



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 06 355 T2 2004.03.04**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 128 725 B1**

(51) Int Cl.7: **A01N 25/34**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 06 355.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US99/25932**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 971 662.4**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 00/27191**

(86) PCT-Anmeldetag: **03.11.1999**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **18.05.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **05.09.2001**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **26.03.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **04.03.2004**

(30) Unionspriorität:

**188442                      09.11.1998                      US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(73) Patentinhaber:

**The Procter & Gamble Company, Cincinnati, Ohio,  
US**

(72) Erfinder:

**ROURKE, James, Francis, Sharonville, US;  
RICHARDS, Fredric, Marc, Corinth, US;  
OSBORNE, Edward, Scott, Middletown, US**

(74) Vertreter:

**Patentanwälte Rau, Schneck & Hübner, 90402  
Nürnberg**

(54) Bezeichnung: **EINE ANTIMIKROBIELLE PROTEASE-INHIBITOR ENTHALTENDES ANGEFEUCHTETES WEG-  
WERFWISCHTUCH**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

## GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft wegwerfbare vorbefeuchtete Tücher und insbesondere wegwerfbare vorbefeuchtete Tücher, welche einen antimikrobiellen Proteaseinhibitor enthalten, der beim Hemmen gesundheitsschädlicher fäkaler Mikroorganismen und beim Hemmen von Proteaseenzymen wirksam ist.

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Vorbefeuchtete Wischtücher sind im Stand der Technik allgemein bekannt. Solche Wischtücher werden auch als "feuchte Wischtücher", "Babytücher" und "Toilettentücher" bezeichnet. Vorbefeuchtete Tücher enthalten eine faseriges Vlies-Trägermaterial, welches vor der Benutzung mit einer Flüssigkeit befeuchtet wird. Das Trägermaterial kann verschiedene Kombinationen aus Zellulosefasern, synthetischen polymeren Fasern, wie Polyester, Polypropylen, Polyethylen und dergleichen, enthalten. Das Trägermaterial kann auch Binder enthalten, um die Fasern zusammen zu halten. Das Trägermaterial wird im allgemeinen mit einer Flüssigkeit, wie beispielsweise Wasser, befeuchtet. Die Flüssigkeit verschiedene weitere Inhaltsstoffe enthalten, wie Befeuchtungsmittel oder Humectanten, Emulgenten, grenzflächenaktive Stoffe, Emulgatoren, pH-Einstellungsmittel, Duftstoffe, Pulver und dergleichen.

[0003] Solche befeuchteten Wischtücher werden allgemein dazu verwendet, Fäkalmaterial und Urin aus dem perinealen Bereich zu entfernen. Fäkalmaterial und Urin führen zu einer perinealen Dermatitis. Die perineale Dermatitis, welche eine Windeldermatitis umfaßt, wurde als eine Kontaktdermatitis in dem perinealen Bereich definiert, einschließlich des Perineums, des Gesäßes und der perinealen, Schambein- und oberen, inneren Oberschenkelregionen (Brown D.S., Serars M., Perineal Dermatitis: A Conceptual Framework, Ostomy/Wound Management 1993, 39 (7), 20-25). Von der Windeldermatitis wird angenommen, daß diese durch den verlängerten Kontakt der Haut mit der Körperausscheidung verursacht wird. Die physikalischen Anzeichen einer Windeldermatitis können eine oder eine Kombination von Erythema, Schwellen, Visikulation, Verkosten und Schuppen umfassen, mit der Möglichkeit einer Excoriation, Verdickung oder Überpigmentierung mit der Zeit (Brown).

[0004] Zum Beispiel offenbart die JP-A-04,182423 eine Wischmittelzusammensetzung, die von 0,001 Gew.% bis 20 Gew.% Proteaseinhibitor enthält. Ansonsten sagt sie nichts über die antimikrobielle Wirkung solcher Inhibitoren.

[0005] Die genaue Komponente bzw. die genauen Komponenten von Urin und Stuhlgängen, die für die Windeldermatitis verantwortlich sind, wurde nicht identifiziert. Faktoren, von welchen angenommen wird, daß diese die Windeldermatitis verursachen, umfassen Ammoniak, Feuchtigkeit, der Urin-pH-Wert, fäkale Mikroorganismen und Proteaseenzyme (solche, wie sie in Stuhlgangmaterial enthalten sind).

[0006] Es ist wünschenswert, ein vorbefeuchtetes wegwerfbares Tuch zu schaffen, welches die Haut reinigt und auf dieser einen Reststoff beläßt, welcher die Bildung der Windeldermatitis hemmt.

[0007] Es ist auch wünschenswert, ein vorbefeuchtetes wegwerfbares Tuch zu schaffen, welches ein einzelnes aktives Mittel enthält, das in der Lage ist, die Bildung der Windeldermatitis zu hemmen, indem sowohl die gesundheitsschädlichen fäkalen Mikroorganismen als auch die Proeasteenzyme kontrolliert werden.

[0008] Ein Vorteil der vorliegenden Erfindung ist die Fähigkeit, die Bildung der Windeldermatitis zu hemmen, indem ein vorbefeuchtetes Wischtuch mit einem antimikrobiellen Proteaseinhibitor verwendet wird. Der antimikrobielle Proteaseinhibitor ist in der Lage, gesundheitsschädliche fäkale Mikroorganismen und Proteaseenzyme zu kontrollieren, die beide als die Hauptverursacher der Bildung der Windeldermatitis angesehen werden.

[0009] Ein weiterer Vorteil der vorliegenden Erfindung ist die Fähigkeit des vorbefeuchteten Wischtuchs, sowohl die Haut zu reinigen als auch einen Rest des antimikrobiellen Proteaseinhibitors zurück zu lassen. So bleibt die Hemmung der gesundheitsschädlichen fäkalen Mikroorganismen und Proteaseenzyme sogar bestehen, nachdem das vorbefeuchtete Tuch nicht länger in Kontakt mit der Haut ist.

[0010] Es sei vorher gesagt, daß ein weiterer Vorteil der vorliegenden Erfindung die Fähigkeit ist, ein Regime zum Beibehalten und Verbessern der Hautgesundheit zu schaffen, und zwar unter Verwendung des vorbefeuchteten wegwerfbaren Tuchs dieser Erfindung in Verbindung mit einem absorbierenden Einwegartikel, wie einer Windel.

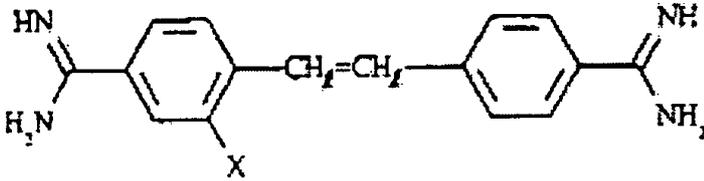
## ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0011] Die vorliegende Erfindung ist auch ein vorbefeuchtetes Tuch gerichtete, das in der Lage ist, gesundheitsschädliche fäkale Mikroorganismen zu hemmen und Proteaseenzyme zu hemmen. In Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung ist der Proteaseinhibitor ein aromatisches Diamidin, das in den angehängten Ansprüchen identifiziert ist. In einer Ausführungsform umfaßt das vorbefeuchtete Wischtuch ein faseriges

Vlies-Trägermaterial, welches von etwa 0,004% bis 10% antimikrobiellen Proteaseinhibitor in Bezug zum Gewicht der Trockenfaser in dem Trägermaterial und von etwa 0,5 Gramm bis 8 Gramm Flüssigkeit pro Gramm Trockenfaser in dem Trägermaterial enthält.

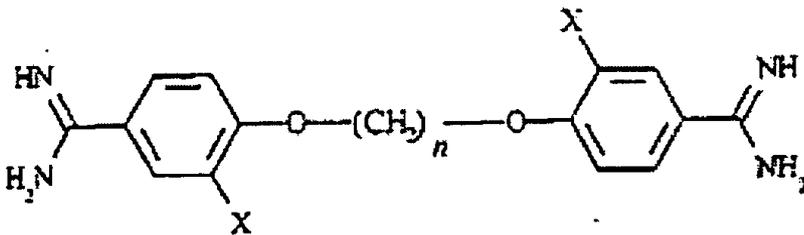
[0012] Der antimikrobielle Proteaseinhibitor zeigt eine  $IC_{50}$  auf gereinigtem Trypsin von weniger als etwa 1000  $\mu M$  und eine inhibierende Mindestkonzentration für Escherichia coli von weniger als 100  $\mu M$ .

[0013] Der antimikrobielle Proteaseinhibitor ist ein aromatisches Diamidin, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:



I

in welcher X ein H oder OH ist, und



II

in welcher  $n = 3$  bis 12 und X ein Cl, J, Br, F oder H ist.

[0014] Das aromatische Diamidin kann ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Pentamidin und Hexamidin. Ein bevorzugtes Hexamidin ist Heximadindiisethionat. Das aromatische Diamidin kann auch direkt dem Trägermaterial und/oder der Flüssigkeit hinzu gegeben werden.

[0015] Wenn er der Flüssigkeit hinzu gegeben wird, umfaßt der antimikrobielle Proteaseinhibitor etwa 0,0005 Gew.% bis etwa 10 Gew.% der Flüssigkeit. Ein Lösemittel wird ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Öl, Alkohol, Wasser und Mischungen davon.

[0016] Die Flüssigkeit kann optional enthalten: ein oder mehrere Humectanten mit von etwa 0,5 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit; ein oder mehrere Emulgenten mit von etwa 0,1 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit; ein oder mehrere grenzflächenaktive Stoffe mit von etwa 0,01 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit; und ein oder mehrere Konservierungsmittel mit von etwa 0,1 Gew.% bis 1 Gew.% der Flüssigkeit.

[0017] Die vorliegende Erfindung umfaßt eine Hautpflege-Anwendung zum Verbessern oder Beibehalten der Hautgesundheit der Träger absorbierender Einwegartikel in dem Träger-Kontaktbereich, wobei die Hautpflege-Anwendung die Schritte umfaßt:

- a) Bereitstellen des vorbefeuchteten Tuchs mit einem faserigen Vlies-Trägermaterial, wobei das Trägermaterial von etwa 0,5 Gramm bis 8 Gramm Flüssigkeit pro Gramm Trockenfaser enthält, wobei die Flüssigkeit ferner umfaßt:
  - i) ein Lösemittel, in welchem das Lösemittel wenigstens etwa 50 Gew.% der Flüssigkeit umfaßt, wobei das Lösemittel ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Öl, Alkohol, Wasser und Gemische davon;
  - ii) wenigstens einen antimikrobiellen Proteaseinhibitor mit von etwa 0,0005 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit;
- b) Wischen des Träger-Kontaktbereichs der Haut mit dem vorbefeuchteten Tuch, so daß der antimikrobielle Proteaseinhibitor auf die Haut übertragen wird;
- c) Berühren der Haut mit einem wegwerfbaren, absorbierenden Artikel; und
- d) Wiederholen der Schritte a) bis c).

#### DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0018] Das vorbefeuchtete Tuch der vorliegenden Erfindung umfaßt ein Substrat, einen antimikrobiellen Proteaseinhibitor und eine Flüssigkeit. Der antimikrobielle Proteaseinhibitor ist in der Lage, gesundheitsschädliche fäkale Mikroorganismen zu töten und Proteaseenzyme zu hemmen. Wie hier verwendet, bezieht sich "vorbefeuchtet" auf die Hinzugabe einer Flüssigkeit zu dem Trägermaterial vor der Verwendung. Der Ausdruck "Flüssigkeit" umfaßt irgendein Material mit einer flüssigen Phase, einschließlich, aber nicht beschränkt darauf, Emulsionen mit einer flüssigen Phase kann mit einer Flüssigkeit während der Herstellung vorbefeuchtet werden oder es kann mit einer Flüssigkeit nach der Herstellung vorbefeuchtet werden (z. B. durch den Benutzer zum Zeitpunkt der Verwendung).

[0019] Der antimikrobielle Proteaseinhibitor kann direkt dem Trägermaterial hinzu gegeben werden oder vorzugsweise mit der Flüssigkeit gemischt werden. Alternativ kann der antimikrobielle Proteaseinhibitor bedarfsweise dem Trägermaterial sowohl getrennt als auch als eine Komponente der Flüssigkeit hinzu gegeben werden. Die Flüssigkeit der bevorzugten Ausführungsform enthält einen antimikrobiellen Proteaseinhibitor, der in der Lage ist, gesundheitsschädliche fäkale Mikroorganismen zu töten und Proteaseenzyme zu hemmen.

#### Das Substrat

[0020] Auf die Komponenten der vorliegenden Erfindung in größerem Detail Bezug nehmend, umfaßt das vorbefeuchtete Tuch der vorliegenden Erfindung ein Trägermaterial, das natürliche Gewebe- oder Vliesstofffasern, synthetische Fasern oder Mischungen davon umfaßt. Geeignete synthetische Fasern umfassen Fasern, die üblicherweise in Textilien verwendet werden, wie, aber nicht beschränkt darauf, Polyester-, Polyethylen- und Polypropylenfasern.

[0021] Verschiedene Verfahren können verwendet werden, um ein geeignetes Trägermaterial zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung zu bilden. Geeignete Verfahren zum Bilden des Trägermaterials umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, ein Spunbonding, Schmelzblasen, Kardieren, Naßlegen, und Luftlegen. Geeignete Techniken zum Zusammenbinden der Fasern des Trägermaterials umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, ein Hydroverheddern, Vernadeln, ein thermisches Binden, Ultraschallbinden und vorzugsweise ein chemisches Binden.

[0022] Das chemische Binden neigt dazu, wirtschaftlich günstiger zu sein als andere Faserbindetechniken. Trägermaterialien, in welchen die Fasern chemisch miteinander verbunden sind, neigen auch dazu, in ihrer Dichte geringer zu sein und somit ein größeres Lückenvolumen als vergleichbare Trägermaterialien zu haben, die Fasern aufweisen, welche durch andere Techniken miteinander verbunden sind. So liefert ein Trägermaterial, in welchem die Fasern chemisch miteinander verbunden sind, eine größere Reinigungskapazität als ein vergleichbares Trägermaterial mit Fasern, die durch andere Techniken miteinander verbunden sind. Allgemeine chemische Bindemittel enthalten, sind aber nicht beschränkt darauf, auf ein Lösemittel basierende oder auf Harz basierende Haftmittel (z. B. Latex, etc.).

[0023] Beispiele weiterer Techniken, welche bei der Herstellung von Trägermaterialien verwendet werden können, die für die vorliegende Erfindung geeignet sind, enthalten, sind aber nicht beschränkt darauf, eine Oberflächenbehandlung und laminierung.

[0024] In einer Ausführungsform kann das Trägermaterial ein faseriges, luftgelegtes Vlies-Trägermaterial sein, daß eine Kombination aus natürlichen Fasern, stapellangen synthetischen Fasern und einem Latex-Haftbinder umfaßt. Das trockene faserige Trägermaterial kann etwa 20 Gew.% bis 80 Gew.% Holzzellstofffasern, etwa 10 Gew.% bis 60 Gew.% stapellange Polyesterfasern und etwa 10 Gew.% bis 25 Gew.% Binder umfassen.

[0025] Das trockene, faserige Trägermaterial kann einen Grammanteil von zwischen etwa 40 bis 100 Gramm pro Quadratmeter haben. Die Dichte des trockenen Trägermaterials beträgt vorzugsweise weniger als etwa 0,2 Gramm pro Kubikzentimeter. Die Dichte des trockenen Trägermaterials wird berechnet, indem der Grammanteil des trockenen Trägermaterials durch die Dicke des trockenen Trägermaterials in passenden Einheiten geteilt wird. Die Dicke des trockenen Trägermaterials wird gemessen unter Verwendung eines kreisförmigen Fußes mit einer Fläche von 2 Quadratinch, welcher einen Grenzdruck von etwa 95 Gramm pro Quadratinch liefert. In einer Ausführungsform hat das trockene Trägermaterial einen Grammanteil von etwa 64 Gramm pro Quadratmeter, eine Dicke von etwa 0,06 cm und eine Dichte von etwa 0,11 Gramm pro Kubikzentimeter.

[0026] In einer Ausführungsform kann das trockene faserige Trägermaterial wenigstens etwa 50 Gew.% Holzzellstofffasern und ganz bevorzugt wenigstens etwa 70 Gew.% Holzzellstofffasern umfassen. Ein spezielles luftgelegtes faseriges Vlies-Trägermaterial, welches für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeignet ist, umfaßt etwa 75 Gew.% südliche Weichholz-Kraft-Holzzellstofffasern mit einer mittleren Faserlänge von etwa 2,6 mm; etwa 12 Gew.% Polyesterfasern mit einem Denier von etwa 1,35 Gramm pro 9000 Meter Faserlänge und einer Stapellänge von etwa 0,85 Inch; und etwa 13 Gew.% einer Binderzusammensetzung mit einem Styrol/Butadien-Copolymer. Das bevorzugte Styrol/Butadien-Copolymer hat ein Styrol-zu-Butadien-Verhältnis von etwa 45 Teilen Styrol zu 55 Butadien. Ein Latex-Haftmittel, dass zum Herstellen der Binderzusammensetzung geeignet ist, ist ROVENE 5550 (enthaltend etwa 50 Gew.% Feststoffe von Styrol/Butadien-Copolymer), erhältlich von Mallard Creek Polymers aus Charlotte, North Carolina.

[0027] In einer Ausführungsform ist das Trägermaterial der vorliegenden Erfindung durch ein Luftlegen eines Gemisches aus natürlichen und synthetischen Fasern gebildet, um eine faserige Bahn zu formen, durch Sprühen von Wasser auf die Bahn und dann durch Prägen der Bahn. Ein Latex-Haftbinder wird dann auf die Bahn aufgebracht, gefolgt von einem Trocknen und Härten des Latex-Haftbinders in einem Ofen. Die Vliesstoffbahn wird dann mit einer Flüssigkeit vorbefeuchtet. Ein Beispiel einer solchen vorbefeuchteten Bahn sind PAMPERS BABY FRESH Marken-Babytücher, vermarktet durch den Übertragenen.

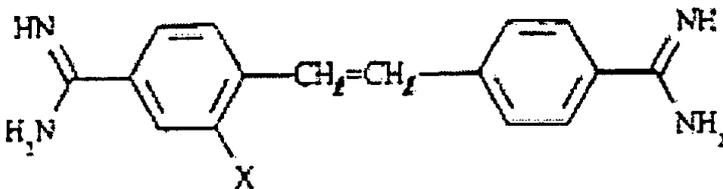
[0028] Weitere Bahnen und Verfahren zum Herstellen von Bahnen, die für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeignet sind, umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, solche, die in den folgenden Pa-

tenten beschrieben sind, deren Offenbarungen hier durch Bezugnahme mit aufgenommen sind: US Patent 3,862,472, veröffentlicht am 28. Januar 1985 für Norton et al.; US Patent 3,905,863, veröffentlicht am 16. September 1975 für Ayers; US Patent 3,974,025, veröffentlicht am 10. August 1976 für Ayers; US Patent 3,918,126, veröffentlicht am 11. November 1975 für Wood; US Patent 3,982,302, veröffentlicht am 28. September 1976 für Vaalburg; US Patent 4,004,323, veröffentlicht am 25. Januar 1977 für Gotchel et al.; US Patent 4,014,635, veröffentlicht am 29. März 1977 für Kroyer; US Patent 4,057,669, veröffentlicht am 08. November 1977 für McConnell; US Patent 4,064,600, veröffentlicht am 27. Dezember 1977 für Gotchel et al.; US Patent 4,074,393, veröffentlicht am 21. Februar 1978 für Hicklin et al.; US Patent 4,097,965, veröffentlicht am 04. Juli 1978 für Gotchel et al.; US Patent 4,130,915, veröffentlicht am 26. Dezember 1978 für Gotchel et al.; US Patent 4,144,619, veröffentlicht am 20. März 1979 für White et al.; US Patent 4,176,426, veröffentlicht am 04. Dezember 1979; US Patent 4,176,427, veröffentlicht am 04. Dezember 1979 für Neuenschwander; US Patent 4,1919,609, veröffentlicht am 04. März 1980 für Trokhan; US Patent 4,207,367, veröffentlicht am 10. Juni 1980 für Baker, Jr.; US Patent Nr. 4,296,161, veröffentlicht am 20. Oktober 1981 für Kaiser et al., US Patent 4,309,469, veröffentlicht am 05. Januar 1982 für Varona; US Patentanmeldung, amtliches Aktenzeichen Nr. 08/915,349, eingereicht am 22. August 1997 und US Patentanmeldung, amtliches Aktenzeichen Nr. 09/132,833, eingereicht am 12. August 1998.

#### Antimikrobieller Proteaseinhibitor

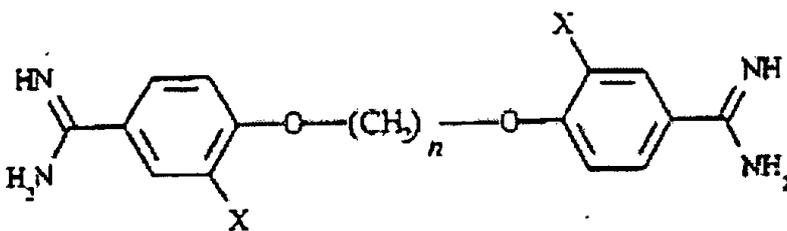
[0029] Ein antimikrobieller Proteaseinhibitor, der zum Kontrollieren gesundheitsschädlicher fäkaler Mikroorganismen und Proteaseenzyme wirksam ist, kann dem Trägermaterial direkt hinzu gegeben werden oder vorzugsweise zu der Flüssigkeit. Wenn dieser dem Trägermaterial direkt hinzu gegeben wird, wird der antimikrobielle Proteaseinhibitor dem Trägermaterial in einer Menge von etwa 0,004% bis 10% aktiven antimikrobiellen Proteaseinhibitors in Bezug zum Gewicht der trockenen Faser in dem Trägermaterial hinzu gegeben, vorzugsweise in der Menge von etwa 0,04% bis 5% aktiver antimikrobieller Protease in Bezug zum Gewicht der Trockenfaser in dem Substrat, und ganz bevorzugt in der Menge von etwa 0,08% bis 2% aktiven antimikrobiellen Proteaseinhibitors in Bezug zum Gewicht der Trockenfasern in dem Substrat.

[0030] Vorzugsweise ist der antimikrobielle Proteaseinhibitor ein aromatisches Diamidin, wobei das aromatische Diamidin ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus:



I

in welcher X ist H oder OH, und



II

in welcher n = 3 bis 12 und X ist Cl, J, Br, F oder H.

[0031] Ganz bevorzugt ist der antimikrobielle Proteaseinhibitor ein aromatisches Diamidin ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Pentamidin, Hexamidin und Mischungen davon. Äußerst bevorzugt ist der antimikrobielle Proteaseinhibitor ein Hexamidin-Diisethionat.

[0032] Ein geeignetes Hexamidin-Diisethionat ist ELESTAB HP100, erhältlich von Laboratoires Serobiologiques S.A. aus Pulnoy, Frankreich.

#### Flüssigkeit

[0033] Die Flüssigkeit des vorbefeuchteten Wischtuchs der vorliegenden Erfindung ist zusammen gesetzt aus wenigstens einem Lösemittel und vorzugsweise einem antimikrobiellen Proteaseinhibitor(en). Eine nicht beschränkende Liste weiterer optionaler Komponenten, welche in der Flüssigkeit enthalten sein können ist: Humectant(en), Emulgent(en), grenzflächenaktive(r) Stoff(e), Duftstoff(e), Duftstoff-Emulgator(en) und/oder Konservierungsmittel.

[0034] Wie hier verwendet, bezieht sich "Gewichtsprozent" auf die Menge der aktiven Komponente, bezogen auf das Gewicht, das in der Flüssigkeit als Prozentanteil des Gesamtgewichts der Flüssigkeit enthalten ist.

[0035] Das vorbefeuchtete Tuch wird hergestellt, indem das trockene Trägermaterial mit etwa 0,5 Gramm bis 8 Gramm der Flüssigkeit pro Gramm trockener Faser in dem Substrat und vorzugsweise von etwa 1 Gramm bis 6 Gramm der Flüssigkeit pro Gramm der trockenen Faser in dem Substrat benäht wird.

#### Lösemittel

[0036] Lösemittel, die in der Flüssigkeit der vorliegenden Erfindung nützlich sind, umfassen Öl, Alkohol und vorzugsweise Wasser. Mischungen dieser Lösemittel können auch verwendet werden. Das Lösemittel umfaßt wenigstens etwa 50 Gew.% der Flüssigkeit, vorzugsweise wenigstens 75 Gew.% der Flüssigkeit und ganz bevorzugt wenigstens etwa 90 Gew.% der Flüssigkeit.

#### Antimikrobielle Proteaseinhibitor(en)

[0037] Wenn er der Flüssigkeit hinzu gegeben ist, umfaßt der antimikrobielle Proteaseinhibitor von etwa 0,005 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit, vorzugsweise von etwa 0,005 Gew.% bis 5 Gew.% der Flüssigkeit und ganz bevorzugt von etwa 0,01 Gew.% bis 2 Gew.% der Flüssigkeit.

#### Optionale Komponenten der Flüssigkeit

##### Humectant(en):

[0038] Die Flüssigkeit der vorliegenden Erfindung kann optional ein oder mehrere Humectanten enthalten. Wie hier verwendet, bezieht sich "Humectant" auf ein hygroskopisches Material, das so funktioniert, daß es Wasser in das Stratum corneum zieht, um die Haut zu hydratisieren. Das Wasser kann von der Dermis oder von der Atmosphäre kommen. Geeignete Humectanten umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, Glycerin, Sorbitol, Phospholipide und vorzugsweise Propylenglycol. Das Humectant kann von etwa 0,5 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit, vorzugsweise von etwa 1 Gew.% bis 5 Gew.% der Flüssigkeit und ganz bevorzugt von etwa 1,5 Gew.% bis 3,5 Gew.% der Flüssigkeit umfassen. Ein geeignetes Propylenglycol ist erhältlich von Dow Corning aus Midland, Michigan.

##### Emollient(en):

[0039] Die Flüssigkeit kann optional ein oder mehrere Emollienten enthalten. Wie hier verwendet, bezieht sich "Emollient" auf ein Material, das weich macht, glättet, geschmeidig macht, beschichtet, schmiert oder die Haut befeuchtet. Emollienten enthalten, sind aber nicht beschränkt darauf, ein herkömmliches Lipidmaterial (das heißt, Fette, Wachse), polare Lipide (Lipide, die hydrophilisierend modifiziert wurden, um sie wasserlöslicher zu machen) Silicone, Kohlenwasserstoffe und andere lösende Materialien.

[0040] Emollienten, die in der vorliegenden Erfindung nützlich sind, können auf Petroleum basieren, auf Fettsäureester basieren, auf Alkylethoxylat basieren, auf Fettsäureesterethoxylat basieren, wie Polyethylenglycol (z. B. Lanolin, etc.), auf Fettalkohl basieren, auf Polysiloxan basieren, auf Mucopolysacchariden oder Mischungen davon. Das Emollient kann umfassen von etwa 0,01 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit, vorzugsweise von etwa 0,1 Gew.% bis 5 Gew.% der Flüssigkeit und ganz bevorzugt von etwa 0,3 Gew.% bis 2 Gew.% der Flüssigkeit. Ein bevorzugtes Emollient ist LANETO 50 (ein 50% festes Lanolin), erhältlich von Rita Corporatin aus Woodstock, Illinois.

##### Grenzflächenaktive(r) Stoff(e):

[0041] Die Flüssigkeit kann optional ein oder mehrere grenzflächenaktive Stoffe enthalten. Wie hier verwendet, bezieht sich "grenzflächenaktiver Stoff" auf ein Material, welches die Oberflächeneigenschaften einer Flüssigkeit oder ein Feststoffes verändert, indem die Oberflächenspannung an der Grenzfläche zwischen der Flüssigkeit oder dem Feststoff verringert wird. Klassen von grenzflächenaktiven Stoffen umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, nicht ionisierende grenzflächenaktive Stoffe, anionische grenzflächenaktive Stoffe, kationische grenzflächenaktive Stoffe, amphotere grenzflächenaktive Stoffe, vorzugsweise zwitterige grenzflächenaktive Stoffe und Mischungen davon. Der grenzflächenaktive Stoff kann von etwa 0,01 Gew.% bis 10 Gew.% der Flüssigkeit, vorzugsweise von etwa 0,1 Gew.% bis 5 Gew.% der Flüssigkeit und ganz bevorzugt von etwa 0,3 Gew.% bis 2 Gew.% der Flüssigkeit umfassen.

[0042] Ein bevorzugter zwitteriger grenzflächenaktiver Stoff ist Ocotyliminodipropionat, erhältlich als MACK-HAM ODP, erhältlich von McIntyre Group Ltd. aus University Park, Illinois.

## Duftstoff(e)s

[0043] Die Flüssigkeit kann optional ein oder mehrere Duftstoffe umfassen. Die Duftstoffkomponenten, wie Parfüme, umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, wasserunlösliche Öle, einschließlich Ölessenzen. Der Duftstoff kann von etwa 0,005 Gew.% bis 0,5 Gew.% der Flüssigkeit, vorzugsweise von etwa 0,01 Gew.% bis 0,1 Gew.% der Flüssigkeit und ganz bevorzugt von etwa 0,02 Gew.% bis 0,06 Gew.% der Flüssigkeit umfassen.

## Duftstoffemulgator(en):

[0044] Die Flüssigkeit kann optional ein oder mehrere Duftstoffemulgatoren enthalten. Ein Duftstoffemulgator, auch als ein Duftstoffverdünner bekannt, reduziert die Neigung der wasserunlöslichen Duftstoffkomponente, aus der Flüssigkeit auszufallen. Beispiele von Duftstoffemulgatoren enthalten, sind aber nicht beschränkt darauf, Alkohole, wie Ethanol, Isopropanol, Benzylalkohol und Phenoxyethanol; irgendeinen hohen HLB-Emulgator (das heißt; HLB größer als etwa 13), einschließlich, aber nicht beschränkt darauf, hoch ethoxylierter Säuren und Alkohole und vorzugsweise Polysorbat. Der Duftstoffemulgator kann von etwa 0,01 Gew.% bis 5 Gew.% der Flüssigkeit, vorzugsweise von etwa 0,1 Gew.% bis 2 Gew.% der Flüssigkeit und ganz bevorzugt von etwa 0,2 Gew.% bis 0,8 Gew.% der Flüssigkeit umfassen.

[0045] Ein geeigneter Duftstoffemulgator ist Polysorbat 20, erhältlich als TWEEN 20 von Imperial Chemical Company (ICI) aus New Castle, Delaware.

## Konservierungsmittel:

[0046] Die Flüssigkeit kann optional ein oder mehrere Konservierungsmittel enthalten. Konservierungsmittel werden verwendet, um das Wachstum der Mikroorganismen in der Flüssigkeit und/oder dem Trägermaterial zu verhindern. Geeignete Konservierungsmittel enthalten, sind aber nicht beschränkt darauf Methylparaben, Propylparaben und 2-Bromo-2-nitropropan-1,3-diol. Mehtylparaben kann von etwa 0,01 Gew.% bis 1 Gew.% der Flüssigkeit umfassen. Propylparaben kann von etwa 0,005 Gew.% bis 0,5 Gew.% der Flüssigkeit umfassen. Das 2-Bromo-2-nitropropan-1,3-diol kann von etwa 0,005 Gew.% bis 0,2 Gew.% der Flüssigkeit umfassen.

[0047] Ein geeignetes Methylparaben ist eine national formulierte Qualitätsstufe von Methylparaben, erhältlich von Acme Hardesty Company aus Jenkintown, Pennsylvania. Ein geeignetes Propylparaben ist eine national formulierte Qualitätsstufe von Propylparaben, auch erhältlich von Acme Hardesty Company. Eine geeignetes 2-Bromo-2-nitropropan-1,3-diol ist BRONOPOL® erhältlich von Inolex Chemical Company aus Philadelphia, Pennsylvania.

[0048] Weitere Flüssigkeiten, mit welchem das Trägermaterial befeuchtet werden kann, sind beschrieben in den folgenden Patentdokumenten, welche hier durch Bezugnahme mit aufgenommen sind: US Patent 4,941,995, veröffentlicht am 17. Juli 1990 für Richards et al.; US Patent 4,904,524, veröffentlicht am 27. Februar 1990 für Yoh; US Patent 4,772,501, veröffentlicht am 20. September 1988 für Johnson et al.; US Patent 4,556,560, veröffentlicht am 03. Dezember 1985 für Buckingham und US Patent 5,648,083, veröffentlicht am 15. Juli 1997 für Bliezner et al.

## Techniken zum Kombinieren eines Trägermaterials, antimikrobiellen Proteaseinhibitors und einer Flüssigkeit

[0049] Techniken zum Kombinieren von Tuch-Trägermaterialien mit einer flüssigen Zusammensetzung und ihre Verpackung sind im Stand der Technik allgemein bekannt und auf die vorliegende Erfindung anwendbar. Im allgemeinen kann der antimikrobielle Proteaseinhibitor dem Trägermaterial in Form eines trockenen Pulvers oder einer Lösung hinzu gegeben werden. Er kann dem Trägermaterial getrennt von der Flüssigkeit hinzu gegeben werden. Alternativ kann er dem Trägermaterial als eine Komponente der Flüssigkeit hinzu gegeben werden oder er kann sowohl getrennt als auch als Komponente der Flüssigkeit hinzu gegeben werden.

[0050] Beispiele von Techniken, die im Stand der Technik allgemein bekannt sind, welche verwendet werden können, um den antimikrobiellen Proteaseinhibitor und/oder die Flüssigkeit auf das Trägermaterial aufzubringen, umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, ein Eintauchen, Prägen, Dippen, Sprühen, Extrudieren, Beschichten, Drucken, Imprägnierung und dergleichen. Techniken, die zum Kombinieren von Trägermaterialien nützlich sind, mit Zusammensetzungen, die für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung geeignet sind, sind beschrieben in den folgenden Patenten, deren Offenbarungen hier durch Bezugnahme mit aufgenommen sind: US Patent 4,189,896, veröffentlicht am 26. Februar 1980 für Kohlback et al. und US Patent 4,135,024, veröffentlicht am 16. Januar 1979 für Callahan et al.

## BEISPIELE

A. Verfahren zum Herstellen einer flüssigen Zusammensetzung, welche keinen antimikrobiellen Proteaseinhibitor enthält (das heißt; "Kontrolle"):

[0051] Eine wasserhaltige flüssige Kontrollzusammensetzung wurde durch das folgende Verfahren hergestellt:

Vorgemisch 1:

[0052] Ein erstes Vorgemisch wurde hergestellt durch Vermischen der folgenden Komponenten: 15 Gramm Polypropylenglycol, 2 g Methylparaben und 0,3 g Propylparaben.

Vorgemisch 2:

[0053] Ein zweites Vorgemisch wurde hergestellt durch Vermischen der folgenden Komponenten: 2 Gramm Polysorbat 20 und 0,375 g Duftstoff.

[0054] Das Vorgemisch 1 wurde in 79 g destilliertes Wasser hinzu gegeben. Zu diesem Gemisch wurden 0,500 g BRONOPOL®a, 5 g Octyliminodipropionat und 5 g LA-NETO 50 (das heißt; PEG-75 Lanolin) hinzu gegeben. Das Vorgemisch 2 wurde dann diesem Gemisch hinzu gegeben.

B. Verfahren zum Herstellen einer flüssigen Zusammensetzung, die einen antimikrobiellen Proteaseinhibitor enthält:

[0055] Eine Flüssigkeit enthaltend einen 1% antimikrobiellen Proteaseinhibitor (das heißt, "Hexamidin") wurde durch das folgende Verfahren hergestellt:

Vorgemisch 1:

[0056] Ein erstes Vorgemisch wurde durch Vermischen der folgenden Komponenten hergestellt: 15 g Propylenglycol, 2 g Methylparaben und 0,3 g Propylparaben.

Vorgemisch 2:

[0057] Ein zweites Vorgemisch wurde durch Vermischen der folgenden Komponenten hergestellt: 2 g aus Polysorbat 20 und 0,375 Duftstoff.

[0058] 10 g Hexamidindiisethionat wurden in 960 g destilliertes Wasser hinzu gegeben. Das Vorgemisch 1 wurde dann dazu hinzu gegeben. Zu diesem Gemisch wurden 0,500 g BRONOPOL®, 5 g Octyliminodipropionat und 5 g PEG-75 Lanolin hinzu gegeben. Das Vorgemisch 2 wurde dann hinzu gegeben.

## C. Testverfahren•

## Enzymbehinderung-Prüfungen:

[0059] Standard in vitro-Prüfungen zum Bestimmen der Enzymaktivität und der Hemmung der Enzymaktivität sind allgemein bekannt. Die Reagenzmittel, um diese Tests durchzuführen, sind allgemein im Handel erhältlich. Im allgemeinen umfaßt ein einfaches System ein enzym-spezifisches Trägermaterial, welches, wenn es durch das Enzym hydrolysiert ist, ein gefärbtes Produkt erzeugt. Die Aktivität des Enzyms wird spektrophotometrisch als Grad der Entwicklung des gefärbten Produkts (das heißt, die Geschwindigkeit der Farbänderung) über eine vorbestimmte Zeitspanne gemessen.

[0060] Eine Hemmung der Enzymaktivität wird als eine meßbare Abnahme der Geschwindigkeit der Farbänderung über die gleiche Zeitspanne bei Vorhandensein eines Enzyminhibitors gezeigt.

[0061] Die Hemmaktivität eines Enzyminhibitors kann berechnet werden gemäß der folgenden Gleichung:

$$IC_{50} = [I]/[(v/v_i) - 1]$$

, in welcher  $IC_{50}$  sich auf die minimale Konzentration des benötigten Enzyminhibitors bezieht, die 50% des Enzyms hemmt,  $[I]$  die getestete Enzyminhibitorkonzentration ist,  $v$  die Geschwindigkeit der Teilung durch das Enzym in Abwesenheit des Enzyminhibitors ist und  $v_i$  die Geschwindigkeit der Teilung des Trägermaterials bei Vorhandensein des Enzyminhibitors ist.

[0062] Die folgenden Verfahren können verwendet werden, um die Inhibitoraktivität eines Enzyminhibitors der wirksam ist, Proteaseenzyme, deren Vorhandensein in Stuhlgängen bekannt ist, zu hemmen.

[0063] In den Verfahren werden  $v$  und  $v_i$  als die Änderung in der Absorptionsfähigkeit (optische Dichte, OD) bei einer gegebenen Wellenlänge/Zeit (z. B. Minuten) gemessen. Das Verfahren nutzt eine Trypsinpuffer, der durch das folgende Verfahren hergestellt wird: 60,55 g TRIS und 22,20 Gramm  $\text{CaCl}_2$  werden in 0,9 ml destillierten Wassers gelöst. Der pH-Wert dieser Lösung wird mit Chlorwasserstoffsäure auf 8,2 eingestellt. Diese wird dann mit Wasservolumen von 1 Liter verdünnt, um eine Lösung von 500 mM TRIS und 200 mM  $\text{CaCl}_2$  zu bilden.

### 1. Verfahren mit gereinigter Protease

[0064] Die Verfahren mit gereinigter Protease nutzen gereinigtes Trypsin, das durch das folgende Verfahren hergestellt wird: 0,124 mg menschliches Pankreas Trypsin (mit einem Molekulargewicht von 22.000) werden in 0,564 ml von 0,001 N HCl gelöst, um eine 10  $\mu\text{M}$  Vorratslösung zu bilden. Diese Lösung wird auf 1:263,2 mit destilliertem Wasser verdünnt (das heißt, 5  $\mu\text{l}$  von Trypsinvorrat und 1,31 l ml destilliertes Wasser), um eine 38 nM Trypsinlösung zu ergeben. Ein geeignetes menschliches Pankreas Trysin für diesen Zweck ist erhältlich als Katalog Nr. T6424 von Sigma Aldrich Company aus St. Louis, Missouri.

#### a. Verfahren zum Bewerten der Wirksamkeit von Proteaseinhibitoren in gereinigtem Trypsin

[0065] Dieses Verfahren wird verwendet, um die Wirksamkeit eines Proteaseinhibitors gegenüber gereinigtem Trypsin zu testen.

[0066] Ein Substrat aus 46,5 g N-carbobenzyloxy-arginin-p-nitroanilid (mit einem Molekulargewicht von 464,9) wird in 1,0 ml Dimethylsulfoxid (nachfolgend als "DMSO" bezeichnet), um eine 100  $\mu\text{M}$  Vorratslösung zu bilden. Diese Vorratslösung wird auf 1:25 in destilliertem Wasser verdünnt (das heißt, 20  $\mu\text{l}$  Vorratslösung und 0,48 ml destilliertes Wasser), um eine 4 mM Substratlösung zu liefern. Ein geeignetes Substrat ist erhältlich als Katalog Nr. C4893 von Sigma Aldrich Company aus St. Louis, Missouri.

[0067] Reihenverdünnungen des Proteaseinhibitors werden unter Verwendung von destilliertem Wasser hergestellt. Ein 50  $\mu\text{l}$  Aliquot jeder Reihenverdünnung des Proteaseinhibitors, der bewertet werden soll, wird einer Mikrocuvette zugegeben, die 0,020 ml Trypsinpuffer und 0,105 ml gereinigtes Trypsin enthält. Die Mikrocuvette wird bei 25°C für 10 Minuten incubiert.

[0068] Nach dem Incubieren wird 0,025 ml der 4 mM N-carbobenzyloxy-arginin-pnitroanilid-Substratlösung der Mikrocuvette hinzu gegeben. Die Mikrocuvette wird gemischt. Die Absorptionsfähigkeit des Gemisches wird dann bei einer Wellenlänge von 405 nm über eine Zeitspanne von 10 Minuten bei einer Temperatur von 25°C gemessen.

#### b. Verfahren zum Bewerten der Wirksamkeit flüssiger Zusammensetzungen, die Proteaseinhibitoren in gereinigtem Trypsin enthalten

[0069] Dieses Verfahren wird verwendet, um die Wirksamkeit einer flüssigen Zusammensetzung mit einem Proteaseinhibitor gegenüber einem gereinigten Trypsin zu testen. Für diesen Zweck wird eine flüssige Zusammensetzung mit dem Proteaseinhibitor und hergestellt gemäß dem Verfahren B verwendet.

[0070] Ein 0,05 ml Aliquot der flüssigen Zusammensetzung mit dem Proteaseinhibitor, hergestellt gemäß dem obigen Verfahren B, wird reihenweise mit einer flüssigen Zusammensetzung verdünnt, die keinen Proteaseinhibitor enthält, der gemäß dem obigen Verfahren A hergestellt ist. Ein 50  $\mu\text{l}$  Aliquot jeder Reihenverdünnung der flüssigen Zusammensetzung mit dem Proteaseinhibitor, der zu bewerten ist, wird einer Mikrocuvette hinzu gegeben, die 0,020 ml Trypsinpuffer und 0,105 ml gereinigtes Trypsin enthält. Die Mikrocuvette wird bei 25°C für 10 Minuten incubiert.

[0071] Nach dem Incubieren werden 0,025 ml der 4 mM N-carbobenzyloxy-arginin-pnitroanilid-Substratlösung der Mikrocuvette hinzu gegeben. Die Mikrocuvette wird gemischt. Die Absorptionsfähigkeit des Gemisches wird dann mit einer Wellenlänge von 405 nm über eine Zeitspanne von 10 Minuten bei einer Temperatur von 25°C unter Verwendung eines Spectrophotometers gemessen.

[0072] Der antimikrobielle Proteaseinhibitor (die antimikrobiellen Proteaseinhibitoren) mit dem vorgefeuchteten Tuch der vorliegenden Erfindung zeigen eine  $\text{IC}_{50}$  von gereinigtem Trypsin von weniger als etwa 1000  $\mu\text{M}$ , vorzugsweise von weniger als etwa 500  $\mu\text{M}$  und ganz bevorzugt von weniger als etwa 100  $\mu\text{M}$ .

### 2. Verfahren mit Stuhlgangprotease

[0073] Das Folgende ist eine allgemeine Beschreibung eines Verfahrens zum Erhalten einer Probe von Stuhlgängen, die für die Verwendung in Verfahren mit Stuhlgangprotease geeignet sind.

[0074] Zu Zwecken der Einrichtung einer positiven Kontrolle, um sicher zu stellen, daß die zusammengefaßten Probenstuhlgänge die erforderliche Enzymaktivität zeigen, um die inhibierende Proteaseaktivität zu bewerten, wird das folgende Verfahren jedem der Stuhlgangs-Proteaseverfahren nachgestellt. Zusammengefaßte Kinderstuhlgänge (wenigstens fünf unterschiedliche Proben) werden in einer Weise gesammelt, daß sie frei von Urin und Verunreinigung gehalten werden, und werden mit destilliertem Wasser gemischt, um ein Gewicht-zu-Gewicht (w/w)-Gemisch zu erhalten (z. B. 1:50 w/w). Dieses Gemisch wird dann durchgehend gemischt, um eine homogene Suspension durch Homogenisierung oder Sonication zu erhalten.

[0075] Diese Stuhlgangssuspension wird verwendet als Quelle der Proteaseaktivität, wie dies unten beschrieben wird, und wird eine Geschwindigkeit des Substratschlags im Bereich von etwa 0,005 OD<sub>405</sub> pro Minute bis 0,020 OD<sub>405</sub> Pro Minute zeigen. (Um auch die vollständige Linearität sicher zu stellen, sollte die finale Absorptionsfähigkeit 1,5 OD<sub>405</sub> Einheiten nicht übersteigen) Falls die Aktivität der zusammengefaßten Kinderstuhlgänge außerhalb dieses Bereichs liegt, ist es nicht möglich, IC<sub>50</sub>-Werte für gereinigte Proteaseinhibitoren genau zu bestimmen. Der Bereich der Enzymaktivität kann jedoch durch Steigerung oder Verminderung des Verdünnungsfaktors für jedes Enzym eingestellt werden. Falls dies nicht möglich ist, sollte eine unterschiedliche Gruppe von Subjekten verwendet werden, um den Probenpool zu erhalten.

#### a. Verfahren zum Bewerten der Wirksamkeit von Proteaseinhibitoren in Stuhlgang-Trypsin

[0076] Dieses Verfahren wird verwendet, um die Wirksamkeit eines Proteaseinhibitors gegenüber der Trypsinaktivität in Stuhlgängen zu testen.

[0077] Ein Substrat aus 14 g N-carbobenzyloxy-arginin-p-nitroanilid wird einem 0,5 ml Methanol hinzu gegeben, um eine 60 mM Vorratslösung herzustellen. Die Vorratslösung wird auf 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnt (das heißt, 0,05 ml Vorratslösung und 0,95 ml destilliertes Wasser), um eine 2 mM Substratlösung zu bilden.

[0078] Reihenverdünnungen eines Proteaseinhibitors werden unter Verwendung von destilliertem Wasser hergestellt. Ein 0,7 ml Aliquot jeder Verdünnung Proteaseinhibitors, der zu bewerten ist, wird einer Mikrocuvette hinzu gegeben. Zu diesem wird 0,1 ml Trysinpuffer und 0,1 ml einer 3 mM Lösung eines Substrats hinzu gegeben. Die Mikrocuvette wird durch Inversion gemischt und bei 25°C für 5 Minuten incubiert.

[0079] Ein Volumen von 0,1 mL von Stuhlgangssuspension wird der Mikrocuvette hinzu gegeben und gemischt. Die Absorptionsfähigkeit des Gemisches bei 490 nm wird mit dem Spectrophotometer gemessen. Die Absorptionsfähigkeit bei 490 nm repräsentiert einen Korrekturfaktor für die Hintergrund-Absorptionsfähigkeit aufgrund des teilchenförmigen Stuhlgangmaterials (das heißt, "Interferenz"). Die Absorptionsfähigkeit des Gemisches bei 405 nm wird dann mit dem Spectrophotometer über eine Zeitspanne von 5 Minuten bei 25°C gemessen. Diese Ablesungen der Absorptionsfähigkeit werden von der Ablesung der Absorptionsfähigkeit bei 490 nm subtrahiert, um jede Hintergrundinterferenz zu korrigieren. Diese korrigierten Ablesungen der Absorptionsfähigkeit werden dann verwendet, um die Geschwindigkeit der Substratspaltung pro Minute zu berechnen.

[0080] Der bzw. die antimikrobiellen Proteaseinhibitoren, die in dem vorbefeuchteten Tuch der vorliegenden Erfindung enthalten sind, zeigen IC<sub>50</sub> auf Stuhlgang-Trypsin von weniger als etwa 1000 µM, vorzugsweise von weniger als etwa 500 µM und ganz bevorzugt von weniger als etwa 100 µM.

#### 3. Verfahren zum Bestimmen der Aktivität der antimikrobiellen Mittel:

[0081] Dieses Verfahren wird verwendet, um die antimikrobielle Aktivität der antimikrobiellen Mittel zu bestimmen. Die antimikrobielle Aktivität eines antimikrobiellen Mittels wird gemäß dem Verfahren des National Committee for Clinical Laboratory Standards ("NCCLS") getestet. Der NCCLS Dilution Antimicrobial Susceptibility Test für Bakterien aerobisch Wachsen, wird verwendet (das heißt, NCCLS Document M7-A2, 1990).

[0082] Zweifache Reihenverdünnungen des antimikrobiellen Mittels werden in trypticase soy broth in einer Mikrotiterplatte hergestellt (im Falle von Hexamidindisethionat wird eine 1000 µM Ausgangskonzentration empfohlen). Mikroorganismen inocula werden präpariert, indem Kolonien von Argarplatten in Salzlösung geerntet werden und die optische Dichte der Lösung so eingestellt wird, daß sie äquivalent zu dem 0,5 McFarland-Standard ist. Jede Mikroorganismen-Suspension wird verdünnt auf 1:10 und 10 Mikroliter der Suspension wird ebenfalls zu jedem Mikrotiter hinzu gegeben.

[0083] Die Mikrotiterplatten werden dicht verschlossen und für 24 Stunden bei 37°C incubiert. Die höchste Verdünnung des antimikrobiellen Mittels, das Wachstum verhindert, wird als die minimale inhibierende Konzentration ("MIC") aufgezeichnet.

[0084] Der/die antimikrobiellen Proteaseinhibitoren, die in dem vorgefeuchteten Tuch der vorliegenden Erfindung enthalten sind, zeigen eine minimale inhibierende Konzentration für Escherichia coli von weniger als etwa 1000 µM, vorzugsweise von weniger als etwa 500 µM und ganz bevorzugt von weniger als etwa 100 µM.

## BEISPIELE

[0085] Die inhibierende Proteaseaktivität und antimikrobielle Aktivität eines antimikrobiellen Proteaseinhibitors, Hexamidindüsethionat, wurde bewertet.

## BEISPIEL 1

[0086] Bezug nehmend auf Tabelle I ist die inhibierende Aktivität von Hexamidindiisethionat (als  $IC_{50}$  angegeben) gezeigt.

[0087] Bezug nehmend auf Tabelle I, Spalte 1, wurde die inhibierende Aktivität von Hexamidindiisethionat gegenüber Stuhlgang-Trypsin gemäß dem obigen Verfahren 2a bewertet (das heißt, "Verfahren zum Bewerten der Wirksamkeit von Proteaseinhibitoren in Stuhlgang-Trypsin").

[0088] Bezug nehmen auf Tabelle I, Spalte 2, wurde die inhibierende Aktivität von Hexamidindüsethionat gegenüber gereinigtem Trypsin gemäß dem obigen Verfahren 1a bewertet (das heißt "Verfahren zum Bewerten der Wirksamkeit von Proteaseinhibitoren in gereinigtem Trypsin").

[0089] Bezugs nehmend auf Tabelle I, Spalte 3, wurde die inhibierende Aktivität einer flüssigen Zusammensetzung mit Hexamidindüsethionat gegenüber gereinigtem Trypsin gemäß dem obigen Verfahren 1b bewertet (das heißt, "Verfahren zum Bewerten der Wirksamkeit flüssiger Zusammensetzungen mit Proteaseinhibitoren in gereinigtem Trypsin").

TABELLE I INHIBIERENDE PROTEASEAKTIVITÄT VON HEXAMINDIN DIISETHIONAT

STUHLGANG- TRYPSIN $IC_{50}$ ( $\mu$ M)	GEREINIGTES TRYPSIN $IC_{50}$ ( $\mu$ M)	GEREINIGTES TRYPSIN (INHIBIERENDE AKTIVITÄT EINER FLÜSSIGEN ZUSAMMENSETZUNG MIT HEXEMIDINDI-I-SETHIONAT $IC_{50}$ ( $\mu$ M)
2,3	2,5	2,8

## BEISPIEL 2

[0090] Bezug nehmend auf Tabelle II ist die antimikrobielle Aktivität von Heximidindiisethionat auf drei unterschiedlichen Mikroorganismen gezeigt. Für Zwecke dieses Beispiels wurde Hexamidindüsethionat mit destilliertem Wasser verdünnt und gemäß dem obigen Verfahren 3 bewertet.

TABELLE II ANTIMIKROBIELLE AKTIVITÄT VON HEXAMIDINDIISETHIONAT

<u>Organismus</u>	<u>ATCC Strain Nr.</u>	<u>Inhibierende Minimumkonzentration</u> ( $\mu$ M)
<i>Escherichia coli</i>	25922	53
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	3
<i>Candida Albicans</i>	10231	13

## BEISPIEL 3

[0091] Bezug nehmend auf Tabelle III wurde die inhibierende antimikrobielle Aktivität einer flüssigen Zusammensetzung mit keinem antimikrobiellen Proteaseinhibitor verglichen mit der inhibierenden antimikrobiellen Aktivität einer flüssigen Zusammensetzung mit einem antimikrobiellen Proteaseinhibitor. Der für diese Bewertung gewählte antimikrobielle Proteaseinhibitor war Hexamidindiiisethionat.

[0092] Die antimikrobielle inhibierende Aktivität von Hexamidindüsethionat wird als die minimale inhibierende Konzentration (MIC) von Hexamidindüsethionat angegeben, die benötigt wird, um einen speziellen Organismus zu hemmen. Bezug nehmend auf Tabelle III, gibt Spalte den speziellen Mikroorganismus an, gegen welchen die antimikrobielle inhibierende Aktivität von Hexamidindüsethionat bewertet wurde. Bezug nehmend auf Tabelle III, Spalte 2, ist die ATCC Strain-Identifikations-Nr. für in Spalte 1 aufgelistete Mikroorganismen gezeigt.

[0093] Bezug nehmend auf Tabelle III, Spalte 3, ist die antimikrobielle inhibierende Aktivität einer flüssigen Zusammensetzung mit keinem antimikrobiellen Proteaseinhibitor gezeigt. Die flüssige Zusammensetzung wurde gemäß den obigen Verfahren A und C3 hergestellt.

[0094] Bezug nehmend auf Tabelle III, Spalte 4, ist die antimikrobielle inhibierende Aktivität einer flüssigen Zusammensetzung mit Hexamidindüsethionat gezeigt. Die flüssige Zusammensetzung wurde gemäß den obigen Verfahren B und C3 hergestellt.

TABELLE III Inhibierende Minimumkonzentration einer flüssigen Zusammensetzung

<u>Organismus</u>	<u>ATCC Strain</u> <u>Nr.</u>	<u>Kontrolle</u>	<u>Flüssige Zusammen-</u> <u>setzung mit Hexami-</u> <u>dindiisethionat</u>
Staphylococcus aureus	25923	1:128	1:262,144
Enterococcus faecalis	29212	1:64	1:524:288
Pseudomonas aeruginosa	27853	1:128	1:512
Escherichia coli	25922	1:128	1:1024
Staphylococcus Epidermidis	12228	1:128	1:524,288
Proteus vulgaris	13315	1:256	1:1024
Candida albicans	10231	1:64	1:32768

## Hautpflege-Anwendung

[0095] Für Träger von absorbierenden Einwegartikeln, wie Windeln, Übungshöschen, Erwachsenen-Inkontinenzeinlagen, Damenbinden etc., kann das Tuch der vorliegenden Erfindung in Kombination mit dem absorbierenden Einwegartikel als Teil einer Hautpflege-Anwendung verwendet werden, bei welcher die Hautpflege in dem Träger-Kontaktbereich beibehalten oder durch die Verwendung der Kombination verbessert wird. Wie hier verwendet, bezieht sich der "Träger-Kontaktbereich" auf den Bereich der Haut des Trägers, der während der Benutzung von dem absorbierenden Einwegartikel berührt wird.

[0096] Die Anwendung umfaßt die Wiederholung der folgenden Schritte:

- Wischen der Träger-Kontaktfläche der Haut mit dem Tuch der vorliegenden Erfindung, derart, daß der antimikrobielle Proteaseinhibitor auf die Haut übertragen wird; und
- Berühren der Haut mit dem absorbierenden Einwegartikel.

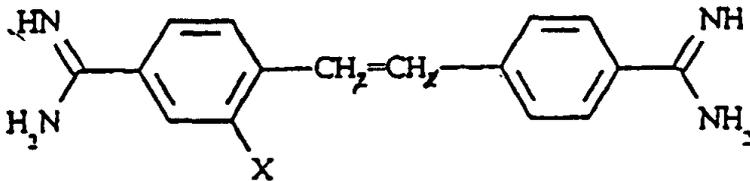
[0097] Besonders bevorzugte absorbierende Artikel für diesen Zweck sind offenbart in US, amtliches Aktenzeichen Nr. 08/926,532, eingereicht am 10 September 1997, US, amtliches Aktenzeichen Nr. 08/926,533, eingereicht am 10. September 1997, US, amtliches Aktenzeichen Nr. 09/041,232, eingereicht am 12. März 1998 und US, amtliches Aktenzeichen Nr. 09/041,266, veröffentlicht am 12. März 1998.

[0098] Weitere absorbierende Artikel, die für die Verwendung mit dem Tuch der vorliegenden Erfindung geeignet sind, umfassen, sind aber nicht beschränkt darauf, solche, die allgemein beschrieben sind in: US Patent 3,860,003, veröffentlicht am 14. Januar 1975 für Buell; US Patent 4,342,314, veröffentlicht am 03. August 1982 für Radel et al.; US Patent 4,463,045, veröffentlicht am 31. Juli 1984 für Ahr et al.; US Patent 4,556,146, veröffentlicht am 03. Dezember 1985 für Swanson et al.; US Patent B 1 4,589,876, dessen Zertifikat veröffentlicht wurde am 27. April 1993 für Van Tilburg; US Patent 4,687,478, veröffentlicht am 18. August 1987 für Van Tilburg; US Patent 4,950,264, veröffentlicht am 21. August 1990 für Osborn, III; US Patent 5,009,653, veröffentlicht am 23. April 1991 für Osborn, III; US Patent 5,151,092, veröffentlicht am 09. September 1992 für Buell; US Patent 5,171,236, veröffentlicht am 15. Dezember 1992 für Dreier et al.; US Patent 5,221,274, veröffentlicht am 22. Juni 1993 für Buell; US Patent 5,267,992, veröffentlicht am 07. Dezember 1993 für Van Tilburg; US Patent 5,306,266, veröffentlicht am 26. April 1994 für Freeland; US Patent 5,397,318, veröffentlicht am 14. März 1995 für Dreier; US Patent 5,514,121, veröffentlicht am 07. Mai 1996 für Roe et al.; US Patent 5,540,671, veröffentlicht am 30. Juli 1996 für Dreier; US Patent 5,554,142, veröffentlicht am 10. September 1996 für Dreier et al.; US Patent 5,554,145, veröffentlicht am 09. September 1996 für Roe et al.; US Patent 5,569,234, veröffentlicht am 29. Oktober 1996 für Buell et al.; US 5,580,411, veröffentlicht am 03. Dezember 1996, veröffentlicht für Nease et al.; US Patent 5,653,703, veröffentlicht am 05. August 1997 für Roe et al.

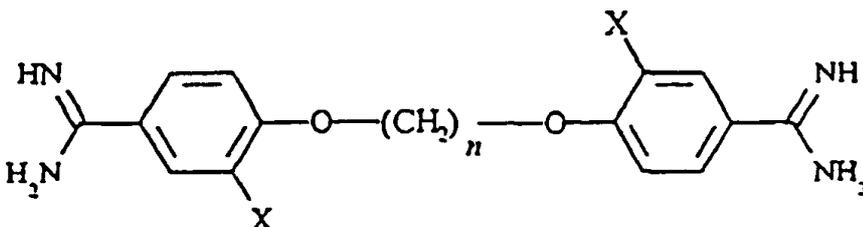
[0099] Obwohl spezielle Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung dargestellt und beschrieben wurden, ist für die Fachleute des Standes der Technik offensichtlich, dass verschiedene weitere Änderungen und Modifikationen durchgeführt werden können, ohne die Erfindung zu verlassen. Es ist deshalb gedacht, in den angehängten Ansprüchen alle solche Änderungen und Modifikationen, die in dem Schutzbereich dieser Erfindung liegen, abzudecken.

### Patentansprüche

1. Vorbefeuchtetes Tuch umfassend: ein faseriges Vlies-Trägermaterial mit 0,5 g bis 8 g Flüssigkeit pro Gramm trockener Faser, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Trägermaterial außerdem umfasst einen antimikrobiellen Protease-Inhibitor mit 0,004 bis 10 Gew.-% der trockenen Faser in dem Trägermaterial, wobei der antimikrobielle Protease-Inhibitor ein aromatisches Diamidin ist, das gewählt ist aus der Gruppe umfassend:



wobei X ist H oder OH und



wobei n = 3 bis 12 und X ist Cl, I, Br, F oder H.

2. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß Anspruch 1 umfassend: ein faseriges Vlies-Trägermaterial mit 0,5 g bis 8 g Flüssigkeit pro (Gramm trockener Faser, wobei die Flüssigkeit ferner umfasst:

- a) ein Lösemittel mit mindestens 50 Gew.-% der Flüssigkeit, wobei das Lösemittel gewählt ist aus der Gruppe umfassend Öl, Alkohol, Wasser und Gemische davon; und
- b) dadurch gekennzeichnet, dass die Flüssigkeit außerdem umfasst mindestens einen antimikrobiellen Protease-Inhibitor mit 0,0005 bis 10 Gew.-% der Flüssigkeit.

3. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß Anspruch 2 zur Verwendung in der Medizin.

4. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß Anspruch 3, wobei die medizinische Verwendung eine Hautpflege-Anwendung zur Verbesserung und Erhaltung der Gesundheit der Haut von Trägern wegwerfbarer, absorbierender Artikel in dem Träger-Kontaktbereich ist, wobei die Hautpflege-Anwendung die Schritte umfasst:

- a) Bereitstellen des vorbereuchteten Tuchs;
- b) Wischen des Träger-Kontaktbereichs der Haut mit dem vorbereuchteten Tuch, sodass der antimikrobielle

Protease-Inhibitor auf die Haut übertragen wird;

c) Berühren der Haut mit einem wegwerfbaren, absorbierenden Artikel; und

d) Wiederholen der Schritte a) bis c).

5. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß den Ansprüchen 1 oder 2, wobei das aromatische Diamidin gewählt ist aus der Gruppe umfassend Pentamidin und Hexamidin, wobei das aromatische Diamidin bevorzugter Hexamidin-Diisethionat ist.

6. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß den Ansprüchen 1, 2 oder 4, wobei die Flüssigkeit ein Lösemittel mit mindestens 50 Gew.-% der Flüssigkeit aufweist, wobei das Lösemittel gewählt ist aus der Gruppe umfassend Öl, Alkohol, Wasser und Gemische davon.

7. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß Anspruch 1, wobei die Flüssigkeit ferner aufweist mit Hexamidin-Diisethionat 0,0005 bis 10 Gew.-% der Flüssigkeit.

8. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß den Ansprüchen 1, 2 oder 5 bis 7, wobei die Fasern in dem Substrat chemisch miteinander gebunden sind.

9. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß den Ansprüchen 1, 2 oder 5 bis 8, wobei der antimikrobielle Protease-Inhibitor eine  $IC_{50}$  auf gereinigtem Trypsin von weniger als 1000  $\mu\text{M}$  zeigt.

10. Vorbefeuchtetes Tuch gemäß den Ansprüchen 1, 2 oder 5 bis 8, wobei der antimikrobielle Protease-Inhibitor eine inhibierende Mindest-Konzentration für Escherichia coli von weniger als 1000  $\mu\text{M}$  zeigt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen