; PC 2 6 ; PC 6 8 ; PD 0 7 ;
M [2 0 C] - 2 1 2 0 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 1 6 ; PA 2 0 ; PA 2 3 ; PA 3
2 ; PA 4 4 ; PA 4 6 ; PA 6 0 ; PA 6 7 ; PA 7 3 ; PA 7 9 ; PB 1 0 ; PB 1
2 ; PB 3 3 ; PB 4 8 ; PB 8 2 ; PC 1 7 ; PC 2 0 ; PC 2 1 ;
M [2 0 C] - 2 1 2 2 : PA 1 1 ; PA 1 3 ; PA 1 6 ; PA 1 7 ; PA 4 4 ; PA 5
3 ; PA 6 0 ; PA 6 7 ; PA 7 3 ; PA 7 9 ; PB 0 6 ; PB 1 2 ; PB 4 8 ; PB 5
0 ; PC 1 7 ; PC 2 0 ; PC 2 0 ; PC 2 7 ; PC 9 7 ; PD 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 1 3 1 : PA 0 5 ; PA 1 3 ; PA 1 8 ; PA 3 7 ; PA 5 5 ; PA 7
2 ; PA 7 2 ; PA 7 9 ; PA 8 8 ; PA 9 2 ; PA 9 7 ; PB 0 4 ; PB 1 2 ; PB 6
0 ; PB 8 3 ; PC 1 1 ; PC 2 0 ; PC 2 6 ; PC 3 5 ; PC 6 8 ;
M [2 0 C] - 2 1 3 5 : PA 0 5 ; PA 1 2 ; PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 1 8 ; PA 3
0 ; PA 3 7 ; PA 5 5 ; PA 7 2 ; PA 7 9 ; PA 9 4 ; PA 9 7 ; PB 0 0 ; PB 0
4 ; PB 0 8 ; PB 1 2 ; PC 0 2 ; PC 1 4 ; PC 2 0 ; PC 3 5 ;
M [2 0 C] - 2 1 3 7 : PA 0 5 ; PA 1 3 ; PA 1 8 ; PA 2 7 ; PA 3 7 ; PA 4
6 ; PA 5 5 ; PA 7 2 ; PA 7 9 ; PA 8 2 ; PA 9 7 ; PB 0 0 ; PB 0 4 ; PB 1
1 ; PB 1 2 ; PC 2 0 ; PC 3 5 ; PC 4 5 ; PC 5 2 ; PC 6 7 ;
M [2 0 C] - 2 1 4 0 : PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 2 0 ; PA 2 3 ; PA 3 2 ; PA 3
7 ; PA 4 6 ; PA 7 9 ; PA 8 5 ; PB 1 0 ; PB 1 2 ; PB 3 3 ; PB 4 9 ; PB 8
2 ; PB 9 8 ; PC 2 0 ; PC 2 1 ; PC 5 5 ; PC 6 2 ; PC 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 1 4 1 : PA 1 3 ; PA 1 4 ; PA 3 7 ; PA 7 2 ; PA 7 9 ; PA 8
5 ; PA 8 8 ; PA 9 2 ; PB 1 2 ; PB 4 9 ; PB 6 0 ; PB 8 3 ; PB 9 8 ; PC 1
1 ; PC 2 0 ; PC 2 6 ; PC 5 5 ; PC 6 2 ; PC 6 8 ; PC 9 8 ;

10

20

30

40

50

M [20C] - 2142 : PA13 ; PA14 ; PA17 ; PA37 ; PA53 ; PA7
9 ; PA85 ; PB06 ; PB12 ; PB49 ; PB50 ; PB98 ; PC20 ; PC2
0 ; PC27 ; PC55 ; PC62 ; PC97 ; PC98 ; PD02 ;
M [20C] - 2143 : PA02 ; PA13 ; PA14 ; PA28 ; PA37 ; PA4
0 ; PA79 ; PA85 ; PA93 ; PB12 ; PB18 ; PB49 ; PB51 ; PB7
7 ; PB98 ; PC20 ; PC55 ; PC58 ; PC62 ; PC98 ;
M [20C] - 2144 : PA13 ; PA14 ; PA37 ; PA61 ; PA76 ; PA7
6 ; PA79 ; PA82 ; PA85 ; PB10 ; PB12 ; PB49 ; PB57 ; PB9
8 ; PC20 ; PC36 ; PC41 ; PC55 ; PC62 ; PC98 ;
M [20C] - 2150 : PA13 ; PA20 ; PA23 ; PA31 ; PA32 ; PA4
6 ; PA60 ; PA74 ; PA79 ; PB03 ; PB10 ; PB12 ; PB33 ; PB8
2 ; PC20 ; PC21 ; PC29 ; PC37 ; PC60 ; PC86 ;
M [20C] - 2151 : PA13 ; PA31 ; PA60 ; PA72 ; PA74 ; PA7
9 ; PA88 ; PA92 ; PB03 ; PB12 ; PB60 ; PB83 ; PC11 ; PC2
0 ; PC26 ; PC29 ; PC37 ; PC60 ; PC68 ; PC86 ;
M [20C] - 2152 : PA13 ; PA17 ; PA31 ; PA53 ; PA60 ; PA7
4 ; PA79 ; PB03 ; PB06 ; PB12 ; PB50 ; PC20 ; PC20 ; PC2
7 ; PC29 ; PC37 ; PC60 ; PC86 ; PC97 ; PD02 ;
M [20C] - 2153 : PA02 ; PA13 ; PA28 ; PA31 ; PA40 ; PA6
0 ; PA74 ; PA79 ; PA93 ; PB03 ; PB12 ; PB18 ; PB51 ; PB7
7 ; PC20 ; PC29 ; PC37 ; PC58 ; PC60 ; PC86 ;
M [20C] - 2154 : PA13 ; PA31 ; PA60 ; PA61 ; PA74 ; PA7
6 ; PA76 ; PA79 ; PA82 ; PB03 ; PB10 ; PB12 ; PB57 ; PC2
0 ; PC29 ; PC36 ; PC37 ; PC41 ; PC60 ; PC86 ;
M [20C] - 2155 : PA12 ; PA13 ; PA14 ; PA30 ; PA31 ; PA6
0 ; PA74 ; PA79 ; PA94 ; PB00 ; PB03 ; PB08 ; PB12 ; PC0
2 ; PC14 ; PC20 ; PC29 ; PC37 ; PC60 ; PC86 ;
M [20C] - 2163 : PA06 ; PA13 ; PA17 ; PA20 ; PA23 ; PA7
2 ; PA79 ; PA80 ; PA92 ; PB01 ; PB03 ; PB10 ; PB12 ; PB3
3 ; PB57 ; PB82 ; PC20 ; PC62 ; PC86 ; PC97 ;
M [20C] - 2164 : PA13 ; PA17 ; PA20 ; PA41 ; PA79 ; PA8
0 ; PA86 ; PA92 ; PB03 ; PB10 ; PB12 ; PC20 ; PC26 ; PC2
7 ; PC29 ; PC55 ; PC60 ; PC62 ; PC86 ; PC97 ;
M [20C] - 2214 : PA13 ; PA37 ; PA41 ; PA79 ; PA86 ; PB0
0 ; PB10 ; PB12 ; PB49 ; PB82 ; PC20 ; PC26 ; PC27 ; PC2
9 ; PC55 ; PC60 ; PC62 ; PC66 ; PC86 ;
M [20C] - 2234 : PA13 ; PA41 ; PA79 ; PA85 ; PA86 ; PB1
2 ; PB31 ; PB50 ; PB77 ; PC14 ; PC20 ; PC26 ; PC27 ; PC2
9 ; PC55 ; PC55 ; PC60 ; PC62 ; PC98 ;
M [20C] - 2241 : PA10 ; PA13 ; PA14 ; PA23 ; PA36 ; PA3
7 ; PA46 ; PA79 ; PB00 ; PB10 ; PB11 ; PB12 ; PB17 ; PB5
7 ; PC20 ; PC27 ; PC29 ; PC37 ; PC64 ; PC68 ;
M [20C] - 2242 : PA13 ; PA14 ; PA17 ; PA23 ; PA36 ; PA3
7 ; PA60 ; PA61 ; PA76 ; PA79 ; PA82 ; PB00 ; PB06 ; PB1
2 ; PB49 ; PC20 ; PC27 ; PC29 ; PC68 ; PC98 ;
M [20C] - 2243 : PA13 ; PA14 ; PA23 ; PA36 ; PA37 ; PA5
2 ; PA53 ; PA73 ; PA79 ; PA92 ; PB00 ; PB01 ; PB12 ; PB1
8 ; PB60 ; PC20 ; PC20 ; PC27 ; PC29 ; PC68 ;
M [20C] - 2248 : PA13 ; PA14 (スプーン2杯分) ; PA23 ; PA25
; PA36 ; PA36 ; PA37 ; PA46 ; PA79 ; PA85 ; PB00 ; PB12

10

20

30

40

50

; PC02; PC20; PC27; PC29; PC29; PC55; PC68;
M [20C] - 2249: PA10; PA13; PA14; PA23; PA36; PA37; PA53; PA74; PA79; PA92; PB00; PB12; PC20; PC27; PC29; PC62; PC67; PC68; PC86; PC97;
M [20C] - 2250: PA13; PA23; PA37; PA76; PA79; PB10; PB12; PB33; PB50; PB82; PB82; PB85; PB98; PC01; PC11; PC20; PC45; PC55; PC60; PD02;
M [20C] - 2253: PA13; PA37; PA52; PA53; PA73; PA79; PA92; PB01; PB10; PB12; PB18; PB33; PB50; PB60; PB82; PB85; PC01; PC20; PC20; PC45;
M [20C] - 2254: PA11; PA13; PA17; PA27; PA37; PA79; PB00; PB10; PB12; PB33; PB50; PB82; PB83; PB85; PB92; PB98; PC01; PC20; PC27; PC45;
M [20C] - 2255: PA13; PA36; PA37; PA53; PA72; PA79; PA80; PB03; PB10; PB12; PB33; PB49; PB50; PB82; PB82; PB85; PC01; PC20; PC45; PC68;
M [20C] - 2256: PA13; PA23; PA37; PA53; PA61; PA79; PA85; PB10; PB12; PB33; PB50; PB60; PB82; PB85; PC01; PC11; PC20; PC29; PC45; PD02;
M [20C] - 2257: PA13; PA37; PA37; PA60; PA72; PA79; PB10; PB12; PB33; PB49; PB50; PB82; PB85; PC01; PC08; PC20; PC45; PC68; PC98; PD02;
M [20C] - 2258: PA13; PA14; PA25; PA36; PA37; PA46; PA79; PA85; PB10; PB12; PB33; PB50; PB82; PB85; PC01; PC02; PC20; PC29; PC45; PC55;
M [20C] - 2259: PA10; PA13; PA37; PA53; PA74; PA79; PA92; PB10; PB12; PB33; PB50; PB82; PB85; PC01; PC20; PC45; PC62; PC67; PC86; PC97;
M [20C] - 2261: PA10; PA13; PA23; PA36; PA37; PA46; PA53; PA73; PA79; PA97; PB10; PB11; PB12; PB17; PB57; PC20; PC26; PC29; PC37; PC64;
M [20C] - 2278: PA10; PA13; PA14; PA25; PA28; PA30; PA36; PA37; PA41; PA46; PA79; PA85; PB12; PB50; PB60; PC02; PC20; PC29; PC55; PC66;
M [20C] - 2281: PA10; PA13; PA17; PA46; PA52; PA79; PA82; PA92; PA96; PB10; PB11; PB12; PB17; PB57; PB98; PC20; PC36; PC37; PC64; PC86;
M [20C] - 2321: PA13; PA46; PA53; PA79; PA82; PA92; PB03; PB10; PB11; PB12; PB83; PB85; PC20; PC20; PC21; PC55; PC60; PC86; PC97; PD02;
M [20C] - 2406: PA13; PA37; PA46; PA53; PA79; PA85; PB01; PB05; PB10; PB11; PB12; PB17; PB49; PB98; PC20; PC36; PC37; PC45; PC58; PC67;
M [20C] - 2420: PA10; PA13; PA14; PA36; PA46; PA79; PB10; PB10; PB11; PB11; PB12; PB17; PB17; PB33; PB82; PC20; PC54; PC55; PC68; PC98;
M [20C] - 2441: PA00; PA13; PA14; PA17; PA17; PA37; PA37; PA46; PA74; PA79; PB00; PB03; PB10; PB12; PB49; PC08; PC20; PC35; PC62; PC86;
M [20C] - 2443: PA00; PA13; PA14; PA14; PA17; PA3

10

20

30

40

50

6 ; P A 3 7 ; P A 7 9 ; P B 0 0 ; P B 0 1 ; P B 1 0 ; P B 1 2 ; P C 0 2 ; P C 0
8 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 2 9 ; P C 6 2 ; P C 6 7 ; P C 8 6 ;
M [2 0 C] - 2 4 4 9 : P A 0 0 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 7 ; P A 3 6 ; P A 3
7 ; P A 6 0 ; P A 7 9 ; P A 8 5 ; P B 0 0 ; P B 1 0 ; P B 1 2 ; P B 8 2 ; P B 9
8 ; P C 0 8 ; P C 2 0 ; P C 2 9 ; P C 6 2 ; P C 8 6 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 4 5 1 : P A 1 0 ; P A 1 3 ; P A 1 7 ; P A 2 3 ; P A 3 7 ; P A 4
6 ; P A 7 4 ; P A 7 6 ; P A 7 9 ; P B 0 0 ; P B 0 3 ; P B 0 8 ; P B 1 0 ; P B 1
2 ; P B 4 9 ; P B 4 9 ; P C 2 0 ; P C 3 5 ; P C 9 7 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 4 6 0 : P A 0 8 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 3 6 ; P A 3 6 ; P A 4
6 ; P A 7 9 ; P B 1 0 ; P B 1 1 ; P B 1 2 ; P B 1 7 ; P B 1 7 ; P B 9 8 ; P C 2
0 ; P C 3 6 ; P C 5 4 ; P C 6 2 ; P C 6 8 ; P C 6 8 ; P C 8 6 ;
M [2 0 C] - 2 4 8 8 : P A 1 0 ; P A 1 3 ; P A 3 7 ; P A 4 6 ; P A 5 3 ; P A 7
4 ; P A 7 9 ; P A 8 2 ; P B 0 0 ; P B 0 0 ; P B 1 2 ; P B 4 9 ; P C 2 0 ; P C 2
9 ; P C 3 7 ; P C 4 5 ; P C 5 4 ; P C 7 4 ; P C 8 6 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 5 4 5 : P A 0 0 ; P A 0 8 ; P A 1 0 ; P A 1 3 ; P A 4 6 ; P A 7
3 ; P A 7 6 ; P A 7 9 ; P A 9 0 ; P B 0 1 ; P B 0 8 ; P B 1 0 ; P B 1 2 ; P B 1
7 ; P B 3 3 ; P B 3 3 ; P C 2 0 ; P C 5 5 ; P C 6 8 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 5 5 1 : P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 6 ; P A 2 7 ; P A 3 6 ; P A 7
9 ; P A 8 2 ; P A 9 2 ; P A 9 5 ; P B 1 0 ; P B 1 2 ; P B 5 7 ; P B 8 5 ; P C 1
1 ; P C 2 0 ; P C 2 9 ; P C 2 9 ; P C 5 4 ; P C 6 4 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 5 5 3 : P A 1 3 ; P A 1 6 ; P A 2 3 ; P A 6 0 ; P A 7 9 ; P A 8
2 ; P A 9 5 ; P B 0 0 ; P B 1 0 ; P B 1 0 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 4 9 ; P B 5
0 ; P B 8 5 ; P C 0 2 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 2 9 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 5 5 5 : P A 0 0 ; P A 1 0 ; P A 1 3 ; P A 1 6 ; P A 7 9 ; P A 8
2 ; P A 9 0 ; P A 9 5 ; P B 0 8 ; P B 1 0 ; P B 1 0 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 8
5 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 2 9 ; P C 6 8 ; P C 9 8 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 5 8 0 : P A 1 0 ; P A 1 3 ; P A 2 5 ; P A 3 7 ; P A 4 0 ; P A 4
6 ; P A 7 9 ; P B 1 1 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 4 9 ; P B 8 2 ; P B 8 5 ; P B 9
8 ; P C 2 0 ; P C 2 9 ; P C 2 9 ; P C 3 6 ; P C 4 5 ; P C 9 7 ;
M [2 0 C] - 2 5 8 9 : P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 7 ; P A 4 0 ; P A 4 6 ; P A 7
9 ; P A 8 0 ; P B 1 1 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 4 9 ; P B 8 5 ; P B 9 8 ; P C 2
0 ; P C 2 6 ; P C 2 9 ; P C 3 7 ; P C 8 6 ; P C 9 7 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 6 2 2 : P A 1 3 ; P A 2 5 ; P A 3 6 ; P A 3 6 ; P A 3 7 ; P A 4
6 ; P A 4 6 ; P A 7 9 ; P A 8 2 ; P B 1 2 ; P B 4 9 ; P B 8 2 ; P C 2 0 ; P C 2
0 ; P C 5 4 ; P C 5 5 ; P C 6 4 ; P C 6 8 ; P C 8 6 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 6 2 7 : P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 3 6 ; P A 4 6 ; P A 7 6 ; P A 7
9 ; P A 8 0 ; P A 9 6 ; P B 1 2 ; P B 4 9 ; P B 4 9 ; P C 2 0 ; P C 2 0 ; P C 4
5 ; P C 5 4 ; P C 5 5 ; P C 6 4 ; P C 9 7 ; P C 9 8 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 6 4 1 : P A 0 5 ; P A 1 3 ; P A 1 6 ; P A 2 7 ; P A 3 6 ; P A 3
7 ; P A 4 1 ; P A 7 9 ; P A 9 6 ; P B 0 5 ; P B 1 0 ; P B 1 2 ; P B 8 2 ; P B 8
5 ; P B 9 8 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 5 4 ; P C 6 8 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 6 5 1 : P A 1 3 ; P A 3 6 ; P A 4 1 ; P A 4 6 ; P A 7 9 ; P A 9
2 ; P B 0 0 ; P B 0 1 ; P B 0 5 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 8 2 ; P B 8 2 ; P B 8
5 ; P B 9 8 ; P C 2 0 ; P C 5 4 ; P C 5 5 ; P C 8 6 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 6 5 4 : P A 1 3 ; P A 3 6 ; P A 4 6 ; P A 7 9 ; P A 9 2 ; P B 0
0 ; P B 0 0 ; P B 0 1 ; P B 0 8 ; P B 1 1 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 8 2 ; P C 0
1 ; P C 2 0 ; P C 5 5 ; P C 5 5 ; P C 6 4 ; P C 8 6 ; P C 8 6 ;
M [2 0 C] - 2 7 1 7 : P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 4 6 ; P A 7 9 ; P B 0 0 ; P B 1
0 ; P B 1 2 ; P B 4 9 ; P B 5 0 ; P B 7 7 ; P B 8 5 ; P B 8 5 ; P C 0 2 ; P C 2
0 ; P C 2 9 ; P C 6 4 ; P C 6 4 ; P C 6 8 ; P C 9 8 ; P D 0 2 ;

10

20

30

40

50

M [20C] - 2728 : PA05 ; PA13 ; PA16 ; PA30 ; PA46 ; PA60 ; PA61 ; PA79 ; PA85 ; PB04 ; PB10 ; PB12 ; PB49 ; PB82 ; PB82 ; PB85 ; PB98 ; PC11 ; PC20 ; PC37 ;

M [20C] - 2730 : PA13 ; PA36 ; PA37 ; PA46 ; PA61 ; PA79 ; PA82 ; PA85 ; PB00 ; PB12 ; PB17 ; PB33 ; PB82 ; PB85 ; PC01 ; PC02 ; PC20 ; PC29 ; PC64 ; PC98 ;

M [20C] - 2738 : PA05 ; PA13 ; PA37 ; PA46 ; PA61 ; PA61 ; PA79 ; PA85 ; PB10 ; PB12 ; PB82 ; PB82 ; PB85 ; PB85 ; PB98 ; PC02 ; PC20 ; PC29 ; PC37 ; PC64 ;

M [20C] - 2788 : PA00 ; PA05 ; PA13 ; PA27 ; PA46 ; PA61 ; PA79 ; PA82 ; PB00 ; PB10 ; PB12 ; PB82 ; PB85 ; PB85 ; PB98 ; PC20 ; PC37 ; PC37 ; PC58 ; PC97 ;

M [20C] - 2805 : PA11 ; PA13 ; PA13 ; PA14 ; PA22 ; PA23 ; PA28 ; PA33 ; PA35 ; PA69 ; PB07 ; PB12 ; PB38 ; PB88 ; PB88 ; PC20 ; PC24 ; PC55 ; PC55 ; PC60 ;

M [20C] - 2812 : PA11 ; PA11 ; PA13 ; PA20 ; PA23 ; PA29 ; PA30 ; PA83 ; PA98 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB38 ; PC11 ; PC11 ; PC20 ; PC23 ; PC37 ; PC51 ; PC60 ;

M [20C] - 2815 : PA11 ; PA13 ; PA14 ; PA22 ; PA23 ; PA29 ; PA33 ; PA35 ; PA98 ; PB02 ; PB12 ; PB27 ; PB38 ; PB38 ; PB88 ; PC11 ; PC20 ; PC23 ; PC37 ; PC55 ;

M [20C] - 2840 : PA10 ; PA11 ; PA12 (スプーン2杯分) ; PA13 ; PA14 ; PA18 ; PA28 ; PA33 ; PA67 ; PA67 ; PB07 (スプーン2杯分) ; PB12 ; PB60 ; PC23 ; PC35 ; PC37 ; PC55 ; PC67 ;

M [20C] - 2841 : PA12 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA19 ; PA22 ; PA28 ; PA33 ; PA67 ; PB07 (スプーン2杯分) ; PB12 ; PB36 ; PC20 ; PC23 ; PC33 ; PC37 ; PC49 ; PC55 ; PC67 ; PC97 ;

M [20C] - 2842 : PA11 ; PA12 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA20 ; PA28 ; PA30 ; PA33 ; PA67 ; PA83 ; PB07 ; PB12 (スプーン2杯分) ; PC11 ; PC20 ; PC23 ; PC37 ; PC51 ; PC60 ; PC67 ;

M [20C] - 2843 : PA10 ; PA11 ; PA12 ; PA13 ; PA14 ; PA24 ; PA26 ; PA28 ; PA33 ; PA67 ; PB07 ; PB12 ; PB33 ; PB88 ; PC12 ; PC23 ; PC23 ; PC27 ; PC37 ; PC67 ;

M [20C] - 2844 : PA12 ; PA13 ; PA13 ; PA15 ; PA18 ; PA20 ; PA28 ; PA32 ; PA33 ; PA67 (スプーン2杯分) ; PB07 ; PB12 ; PB12 ; PC20 ; PC23 ; PC37 ; PC49 ; PC55 ; PC67 ;

M [20C] - 2845 : PA12 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA14 ; PA22 ; PA28 ; PA33 ; PA33 ; PA35 ; PA67 ; PB07 ; PB12 (スプーン2杯分) ; PB38 ; PB88 ; PC20 ; PC23 ; PC37 ; PC55 ; PC67 ;

M [20C] - 2847 : PA10 ; PA12 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA26 ; PA28 ; PA33 ; PA57 ; PA67 ; PB02 ; PB07 ; PB07 ; PB12 ; PB28 ; PC11 ; PC23 ; PC23 ; PC37 ; PC49 ; PC67 ;

M [20C] - 2849 : PA12 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA14 ; PA25 ; PA26 ; PA28 ; PA33 ; PA39 ; PA52 ; PA57 ; PA67 ; PB07 ; PB12 ; PB33 ; PC23 ; PC37 ; PC67 ; PC71 ; PC97 ;

M [20C] - 2852 : PA11 ; PA13 ; PA20 (スプーン2杯分) ; PA23 ; PA24 ; PA30 ; PA67 ; PA83 ; PB07 ; PB12 ; PB28 ; PB33 ; PC11 ; PC12 ; PC20 ; PC20 ; PC21 ; PC51 ; PC60 ;

M [20C] - 2854 : PA13 ; PA15 ; PA18 ; PA20 (スプーン2杯分) ; PA23 ; PA24 ; PA32 ; PA67 (スプーン2杯分) ; PB07 ; PB12 ;

10

20

30

40

50

P B 2 8 ; P B 3 3 ; P C 1 2 ; P C 2 0 (スプーン2杯分) ; P C 2 1 ; P C 4 9 ; P
C 5 5 ;
M [2 0 C] - 2 8 5 5 : P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 2 0 ; P A 2 2 ; P A 2 3 ; P A 2
4 ; P A 3 3 ; P A 3 5 ; P A 6 7 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P B 2 8 ; P B 3 3 ; P B 3
8 ; P B 8 8 ; P C 1 2 ; P C 2 0 ; P C 2 1 ; P C 5 5 ;
M [2 0 C] - 2 8 9 3 : P A 0 0 ; P A 0 6 ; P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2
3 ; P A 2 6 ; P A 2 8 ; P A 3 3 ; P A 3 9 ; P B 0 2 ; P B 0 7 (スプーン2杯分)
; P B 1 2 ; P B 9 9 ; P C 1 4 ; P C 2 0 ; P C 4 9 ; P C 9 8 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 8 9 7 : P A 1 1 (スプーン2杯分) ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 2 4
; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P A 8 3 ; P B 0 2 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P B 9 9
; P C 1 1 ; P C 1 4 ; P C 2 0 ; P C 2 0 ; P C 4 9 ; P C 5 1 ; P C 9 8 ;
M [2 0 C] - 2 9 3 0 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2
8 ; P A 3 3 ; P A 3 5 ; P A 8 3 ; P B 1 2 ; P B 2 8 ; P B 3 3 ; P B 3 8 ; P B 7
7 ; P B 8 8 ; P C 2 0 ; P C 2 3 ; P C 3 7 ; P C 6 0 ; P C 6 0 ;
M [2 0 C] - 2 9 3 3 : P A 0 0 ; P A 0 6 ; P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1
4 ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2 8 (スプーン2杯分) ; P A 3 3 ; P A 3 3 ; P B 0 7
; P B 1 2 ; P B 1 2 ; P B 2 8 ; P B 3 8 ; P B 7 7 ; P C 6 0 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 9 3 5 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 2 8 ; P A 2
9 ; P A 3 3 ; P A 5 7 ; P A 6 7 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P B 2 8 (スプーン2杯分)
; P B 3 8 ; P B 7 7 ; P B 7 7 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 5 2 ; P C 6 0 ;
M [2 0 C] - 2 9 3 6 : P A 1 1 (スプーン2杯分) ; P A 1 3 ; P A 1 4 ; P A 1 8
; P A 2 8 ; P A 3 3 ; P A 5 7 ; P A 6 7 ; P B 0 2 ; P B 1 2 ; P B 2 8 ; P B 3 8
(スプーン2杯分) ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 2 7 ; P C 5 2 ; P C 6 0 ;
M [2 0 C] - 2 9 3 7 : P A 1 1 ; P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 1 4 (スプーン3杯分)
; P A 2 8 ; P A 2 9 ; P A 3 3 ; P A 8 3 ; P B 1 2 (スプーン2杯分) ; P B 2 8 ;
P B 3 8 ; P B 6 0 ; P B 7 7 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 5 1 ; P C 6 0 ;
M [2 0 C] - 2 9 3 9 : P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 (スプーン2杯分)
; P A 1 4 ; P A 1 8 ; P A 2 6 ; P A 2 8 ; P A 3 3 (スプーン2杯分) ; P A 3 9 ;
P B 1 2 ; P B 2 8 ; P B 3 8 ; P B 7 7 ; P C 2 0 ; P C 5 2 ; P C 5 5 ; P C 6 0 ;
M [2 0 C] - 2 9 4 3 : P A 0 0 ; P A 0 6 ; P A 1 0 ; P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1
3 ; P A 1 4 ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2 8 ; P A 3 3 ; P B 0 7 (スプーン2杯分)
; P B 1 2 ; P B 2 7 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 2 3 ; P C 6 7 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 9 4 7 : P A 1 0 ; P A 1 1 (スプーン2杯分) ; P A 1 3 ; P A 1 4
(スプーン2杯分) ; P A 2 4 ; P A 2 9 ; P A 8 3 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P B 2 7 ;
P B 6 0 ; P C 1 1 (スプーン2杯分) ; P C 2 0 (スプーン2杯分) ; P C 2 3 ; P C
5 1 ; P C 6 7 ;
M [2 0 C] - 2 9 5 3 : P A 0 0 ; P A 0 6 ; P A 1 2 (スプーン2杯分) ; P A 1 3
; P A 1 4 ; P A 2 3 (スプーン2杯分) ; P A 2 6 ; P A 2 8 ; P A 3 3 (スプーン2
杯分) ; P B 0 1 ; P B 0 7 (スプーン2杯分) ; P B 1 2 ; P C 2 0 ; P C 2 7 ; P C
5 2 ; P D 0 2 ;
M [2 0 C] - 2 9 5 7 : P A 1 1 ; P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 1 4 (スプーン2杯分)
; P A 2 3 ; P A 2 4 ; P A 2 9 ; P A 3 3 ; P A 8 3 ; P B 0 1 ; P B 0 7 ; P B 1 2
; P B 6 0 ; P C 1 1 ; P C 2 0 (スプーン2杯分) ; P C 2 7 ; P C 5 1 ; P C 5 2。
[0 2 5 1]

10

20

30

40

50

【表 3 4 - 1】

表10-2: 1:20の希釈でリスト10-2のミックスに基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均

	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害		浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
M[03C]-051	37%	24%	M[20C]-2321	55%	30%
M[03C]-054	30%	13%	M[20C]-2406	58%	31%
M[03C]-057	27%	22%	M[20C]-2420	55%	34%
M[20C]-2083	84%	55%	M[20C]-2441	52%	36%
M[20C]-2084	72%	40%	M[20C]-2443	58%	33%
M[20C]-2085	70%	45%	M[20C]-2449	55%	32%
M[20C]-2090	57%	46%	M[20C]-2451	53%	28%
M[20C]-2091	66%	35%	M[20C]-2460	54%	37%
M[20C]-2092	71%	43%	M[20C]-2488	54%	27%
M[20C]-2100	56%	40%	M[20C]-2545	52%	29%
M[20C]-2102	53%	41%	M[20C]-2551	52%	29%
M[20C]-2104	60%	43%	M[20C]-2553	52%	27%
M[20C]-2105	81%	55%	M[20C]-2555	58%	39%
M[20C]-2110	59%	43%	M[20C]-2580	58%	44%
M[20C]-2111	63%	46%	M[20C]-2589	56%	35%
M[20C]-2120	66%	28%	M[20C]-2622	57%	40%
M[20C]-2122	72%	37%	M[20C]-2627	58%	39%
M[20C]-2131	54%	37%	M[20C]-2641	53%	36%
M[20C]-2135	59%	40%	M[20C]-2651	53%	33%
M[20C]-2137	78%	50%	M[20C]-2654	53%	35%
M[20C]-2140	60%	35%	M[20C]-2717	55%	30%
M[20C]-2141	56%	40%	M[20C]-2728	56%	24%
M[20C]-2142	61%	34%	M[20C]-2730	55%	27%
M[20C]-2143	77%	37%	M[20C]-2738	52%	26%
M[20C]-2144	74%	39%	M[20C]-2788	56%	25%
M[20C]-2150	65%	27%	M[20C]-2805	71%	25%
M[20C]-2151	61%	34%	M[20C]-2812	54%	31%
M[20C]-2152	66%	32%	M[20C]-2815	52%	29%
M[20C]-2153	82%	50%	M[20C]-2840	55%	31%
M[20C]-2154	67%	26%	M[20C]-2841	51%	31%
M[20C]-2155	63%	32%	M[20C]-2842	53%	35%

10

20

30

40

50

【表 3 4 - 2】

M[20C]-2163	61%	40%
M[20C]-2164	70%	35%
M[20C]-2214	76%	37%
M[20C]-2234	56%	31%
M[20C]-2241	60%	40%
M[20C]-2242	59%	33%
M[20C]-2243	63%	38%
M[20C]-2248	84%	49%
M[20C]-2249	63%	36%
M[20C]-2250	58%	36%
M[20C]-2253	76%	37%
M[20C]-2254	55%	25%
M[20C]-2255	60%	29%
M[20C]-2256	58%	30%
M[20C]-2257	59%	25%
M[20C]-2258	81%	39%
M[20C]-2259	60%	29%
M[20C]-2261	52%	25%
M[20C]-2278	53%	25%
M[20C]-2281	56%	26%

M[20C]-2843	58%	34%
M[20C]-2844	76%	42%
M[20C]-2845	46%	33%
M[20C]-2847	61%	41%
M[20C]-2849	76%	32%
M[20C]-2852	77%	32%
M[20C]-2854	57%	27%
M[20C]-2855	66%	35%
M[20C]-2893	61%	37%
M[20C]-2897	66%	36%
M[20C]-2930	81%	52%
M[20C]-2933	60%	32%
M[20C]-2935	65%	34%
M[20C]-2936	68%	41%
M[20C]-2937	78%	41%
M[20C]-2939	77%	44%
M[20C]-2943	67%	29%
M[20C]-2947	71%	40%
M[20C]-2953	66%	38%
M[20C]-2957	71%	45%

10

20

【 0 2 5 2】

リスト 10-3 : *Camellia sinensis* (PA21)、*Arctostaphylos uva-ursi* (PB12)、および *Eugenia caryophyllus* (PC20caryophyllus)、*Vitis vinifera* var. *tinctorial* (PA22)、*Desmodium adscendens* (PB07) の 3 のうち少なくとも 1 つを含有する処理試料の薬草組成物：

30

M [0 3 C] - 0 5 2 : P A 2 1 ; P B 1 2 ; P C 2 0 ;

M [0 3 C] - 0 5 5 : P A 2 1 ; P B 1 2 ; P B 0 7 ;

M [0 3 C] - 0 5 8 : P A 2 1 ; P B 1 2 ; P A 2 2 ;

M [2 0 C] - 2 8 8 8 : P A 1 4 ; P A 1 5 ; P A 1 8 ; P A 2 1 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2 8 ; P A 2 8 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P A 5 7 ; P A 7 5 ; P B 0 7 ; P B 1 2 ; P B 3 6 ; P C 1 1 ; P C 5 5 ; P C 5 5 ; P C 6 0 ;

M [2 0 C] - 2 9 1 3 : P A 0 0 ; P A 0 6 ; P A 1 2 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2 6 ; P A 2 7 ; P A 2 8 ; P A 3 3 ; P B 0 7 ; P B 0 7 ; P B 1 2 (スプーン 2 杯分) ; P B 3 3 ; P C 2 0 ; P C 2 4 ; P C 4 1 ; P C 7 1 ; P D 0 2 ;

40

M [2 0 C] - 2 9 1 8 : P A 1 5 ; P A 1 8 ; P A 2 1 (スプーン 2 杯分) ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2 7 ; P A 2 8 ; P A 5 7 ; P B 0 7 (スプーン 2 杯分) ; P B 1 2 (スプーン 2 杯分) ; P B 3 3 ; P C 1 1 ; P C 2 0 ; P C 2 4 ; P C 4 1 ; P C 5 5 ; P C 7 1 ;

M [2 0 C] - 2 9 2 0 : P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2 8 ; P A 3 5 ; P A 3 5 ; P A 6 7 ; P A 8 3 ; P B 1 2 ; P B 3 3 ; P B 8 8 ; P C 1 2 ; P C 2 0 ; P C 2 3 ; P C 3 7 ; P C 3 7 ; P C 6 0 (スプーン 2 杯分) ; P C 7 4 ;

M [2 0 C] - 2 9 2 3 : P A 0 0 ; P A 0 6 ; P A 1 2 ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 3 ; P A 2 6 ; P A 2 8 (スプーン 2 杯分) ; P A 3 3 ; P A 3 5 ; P A 6 7 ; P B 0 7 ; P B 1 2 (スプーン 2 杯分) ; P C 1 2 ; P C 3 7 ; P C 6 0 ; P C 7 4 ; P D 0 2 ;

50

M [20C] - 2928 : PA15 ; PA18 ; PA20 ; PA21 (スプーン2杯分)
; PA23 ; PA28 (スプーン2杯分) ; PA35 ; PA57 ; PA67 ; PB07 ;
PB12 (スプーン2杯分) ; PC11 ; PC12 ; PC37 ; PC55 ; PC60 ; P
C74 ;

M [20C] - 2887 : PA11 ; PA14 ; PA14 ; PA21 ; PA24 ; PA2
6 ; PA28 ; PA29 (スプーン2杯分) ; PA39 ; PA75 ; PA83 ; PB12
; PB36 ; PB60 ; PC11 ; PC20 ; PC51 ; PC55 ; PC60 ;

M [20C] - 2914 : PA11 ; PA21 (スプーン2杯分) ; PA26 ; PA27
; PA28 ; PA39 ; PA70 ; PB02 ; PB07 ; PB12 ; PB33 ; PB99
; PC20 ; PC24 ; PC41 ; PC71 (スプーン2杯分) ; PC97 ; PC98 ;

M [20C] - 2915 : PA10 ; PA21 ; PA26 ; PA27 ; PA29 ; PA5
7 ; PA67 ; PB07 (スプーン2杯分) ; PB12 ; PB28 ; PB33 ; PB77
; PC11 ; PC20 (スプーン2杯分) ; PC24 ; PC41 ; PC52 ; PC71 ;

M [20C] - 2916 : PA11 ; PA18 ; PA21 ; PA26 ; PA27 ; PA5
7 ; PA67 ; PB02 ; PB07 ; PB12 ; PB33 ; PB38 ; PC11 ; PC2
0 ; PC20 ; PC24 ; PC27 ; PC41 ; PC52 ; PC71 ;

M [20C] - 2917 : PA11 ; PA14 ; PA21 ; PA24 ; PA26 ; PA2
7 ; PA29 ; PA83 ; PB07 ; PB12 (スプーン2杯分) ; PB33 ; PB60
; PC11 ; PC20 (スプーン2杯分) ; PC24 ; PC41 ; PC51 ; PC71 ;

M [20C] - 2925 : PA10 ; PA20 ; PA21 ; PA28 ; PA29 ; PA3
5 ; PA57 ; PA67 (スプーン2杯分) ; PB07 ; PB12 ; PB28 ; PB77
; PC11 ; PC12 ; PC20 ; PC37 ; PC52 ; PC60 ; PC74 ;

M [20C] - 2926 : PA11 ; PA18 ; PA20 ; PA21 ; PA28 ; PA3
5 ; PA57 ; PA67 (スプーン2杯分) ; PB02 ; PB12 ; PB38 ; PC11
; PC12 ; PC20 ; PC27 ; PC37 ; PC52 ; PC60 ; PC74 ;

M [20C] - 2927 : PA11 ; PA14 ; PA20 ; PA21 ; PA24 ; PA2
8 ; PA29 ; PA35 ; PA67 ; PA83 ; PB12 ; PB12 ; PB60 ; PC1
1 ; PC12 ; PC20 ; PC37 ; PC51 ; PC60 ; PC74 ;

M [20C] - 2910 : PA21 ; PA23 ; PA26 (スプーン2杯分) ; PA27
; PA35 ; PA83 ; PB07 ; PB12 ; PB33 (スプーン2杯分) ; PB88 ;
PC20 (スプーン2杯分) ; PC23 ; PC24 ; PC37 ; PC41 ; PC60 ; P
C71。

【表35】

表10-3: 1:20の希釈でリスト10-2のミックスに基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均

	浮遊成長 阻害	バイオフィーム形 成阻害
M[03C]-052	31%	13%
M[03C]-055	29%	10%
M[03C]-058	31%	18%
M[20C]-2888	48%	27%
M[20C]-2913	46%	37%
M[20C]-2918	46%	32%
M[20C]-2920	54%	30%
M[20C]-2923	51%	28%
M[20C]-2928	46%	32%

	浮遊成長 阻害	バイオフィーム形 成阻害
M[20C]-2887	46%	8%
M[20C]-2914	29%	38%
M[20C]-2915	30%	35%
M[20C]-2916	39%	40%
M[20C]-2917	40%	41%
M[20C]-2925	41%	36%
M[20C]-2926	47%	36%
M[20C]-2927	41%	41%
M[20C]-2910	46%	39%

10

20

30

40

50

【0253】

リスト10-4: *Filipendula ulmaria* (PA13)、*Camellia sinensis* (PA21)、*Arc
tostaphylos uva-ursi* (PB12)、および *Eugenia caryophyllus* (PC20)、*Vitis vin
ifera var. tinctorial* (PA22)、*Desmodium adscendens* (PB07) の3つのうち少
なくとも1つを含む薬草組成物からの抽出物:

M [04C] - 025: PA13; PA21; PB12; PC20;

M [04C] - 026: PA13; PA21; PB12; PB07;

M [04C] - 027: PA13; PA21; PB12; PA22;

M [20C] - 2898: PA11; PA13; PA15; PA18; PA21; PA2
3; PA28; PA39; PA57; PB02; PB07 (スプーン2杯分); PB07
; PB12; PB99; PC11; PC14; PC20; PC49; PC55; PC98;

10

M [20C] - 2900: PA10; PA11; PA13; PA21; PA23; PA2
5; PA26; PA35; PA69; PA83; PB12; PB32; PB33; PB8
8; PC20 (スプーン2杯分); PC23; PC37; PC55; PC60;

M [20C] - 2903: PA00; PA06; PA10; PA11; PA12; PA1
3; PA21; PA23; PA25; PA26; PA28; PA33; PA69; PB0
7; PB12 (スプーン2杯分); PB32; PC20; PC55; PD02;

M [20C] - 2908: PA10; PA11; PA13; PA15; PA18; PA2
1 (スプーン2杯分); PA23; PA25; PA28; PA57; PA69; PB07
; PB12 (スプーン2杯分); PB32; PC11; PC20; PC55 (スプーン2
杯分);

20

M [20C] - 2938: PA11; PA13; PA14; PA15; PA18; PA2
1; PA23; PA28 (スプーン2杯分); PA33; PA57; PB07; PB12
(スプーン2杯分); PB28; PB38; PB77; PC11; PC55; PC60;

M [20C] - 2948: PA10; PA11; PA13; PA14; PA15; PA1
8; PA21; PA23; PA28; PA57; PB07 (スプーン2杯分); PB12
; PB27; PC11 (スプーン2杯分); PC20; PC23; PC55; PC67;

M [20C] - 2951: PA12; PA13 (スプーン2杯分); PA14; PA21
; PA23; PA24; PA33; PA39; PA67; PB01; PB07; PB12
; PB77; PC20; PC27; PC33; PC49; PC52; PC60;

30

M [20C] - 2952: PA12; PA13 (スプーン2杯分); PA14; PA21
; PA23; PA25; PA26; PA33; PA37; PA67; PB01; PB07
(スプーン2杯分); PB12; PC20; PC27; PC49; PC52; PC71;

M [20C] - 2958: PA12; PA13; PA14; PA15; PA18; PA2
1; PA23 (スプーン2杯分); PA28; PA33; PA57; PB01; PB07
(スプーン2杯分); PB12; PC11; PC20; PC27; PC52; PC55;

M [20C] - 2822: PA11 (スプーン2杯分); PA13 (スプーン2杯分);
PA20 (スプーン2杯分); PA21; PA25; PA29; PA30; PA33; P
A35; PA75; PA83; PB12; PC11; PC20; PC33; PC51; P
C60;

40

M [20C] - 2824: PA11; PA13 (スプーン2杯分); PA15; PA18
; PA20 (スプーン2杯分); PA21; PA25; PA29; PA32; PA33;
PA35; PA67; PA75; PB12; PC20; PC33; PC49; PC55;

M [20C] - 2825: PA11; PA13 (スプーン2杯分); PA14; PA20
; PA21; PA22; PA25; PA29; PA33 (スプーン2杯分); PA35 (ス
プーン2杯分); PA75; PB12; PB38; PB88; PC20; PC33; P
C55;

M [20C] - 2834: PA13 (スプーン2杯分); PA15; PA18; PA20
; PA21; PA22; PA25; PA29; PA32 (スプーン2杯分); PA34;
PA67; PB12; PB88; PC20; PC33; PC49; PC55; PC98;

50

M [20C] - 2835 : PA13 (スプーン2杯分) ; PA14 ; PA21 ; PA22
 (スプーン2杯分) ; PA25 ; PA29 ; PA32 ; PA33 ; PA34 ; PA35 ;
 PB12 ; PB38 ; PB88 (スプーン2杯分) ; PC20 ; PC33 ; PC55 ; P
 C98 ;
 M [20C] - 2848 : PA12 (スプーン2杯分) ; PA13 (スプーン2杯分) ;
 PA18 ; PA21 ; PA24 ; PA28 ; PA33 ; PA67 ; PB07 ; PB12 ;
 PC23 (スプーン2杯分) ; PC37 ; PC49 ; PC52 ; PC55 ; PC67 ; P
 C97 ;
 M [20C] - 2862 : PA11 ; PA13 ; PA20 ; PA21 ; PA22 ; PA3
 0 ; PA83 ; PB12 ; PB28 ; PB60 ; PC11 (スプーン2杯分) ; PC20
 (スプーン2杯分) ; PC23 ; PC51 ; PC55 ; PC60 (スプーン2杯分) ; P
 C74 ;
 M [20C] - 2864 : PA13 ; PA15 ; PA18 ; PA20 ; PA21 ; PA2
 2 ; PA32 ; PA67 ; PB12 ; PB28 ; PB60 ; PC11 ; PC20 (スプー
 ン2杯分) ; PC23 ; PC49 ; PC55 (スプーン2杯分) ; PC60 ; PC74 ;
 M [20C] - 2865 : PA13 ; PA14 ; PA21 ; PA22 (スプーン2杯分)
 ; PA33 ; PA35 ; PB12 ; PB28 ; PB38 ; PB60 ; PB88 ; PC11
 ; PC20 (スプーン2杯分) ; PC23 ; PC55 (スプーン2杯分) ; PC60 ; P
 C74 ;
 M [20C] - 2872 : PA10 ; PA11 (スプーン2杯分) ; PA13 ; PA20
 ; PA21 ; PA30 ; PA35 ; PA57 ; PA83 ; PB07 ; PB12 ; PB77
 ; PC11 ; PC20 (スプーン2杯分) ; PC23 ; PC51 ; PC60 ; PC71 ;
 M [20C] - 2874 : PA10 ; PA11 ; PA13 ; PA15 ; PA18 ; PA2
 0 ; PA21 ; PA32 ; PA35 ; PA57 ; PA67 ; PB07 ; PB12 ; PB7
 7 ; PC20 (スプーン2杯分) ; PC23 ; PC49 ; PC55 ; PC71 ;
 M [20C] - 2875 : A10 ; A11 ; A13 ; A14 ; A21 ; A22 ; A33 ;
 A35 ; A35 ; A57 ; B07 ; B12 ; B38 ; B77 ; B88 ; C20 (スプー
 ン2杯分) ; C23 ; C55 ; C71 ;
 M [20C] - 2882 : PA13 ; PA14 ; PA21 (スプーン2杯分) ; PA25
 ; PA26 (スプーン2杯分) ; PA28 ; PA29 ; PA37 ; PA39 ; PA67 ;
 PA75 ; PB07 ; PB12 ; PB36 ; PC49 ; PC55 ; PC60 ; PC71 ;
 M [20C] - 2891 : PA11 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA21 ; PA24
 ; PA39 ; PA39 ; PA67 ; PB02 ; PB07 ; PB12 ; PB77 ; PB99
 ; PC14 ; PC20 ; PC33 ; PC49 (スプーン2杯分) ; PC60 ; PC98 ;
 M [20C] - 2892 : PA11 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA21 ; PA25
 ; PA26 ; PA37 ; PA39 ; PA67 ; PB02 ; PB07 (スプーン2杯分) ;
 PB12 ; PB99 ; PC14 ; PC20 ; PC49 (スプーン2杯分) ; PC71 ; P
 C98 ;
 M [20C] - 2901 : PA10 ; PA11 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA21
 (スプーン2杯分) ; PA24 ; PA25 ; PA39 ; PA67 ; PA69 ; PB12 (ス
 プーン2杯分) ; PB32 ; PB77 ; PC20 ; PC33 ; PC49 ; PC55 ; P
 C60 ;
 M [20C] - 2902 : PA10 ; PA11 ; PA13 (スプーン2杯分) ; PA21
 (スプーン2杯分) ; PA25 (スプーン2杯分) ; PA26 ; PA37 ; PA67 ; P
 A69 ; PB07 ; PB12 (スプーン2杯分) ; PB32 ; PC20 ; PC49 ; PC
 55 ; PC71 ;
 M [20C] - 2904 : PA10 ; PA11 (スプーン2杯分) ; PA13 ; PA21
 (スプーン2杯分) ; PA25 ; PA28 ; PA39 ; PA69 ; PA70 ; PB02 ;
 PB12 ; PB32 ; PB99 ; PC20 ; PC55 ; PC71 ; PC97 ; PC98 ;
 M [20C] - 2905 : PA10 (スプーン2杯分) ; PA11 ; PA13 ; PA21

10

20

30

40

50

; PA 25 ; PA 29 ; PA 57 ; PA 67 ; PA 69 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 28
; PB 32 ; PB 77 ; PC 11 ; PC 20 (スプーン2杯分) ; PC 52 ; PC 55 ;
M [20C] - 2906 : PA 10 ; PA 11 (スプーン2杯分) ; PA 13 ; PA 18
; PA 21 ; PA 25 ; PA 57 ; PA 67 ; PA 69 ; PB 02 ; PB 12 ; PB 32
; PB 38 ; PC 11 ; PC 20 (スプーン2杯分) ; PC 27 ; PC 52 ; PC 55 ;
M [20C] - 2907 : PA 10 ; PA 11 (スプーン2杯分) ; PA 13 ; PA 14
; PA 21 ; PA 24 ; PA 25 ; PA 29 ; PA 69 ; PA 83 ; PB 12 (スプーン
2杯分) ; PB 32 ; PB 60 ; PC 11 ; PC 20 (スプーン2杯分) ; PC 51 ; P
C 55 ;
M [20C] - 2909 : A 10 (スプーン2杯分) ; A 11 ; A 12 ; A 13 (スプー
ン2杯分) ; A 18 ; A 21 ; A 25 ; A 26 ; A 33 ; A 39 ; A 69 ; B 12 ; B 3
2 ; C 20 (スプーン2杯分) ; C 52 ; C 55 (スプーン2杯分) ;
M [20C] - 2911 : PA 13 ; PA 21 (スプーン2杯分) ; PA 24 ; PA 26
; PA 27 ; PA 39 ; PA 67 ; PB 07 ; PB 12 (スプーン2杯分) ; PB 33 ;
PB 77 ; PC 20 ; PC 24 ; PC 33 ; PC 41 ; PC 49 ; PC 60 ; PC 71 ;
M [20C] - 2912 : PA 13 ; A 21 (スプーン2杯分) ; PA 25 ; PA 26 (ス
プーン2杯分) ; PA 27 ; PA 37 ; PA 67 ; PB 07 (スプーン2杯分) ; PB
12 (スプーン2杯分) ; PB 33 ; PC 20 ; PC 24 ; PC 41 ; PC 49 ; PC 7
1 (スプーン2杯分) ;
M [20C] - 2919 : PA 10 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 18 ; PA 21 ; PA 2
6 (スプーン2杯分) ; PA 27 ; PA 33 ; PA 39 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 33
; PC 20 (スプーン2杯分) ; PC 24 ; PC 41 ; PC 52 ; PC 55 ; PC 71 ;
M [20C] - 2922 : PA 13 ; PA 20 ; PA 21 (スプーン2杯分) ; PA 25
; PA 26 ; PA 28 ; PA 35 ; PA 37 ; PA 67 (スプーン2杯分) ; PB 07 ;
PB 12 (スプーン2杯分) ; PC 12 ; PC 37 ; PC 49 ; PC 60 ; PC 71 ; P
C 74 ;
M [20C] - 2929 : PA 10 ; PA 12 ; PA 13 ; PA 18 ; PA 20 ; PA 2
1 ; PA 26 ; PA 28 ; PA 33 ; PA 35 ; PA 39 ; PA 67 ; PB 12 ; PC 1
2 ; PC 20 ; PC 37 ; PC 52 ; PC 55 ; PC 60 ; PC 74 ;
M [20C] - 2932 : PA 11 ; PA 13 (スプーン2杯分) ; PA 14 ; PA 21
; PA 25 ; PA 26 ; PA 28 ; PA 33 ; PA 37 ; PA 67 ; PB 07 ; PB 12
(スプーン2杯分) ; PB 28 ; PB 38 ; PB 77 ; PC 49 ; PC 60 ; PC 71 ;
M [20C] - 2941 : PA 10 ; PA 11 ; PA 13 (スプーン2杯分) ; PA 14
; PA 21 ; PA 24 ; PA 39 ; PA 67 ; PB 07 ; PB 12 ; PB 27 ; PB 77
; PC 11 ; PC 20 ; PC 23 ; PC 33 ; PC 49 ; PC 60 ; PC 67 ;
M [20C] - 2942 : PA 10 ; PA 11 ; PA 13 (スプーン2杯分) ; PA 14
; PA 21 ; PA 25 ; PA 26 ; PA 37 ; PA 67 ; PB 07 (スプーン2杯分) ;
PB 12 ; PB 27 ; PC 11 ; PC 20 ; PC 23 ; PC 49 ; PC 67 ; PC 71 ;

10

20

30

40

50

【表 3 6】

表10-4: 1:20の希釈でリスト10-4のミックスに基づく処理試料の6つの試験したStaphylococcus aureus株に対する、浮遊成長阻害率およびバイオフィーム形成阻害率の有効性の平均

	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
M[04C]-025	57%	18%
M[04C]-026	48%	16%
M[04C]-027	49%	18%
M[20C]-2898	60%	21%
M[20C]-2900	78%	32%
M[20C]-2903	48%	28%
M[20C]-2908	54%	15%
M[20C]-2938	70%	26%
M[20C]-2948	56%	22%
M[20C]-2951	47%	17%
M[20C]-2952	60%	19%
M[20C]-2958	53%	31%
M[20C]-2822	46%	38%
M[20C]-2824	60%	32%
M[20C]-2825	76%	38%
M[20C]-2834	55%	27%
M[20C]-2835	64%	29%
M[20C]-2848	52%	29%
M[20C]-2862	46%	31%
M[20C]-2864	51%	29%
M[20C]-2865	56%	43%

	浮遊成長 阻害	バイオフィーム 形成阻害
M[20C]-2872	59%	36%
M[20C]-2874	78%	39%
M[20C]-2875	83%	47%
M[20C]-2882	61%	28%
M[20C]-2891	70%	27%
M[20C]-2892	76%	39%
M[20C]-2901	59%	29%
M[20C]-2902	51%	30%
M[20C]-2904	62%	24%
M[20C]-2905	55%	37%
M[20C]-2906	59%	37%
M[20C]-2907	75%	41%
M[20C]-2909	82%	49%
M[20C]-2911	55%	30%
M[20C]-2912	59%	29%
M[20C]-2919	75%	48%
M[20C]-2922	63%	32%
M[20C]-2929	54%	30%
M[20C]-2932	73%	39%
M[20C]-2941	63%	48%
M[20C]-2942	56%	34%

10

20

30

【0 2 5 4】

比較例 4

比較例として、我々は、Filipendula ulmaria (PA13)、Camellia sinensis (PA21)、Arctostaphylos uva-ursi (PB12) の3つのうちの1つの植物のみ、およびEugenia caryophyllus (PC20)、Vitis vinifera var. tinctoria (PA22)、Desmodium adscondens (PB07) の3つのうちの1つの植物のみを含有する薬草組成物のいくつかの抽出物を報告する。

【0 2 5 5】

リスト10-5に報告される内容物を有する5つの薬草組成物を、前述した方法1に従って調製した。

リスト10-5以下の植物を含有する薬草組成物からの抽出物

M[20P]-318: PA15; PA21; PA34; PA35; PA82; PA83; PA85; PA92; PA96; PB03; PB07; PB26; PB30; PB36; PB79; PC11; PC49; PC91; PC92; PD10;

M[20P]-329: PA10; PA28; PA34; PA36; PA55; PA72; PA83; PA85; PA91; PB03; PB12; PB16; PB28; PB35; PB49; PB92; PC20; PC23; PC64; PC85;

M[20P]-333: PA04; PA05; PA13; PA16; PA22; PA39

40

50

; PA 5 1 ; PA 5 5 ; PA 5 7 ; PA 7 2 ; PA 8 2 ; PA 9 2 ; PA 9 8 ; PB 0 5 ; PB 2 0 ; PB 3 6 ; PB 4 3 ; PB 7 4 ; PB 7 7 ; PC 3 7 ;
M [2 0 P] - 3 6 2 : PA 2 1 ; PA 2 3 ; PA 2 5 ; PA 3 3 ; PA 3 7 ; PA 5 7 ; PA 6 9 ; PA 8 1 ; PA 9 2 ; PB 1 6 ; PB 2 5 ; PB 2 6 ; PB 2 8 ; PB 2 9 ; PB 7 8 ; PC 2 0 ; PC 2 1 ; PC 7 1 ; PC 8 3 ; PD 0 2 ;
M [2 0 P] - 5 1 3 : PA 1 2 ; PA 1 4 ; PA 1 4 ; PA 2 0 ; PA 2 0 ; PA 2 1 ; PA 2 2 ; PA 3 3 ; PA 3 5 ; PA 5 2 ; PA 5 7 ; PA 6 9 ; PB 0 0 ; PB 3 2 ; PB 3 8 ; PC 2 4 ; PC 3 7 ; PC 5 2 ; PC 5 5 ; PC 6 7 ;
2 0 個の植物粉末を含有する薬草組成物を、前述した方法 A に従って調製した。

【 0 2 5 6 】

薬草組成物から出発して、水抽出のために 1 0 0 g / L のスクロースを含有する 4 0 m L の水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む前述した方法 B に従って、対応する水抽出物（または処理試料）を調製した。

【 0 2 5 7 】

1 : 2 0 の処理試料の最終希釈で、以下の *Staphylococcus aureus* 株 : ATCC 25923、ATTC 49476、ATTC 6538、ATTC 51740、ATCC 29213、および ATTC 14775 を使用することによって、前述した方法 C に従って各処理試料の生物学的活性を決定した。

【 0 2 5 8 】

リスト 1 0 - 4 の薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均が、表 1 0 - 5 に示される。各割合は、2 つの異なるウェルにおける同じ条件の 2 回の測定の平均である。負の割合は、望ましい阻害ではなくむしろ、成長促進およびバイオフィルム促進を反映する。実施例 1 0 の抽出物と比較して、そのような抽出物は、あるとしても非常にわずかな阻害をもたらすことを理解されたい。

【表 3 7】

表 1 0 - 5 : リスト 1 0 - 4 の薬草組成物から得られた処理試料の試験した全ての株にわたる細菌浮遊成長阻害率平均およびバイオフィルム形成阻害率平均

	浮遊成長阻害	バイオフィルム形成阻害
M [2 0 C] - 3 1 8	- 1 0 %	0 %
M [2 0 C] - 3 2 9	1 2 %	9 %
M [2 0 C] - 3 3 3	3 %	1 8 %
M [2 0 C] - 3 6 2	2 2 %	3 %
M [2 0 C] - 5 1 3	- 2 1 %	2 1 %

【 0 2 5 9 】

実施例 1 1

この実施例において、我々は、*Filipendula ulmaria* (PA13)、*Camellia sinensis* (PA21)、*Arctostaphylos uva-ursi* (PB12) の 3 つのうちの少なくとも 2 つの植物、ならびに *Eugenia caryophyllus* (PC20)、*Vitis vinifera* var. *tinctorial* (PA22)、および *Desmodium adscendens* (PB07) の 3 つのうち少なくとも 1 つの植物を含むリスト 1 1 - 1 に開示される薬草組成物から得られた 1 0 個の混合物抽出物の表 1 1 - 1 に記載される 1 4 個の異なる微生物種に対する抗菌活性を例示する。

10

20

30

40

50

【表 38】

表11-1: 実施例11で使用される微生物種および株

株名称	株コード	接種濃度 (細菌/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> (MRSA) ATCC (登録商標)33592 TM	B-A49	2.10 ^{5.5}
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC (登録商標) 14990 TM	B-A08	2.10 ⁵
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> ATCC (登録商標) 49444 TM	B-A09	2.10 ⁵
<i>Candida albicans</i> ATCC (登録商標) 60193 TM	B-A61	2.10 ^{6.5}
<i>Escherichia coli</i> ATCC (登録商標) 11775 TM	B-A67	2.10 ^{5.5}
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC (登録商標) 13883 TM	B-A68	2.10 ^{5.5}
<i>Listeria innocua</i> ATCC (登録商標) 33090 TM	B-A69	2.10 ^{5.5}
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC (登録商標) 19115 TM	B-A70	2.10 ^{5.5}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC (登録商標) 27853 TM	B-A71	2.10 ^{5.5}
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis ATCC (登録商標) 13076 TM	B-A72	2.10 ^{5.5}
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium ATCC (登録商標) 13311 TM	B-A73	2.10 ^{5.5}
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC(登録商標) 27336 TM	B-A75	2.10 ^{5.5}
<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> ATCC (登録商標) 43079 TM	B-A77	2.10 ^{5.5}
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC (登録商標) BAA-1323 TM	B-B26	2.10 ^{6.5}

リスト11-1: *Filipendula ulmaria* (PA13)、*Camellia sinensis* (PA21)、および実施例11で使用される *Eugenia caryophyllus* (PC20)、*Vitis vinifera* var. *tinctoria* (PA22)、*Desmodium adscendens* (PB07) の3つのうちの少なくとも1つを含有する薬草組成物からの抽出物:

M [20P] - 297: PA10; PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA29; PA33; PA57; PA67; PA69; PB07; PB12; PB60; PC20; PC37; PC49; PC98;

M [20P] - 416: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M [20P] - 418: PA10; PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA23; PA24; PA26; PA39; PB07; PB12; PB38; PC11; PC12; PC20; PC23; PC24; PC49; PC55;

M [20P] - 527: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23; PA26 (スプーン3杯分); PA33; PB08; PB12 (スプーン2杯分); PB60; PB88; PC12; PC20;

M [20P] - 557: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07; PB12 (スプーン4杯分); PC11 (スプーン2杯分); PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M [20P] - 573: PA10; PA11; PA13 (スプーン3杯分); PA14; PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M [20P] - 576: PA11 (スプーン2杯分); PA12; PA13 (スプーン3

杯分) ; P A 1 4 (スプーン2杯分) ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ; P C 4 9 ;
M [1 9 P] - 5 7 6 : P A 1 1 (スプーン2杯分) ; P A 1 2 ; P A 1 3 (スプーン3杯分) ; P A 1 4 (スプーン2杯分) ; P A 2 0 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P A 2 9 ; P A 3 9 ; P B 1 2 ; P B 6 0 ; P C 2 0 ; P C 2 6 ; P C 3 3 ; P C 3 7 ;
M [5 P] - 1 : P A 1 2 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;
M [5 P] - 2 : P A 1 1 ; P A 1 3 ; P A 2 1 ; P A 2 2 ; P B 1 2 ;
ミックスM [5 P] - 1、M [5 P] - 2、およびM [1 9 P] - 5 7 6について、医薬品グレードの乾燥植物を「Herboristerie Cailleau」(Chemille, フランス)から入手した。他のミックスについて、医薬品グレードの乾燥植物を「Pharmacie Fontgieve」(Clermont-Ferrand, フランス、植物P B 1 2 ~ P A 0 0)および「Pharmacie St Herem」(Clermont-Ferrand, フランス、植物P B 1 3 ~ P D 0 2)から入手した。

10

【0260】

20個の植物の全ての薬草組成物を、前述した方法Aに従って調製した。

【0261】

薬草組成物から出発して、水抽出のために100g/Lのスクロースを含有する40mLの水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む前述した方法Bに従って、対応する水抽出物(または処理試料)を調製した。

【0262】

薬草組成物M [1 9 P] - 5 7 6、M [5 P] - 1、およびM [5 P] - 2を、表11-2に示される各乾燥薬草を秤量することによって調製した。

20

【表39】

表11-2: 実施例-11で使用されるM [1 9 P] - 5 7 6、M [5 P] - 1、およびM [5 P] - 2の薬草組成物で使用される乾燥植物の重量 (mg)

	PA11	PA12	PA13	PA14	PA20	PA21	PA22	PA29	PA39	PB12	PB60	PC20	PC26	PC33	PC37
M[19P]-576	409	145	573	316	277	271	207	380	207	247	206	236	198	187	154
M[5P]-1		903	1574			2237	1263			2022					
M[5P]-2	756		720			1027	577			925					

30

【0263】

薬草組成物から出発して、水抽出のためにM [1 9 P] - 5 7 6、M [5 P] - 1、およびM [5 P] 2のそれぞれで、スクロースなしで30mL、40mL、および40mLの水のそれぞれを使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む前述した方法Bに従って、対応する水抽出物(または処理試料)を調製した。

【0264】

各処理試料の生物学的活性は、処理試料の示された最終希釈で以下の株を使用することによって、前述した方法Cに従って決定し、表11-3に示される。

40

【0265】

微生物浮遊成長阻害率平均が、表11-3に示される。

【表 4 0】

表11-3: リスト11-1に開示される組成物の処理試料の14個の試験した微生物株に対する浮遊成長阻害率

	M[20C]-297	M[20C]-416	M[20C]-418	M[20C]-527	M[20C]-557	M[20C]-573	M[20C]-576	M[19C]-576	M[5P]-1	M[5P]-2
希釈	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10	1:20	1:20	1:20
B-A49	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
B-A08	100%	99%	100%	100%	100%	98%	98%	100%	100%	100%
B-A09	89%	97%	98%	99%	99%	100%	100%	100%	100%	100%
B-A61	25%	69%	36%	45%	51%	55%	90%	ND	ND	ND
B-A67	45%	52%	59%	66%	62%	52%	39%	34%	55%	38%
B-A68	100%	97%	100%	100%	100%	94%	92%	100%	100%	100%
B-A69	-1%	21%	21%	38%	30%	30%	-1%	38%	100%	38%
B-A70	39%	52%	53%	74%	54%	57%	32%	34%	100%	40%
B-A71	63%	71%	69%	75%	75%	82%	71%	42%	100%	55%
B-A72	47%	53%	59%	63%	58%	58%	32%	39%	62%	42%
B-A73	59%	59%	59%	71%	72%	58%	32%	42%	100%	45%
B-A75	51%	52%	63%	71%	63%	57%	31%	ND	ND	ND
B-A77	40%	47%	64%	68%	59%	58%	40%	100%	100%	100%
B-B26	58%	64%	72%	70%	74%	42%	93%	ND	ND	ND

10

20

注: 「ND」は、「決定されず」を意味する

【0266】

実施例12

この実施例では、我々は、抽出ステップが、単独でまたは表12-1に示されるような2成分ミックスとして使用される非水性溶媒アセトン、酢酸エチル、エタノールで実現された、植物ミックスの抗菌活性を例示する。水との比較が提供される。

30

【表 4 1】

表12-1: 非水性抽出のために実施例12で使用する2成分ミックスの組成

A)	2成分溶媒和物名	アセトン/エタノール比	B)	2成分溶媒和物名	酢酸エチル/エタノール比	C)	2成分溶媒和物名	酢酸エチル/アセトン比
	AC9ET1	90/10		EA9ET1	90/10		EA9AC1	90/10
	AC8ET2	80/20		EA8ET2	80/20		EA8AC2	80/20
	AC7ET3	70/30		EA7ET3	70/30		EA7AC3	70/30
	AC6ET4	60/40		EA6ET4	60/40		EA6AC4	60/40
	AC5ET5	50/50		EA5ET5	50/50		EA5AC5	50/50
	AC4ET6	40/60		EA4ET6	40/60		EA4AC6	40/60
	AC3ET7	30/70		EA3ET7	30/70		EA3AC7	30/70
	AC2ET8	20/80		EA2ET8	20/80		EA2AC8	20/80
	AC1ET9	10/90		EA1ET9	10/90		EA1AC9	10/90

40

【0267】

M[20P]-576乾燥植物ミックスは、以下の表12-2からなり、500mLバイ

50

アル内に配置し、手動で反転および回転させることによって徹底的に混合した。Siccarap am (Aubiat, フランス) から入手した P C 4 9 以外、乾燥薬草を「Herboristerie Caill eau」 (Chemille, フランス) から入手した。

【表 4 2】

表12-2: 実施例12で使用されるM[20P]-576を構成する乾燥植物のリスト

乾燥植物	PA11	PA12	PA13	PA14	PA20	PA21	PA22	PA29	PA39	PB12	PB60	PC20	PC26	PC33	PC37	PC49
重量 (g)	29,7	10,5	41,5	22,9	19,8	19,9	15,0	27,5	15,0	17,8	15,0	17,1	14,4	13,6	11,3	9,3

10

【0 2 6 8】

試験した各溶媒について、5 gの乾燥植物ミックスを、磁気棒を有する100 mL 着色バイアル (Schott, ドイツ) 内に配置し、50 mLの溶媒を添加した。懸濁液を室温で48時間、最高速度でマグネチックスターラー (R0 15P IKA, ドイツ) を用いて攪拌した。それ自体が蒸発フラスコ内に配置されたガラス漏斗 (Schott, ドイツ) 上に配置された250 mm折り畳みフィルタ (J025106, Prats Dumas, フランス) を使用して、重力によって各懸濁液／溶液を濾過した。フィルタを通過した液体を含むフラスコは、回転真空蒸発デバイス (Rotavapor (登録商標) R 2 0 5 + V 8 0 0 真空コントローラ、Buchi, Switzerland) 上に配置され、蒸発は、全ての溶媒が蒸発するまで、真空を溶媒の沸騰点未満になるように調整しながら35℃で実施される。残りの物質は、秤量され、DMSO (Acros organic, アメリカ合衆国) q s p 10 g / Lに溶解されて、抽出ミックスを形成する。

20

【0 2 6 9】

水抽出のために40 mLの水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む、乾燥植物のスプーンを実施例12の2 gのM [20P] - 576乾燥植物ミックスに置き換えた、前述した方法Bに従って、2つの水抽出物を調製した。凍結した抽出物の凍結乾燥デバイス (FreeZone (登録商標) 2.5, Labconco アメリカ合衆国、およびRZ6 Vacuubrand, ドイツ) を用いて得られた凍結乾燥残渣を秤量することによって、植物ミックス抽出物のうちの1つの乾燥残渣含有量を決定した。

30

【0 2 7 0】

これらの乾燥残渣含有量を使用して、異なる抽出物の比活性度を推定した。

【0 2 7 1】

抽出ミックスの希釈が1:20、1:40、1:80、1:160であった表12-3に示される株を使用することによって、前述した方法Cに従って、各抽出ミックスの生物学的活性を決定した。最小阻害濃度 (MIC) を、成長が観察されない最低濃度として、ウェルの目視観察によって記録した。

40

【表 4 3】

表12-3: 実施例12で使用される細菌株のリスト

Staphylococcus aureus		Staphylococcus epidermidis	
NCTC 12493 TM	B-A47	ATCC(登録商標)12228 ^T _M	B-A22
ATCC(登録商標)33591 TM	B-A48	ATCC(登録商標)700296 TM	B-A23
ATCC(登録商標)33592 TM	B-A49	ATCC(登録商標)49461 ^T _M	B-A24
NCTC 43300 TM	B-A51	ATCC(登録商標)14990 ^T _M	B-A08

10

【0 2 7 2】

結果は、異なる溶媒について表 1 2 - 4 にまとめられる。

【表 4 4 - 1】

表12-4: A)溶媒としてアセトン、エタノール-アセート、エタノールおよび水、B)表12-2-Aに示されるような2成分溶媒として異なる割合のアセトンおよびエタノール、C)表12-2-Bに示されるような2成分溶媒としてエタノール-アセートおよびエタノール、ならびにD)表12-2-Cに示されるような2成分溶媒として異なる割合のエタノール-アセートおよびアセトンを使用した、抽出ミックスのmg/LのCMI

20

A)	アセトン	エタノール-アセート	エタノール	水					
B-A47	500	500	500	725					
B-A48	500	500	500	725					
B-A49	500	500	500	725					
B-A51	500	500	500	725					
B-A22	250	250	250	363					
B-A23	250	250	250	363					
B-A24	250	250	250	363					
B-A08	250	250	250	725					

30

【表 4 4 - 2】

B)	AC9ET1	AC8ET2	AC7ET3	AC6ET4	AC5ET5	AC4ET6	AC3ET7	AC2ET8	AC1ET9
B-A47	500	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A48	250	250	250	250	250	500	500	500	500
B-A49	250	250	250	250	250	500	500	500	500
B-A51	500	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A22	250	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A23	250	125	125	125	125	250	250	250	250
B-A24	250	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A08	250	250	250	250	250	250	250	250	250

40

50

【表 4 4 - 3】

C)	EA9ET1	EA8ET2	EA7ET3	EA6ET4	EA5ET5	EA4ET6	EA3ET7	EA2ET8	EA1ET9
B-A47	500	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A48	250	250	250	250	250	500	500	500	500
B-A49	250	250	250	250	250	500	500	500	500
B-A51	250	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A22	250	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A23	250	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A24	250	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A08	250	250	250	250	250	250	250	250	250

10

【表 4 4 - 4】

D)	EA9AC1	EA8AC2	EA7AC3	EA6AC4	EA5AC5	EA4AC6	EA3AC7	EA2AC8	EA1AC9
B-A47	500	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A48	500	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A49	500	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A51	500	500	500	500	500	500	500	500	500
B-A22	500	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A23	500	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A24	500	250	250	250	250	250	250	250	250
B-A08	500	500	250	250	250	250	250	250	250

20

【0 2 7 3】

実施例 1 3

この実施例では、我々は、添加される炭水化物がスクロース、デキストロース、マルトース、およびガラクトースの中から選択される、前述した方法 B に従って調製された植物ミックスの抗菌活性を例示する。

30

【0 2 7 4】

M [1 9 P] - 5 7 6、M [5 P] - 1、および M [5 P] - 2 乾燥植物ミックスは、以下の表 1 3 - 1 からなり、5 0 0 m L バイアル内に配置し、手動で反転および回転させることによって徹底的に混合した。Siccarapam (Aubiat, フランス) から入手した P C 4 9 以外、乾燥薬草を「Herboristerie Cailleau」(Chemille, フランス) から入手した。

【表 4 5 - 1】

表 13-1: 実施例 13 で使用される A) M [20 P] - 576 ミックス、B) M [5 P] - 1 ミックス、および C) M [5 P] - 2 ミックスを構成する乾燥植物のリスト

40

A)	PA11	PA12	PA13	PA14	PA20	PA21	PA22	PA29	PA39	PB12	PB60	PC20	PC26	PC33	PC37	PC49
乾燥植物重量(g)	29,7	10,5	41,5	22,9	19,8	19,9	15,0	27,5	15,0	17,8	15,0	17,1	14,4	13,6	11,3	9,3

50

【表 4 5 - 2】

B)

乾燥植物	PA12	PA13	PA21	PA22	PB12
重量(g)	34.1	59.2	84.1	47.5	75.8

C)

乾燥植物	PA11	PA13	PA21	PA22	PB12
重量(g)	56.9	54	76.9	43.4	69.4

【0 2 7 5】

各乾燥植物ミックスについて、水抽出のために 4 0 m L の水および表 1 3 - 3 に示される量の炭水化物を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む、乾燥植物のスプーンを実施例 1 3 の 2 g の植物ミックスに置き換えた、前述した方法 B に従って、抽出物を調製した。

【0 2 7 6】

水抽出のために 4 0 m L の水を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む、乾燥植物のスプーンを実施例 1 3 の 2 g の植物ミックスに置き換えた、前述した方法 B に従って調製した、凍結した 4 0 m L の抽出物の凍結乾燥デバイス (FreeZone™ 2. 5, Labco nco アメリカ合衆国、および R Z 6 Vacuubrand, ドイツ) で得られた凍結乾燥残渣を秤量することによって、炭水化物を含まない植物ミックスの乾燥残渣含有量を別々に決定した。これらの乾燥残渣含有量を使用して、異なる抽出物の比活性度を推定し、ここで炭水化物は、アジュバントと見なされ、活性成分の一部とは見なされない。

【0 2 7 7】

抽出ミックスの希釈が 1 : 2 0、1 : 4 0、1 : 8 0、1 : 1 6 0 であった表 1 3 - 2 に示される株を使用することによって、前述した方法 C に従って、各抽出ミックスの生物学的活性を決定した。最小阻害濃度 (M I C) を、成長が観察されない最低濃度として、ウェルの目視観察によって確認した。

【表 4 6】

表 1 3 - 2 : 実施例 1 3 で使用される細菌株のリスト

Staphylococcus aureus		Staphylococcus epidermidis	
NCTC 12493™	B-A47	ATCC (登録商標) 12228™	B-A2 2
ATCC (登録商標) 33591™	B-A48	ATCC (登録商標) 700296™	B-A2 3
ATCC (登録商標) 33592™	B-A49	ATCC (登録商標) 49461™	B-A2 4
NCTC 43300™	B-A51	ATCC (登録商標) 14990™	B-A0 8

【0 2 7 8】

結果は、表 1 3 - 4 にまとめられる。

【表 4 7 - 1】

表 1 3 - 3 : A) M [2 0 P] - 5 7 6 ミックス、B) M [5 P] - 1 ミックス、
 および C) M [5 P] - 2 ミックスについてのスクロース、ラクトース、デキスト
 ロース、マルトース、またはガラクトースを使用した抽出ミックスの m g / L の M
 I C

A)	スクロース				ラクトース				デキストロース				マルトース			ガラクトース		
M[20P] -576	100g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L		
B-A47	725	>725	>725	725	>725	>725	>725	>725	725	725	725	725	725	725	725	725		
B-A48	725	>725	>725	725	>725	>725	>725	725	725	725	725	725	725	725	725	725		
B-A49	725	>725	>725	725	>725	>725	>725	725	725	725	725	725	725	725	725	725		
B-A51	725	>725	>725	725	>725	>725	>725	725	725	725	725	725	725	725	725	725		
B-A22	363	725	725	725	725	725	363	363	363	363	363	363	363	363	363	363		
B-A23	363	725	725	363	725	725	363	363	363	363	363	363	363	363	363	363		
B-A24	363	725	725	725	725	725	363	363	363	363	363	363	363	363	363	363		
B-A08	725	725	725	725	725	725	725	363	363	363	363	363	363	363	363	363		

10

20

【表 4 7 - 2】

B) M[5P]- 1	スクロース				ラクトース			デキストロース			マルトース			ガラクトース		
	100g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L			
B-A47	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327			
B-A48	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327			
B-A49	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	653			
B-A47	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327	327			
B-A22	327	327	327	327	327	327	327	163	163	163	163	327	327			
B-A23	163	163	327	163	163	163	327	163	163	163	163	327	163			
B-A24	327	327	327	327	327	327	327	163	163	163	163	327	163			
B-A08	327	327	327	327	327	327	327	163	327	327	163	327	327			

30

【表 4 7 - 3】

C)	スクロース				ラクトース			デキストロース			マルトース			ガラクトース		
M[5P]-2	100g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L	100g/L	50g/L	25g/L			
B-A47	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	688			
B-A48	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344			
B-A49	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	688			
B-A51	344	344	344	344	344	344	344	688	344	688	344	344	688			
B-A22	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344			
B-A23	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344			
B-A24	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344			
B-A08	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344	344			

40

50

【0279】

実施例14

この例では、我々は、一般的に使用される抗生物質に対するM[20P]－576薬草ミックス抽出物の抗菌活性の増強を例示する。

【表48】

表14－1：実施例14で使用する細菌種および株

株名称	株コード
Staphylococcus aureus subsp. aureus ATCC（登録商標）25923 TM	B-A17
Staphylococcus aureus subsp. aureus ATCC（登録商標）29213 TM	B-A21

10

リスト14－1：実施例14で使用する処理試料の薬草組成物：

M[19P]－576：PA11；PA12；PA13；PA14；PA20；PA21；PA22；PA29；PA39；PB12；PB60；PC20；PC26；PC33；PC37。

【0280】

医薬品グレードの乾燥植物を「Herboristerie Cailleau」（Chemille，フランス）から入手した。

【0281】

薬草組成物M[19P]－576を、表14－2に示される各乾燥薬草を秤量することによって調製した。

20

【表49】

表14－2：M[19P]－576の薬草組成物で使用する乾燥植物の重量（mg）

	PA1 1	PA1 2	PA1 3	PA1 4	PA2 0	PA2 1	PA2 2	PA2 9	PA3 9	PB1 2	PB6 0	PC2 0	PC2 6	PC3 3	PC37
M[19P]－576	409	145	573	316	277	271	207	380	207	247	206	236	198	187	154

30

【0282】

薬草組成物から出発して、水抽出のために100g/Lのスクロースを有する40mLの水を有する2.06gの上記の薬草組成物を使用し、濾過前のデカンテーションステップを含む前述した方法Bに従って、対応する水抽出物（または処理試料）を調製した。スクロースを含まない独立した水抽出物調製において、2.06g/40mLの薬草組成物は、凍結乾燥された乾燥薬草抽出物の重量から推定されるように14.5g/Lに相当すると測定された。

【0283】

各処理試料の生物学的活性は、処理試料の示された最終希釈で以下の株を使用することによって、前述した方法Cに従って決定し、表14－3に示される。実施例14において、我々は、抗生物質および薬草ミックス抽出物の両方が存在しない場合の成長に対する、抗生物質および／または薬草ミックスが存在する場合の細菌の成長を計算する。

40

【0284】

細菌浮遊成長阻害率平均が、表14－3に示される。

【0285】

薬草抽出物M[19P]－576の存在が、使用した濃度での3つの効果を有することによって留意しなければならない。1）それは、抗生物質の低濃度および非存在下で細菌の成長を低減する。2）それは、抗生物質の非存在下での成長と比較して、低い抗生物質濃度によって誘発される細菌成長の増加を低減する。3）それは、90.6μg/mL、181.3μg/mL、および90.6μg/mLのそれぞれで開始するM[20C]－576濃度に

50

において、B-A17に対してバンコマイシン、ならびにB-A21に対してアンピシリンおよびペニシリンのそれぞれの最小阻害濃度（MIC）を低減する。

【表50】

表14-3：2つの異なる株に対する、抽出物および抗生物質の両方の非存在下での細菌の成長と比較した、異なる抽出物濃度および抗生物質濃度の存在下での浮遊成長

	株	M[20C]-576	抗生物質濃度(μ g/mL)											
		(μ g/mL)	0	3.91	7.81	15.63	31.25	62.50	125	250	500	1000	2000	4000
アンピシリン	B-A17	0	100%	176%	176%	148%	131%	112%	2%	0%	0%	0%	0%	-1%
		90.6	57%	64%	76%	75%	58%	18%	1%	0%	0%	0%	0%	0%
		181.3	54%	52%	53%	52%	31%	7%	-4%	-4%	-4%	-4%	-5%	-1%
	B-A21	0	100%	153%	132%	131%	132%	116%	150%	113%	112%	106%	-1%	0%
		90.6	64%	108%	83%	82%	82%	74%	83%	75%	83%	0%	0%	0%
		181.3	42%	44%	63%	70%	69%	70%	62%	62%	61%	-2%	-3%	-2%
ペニシリン	B-A17	0	100%	137%	138%	3%	1%	0%	-1%	0%	0%	0%	0%	0%
		90.6	53%	39%	25%	1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		181.3	51%	23%	5%	-3%	-3%	-3%	-3%	-2%	-3%	-4%	-4%	-2%
	B-A21	0	100%	135%	116%	115%	113%	108%	106%	101%	0%	0%	0%	0%
		90.6	65%	104%	83%	83%	84%	80%	74%	26%	0%	0%	0%	0%
		181.3	44%	62%	43%	70%	61%	60%	45%	-3%	-3%	-3%	-3%	-3%
バンコマイシン	B-A17	0	100%	135%	118%	114%	117%	115%	116%	118%	128%	117%	0%	0%
		90.6	62%	65%	66%	65%	74%	70%	67%	66%	63%	0%	0%	0%
		181.3	42%	40%	41%	53%	55%	55%	54%	46%	47%	-3%	-3%	-2%
	B-A21	0	100%	118%	117%	113%	117%	110%	102%	102%	102%	0%	0%	0%
		90.6	45%	102%	82%	88%	77%	76%	77%	74%	67%	0%	0%	0%
		181.3	58%	48%	63%	57%	60%	57%	41%	57%	32%	-2%	-3%	0%

【0286】

実施例15

この実施例では、産業上の制約に対処するために方法Bで温度を適応させる方法を例示する。

【0287】

有機グレードの乾燥植物を「Herboristerie Cailleau」（Chemille，フランス）から入手した。

【0288】

薬草組成物M[5P]-1を、表15-1に示される各乾燥薬草を秤量することによって調製した。

【表51】

表15-1：M[5P]-1の薬草組成物で使用する乾燥植物の重量（mg）

	PA12	PA13	PA21	PA22	PB12
M[5P]-1	395.2	688.8	978.9	552.5	884.6

【0289】

120gの薬草組成物を2Lビーカー（Schott，ドイツ）内に含まれる600mLの水に組み込むことによって、第1の抽出物M[5P]-1-Aを調製した。120gの薬草組成物を25×30cmの有機グレードの綿袋（Ecobags，アメリカ合衆国）内に配置する

ことによって、第2の抽出物M〔5P〕－1－Bを調製し、充填した袋を2Lビーカー（Schott, ドイツ）内に含まれる600mLの水中に配置した。60gの薬草組成物を25×30cmの有機グレードの綿袋（Ecobags, アメリカ合衆国）内に2回配置することによって、第3の抽出物M〔5P〕－1－Cを調製し、2つの充填した袋を単一の2Lビーカー（Schott, ドイツ）内に含まれる600mLの水中に配置した。各M〔5P〕－1－A、M〔5P〕－1－B、およびM〔5P〕－1－Cの調製物のそれぞれを、室温で3時間浸漬のために放置し、次いで121℃、121℃、および134℃のそれぞれで30分間、オートクレーブ（VWR Vapour Line Eco 25, アメリカ合衆国）内のそのビーカー内に配置した。M〔5P〕－1－BおよびM〔5P〕－1－Cのそれぞれについて、手動操作の5Lフルーツプレス（Brouwland, Belgium）を使用して綿袋を圧搾し、回収液を2Lビーカーに戻した。各ビーカーをデカンテーションのために放置し、必要量の上清液を使用して、その生物学的活性を測定した。

【表52】

表15－2：実施例15で使用される細菌種および株

株名称	株コード
Staphylococcus aureus subsp. aureus ATCC（登録商標）25923 TM	B-A17
Staphylococcus aureus subsp. aureus ATCC（登録商標）29213 TM	B-A21
Staphylococcus aureus subsp. aureus ATCC（登録商標）33592 TM	B-A49

【0290】

1：40、1：80、1：160、および1：320の最終希釈で表15－2に列挙する株を使用することによって、前述した方法Cに従って、各処理試料の生物学的活性を決定した。最小阻害濃度（MIC）に対応する希釈を、成長が観察されない最低濃度としてウェルの目視観察によって記録し、表15－3に報告する。

【表53】

表15－3：異なる産業的詳細および温度で実現された抽出物の最小阻害濃度（MIC）に対応する希釈

	121°でのM〔5P〕－1－A	121°でのM〔5P〕－1－B	134°でのM〔5P〕－1－C
B-A17	1／80	1／40	1／80
B-A21	1／80	1／40	1／80
B-A49	1／80	1／40	1／160

【0291】

産業的プロセスを容易にするために綿袋を導入することが、袋のない不満足なプロセスと比較して、抽出物の活性をわずかに低減したことに注目すべきである。高温抽出段階中にオートクレーブの温度を上昇させると、完全な活性を回復することが可能であった。

本発明は、以下の態様および実施態様を含む。

【1】 *Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および*Arctostaphylos uva-ursi*の中から選択される少なくとも2つの乾燥植物と、*Vitis vinifera* var. *tinctoria*、*Eugenia caryophyllus*、および*Desmodium adscendens*の中から選択される少なくとも1

つの植物とを含む、薬草組成物の抽出物。

〔2〕 前記薬草組成物が、*Achillea millefolium*、*Acorus calamus*、*Agrimonia eupatoria*、*Agropyrum repens*、*Alchemilla vulgaris*、*Alkanna tinctoria*、*Althaea officinalis*、*Anethum graveolens*、*Angelica archangelica*、*Arbutus unedo*、*Arnica montana*、*Artemisia pontica*、*Artemisia vulgaris*、*Asparagus officinalis*、*Asperula odorata*、*Betula pendula*、*Borrage officinalis*、*Buxus sempervirens*、*Calamintha officinalis*、*Calendula officinalis*、*Calluna vulgaris*、*Carum carvi*、*Cassia angustifolia*、*Centaurea cyanus*、*Centaureum erythraea*、*Centella asiatica*、*Cetraria islandica*、*Chamaemelum nobile*、*Chamomilla recutita*、*Chrysanthellum americanum*、*Cichorium endivia*、*Cichorium intybus*、*Cinnamomum zeylanicum*、*Citrus aurantium*、*Combretum micranthum*、*Crataegus oxyacantha*、*Cuminum cyminum*、*Cupressus sempervirens*、*Curcuma zedoaria*、*Cynara scolymus*、*Cytisus scoparius*、*Desmodium adscendens*、*Elettaria cardamomum*、*Eleutherococcus senticosus*、*Epilobium parviflorum*、*Erysimum officinale*、*Eucalyptus globulus*、*Eugenia caryophyllus*、*Eupatorium cannabinum*、*Foeniculum vulgare*、*Fraxinus excelsior*、*Fucus vesiculosus*、*Fumaria officinalis*、*Galium odoratum*、*Gentiana lutea*、*Geranium robertianum*、*Ginkgo biloba*、*Glechoma hederacea*、*Glycyrrhiza glabra*、*Handroanthus impetiginosus*、*Harpagophytum procumbens*、*Hieracium pilosella*、*Humulus lupulus*、*Hypericum perforatum*、*Hyssopus officinalis*、*Illicium verum*、*Inula helenium*、*Juglans regia*、*Juniperus communis*、*Lamium album*、*Lavandula angustifolia*、*Levisticum officinale*、*Lippia citriodora*、*Lotus corniculatus*、*Lythrum salicaria*、*Malva sylvestris*、*Marrubium vulgare*、*Medicago sativa*、*Melissa officinalis*、*Mentha piperita*、*Morus nigra*、*Myrtus communis*、*Olea europaea*、*Origanum majorana*、*Panax ginseng*、*Papaver rhoeas*、*Parietaria officinalis*、*Passiflora incarnata*、*Petroselinum crispum*、*Peumus boldus*、*Phaseolus vulgaris*、*Pimpinella anisum*、*Plantago lanceolata*、*Plantago ovata*、*Potentilla anserina*、*Quercus robur*、*Rhamnus frangula*、*Rheum palmatum*、*Rosa centifolia*、*Rosmarinus officinalis*、*Rubia tinctorum*、*Rubus idaeus*、*Salix alba*、*Salvia officinalis*、*Sambucus nigra*、*Satureja montana*、*Silybum marianum*、*Solanum dulcamara*、*Tabebuia impetiginosa*、*Tanacetum vulgare*、*Taraxacum officinalis*、*Thymus serpyllum*、*Thymus vulgaris*、*Tilia tomentosa*、*Tilia cordata*、*Trigonella foenum-graecum*、*Tussilago farfara*、*Vaccinium myrtillus*、*Valeriana officinalis*、*Verbascum thapsus*、*Verbena officinalis*、*Viscum album*、*Zea mays*、および*Zingiber officinale*の中から選択される1つ以上の追加の乾燥植物をさらに含む、〔1〕に記載の抽出物。

〔3〕 前記薬草組成物が、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、*Arctostaphylos uva-ursi*、*Rheum palmatum*、*Rosmarinus officinalis*、*Vitis vinifera tinctoria*、*Desmodium adscendes*、*Eugenia caryophyllus*、および*Eucalyptus globulus*の中から選択される3～7つの乾燥植物を含み、そのような植物のうちの少なくとも2つが、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および*Arctostaphylos uva-ursi*の中から選択され、そのような植物のうちの少なくとも1つが、*Vitis vinifera tinctoria*、*Desmodium adscendes*、および*Eugenia caryophyllus*の中から選択される、〔1〕または〔2〕に記載の抽出物。

〔4〕 前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：*Rosmarinus officinalis*、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、*Vitis vinifera tinctoria*、および*Arctostaphylos uva-ursi*を含む、〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の抽出物。

〔5〕 前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：*Rheum palmatum*、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、*Vitis vinifera tinctoria*、および*Arctostaphylos uva-ursi*を含む、〔1〕～〔4〕のいずれかに記載の抽出物。

〔 6 〕 前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：*Rheum palmatum*、*Rosmarinus officinalis*、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、*Vitis vinifera tinctoria*、*Eugenia caryophyllus*、および*Arctostaphylos uva-ursi*を含む、〔 1 〕 ～〔 5 〕 のいずれかに記載の抽出物。

〔 7 〕 前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：*Rheum palmatum*、*Rosmarinus officinalis*、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、*Vitis vinifera tinctoria*、*Eucalyptus globulus*、*Arctostaphylos uva-ursi*、*Mentha spicata*、および*Rubia tinctorum*を含む、〔 1 〕 ～〔 6 〕 のいずれかに記載の抽出物。

〔 8 〕 前記薬草組成物が、以下の 16 個：*Rheum palmatum*、*Rosmarinus officinalis*、*Filipendula ulmaria*、*Satureja montana*、*Valeriana officinalis*、*Camellia sinensis*、*Vitis vinifera tinctoria*、*Fucus vesiculosus*、*Foeniculum vulgare*、*Arctostaphylos uva-ursi*、*Arbutus unedo*、*Eugenia caryophyllus*、*Juniperus communis*、*Combretum micranthum*、*Lippia citrodora*、および*Tanacetum vulgare*の中から選択される少なくとも 14 個または 15 個の乾燥植物を含む、〔 1 〕 ～〔 7 〕 のいずれかに記載の抽出物。

〔 9 〕 前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：*Rheum palmatum*、*Rosmarinus officinalis*、*Filipendula ulmaria*、*Satureja montana*、*Valeriana officinalis*、*Camellia sinensis*、*Vitis vinifera tinctoria*、*Fucus vesiculosus*、*Foeniculum vulgare*、*Arctostaphylos uva-ursi*、*Arbutus unedo*、*Eugenia caryophyllus*、*Juniperus communis*、*Combretum micranthum*、および*Lippia citrodora*を含む、〔 1 〕 ～〔 8 〕 のいずれかに記載の抽出物。

〔 10 〕 前記薬草組成物が、以下の乾燥植物：*Rheum palmatum*、*Rosmarinus officinalis*、*Filipendula ulmaria*、*Satureja montana*、*Valeriana officinalis*、*Camellia sinensis*、*Vitis vinifera tinctoria*、*Fucus vesiculosus*、*Foeniculum vulgare*、*Arctostaphylos uva-ursi*、*Arbutus unedo*、*Eugenia caryophyllus*、*Juniperus communis*、*Combretum micranthum*、*Lippia citrodora*、および*Tanacetum vulgare*を含む、〔 1 〕 ～〔 9 〕 のいずれかに記載の抽出物。

〔 11 〕 〔 1 〕 ～〔 10 〕 のいずれかに記載の抽出物の凍結乾燥物。

〔 12 〕 〔 1 〕 ～〔 10 〕 のいずれかに記載の抽出物、または〔 11 〕 に記載の凍結乾燥物を、少なくとも 1 つの賦形剤とともに活性成分として含む、フードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、動物用組成物もしくは化粧品組成物、または機能性食品、または食品添加物。

〔 13 〕 経口または局所投与用に製剤化された、〔 12 〕 に記載のフードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、動物用組成物もしくは化粧品組成物、機能性食品、または食品添加物。

〔 14 〕 抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤として使用するための、〔 1 〕 ～〔 10 〕 のいずれかに記載の抽出物、〔 11 〕 に記載の凍結乾燥物、または〔 12 〕 もしくは〔 13 〕 に記載の医薬組成物もしくは動物用組成物。

〔 15 〕 微生物感染の治療、予防、または診断において抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤として使用するための、〔 1 〕 ～〔 10 〕 のいずれかに記載の抽出物、〔 11 〕 に記載の凍結乾燥物、または〔 12 〕 もしくは〔 13 〕 に記載の医薬組成物もしくは動物用組成物。

〔 16 〕 前記感染が、*Escherichia*、*Klebsiella*、*Listeria*、*Pseudomonas*、*Salmonella*、*Streptococcus*、*Candida*、または*Staphylococcus*によって引き起こされる、〔 15 〕 に記載の抽出物、凍結乾燥物、または医薬組成物もしくは動物用組成物。

〔 17 〕 前記感染が、*Staphylococcus aureus*、*Staphylococcus epidermidis*、または*Staphylococcus pseudintermedius*によって引き起こされる、〔 15 〕 に記載の抽出物、凍結乾燥物、または医薬組成物もしくは動物用組成物。

〔 18 〕 *Escherichia*、*Klebsiella*、*Listeria*、*Pseudomonas*、*Salmonella*、*Streptococcus*、*Candida*、または*Staphylococcus*によって引き起こされる微生物感染の治療

10

20

30

40

50

または予防において、抗菌剤および／または抗バイオフィルム剤として使用するための、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および*Arctostaphylos uva-ursi*の中から選択される少なくとも2つの乾燥植物を含む薬草組成物の抽出物、前記抽出物の凍結乾燥物、または前記抽出物を含む医薬組成物もしくは動物用組成物。

〔19〕 a) 対応する植物粉末を得るために、少なくとも2つの単一乾燥植物を別々に、または混合物中でみじん切りにするまたは粉砕することと、b) 薬草組成物を得るために、少なくとも2つの異なる植物粉末を混合することと、c) 対応する液体調製物（または抽出物）を得るために、抽出溶媒を前記薬草組成物に添加することと、d) 5～15分の範囲の時間、室温で前記液体調製物をインキュベートすることと、任意選択に、e) 5～60分の範囲の時間、60℃～134℃の範囲の温度で前記液体調製物を加熱することと、任意選択に、f) 遠心分離して、上清を収集し、前記収集された上清を濾過することと、任意選択に、g) ステップe) またはf) から得られた前記液体調製物を濃縮するおよび／または乾燥するもしくはフリーズドライすることと、を含む、〔1〕～〔10〕のいずれかに記載の抽出物を調製するためのプロセス。

〔20〕 前記抽出溶媒が、水である、〔19〕に記載のプロセス。

〔21〕 ステップ(c) で添加された水が、1～100 g/L、任意選択に50～75 g/Lの異なる濃度で溶解した糖を含む、〔20〕に記載のプロセス。

〔22〕 〔1〕～〔10〕のいずれかに記載の抽出物を調製するためのプロセスにおける中間体として、*Filipendula ulmaria*、*Camellia sinensis*、および*Arctostaphylos uva-ursi*の中から選択される少なくとも2つの乾燥植物と、*Vitis vinifera* var. *tinctoria*、*Eugenia caryophyllus*、および*Desmodium adscendens*の中から選択される少なくとも1つの植物とを含む、薬草組成物。

〔23〕 前記薬草組成物が、*Achillea millefolium*、*Acorus calamus*、*Agrimonia eupatoria*、*Agropyrum repens*、*Agropyrum repens*、*Alchemilla vulgaris*、*Alkan na tinctoria*、*Althaea officinalis*、*Anethum graveolens*、*Angelica archangelica*、*Arbutus unedo*、*Arnica montana*、*Artemisia pontica*、*Artemisia vulgaris*、*Asparagus officinalis*、*Asparagus officinalis*、*Asperula odorata*、*Betula pendula*、*Borrago officinalis*、*Buxus sempervirens*、*Calamintha officinalis*、*Calendula officinalis*、*Calluna vulgaris*、*Carum carvi*、*Cassia angustifolia*、*Centaurea cyanus*、*Centaureum erythraea*、*Centella asiatica*、*Cetraria islandica*、*Chamaemelum nobile*、*Chamomilla recutita*、*Chrysanthellum americanum*、*Cichorium endivia*、*Cichorium intybus*、*Cinnamomum zeylanicum*、*Citrus aurantium*、*Combreum micranthum*、*Crataegus oxyacantha*、*Cuminum cyminum*、*Cupressus sempervirens*、*Curcuma zedoaria*、*Cynara scolymus*、*Cytisus scoparius*、*Desmodium adscendens*、*Elettaria cardamomum*、*Eleutherococcus senticosus*、*Epilobium parviflorum*、*Erysimum officinale*、*Eucalyptus globulus*、*Eugenia caryophyllus*、*Eupatorium cannabinum*、*Foeniculum vulgare*、*Fraxinus excelsior*、*Fucus vesiculosus*、*Fumaria officinalis*、*Galium odoratum*、*Gentiana lutea*、*Geranium robertianum*、*Ginkgo biloba*、*Glechoma hederacea*、*Glycyrrhiza glabra*、*Handroanthus impetiginosus*、*Harpagophytum procumbens*、*Hieracium pilosella*、*Humulus lupulus*、*Hypericum perforatum*、*Hyssopus officinalis*、*Illicium verum*、*Inula helenium*、*Juglans regia*、*Juniperus communis*、*Lamium album*、*Lavandula angustifolia*、*Levisticum officinale*、*Lippia citriodora*、*Lotus corniculatus*、*Lythrum salicaria*、*Malva sylvestris*、*Marrubium vulgare*、*Medicago sativa*、*Melissa officinalis*、*Mentha×piperita*、*Morus nigra*、*Myrtus communis*、*Olea europaea*、*Origanum majorana*、*Panax ginseng*、*Papaver rhoeas*、*Parietaria officinalis*、*Passiflora incarnata*、*Petroselinum crispum*、*Peumus boldus*、*Phaseolus vulgaris*、*Pimpinella anisum*、*Plantago lanceolata*、*Plantago ovata*、*Potentilla anserina*、*Quercus robur*、*Rhamnus frangula*、*Rheum palmatum*、*Rosa centifolia*、*Rosmarinus officinalis*、*Rubia tinctorum*、*Rubus ida*

eus, Salix alba, Salvia officinalis, Sambucus nigra, Satureja montana, Silyb
um marianum, Solanum dulcamara, Tabebuia impetiginosa, Tanacetum vulga
re, Taraxacum officinalis, Thymus serpyllum, Thymus vulgaris, Tilia toment
osa, Tilia cordata, Trigonella foenum—graecum, Tussilago farfara, Vacciniu
m myrtillus, Valeriana officinalis, Verbascum thapsus, Verbena officinalis,
Viscum album, Vitis vinifera var. tinctoria, Zea mays, および Zingiber officin
aleの中から選択される1つ以上の追加の乾燥植物をさらに含む、[22]に記載の薬草組
成物。

[24] [1] ~ [10] のいずれかに記載の抽出物、または [11] に記載の凍結乾
燥物を少なくとも1つの賦形剤と混合することを含む、[12] または [13] に記載の
フードサプリメント、栄養補助組成物、医薬組成物、動物用組成物もしくは化粧品組成物
、機能性食品、または食品添加物を調製するためのプロセス。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	36/87 (2006.01)	A 6 1 K	36/87
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 K	9/19 (2006.01)	A 6 1 K	9/19
A 2 3 L	33/105 (2016.01)	A 2 3 L	33/105

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

リュ・アンリ・エ・ジルベルト・グディエ 20-22 番、アルファノソス・ソシエテ・パール・アクション・サンプリフィエ

(72)発明者 ロール・ブルイユ

フランス 63200 リオン、ゾーヌ・アンデュストゥリエル・ラ・ヴァレンヌ - リュ・アンリ・エ・ジルベルト・グディエ 20-22 番、アルファノソス・ソシエテ・パール・アクション・サンプリフィエ

審査官 玉井 真人

(56)参考文献

特開平 10-265358 (JP, A)
 特開 2004-035425 (JP, A)
 国際公開第 1999/020289 (WO, A1)
 国際公開第 2009/031041 (WO, A2)
 特開 2005-052085 (JP, A)
 米国特許出願公開第 2010/0284985 (US, A1)
 米国特許出願公開第 2015/0056255 (US, A1)
 特開 2002-241299 (JP, A)
 Gastroeterol Clin Biol, 2007, Vol.31, pp.1041-1042

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB 名)

A 6 1 K 6/00-51/12
C 0 7 G 99/00
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)