

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-507070

(P2015-507070A)

(43) 公表日 平成27年3月5日(2015.3.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C08B 37/08 (2006.01)	C08B 37/08	4C083
C08B 37/10 (2006.01)	C08B 37/08 Z	4C086
A61K 8/73 (2006.01)	C08B 37/10	4C090
A61K 31/726 (2006.01)	A61K 8/73	4C206
A61K 31/727 (2006.01)	A61K 31/726	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2014-557055 (P2014-557055)
 (86) (22) 出願日 平成25年2月15日 (2013.2.15)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年10月15日 (2014.10.15)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2013/053087
 (87) 国際公開番号 W02013/121001
 (87) 国際公開日 平成25年8月22日 (2013.8.22)
 (31) 優先権主張番号 P201230247
 (32) 優先日 平成24年2月17日 (2012.2.17)
 (33) 優先権主張国 スペイン (ES)

(71) 出願人 514209009
 キムフレクサー エセ. エレ.
 スペイン国 エー08303 マタロ,
 セーアー24, アヴェニーダ ブッジ
 イ カダファルク, 48, キムフレク
 サー エセ. エレ.
 (74) 代理人 100109726
 弁理士 園田 吉隆
 (74) 代理人 100101199
 弁理士 小林 義教

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 部分的に解重合したグリコサミノグリカン銀及び金塩

(57) 【要約】

本発明は、金属が金又は銀である部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩の調製方法であって、以下の工程：a) 金属が金又は銀とは異なる高分子量グリコサミノグリカン金属塩を、過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素からなる群から選択される解重合剤を用いて解重合する工程と；b) 過酸化水素を用いて漂白する工程と；c) 金属イオン交換する工程とを含む調製方法に関する。本発明はまた、前記方法により得られる部分的に解重合したグリコサミノグリカン金又は銀塩、その経口又は局所薬学的又は化粧品用組成物、創傷、瘢痕、熱傷、皮膚の微生物感染症及び炎症性プロセスを治療及び/又は予防するためのその薬学的使用、並びに皮膚ケアへのその化粧品学的使用に関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

金属が金又は銀である部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩の調製方法であって、以下の工程：

a) 金属が金又は銀とは異なる高分子量グリコサミノグリカン金属塩を、過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素からなる群から選択される解重合剤を用いて解重合する工程と；

b) 前の工程で得られた生成物を過酸化水素を用いて漂白する工程と；

c) 金又は銀の供給源を使用することにより、前の工程で得られた生成物を金又は銀について金属イオン交換する工程と

を含む調製方法。

10

【請求項 2】

前記工程 a) で得られた生成物を、過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素からなる群から選択される解重合剤を用いて解重合する工程 a') を更に含み、但し、前記解重合剤は前記工程 a) で使用されるものとは異なる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記工程 a') で得られた生成物を、過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素からなる群から選択される解重合剤を用いて解重合する工程 a'') を更に含み、但し、前記解重合剤は前記工程 a) 及び a') で使用されるものとは異なる、請求項 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記工程 a) の前記解重合剤が過マンガン酸カリウムであり、前記工程 a') の前記解重合剤が水酸化ナトリウムであり、前記工程 a'') の前記解重合剤が過酸化水素である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記工程 a) の前記高分子量グリコサミノグリカン金属塩が、10000～50000 ダルトンからなる分子量を有するコンドロイチン硫酸ナトリウム、及び50000～250000 ダルトンからなる分子量を有するヒアルロン酸ナトリウムからなる群から選択される、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記過マンガン酸カリウムの量が、前記高分子量グリコサミノグリカン金属塩の重量の5～30重量%からなる、請求項 3 から 5 の何れか一項に記載の方法。

30

【請求項 7】

過マンガン酸カリウムを用いた前記解重合が、7～10からなるpH、60～95からなる温度及び0.5～2時間からなる期間で行われる、請求項 3 から 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 8】

水酸化ナトリウムを用いた前記解重合が、前記高分子量グリコサミノグリカン金属塩の重量の10～20重量%からなる量で塩化ナトリウムの存在下で行われる、請求項 3 から 7 の何れか一項に記載の方法。

40

【請求項 9】

水酸化ナトリウムを用いた前記解重合が、35～55からなる温度、8～11からなるpH、及び6～15時間からなる期間で行われる、請求項 3 から 8 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 10】

過酸化水素を用いた前記解重合で、前記過酸化水素の量が前記高分子量グリコサミノグリカン金属塩の重量の5～25重量%からなる、請求項 3 から 9 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 11】

水酸化ナトリウムを用いた前記解重合が、20～35からなる温度及び9～11から

50

なる pHで行われる、請求項 3 から 10 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記工程 b) の前記過酸化水素の量が前記高分子量グリコサミノグリカン金属塩の重量の 45 ~ 60 重量%で構成され、前記反応が 5.0 ~ 7.5 からなる pHで行われる、請求項 1 から 11 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記工程 c) の前記金又は銀の供給源の量が、前記高分子量グリコサミノグリカン金属塩に関して化学量論的である、請求項 1 から 12 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 14】

請求項 1 から 13 の何れか一項に記載の調製方法により得られる、金属が金又は銀である部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩。

10

【請求項 15】

金属が銀である、請求項 14 に記載のグリコサミノグリカン金属塩。

【請求項 16】

金属が金である、請求項 14 に記載のグリコサミノグリカン金属塩。

【請求項 17】

グリコサミノグリカンが、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸及びデルマトン硫酸からなる群から選択される、請求項 14 から 16 の何れか一項に記載のグリコサミノグリカン金属塩。

【請求項 18】

金属が銀であり、グリコサミノグリカンがコンドロイチン硫酸及びヒアルロン酸からなる群から選択される、請求項 14 に記載のグリコサミノグリカン金属塩。

20

【請求項 19】

金属が金であり、グリコサミノグリカンがコンドロイチン硫酸及びヒアルロン酸からなる群から選択される、請求項 14 に記載のグリコサミノグリカン金属塩。

【請求項 20】

1 種又は複数の薬学的に又は化粧品学的に許容される賦形剤又は担体と共に請求項 14 から 19 の何れか一項に記載の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩の有効量を含む薬学的又は化粧品用組成物。

【請求項 21】

経口組成物である、請求項 20 に記載の薬学的又は化粧品用組成物。

30

【請求項 22】

局所組成物である、請求項 20 に記載の薬学的又は化粧品用組成物。

【請求項 23】

粉末又はヒドロゲル形態の、請求項 22 に記載の局所薬学的又は化粧品用組成物。

【請求項 24】

アルギニンを更に含む、請求項 20 から 23 の何れか一項に記載の薬学的又は化粧品用組成物。

【請求項 25】

創傷、癒痕及び熱傷の治療に使用するための請求項 14 から 19 の何れか一項に記載の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩。

40

【請求項 26】

皮膚の微生物感染症及び炎症性プロセスの治療及び / 又は予防に使用するための請求項 14 から 19 の何れか一項に記載の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩。

【請求項 27】

前記皮膚の炎症性プロセスがざ瘡又は乾癬である、請求項 26 に記載の使用のための部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩。

【請求項 28】

皮膚ケアのための、請求項 22 から 24 の何れか一項に記載の局所化粧品組成物の使用

50

【請求項 29】

前記皮膚ケアが、次の症状：肌荒れ、カサカサ肌、つっぱり、皮膚の乾燥、あかぎれ、弾力欠如及び老化の少なくとも1つの改善を含む、請求項28に記載の使用。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、薬学及び化粧品分野に関し、特に、本発明は部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩に関する。本発明はまた、前記塩の調製方法、これらを含む経口及び局所医薬及び化粧品組成物、並びにこれらの薬学的及び化粧学的使用に関する。

【背景技術】

10

【0002】

貴金属の抗菌剤としての使用、特に単純銀塩の主に表在性感染症、特に病原体の予防及び局所治療への使用が知られている。しかしながら、銀塩の施用は、貯蔵困難性及びノ又は色の暗化（これはかなりの審美的欠点であり、その化粧学的及び医学的施用を限定する）をもたらす固有の構造不安定性及びノ又は光感受性のために限定されてきた。

【0003】

様々な金属の中でとりわけ銀グリコサミノグリカン誘導体も知られている。例えば、文献米国特許出願公開第2010317617号明細書は、銀ナノ粒子が周囲のグリコサミノグリカンマトリックス中に埋め込まれている、グリコサミノグリカン又はグルコースと結合した銀ナノ粒子を含む複合材料を記載している。前記ナノ粒子を、創傷又は熱傷への局所施用による抗菌剤として、及びコーティングプラスチック、カテーテル又は外科用器具のためにも使用することができる。

20

【0004】

文献国際公開第8705517号パンフレットは、微生物増殖の阻害に使用するためのヒアルロン酸の重金属塩（銀、金、セリウム及びタングステンを含む）を記載している。

【0005】

最後に、コンドロイチン硫酸銀を熱傷の治療に使用することができることが文献中国特許第1687141号明細書からも知られている。この文献に記載されている塩中の銀含量は19~33%であり、ナトリウム含量は0.5%未満であり、硝酸塩含量は100 ppm未満である。更に、文献欧州特許第1878754号明細書は、ヘパリン銀塩の使用及び熱傷の治療へのその使用を記載している。この文献に記載されている塩中の銀含量は25~45%であり、ナトリウム含量は2.5%未満であり、硝酸塩含量は0.1%未満である。

30

【0006】

しかしながら、前文献に記載されているグリコサミノグリカン銀及び金誘導体は、適当な光安定性を有さない。そのため、安定であり、高い抗菌活性を有するグリコサミノグリカン由来の生成物を見出すことが必要である。

【発明の概要】**【0007】**

本発明者らは、化学解重合、漂白及びイオン交換工程を含む本発明の方法により得られる部分的に解重合したグリコサミノグリカン（GAG）金属塩が、他の類似の高分子量非解重合塩とは異なり、良好な抗菌活性及び感光した場合に安定であることを発見した。

40

【0008】

本発明の塩の安定性のこの改善は、本発明の方法により調製した部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀の光安定性を、例えば、文献中国特許第1687141号明細書に記載されているものなどの非解重合コンドロイチン硫酸銀と比較する実施例で証明される。この結果は、部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀が、非解重合生成物とは異なり環境光への露光下で安定であることを示している。

【0009】

更に、本発明の塩の局所施用は、例えば、硝酸銀などの他の既知の銀塩の有害効果を有

50

さず、更に、実施例で証明されるように、既存の熱傷の治療にも有用である。したがって、硝酸銀の使用は、皮膚に施用すると、刺激、搔痒感及び灼熱感をもたらすが、本発明の部分的に解重合したグリコサミノグリカン塩の局所施用は、硝酸銀により引き起こされた熱傷を治癒するのに有用である。

【0010】

更に、本発明の部分的に解重合したグリコサミノグリカン塩はまた、特に、非解重合生成物に対して低い粘度を有し、結果として、優れた吸収を有するという利点も有する。前記優れた吸収により、生成物の高い有効性をもたらされ、結果として必要とされる生成物の用量を減少させることができるだろう。

【0011】

本発明の部分的に解重合したグリコサミノグリカン塩を、その調製方法により定義することができる。塩とその調製方法の両方が、本発明の一部と考えられ、以下に詳細に説明される。

【0012】

そのため、本発明の一態様は、金属が金又は銀である部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩の調製方法であって、以下の工程：

a) 金属が金又は銀とは異なる高分子量グリコサミノグリカン金属塩を、過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素からなる群から選択される解重合剤を用いて解重合する工程と；

b) 前の工程で得られた生成物を過酸化水素を用いて漂白する工程と；

c) 金又は銀の供給源を使用することにより、前の工程で得られた生成物を金又は銀について金属イオン交換する工程と

を含む調製方法に関する。

【0013】

出発高分子量グリコサミノグリカン金属塩は、商業的に入手可能である、又は例えば、GAGの最高濃度を見出すことができる軟骨組織からの有機組織の抽出及び精製法により得ることができる。これらは、ウシ、ブタの気管、ニワトリ、アヒル、ウシもしくはブタの鼻、ウシの肩甲骨、トリの足、サメのヒレ - 頭部 - 脊椎 - 尾、ブタもしくはウシの腸管粘膜（ヘパリンの場合）、ニワトリのトサカ及びブタの皮膚であり得る。GAGの他の可能な供給源は、目、静脈、臍帯等である。高分子量グリコサミノグリカン金属塩の前記抽出及び精製法は、当業者に周知である。

【0014】

高分子量グリコサミノグリカン塩の金属は金及び銀とは異なり、ナトリウム、カリウム、カルシウム、亜鉛、マグネシウム、鉄、中でも好ましくはナトリウムであり得る。グリコサミノグリカンは、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマタン硫酸、ケラタン硫酸、ヘパリン又はヘパラン硫酸、好ましくはコンドロイチン硫酸又はヒアルロン酸であり得る。好ましい実施態様では、高分子量グリコサミノグリカン金属塩は、コンドロイチン硫酸ナトリウム及びヒアルロン酸ナトリウムからなる群から選択される。

【0015】

「高分子量グリコサミノグリカン」という表現は、いかなる解重合法も受けていない精製グリコサミノグリカンを指す。本発明の目的のために、「高分子量グリコサミノグリカン」及び「非解重合グリコサミノグリカン」という表現は互換的に使用される。

【0016】

高分子量グリコサミノグリカン金属塩の分子量は、使用するグリコサミノグリカンの種類及び金属の種類に依存する。例えば、出発グリコサミノグリカンがコンドロイチン硫酸である場合、非解重合塩の分子量は10000～50000ダルトンで構成され；出発グリコサミノグリカンがヒアルロン酸である場合、非解重合塩の分子量は50000～2500000ダルトンで構成され；出発グリコサミノグリカンがデルマタン硫酸である場合、非解重合塩の分子量は20000～30000ダルトンで構成され；出発グリコサミノグリカンがケラタン硫酸である場合、非解重合塩の分子量は5000～10000ダルト

10

20

30

40

50

ンで構成され；出発グリコサミノグリカンがヘパリン又はヘパランである場合、非解重合塩の分子量は3000～30000ダルトンからなる。

【0017】

好ましい実施態様では、高分子量グリコサミノグリカン金属塩は、10000～50000ダルトンからなる分子量を有するコンドロイチン硫酸ナトリウム、又は50000～250000ダルトンからなる分子量を有するヒアルロン酸ナトリウムである。

【0018】

本発明の解重合法は、解重合剤が過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素から選択される少なくとも1つの解重合工程と；1つの漂白工程と；1つの金属イオン交換工程とを含む。これらの工程は連続的に又はこれらの各々の後に行うことができ、生成物の単離を含むことができる精製工程を場合により行うことができる。

10

【0019】

本発明の方法は、2つ以上の解重合工程を含んでもよい。特に、本発明の方法は、1つ、2つ又は3つの解重合工程を含んでもよく、各解重合工程の解重合剤は過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素から選択され、但し、本方法が2つ以上の解重合工程を含む場合、異なる解重合剤が各工程で使用される。

【0020】

したがって、特定の実施態様では、本発明の方法は、工程a)で得られた生成物を、過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素からなる群から選択される解重合剤を用いて解重合する工程a')を更に含み、但し、解重合剤は工程a)で使用されるものとは異なる。より具体的には、本発明の方法は、工程a')で得られた生成物を、過マンガン酸カリウム、水酸化ナトリウム及び過酸化水素からなる群から選択される解重合剤を用いて解重合する工程a'')を更に含み、但し、解重合剤は工程a)及びa')で使用されるものとは異なる。

20

【0021】

好ましくは、工程a)の解重合剤は過マンガン酸カリウムであり、工程a')の解重合剤は水酸化ナトリウムであり、工程a'')の解重合剤は過酸化水素である。したがって、好ましい実施態様では、本発明の方法は、

a) 金属が金又は銀とは異なる高分子量グリコサミノグリカン金属塩を、過マンガン酸カリウムを用いて解重合する工程と；

30

a') 工程a)の生成物を水酸化ナトリウムを用いて解重合する工程と；

a'') 工程a')の生成物を過酸化水素を用いて解重合する工程と；

b) 前の工程で得られた生成物を過酸化水素を用いて漂白する工程と；

c) 金又は銀の供給源を使用することにより、前の工程で得られた生成物を金又は銀について金属イオン交換する工程とを含む。

【0022】

上記3つの工程を含む解重合法の利点は、この方法が分解することなく非解重合生成物の特性を維持した生成物をもたらす、すなわち、解重合生成物が、例えば、保湿及び抗炎症特性、創傷治癒、抗凝固、骨関節症/骨粗鬆症の対症療法などの特性を維持していることである。

40

【0023】

本発明は特に、上記3つの工程を含む化学解重合に関するが、解重合は他の酸化法を通して又はコンドロイチナーゼ、ヒアルロニダーゼ、ヘパリナーゼなどの各グリコサミノグリカンに特異的な酵素を用いて行うこともできるだろう。

【0024】

過マンガン酸カリウムを用いた解重合工程は、金属が金又は銀とは異なる高分子量グリコサミノグリカン塩又は部分的に解重合したグリコサミノグリカン塩を適当な溶媒、好ましくは水中で反応させる工程を含む。

【0025】

50

好ましい実施態様では、過マンガン酸カリウムの量は、出発非解重合グリコサミノグリカン塩の重量の5～30重量%、より好ましくは10～25重量%、より好ましくは20重量%からなる。別の好ましい実施態様では、この反応は、7～10、より好ましくは8～9からなり、より好ましくは8.5のpHで行われる。別の好ましい実施態様では、反応は、好ましくは60～95、より好ましくは70～95からなり、より好ましくは80の温度で加熱することにより行われる。別の好ましい実施態様では、反応は、好ましくは0.5～2時間からなり、より好ましくは1時間の適当な期間行われる。

【0026】

場合により、過マンガン酸カリウムを用いた解重合工程後に得られた溶液を濾過して固体不純物を除去することができる。

10

【0027】

水酸化ナトリウムを用いた解重合工程は、高分子量グリコサミノグリカン塩又は部分的に解重合したグリコサミノグリカン塩を適当な溶媒、好ましくは水中で反応させる工程を含む。

【0028】

特定の実施態様では、使用する水酸化ナトリウムは、好ましくは30%（重量/体積）の水溶液である。別の好ましい実施態様では、水酸化ナトリウムの量は、pHを8～11、より好ましくは9～11からなる値に調整するのに必要な量である。

【0029】

好ましい実施態様では、水酸化ナトリウムを用いた解重合工程は、塩化ナトリウム又はカリウムなどの無機塩の存在下で行われる。より好ましい実施態様では、無機塩は塩化ナトリウムである。より好ましい実施態様では、塩化ナトリウムの量は、出発非解重合グリコサミノグリカン塩の重量の10～20重量%、より好ましくは13～17重量%、より好ましくは15重量%からなる。別の好ましい実施態様では、反応は、好ましくは35～55、より好ましくは40～50からなり、より好ましくは45の温度で加熱することにより行われる。別の好ましい実施態様では、反応は、6～15時間、より好ましくは10～12時間からなる期間行われる。

20

【0030】

過酸化水素を用いた解重合工程は、高分子量グリコサミノグリカン塩又は部分的に解重合したグリコサミノグリカン塩を適当な溶媒、好ましくは水中で反応させる工程を含む。

30

【0031】

好ましい実施態様では、本発明の方法は、以下の3つの解重合工程：a) 金属が金又は銀とは異なる高分子量グリコサミノグリカン金属塩を、過マンガン酸カリウムを用いて解重合する工程と；a') 工程a)の生成物を水酸化ナトリウムを用いて解重合する工程と；a'') 工程a')の生成物を過酸化水素を用いて解重合する工程とを含む。これらの解重合工程法は、前記の条件で行うことができる。工程a)の生成物を単離せず、生成物が溶液中にある場合、必要に応じてpHを調整して、工程a')を工程a)と同じ溶媒中に行ってもよい。工程a')の生成物を単離せず、生成物が溶液中にある場合、必要に応じてpHを調整して、工程a'')を工程a')と同じ溶媒中に行ってもよい。

40

【0032】

好ましい実施態様では、解重合工程の過酸化水素の量は、出発非解重合グリコサミノグリカン塩の重量の5～25重量%、より好ましくは10～20重量%、より好ましくは15重量%からなる。別の好ましい実施態様では、この反応は、9～11、より好ましくは10～11からなるpHで行われる。別の好ましい実施態様では、反応は、適当な温度、好ましくは20～35、より好ましくは25～30で行われる。特定の実施態様では、反応は、0.5～2時間、より好ましくは1～2時間からなる期間行われる。

【0033】

工程a)、a')又はa'')の解重合生成物を、場合により漂白工程の前に精製することができる。前記精製は、前の工程で得られた溶液を濾過して固体不純物を除去することを含んでもよい。更に又はあるいは、精製は、有機溶媒を使用した生成物の沈殿及び生

50

成物の単離を含んでもよい。好ましい実施態様では、沈殿は、5.0～7.5、より好ましくは5.5～6.0からなるpHで行われる。pHの調整は、例えば、酢酸、塩酸又は硫酸のような酸を添加することにより行うことができる。有機溶媒は、中でも、メタノール、エタノール、アセトン又はこれらの混合物であり得る。部分的に解重合したグリコサミノグリカン金又は銀塩の単離は、例えば、濾過、遠心分離又はデカンテーションにより行うことができる。特定の実施態様では、塩の沈殿のために使用する有機溶媒は、エタノール又はメタノールである。

【0034】

漂白工程は、前の工程で得られた生成物を適当な溶媒、好ましくは水中で過酸化水素と反応させることにより行われる。前の工程の生成物を単離せず、生成物が溶液中にある場合、必要に応じてpHを調整して、工程b)を前の工程と同じ溶媒中で行ってもよい。

10

【0035】

好ましい実施態様では、漂白工程の過酸化水素の量は、出発非解重合グリコサミノグリカン塩の重量の45～60重量%、より好ましくは50～60重量%、より好ましくは50重量%からなる。別の好ましい実施態様では、この反応は、5.0～7.5、より好ましくは5.5～6.0からなるpHで行われる。特定の実施態様では、反応は、適当な温度、好ましくは20～45、より好ましくは30～45で行われる。別の特定の実施態様では、反応は、5～15分、より好ましくは10～15分からなる期間行われる。

【0036】

イオン交換工程は、工程b)で得られた生成物を適当な溶媒、好ましくは水中で金又は銀の供給源と反応させることにより行われる。好ましい実施態様では、反応は、例えば、露光などの、銀又は金の酸化を防ぐ条件下で行われる。工程b)の生成物を単離せず、生成物が溶液中にある場合、工程c)を工程b)と同じ溶媒中に行ってもよい。

20

【0037】

イオン交換工程は、溶液中で又はイオン交換樹脂を使用して行うことができる。好ましい実施態様では、イオン交換は溶液中で行われる。イオン交換が行われる溶媒に可溶性の任意の金又は銀塩を、金又は銀の供給源として使用することができる。特定の実施態様では、銀塩は硝酸銀であり、金塩は塩化金である。好ましい実施態様では、イオン交換を行うための金又は銀の供給源の量は、出発高分子量グリコサミノグリカン塩中の金属イオン（例えば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム又は亜鉛）の含量、及び工程c)に使用する金又は銀塩中の金又は銀の含量を考慮することにより計算される。好ましい実施態様では、工程c)の金又は銀の供給源の量は、高分子量グリコサミノグリカン金属塩に関して化学量論的である。そのため、この場合、出発高分子量グリコサミノグリカン金属塩中の金属含量(%)は既知のはずである。

30

【0038】

例えば、6%のナトリウムを含有するコンドロイチン硫酸ナトリウム(NaCS)2.5g及び硝酸銀からコンドロイチン硫酸銀(AgCS)を調製する場合、計算は以下のようになされるだろう：

使用するNaCS中のNa%：6%

交換に必要なAg%：6%

AgNO₃中のAg%：63%

40

$$2.5 \text{ g (NaCS)} * 0.06 \text{ g (Naの)} = 0.24 \text{ g AgNO}_3$$

$$0.63 \text{ g}$$

【0039】

また、6%のナトリウムを含有するコンドロイチン硫酸ナトリウム(NaCS)2.5g及び塩化金からコンドロイチン硫酸金(AuCS)を調製する場合、計算は以下のようになされるだろう：

交換に必要な Au % : 6 %

塩化金中の Au : 49 %

$2.5 \text{ g (NaCS)} * 0.06 \text{ g (Naの)} = 0.31 \text{ g 塩化金}$

0.49 g

【0040】

他の金もしくは銀塩又は他のグリコサミノグリカンを使用する場合も、計算は同様になされるだろう。

【0041】

工程 c) の生成物の場合により精製することができる。前記精製は、工程 c) で得られた溶液を濾過して固体不純物を除去することを含んでもよい。更に又はあるいは、精製は、前記のように有機溶媒を使用した生成物の沈殿及び生成物の単離を含んでもよい。

10

【0042】

場合により精製した工程 c) の生成物を、銀又は金の酸化を防ぐ条件下、例えば、露光を回避して乾燥及び包装することができる。

【0043】

部分的に解重合したグリコサミノグリカン金又は銀塩の調製方法を行うための具体的な条件に関して、当業者であれば、本発明の説明及び実施例に照らして前に示した方法の工程の各々のパラメータをどのように調整するか分かるだろう。

20

【0044】

更に、本発明はまた、上記方法により得られる生成物に関する。したがって、本発明の別の態様は、前に定義される工程 a)、b) 及び c) を含む調製方法により得られる、金属が金又は銀ではない部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩に関する。

【0045】

本発明の「方法により得られる」部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩という表現は、本明細書において、部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩をその調製方法によって定義するために使用され、前に定義される工程 a)、b) 及び c) を含む調製方法を通して得ることができる生成物を指す。本発明の目的のために、「得られる」、「得られた」という表現及び類似の等価の表現は、互換的に使用され、いずれにせよ、「得られる」という表現は「得られた」という表現を包含する。

30

【0046】

グリコサミノグリカン (GAG) は、酸性糖及びアミノ糖を含む二糖の1単位の反復を含有する、分枝を含まない多糖である。アミノ糖は D - グルコサミン (Glc) 又は D - ガラクトサミン (Gal) であってもよく、アミノ基がアセチル化されていてもよく (Nac)、4 もしくは 6 炭素又は非アセチル化窒素に硫酸基を有することもできる。酸性糖は D - グルクロン酸 (GlcUA)、L - イズロン酸 (IdUA) 又はガラクトース (Gal) であり得る。

【0047】

グリコサミノグリカンの例としては、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ケラタン硫酸、デルマタン硫酸及びヘパラン硫酸が挙げられる。

40

【0048】

コンドロイチン硫酸 (CS) は、N - アセチルガラクトサミン (GalNac) 及びグルクロン酸 (GlcUA) 二糖を含むグリコサミノグリカンである。N - アセチルガラクトサミンの 4 位及び 6 位の水酸基が硫酸化されて 2 種の異性体：コンドロイチン 4 - 硫酸及びコンドロイチン 6 - 硫酸をもたらすことができる。

【0049】

ヒアルロン酸 (HA) は、N - アセチルグルコサミン (GlcNac) 及びグルクロン酸 (GlcUA) 二糖を含むグリコサミノグリカンである。

【0050】

50

ヘパリンは、グルクロン酸 (G l c U A) もしくは L - イズロン酸 (I d U A) 及び N - アセチルグルコサミン (G l c N a c) 二糖を含むグリコサミノグリカンである。ヘパラン硫酸は、ヘパリンのものと類似の1つの二糖反復単位を含有するが、N - アセチル基が多く、N - 硫酸基が少なく、低い程度の O - 硫酸基を含有する。

【 0 0 5 1 】

ケラタン硫酸 (K S) は、ガラクトース (G a l) 及び N - アセチルグルコサミン (G l c N a c) 二糖を含むグリコサミノグリカンである。硫酸の含量は可変であり、硫酸エステルはガラクトースとヘキソサミンの両方の6炭素に存在することができる。2種の異なる型のケラタン、角膜から単離されたケラタン硫酸 I、及び軟骨から単離されたケラタン硫酸 I I が知られている。

10

【 0 0 5 2 】

デルマタン硫酸 (D S) は、L - イズロン酸 (I d U A) 及び N - アセチルガラクトサミン (G a l N a c) 二糖を含むグリコサミノグリカンである。

【 0 0 5 3 】

本発明で使用する「部分的に解重合したグリコサミノグリカン」という表現は、解重合法に供されて、結果として解重合から得られた生成物の分子量が出発生成物の分子量よりも低くなったグリコサミノグリカンを指す。好ましくは、「部分的に解重合したグリコサミノグリカン」という表現は、少なくとも上記の工程 a) を含む解重合法に供されたグリコサミノグリカンを指す。例えば、コンドロイチン硫酸の場合、高分子量コンドロイチン硫酸塩の分子量は 1 0 0 0 0 ~ 5 0 0 0 0 ダルトンからなる一方で、出発化合物の分子量 20 に対応して及び部分的に解重合した生成物の分子量が非解重合生成物の分子量よりも常に低いことを考慮して、本発明の部分的に解重合したコンドロイチン硫酸金又は銀塩は 5 0 0 0 ~ 2 5 0 0 0 ダルトンからなる分子量を有する。例えば、ヒアルロン酸の場合、高分子量ヒアルロン酸塩の分子量は 5 0 0 0 0 ~ 2 5 0 0 0 0 0 ダルトンからなる一方で、出発化合物の分子量に対応して及び部分的に解重合した生成物の分子量が非解重合生成物の分子量よりも常に低いことを考慮して、本発明の部分的に解重合したヒアルロン酸金又は銀は 5 0 0 0 ~ 5 0 0 0 0 0 ダルトンからなる分子量を有する。

20

【 0 0 5 4 】

好ましい実施態様では、部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩のグリコサミノグリカンは、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸及びデルマタン硫酸からなる群から選択される。より好ましい実施態様では、グリコサミノグリカンは、コンドロイチン硫酸又はヒアルロン酸である。

30

【 0 0 5 5 】

好ましい実施態様では、本発明は、部分的に解重合したグリコサミノグリカン銀塩に関する。より好ましい実施態様では、グリコサミノグリカンは、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸及びデルマタン硫酸からなる群から選択される。更により好ましい実施態様では、グリコサミノグリカンは、コンドロイチン硫酸及びヒアルロン酸からなる群から選択される。

【 0 0 5 6 】

別の好ましい実施態様では、本発明は、部分的に解重合したグリコサミノグリカン金塩に関する。より好ましい実施態様では、グリコサミノグリカンは、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸及びデルマタン硫酸からなる群から選択される。更により好ましい実施態様では、グリコサミノグリカンは、コンドロイチン硫酸及びヒアルロン酸からなる群から選択される。

40

【 0 0 5 7 】

別の好ましい実施態様では、部分的に解重合したグリコサミノグリカン銀塩中の銀重量含量は、2 ~ 1 0 % からなる。

【 0 0 5 8 】

別の好ましい実施態様では、部分的に解重合したグリコサミノグリカン金塩中の金重量含量は、2 ~ 8 % からなる。

50

【0059】

別の好ましい実施態様では、本発明は、 $-12.0^{\circ} \sim -30.0^{\circ}$ ；より好ましくは $-12.0^{\circ} \sim -20.0^{\circ}$ 、 $-20.0^{\circ} \sim -30.0^{\circ}$ 又は $-15.0^{\circ} \sim -25.0^{\circ}$ からなる比旋光度、 $6 \sim 10\%$ からなる銀重量含量、 $5000 \sim 25000$ ダルトンからなる分子量及び1重量%で水に溶解すると $5.5 \sim 7.5$ からなるpHを特徴とするコンドロイチン硫酸銀に関する。

【0060】

別の好ましい実施態様では、本発明は、 $-12.0^{\circ} \sim -30.0^{\circ}$ ；より好ましくは $-12.0^{\circ} \sim -20.0^{\circ}$ 、 $-20.0^{\circ} \sim -30.0^{\circ}$ 又は $-15.0^{\circ} \sim -25.0^{\circ}$ からなる比旋光度、 $6 \sim 10\%$ からなる金重量含量、 $5000 \sim 25000$ ダルトンからなる分子量及び1重量%で水に溶解すると $5.5 \sim 7.5$ からなるpHを特徴とするコンドロイチン硫酸金に関する。

10

【0061】

別の好ましい実施態様では、本発明は、 $2 \sim 8\%$ からなる銀重量含量、 $5000 \sim 50000$ ダルトンからなる分子量及び1重量%で水に溶解すると $5.0 \sim 8.0$ からなるpHを特徴とするヒアルロン酸銀に関する。

【0062】

別の好ましい実施態様では、本発明は、 $2 \sim 8\%$ からなる金重量含量、 $5000 \sim 50000$ ダルトンからなる分子量及び1重量%で水に溶解すると $5.0 \sim 8.0$ からなるpHを特徴とするヒアルロン酸金に関する。

20

【0063】

本発明の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩は、薬学的又は化粧品用組成物の一部を形成し得る。したがって、本発明の別の態様は、1種又は複数の薬学的に又は化粧品学的に許容される賦形剤又は担体と共に有効量の上に定義される部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩を含む薬学的又は化粧品用組成物に関する。

【0064】

特定の実施態様では、本発明の薬学的又は化粧品用組成物は経口組成物である。

【0065】

好ましい実施態様では、本発明の薬学的又は化粧品用組成物は局所組成物である。

【0066】

特定の実施態様では、組成物はアルギニンを更に含む。別の特定の実施態様では、組成物は、1種又は複数の賦形剤又は担体と共に有効量の上に定義される部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩からなる。別の特定の実施態様では、組成物は、1種又は複数の賦形剤又は担体と共に有効量の上に定義される部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩及びアルギニンからなる。

30

【0067】

本明細書で使用する「有効量」という表現は、その施用後に化粧品学的又は治療効果を提供する生成物の量に関する。治療効果を提供する有効量（ここでは治療上有効量とも言及する）は、投与すると、向けられた疾患の症状の1つ又は複数の発症を予防する又はある程度軽減するのに十分な化合物の量である。本発明により投与される化合物の具体的な用量は、投与化合物、投与経路、治療する具体的な状態及び類似の考慮点を含む、症例を取り囲む具体的な状態に応じて変化し得る。

40

【0068】

「薬学的に許容される賦形剤又は担体」という表現は、賦形剤又は担体が薬学的又は医学的使用のための組成物を調製するのに適していることを意味する。各成分は、医薬組成物の他の成分と適合性であるという意味で薬学的に許容されなければならない。各成分はまた、合理的リスク/ベネフィット関係と調和して、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、免疫原性又は他の問題もしくは合併症なしにヒト及び動物の組織又は器官と接触して使用するのに適していなければならない。

【0069】

50

「化粧学的に許容される賦形剤又は担体」という表現は、賦形剤又は担体が化粧学的使用のための組成物を調製するのに適していることを意味する。各成分は、化粧料組成物の他の成分と適合性であるという意味で化粧学的に許容されなければならない。各成分はまた、合理的リスク/ベネフィット関係と調和して、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、免疫原性又は他の問題もしくは合併症なしにヒト及び動物の組織又は器官と接触して使用するのに適していなければならない。

【0070】

本発明の局所製剤は、皮膚に直接、又は他の方法により施用、例えば、温度及び/又は圧力に感受性のマトリックス、フィルム又は体液に可溶性の固体ビヒクルなどにカプセル化することができる。

10

【0071】

局所組成物の例としては、クリーム、ゲル、ヒドロゲル、包帯剤、シャンプー、染料、ペースト、軟膏、ポマード、粉末、液体もしくは半液体製剤及び類似の組成物が挙げられる。前記組成物の施用は、エアロゾルによって、例えば、噴射剤を用いて、もしくはポンプ噴霧器の場合など噴射剤を用いずに、又は液滴、ローションの形態もしくは半固体として行ってもよい。更に、適当な量の有効成分を含有した硬膏、包帯、ガーゼパッド及び類似の被覆を使用してもよい。特定の実施態様では、局所組成物は粉末又はヒドロゲル形態である。

【0072】

特定の実施態様では、局所組成物は、1種又は複数の薬学的に許容される賦形剤又は担体と共に有効量の前に定義される部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩を含む医薬組成物である。

20

【0073】

別の特定の実施態様では、局所組成物は、1種又は複数の化粧学的に許容される賦形剤又は担体と共に有効量の前に定義される部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩を含む化粧料組成物である。

【0074】

上に定義される局所組成物は、保湿剤、皮膚軟化薬、乳化剤、増粘剤、湿潤剤、pH調整剤、抗酸化剤、保存料又はこれらの混合物を含む、局所投与に適当な医薬又は化粧料賦形剤又は担体を含む。使用する賦形剤又は担体は、皮膚に対する親和性を有し、相容性が良好で、安定であり、所望の稠度及び施用の容易さをもたらすのに適した量で使用される。

30

【0075】

本発明は特に局所及び経口製剤に関するが、頬側、耳、目、眼科用及び注射用投与などの上記の塩の他の施用も本発明の一部を形成する。更に、本発明はまた、医療器具に適用するため又はコーティング組成物に組み込むための上記の塩の組成物に関する。

【0076】

本発明の塩は、創傷、瘢痕及び熱傷の治療に有用である。これらの塩はまた、皮膚の微生物感染症及び炎症性プロセス（例えば、ざ瘡及び乾癬など）の治療及び/又は予防に有用である。

40

【0077】

そのため、本発明の別の態様は、創傷、瘢痕及び熱傷を治療するための医薬品を調製するための上記の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩の使用に関する。前記態様は、創傷、瘢痕及び熱傷の治療に使用するための上記の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩として製剤化することもできる。薬学的に許容される賦形剤又は担体と共に治療上有効量の上記の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩をヒトを含む患者に投与する工程を含む、創傷、瘢痕及び熱傷を治療する方法も本発明の一部である。

【0078】

本発明の別の態様は、皮膚の微生物感染症及び炎症性プロセス（ざ瘡及び乾癬を含む）を治療及び/又は予防するための医薬品を調製するための上記の部分的に解重合したグリ

50

コサミノグリカン金属塩の使用に関する。前記態様は、皮膚の微生物感染症及び炎症性プロセス（ざ瘡及び乾癬を含む）の治療及び／又は予防に使用するための上記の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩として製剤化することもできる。薬学的に許容される賦形剤又は担体と共に治療上有効量の上記の部分的に解重合したグリコサミノグリカン金属塩をヒトを含む患者に投与する工程を含む、皮膚の微生物感染症及び炎症性プロセス（ざ瘡及び乾癬を含む）を治療及び／又は予防する方法も本発明の一部である。

【0079】

本発明の塩はまた、特に、保湿剤及び皮膚再生剤として、皮膚ケアのための化粧品分野で有用である。特定の実施態様では、皮膚ケアは、以下の症状の少なくとも1つの改善を含む：肌荒れ（roughness）、カサカサ肌（flakiness）、つっぱり（tightness）、皮膚の乾燥（dryness）、あかぎれ（chapping）、弾力欠如及び老化。

10

【0080】

特定の実施態様では、本発明の塩は、上に示される薬学的及び化粧品学的使用にアルギニンと共に使用される。

【0081】

明細書及び特許請求の範囲の全体にわたって、「含む」という単語及びこの単語の変形は、他の技術的特徴、添加剤、成分又は工程を排除することを意図されていない。更に、「含む」という用語は、「からなる」の場合を包含する。本発明の追加の目的、利点及び特徴は、明細書を検討すると当業者に明らかになる、又は本発明の実施により習得することができる。以下の実施例は実例として提供され、これらは本発明を限定するものとなることを意図されていない。更に、本発明は、本明細書に記載する特定の及び好ましい実施態様の全ての可能な組合せを網羅する。

20

【実施例】

【0082】

実施例1：部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀

KMnO₄を用いた解重合

25000及び40000ダルトンからなる分子量を有するコンドロイチン硫酸ナトリウム（2.5g）を攪拌下で水（25mL）に溶解した。総体積を測定し、NaOH30%（重量/体積）を用いてpHを8.5に調整した。いったんpHを調整したら、これを85の温度に加熱した。KMnO₄を攪拌下でゆっくり添加した（出発グリコサミノグリカンの量に対して20重量%）。これをこの温度で1時間攪拌下に維持した。溶液を0.8ミクロンのフィルターを通して濾過した。

30

【0083】

NaOHを用いた解重合

NaOH30%（重量/体積）を用いて、前の工程で得られた溶液のpHを11に調整した。得られた溶液の体液を測定し、（総体積に対して）1.5%のNaClを溶解するまで攪拌下で添加した。温度を45に調整した。これをこの温度で12時間攪拌下に維持した。

【0084】

H₂O₂を用いた解重合

前の工程で得られた溶液を、25の温度に達するまで冷却させ、総体積を測定した。pHが10~11の間であることを確認した。総体積に対して1.5%（重量/体積）のH₂O₂を攪拌下でゆっくり添加した。これをこの温度で1時間攪拌下に維持した。溶液を0.8ミクロンのフィルターを通して濾過した。酢酸を用いてpHを6に調整した（濾過液）。

40

【0085】

溶媒を用いた沈殿

前の工程で得られた濾過液の総体積を測定した。（前に測定した体積に対して）3倍体積のエタノールを攪拌下でゆっくり添加した。これを15分間攪拌した。攪拌を停止し、3時間（完全な沈殿まで）静止させた。

50

【 0 0 8 6 】

漂白

得られた沈殿をデカンテーションにより分離し、残留溶媒の最大限の除去を確保した。いったん沈殿を分離したら、これを溶解の最初の工程と同量の水で溶解した。これを完全に溶解するまで攪拌した。いったん溶解したら、 H_2O_2 30% (重量/体積) を攪拌下でゆっくり添加した。添加した量は、最初に使用したグリコサミノグリカンの重量の 50 重量% の量であった (1.25 g の H_2O_2)。これを室温で 10 分間攪拌した。

【 0 0 8 7 】

銀塩を用いたイオン交換

硝酸銀 0.24 g を攪拌下でゆっくり添加した。これを 5 分間 (完全な溶解及び均質化まで) 攪拌した。

10

【 0 0 8 8 】

溶媒を用いた沈殿

前の工程で得られた溶液の総体積を測定した。(前に測定した体積に対して) 3 倍体積のエタノールを攪拌下でゆっくり添加した。これを 15 分間攪拌させた。攪拌を停止し、これを 3 時間静止させた。

【 0 0 8 9 】

脱水及び乾燥

沈殿をデカンテーションにより分離し、残留溶媒の最大限可能な除去を確保した。いったん沈殿を分離したら、エタノールを沈殿上に添加した。添加すべき量は、最初に使用したグリコサミノグリカンの量 $\times 6 =$ 添加すべき溶媒の量であった。これを完全に均質化するまで激しく攪拌した。これを 20 分間攪拌した。攪拌を停止し、これを 2 時間静止させた。沈殿をデカンテーションにより分離し、その後濾過して、残留溶媒の最大限の除去を確保した。いったん沈殿を分離したら、エタノールを沈殿上に添加した。添加する量は、最初に使用したグリコサミノグリカンの量 $\times 6 =$ 添加する溶媒の量であった。これを完全に均質化するまで激しく攪拌した。これを 20 分間攪拌した。攪拌を停止し、これを最低 2 時間静止させた。沈殿を濾過により分離した。残留溶媒の最大限の除去を確認した。いったん沈殿を分離したら、これを、生成物の水分が 10% 未満になるまで 75 の温度でオーブンで乾燥させ、二重袋に入れた。

20

【 0 0 9 0 】

実施例 2 : 部分的に解重合したヒアルロン酸銀

1000000 Dalton より大きい分子量を有するヒアルロン酸ナトリウム (2 g) の水 (145 mL) 中溶液から始めて、実施例 1 に記載する方法と同様に所望の生成物を得た。イオン交換工程に添加した量は硝酸銀 0.13 g であった。

30

【 0 0 9 1 】

実施例 3 : 部分的に解重合したコンドロイチン硫酸金

25000 及び 40000 Da からなる分子量を有するコンドロイチン硫酸ナトリウム 1 g の水 (10 mL) 中溶液から始めて、硝酸銀を塩化金 (0.12 g) で置換することにより、実施例 1 に記載する方法と同様に所望の生成物を得た。

40

【 0 0 9 2 】

実施例 4 : 部分的に解重合したヒアルロン酸金

1000000 Dalton より大きい分子量を有するヒアルロン酸ナトリウム (2 g) の水 (145 mL) 中溶液から始めて、硝酸銀を塩化金 (0.16 g) で置換することにより、実施例 1 に記載する方法と同様に所望の生成物を得た。

【 0 0 9 3 】

比較実施例 5 : 部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀 (漂白剤 : メタ重亜硫酸ナトリウム)

25000 及び 40000 Da からなる分子量を有するコンドロイチン硫酸ナトリウム 1 g の水 (10 mL) 中溶液から始めて、漂白工程の過酸化水素をメタ重亜硫酸ナトリウム (0.5 g) で置換することにより、実施例 1 に記載する方法と同様に所望の生成物を

50

得た。

【0094】

比較実施例6：部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（漂白剤：チオ硫酸ナトリウム）

25000及び40000Daからなる分子量を有するコンドロイチン硫酸ナトリウム1gの水（10mL）中溶液から始めて、漂白工程の過酸化水素をチオ硫酸ナトリウム（0.1g）で置換することにより、実施例1に記載する方法と同様に所望の生成物を得た。

【0095】

比較実施例7：部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（漂白工程なし）

実施例1に記載する方法と同様であるが、pH7でH₂O₂を用いた解重合工程を行い、漂白工程を行わずに所望の生成物を得た。

【0096】

比較実施例8：高分子量コンドロイチン硫酸銀

25000と40000ダルトンとの間の分子量を有するコンドロイチン硫酸ナトリウム（1g）を攪拌下で水（10mL）に溶解した。総体積を測定し、NaOH30%（重量/体積）を用いてpHを6に調整した。硝酸銀0.1gを攪拌下でゆっくり添加した。これを5分間（完全な溶解及び均質化まで）攪拌した。総体積を測定した。（前に測定した体積に対して）2倍体積のエタノールを攪拌下でゆっくり添加した。これを10分間攪拌させた。攪拌を停止し、これを3時間静止させた。

【0097】

比較実施例9：高分子量ヒアルロン酸銀

1000000ダルトンより大きい分子量を有するヒアルロン酸ナトリウム（2g）を攪拌下で水（145mL）に溶解した。総体積を測定し、NaOH30%（重量/体積）を用いてpHを6に調整した。硝酸銀0.1gを攪拌下でゆっくり添加した。これを5分間（完全な溶解及び均質化まで）攪拌した。総体積を測定した。（前に測定した体積に対して）2倍体積のエタノールを攪拌下でゆっくり添加した。これを10分間攪拌させた。攪拌を停止し、これを3時間静止させた。

【0098】

安定性試験

実施例1及び比較実施例5～8で得られた沈殿生成物を暗所（戸棚の中）で1時間保護した。この時、生成物の目視検査を行い、生成物を再度暗所で保護した。12時間後、生成物の目視をもう一度行った。次いで、生成物を環境光に露光した。5時間後、生成物の目視を行った。

【0099】

結果は、解重合工程及び過酸化水素を用いた漂白工程を含む実施例1の生成物について、色が、暗所で1時間後と暗所で12時間後の両方で白色であり、環境光への露光の5時間後に白色のままであることを示した。解重合工程及びメタ重亜硫酸ナトリウムを用いた漂白工程を含む比較実施例5の生成物の場合、色は、暗所で1時間後赤味を帯びており、暗所で12時間後赤味を帯びた～黒色であり、環境光への露光の5時間後に黒色であった。解重合工程及びチオ硫酸ナトリウムを用いた漂白工程を含む比較実施例6の生成物の場合、色は、暗所で1時間後と暗所で12時間後の両方で黒色であり、環境光への露光の5時間後に黒色のままであった。解重合工程を含むが漂白工程を含まない比較実施例7の生成物の場合、色は、暗所で1時間後及び暗所で12時間後白色であるが、環境光への露光の5時間後に暗赤色になった。最後に解重合工程も漂白工程を含まない比較実施例8の生成物について、色は、暗所で1時間後及び暗所で12時間後白色であるが、環境光への露光の5時間後に暗赤色になった。

【0100】

得られた結果は、本発明の生成物（実施例1）が、特に、中国特許第1687141号明細書に記載されている先行技術の生成物（比較実施例8）と比較して、環境光に露光する

10

20

30

40

50

と5時間安定なままであるので、安定性における重要な改善を有することを示している。他方、部分的に解重合した塩の調製方法の条件のいずれかを変化させると（例えば、漂白剤を変える場合又は漂白工程を行わない場合）、得られる生成物は5時間の期間で光に対して安定ではない。

【0101】

抗菌活性の試験

この試験の目的は、微生物大腸菌及び黄色ブドウ球菌への抗菌活性を確認することであった。この目的のために、以下の生成物の水溶液を別々に調製した：

- 25000と40000ダルトンとの間の分子量を有する海由来の商業的に入手可能なコンドロイチン硫酸ナトリウム。欧州薬局方（01/2009：2064）に記載されている生成物（比較実施例10）；

- 高分子量コンドロイチン硫酸銀（比較実施例8）；
- 部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（実施例1）；
- 高分子量ヒアルロン酸銀（比較実施例9）；
- 部分的に解重合したヒアルロン酸銀（実施例2）；
- $AgNO_3$ （比較実施例11）；
- 部分的に解重合したコンドロイチン硫酸金（実施例3）；
- 部分的に解重合したヒアルロン酸金（実施例4）；及び

- 25000と40000との間の分子量を有する海由来の商業的に入手可能なコンドロイチン硫酸ナトリウム1gと $AgNO_3$ 0.1gの混合物（比較実施例12）。

【0102】

コンドロイチン硫酸由来の生成物を10%（重量/体積）で溶解した。ヒアルロン酸由来の生成物を1.4%（重量/体積）で溶解した。生成物の残りについては、完全に溶解するまで水を添加した。

【0103】

生成物の各々、並びに対照（水）を、黄色ブドウ球菌及び大腸菌を含むプレートに塗布した。生成物を黄色ブドウ球菌及び大腸菌のための標準条件下でインキュベートした。結果を輪紋又はハロ-直径で表し、これは以下のとおりとなった：比較実施例10については、これは大腸菌で0及び黄色ブドウ球菌で0であった；比較実施例8については、これは大腸菌で7及び黄色ブドウ球菌で8であった；実施例1については、これは大腸菌で7及び黄色ブドウ球菌で6であった；比較実施例9については、これは大腸菌で8及び黄色ブドウ球菌で8であった；実施例2については、これは大腸菌で7及び黄色ブドウ球菌で6であった；比較実施例11については、これは大腸菌で8及び黄色ブドウ球菌で6であった；実施例3については、これは大腸菌で9及び黄色ブドウ球菌で8であった；対照については、これは大腸菌で0及び黄色ブドウ球菌で0であった；実施例4については、これは大腸菌で4及び黄色ブドウ球菌で6であった；そして比較実施例12については、これは大腸菌で7及び黄色ブドウ球菌で5であった。

【0104】

得られた結果により、金（実施例3及び4）並びに銀（実施例1及び2）を用いた本発明の生成物が硝酸銀と類似の抗菌活性を有することが確認された。

【0105】

毒性学及び熱傷への有効性の予備試験

この試験の目的は、毒性（局所）及び熱傷への有効性を評価することであった。刺激、炎症及び/又は暗化を含む、異なる生成物が引き起こすおそれがある副作用を、目視及び写真により評価した。評価した生成物は以下であった：

- 25000と40000ダルトンとの間の分子量を有する海由来の商業的に入手可能なコンドロイチン硫酸ナトリウム。欧州薬局方（01/2009：2064）に記載されている生成物（比較実施例10）；
- 部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（実施例1）；
- 保湿クリームに溶解/混合した部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（実施例1

c) ;

- 部分的に解重合したヒアルロン酸銀（実施例 2）；
- AgNO_3 （比較実施例 11）；及び
- 部分的に解重合したコンドロイチン硫酸金（実施例 3）。

【0106】

コンドロイチン硫酸由来の生成物を 10%（重量/体積）で水に溶解した。ヒアルロン酸由来の生成物を 1.4%（重量/体積）で溶解した。硝酸銀については、完全に溶解するまで水を添加した。実施例 1c の生成物を保湿クリームと混合した。

【0107】

全生成物を、「腕の上部領域」（上腕二頭筋）及び腹部（肋骨の領域）に施用した。実施例 1、2 及び 3 の生成物を、「腕の下部領域」にも施用した。施用後、以下の頻度で目視を行った：10分、30分、60分、8時間、3日、4日、7日及び9日。

10

【0108】

処理領域を異なる種の光（太陽、白熱電球、蛍光）に 10分間露光した。いずれの場合も暗化は観察されなかった。腹部を 10分後に光から保護した。「腕の上部領域」を最高 8時間まで露光下のままとした。「腕の下部領域」は環境光に連続露光した。

【0109】

得られた結果によると、比較実施例 10 の生成物の施用では、10分及び 30分で、「腕の上部領域」と腹部の両方にカラメル化した外観が観察された。60分、8時間、24時間、48時間、3日、4日、7日及び9日で行われた対照では、部位のいずれにも（「腕の上部領域」/腹部）関連する結果は観察されなかった。

20

【0110】

実施例 1、1c、2 及び 3 の生成物の施用は、10分、30分、60分、8時間、24時間、48時間、3日、4日、7日及び9日で行われた目視のいずれでも、生成物を施用した領域のいずれの関連する挙動も示さなかった。

【0111】

比較実施例 11 の生成物の施用では、10分及び 30分で、「腕の上部領域」と腹部の両方に刺激が観察された。60分後、生成物を施用した部位に刺激、掻痒感及び灼熱感があった。8時間後、刺激、掻痒感、灼熱感及びハローもしくは輪紋があった。3日目の後、熱傷の輪紋の直径の増加が観察された。この時点で、実施例 1 の生成物を腹部の熱傷に施用した。実施例 1 の生成物の 1日 2回の施用を熱傷に次の 3日間行った。4日目の後、熱傷の輪紋の直径の増加が「腕の上部領域」で観察され、実施例 1 で処理した熱傷のほぼ完全な消失が腹部で観察された。7日目の後、熱傷の輪紋の直径が「腕の上部領域」で増加した。この時点で、実施例 2 の生成物を「腕の上部領域」の熱傷に施用した。実施例 2 の生成物の 1日 3回の施用を熱傷に行った。9日目の後、「腕の上部領域」の実施例 2 の生成物で処理した熱傷はほぼ完全に消失した。

30

【0112】

得られた結果と一致して、及び硝酸銀とは異なり、本発明の実施例 1、1c、2 及び 3 の生成物は、暗化、刺激、掻痒感又は炎症の問題を有さなかった。更に、本発明の実施例 1 及び 2 の生成物を用いて行った有効性の試験により、これらが熱傷又は創傷を有する皮膚表面の治療の改善をもたらすことが確認された。

40

【0113】

急性経口毒性学試験

部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（実施例 1）の急性経口毒性学試験を行って、経口毒性を評価及び対応する分類（GHS、化学物質及び混合物に関する世界調和分類システム）を同定した。試験は OECD ガイドライン 第 420号（固定用量）にしたがって行った。このガイドラインにしたがって解釈された結果は、生成物、部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀が、2000/kg を超える半数致死経口用量（LD50）を有し、GHS 分類（化学物質及び混合物に関する世界調和分類システム）5、すなわち、あまり毒性のないグループに含まれ得ることを示した。

50

【 0 1 1 4 】

吸収試験

本発明の解重合化合物及び非解重合化合物の吸収についての比較試験を行った。これを行うために、部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（実施例 1）及び高分子量コンドロイチン硫酸銀（比較実施例 8）を同じ濃度（10%（重量/体積））で水に別々に溶解した。いったん生成物が完全に溶解したら、実施例 1 の生成物の粘度が比較実施例 8 の生成物の粘度よりも低いことが認められた。各生成物 10 mL をセルロース紙に塗布した。実施例 1 の生成物が比較実施例 8 の生成物よりも速く吸収されることが認められた。このことを考慮して、吸収を目的に、セルロース紙での挙動を、有機組織（皮膚）に「外挿する」ことができ、この結果で、本発明の解重合生成物が非解重合生成物よりも優れた吸収を有すると結論づけられる。

10

【 0 1 1 5 】

粘度試験

試験の目的は、得られた部分的に解重合した生成物の粘度が、出発生成物（非解重合）の粘度よりも低いことを確認することであった。評価した生成物は以下であった：

- 高分子量コンドロイチン硫酸銀（比較実施例 8）；
- 部分的に解重合したコンドロイチン硫酸銀（実施例 1）；
- 高分子量ヒアルロン酸銀（比較実施例 9）及び
- 部分的に解重合したヒアルロン酸銀（実施例 2）。

20

【 0 1 1 6 】

以下のパラメータを評価した：溶解時間、外観（視覚法）及び移動時間。

【 0 1 1 7 】

各生成物 0.01 g を長さ 11.5 cm 及び直径 1 cm の試験管内の蒸留水 0.5 mL に別々に溶解した。いったん生成物が完全に溶解したら、管の位置を反転させて移動時間を調べた。

【 0 1 1 8 】

溶解制御：部分的に解重合した生成物は 10 秒未満で溶解したが、非解重合生成物は溶解するのに 3 分超かかった。そのため、部分的に解重合した生成物の溶解は非解重合生成物よりも速く、このことが部分的に解重合した生成物に容易に適用できる及び操作できるという利点を与えていると結論づけられる。

30

【 0 1 1 9 】

外観制御：管の位置を反転させると（180°回転）、部分的に解重合した生成物の溶液の粘度が非解重合生成物の溶液よりも明らかに低いことが視覚的に認識された。

【 0 1 2 0 】

移動制御：管の位置を反転させると（180°回転）、移動時間が以下の結果で測定された：比較実施例 8 の移動時間は 30 秒であった；実施例 1 の移動時間は 1 秒であった；比較実施例 9 の移動時間は 5 分であった；そして最後に、実施例 2 の移動時間は 1 秒であった。

【 0 1 2 1 】

粘度と分子量との間の関係を考慮すると、部分的に解重合した生成物の分子量が非解重合生成物よりも実質的に低いと定量的に結論づけられる。グリコサミノグリカンの分子量を有する測定に使用する方法の 1 つは、固有粘度の確認及びマルク・ハウインク定数/比による分子量の決定による。

40

【 0 1 2 2 】

引用文献

- 米国特許出願公開第 2010317617 号明細書
- 中国特許 1687141 号明細書
- 欧州特許 1878754 号明細書
- 国際公開第 8705517 号パンフレット

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2013/053087

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C08B37/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C08B		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2010/317617 A1 (MOUSA SHAKER A [US] ET AL) 16 December 2010 (2010-12-16) cited in the application the whole document	1-29
A	----- CN 1 687 141 A (LING PEIXUE [CN]) 26 October 2005 (2005-10-26) cited in the application the whole document -----	1-29
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
15 May 2013		29/05/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Zellner, Armin

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2013/053087

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2010317617	A1	16-12-2010	NONE

CN 1687141	A	26-10-2005	NONE

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/728 (2006.01)	A 6 1 K 31/727	
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 K 31/728	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 17/10 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 17/16 (2006.01)	A 6 1 P 17/10	
A 6 1 Q 19/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/16	
A 6 1 Q 19/08 (2006.01)	A 6 1 Q 19/00	
A 6 1 K 31/198 (2006.01)	A 6 1 Q 19/08	
	A 6 1 K 31/198	

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

(72)発明者 フロレス イー サルガド, フランセスク
 スペイン国 エ - 0 8 3 0 3 マタロ, セーアー 2 4, アヴェニーダ プッジ イ カダファ
 ルク, 4 8, キムフレクサー エセ.エレ.

(72)発明者 ベニテス ヒメネス, アントニオ フランシスコ
 スペイン国 エ - 0 8 3 9 7 ピネダ デ マール, アヴェニーダ デル カルメン, 2 6,
 3 階 3 号室

(72)発明者 コスタ イー リエロラ, マルガリータ
 スペイン国 エ - 0 8 3 0 3 マタロ, セーアー 2 4, アヴェニーダ プッジ イ カダファ
 ルク, 4 8, キムフレクサー エセ.エレ.

(72)発明者 フロレス イー コスタ, ロヘル
 スペイン国 エ - 0 8 3 0 3 マタロ, セーアー 2 4, アヴェニーダ プッジ イ カダファ
 ルク, 4 8, キムフレクサー エセ.エレ.

(72)発明者 フロレス イー コスタ, ラリア
 スペイン国 エ - 0 8 3 0 3 マタロ, セーアー 2 4, アヴェニーダ プッジ イ カダファ
 ルク, 4 8, キムフレクサー エセ.エレ.

Fターム(参考) 4C083 AC581 AD311 AD331 AD341 CC02 DD17 DD41 EE12 EE13 EE14
 FF01
 4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 EA20 EA24 EA25 EA27 GA13 MA01
 MA02 MA04 MA10 MA28 MA43 MA52 MA63 NA05 NA14 ZA89
 ZA90 ZB11 ZB35
 4C090 AA01 AA05 AA08 AA09 BA62 BA64 BA65 BA66 BA67 BA68
 BC27 BC28 CA31 CA34 CA46 DA09 DA23 DA26
 4C206 AA01 AA02 HA32 MA02 MA03 MA04 MA28 MA48 MA63 MA72
 MA83 NA05 ZA89 ZA90 ZB11 ZB35