(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0110937
(43) 공개일자 2021년09월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 33/42 (2006.01) *A61P 31/16* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 33/42 (2013.01)
A61P 31/16 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2020-0025815
(22) 출원일자 2020년03월02일
심사청구일자 2020년03월02일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
전복실
서울특별시 동대문구 경희대로 24, 의과대학(회기동)
이수화
경기도 군포시 곡란로74번길 16-7, 102호(산본동, 거성빌라)
(74) 대리인
특허법인 하나

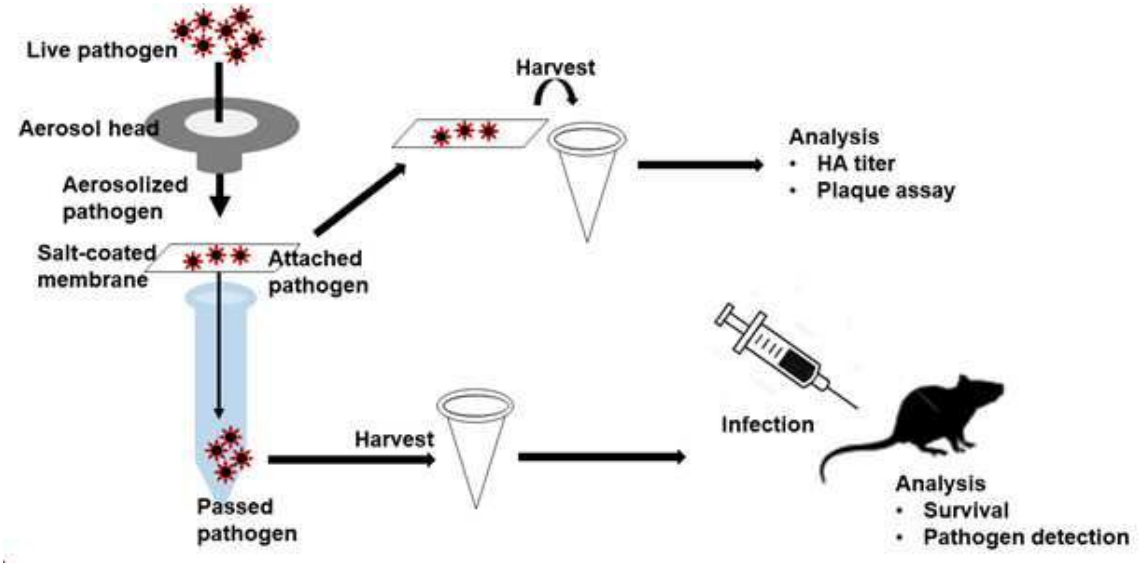
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **감염성 호흡기 바이러스 차단용 조성물 및 이의 용도**

(57) 요 약

본 발명은 인산 나트륨(sodium phosphate)을 포함하는 바이러스 차단용 조성물 및 이를 포함하는 바이러스 차단용 마스크 필터에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
B01D 2239/0442 (2013.01)
B01D 2239/0471 (2013.01)
B01D 2239/10 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2018R1A6A1A03025124
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공분야 기초 연구 사업/ 중점연구소 지원사업
연구과제명 활성산소 조절을 통한 만성 질병 예방 치료에 관한 연구
기 여 율 50/100
과제수행기관명 경희대학교 산학협력단 (서울)
연구기간 2018.06.01 ~ 2021.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2018R1A2B6003535
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공분야 기초 연구 사업/ 중견연구자 지원사업
연구과제명 말라리아 감염병 대응 바이러스 유사입자 백신 개발 연구
기 여 율 30/100
과제수행기관명 경희대학교 산학협력단 (서울)
연구기간 2018.03.01 ~ 2021.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ01320501
부처명 농림축산식품부
과제관리(전문)기관명 농촌진흥청
연구사업명 차세대바이오 그린 21
연구과제명 바이러스 유사입자 기술기반의 가금류 고병원성 조류인플루엔자 예방백신 개발
기 여 율 20/100
과제수행기관명 경희대학교 산학협력단 (서울)
연구기간 2018.01.01 ~ 2020.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

인산 나트륨(sodium phosphate)을 포함하는 바이러스 차단용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은 인산 나트륨 0.5M 이상 10M 이하의 농도로 포함하는 것인, 바이러스 차단용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 바이러스는 H3N2 또는 H5N1 아형의 인플루엔자인 것인, 바이러스 차단용 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 H3N2 아형의 인플루엔자는 A/Hong Kong/68 (H3N2)인, 바이러스 차단용 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 H5N1 아형의 인플루엔자는 A/Viet Nam/1203/2004 (H5N1)인, 바이러스 차단용 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 바이러스 차단용 조성물을 포함하는 바이러스 차단용 마스크 필터.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 바이러스 차단용 조성물은 마스크 필터 표면에 코팅된 것인, 바이러스 차단용 마스크 필터.

청구항 8

인산 나트륨(sodium phosphate)을 마스크 필터에 코팅하는 단계;를 포함하는, 바이러스 차단용 마스크 필터 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 인산 나트륨은 0.5M 이상 10M 이하의 농도로 마스크 필터에 코팅되는 것인, 바이러스 차단용 마스크 필터 제조방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 바이러스는 H3N2 또는 H5N1 아형의 인플루엔자인 것인, 바이러스 차단용 마스크 필터 제조방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인산 나트륨(sodium phosphate)을 포함하는 바이러스 차단용 조성물 및 이를 포함하는 바이러스 차단용 마스크 필터에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 사람의 전염성 질환에는 호흡기 질환 등의 다양한 질환이 있는데, 이들은 세균이나 진균, 바이러스 등에 의해 유발된다. 특히 바이러스는 100 nm 이하의 크기를 가지고 있는 경우가 대다수이어서, 이를 완전하게 여과할 수 있는 방법은 쉽지 않다. 인플루엔자 바이러스 감염에 의한 독감은 매년 발생하며 간헐적으로 대유행이 일어나 수백만 명이 생명을 잃기도 한다. 2009년에는 돼지 인플루엔자가 발생하여 전세계적으로 수만 명이 사망하기도 하였다.

[0003] 인플루엔자 바이러스는 동물에도 감염되는데 조류나 돼지 등은 인플루엔자 바이러스의 중간 숙주 동물로 작용하기도 하며, 특히 조류는 모든 형의 인플루엔자 바이러스의 유전형을 포함하고 있어서 새로운 인플루엔자 바이러스 변종을 발생시키는데 주요한 역할을 하고 있는 것으로 생각되고 있다. 인플루엔자 바이러스가 포함된 공기의 흡입은 특히 감염된 환자 또는 동물과 함께 일하는 사람에게 감염의 경로가 될 수 있다. 감염된 환자의 호흡이나 기침, 가래에서 배출되는 공기에는 무수히 많은 바이러스를 포함하고 있으며, 동물의 분변 등에서도 바이러스가 배출되어 이러한 환경에서 같이 작업을 하거나 생활을 같이 할 경우에는 인플루엔자 바이러스에 감염될 확률이 높다.

[0004] 적절한 필터물질이 혼합되어 있는 마스크는 공기로 전파되는 바이러스의 감염으로부터 예방할 수 있는 효과적인 수단이다. 최근에는 마스크 필터 소재로 바이러스나 기타 미생물을 제거하는 공기필터를 포함하는 부직포 소재, 직경이 작고 정전기적 원리를 이용하여 미세 입자를 차단하는 필터 등이 사용되고 있다. 한편, 종래 공지된 바이러스 차단용 마스크는 직경 80-300 nm 이하의 감염성 호흡기 바이러스를 방어 또는 차단하는 효과가 미흡하다는 문제가 있어왔다.

[0005] 이에, 작은 크기의 감염성 호흡기 바이러스 까지도 효과적으로 차단 및 방어할 수 있는 마스크 필터, 마스크 소재 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제 10-2019-0030221호

(특허문헌 0002) 한국등록특허 제 10-1772716호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 인산 나트륨(sodium phosphate)을 포함하는 바이러스 차단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 상기 조성물을 포함하는 바이러스 차단용 마스크 필터를 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 바이러스 차단용 마스크 필터 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 일 측면은, 인산 나트륨(sodium phosphate)을 포함하는 바이러스 차단용 조성물에 관한 것이다.

[0011] 본 발명에서 “인산 나트륨(sodium phosphate)”은 분자식이 NaH_2PO_4이고, 무색결정 및 백색분말의 화학물질이다. 물에 잘녹고, 수용액은 알칼리성이며 알코올에는 불용성인 특징을 가지고 있다. 일반적으로 인산나트륨은 식품분야, 공업분야, 기타 사료, 의약, 치약 등에 다양하게 활용될 수 있을 정도로 안전성이 보장된

물질 중 하나이다. 식품 분야에서는 pH완충제, 유화분산제, 식품의 산패 및 발효 억제제, 면류가공 조직개량제, 어육연제품의 탄력증강제, 치즈유화제, 통조림변색방지, 이온봉쇄제, 당면 국수, 픽품결면제, 견과류, 연육, 당절임, 곡류가공, 서류가공, 전분가공, 당류가공, 품질개량제(어육 반죽제품, 유제품), 아이스크림의 부피증가, 식품 갈변방지 및 광택 등을 위한 용도로 활용된다. 공업분야에서는 청관제, 경수연화제, 금속표면처리제, 합성고무제조, EPS 팽창제, 염료분산(침투제), 농약, 시약, 인쇄, 세척제, 세제, 수처리제, 금속이온 봉쇄제 등에 활용되고 있다.

[0012] 본 발명에서는 이미 다양한 용도로 활용되고 있는 인산 나트륨이 직경 200 nm 이하, 보다 자세하게는 80 nm 의 크기가 아주 작은 감염성 호흡기 바이러스 방어 또는 차단에 상당한 효과가 있음을 구체적인 실험을 통해 규명하였다. 이에 본 발명에서는 바이러스 차단 용품 예컨대, 바이러스 차단용 마스크 등에 간단하게 인산 나트륨으로 코팅하여 바이러스 차단 및 방어 효과를 쉽게 얻을 수 있는, 인산 나트륨을 포함하는 바이러스 차단용 조성물을 제공하고자 한다.

[0013] 구체적으로, 상기 조성물은 인산 나트륨을 0.5M 이상 10M 이하의 농도로 포함할 수 있다. 보다 구체적으로, 1M 이상 10M 이하로 포함할 수 있으며, 보다 더 구체적으로는 1M 이상 5M 이하로 포함할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 인산 나트륨을 적용하여 우수한 바이러스 차단 효과를 나타냄을 확인하였다.

[0014] 상기 바이러스는 인플루엔자 바이러스일 수 있다.

[0015] 본 발명에서 “바이러스”는 생존에 필요한 핵산과 소수의 단백질로 구성되어 숙주에 의존하며 살아가는 세균보다 작아 세균 여과기로도 분리할 수 없는 작은 입자를 말한다. 바이러스는 식물 바이러스와 동물 바이러스로 분류할 수 있고, 식물 바이러스에는 담배모자이크병 바이러스, 카사바모자이크병 바이러스, 감자Y 바이러스, 사탕무황색병 바이러스, 오이모자이크병 바이러스 등이 있으며, 동물 바이러스에는 일본 뇌염 바이러스, 뎅기 바이러스, 황열 바이러스, 폴리오 바이러스, 콕사키 바이러스, 에코 바이러스, 간염 바이러스, 광견병 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 아데노 바이러스 등이 포함된다.

[0016] 본 발명에서 “바이라서 차단”은 바이러스의 성장 및/또는 활성을 억제, 방지 또는 바이러스를 사멸시키는 작용을 일컫는다. 본 발명의 구체적 일 실시예로서 인간 호흡기 감염 바이러스 예컨대, 인플루엔자의 활성을 억제, 방지 또는 사멸시키는 것일 수 있다.

[0017] 본 발명에서 “인플루엔자”는 RNA 오르토믹소바이러스(orthomyxoviruses)이고 세가지 유형 A, B 및 C로 이루어진다. B형과 C형의 인플루엔자 바이러스는 주로 인간 병원균인 반면, 인플루엔자 A 바이러스는 인간, 말, 해양포유류, 돼지, 흰족제비 및 닭을 포함하며, 야생의 다양한 조류 및 포유류를 감염시킨다. 인플루엔자 A 바이러스는 표면 글리코단백질을 암호화하는 2개의 유전자, 즉 바이러스 부착 및 세포 방출에 요구되는 헤마글루티닌(HA) 및 뉴라미니다아제(NA)의 항원 영역에서의 대립 변형을 기준으로 서브 유형으로 분류될 수 있다. 기타의 주요 바이러스 단백질은 뉴클레오단백질, 뉴클레오캡시드 구조 단백질, 막단백질(M1 및 M2), 폴리머라제(PA, PB 및 PB2) 및 비-구조 단백질(NS1 및 NS2)을 포함한다. 현재 인플루엔자 A 바이러스에서 HA의 16가지 서브타입(H1-H16) 및 9가지의 NA(N1-N9) 항원 변이체가 알려져 있다. 인플루엔자 바이러스 서브타입은 추가로 그들의 계통적 그룹을 참조하여 분류될 수 있다. 계통적 분석(Fouchier et al., 2005)은 HA의 세분화가 두 개의 주요 그룹으로 나누어짐을 개시한다: 계통적 그룹 1의 H1, H2, H5 및 H9 서브타입 및 계통적 그룹 2의 H3, H4 및 H7.

[0018] 구체적으로, 상기 바이러스는 H3N2 또는 H5N1 아형의 인플루엔자일 수 있다.

[0019] 보다 구체적으로, 상기 H3N2 아형의 인플루엔자는 A/Hong Kong/68 (H3N2)일 수 있다. 상기 A/Hong Kong/68 (H3N2)는 인플루엔자 A형 바이러스로 홍콩에서 분리된 바이러스로서 H3와 N2의 항원형을 갖는 바이러스이다.

[0020] 또한, 상기 H5N1 아형의 인플루엔자는 A/Viet Nam/1203/2004 (H5N1)일 수 있다. 상기 A/Viet Nam/1203/2004 (H5N1)는 인플루엔자 A형 바이러스로서 베트남에서 2004년에 1203번째로 분리된 바이러스로 H5와 N1의 항원형을 갖는 바이러스이다.

[0021] 본 발명의 일 실시예에서 상기 인산 나트륨을 포함하는 조성물이 코팅된 필터에 부착된 인플루엔자 바이러스의 활성도를 측정한 결과, 99.9% 이상 인플루엔자 바이러스가 비활성화됨을 확인하였다(도 3).

[0022] 본 발명의 일 실시예에서 상기 인산 나트륨이 코팅된 필터에 부착되지 않고 통과한 인플루엔자 바이러스의 양 및 활성도를 측정한 결과, 상당히 적은 양만이 검출됨을 확인하였다. 나아가, 통과한 인플루엔자 바이러스의 상당수가 비활성화됨을 확인하였다(도 4).

[0023] 상기와 같은 결과를 통해, 상당 수준의 인플루엔자 바이러스가 인산 나트륨이 코팅된 필터를 통과하지 않고, 부

착되어 비활성됨을 시사한다.

[0024] 본 발명의 일 실시예에서는 상기 인산 나트륨이 코팅된 필터를 통과한 바이러스를 마우스에 처리한 결과, 마우스의 폐에서 현저히 적은 양의 바이러스 검출되었으며, 마우스의 생존율 또한 증가함을 확인하였다(도 5, 도 6 및 도 7).

[0025] 상기와 같은 결과는 본 발명의 인산 나트륨을 포함하는 조성물이 인플루엔자 바이러스와 같이 작은 크기를 가진 바이러스 차단에 우수한 효과가 있음을 시사한다.

[0026] 본 발명의 다른 측면은 상기 바이러스 차단용 조성물을 포함하는 바이러스 차단용 마스크 필터에 관한 것이다.

[0027] 본 발명에서 “마스크”는 병균이나 먼지 등의 이물질이 체내로 침투하지 못하도록 입과 코를 가리는 물건을 일컬으며, 감염성 바이러스를 차단 및 방어하기 위한 바이러스 차단용 마스크 등이 있을 수 있다. 일반적으로 상기 바이러스 차단용 마스크는 사용자의 안면 위 제위치에 유지하도록 하는 수단, 바이러스를 차단하고, 사용자의 흡입 및/또는 흡출 공기가 필터 물질이 통과할 수 있는 마스크 필터를 포함한다.

[0028] 본 발명에서 “마스크 필터”는 호흡기를 통해 각종 바이러스들 침입을 효과적으로 차단하여 사용자의 호흡기를 효과적으로 보하하는 기능을 하는 것을 말한다.

[0029] 본 발명의 필터에 사용 가능한 물질은 당업계에 공지된 필터 제조용 물질이면 제한없이 사용 가능하다. 예컨대 면직물, 셀룰로스, 울(wool), 폴리올레핀, 폴리에스테르, 폴리아미드, 레이온, 폴리아크릴로니트릴, 셀룰로스, 아세테이트, 폴리스티렌, 폴리비닐 및 섬유로 가공될 수 있는 임의의 합성 중합체 등의 직물을 포함할 수 있으며, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 폴리에스테르, 나일론, PET 및 PLA 등의 부직포 직물을 포함할 수 있다.

[0030] 구체적으로, 상기 바이러스 차단용 조성물은 마스크 필터 표면에 코팅된 것일 수 있다.

[0031] 상기 코팅은 물체 겉면에 수지 등으로 얇은 막을 입히거나, 용액이나 액체 물질 등을 떨어트리고 얇게 펴 막을 씌우는 행위 등을 포함한다. 구체적으로, 마스크 필터에 인산 나트륨을 분주하여 건조시킴으로써, 인산 나트륨이 얇게 코팅되어 있는 형태의 마스크 필터일 수 있다.

[0032] 본 발명의 일 실시예에서 마스크 필터에 인산 나트륨을 코팅시킨 뒤 그 위에 에러조로화된 인플루엔자 바이러스를 분주한 결과, 필터에 부착된 바이러스의 99.9%가 비활성화됨을 확인하였다(도 3).

[0033] 본 발명의 일 실시예에서 인산 나트륨이 코팅된 마스크 필터에 부착되지 않고 통과한 인플루엔자 바이러스의 양 및 활성도를 측정한 결과, 인산 나트롬이 코팅되지 않은 필터와 비교하여 바이러스의 양이 현저히 적게 검출되었으며, 바이러스의 비활성화율 또한 현저히 높음을 확인하였다(도 4).

[0034] 본 발명의 일 실시예에서 인산 나트륨이 코팅된 마스크 필터를 통과한 바이러스를 마우스에 처리한 후 생존율을 확인한 결과, H3N2 아형의 바이러스의 경우, 인산 나트륨이 코팅되지 않은 필터에 비해 마우스의 생존율이 증가하였으며, H5N1 아형의 바이러스의 경우, 인산 나트륨이 코팅되지 않은 필터를 통과한 바이러스를 마우스에 처리한 경우와 비교하여 마우스의 체중 변화가 현저하게 감소됨을 확인하였다(도 6 및 도 7).

[0035] 상기와 같은 결과는 인산 나트륨이 코팅된 마스크 필터가 작은 크기의 감염성 호흡기 바이러스를 효과적으로 차단할 수 있고, 일부 필터를 통과하더라도 아주 적은 양이어서, 바이러스 차단용도의 마스크 필터로서 효과으로 활용될 수 있음을 시사한다.

[0036] 본 발명의 또 다른 측면은 인산 나트륨(sodium phosphate)을 마스크 필터에 코팅하는 단계;를 포함하는, 바이러스 차단용 마스크 필터 제조방법에 관한 것이다.

[0037] 상기 '인산 나트륨', '마스크 필터', '바이러스' 등에 관한 설명은 전술한 바와 동일하다.

[0038] 구체적으로, 상기 인산 나트륨은 0.5M 이상 10M 이하의 농도로 마스크 필터에 코팅되는 것일 수 있다. 보다 구체적으로, 1M 이상 10M 이하로 포함할 수 있으며, 보다 더 구체적으로 1M 이상 5M 이하로 포함할 수 있다.

[0039] 본 발명의 일 실시예에서는 인산 나트륨을 종래 마스크 필터로 사용되는 작은 직경을 가진 필터에 분사하여, 인산 나트륨으로 코팅된 바이러스 차단용 마스크 필터를 제조하였다.

[0040] 또한 구체적으로, 상기 바이러스는 H3N2 또는 H5N1 아형의 인플루엔자인 것일 수 있다. 즉, 상기 방법은 H3N2 또는 H5N1 아형의 인플루엔자 차단용 마스크 필터 제조방법일 수 있다.

[0041] 보다 구체적으로, 상기 H3N2 아형의 바이러스는 A/Hong Kong/68 (H3N2)일 수 있다. 상기 A/Hong Kong/68

(H3N2)는 인플루엔자 A형 바이러스로 홍콩에서 분리된 바이러스로서 H3와 N2의 항원형을 갖는 바이러스이다.

[0042] 또한, 상기 H5N1 아형의 인플루엔자는 A/Viet Nam/1203/2004 (H5N1)일 수 있다. 상기 A/Viet Nam/1203/2004 (H5N1)는 인플루엔자 A형 바이러스로서 베트남에서 2004년에 1203번째로 분리된 바이러스로 H5와 N1의 항원형을 갖는 바이러스이다.

[0043] 본 발명의 일 실시예에서는 작은 직경을 가지는 마스크 필터에 인산 나트륨 을 처리하여 코팅시킨 후 에어로졸화된 인플루엔자 바이러스를 처리한 결과, 대부분이 필터에 부착되어 비활성화 되었고, 일부 필터를 통과된 바이러스도 인산 나트륨의 농도 의존적으로 비활성화되거나, 또는 치명적이지 않은 정도의 바이러스가 관찰됨을 확인하였다(도 3 내지 도 7).

발명의 효과

[0044] 본 발명의 인산 나트륨을 포함하는 바이러스 차단용 조성물은 작은 크기의 감염성 호흡기 바이러스 차단 및 방어에 효과적이면서 나아가 인체에 무해하여, 바이러스 차단 용도로서 다양하게 활용될 수 있다.

[0045] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 제한되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 인산 나트륨(sodium phosphate)이 코팅된 마스크 소재의 바이러스 차단 효과를 확인하기 위한 실험 설계도를 나타낸 것이다.

도 2는 인산 나트륨이 코팅된 마스크 필터를 현미경으로 관찰한 결과를 나타낸 것이다(A: 대조군, B: 1M의 염화나트륨 코팅, C: 3M의 염화나트륨 코팅, D: 5M의 염화나트륨 코팅)

도 3은 인산 나트륨 코팅된 필터에 묻은 바이러스의 활성도(Plaque assay)를 측정한 결과를 나타낸 것이다(A: H3N2 인플루엔자 바이러스 B: H5N1 인플루엔자 바이러스).

도 4는 인산 나트륨 코팅된 필터를 통과한 바이러스의 활성도(Plaque assay)를 측정한 결과를 나타낸 것이다(A: H3N2 인플루엔자 바이러스 B: H5N1 인플루엔자 바이러스).

도 5는 마우스 필터를 통과한 바이러스를 마우스 내 감염시킨 후, 폐를 수집하여 바이러스 양(Lung virus titer)을 측정한 결과를 나타낸 것이다(A: H3N2 인플루엔자 바이러스 B: H5N1 인플루엔자 바이러스).

도 6은 마우스 필터를 통과한 H3N2 인플루엔자 바이러스를 마우스 내 감염시킨 후, 마우스의 생존율을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 7은 마우스 필터를 통과한 H5N1 인플루엔자 바이러스를 마우스 내 감염시킨 후 마우스의 몸무게 변화 및 생존율을 측정한 결과를 나타낸 것이다(A: 마우스의 몸무게 변화율 B: 마우스의 생존율).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0048] **실시예 1. 인산 나트륨(sodium phosphate) 코팅된 마스크 필터 제조**

[0049] 1 M, 3 M, 5 M의 인산 나트륨 용액(인산 나트륨 및 1% Tween-20 in D.W)을 준비하였다. 100 mm dish 사이즈를 가진 마스크 필터에 상기 인산 나트륨 용액 2 ml을 분주한 뒤, 37℃에서 밤새 배양하였다. 그리고 37℃에서 밤새 건조시켰다(도 2).

[0050] **실험예 1. 인산 나트륨(sodium phosphate) 코팅된 마스크의 바이러스 차단 효과 확인**

[0051] 1-1. H3N2 인플루엔자 바이러스 차단 효과

[0052] A/Hong Kong/68 (H3N2) 8 mg/ml을 준비한 후, 에어로졸(Aerosol) 기계에 10 ul 분주하여, 에어로졸화된 바이러스를 준비하였다. 염 코팅되지 않은 필터(Bare), 1M의 인산 나트륨이 코팅된 필터(1M SP), 3M의 인산 나트륨이 코팅된 필터(3M SP), 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터(5M SP)에 상기 에어로졸화된 바이러스를 분사하였다. 이후, 필터에 부착되어있는 바이러스와 필터를 통과한 바이러스를 각각 수집하였다.

[0053] 필터에 부착되어 있는 바이러스 및 필터를 통과한 바이러스의 양을 측정하기 위하여 MDCK cell에 감염시켜 플라크 에세이(plaque assay)를 수행하였다. 구체적으로, MDCK cell을 12 웰 플레이트에 약 150%가 되도록 배양한 후, 바이러스를 구체적으로 상기 정량하고자 하는 바이러스 부유액을 10^{-1}에서 10^{6}까지 10배수로 희석시켜 희석액을 웰 당 0.25 mL씩 접종시켰다. 30분 정도 바이러스를 흡착시킨 후, overlay media를 가하였다. 이 상태에서 세포 배양기에 넣고 37℃, 5% CO_2 조건에서 2-3일 후 plaque를 카운팅 하였다. overlay media는 영양을 공급함과 동시에, 최초의 감염 세포에서 증식된 바이러스가 배지를 통하여 퍼져나가 주위 세포를 이차 감염시키는 것을 방지하는 역할을 하도록 겔(gel) 상태가 되도록 배지를 만들었다. 플라크 카운팅(plaque counting)을 용이하게 하기 위하여 0.25% 글루타르알데하이드(glutarahldehyde)를 300 ul/well를 첨가하여 세포를 고정하고, overlay media를 제거하여 1% 크리스탈 바이올렛(cyristal violet을 웰 당 400 ul 첨가하여 세포단층을 염색하였다. 플라크 수를 세고, 접종량과 희석배수를 감안하여 바이러스 stock의 titer는 plaque forming units per milliliter (PFU/mL)로 나타내었다. 이때 계산시 오류를 최소화 하기 위하여 여러 희석 배수를 사용하였으며, plaque가 10~40개 정도 형성되는 플레이트(plate)로 카운팅하여 titer를 계산하였다.

[0054] [식 1]

[0055] Plaque 수 x 희석배수 x mL로 환산한 접종량 = PFU/mL

[0056] 그 결과, 인산 나트륨이 코팅된 필터에 부착된 바이러스는 인산 나트륨의 농도가 높아짐에 따라 바이러스의 활성도가 현저히 줄어드는 것을 확인하였다. 특히 인산화 나트륨이 코팅되지 않은 대조군(Bar)에 비해 1M, 3M, 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터의 바이러스가 각각 99.997%(1M SP), 99.999%(3M SP), 100%(5M SP) 비활성화됨을 확인하였다(도 3A).

[0057] 또한, 필터에 부착되지 않고 통과한 바이러스의 활성도를 측정한 결과, 대조군(Bare)과 비교하여 볼 때, 1M, 3M, 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터 통과한 그룹에서 바이러스가 각각 26%(1M SP), 93%(3M SP), 99.92%(5M SP) 비활성화됨을 확인하였다(도 4A).

[0058] 1-2. H5N1 인플루엔자 바이러스 차단 효과

[0059] A/Viet Nam/1203/2004 2 mg/ml을 준비한 후, 에어로졸(Aerosol) 기계에 10 ul 분주하여, 에어로졸화된 바이러스를 준비하였다. 염 코팅되지 않은 필터(Bare), 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터(5M SP)에 상기 에어로졸화된 바이러스를 분사하였다. 이후, 필터에 부착되어있는 바이러스와 필터를 통과한 바이러스를 각각 수집하였다.

[0060] 필터에 부착되어 있는 바이러스 및 필터를 통과한 바이러스의 양은 상기 1-1의 plaque assay의 방법과 동일하게 수행하였다.

[0061] 그 결과, 인산화 나트륨이 코팅된 필터에 부착된 바이러스는 인산화 나트륨의 농도가 높아짐에 따라 바이러스의 활성도가 줄어드는 것을 확인하였다. 구체적으로, 대조군(Bar)에 비해 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터에서 바이러스가 100% 비활성화됨을 확인하였다(도 3B).

[0062] 또한, 일부 필터에 부착되지 않고 통과한 바이러스의 양을 측정한 결과, 대조군(Bare)에 비해, 97%정도 바이러스가 적게 검출됨을 확인하였다(도 4B).

[0063] 상기와 같은 결과를 통해, 인산 나트륨을 필터에 처리함으로써 인플루엔자 바이러스 비활성화 효과가 현저히 향상됨을 확인하였는 바, 이는 바이러스 차단 효과가 우수함을 시사한다.

[0064] **실험예 2. 마우스를 이용한 폐 내 바이러스 활성도 및 생존율 확인**

[0065] 2-1. H3N2 바이러스 감염 마우스의 인산 나트륨 필터 효과 확인

[0066] 상기 실험예 1-1에서 에어로졸화시킨 바이러스와 1M, 3M, 5M 인산 나트륨 코팅된 필터를 통과한 바이러스를 수집하여 마우스에 100 ul씩 감염시켰다. 일부 마우스는 감염 4일째에 폐를 수집하여 바이러스 양을 관찰하였으며, 나머지 마우스에서는 생존율을 관찰하였다.

[0067] 폐에서의 바이러스의 양은 상기 1-1의 plaque assay의 방법과 동일하게 수행하였다.

[0068] 그 결과, 대조군(Bar)에 비해 1M, 3M, 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터를 통과한 바이러스 수치가 현저히 적게 검출되었다. 구체적으로 대조군(Bar)과 비교하여 바이러스가 각각 12%(1M SP), 53.43%(3. SP), 73%(5M SP) 적게 검출되었다(도 5A).

[0069] 또한, 바이러스 감염시킨 마우스의 생존율을 확인한 결과, 염이 코팅되지 않은 필터를 통과한 대조군(Bar)의 바이러스를 처리한 마우스는 6일 이내에 전부 사망한 반면, 3M, 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터를 통과한 바이러스 처리 마우스에서는 각각 20%, 80% 이상 생존함을 확인하였다. 나아가 생존환 마우스의 몸무게 및 외형이 정상적으로 회복됨을 확인하였다(도 6).

[0070] 2-2. H5N1 바이러스 감염에 의한 마우스 생존율 확인

[0071] 상기 실험예 1-2에서 에어로졸화시킨 바이러스와 5M 인산 나트륨 코팅된 필터를 통과한 바이러스를 수집하여 마우스에 100 ul씩 감염시켰다. 감염시킨 일부 마우스의 폐를 4일째 수집하여 바이러스 양을 관찰하였으며, 나머지 마우스는 몸무게 변화 및 생존율을 확인하였다.

[0072] 폐에서의 바이러스의 양은 상기 1-1의 plaque assay의 방법과 동일하게 수행하였다.

[0073] 그 결과, 대조군(Bar)에 비해 5M의 인산 나트륨이 코팅된 필터를 통과한 바이러스를 처리한 마우스의 폐에서 바이러스 수치가 95.98% 적게 검출되었다(도 5B).

[0074] 또한, 바이러스 감염시킨 마우스의 생존율을 확인한 결과, 에어로졸화시킨 바이러스 감염 마우스는 10일 이내에 전부 사망하였으며, 몸무게 역시 25% 이상 감소하였다. 반면, 적은 양의 바이러스를 마우스에 처리한 만큼, 대조군(Bar) 그룹 및 5M 인산 나트륨 코팅된 필터를 통과한 바이러스를 처리한 마우스 모두 생존하였지만, 몸무게 변화를 확인한 결과, 대조군(Bar) 그룹 처리한 마우스에서 체중감소가 현저하게 나타남을 확인하였다(도 7).

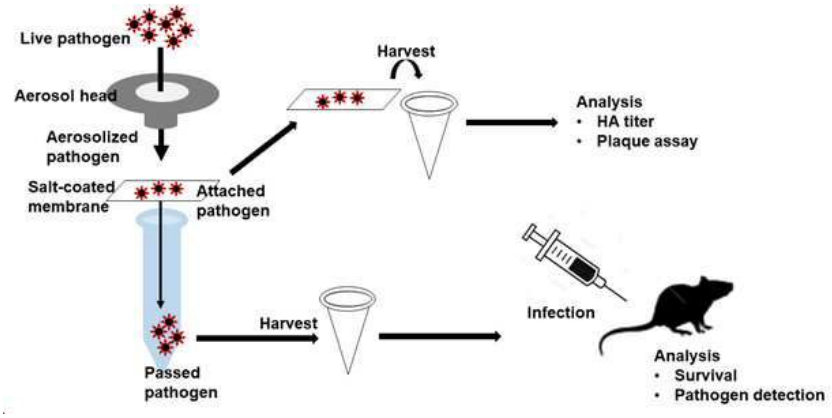
[0075] 상기와 같은 결과는 인산 나트륨으로 코팅한 필터가 대부분의 바이러스를 비활성화 시킬 수 있음을 시사하는 바, 인산 나트륨을 포함하는 조성물을 바이러스 차단용 마스크 필터에 활용할 수 있음을 시사한다.

[0076] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

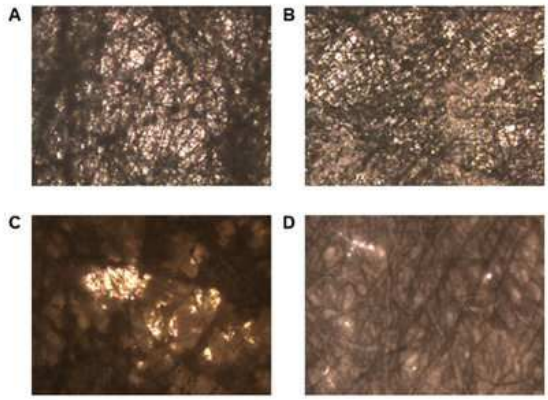
[0077] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

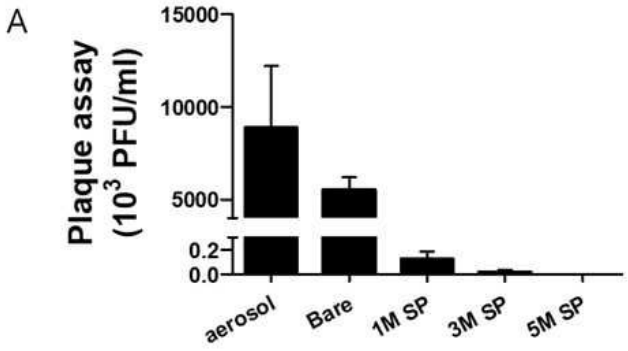
도면1

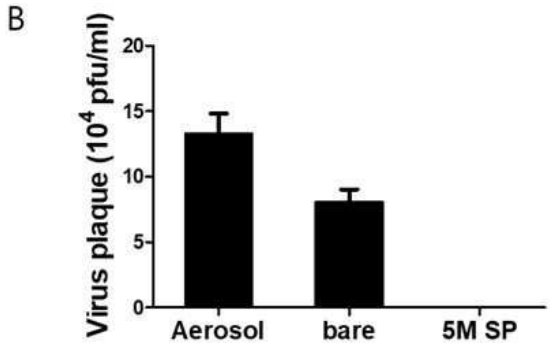


도면2

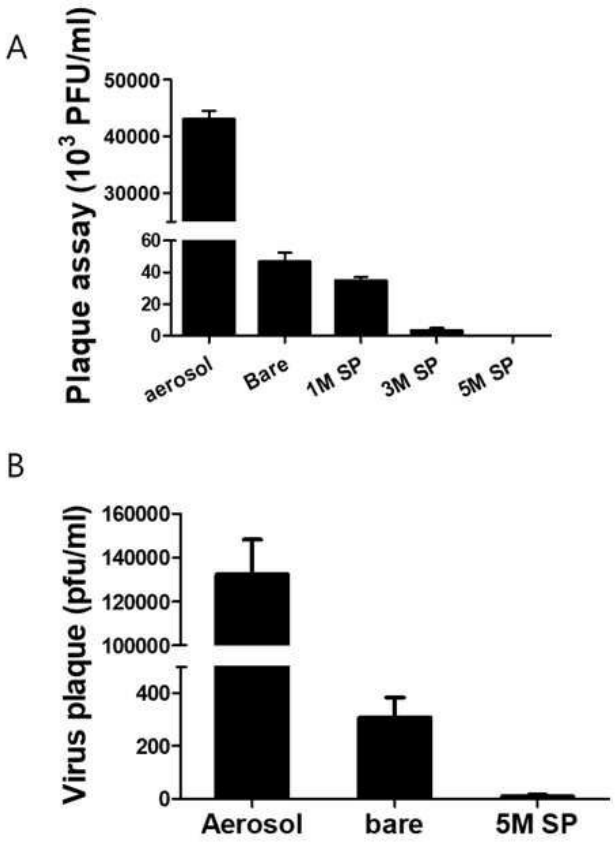

A
B
C
D

도면3

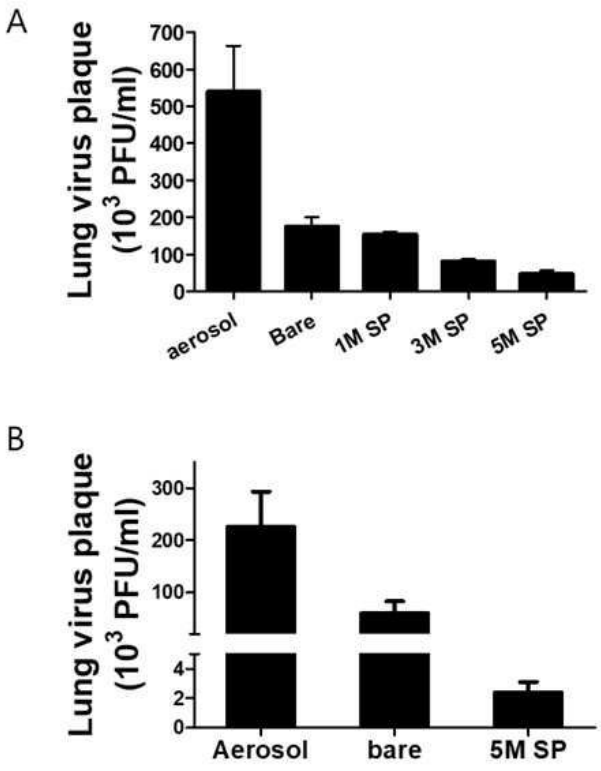

A
Plaque assay
(10^3 PFU/ml)
15000
10000
5000
0.2
0.0
aerosol
Bare
1M SP
3M SP
5M SP


B
Virus plaque (10^4 pfu/ml)
20
15
10
5
0
Aerosol
bare
5M SP

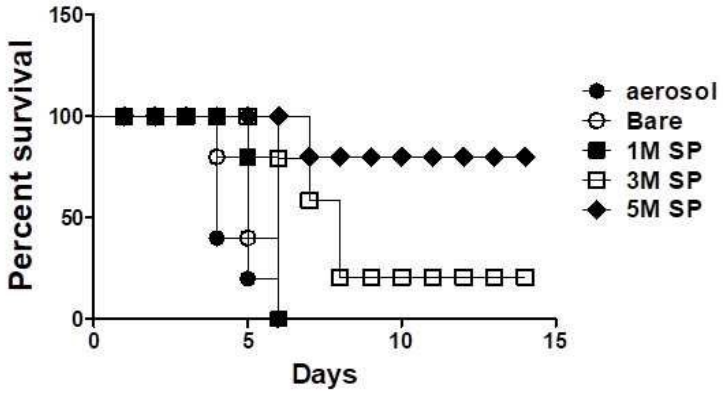
도면4


A
Plaque assay (10^3 PFU/ml)
50000
40000
30000
60
40
20
0
aerosol
Bare
1M SP
3M SP
5M SP
B
Virus plaque (pfu/ml)
160000
140000
120000
100000
400
200
0
Aerosol
bare
5M SP

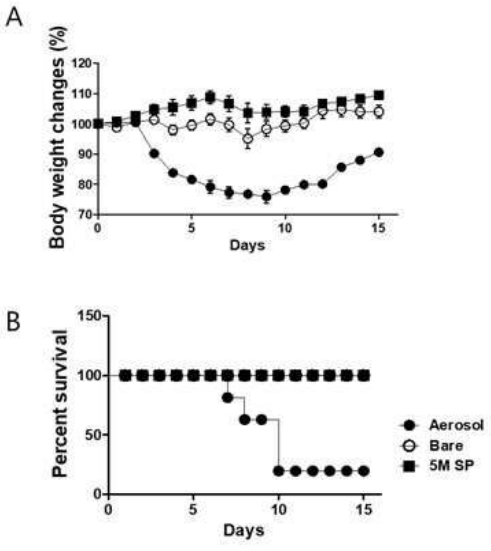
도면5


A
Lung virus plaque (10^3 PFU/ml)
700
600
500
400
300
200
100
0
aerosol
Bare
1M SP
3M SP
5M SP
B
Lung virus plaque (10^3 PFU/ml)
300
200
100
4
2
0
Aerosol
bare
5M SP

도면6


Percent survival
150
100
50
0
0
5
10
15
Days
aerosol
Bare
1M SP
3M SP
5M SP

도면7


A
Body weight changes (%)
120
110
100
90
80
70
0
5
10
15
Days
B
Percent survival
150
100
50
0
0
5
10
15
Days
Aerosol
Bare
5M SP