



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년03월06일

(11) 등록번호 10-1499824

(24) 등록일자 2015년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 33/20 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)

A61K 33/40 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-7020287

(22) 출원일자(국제) 2007년01월22일

심사청구일자 2012년01월25일

(85) 번역문제출일자 2008년08월19일

(65) 공개번호 10-2008-0093132

(43) 공개일자 2008년10월20일

(86) 국제출원번호 PCT/US2007/060854

(87) 국제공개번호 WO 2007/085018

국제공개일자 2007년07월26일

(30) 우선권주장

60/760,557 2006년01월20일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

WO2005065383 A2*

US20050139808 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

오클루스 이노바티브 사이언시즈 인코포레이티드

미합중국, 캘리포니아 94954, 페달루마, 맥도웰 블러바드, 1129 엔

(72) 발명자

알리미, 호야브르

미국 95403 캘리포니아주 산타 로사 바이센테니얼 웨이 #428 230

구티에레즈, 안드레스

미국 94954 캘리포니아주 페달루마 엔. 맥도웰 블러바드 1129

(74) 대리인

양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 9 항

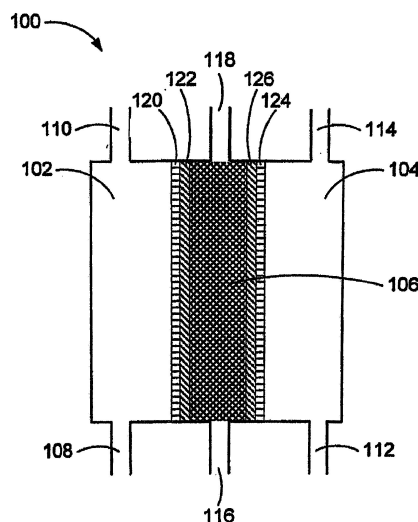
심사관 : 성선영

(54) 발명의 명칭 산화 환원 전위 수용액을 사용한 염증 및 과민증의 치료 또는 예방 방법

(57) 요약

본 발명은 적어도 약 24 시간 동안 안정한 치료상 유효량의 산화 환원 전위 (ORP) 수용액을 투여하여 염증 및 관련 상태 (예를 들면, 감염, 과민증, 통증)을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 하나 이상의 적합한 담체와 조합하여 사용할 수 있고, 하나 이상의 추가의 요법제와 함께 투여할 수 있다.

대표도 - 도1



(30) 우선권주장

60/760,567	2006년01월20일	미국(US)
60/760,635	2006년01월20일	미국(US)
60/760,645	2006년01월20일	미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

적어도 2개월 동안 안정하며 pH가 6.4 내지 7.8인 치료상 유효량의 산화 환원 전위 수용액을 포함하며,
여기서 산화 환원 전위 수용액은 음극수 및 양극수의 혼합물을 포함하고, 차아염소산, 차아염소산 이온, 차아염소산나트륨, 아염소산 이온, 용해된 염소 기체 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 유리 염소종을 포함하는 것이고, 여기서 유리 염소 종은 15 ppm 내지 35 ppm의 차아염소산 및 25 ppm 내지 50 ppm의 차아염소산나트륨을 포함하는 것이며,
산화 환원 전위 수용액이 비만 세포의 탈과립을 억제하여 아토피성 피부염을 치료하는 것인,
환자에서 아토피성 피부염을 치료하거나 또는 예방하기 위한 제약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 국소 투여되는 제약 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 피부 조직에 투여되는 것인 제약 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 액체, 스프레이, 에어로졸, 미스트 또는 스프레이로 투여되는 제약 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 에어로졸화, 분무화 또는 미립자화에 의해 투여되는 제약 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 산화 환원 전위 수용액이 적어도 6개월 동안 안정한 것인 제약 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 산화 환원 전위 수용액의 pH가 7.4 내지 7.6인 제약 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 산화 환원 전위 수용액이 음극수를 10 내지 50 부피% 포함하고, 양극수를 50 내지 90 부피% 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 유리 염소 종이 15 ppm 내지 35 ppm의 차아염소산, 25 ppm 내지 50 ppm의 차아염소산나트륨을 포함하고, 상기 용액의 pH가 6.2 내지 7.8이며 적어도 2개월 동안 안정한 것인 제약 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

명세서

[0001] <관련 출원에 대한 상호 참조>

[0002] 본 특허 출원은 미국 특허 가출원 제60/760,635호 (2006년 1월 20일 출원); 동 제60/760,567호 (2006년 1월 20일 출원); 동 제60/760,645호 (2006년 1월 20일 출원); 및 동 제60/760,557호 (2006년 1월 20일 출원) (이들은 모두 그 전문이 상기 거명을 통해 본원에 참고로 포함됨)의 이점을 주장한다.

배경 기술

[0003] 염증은 유해한 자극으로부터 발생할 수 있는 생물학적 반응으로, 정상적으로는 상기 자극을 제거하거나 그의 영향을 개선시키기 위한 것이다. 정상적으로는 생존을 증진시키기 위한 것이지만, 염증은 숙주, 특히 포유동물에서 손상을 유발할 수 있다. 염증을 일으키는 자극 또는 상해는 내재적 요인 (예를 들면, 자가-항원 또는 자극성 제액) 또는 외재적 요인 (예를 들면, 이물질 또는 감염성 물질)에 의해 유발될 수 있다.

[0004] 염증은 "급성" 및 "만성"으로 분류된다. 급성 염증은 통상적으로 몇 분 내지 몇 시간, 일부 경우에는 며칠 동안의 상대적으로 짧은 지속 기간을 갖는 것이다. 급성 염증은 상해 부위에서의 유액 및 혈장 단백질의 삼출 및 다형핵 백혈구 (PMNL)의 축적을 특징으로 할 수 있다. 급성 염증은 보통 상해에 대한 반응으로 방출된 세포 분자에 의해 매개되는 상해 부위의 혈류 증가를 포함한다. 증가된 혈관 투과성은 또한 세포 매개물질에 기인할 수 있으며, 단백질-풍부 유액의 축적을 유발한다. 이러한 증가된 혈류 및 혈관 투과성의 중요한 매개물질은 비만 세포로부터의 히스타민, 세로토닌 및 브래디키닌을 포함한다.

[0005] 급성 염증에서, PMNL은 또한 상해 부위로 유인되고, 혈류를 벗어나 상해를 향해 이동한다. PMNL은 조직 손상을 유발할 수 있는 독성 대사물질 및 프로테이나제를 방출한다. 이들 프로테이나제는 세포막을 손상시킬 수 있는 보체계의 단백질 및 브래디키닌을 생성하는 칼리크레인을 포함한다. 급성 염증은 완전하게 해결되거나, 농양을 형성하거나, 섬유증 흉터가 생기게 하거나 또는 만성 염증으로 진행될 수 있다.

[0006] 만성 염증은 몇 주 내지 몇 개월, 아마도 몇 년 동안 지속되는 보다 오랜 지속 기간을 갖는 것으로, 조직 파괴 및 손상을 복구하기 위한 생물학적 과정이 동시에 진행된다. 만성 염증은 보다 통상적으로는 림프구 및 대식

세포와 연관이 있으며, 혈관 증식, 섬유증 및/또는 괴사를 포함할 수도 있다. 만성 염증은 지속적인 감염, 독성 물질에 대한 장기 노출 및 자가면역 반응을 비롯한 다수의 상태로 인해 발생할 수 있다. 만성 염증은 지속되는 상해 부위에서의 림프구 및 대식 세포에 의한 시토킨의 생성에 의해 유지되기도 한다. 만성 염증은 영구적인 조직 손상을 초래하거나 또는 완전하게 치유될 수 있다.

[0007] 과민증은 일반적으로 숙주에서 손상을 유발하는 염증을 나타내며, 이 때 손상은 숙주에 대한 이점을 증가한다. 과민증은 예를 들면 아나필락시스(anaphylaxis), 이식 거부반응 및 자가면역 질환을 비롯한 심각한 병적 상태를 초래할 수 있다. 가장 흔한 유형의 과민증은 알레르기이다.

[0008] 유도 인자 및 노출 기간에 관계없이, 염증 반응은 여러 개의 다양한 유형의 세포 및 분자에 의해 매개되며, 이러한 분자로는 시토킨, 성장 인자, 응고 인자, 효소, 신경전달물질 및 보체 단백질 등이 있다. 이들 분자는 주로 상해유발 물질에 대한 반응에서 섬유아세포, 내피 및 침윤 세포 (예를 들면, 대식 세포, 림프구, 비만 세포, 다형핵 세포, 등), 및 국부 신경에 의해 분비된다. 방출되는 혼합물 및 이에 포함된 시토킨의 양은 유도 물질의 유형, 농도 및 노출 시간에 따라 달라질 것이다. 따라서, 이들 단백질은 급성 국부 염증 반응으로부터 치명적인 전신 반응 (예를 들면, 급성 전신 염증 반응 증후군, SIRS; 패혈성 쇼크와 같은 복합 장기 부전; 아나필락시스 등)까지 매개할 수 있다. 만성 염증 과정에서, 시토킨은 예를 들면 욱아종, 조직 경결 및 피낭성 농양을 생성하는 침윤 세포를 계속적으로 점점 더 많이 동원한다. 임의의 경우에, 염증 과정 동안 분비되는 단백질은 최종 반응의 등급 및 지속성에 중요한 작용물질이다.

[0009] 유도 물질에 의한 상기 언급된 세포의 자극은 궁극적으로는 시토킨 및 전염증 반응을 구성하는 다른 염증 매개 물질을 생성 및 분비하는 세포내 신호전달 사건의 캐스케이드를 유도한다. 전염증 반응은 병원체 또는 알레르겐의 효과적인 제거에 중요하지만, 생성된 염증 매개물질은 조직 손상 및 염증을 유발한다. 따라서, 중증의 조직 손상을 방지하기 위해 상기 반응의 활성화 및 하향조절 사이에 균형이 유지될 필요가 있다 (문헌 [Cohen, J.:The immunopathogenesis of sepsis. Nature 2002 420, 885-891]). 상기 반응의 조절 이상은 국부적 손상 (예를 들면, 폐 섬유증)을 유도할 수 있거나 또는 이전에 언급한 패혈성 쇼크 및 전신 염증 반응 증후군 (SIRS)과 같은 치명적일 수 있는 증상을 야기할 수 있다. 이와 같이, 미생물 알레르겐, 내독소 및 그 밖의 다수의 분자가 인체에서 상이한 세포에 의한 전염증성 매개자 단백질의 생성을 유도한다. 살아있는 조직에서 이들 모든 분자의 복합된 효과는 그 밖의 다수의 반응 중에서 응고계, 상처 치유 과정, 항미생물 활성화, 항체 생산 및 통증 인식에서의 변화를 매개할 수 있다.

[0010] 전신 염증 반응 증후군 (SIRS)은 중기관 손상 또는 확인가능한 균혈증이 나타나지 않는 전신 염증의 특징을 포함하는 증후군이다. SIRS는 패혈증, 중증의 패혈증 또는 패혈성 쇼크와는 별개로 구별된다. SIRS에서 패혈증으로의 전이에는 혈액에서 확인된 병원체의 존재가 중요하다. SIRS의 병리 생리학적 현상은 보체 활성화, 시토킨 및 아라키돈산 대사물질 분비, 자극된 세포-매개성 면역, 응고 캐스케이드의 활성화 및 체액성 면역 메커니즘을 포함하나, 이들로 한정되지는 않는다. 임상적으로, SIRS는 빈맥, 빈호흡, 저혈압, 저관류, 폐노, 백혈구 증가증 또는 백혈구 감소증, 발열 또는 저체온, 대사성 산증, 및 체적 지지물질에 대한 필요를 특징으로 한다. SIRS는 모든 기관계에 영향을 미칠 수 있고, 복합 장기 기능부전 증후군 (MODS)을 초래할 수 있다. 따라서, 심지어는 초기 단계에서도 (즉, SIRS), 일차적 염증 부위 및 혈액에 전염증성 시토킨이 축적되며, 이는 복합 장기 부전 및 사멸 확립에 기여할 수 있다.

[0011] 통상적으로, 염증은 스테로이드성 또는 비-스테로이드성 소염 약물로 치료된다. 그러나, 통상적인 소염 요법으로 인해 여러 가지 장애, 예를 들면 전신 독성, 알레르기 반응, 인슐린 내성, 고혈압, 심장 독성, 신장 독성, 다양한 응고장애 및 위 미란이 나타날 수 있다. 따라서, 자극은 적지만 안전하고 효과적인 염증 치료 또는 예방 방법이 요망되고 있다.

[0012] 본 발명은 이러한 방법을 제공한다. 본 발명의 상기 및 다른 이점 뿐만 아니라 추가의 본 발명의 특징은 본원에 제공된 발명의 상세한 설명 부분으로부터 명백해질 것이다.

[0013] <발명의 간단한 요약>

[0014] 본 발명은 적어도 24 시간 동안 안정한 치료상 유효량의 산화 환원 전위 (ORP) 수용액을 환자에게 투여하여 환자에서 염증을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 다양한 원인 요소, 예를 들면 알레르기 반응, 자가면역 반응, 감염, 하나 이상의 염증-유발 물질과의 접촉, 및 이들 원인 요소의 조합으로부터 발생하는 염증의 치료에 이용될 수 있다.

[0015] 본 발명의 방법은 ORP 수용액을 하나 이상의 요법제, 예를 들면 항생제, 항바이러스제, 소염제 및 이들의 조합

으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 화합물과 함께 투여하는 것을 더 포함할 수 있다. 상기 요법제를 ORP 수용액과 함께 투여하는 것은 하나 이상의 상기 제제를, 예를 들면 ORP 수용액을 투여하기 전에, 투여하는 동안 (예를 들면, 동시에, 공동-투여에 의해, 또는 조합하여), 또는 투여한 후에 투여하는 것을 포함한다.

[0016]

ORP 수용액은 치료상 유효량의 ORP 수용액이 신체의 내부 또는 외부에 존재할 수 있는 하나 이상의 이환 조직과 접촉하도록, 본 발명에 따라 임의의 안정한 경로에 의해, 예를 들면 ORP 수용액의 국소 또는 비경구 전달 경로에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명은 ORP 수용액을 하나 이상의 조직, 예를 들면 비강, 부비동, 인두, 기관, 폐, 식도, 위, 장, 중피, 복막, 활액, 방광, 요로, 질, 자궁, 수란관, 췌장, 신경, 경구, 피부 및 피하에 투여하는 방법을 제공한다. ORP 수용액은 본 발명에 따라 임의의 적합한 형태, 예를 들면 액체, 스프레이, 미스트, 에어로졸 또는 스팀으로 투여될 수 있고, 바람직한 경우 하나 이상의 적합한 담체, 예를 들면 비히클, 아주반트, 부형제, 희석제 등과 함께 투여될 수 있다.

[0017]

본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 밀봉된 용기에 함유될 수 있고, 적어도 24 시간 동안 안정하다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 전기 분해에 의해 생성될 수 있고, 바람직하게는 예를 들면 반응성 종, 이온 종, 라디칼 종, 이들의 전구물질 및 이들의 조합을 비롯한 하나 이상의 종을 함유하는, 양극수와 음극수의 혼합물을 포함한다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 강력한 소염 활성을 나타내지만, 정상 조직 및 정상 진핵 세포에는 실질적으로 독성을 나타내지 않는다.

발명의 상세한 설명

[0032]

본 발명은 적어도 약 24 시간 동안 안정한 치료상 유효량의 산화 환원 전위 (ORP) 수용액 (또한, 초과산화수 (SOW)로도 알려져 있음)을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 염증을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 예를 들면 알레르기에서와 같은 과민증을 포함하는 급성 염증 및 만성 염증을 치료 또는 예방하는데 (예를 들면, 발병 억제, 단계적 확대 억제, 가능성 감소) 사용될 수 있다. 본 발명의 방법에 따라 치료할 수 있거나 예방할 수 있는 염증 및 과민증에는, 예를 들면 유해한 자극과의 접촉, 손상, 감염, 자가면역 반응, 과민증 및 알레르기 반응 (세포내 히스타민 방출 및 전염증성 시토킨 방출과 연관된 알레르기 반응 포함)으로부터 발생한 염증이 포함될 수 있다.

[0033]

놀랍게도, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액이 주요 염증 및 알레르기-유발 생물학적 캐스케이드 중 하나인 비만 세포 탈과립의 매우 효과적인 억제제인 것으로 밝혀졌다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 이들이 항원 또는 칼슘 이온 운반체로 활성화되는지 여부에 관계없이 비만 세포의 탈과립을 억제한다. 또 놀랍게도, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액이 비만 세포에서 전염증성 시토킨의 분비를 비-선택적으로 억제하는 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 본 발명의 ORP 수용액은 비만 세포에서, 예를 들면 TNF- α , MIP 1- α , IL-6 및 IL-13의 분비를 억제할 수 있다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 대식 세포, 단핵 세포, 림프구, 대식 세포, PMN, 섬유아세포 및 내피 세포 등을 비롯한 그 밖의 다른 시토킨-분비 세포에서 전염증성 시토킨의 분비를 억제할 수 있을 것으로 생각된다. 이러한 발견은 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수가 광범위한 소염 효능을 나타낼 것임을 입증한다.

[0034]

본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 바람직하게는 약 30 분까지, 보다 바람직하게는 약 15 분까지, 보다 더 바람직하게는 약 5 분까지 ORP 수용액과 접촉시켰을 때 비만 세포 탈과립을 처리되지 않은 비만 세포에 비해 약 50% 이상, 보다 바람직하게는 처리되지 않은 비만 세포에 비해 약 80% 이상, 보다 더 바람직하게는 처리되지 않은 비만 세포에 비해 약 90% 이상, 보다 더 바람직하게는 처리되지 않은 비만 세포에 비해 약 95% 이상 억제한다.

[0035]

본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 바람직하게는 TNF- α 의 분비를 약 50% 이상, 보다 바람직하게는 약 60% 이상, 보다 더 바람직하게는 약 70% 이상, 보다 더 바람직하게는 약 85% 이상 억제한다. 또한, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 바람직하게는 MIP1- α 의 분비를 25% 이상, 보다 바람직하게는 약 50% 이상, 보다 더 바람직하게는 약 60% 이상 억제한다. 또한, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 바람직하게는 IL-6 및/또는 IL-13의 분비를 25% 이상, 보다 바람직하게는 약 50% 이상, 보다 더 바람직하게는 약 60% 이상 억제한다. 본 발명의 방법에 따라, 상기 분비 및 다른 시토킨의 분비는 ORP 수용액의 성분의 농도를 증가시키고/거나, 특수 전달 시스템을 사용하고/거나 노출 시간을 증가시키면서 ORP 수용액을 단독으로 투여하거나 또는 희석제 (예를 들면, 물)와 함께 투여함으로써 특정 비율 (%)로 치료적으로 하향 억제될 수 있다. 예를 들면, 시토킨 분비는 ORP 수용액이 예를 들면 약 50% (부피/부피)까지의 ORP 수용액/희석제의 비, 약 25% (부피/부피)까지의 ORP 수용액/희석제의 비, 약 10% (부피/부피)까지의 ORP 수용액/희석제의 비, 약 5% (부피/부피)까지의 ORP 수용액/희석제의 비, 또는 심지어는 약 1% (부피/부피)까지의 ORP 수용액/희석제의

비로 희석된 조성물을 투여하여 치료적으로 억제될 수 있다.

- [0036] 본 발명의 방법은 SLE, 자가면역 갑상선염, 사르코이드증, 염증성 장 질환, 류마티스성 관절염, 류마티스열, 건선, 천포창, 다형성 홍반, 피부의 다른 수포성 질환, 및 아토피성 질환 등을 비롯한, 자가면역 반응으로부터 발생한 세포-매개성 염증을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 방법은 감염, 알레르겐, 이물질 및 자가면역 과정으로부터 발생하는 염증을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 방법은 또한 예를 들면, 감염으로부터 발생한 과민증 및 자가면역-매개성 염증을 비롯하여, 바이러스, 박테리아 및 진균으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 미생물에 의한 감염으로부터 발생한 염증을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 방법은 상부 호흡 증상과 연관된 염증을 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있다. 염증이 상부 호흡 증상과 연관이 있는 경우, ORP 수용액은 바람직하게는 증상에 의해 영향을 받는 하나 이상의 상부 기도 조직과 접촉하도록, 상부 기도에, 예를 들면 스프레이, 미스트, 에어로졸 또는 스팀으로 투여된다. 본 발명에 따라 하나 이상의 상부 호흡 증상이 치료 또는 예방되도록 ORP 수용액을 상부 기도에 전달하기 위해, 본원에 기재된 하나 이상의 투여 경로를 비롯한 임의의 적합한 방법이 사용될 수 있다.
- [0038] 본 발명의 방법은 하나 이상의 상부 호흡 기도 조직 (예를 들면, 비강 조직, 부비동 조직) 또는 폐 조직에 영향을 미치는 염증을 예방 또는 치료하는데 사용될 수 있다. 이러한 증상에는, 예를 들면 부비동염 (예를 들면, 비부비동염, 급성 부비동염, 만성 부비동염 등), 인두염, 천식 등이 포함될 수 있으며, 이들은 본 발명에 따라 투여되는 ORP 용액으로 예방할 수 있거나 치료할 수 있다.
- [0039] 만성 부비동염은 통상적으로 적어도 3 주 동안 지속되는 부비동의 염증을 나타내는 것이나, 이 염증은 수개월, 또는 심지어 수년 동안 지속될 수 있다 (지속되기도 한다). 알레르기는 주로 만성 부비동염과 연관된다. 또한, 천식 환자에서 특히 만성 부비동염이 자주 나타난다. 먼지, 곰팡이 및 화분과 같은 공중 알레르겐 (알레르기 반응을 야기하는 물질)의 흡입은 알레르기 반응 (예를 들면, 알레르기성 비염)을 발생시키기도 하며, 다시 부비동염 (특히, 비부비동염 또는 비염)에 기여할 수 있다. 진균에 대한 알레르기가 있는 사람에게서 "알레르기성 진균 부비동염"으로 불리우는 증상이 발생할 수 있다. 공기 및 건물 내의 습한 날씨 또는 오염물질은 또한 만성 부비동염에 걸리기 쉬운 사람에게 영향을 줄 수 있다.
- [0040] 급성 부비동염과 같이, 만성 부비동염은 면역 결핍 또는 점액 분비 또는 이동의 이상 (예를 들면, 면역 결핍, HIV 감염, 낭포성 섬유증, 카르타게너 증후군(Kartagener's syndrome))이 있는 환자에서 보다 흔히 나타난다. 또한, 몇몇 환자는 중증의 천식, 비폴립, 및 아스피린 및 아스피린-유사 약제 (소위 비-스테로이드성 소염 약물, 또는 NSAID)에 대한 중증의 천식 반응을 나타낸다. 후자에 속하는 환자는 빈도수가 높은 만성 부비동염을 갖는다.
- [0041] 의사는 문진, 신체 검사, X-선, 필요에 따라서는 MRI 또는 CT 스캔 (자기 공명 영상화 및 컴퓨터 X-선 단층 촬영)에 의해 부비동염을 진단할 수 있다. 부비동염 진단 및 가능한 원인의 확인에 이어, 의사는 염증을 감소시키고 징후를 완화시키는 치료 과정을 처방할 수 있다. 급성 부비동염의 치료는 통상적으로 비도 배액의 재확립, 염증 발생원인의 제어 또는 제거, 및 통증의 완화를 필요로 한다. 의사는 일반적으로 충혈을 감소시키기 위한 충혈완화제, 박테리아 감염을 제어하기 위한 항생제, 존재하는 경우 통증을 감소시키기 위한 통증 완화제를 추천한다.
- [0042] 약물 치료가 실패한 경우, 예를 들면 아데노이드 제거, 비폴립 제거, 중격 만곡의 복구, 부비동의 내시경 수술 등의 수술만이 만성 부비동염의 치료를 위한 대안이 될 수 있다. 본 발명의 방법에 따른 ORP 수의 투여가 항생제 및 수술과 같이 보다 공격적인 요법을 피할 수 있는 대안으로서 만성 부비동염 및 이와 관련된 염증의 치료에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.
- [0043] 인두염에 대해서는, 전세계의 진료소, 의원 및 응급실의 모든 방문객의 1 내지 2%는 인두염 때문인 것으로 추정된다. 미국 및 멕시코에서, 인두염 및 편도염은 각각 매년 기록된 진찰이 약 1500만 및 1200만을 차지하는 것으로 생각된다. 이들의 경우는 통상적으로 다양한 박테리아 및 바이러스에 의해 유발된다. 또한, A군 β -용혈성 스트렙토코커스 (*Streptococcus*)에 의해 유발된 인두염 및 편도염이 빈곤층 집단에서 류마티스열의 위험을 상당히 증가시킬 수 있으나, 인두염 질환의 5 내지 15%만이 상기 바이러스에 의해 유발되며, 급성 질환의 나머지는 역학적 관련성이 거의 없는 박테리아 및 바이러스 때문인 것으로 여겨진다. 후자는 며칠 안에 자기제한 (self-limiting)되는 경향이 있으며, 후유증이 없다.
- [0044] 전세계 대다수의 의사들은 급성 인두염에 대해 항생제를 무차별적으로 처방하는 것으로 확인되었다. 이는 종종

환자가 강력한 항생제를 요구하는 경향이 있기 때문에 매일 진료시 발생한다. 불행하게도, 임상적으로 연쇄상구균성 인두염/편도염의 정확한 진단을 확립하는 것은 어렵고, 항생제를 이용한 급성 인두염/편도염 치료의 비용/이점 비율은 의심스럽다.

[0045] 본 발명의 방법은 박테리아 및/또는 바이러스에 의한 급성 인두염 및/또는 편도염의 치료 또는 예방을 위한 안전하고, 효능이 있으며, 비용면에서도 효율적인 보조 요법을 제공하는 것으로 여겨진다. 급성 인두염/편도염의 경험적인 치료는 본 발명에 따라 ORP 수용액을 투여하는 것으로 시작할 수 있으며, 스트렙토코커스에 대한 신속한 테스트 결과 또는 진전에 따라 필요한 경우에 한해 항생제는 48 내지 72시간 후부터 개시될 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법은 인두염/편도염이 A군 스트렙토코커스로부터가 아닌 경우 항생제의 사용을 늦출 수 있고 동시에 환자의 증상을 감소시키고 환자의 회복을 가속화시킬 수 있다. 연쇄상구균성 인두염/편도염의 치료를 위해 항생제와 함께 본 발명의 ORP 수용액을 보조적으로 사용하는 것은 또한 임상 반응 기간을 단축시킬 수 있으며 재발률을 줄일 수 있다.

[0046] 본 발명의 방법은 또한 과민증과 연관된 염증의 치료 또는 예방에 사용될 수 있다. 역사적으로, 과민증 반응은 심각한 질환을 초래할 수 있는 4 가지의 유형 중 하나로 분류되어 왔다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 하나 이상의 상기 반응의 치료 및/또는 예방 (예를 들면, 발병 억제, 단계적 확대 억제 또는 가능성 감소)에 사용될 수 있다. 제I형 과민증은 통상적으로 비만 세포 또는 호염기구에 결합된 항체와 항원의 조합으로부터 발생한다. 제I형 반응은 사전에 항원에 대해 감작화시킨 개체에서 항원에 노출시킨지 몇 분 이내에 일어난다. 인간에서, 제I형 반응은 비만 세포 및 호염기구 상에 고친화도 Fc 수용체를 갖는 IgE에 의해 매개된다.

[0047] 제I형 과민증에서 비만 세포의 역할은 이들이 혈관 및 신경에서 가까운 상피 표면 아래 조직에 위치하기 때문에 특히 중요하다. 아토피성 피부염, 알레르기 비염 및 아토피성 천식에서 관찰된 여러 임상 징후는 별개의 이환 조직에 위치한 비만 세포의 IgE-항원 자극에 의해 생성된다. 아토피성 천식의 발병 기전의 현재 받아들여지고 있는 관점은 소위 반응 초기에 알레르겐이 매개자, 예를 들어 히스타민, 류코트리엔, 프로스타글란딘, 키니신, 혈소판 활성화 인자 (PAF) 등을 방출시키기 위해 IgE-보유 폐 비만 세포(MC)를 촉발시킴으로써 과정을 개시시킨다는 것이다 (문헌 [Kumar et al., Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease, 2004, pp. 193- 268] 참조, 본원에 참고로 포함됨). 다시, 이들 매개자는 기관지수축을 유도하고, 혈관 투과성 및 점액 생성을 향상시킨다. 상기 모델에 따르면, 후기에서의 비만 세포 활성화 후에, 이들 세포는 호산구, 호염기구, T 림프구, 혈소판 및 단핵 식세포와 같은 다른 염증 세포의 국부 동원 및 활성화에 참여하는, 중앙 피사 인자 α (TNF- α), IL-4, IL-5 및 IL-6을 비롯한 다양한 시토킨을 분비한다. 이들 동원된 세포는 다시 이후에 자율성이 될 수 있는 염증 반응의 발생에 기여하고, 천식 징후를 악화시킨다. 상기 후기 반응은 주위 조직의 변화를 유도하게 되는 장기간의 염증 과정을 구성한다 (문헌 [Kumar et al., pp. 193-268] 참조). 임상적으로, 제I형 반응은 알레르기 비염과 같은 국부적 효과, 또는 가려움, 두드러기, 호흡 곤란 및 순환 붕괴가 나타나는 아나필락시스에서 발견되는 것과 같은 전신 효과를 나타낼 수 있다.

[0048] 제II형 과민증은 세포 표면 상 및 세포의 공간의 항원에 대해 지시된 항체에 의해 매개된다. 이들 항체는 세포 용해를 지시하거나 또는 표적 분자를 오프소닌화 (다른 세포에 의한 식균 작용의 생성)시킬 수 있다. 다르게는, 항체는 세포 표면 수용체에 대해 지시되어 이를 활성화시킬 수 있다. 제II형 반응으로부터 발생한 증상은 수혈 반응, 그레이브스병(Graves disease) (갑상선종동증), 약물 반응, 악성 빈혈 및 급성 류마티스열을 포함한다. 류마티스열에서, 항체는 연쇄상구균성 항원에 대해 형성되지만, 열 판막과 같이 인간 조직과 교차-반응한다.

[0049] 제III형 과민증은 항체 및 다른 숙주 면역계 단백질, 가장 통상적으로는 보체 단백질이 조합된 면역 복합체에 의해 유발된다. 항체의 정상적인 기능은 보체에 결합하여 이를 활성화시키는 것이다. 그러나, 생성된 거대분자 면역 복합체가 적절하게 처리되지 않는 경우, 이들은 지속적인 조직 손상을 야기할 수 있다. 대식세포 및 PMNL은 면역 복합체에 의해 활성화 될 수 있고, 이들 세포에 의해 독성 화학물질의 방출을 야기할 수 있다. 면역 복합체 반응은 국부적일 수 있고, 예를 들면 아르투스(arthus) 반응과 같은 증상을 유발할 수 있거나, 혈청 질병 또는 전신 홍반성 루푸스 (SLE)의 일부 양상과 같은 전신 질환을 유발할 수 있다.

[0050] 제IV형 과민증은 세포 매개성이고, 지연형 과민증으로 불리기도 한다. 제IV형 과민증은 T 림프구에 의해 매개되고, 종종 육아종성 반응의 형성을 초래한다. 육아종성 반응에서, 유사피 세포로 불리우는 대식세포가 형성되어 항원을 분해하고자 하였으나 실패하였다. 항원의 지속성은 추가의 림프구를 유인하는 시토킨 방출을 유도하여 염증의 만성 병소를 생성시킨다. 병소에는 고농도의 세포독성 T-림프구가 존재하며, 이들이 인접한 세포에 독성인 그랜자임 및 페르포린을 방출한다. 제IV형 과민증은, 예를 들면 쇼그렌 증후군(Sjogren's Syndrome), 유육종증 및 접촉성 피부염과 같은 자가면역 질환의 중요한 성분이다.

- [0051] 병적 상태는 상이한 유형의 과민증 반응을 조합시킬 수 있다. 자가면역 질환에서, 숙주 항원은 과민증을 자극하여 숙주 세포에 심각한 결과를 초래한다. 예를 들면, SLE 숙주에서, 항원은 혈액 세포에 대한 제II형 반응을 유도하는 반면, 제III형 반응은 혈관 및 신장 사구체 손상을 야기한다. 또한, 과민증 반응은 약물 반응 및 이식 거부반응과 같은 의원성 상태에서도 관찰된다. 이식 거부반응은 제II형 및 제IV형 과민증의 성분을 포함한다. 따라서, 이식가능한 기관 또는 세포에서 본 발명에 따라 사용되는 ORP 수용액은 숙주에 의한 거부반응이 일어날 가능성을 크게 감소시킬 수 있다.
- [0052] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 정상 조직 및 정상 포유동물 세포에 대한 독성이 실질적으로 존재하지 않음이 밝혀졌다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 진핵세포 생존성의 유의한 감소, 세포자멸의 유의한 증가, 세포 노화의 유의한 촉진 및/또는 포유동물 세포에서 유의한 산화성 DNA 손상을 야기하지 않는다. 아마도 놀랍게도, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액의 소독력이 과산화수소와 거의 동등하지만, 과산화수소보다 정상 조직 및 정상 포유동물 세포에 대한 독성이 유의하게 적음을 고려할 때 비-독성이 특히 유리하다. 상기 발견은 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액이 예를 들어 인간을 포함하는 포유동물에서 사용하기 안전함을 입증한다.
- [0053] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액에 대해, 세포 생존률은 ORP 수용액에 약 30분 노출된 후에 바람직하게는 적어도 약 65%, 보다 바람직하게는 적어도 약 70%, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 75%이다. 또한, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 바람직하게는 ORP 수용액과 약 30분 이하 동안 접촉시켰을 때 (예를 들어, ORP 수용액과 약 30 분 또는 약 5 분 동안 접촉한 후에) 단지 약 10%까지의 세포, 보다 바람직하게는 약 5%까지의 세포, 보다 더 바람직하게는 약 3%까지의 세포만이 그의 세포 표면 상의 에릭신-V에 노출되도록 한다.
- [0054] 또한, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 ORP 수용액에 대한 장기 노출 후에 바람직하게는 약 15% 미만의 세포, 더 바람직하게는 약 10% 미만의 세포, 보다 더 바람직하게는 약 5% 미만의 세포가 SA- β -갈락토시다제 효소를 발현하도록 한다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 바람직하게는 염수 용액에 의해 유도되는 동일한 분획의 산화성 DNA 애덕트 형성, 예를 들어 동등한 조건 하에 처리된 세포에서 과산화수소에 의해 정상적으로 유도되는 산화성 DNA 애덕트 형성의 약 20% 미만, 약 10% 미만, 또는 약 5% 이하의 산화성 DNA 애덕트 형성을 유도한다.
- [0055] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 유의한 RNA 분해를 야기하지 않는다. 따라서, ORP 수용액에 약 30 분 노출한 후 또는 약 30 분 노출한 후 약 3 시간 후에 인간 세포 배양물로부터 추출하여 변성 겔 전기영동에 의해 분석한 RNA는 통상적으로 유의한 RNA 분해를 보이지 않을 것이고, 통상적으로 리보솜 진핵세포 RNA (즉 28S 및 18S)에 상응하는 2개의 특유한 밴드를 보일 것이고, 이것은 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액이 RNA를 실질적으로 무손상 상태로 유지시킴을 나타낸다. 유사하게, ORP 수용액에 약 30 분 노출한 후 또는 약 3 시간 노출한 후에 인간 세포 배양물로부터 추출한 RNA는 구성적 인간 GAPDH (글리세르알데히드-3-포스페이트 데히드로게나제) 유전자의 역전사 및 증폭 (RT-PCR)에 적용되어 RT-PCR 산물의 겔 전기영동 상에 강한 GAPDH 밴드를 생성시킬 수 있다. 이와 대조적으로, 유사한 기간 동안 HP로 처리된 세포는 유의한 RNA 분해를 보이고, 임의의 GAPDH RT-PCR 산물을 거의 보이지 않았다.
- [0056] 본 발명에 따라 사용되는 ORP 수용액은 당업계에 공지된 임의의 적합한 투여 방법을 사용하여 투여될 수 있다. 예를 들면, ORP 수용액은 비경구, 내시경 경로에 의해, 또는 임의의 생물학적 이환 조직의 표면, 예를 들면 피부 및/또는 하나 이상의 점막 표면에 직접 투여할 수 있다. 비경구 투여는, 예를 들면 ORP 수용액을 근육내, 피하, 정맥내, 동맥내, 수막강내, 낭내 경로에 의해 또는 활액 공간으로 투여하는 것을 포함할 수 있다. ORP 수용액의 내시경에 의한 투여는 예를 들면 기관지내시경, 대장내시경, 에스겔장내시경, 자궁내시경, 복강내시경, 관절내시경, 위내시경 또는 경요도 접근법을 이용하는 것을 포함할 수 있다. ORP 수용액을 점막 표면에 투여하는 것은, 예를 들면 비강, 경구, 기관, 기관지, 식도, 위, 장, 복막, 요도, 소낭, 요도, 질, 자궁, 수란관 및 활액 점막 표면에 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0057] 비경구 투여는 또한 ORP 수용액을 정맥내, 피하, 근육내 또는 복막내 투여하는 것을 포함할 수 있다. 본 발명의 ORP 수용액은, 예를 들면 ORP 수용액의 정맥내 투여를 통한 바이러스성 심근염, 다발성 경화증 및 AIDS의 치료 방법을 기재하고 있는 미국 특허 제5,334,383호 및 동 제5,622,848호 (본원에 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같이 정맥내 투여될 수 있다. 다른 적용법은 상기 언급된 바와 같이 임의의 과민증 및 감염 과정을 치료하는 것을 포함한다.
- [0058] 본 발명에 따라 사용된 ORP 수용액은, 임의의 적합한 방법, 예를 들면 에어로졸화, 분무화 또는 미립자화에 의해, 예를 들면 액체, 스프레이, 미스트, 에어로졸 또는 스팀으로서 국소 투여될 수 있다. 본 발명의 ORP 수용

액은 스팀 또는 스프레이로서 상부 기도에 투여될 수 있다. ORP 수용액이 에어로졸화, 분무화 또는 미립자화에 의해 투여되는 경우, 이는 바람직하게는 약 0.1 미크론 내지 약 100 미크론, 바람직하게는 약 1 미크론 내지 약 10 미크론 범위의 직경을 갖는 소적의 형태로 투여된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 ORP 수용액을 하나 이상의 점막 조직, 예를 들면 하나 이상의 상부 호흡 조직 및/또는 폐 조직에 약 1 미크론 내지 약 10 미크론 범위의 직경을 갖는 소적의 형태로 투여하는 것을 포함한다.

[0059]

에어로졸화, 분무화 및 미립자화에 유용한 방법 및 장치는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 의료 분무기는 수혜자에 의한 흡입을 위한 흡기 스트림 내로 계량된 용량의 생리학적으로 활성인 액체를 전달하기 위해 사용되어 왔다. 예를 들어, 미국 특허 제6,598,602호 (본원에 참고로 포함됨)를 참조한다. 의료 분무기는 흡기와 함께 에어로졸을 형성하는 액체 소적을 생성시키도록 작동할 수 있다. 다른 환경에서, 의료 분무기는 수혜자에게 적합한 습윤 함량을 갖는 기체를 공급하기 위해 물 소적을 흡기 스트림에 주입하는데 사용될 수 있고, 이것은 흡기 스트림이 기계적인 호흡 보조기, 예를 들어 호흡기, 인공호흡기 또는 마취제 전달 시스템에 의해 제공되는 경우에 특히 유용하다.

[0060]

예시적인 분무기는 예를 들어 마우스피스를 통해 수혜자의 흡입에 의해 생성되는 통과하는 공기 스트림 (흡기 스트림) 내로 의료용 액체의 소적을 분사하도록 작동되는 핸드 핸드 장치를 설명하고 있는 WO 95/01137에 기재되어 있다. 다른 예는 호흡 부전 환자에게 호흡 제어 및 증대를 제공하고 액체 약제의 입자를 환자의 기도 및 폐의 폐포 내로 전달하기 위한 분무기를 포함하는 양압 인공호흡기 시스템을 설명하고 있는 미국 특허 제 5,388,571호 (본원에 참고로 포함됨)에서 찾아볼 수 있다. 미국 특허 제5,312,281호 (본원에 참고로 포함됨)에는 낮은 온도에서 물 또는 액체를 미립자화시키고 보고된 바에 의하면 미스트의 크기를 조절할 수 있는 초음파 분무기가 기재되어 있다. 또한, 미국 특허 제5,287,847호 (본원에 참고로 포함됨)는 신생아, 소아 및 성인에게 의약 에어로졸을 전달하기 위한 것으로, 측정가능한 유속 및 배출 (output) 용적을 갖는 공기역학적 분무 설비를 기술하고 있다. 또한, 미국 특허 제5,063,922호 (본원에 참고로 포함됨)에는 초음파 미립자화기 (ultrasonic atomizer)가 기술되어 있다. ORP 수용액은 또한 폐 및/또는 기도의 감염 치료 또는 이러한 신체 일부의 상처 치유를 위한 흡입 시스템의 일부로 에어로졸 형태로 분배될 수 있다.

[0061]

더 큰 규모의 적용을 위해서는, 가습기 (humidifier), 분무기 (mister), 연무기 (fogger), 기화기 (vaporizer), 미립자화기, 물 스프레이 및 그 밖의 다른 스프레이 장치 등을 비롯한 임의의 적합한 장치가 공기 중에 ORP 수용액을 분산시키는데 사용될 수 있다. 이러한 장치는 연속적으로 ORP 수용액의 분배를 허용한다. 노즐에서 공기와 물을 직접 혼합시키는 방출기 (ejector)가 사용될 수도 있다. ORP 수용액은 저압 스팀과 같은 스팀으로 전환되어, 공기 스트림 내로 방출될 수도 있다. 초음파 가습기, 스트림 가습기 또는 기화기 및 증발식 가습기와 같은 다양한 유형의 가습기가 사용될 수 있다. ORP 수용액을 분배하기 위해서 사용되는 특정 장치는 전체 집 또는 건강관리 시설 (예를 들어, 병원, 요양원 등) 전체에 대한 ORP 수용액의 광범한 적용이 제공되도록 환기 시스템에 통합될 수도 있다.

[0062]

본 발명에 있어서, ORP 수용액은 단독으로 또는 하나 이상의 제약상 허용되는 담체, 예를 들면 비히클, 아주반트, 부형제, 희석제, 이들의 조합 등 (이들은 바람직하게는 ORP 수용액에 존재하는 하나 이상의 종과 상용성임)과 함께 투여될 수 있다. 당업자는 본 발명에 따라 사용되는 ORP 수용액의 투여에 적절한 제제 및 방법을 용이하게 결정할 수 있다. 임의의 필요한 투여량 조절은 예를 들면, 부작용, 환자의 전반적인 상태 변화 등과 같은 임상적으로 관련된 하나 이상의 인자에 비추어 치료될 증상의 특성 및/또는 중증도에 부합하도록 숙련된 전문가에 의해 용이하게 이루어질 수 있다.

[0063]

예를 들면, ORP 수용액은 ORP 수용액을 약 25% (중량/중량 또는 부피/부피)까지의 적합한 담체, 약 50% (중량/중량 또는 부피/부피)까지의 적합한 담체, 약 75% (중량/중량 또는 부피/부피)까지의 적합한 담체, 약 90% (중량/중량 또는 부피/부피)까지의 적합한 담체, 약 95% (중량/중량 또는 부피/부피)까지의 적합한 담체, 또는 심지어 약 99% (중량/중량 또는 부피/부피)까지 또는 이를 초과하는 적합한 담체와 합하거나 이들로 희석하여 제제화할 수 있다. 적합한 담체로는, 예를 들면 물 (예를 들면 증류수, 멸균수, 예를 들면 주사용 멸균수, 멸균 염수 등)이 있을 수 있다. 적합한 담체는 또한 미국 특허 출원 제10/916,278호 (본원에 참고로 포함됨)에 기재된 하나 이상의 담체를 포함할 수 있다. 예시적인 제제는 예를 들면 ORP 수용액을 멸균수 또는 멸균 염수로 희석한 용액을 포함할 수 있으며, 이 때 ORP 수용액은 약 25% (부피/부피)까지, 약 50% (부피/부피)까지, 약 75% (부피/부피)까지, 약 90% (부피/부피)까지, 약 95% (부피/부피)까지, 또는 99% (부피/부피)까지 또는 이를 초과하는 적합한 담체로 희석된다.

[0064]

본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 하나 이상의 추가의 요법제, 예를 들면 항박테리아제 (예를 들면,

항생제), 항바이러스제, 소염제, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 활성 화합물과 함께 (또는 동시에) 투여될 수 있다.

[0065] 본 발명의 문맥에서 환자, 예를 들어 포유동물, 특히 인간에게 투여되는 치료상 유효량은 합리적인 기간에 걸쳐 환자에게서 치료학적 또는 예방적 반응을 제공하는데 충분하여야 한다. 투여량은 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 용이하게 결정될 수 있다. 당업자는 임의의 특정 환자에 대한 구체적인 투여량 수준이 잠재적으로 치료상 관련있는 다양한 요인에 따라 좌우될 수 있음을 인지할 것이다. 예를 들어, 투여량은 사용되는 특정한 ORP 수용액의 강도, 증상의 중증도, 환자의 체중, 환자의 연령, 환자의 신체적 및 정신적 상태, 일반적인 건강 상태, 성별, 식사, 적용 빈도수 등에 기초하여 결정될 수 있다. 투여량의 크기는 또한 특정 ORP 수용액의 투여를 수반할 수도 있는 임의의 부작용의 존재, 성질 및 정도에 기초하여 결정될 수 있다. 가능하다면 부작용을 최소로 유지시키도록 하는 것이 바람직하다.

[0066] 특정 투여량에 대해 고려될 수 있는 요인은 예를 들어 생체이용성, 대사 프로파일, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도, 특정 환자에서 특정 ORP 수용액과 관련된 약리학 등을 포함할 수 있다. 다른 요인은 예를 들어 치료할 특정 증상에 관한 ORP 수용액의 효력 또는 효과, 치료 전에 또는 치료 과정 중에 나타나는 징후의 중증도 등을 포함할 수 있다. 일부의 경우에, 치료상 유효량을 구성하는 것은 또한 부분적으로는, 특정 증상의 치료 또는 예방을 위한 특정 ORP 수용액의 효능을 임상적인 면에서 합리적으로 예견하는 하나 이상의 분석, 예를 들어 생물학적 분석의 사용에 의해서 결정될 수 있다.

[0067] 본 발명에 따라 사용되는 ORP 수용액은, 예를 들면 기존의 증상을 치료하기 위해, 단독으로 또는 하나 이상의 추가의 요법제와 함께 환자, 예를 들면 인간에게 투여될 수 있다. 본 발명의 ORP 수용액은 또한 증상과 관련된 하나 이상의 원인 물질에 노출된 환자, 예를 들면 인간에게 단독으로 또는 하나 이상의 추가의 요법제와 함께 예방적으로 투여될 수 있다. 예를 들면, ORP 수용액은 적합하게는 환자에서 미생물 또는 에피토프와 관련된 염증 (심지어는 감염) 가능성을 억제 또는 감소시키거나 또는 이러한 노출의 결과로 발생하는 염증 (심지어는 감염 또는 알레르기)의 중증도를 감소시키기 위해 하나 이상의 염증-유발 미생물 (예를 들면, 감염, 바이러스, 박테리아 및/또는 진균) - 또는 과민성 에피토프 또는 알레르겐 -에 노출된 환자에게 예방적으로 투여될 수 있다.

[0068] 당업자는 본 발명에 따라 사용되는 ORP 수용액을 투여하는 적합한 방법을 이용할 수 있으며, 하나 조과의 투여 경로가 사용될 수 있으나, 특정한 경로가 다른 경로보다 더 즉각적이고 더 효과적인 반응을 제공할 수 있음을 인식하고 있을 것이다. 치료상 유효량은 하루에 적용되는 횟수와 무관하게 개별 환자에게서 ORP 수용액의 "효과적인 수준"을 달성하는데 필요한 투여량일 수 있다. 치료상 유효량은 예를 들면 환자의 증상을 예방 또는 치료하기 위해 ORP 수용액 (또는 여기에 함유된 하나 이상의 활성 중)의 혈중 수준, 조직 수준 및/또는 세포내 수준을 달성하기 위해 개별 환자에게 투여될 필요가 있는 양으로 정의할 수 있다.

[0069] 효과적인 수준이 투약에 바람직한 종말점으로 사용되는 경우, 실제 투여량 및 투여 계획은 예를 들면 약리학, 분포, 대사 등에 있어서의 개인차에 따라 달라질 수 있다. 효과적인 수준은 또한 ORP 수용액이 하나 이상의 추가의 요법제, 예를 들면 하나 이상의 항감염제, 하나 이상의 "완화(moderating)", "조절(modulating)" 또는 "중화(neutralizing)" 제제 (예를 들면, 미국 특허 제334,383호 및 제5,622,848호 (본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있음), 하나 이상의 소염제 등과 함께 사용되는 경우에 달라질 수 있다.

[0070] 효과적인 수준을 결정 및/또는 모니터링하기 위해 적절한 지시약(indicator)이 사용될 수 있다. 예를 들면, 효과적인 수준은 적절한 환자 샘플 (예를 들면, 혈액 및/또는 조직)의 직접 분석 (예를 들면, 분석 화학) 또는 간접 분석 (예를 들면, 임상 화학 지시약 사용)에 의해 결정될 수 있다. 예를 들면, 효과적인 수준은 또한, 예를 들면 뇨 대사산물의 농도, 증상과 연관된 마커의 변화 (예를 들면, 바이러스 감염의 경우에는 바이러스 수), 조직병리학 및 면역화학 분석, 영상 분석 (예를 들면, X-선, CT 스캔, NMR, PET 등)에서의 양성 변화, 핵 의학 연구, 증상과 관련된 징후의 감소 등과 같은 직접 또는 간접적인 관찰 결과에 의해 결정될 수 있다.

[0071] 통상적인 ORP 수용액은 보통 단지 몇 시간의 매우 제한된 저장 수명을 갖는다. 이렇게 짧은 수명 때문에, 통상적인 ORP 수용액을 사용할 때에는 사용 지점에서 근접한 곳에서 생산할 필요가 있다. 실무 관점에서, 이는 예를 들면 병원과 같은 건강관리 시설이 통상적인 ORP 수용액을 생산하는데 필요한 설비를 구입하여 보유하고 유지시켜야 함을 의미한다. 또한, 통상적인 제조 기술은 예를 들면 건강관리 시설에 사용되는 일반적인 소독제로서의 광범위한 사용을 허용하기에 충분한 상업적 규모의 양을 생산할 수 없었다.

[0072] 통상적인 ORP 수용액과 달리, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 그의 제조 이후에 적어도 약 24 시간 동안 안정하다. 또한, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 일반적으로 환경적으로 안전하며, 따라서 비용이 많이

드는 처리 절차가 필요하지 않다. 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 적어도 약 1 주 (예를 들면, 1 주, 2 주, 3 주, 4 주 등) 동안 안정하며, 보다 바람직하게는 적어도 약 2 개월 동안 안정하다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 적어도 약 6 개월 동안 안정하다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 적어도 약 1 년 동안 안정하며, 가장 바람직하게는 약 1 년 초과, 예를 들면 적어도 약 2 년 동안 또는 적어도 약 3 년 동안 안정하다.

[0073]

안정성은 ORP 수용액이 그의 제조 이후에 일반적인 보관 조건 (예를 들면, 실온)에서 특정 기간 동안 하나 이상의 용도 (예를 들면, 비만 세포 탈과립 억제, 시토킨 분비 억제, 오염 제거, 소독, 멸균, 항-미생물 세정 및 상처 세정)에 적합하게 유지되는 능력에 기초하여 측정할 수 있다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액의 안정성은 또한 가속 조건, 예를 들면 약 30 °C 내지 약 60 °C에서 보관하여 측정할 수 있으며, 이 때 ORP 수용액은 바람직하게는 약 90 일까지, 보다 바람직하게는 약 180 일까지 안정하다.

[0074]

안정성은 또한 ORP 수용액의 저장 수명 동안 용액에 존재하는 하나 이상의 종 (또는 그의 전구물질)의 시간에 따른 농도에 기초하여 측정할 수 있다. 바람직하게는, 하나 이상의 종, 예를 들면 유리 염소, 차아염소산 및 하나 이상의 추가의 초과산화수 종의 농도는 ORP 수용액의 제조 이후에 적어도 약 2 개월 동안 그의 초기 농도의 약 70% 이상으로 유지된다. 보다 바람직하게는, 하나 이상의 상기 종의 농도는 ORP 수용액의 제조 이후에 적어도 약 2 개월 동안 그의 초기 농도의 약 80% 이상으로 유지된다. 보다 더 바람직하게는, 하나 이상의 상기 종의 농도는 ORP 수용액의 제조 이후에 적어도 약 2 개월 동안 그의 초기 농도의 약 90% 이상, 가장 바람직하게는 약 95% 이상으로 유지된다.

[0075]

안정성은 또한 ORP 수용액에 노출시킨 후에 샘플에 존재하는 유기체의 양의 감소에 기초하여 결정할 수 있다. 유기체 농도 감소의 측정은, 예를 들면 박테리아, 진균, 효모 또는 바이러스를 비롯한 임의의 적합한 유기체에 기초하여 수행될 수 있다. 적합한 유기체는, 예를 들면 에스체리치아 콜라이(*Escherichia coli*), 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*) 및 바실러스 아트로파에우스(*Bacillus athrophaeus*) (중전의 비. 섭틸리스(*B. subtilis*))를 포함할 수 있다.

[0076]

본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 살아있는 미생물 농도의 4 log (10⁴) 감소를 제공할 수 있는 저-수준 소독제로 기능할 수 있으며, 또한 살아있는 미생물 농도의 6 log (10⁶) 감소를 제공할 수 있는 고-수준 소독제로 기능할 수도 있다. 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 용액을 제조하고 적어도 약 2 개월 후에 측정된 경우 1 분 동안 노출시킨 후에 총 유기체 농도의 적어도 약 4 log (10⁴) 감소를 제공할 수 있다. 보다 바람직하게는, ORP 수용액은 용액을 제조하고 적어도 약 6 개월 후에 측정된 경우에 유기체 농도의 10⁴ 내지 10⁶ 감소를 제공할 수 있다. 보다 더 바람직하게는, ORP 수용액은 이 ORP 수용액을 제조하고 적어도 약 1 년 후에 측정된 경우에 유기체 농도의 10⁴ 내지 10⁶ 감소를 제공할 수 있으며, 가장 바람직하게는 이 ORP 수용액을 제조하고 약 1 년이 넘는 후에, 예를 들면 적어도 약 2 년 후에 또는 적어도 약 3 년 후에 측정된 경우에 유기체 농도의 10⁴ 내지 10⁶ 감소를 제공할 수 있었다.

[0077]

예를 들면, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 이 ORP 수용액 (바이오사이언시스 랩스(BioSciences Labs), 미국 몬타나 소재)을 제조하고 적어도 2 개월 후에 측정된 경우 노출시킨지 30 초 이내에, 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 에스체리치아 콜라이, 엔테로코커스 히라에(*Enterococcus hirae*), 아시네토박터 바우만니이(*Acinetobacter baumannii*), 아시네토박터 종(*Acinetobacter species*), 박테로이데스 프라길리스(*Bacteroides fragilis*), 엔테로박터 아에로게네스(*Enterobacter aerogenes*), 엔테로코커스 파에칼리스(*Enterococcus faecalis*), 반코마이신 내성-엔테로코커스 파에시움(*Vancomycin Resistant-Enterococcus faecium*) (VRE, MDR), 헤모필루스 인플루엔자에(*Haemophilus influenzae*), 클렙시엘라 옥시토카(*Klebsiella oxytoca*), 클렙시엘라 뉴모니아에(*Klebsiella pneumoniae*), 마이크로코커스 루테우스(*Micrococcus luteus*), 프로테우스 미라빌리스(*Proteus mirabilis*), 세라티아 마르세센스(*Serratia marcescens*), 스태필로코커스 아우레우스, 스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 스태필로코커스 해몰리티쿠스(*Staphylococcus haemolyticus*), 스태필로코커스 호미니스(*Staphylococcus hominis*), 스태필로코커스 사프로피티쿠스(*Staphylococcus saprophyticus*), 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코커스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 칸디다 알비칸스로 이루어진 군으로부터 선택된 살아있는 미생물의 샘플의 농도가 적어도 약 5 log (10⁵) 감소할 수 있었다. 바람직하게는, ORP 수용액은 제조하고 적어도 약 6 개

월 후에, 보다 바람직하게는 제조하고 적어도 약 1 년 후에 측정하였을 때 상기 모든 유기체의 10^5 감소를 제공할 수 있다.

[0078] 본 발명은 또한 생물학적 막에서 박테리아를 사멸시키는 방법, 예를 들면 생물학적 막에서 슈도모나스 아에루기노사를 사멸시키는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 모라엑슬라 카타르할리스(*Moraexlla catarrhalis*) 및 항생제 내성 박테리아, 예를 들면 페니실린 내성 스트렙토코커스를 사멸시키는 방법을 제공한다. 본원에 개시된 방법은 ORP 수용액을 사용하여 바시트라신(Bacitracin)을 사용하였을 때보다 빠르게 박테리아를 사멸시키기 위해 본 발명에 따라 이용될 수 있다.

[0079] 한 실시양태에서, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 ORP 수용액을 제조하고 적어도 약 2 개월 후에 측정할 때, 노출한 지 약 1분 내에 에스체리치아 콜라이, 슈도모나스 아에루기노사, 스태필로코커스 아우레우스 및 칸디다 알비칸스 등을 비롯한 살아있는 미생물의 샘플을 약 1×10^6 내지 약 1×10^8 유기체/мл의 초기 농도로부터 약 0 유기체/мл의 최종 농도로 감소시킬 수 있다. 이것은 유기체 농도의 약 6 로그 (10^6) 내지 약 8 로그 (10^8) 감소에 상응한다. 바람직하게는, ORP 수용액은 제조하고 적어도 약 6 개월 후에, 보다 바람직하게는 제조하고 적어도 약 1 년 후에 측정할 때에 에스체리치아 콜라이, 슈도모나스 아에루기노사, 스태필로코커스 아우레우스 또는 칸디다 알비칸스 유기체의 10^6 내지 10^8 감소를 달성할 수 있다.

[0080] 다르게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 ORP 수용액을 제조하고 적어도 약 2 개월 후에 측정할 때, 노출한 지 약 5 분 내에 바실러스 아트로파에우스 포자의 포자 현탁액 농도의 약 6 로그 (10^6) 감소를 제공할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 제조하고 적어도 약 6 개월 후에, 보다 바람직하게는 제조하고 적어도 약 1 년 후에 측정할 때, 바실러스 아트로파에우스 포자 농도의 약 10^6 감소를 달성할 수 있다.

[0081] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 ORP 수용액을 제조하고 적어도 약 2 개월 후에 측정할 때, 노출한 지 약 30초 내에 바실러스 아트로파에우스 포자의 포자 현탁액 농도의 약 4 로그 (10^4) 감소를 제공할 수 있다. 바람직하게는, ORP 수용액은 제조하고 적어도 약 6 개월 후에, 더욱 바람직하게는 제조하고 적어도 약 1 년 후에 측정할 때, 바실러스 아트로파에우스 포자 농도의 상기 감소를 달성할 수 있다.

[0082] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 ORP 수용액을 제조하고 적어도 약 2 개월 후에 측정할 때, 노출한 지 약 5 내지 약 10분 내에 아스퍼질리스 니게르(*Aspergillus niger*) 포자와 같은 진균 포자 농도의 약 6 로그 (10^6) 감소를 제공할 수 있다. 바람직하게는, ORP 수용액은 제조하고 적어도 약 6 개월 후에, 더욱 바람직하게는 제조하고 적어도 약 1 년 후에 측정할 때, 진균 포자의 농도의 10^6 감소를 달성할 수 있다.

[0083] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 산성, 중성 또는 염기성일 수 있으며, 일반적으로 약 1 내지 약 14의 pH를 가질 수 있다. 이 pH 범위에서 ORP 수용액은 예를 들면 ORP 수용액과 접촉하게 되는 인간 피부와 같은 표면을 손상시키거나 개체에 해를 미치지 않으면서 표면에 적합한 양으로 안전하게 적용될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액의 pH는 약 3 내지 약 8이다. 보다 바람직하게는, ORP 수용액의 pH는 약 6.4 내지 약 7.8, 보다 더 바람직하게는 pH는 약 7.4 내지 약 7.6이다.

[0084] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 약 -1000 밀리볼트 (mV) 내지 약 +1150 밀리볼트 (mV)의 산화-환원 전위를 가질 수 있다. 이 전위는 금속 전극에 의해서 탐지되고 동일한 용액 내에서의 기준 전극과 비교한 것으로 전자를 수용하거나 전달시키는 용액의 경향 (즉, 전위)의 척도이다. 이 전위는 예를 들면 은/염화은 전극과 같은 표준 기준에 비해서 ORP 수용액의 전기 전위를 밀리볼트로 측정하는 것을 포함하는 표준 기술에 의해서 측정될 수 있다.

[0085] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 바람직하게는 약 -400 mV 내지 +1300 mV의 전위를 갖는다. 보다 바람직하게는, ORP 수용액은 약 0 mV 내지 약 +1250 mV, 보다 더 바람직하게는 약 +500 mV 내지 약 +1250 mV의 전위를 갖는다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 약 +800 mV 내지 약 +1100 mV, 가장 바람직하게는 약 +800 mV 내지 약 +1000 mV의 전위를 갖는다.

[0086] 다양한 이온 종 및 다른 종이 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액 내에 존재할 수 있다. 예를 들어, ORP 수용액은 염소 (예를 들어, 유리 염소 및 결합된 염소), 용해된 산소, 임의로는 오존 및 퍼옥사이드 (예를 들어, 과산화수소)를 함유할 수 있다. 하나 이상의 이들 종의 존재는 적어도 바이러스뿐만 아니라 박테리아 및 진균과

같은 다양한 미생물을 사멸하는 ORP 수용액의 소독 능력에 기여하는 것으로 생각된다. 임의의 특정 이론에 얽매이고자 하지는 않으나, 상기 종들 중 하나 이상이 또한 ORP 수용액의 소염 효능에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

- [0087] 유리 염소는 통상적으로 차아염소산 (HClO), 차아염소산 이온 (ClO^-), 차아염소산나트륨 (NaOCl) 및 이들의 전구물질을 포함하나, 이들로 한정되지는 않는다. 차아염소산 대 차아염소산 이온의 비는 pH에 따라 좌우된다. pH 7.4에서, 차아염소산 수준은 통상적으로 약 25 ppm 내지 약 75 ppm이다. 온도도 유리 염소 성분의 비에 영향을 미칠 수 있다.
- [0088] 결합된 염소는 통상적으로, 예를 들면 암모니아 또는 유기 아민과 화학적으로 조합된 염소 (예를 들면, 클로르 아민)를 포함한다. 결합된 염소는 바람직하게는 약 20 ppm까지의 양으로 존재한다.
- [0089] 하나 이상의 염소 중, 하나 이상의 추가의 초과산화수 중 (예를 들면, 하나 이상의 추가의 산화 중, 예컨대 산소)은 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액에 임의의 적합한 양으로도 존재할 수 있다. 이들 성분의 수준은 당 업계에서 공지된 방법을 비롯하여 임의의 적합한 방법에 의해서 측정될 수 있다.
- [0090] 유리 염소 종의 총량은 바람직하게는 약 10 ppm 내지 약 400 ppm, 보다 바람직하게는 약 50 ppm 내지 약 200 ppm, 가장 바람직하게는 약 50 ppm 내지 약 80 ppm이다. 차아염소산의 양은 바람직하게는 약 15 ppm 내지 약 35 ppm이다. 차아염소산나트륨의 양은 바람직하게는 약 25 ppm 내지 약 50 ppm의 범위이다. 임의로는, 이산화 염소 수준은 바람직하게는 약 5 ppm 미만이다.
- [0091] 염소 함량은 DPD 비색법 (라모테 컴퍼니 (Lamotte Company), 미국 매릴랜드주 체스터타운 소재) 또는 예를 들면 환경보호청 (Environmental Protection Agency)에 의해서 확립된 방법과 같은 다른 공지된 방법과 같은 당 업계에 공지된 방법에 의해서 측정될 수 있다. DPD 비색법에서, 황색 색상은 유리 염소와 N,N-디에틸-p-페닐렌디아민 (DPD)과의 반응에 의해서 형성되며, 강도는 출력 (output)을 ppm으로 제공하는 보정된 비색계 (calibrated calorimeter)에 의해서 측정된다. 요오드화칼륨의 추가의 첨가는 용액을 분홍색으로 전환시켜 총 염소 값을 제공한다. 이어서, 존재하는 결합된 염소의 양은 총 염소로부터 유리 염소를 제하여 결정된다.
- [0092] ORP 수용액 내에 존재하는, 상기 언급된 염소 중, 산소 중, 및 예를 들면 Cl^- , ClO_3^- , Cl_2^- 및 ClO_x 와 같이 측정하기 어려울 수 있는 것을 비롯한 추가의 종을 포함하는 산화성 화학물질 종의 총량은 바람직하게는 약 2 밀리몰 (mM)의 범위이다.
- [0093] 한 실시양태에서, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 하나 이상의 염소 중 및/또는 하나 이상의 추가의 초과산화수 중 (예를 들면, 하나 이상의 추가의 산화 중, 예컨대 산소)을 포함한다. 바람직하게는, 존재하는 염소 종은 유리 염소 종이다. 유리 염소 종은 차아염소산 (HClO), 차아염소산 이온 (ClO^-), 차아염소산나트륨 (NaOCl), 클로라이드 이온 (Cl^-), 임의로는 이산화염소 (ClO_2), 용해된 염소 기체 (Cl_2), 이들의 전구물질, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 종을 포함할 수 있다.
- [0094] 한 실시양태에서, ORP 수용액은 하나 이상의 염소 중 또는 이들의 하나 이상의 전구물질, 및 하나 이상의 추가의 초과산화수 중 또는 이들의 하나 이상의 전구물질, 임의로는 과산화수소를 포함하고, 그의 제조 후에 적어도 약 24 시간 동안, 바람직하게는 적어도 약 1 주 동안, 보다 바람직하게는 적어도 약 2 개월 동안, 보다 더 바람직하게는 적어도 6 개월 동안 안정하다. 보다 더 바람직하게는, 이러한 ORP 수용액은 적어도 약 1 년 동안, 가장 바람직하게는 약 1 년 넘게, 예를 들면 적어도 약 2 년 또는 적어도 약 3 년 동안 안정하다.
- [0095] 또한, 하나 이상의 염소 중 (예를 들면, 차아염소산 및 차아염소산나트륨) 또는 이들의 하나 이상의 전구물질, 하나 이상의 추가의 초과산화수 중 (예를 들면, 하나 이상의 산소 중, 용해된 산소) 또는 이들의 하나 이상의 전구물질을 포함하며, 약 6 내지 약 8의 pH를 갖는 ORP 수용액이 바람직하다. 보다 바람직하게는, pH는 약 6.2 내지 약 7.8, 가장 바람직하게는 약 7.4 내지 약 7.6이다. 본 발명에 따라 투여되는 예시적인 ORP 수용액은, 예를 들면 약 15 ppm 내지 약 35 ppm의 차아염소산, 약 25 ppm 내지 약 50 ppm의 차아염소산나트륨, 약 1 ppm 내지 약 4 ppm의 하나 이상의 추가의 초과산화수 종을 포함할 수 있으며, pH는 약 6.2 내지 약 7.8이고, 적어도 약 1 주, 예를 들면 적어도 약 2 개월, 적어도 약 6 개월, 적어도 약 1 년, 또는 약 1 년 초과, 예를 들면 적어도 약 2 년 또는 적어도 약 3 년 동안 안정할 수 있다.
- [0096] 본 발명을 한정하지는 않으면서, pH 및 다른 가변 조건 (예를 들면, 염도)을 제어하여 하나 이상의 염소 중 또는 이들의 전구물질, 예를 들면 차아염소산 및 차아염소산 이온, 및 하나 이상의 추가의 초과산화수 중 (예를

들면, 산소) 또는 이들의 하나 이상의 전구물질을 함유하는 안정한 ORP 수용액을 제공할 수 있을 것으로 생각된다.

[0097] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 바람직하게는 철에 노출시 유리 라디칼 (예를 들면, 히드록실 라디칼)을 생성할 수 있는 하나 이상의 산화수 종을 포함한다. 수산화나트륨, 이산화염소, 과산화수소 및 오존은 차아염소산염과 반응하여 이들의 소비 및 다른 화학물질 종의 생성을 야기할 수 있는 것으로 보고되어 있으나, ORP 수는 임의로는, 예를 들면 수산화나트륨 (NaOH), 이산화염소 (ClO_2), 퍼옥사이드 (예를 들면, 과산화수소 (H_2O_2) 및 오존 (O_3))와 같이 이들의 생산 중에 생성되는 하나 이상의 화학적 화합물을 포함할 수 있다.

[0098] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 전기 에너지가 수용액에서 하나 이상의 화학적 변화를 생성하는데 사용되는 산화-환원 과정, 예를 들면 전해 과정 또는 산화환원 반응에 의해 생성될 수 있다. 적합한 ORP 수용액 제조를 위한 예시적인 과정이, 예를 들면 미국 특허 출원공개 US 2005/0139808 및 US 2005/0142157 (본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0099] 전해 과정에서, 전기적 에너지는 전하를 하나의 포인트로부터 전류의 형태로 또다른 포인트로 전도시킴으로써 물에 도입되고 물을 통해서 수송된다. 전류를 발생시키고 유지시키기 위해서는, 물 중에 전하 캐리어가 존재하여야 하며, 캐리어가 이동하도록 만드는 힘이 존재하여야 한다. 전하 캐리어는 금속 및 반도체의 경우에서와 같이 전자일 수 있거나, 이들은 용액의 경우에 양이온 및 음이온일 수 있다. 환원 반응은 음극에서 일어나는 반면에, 산화 반응은 양극에서 일어난다. 발생할 것으로 생각되는 환원 및 산화 반응 중 적어도 일부가 국제출원 공개 WO 03/048421 A1에 기재되어 있다.

[0100] 본원에 사용된 바와 같이, 양극에서 생산된 물은 양극수라고 불리며, 음극에서 생산된 물은 음극수라고 불린다. 양극수는 통상적으로 전해반응으로부터 생성된 산화된 종을 함유하는 반면에, 음극수는 통상적으로 반응으로부터 환원된 종을 함유한다. 양극수는 일반적으로 낮은 pH를 가지며, 통상적으로는 약 1 내지 약 6.8의 pH를 갖는다. 양극수는 바람직하게는 예를 들어 염소 기체, 클로라이드 이온, 염산 및/또는 차아염소산, 또는 이들의 하나 이상의 전구물질을 비롯한 다양한 형태의 염소를 함유한다. 바람직하게, 예를 들어 산소 기체, 및 아마도 생성 과정 동안 형성된 하나 이상의 종, 예를 들면 퍼옥사이드 및/또는 오존, 또는 이들의 하나 이상의 전구물질을 비롯한 다양한 형태의 산소도 존재한다. 음극수는 일반적으로 높은 pH를 가지며, 통상적으로는 약 7.2 내지 약 11의 pH를 갖는다. 음극수는 수소 기체, 히드록실 라디칼 및/또는 나트륨 이온을 함유할 수 있다.

[0101] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 양극수 (예를 들면, 전해 전지의 양극 챔버에서 생성된 물) 및 음극수 (예를 들면, 전해 전지의 음극 챔버에서 생성된 물)의 혼합물을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 음극수를, 예를 들면 용액의 약 10 부피% 내지 약 90 부피%의 양으로 함유한다. 보다 바람직하게는, 음극수는 ORP 수용액에 상기 용액의 약 10 부피% 내지 약 50 부피%, 보다 더 바람직하게는 약 20 부피% 내지 약 40 부피%, 예를 들면 약 20 부피% 내지 약 30 부피%의 양으로 존재한다. 또한, 양극수는 ORP 수용액에, 예를 들면 상기 용액의 약 50 부피% 내지 약 90 부피%의 양으로 존재할 수 있다. 예시적인 ORP 수용액은 약 10 부피% 내지 약 50 부피%의 음극수 및 약 50 부피% 내지 약 90 부피%의 양극수를 함유할 수 있다. 양극수 및 음극수는 도 1에 도시된 3-챔버 전해 전지를 사용하여 생산될 수 있다.

[0102] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 바람직하게는 양극 챔버, 음극 챔버, 및 양극 및 음극 챔버 사이에 위치한 염 용액 챔버를 포함하는 하나 이상의 전해 전지를 사용하여 생산되며, 이 때 양극수와 음극수의 적어도 일부가 혼합되어 ORP 수용액이 양극수 및 음극수를 포함하게 된다. 예시적인 ORP 수용액의 제조에 사용될 수 있는 예시적인 3-챔버 전해 전지의 개략도를 도 2에 도시하였다.

[0103] 전해 전지 (100)은 양극 챔버 (102), 음극 챔버 (104) 및 염 용액 챔버 (106)을 갖는다. 염 용액 챔버는 양극 챔버 (102)와 음극 챔버 (104) 사이에 위치한다. 양극 챔버 (102)는 유입구 (108)와 배출구 (110)를 가져서 양극 챔버 (100)를 통한 물의 흐름이 가능하도록 한다. 음극 챔버 (104)도 유사하게 유입구 (112)와 배출구 (114)를 가져서 음극 챔버 (104)를 통한 물의 흐름이 가능하도록 한다. 염 용액 챔버 (106)은 유입구 (116) 및 배출구 (118)를 갖는다. 전해 전지 (100)은 바람직하게는 모든 성분들을 함께 보유하는 하우징 (housing)을 포함한다.

[0104] 양극 챔버 (102)는 양극 전극 (120)과 양극 이온 교환막 (122)에 의해서 염 용액 챔버로부터 분리된다. 양극 전극 (120)은 양극 전극 (120)과 염 용액 챔버 (106) 사이에 위치한 막 (122)에 의해서 양극 챔버 (102)에 인접하도록 배치될 수 있다. 다르게는, 막 (122)가 막 (122)와 염 용액 챔버 (106) 사이에 위치한 양극 전극 (120)에 의해서 양극 챔버 (102)에 인접하게 배치될 수 있다.

- [0105] 음극 챔버 (104)는 음극 전극 (124)와 음극 이온 교환막 (126)에 의해서 염 용액 챔버로부터 분리된다. 음극 전극 (124)는 음극 전극 (124)와 염 용액 챔버 (106) 사이에 위치한 막 (126)에 의해서 음극 챔버 (104)에 인접하도록 배치될 수 있다. 다르게는, 막 (126)이 막 (126)과 염 용액 챔버 (106) 사이에 위치한 음극 전극 (124)에 의해서 음극 챔버 (104)에 인접하게 배치될 수 있다.
- [0106] 전극은 바람직하게는 전압 전위 (voltage potential)가 양극 챔버와 음극 챔버 사이에 적용되도록 금속으로 제작된다. 금속 전극은 일반적으로 평면상이며, 이온교환막과 유사한 치수 및 단면 표면적을 갖는다. 전극은 이온교환막 표면의 상당 부분이 그들 각각의 양극 챔버와 음극 챔버에서 물에 노출되도록 배열된다. 이것은 염 용액 챔버, 양극 챔버 및 음극 챔버 사이에서 이온 종의 이동을 허용한다. 바람직하게는, 전극은 전극의 표면을 가로질러서 균일한 간격을 두고 다수의 통로 (passage) 또는 구멍 (aperture)을 갖는다.
- [0107] 전기적 전위의 공급원은 양극 챔버 (102)에서 산화 반응 및 음극 챔버 (104)에서 환원 반응을 유도하도록 양극 전극 (120) 및 음극 전극 (124)에 연결된다.
- [0108] 전해 전지 (100)에 사용된 이온교환막 (122) 및 (126)은 예를 들면 클로라이드 이온 (Cl^-)과 같이 염 용액 챔버 (106)와 양극 챔버 (102) 사이에서, 및 예를 들면 나트륨 이온 (Na^+)과 같이 염 용액 챔버 (106)와 음극 챔버 (104) 사이에서 이온 교환이 이루어지도록 하는 임의의 적합한 물질로 제작될 수 있다. 양극 이온 교환막 (122) 및 음극 이온 교환막 (126)은 동일하거나 상이한 제작 물질로 만들어질 수 있다. 바람직하게는, 양극 이온 교환막은 불소화된 중합체를 포함한다. 적합한 불소화된 중합체에는 예를 들어 퍼플루오로술폰산/PTFE 공중합체 및 퍼플루오로술폰산/TFE 공중합체와 같은 퍼플루오로술폰산 중합체 및 공중합체가 포함된다. 이온교환막은 물질의 단일층 또는 다수의 층으로 제작될 수 있다. 적합한 이온 교환막 중합체는 나피온(Nafion; 등록상표)이라는 상표명으로 시판되는 하나 이상의 이온 교환막 중합체를 포함할 수 있다.
- [0109] 전해 전지 (100)의 양극 챔버 (102) 및 음극 챔버 (104)에 대한 물의 공급원은 임의의 적합한 물 공급원일 수 있다. 물은 시 차지단체의 물 공급원으로부터 제공될 수 있거나, 별법으로 전해 전지에서 사용하기 전에 전처리될 수 있다. 바람직하게는, 물은 전처리되고, 연화수, 정제수, 증류수 및 탈이온수로 구성된 군으로부터 선택된다. 더 바람직하게는, 전처리된 물 공급원은 역삼투 정제 장치를 사용하여 수득된 초고순도의 물이다.
- [0110] 염 용액 챔버 (106)에서 사용하기 위한 염 수용액은 ORP 수용액을 생산하기에 적합한 이온 종을 함유하는 임의의 염 수용액을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 염 수용액은 통상적으로 또한 염수 용액으로도 불리는 수성 염화나트륨 (NaCl) 염 용액이다. 그 밖의 다른 적합한 염 용액에는 염화칼륨, 염화암모늄 및 염화마그네슘과 같은 그 밖의 다른 클로라이드 염뿐만 아니라, 칼륨 및 브롬 염과 같은 그 밖의 다른 할로젠 염이 포함될 수 있다. 염 용액은 염의 혼합물을 함유할 수 있다.
- [0111] 염 용액은 임의의 적합한 농도를 가질 수 있다. 예를 들면, 염 용액은 포화되거나 농축될 수 있다. 바람직하게는, 염 용액은 포화된 염화나트륨 용액이다.
- [0112] 본 발명과 관련하여 유용한 3-챔버 전해 전지에서 생산된 다양한 이온 종으로 생각되는 것이 도 2에 예시되어 있다. 3-챔버 전해 전지 (200)는 양극 챔버 (202), 음극 챔버 (204) 및 염 용액 챔버 (206)을 포함한다. 양극 (208) 및 음극 (210)에 대해 적합한 전류를 인가하면, 염 용액 챔버 (206)을 통해서 유동하는 염 용액에 존재하는 이온은 음이온 교환막 (212) 및 양이온 교환막 (214)를 통해서 각각 양극 챔버 (202) 및 음극 챔버 (204)를 통해서 유동하는 물 안으로 이동한다.
- [0113] 양이온은 염 용액 챔버 (206)을 통해서 유동하는 염 용액 (216)으로부터 음극 챔버 (204)를 통해서 유동하는 음극수 (218)로 이동한다. 음이온은 염 용액 챔버 (206)을 통해서 유동하는 염 용액 (216)으로부터 양극 챔버 (202)를 통해서 유동하는 양극수 (220)로 이동한다.
- [0114] 바람직하게는, 염 용액 (216)은 나트륨 이온 (Na^+) 및 클로라이드 이온 (Cl^-) 이온을 모두 함유하는 수성 염화나트륨 (NaCl)이다. Na^+ 양이온은 염 용액 (216)으로부터 음극수 (218)로 이동한다. Cl^- 음이온은 염 용액 (216)으로부터 양극수 (220)로 이동한다.
- [0115] 나트륨 이온 및 클로라이드 이온은 양극 챔버 (202) 및 음극 챔버 (204)에서 더 반응을 수행할 수 있다. 예를 들어, 클로라이드 이온은 양극수 (220)에 존재하는 다양한 산소 이온 및 다른 종 (예를 들어, 산소 함유 유리 라디칼, O_2 , O_3)과 반응하여 ClO_n^- 및 ClO^- 를 생산할 수 있다. 그 밖의 다른 반응은 또한 유리 산소 라디칼, 수

소 이온 (H^+), 산소 (예를 들면, O_2 로서), 오존 (O_3) 및 퍼옥사이드를 포함하는 양극 챔버 (202)에서 일어날 수도 있다. 음극 챔버 (204)에서는 수소 기체 (H_2), 수산화나트륨 ($NaOH$), 히드록시드 이온 (OH^-) 및 그 밖의 라디칼이 형성될 수 있다.

[0116] ORP 수용액을 생산하기 위한 장치는 또한 적어도 2개의 3-챔버 전해 전지를 포함하도록 제작될 수 있다. 각각의 전해 전지는 양극 챔버, 음극 챔버, 및 양극 및 음극 챔버를 분리하는 염 용액 챔버를 포함한다. 상기 장치는 전해 전지에 의해 생성된 양극수 및 하나 이상의 전해 전지에서 생성된 음극수의 일부를 수집하기 위한 혼합탱크를 포함한다. 바람직하게는, 상기 장치는 전해 전지의 염 용액 챔버에 공급된 염 용액의 재순환을 허용하는 염 재순환 시스템을 더 포함한다. 2개의 전해 전지를 사용하여 ORP 수용액을 생산하는 예시적인 방법의 도식은 도 3에 나타내었다.

[0117] 이 방법 (300)은 2개의 3-챔버 전해 전지, 구체적으로 제1 전해 전지 (302) 및 제2 전해 전지 (304)를 포함한다. 물은 물 공급원 (305)로부터 제1 전해 전지 (302)의 양극 챔버 (306) 및 음극 챔버 (308)로, 및 제2 전해 전지 (304)의 양극 챔버 (310) 및 음극 챔버 (312)로 전달, 펌프 또는 다른 식으로 분배된다. 유리하게는, 상기 방법은 약 1 리터/분 내지 약 50 리터/분의 ORP 수용액을 생산할 수 있다. 생산능은 추가의 전해 전지를 사용함으로써 증가될 수 있다. 예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그보다 많은 3-챔버 전해 전지를 사용하여 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액의 배출량을 증가시킬 수 있다.

[0118] 양극 챔버 (306) 및 양극 챔버 (310)에서 생산된 양극수는 혼합탱크 (314)에서 수집된다. 음극 챔버 (308) 및 음극 챔버 (312)에서 생산된 음극수의 일부분은 혼합탱크 (314)에서 수집되어 양극수와 배합된다. 이 방법에서 생산된 음극수의 나머지 부분은 버린다. 음극수는 혼합탱크 (314)에 첨가하기 전에 임의로, 기체 분리기 (316) 및/또는 기체 분리기 (318)에 보내질 수 있다. 기체 분리는 생산 공정 중에서 음극수에서 형성된 수소 기체와 같은 기체를 제거한다.

[0119] 혼합탱크 (314)는 임의로 재순환 펌프 (315)에 연결되어 전해 전지 (302) 및 (304)로부터의 양극수와 일부의 음극수가 균질하게 혼합되도록 한다. 또한, 혼합탱크 (314)는 임의로 ORP 수용액의 수준 및 pH를 모니터링하는데 적합한 장치를 포함할 수 있다. ORP 수용액은 혼합탱크의 위치에서 또는 그에 근접하여 소독 또는 멸균시키기 위하여 펌프 (317)에 의해 혼합탱크 (314)로부터 전달될 수도 있다. 다르게는, ORP 수용액은 멀리 떨어진 장소 (예를 들어, 창고, 병원 등)로 수송하기 위하여 하나 이상의 적합한 용기 내로 분배될 수도 있다.

[0120] 이 방법 (300)은 추가로 제1 전해 전지 (302)의 염 용액 챔버 (322) 및 제2 전해 전지 (304)의 염 용액 챔버 (324)에 염 용액을 제공하기 위한 염 용액 재순환 시스템을 포함한다. 염 용액은 염 탱크 (320)에서 제조된다. 염은 펌프 (321)에 의해서 염 용액 챔버 (322) 및 (324)로 전달된다. 바람직하게는, 염 용액은 우선 염 용액 챔버 (322)를 통과하고, 이어서 염 용액 챔버 (324)를 통해서 연속하여 유동한다. 다르게는, 염 용액은 두개의 염 용액 챔버에 동시에 펌핑될 수도 있다.

[0121] 염 탱크 (320)에 복귀하기 전에, 염 용액은 필요에 따라서 ORP 수용액의 온도를 제어하기 위해서 혼합탱크 (314) 내의 열 교환기 (326)를 통해서 유동할 수 있다.

[0122] 염 용액에 존재하는 이온은 제1 전해 전지 (302) 및 제2 전해 전지 (304)에서 시간이 경과함에 따라서 고갈된다. 이온의 추가의 공급원은 주기적으로 혼합탱크 (320)에 첨가되어 양극수 및 음극수에 전달된 이온을 대체시킬 수 있다. 이온의 추가의 공급원을 사용하여, 예를 들면 시간이 경과함에 따라서 강하게 될 수 있는 (즉, 산성으로 될 수 있는) 염 용액을 일정한 pH로 유지시킬 수 있다. 추가의 이온의 공급원은 예를 들어 염화나트륨과 같은 염 등을 비롯한 임의의 적합한 화합물일 수 있다. 바람직하게는, 수산화나트륨을 혼합탱크 (320)에 첨가하여 양극수 및 음극수에 전달된 나트륨 이온 (Na^+)을 대체시킨다.

[0123] 그의 제조 후에, ORP 수용액은 예를 들어 병원, 요양원, 진료소, 외래환자 수술센터, 치과 진료소 등을 비롯한 건강관리 시설 등과 같은, 최종 사용자에게 분배 및 판매하기 위하여 하나 이상의 적합한 용기, 예를 들면 밀봉된 용기에 옮길 수 있다. 적합한 용기는, 예를 들면 용기에 포함되는 ORP 수용액의 멸균성 및 안정성을 유지하는 밀봉된 용기를 포함할 수 있다. 용기는 ORP 수용액과 상용성인 임의의 물질로 제작될 수 있다. 바람직하게는, 용기는 일반적으로 ORP 수용액 내에 존재하는 하나 이상의 이온 또는 다른 종과 비-반응성이다.

[0124] 바람직하게는, 용기는 플라스틱 또는 유리로 제작된다. 플라스틱은 용기를 선반 위에서 저장할 수 있도록 경질일 수 있다. 다르게는, 용기는 유연할 수 있으며, 예를 들어 용기는 유연한 백 등과 같은 유연한 플라스틱으로

- [0134] 본 발명에 있어서, 손상되거나 해를 입은 조직을 치료하기 위해 ORP 수용액을 투여하여 장애 또는 손상 (또는 손상되거나 해를 입은 조직)과 연관된 염증을 예방 또는 치료할 수도 있다.
- [0135] 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 또한 표면 및 의료 기기를 소독하기 위해 여러 다양한 설정 상황, 예를 들면 건강관리 및 의료 장치 분야에서 박테리아, 바이러스 및 포자를 비롯한 미생물을 박멸하기 위한 소독제로 사용될 수 있으며, 상처 관리, 의료 장치 멸균, 음식 멸균, 병원, 소비자 가구 및 생물학적 테러 방지에 적용될 수도 있다. ORP 수용액은 또한 예를 들면 항감염량의 ORP 수용액과 표면을 접촉시킴으로써, 표면을 소독하는데 사용될 수 있다. 표면은 임의의 적합한 방법을 사용하여 접촉될 수 있다. 예를 들어, 표면은 표면이 소독되도록 ORP 수용액으로 표면을 관류함으로써 접촉될 수 있다. 추가로, 표면은 표면이 소독되도록 ORP 수용액을 스프레이 또는 스프레이로서, 또는 본원에 기재된 바와 같이 에어로졸화, 분무화 또는 미립자화에 의해서 표면에 적용함으로써 접촉될 수도 있다. 또한, ORP 수용액은 본원에 기재된 세정 와이프 (cleaning wipe)로 표면에 적용될 수 있다. 표면을 소독함으로써 표면은 감염성 미생물이 제거될 수 있다. 별법으로 (또는 추가로), 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 표면에 적용하여 감염에 대한 장벽 (barrier)을 제공함으로써 표면을 소독할 수 있다.
- [0136] 표면(들)은 하나 이상의 생물학적 표면, 하나 이상의 무생물적 표면, 및 이들의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어 생물학적 표면은, 예를 들면 구강, 부비강, 두개강, 복강 및 흉강과 같은 하나 이상의 체강 내의 조직을 포함할 수 있다. 구강 내의 조직은 예를 들어 구강 조직, 치은 조직, 혀 조직 및 인후 조직을 포함한다. 생물학적 조직은 또한 근육 조직, 뼈 조직, 기관 조직, 점막 조직, 혈관 조직, 신경 조직, 및 이들의 조합을 포함할 수 있다. 생물학적 표면은 또한 임의의 다른 시험관내 배양 조직, 예컨대 일차 및 확립된 세포주, 임의의 특성의 줄기 세포, 이종이식, 조직 치환물 (예를 들면, 세포 성분 이외의 또는 세포 성분이 아닌, 콜라겐 또는 임의의 다른 유기 물질로 만들어진), 임의의 다른 조직-가공 치환물 및 이들의 조합을 포함한다.
- [0137] 무생물 표면은 예를 들어 수술에 의해서 이식할 수 있는 장치, 보철장치 및 의료장치를 포함한다. 본 발명의 방법에 따라, 수술 동안 노출될 수 있는 내부 기관, 내장, 근육 등의 표면은, 예를 들어 수술 환경의 멸균을 유지하기 위해 소독할 수 있다. 본 발명에 있어서, 표면을 소독하기 위해 ORP 수용액을 투여함으로써 상기 표면과 연관된 하나 이상의 생물학적 조직에 영향을 미치는 염증을 치료 또는 예방할 수 있다.
- [0138] ORP 수용액은 또한 수술/개방 상처 세정제; 피부 병원체 소독 (예를 들면, 박테리아, 마이코플라스마 (mycoplasma), 바이러스, 진균, 프리온(prion)에 대한 것임); 싸움 상처 소독; 상처 치유 촉진; 화상 치유 촉진; 위궤양 치료; 상처 관리; 피부 진균; 건선; 무좀; 유행성 결막염 및 다른 눈 감염; 귀 감염 (예를 들면, 수영자 외이염); 폐/코/부비동 감염; 및 인간 또는 동물의 신체 상에 또는 그 안에 대한 다른 의학적 적용 뿐만 아니라 환경 개선 중 하나 이상과 연관된, 염증, 과민증 및 관련된 전신 효과를 비롯한 다양한 증상을 치료하기 위해 인간 및/또는 동물에게 적용할 수 있다. 조직 세포 성장 촉진제로서의 ORP 수용액의 용도는 또한 미국 특허 출원 공개 2002/0160053 (본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있다.
- [0139] RP 수용액은 소독제, 멸균제, 오염방지제, 항균제 및/또는 세척제로서 사용될 수 있다. 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액은 다음과 같은 대표적인 적용에 사용하기 적합하다: 의료, 치과 및/또는 수의학적 장비 및 장치; 식품 산업 (예를 들어, 경질 표면, 과일, 야채, 육류); 병원/건강관리 시설 (예를 들어, 경질 표면); 미용업 (예를 들어, 피부 세정기); 가사 (예를 들어, 바닥, 계산대, 경질 표면); 전자 산업 (예를 들어, 세정 회로, 하드 드라이브); 및 생물학적 테러 방지 (예를 들어, 탄저병, 감염성 미생물).
- [0140] ORP 수용액으로 처리하여 제어, 감소, 사멸 또는 박멸될 수 있는 유기체에는 박테리아, 진균, 효모 및 바이러스가 포함되나, 이들로 한정되지는 않는다. 감수성 박테리아에는 에스체리치아 콜라이, 스태필로코커스 아우레우스, 바실러스 아트로파에우스, 스트렙토코커스 피오게네스, 살모넬라 콜레라에수이스, 슈도모나스 아에루기노사, 시겔라 디센테리아에, 및 다른 감수성 박테리아가 포함되나, 이들로 한정되지는 않는다. ORP 수용액으로 처리될 수 있는 진균 및 효모에는, 예를 들면 칸디다 알비칸스 및 트리코피톤 덴타그로파이트가 있다. ORP 수용액은 또한 바이러스, 예를 들어 아데노바이러스, 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV), 리노바이러스, 인플루엔자 (예를 들어, 인플루엔자 A), 간염 (예를 들어, A형 간염), 코로나 바이러스 (예를 들어, 중증 급성 호흡 증후군 (SARS)의 원인 바이러스), 로타바이러스, 조류 독감 바이러스, 호흡기 세포 융합 바이러스, 단순 포진 바이러스, 수두 대상 포진 바이러스, 풍진 바이러스, 및 다른 감수성 바이러스에 적용될 수 있다.
- [0141] ORP 수용액은 임의의 적합한 방식으로 소독 및 멸균에 적용될 수 있다. 예를 들면, 의료 또는 치과용 기기를 소독 및 멸균하기 위해, 기기 상에 존재하는 미생물의 수준을 원하는 수준으로 감소시키기 위해 충분한 기간 동안 기기를 ORP 수용액과 접촉한 상태로 유지할 수 있다. 다르게는, ORP 수용액은 물리적 절차를 향상시키기 위한

적용, 예를 들면 초음파, 진탕기, 히터 등을 사용하거나 사용하지 않고 기기를 용기에 침지시킴으로써 ORP 수용액을 의료 또는 치과용 기기에 적용할 수 있다.

[0142] 경질 표면의 소독 및 멸균을 위해서는, ORP 수용액을 ORP 수용액이 저장되는 용기로부터 직접 경질 표면에 적용할 수 있다. 예를 들어, ORP 수용액은 경질 표면에 붓거나, 분무하거나, 또는 다른 식으로 직접 적용될 수 있다. 그 후, ORP 수용액은 예를 들어 천, 직물 또는 종이 타월과 같은 적합한 기재를 사용하여 경질 표면 상에 분포시킬 수 있다. 병원 적용의 경우에, 기제는 바람직하게는 멸균 상태이다. 다르게는, 우선 ORP 수용액을 천, 직물 또는 종이 타월과 같은 기재에 적용할 수 있다. 그 후, 습윤된 기재를 경질 표면과 접촉시킬 수 있다. 다르게는, ORP 수용액은 용액을 본원에 기재된 바와 같이 공기 중에 분산시킴으로써 경질 표면에 적용할 수 있다. ORP 수용액은 유사한 방식으로 인간 및 동물에게 적용될 수 있다.

[0143] ORP 수용액은 또한 수불용성 기제 및 본원에 기재된 바와 같은 ORP 수용액을 포함하는 세정 와이프와 함께 적용될 수 있으며, 여기서 ORP 수용액은 기제 상에 분배된다. ORP 수용액은 함침시키거나, 코팅하거나, 피복시키거나, 기제에 다른 식으로 적용할 수 있다. 바람직하게는, 기제는 세정 와이프를 최종 사용자에게 분배하기 전에 ORP 수용액으로 전처리한다.

[0144] 세정 와이프용 기제는 임의의 적합한 수불용성 흡수제 또는 흡수성 물질일 수 있다. 매우 다양한 물질이 기제로 사용될 수 있다. 이것은 충분한 습윤 강도, 마모성 (abrasivity), 로프트 (loft) 및 다공성을 가져야 한다. 또한, 기제는 ORP 수용액의 안정성에 유해한 영양을 끼치지 않아야 한다. 그의 예로는 부직 기제, 직조 기제, 하이드로인탱글 (hydroentangled) 기제 및 스폰지가 있다.

[0145] 기제는 하나 이상의 층을 가질 수 있다. 각각의 층은 동일하거나 상이한 조직 (texture) 및 마모성을 가질 수 있다. 조직이 상이한 것은 물질의 상이한 배합물의 사용 또는 상이한 제조 공정의 사용, 이들의 조합으로 인한 것일 수 있다. 기제는 물에서 용해되거나 갈라져서는 안 된다. 이에 따라, 기제는 처리될 표면에 ORP 수용액을 전달하기 위한 비히클을 제공할 수 있다.

[0146] 기제는 단일 부직시트 또는 다중 부직시트일 수 있다. 부직시트는 목재 펄프, 합성섬유, 천연섬유, 및 이들의 블렌드 (blend)로 만들어질 수 있다. 기제에 사용하기에 적합한 합성섬유에는 폴리에스테르, 레이온, 나일론, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 그 밖의 셀룰로스 중합체 및 이들 섬유의 혼합물이 포함될 수 있으나, 이들로 한정되지는 않는다. 부직물에는 용융취입, 공형성 (coform), 공기-적층 (air-laid), 스핀본드 (spun bond), 습식 적층 (wet laid), 본디드-카드드 (bonded-carded) 웹 물질, 하이드로인탱글 (또한, 스핀레이스 (spunlaced)로도 공지됨) 물질, 및 이들의 조합물을 포함하는 부직 섬유상 시트 물질이 포함될 수 있다. 이들 물질은 합성 또는 천연 섬유 또는 이들의 조합물을 포함할 수 있다. 결합제가 임의로 기제 내에 존재할 수 있다.

[0147] 적합한 부직 수불용성 기제의 예로는 리틀 래피즈 코퍼레이션 (Little Rapids Corporation)의 100% 셀룰로스 와딩 그레이드 (Wadding Grade) 1804, 아메리칸 닌-우븐즈 코퍼레이션 (American Non-wovens Corporation)의 100% 폴리프로필렌 니들펀치 (needlepunch) 물질 NB 701-2.8-W/R, 알스트롬 파이버 콤포지트 (Ahlstrom Fibre Composites)의 셀룰로스성 및 합성 섬유의 블렌드인 하이드라스핀 (Hydraspun) 8579, 및 피지아이 논우븐스 폴리머 코퍼레이션 (PGI Nonwovens Polymer Corp.)의 70% 비스코스/30% PES 코드 (Code) 9881이 포함된다. 세정 와이프에 사용하기에 적합한 부직 기제의 추가의 예는 미국 특허 제4,781,974호, 제4,615,937호, 제4,666,621호 및 제5,908,707호 및 국제특허출원 공개 WO 98/03713, WO 97/40814 및 WO 96/14835 (이들은 본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0148] 기제는 또한, 면섬유, 면/나일론 혼방, 또는 다른 직물과 같은 제직물로 만들어질 수도 있다. 스폰지를 제조하는데 사용되는 재생 셀룰로즈, 폴리우레탄 발포체 등이 또한 사용하기에 적합할 수 있다.

[0149] 기제의 액체 부하능 (loading capacity)은 그의 건조 중량의 적어도 약 50%-1000%, 가장 바람직하게는 적어도 약 200%-800%이어야 한다. 이것은 기제 중량의 1/2 내지 10배의 부하로 표현된다. 기제의 중량은 약 0.01 내지 약 1,000 g/m², 가장 바람직하게는 25 내지 120 g/m² ("기초 중량 (basis weight)"으로 불림)로 변화하지만, 이로 한정되지는 않으며, 통상적으로 적절한 형태 및 크기로 절단되거나, 다이 (die)-절단되거나 또는 다른 식으로 크기에 맞게 만들어진 시트 또는 웹으로 생산된다. 세정 와이프는 바람직하게는 약 25 내지 약 250 뉴턴 (Newton)/m, 보다 바람직하게는 약 75-170 뉴턴/m인 특성의 습윤 인장강도를 가질 것이나, 이들로 한정되지는 않는다.

[0150] ORP 수용액은 임의의 적합한 방법에 의해서 기제에 분배, 함침, 코팅, 피복 또는 다른 식으로 적용될 수 있다. 예를 들어, 기제의 개별 부분들은 별개의 양의 ORP 수용액으로 처리될 수 있다. 바람직하게는, ORP 수용액에

의한 기재 물질의 연속 웹의 대량 처리가 수행된다. 기재 물질의 전체 웹을 ORP 수용액에 침액시킬 수 있다. 다르게는, 기재 웹이 감김에 따라서, 또는 심지어 부직 기재의 생성 중에 ORP 수용액은 웹상에 분사되거나, 계량 공급될 수 있다. 기재의 개별적으로 절단되고 크기를 맞춘 부분의 스택 (stack)은 제조자에 의해서 그의 용기 내에서 ORP 수용액으로 함침시키거나 코팅할 수 있다.

[0151] 세정 와이프는 임의로는 와이프의 특성을 개선시키기 위한 추가의 성분을 함유할 수 있다. 예를 들면, 세정 와이프는 와이프의 특성을 개선시키기 위해 중합체, 계면활성제, 다당류, 폴리카르복실레이트, 폴리비닐, 알콜, 용매, 킬레이팅제, 완충제, 증점제, 염료, 착색제, 방향제, 및 이들의 혼합물을 더 포함할 수 있다. 이들 임의의 성분은 ORP 수용액의 안정성에 유해한 영향을 끼치지 않아야 한다. 세정 와이프에 임의로 포함될 수 있는 다양한 성분의 예가 미국 특허 제6,340,663호, 제6,649,584호 및 제6,624,135호 (이들은 본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0152] 세정 와이프는 열-밀봉가능한 또는 접착가능한 열가소성 오버랩 (예컨대, 폴리에틸렌, 마일라(Mylar) 등)으로 개별 밀봉할 수 있다. 와이프는 또한 보다 경제적인 분산을 위해 다수의 개별 시트로 포장할 수 있다. 세정 와이프는 우선 다수의 기재 시트를 분배기에 넣은 후에 기재 시트를 본 발명에 따라 투여되는 ORP 수용액과 접촉시켜 준비할 수 있다. 다르게는, 세정 와이프는 제조 과정 동안 ORP 수용액을 기재에 적용한 후에 습윤 기재를 분배기에 올려 놓음으로서 연속 웹으로 형성될 수 있다.

[0153] 분배기는 밀폐부 (closure)를 갖는 캐니스터 (canister), 또는 밀폐부를 갖는 터브 (tub)를 포함하나, 이들로 한정되지는 않는다. 분배기 상의 밀폐부는 습윤된 와이프를 외부 환경으로부터 밀봉시키고, 액체 성분의 조기 휘발을 방지하기 위한 것이다.

[0154] 분배기는 기재 및 ORP 수용액 둘 모두와 상용성인 임의의 적합한 물질로 제조할 수 있다. 예를 들면, 분배기는 플라스틱, 예컨대 고밀도 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리카르보네이트, 폴리에틸렌 테레프탈레이트 (PET), 폴리비닐 클로라이드 (PVC), 또는 다른 강성 플라스틱으로 제조할 수 있다.

[0155] 와이프의 연속적 웹은 분배기의 상부에 있는 얇은 개방부를 통해서, 가장 바람직하게는 밀폐부를 통해서 빠져나올 수 있다. 이어서, 웹으로부터 와이프의 목적하는 길이 및 크기를 맞추는 수단이 필요할 수 있다. 웹을 목적하는 크기로 절단하는 칼날, 톱니 모양의 에지 (edge) 또는 그 밖의 다른 수단이 분배기의 상부에 제공될 수 있으며, 비제한적인 예로 얇은 개방부는 실제로 절단 에지로서 이중으로 작용한다. 다르게는, 와이프의 연속적 웹은 균일하거나 불균일한 크기 또는 길이로 새김눈을 내거나, 접거나, 분할되거나, 구멍을 내거나, 또는 부분적으로 절단될 수 있으며, 이것은 이후에 예리한 절단 에지에 대한 필요성을 제거할 수 있다. 또한, 와이프는 하나의 와이프를 제거하면 다음 와이프가 앞으로 진행되도록 서로 끼워져 있을 수도 있다.

[0156] ORP 수용액은 별법으로 공기와 같은 기상 매질을 통해서 환경 내로 분산될 수도 있다. ORP 수용액은 임의의 적합한 수단에 의해서도 공기 중으로 분산될 수 있다. 예를 들어, ORP 수용액은 임의의 적합한 크기의 소적으로 형성되어, 실내에 분산될 수도 있다.

[0157] 소규모 적용시, ORP 수용액은 수직관 및 펌프를 포함하는 스프레이 병을 통해 분산시킬 수 있다. 다르게는, ORP 수용액은 에어로졸 용기에 포장될 수 있다. 에어로졸 용기는 분산될 생성물, 추진제, 용기 및 밸브를 포함할 수 있다. 밸브는 작동장치 및 침적 튜브를 모두 포함할 수 있다. 용기의 내용물은 작동장치를 눌러 분산시킬 수 있다. 에어로졸 용기의 다양한 성분은 ORP 수용액과 상용성이어야 한다. 적합한 추진제로는 액화 할로젠화탄소, 탄화수소, 또는 할로젠화탄소-탄화수소 블렌드, 또는 압축 가스, 예컨대 이산화탄소, 질소 또는 아산화질소가 있을 수 있다. 에어로졸 시스템은 바람직하게는 약 0.15 μm 내지 약 5 μm 범위의 크기를 갖는 소적을 생성한다.

[0158] 본 발명자들은 또한 피사 조직 제거 및 세정을 위해 사용되는 히드로서저리 (hydrosurgery) 장치 (예를 들면, 스미스 앤 내뷰 (Smith and Nephew)에 의해 미국에서 시판되는 VersaJet 장치, 메닥시스 (Medaxis)에 의해 유럽에서 시판되는 Debritom, 드로알 (DeRoyal)에 의해 미국 및 유럽에서 시판되는 JetOx 또는 이탈리아에서 시판되는 PulsaVac), 음압을 사용하는 관류 시스템 (예를 들면, VAC Instill) 등을 사용하여 수행할 수 있다.

[0159] 임의로는, 생명공학 처리된 피부 (Apligraf, 오르가노제네시스, 인크 (Organogenesis, Inc., 캔턴), 무세포 피부 대용물 (오아시스 웡드 매트릭스 (Oasis Wound Matrix), 헬스포인트 (Healthpoint)), ORP 수용액의 초음파 적용, 및 국소 산소 대체 또는 고압 산소 처리 (예를 들어, 고압 부츠 (boots), 벤트-옥스 시스템 (Vent-Ox System))를 비롯하여 여러 보조 방법도 본 발명에 따라 이용될 수 있다.

[0160] 일부 적용법에서는 ORP 수용액이 임의로 표백제를 함유할 수 있다. 표백제는, 예를 들면 기재를 밝게 하거나

표백하는 임의의 적합한 화합물을 포함할 수 있다. 표백제를 함유하는 ORP 수용액을 가정용 세탁에 사용하여 박테리아 및 세균을 소독 및 멸균시킬 수 있을 뿐만 아니라 의류를 밝게 할 수 있다. 적합한 표백제로는, 염소-함유 표백제, 퍼옥사이드-함유 표백제가 있으나 이들로 한정되지는 않는다. 표백제의 혼합물을 또한 ORP 수용액에 첨가할 수 있다. 바람직하게는, 표백제는 ORP 수용액에 수용액 형태로 첨가된다.

[0161] 적합한 염소-함유 표백제는, 예를 들면, 염소, 차아염소산염, N-클로로 화합물, 이산화염소를 포함할 수 있다. 바람직하게는, ORP 수용액에 첨가되는 염소-함유 표백제는 차아염소산나트륨 또는 차아염소산염이다. 다른 적합한 염소-함유 표백제로는, 예를 들면, 염소, 차아염소산칼슘, 액체 표백제 (예를 들면, 차아염소산칼슘 및 염화칼슘의 수용액), 분말 표백제 (예를 들면, 차아염소산칼슘, 수산화칼슘, 염화칼슘의 혼합물, 및 이들의 수화물), 이염기성 차아염소산마그네슘, 차아염소산리튬, 염소화 제3인산나트륨 및 이들의 혼합물이 있다.

[0162] 표백제를 ORP 수용액에 첨가하는 것은 임의의 적합한 방식으로 수행할 수 있다. 바람직하게는, 표백제를 함유하는 수용액을 우선 제조한다. 표백제를 함유하는 수용액은 가정용 표백제 (예를 들면, 클로록스(등록상표) 표백제) 또는 염소-함유 표백제의 다른 적합한 공급원 또는 다른 표백제를 사용하여 제조할 수 있다. 이어서, 표백제 용액을 ORP 수용액과 조합할 수 있다.

[0163] 표백제는 ORP 수용액에 임의의 적합한 양으로 첨가할 수 있다. 바람직하게는, 표백제를 함유하는 ORP 수용액은 인간 또는 동물 피부에 비-자극성이다. 바람직하게는, 염소-함유 표백제를 함유하는 ORP 수용액의 총 염소 이온 함량은 약 1000 ppm 내지 약 5000 ppm, 바람직하게는 약 1000 ppm 내지 약 3000 ppm이다. 염소-함유 표백제를 함유하는 ORP 수용액의 pH는 바람직하게는 약 8 내지 약 10이고, 산화-환원 전위는 바람직하게는 약 +700 mV 내지 약 +800 mV이다.

실시예

[0164] 이하의 실시예는 본 발명을 추가로 설명하는 것으로서, 물론 본 발명의 범위를 어떠한 방식으로 제한하는 것으로 간주되지 않아야 한다.

[0165] 실시예 1-3

[0166] 이들 실시예는 본 발명에 따라 사용된 ORP 수용액의 독특한 특징을 입증하는 것이다. 실시예 1-3에서 ORP 수용액의 샘플은 본원에 기재된 방법에 따라 분석하여 각각의 샘플에 존재하는 이온 종 및 다른 화학물질 종의 물리적 특성 및 수준을 결정하였다. 이산화염소, 오존 및 과산화수소에 대해 수득한 결과는 상기 종을 측정하기 위해 사용된 표준 시험을 기초로 한 것이나, 상이한 종의 지표가 될 수 있으므로, 또한 양성 시험 결과를 생성할 수 있다. 또한, 이산화염소, 오존 및 과산화수소가 차아염소산염과 반응하여 그의 소비 및 다른 화합물 (예를 들면, HCl 및 O₂)의 생산을 유도한다고 보고되어 있다. ORP 수용액의 각각의 샘플에 대한 pH, 산화-환원 전위 (ORP) 및 존재하는 이온 종은 표 1에 열거하였다.

표 1

ORP 수용액 샘플에 대한 물리적 특성 및 존재하는 이온 종

	실시예 1	실시예 2	실시예 3
pH	7.45	7.44	7.45
ORP (mV)	+879	+881	+874
총 Cl ⁻ (ppm)	110	110	120
결합된 Cl ⁻ (ppm)	5	6	6

[0167]

[0168] ORP 수용액은, 예를 들면 소독, 멸균, 세정, 및/또는 염증, 부비동염, 복막염 또는 감염의 예방 및/또는 치료에 사용하기 적합한 물리적 특성을 갖는다.

[0169] 실시예 4-10

[0170] 이들 실시예는 본 발명에 따른 ORP 수용액에 다양한 양의 표백제를 첨가하는 것을 입증한다. 특히, 이들 실시예는 조성물의 항미생물 활성 및 식물 표백능을 입증한다.

[0171] 10% 클로록스(등록상표) 표백 용액은 증류수를 사용하여 제조하였다. 이어서, 10% 표백 용액을 사용하여 다음과 같은 용액을 제조하였다: 80% ORP 수용액/20% 표백제 (실시예 4); 60% ORP 수용액/40% 표백제 (실시예 5); 40% ORP 수용액/60% 표백제 (실시예 6); 20% ORP 수용액/80% 표백제 (실시예 7); 및 0% ORP 수용액/100% 표백제 (실시예 8). 100% ORP 수용액/0% 표백제 (실시예 9) 및 0.01% 트윈(Tween) 20 세제 (실시예

10)를 갖는 ORP 수용액을 포함하는 2 가지 대조군 용액을 또한 비교용으로 사용하였다. 이들 샘플의 물리적 특성, 특히 pH, 산화-환원 전위 (ORP), 총 염소 (Cl^-) 함량 및 차아염소산 (HClO) 함량을 결정하고, 이산화염소 함량 및 퍼옥사이드 함량에 대해 시험하였으며, 그 결과를 표 2에 열거하였다.

표 2

ORP 수용액/표백제 조성물의 물리적 특성

	pH	ORP	총 Cl^- (ppm)	HClO^- (ppm)
실시예 4	8.92	+789	1248	62
실시예 5	9.20	+782	2610	104
실시예 6	9.69	+743	4006	80
실시예 7	9.86	+730	4800	48
실시예 8	9.80	+737	5000	50
실시예 9	7.06	+901	64	32
실시예 10	6.86	+914	51	26

표백제의 일부분으로 첨가된 대형 볼루스의 염소 이온은 n.d. 표시로 나타낸 바와 같이 이산화염소 및 퍼옥사이드 수준의 정확한 측정을 방해하였다. 또한, 이산화염소 및 퍼옥사이드에 대해 수득한 결과는 상기 종을 측정하기 위해 사용되는 표준 시험을 기초로 한 것이나, 상이한 종의 지표일 수 있으므로, 또한 양성 시험 결과를 생성할 수 있다. 또한, 이산화염소, 오존 및 과산화수소가 차아염소산염과 반응하여 그의 소비 및 다른 화합물 (예를 들면, HCl 및 O_2)의 생산을 유도한다고 보고되어 있다. 이들 실시예가 입증하는 바와 같이, 표백제를 첨가하거나 첨가하지 않은 ORP 수용액의 차아염소산 수준은 유사하였다.

실시예 4-10의 샘플에 대해 바실러스 서브틸리스 변종 니게르 포자 (에스피에스 메디칼 (SPS Medical, 미국 뉴욕주 러쉬)로부터 입수한 ATCC #9372)를 사용하여 고포자수 시험을 수행하였다. 포자 현탁액 (멸균 후드 내에서의 증발에 의해) 100 마이크로리터 당 4×10^6 개 포자로 농축시켰다. 포자 현탁액의 100 마이크로리터 샘플을 실시예 4-10의 각각의 샘플 900 마이크로리터와 혼합하였다. 샘플을 표 3에 열거된 바와 같이 1 내지 5 분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 지정된 시점에서, 인큐베이션된 샘플 100 마이크로리터를 개별 TSA 플레이트에 플레이트팅하고, $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24 시간 동안 인큐베이션한 후에, 각각의 플레이트에 생성된 콜로니 개수를 측정하였다. 대조군 플레이트는 출발 포자 농도가 100 마이크로리터 당 $> 1 \times 10^6$ 개 포자였음을 보여준다. 다양한 인큐베이션 시간에서 다양한 샘플에 대한 바실러스 포자의 농도를 (2회 측정치의 평균값으로) 표 3에 열거하였다.

표 3

바실러스 포자 농도

	1 분	2 분	3 분	4 분	5 분
실시예 4	>> 1000	411	1	0	2
실시예 5	>> 1000	1000	1	0	0
실시예 6	>> 1000	>> 1000	> 1000	22	0
실시예 7	>> 1000	>> 1000	> 1000	15	0
실시예 8	>> 1000	>> 1000	> 1000	3	1
실시예 9	>> 1000	74	0	0	0
실시예 10	>> 1000	239	3	0	0

이들 결과가 입증하는 바와 같이, 표백제 (10% 표백제 수용액으로서)의 농도가 증가함에 따라, 2 내지 3 분 동안 인큐베이션한 샘플에서 사멸되는 바실러스 포자의 양이 감소하였다. 그러나, 5 분 동안 인큐베이션한 샘플의 경우, 표백제 농도는 바실러스 포자 사멸에 영향을 미치지 않았다. 또한, 이 결과는 ORP 수용액에 0.01% 세제를 첨가하는 것이 포자 사멸을 감소시키지 않는다는 것을 입증한다.

실시예 4-10의 샘플에 대해 식물 표백 시험을 수행하였다. 샘플이 시험된 식물은 암청색 염료 패치를 갖는 100 % 레이온의 소아용 티셔츠였다. 염색된 식물의 2 인치 정사각형 조각을 50 mL 플라스틱 튜브에 넣었다. 각각의 식물 조각을 실시예 4-10의 샘플 용액으로 덮었다. 식물의 미백에 의해 결정하였을 때 완전하게 표백될 때까지 경과된 시간을 표 4에 열거하였다.

표 4

적물 샘플의 완전한 표백까지 소요되는 시간

실시에	시간
실시에 4	39 분
실시에 5	23 분
실시에 6	18 분
실시에 7	19 분
실시에 8	10 분
실시에 9	> 6 시간
실시에 10	> 6 시간

[0178]

[0179]

이들 실시예에 의해 입증되는 바와 같이, 조성물에서 ORP 수용액의 농도가 증가함에 따라, 완전한 표백에 도달하는 시간이 증가하였다.

[0180]

실시에 11

[0181]

본 연구의 목적은 예시적인 ORP 수용액인 마이크로신(Microcyn)을 토끼의 비강에 점적 투여하였을 때 그의 시험 안전성을 평가하기 위한 것이다. 33 마리의 토끼를 제I군 및 제II군의 2 개의 군으로 무작위적으로 분류하였다. 제I군 (18 마리 동물)을 대조군으로 사용하고, 제II군 (15 마리 동물)에게 시험 제품을 투여하였다. 제-1일 또는 제0일에, 체중을 기록하고, 선택된 파라미터의 분석을 위해 혈액 샘플을 수집하였다. 제0일에, 멸균 염수 500 μ L를 제I군 동물에게 투여하고, 시험 제품 (50% 농도) 500 μ L를 제II군 동물에게 투여하였다. 대조군 및 시험 제품을 모두 오른쪽 콧구멍에 매일 2회 점적 투여하였다. 제1일 내지 제6일에 동물에게 동일한 방식으로 투여하였다. 동물을 약리학 적 및/또는 독성 효과의 징후에 대해 코에 특히 관심을 기울이면서 매일 관찰하였다. 체중은 연구가 종결될 때까지 매주 기록하였다. 제7일에, 각각의 군으로부터 동물의 1/3을 선별하여 혈액을 수집하고, 희생시켜 부검하였다. 나머지 동물은 제14일이 될 때까지 계속 투여하고, 제14일에 각각의 군으로부터 동물의 절반을 선별하여 혈액을 수집하고, 희생시켜 부검하였다. 제21일에 (7일 동안 회복시킨 후에) 나머지 동물에게서 혈액을 수집하고, 희생시켜 부검하였다. 조직병리학 적 분석에 사용된 각각의 동물의 양쪽 콧구멍에서 코점막 샘플을 수집하였다.

[0182]

부검은 호흡 기관을 육안으로 관찰하는 것으로 이루어진다. 전체 비도 및 연결된 뼈를 채취하여 완충된 포르말린으로 고정시켰다. 호흡 기관에서 임의의 가시적인 이상이 관찰되는 샘플도 조직병리학 분석을 위해 수집하였다. 콧구멍 (처치된 오른쪽 및 처치되지 않은 왼쪽) 마다 3 가지 생검 샘플 (비강의 전방, 중앙 및 후방 부위)을 조사하였다. 현미경을 사용한 코점막의 조직병리학 분석은 상피의 완전한 상태, 상피 섬모의 존재 또는 손실, 염증 세포 침윤, 부종, 배상 세포의 존재, 선의 과형성, 혈관의 개수 및 특성 변화 및 임의의 다른 변화 또는 관찰을 포함한다.

[0183]

시험군으로부터 수득한 결과 (코 관찰, 체중, 혈액 분석, 전체 부검 및 조직병리학 분석 결과를 비롯한 전생애 (in-life) 관찰)를 대조군과 비교하였다. 시험군은 경미한 자극 측면에서 염수로 처리한 동물과 유의하게 다르지 않았다.

[0184]

실시에 12

[0185]

본 실시예는 예시적인 ORP 수용액의 사용시 독성 결과를 보여준다.

[0186]

깊은 상처에 국소 적용된 마이크로신 60으로부터 국부 및 전신 독성의 특성을 래트에서 평가하였다. 혈액 화학 또는 혈액 세포학 파라미터의 이상, 유의한 차이가 관찰되지 않았고, 부검시에 예외적인 사항도 발견되지 않았다. 적용된 장소 주변의 상처 및 조직의 피부 자극 등급화 및 조직병리학 연구에서 마이크로신 60으로 처리된 상처와 염수 용액으로 처리된 대조군 사이에 어떠한 차이도 나타나지 않았다.

[0187]

또한, 마이크로신 60의 전신 독성을 마우스의 복막내 주사에 의해 평가하였다. 이를 위해, 5 마리의 마우스에게 마이크로신 60의 단일 투여량 (50 mL/kg)을 복막내 경로로 주사하였다. 동일한 방식으로, 5 마리의 대조군 마우스에게 염수 용액 (0.9%의 염화나트륨)의 단일 투여량 (50 mL/kg)을 주사하였다. 상기 조사에서, 마이크로신 60의 단일 복막내 투여량을 투여한, LD₅₀이 50 mL/kg을 초과하는 임의의 동물에서 사망률 또는 임의의 전신 독성의 증거가 관찰되지 않았다.

[0188]

마이크로신 60을 경구 경로로 래트에게 투여하여 이를 흡수시키고, 생성물의 임의의 고유한 독성 효과를 특성화

하였다. 상기 연구에서, 단일 투여량 (4.98 mL/kg)을 스프라그-둘리 (Sprague-Dawley) 품종의 알비노 래트 3 마리에게 식도관에 의해 투여하였다. 마이크로신 60의 단일 경구 투여량에 노출된 어떠한 동물도 사망하지 않았으며, 이들의 부검시에 임상적 징후 또는 이상이 존재하지 않았다.

[0189] 국소 적용된 마이크로신 60의 안구 자극에 대한 가능성을 또한 토끼에서 평가하였다. 안구 자극은 안구 경로를 통한 국소 투여에 의해 마이크로신 60에 노출된 임의의 동물에서 관찰되지 않았으며, 임의의 다른 임상적 징후도 관찰되지 않았다.

[0190] 마이크로신 60을 흡입 경로에 의해 래트에게 적용하여 흡입에 의한 급성 독성 가능성을 결정하였다. 모든 동물은 노출된 후에 활성 및 털세우기가 매우 경미하거나 경미하게 감소되는 것으로 나타났으나, 다음날 이들 모두에서 증상이 나타나지 않았다. 흡입에 의해 마이크로신 60에 노출된 동물은 사망하지 않거나 부검시에 이상이 관찰되지 않았다.

[0191] 마이크로신 60을 사용한 피부 감각화에 대한 가능성 평가는 변형된 폐색 패치 방법 (블러; Buehler)을 이용하여 기니아 피그에서 수행하였다. 자극은 간단한 처치를 시도한 후의 대조군 동물 또는 처치를 시도한 후에 평가된 동물 (유도에 의해 처치됨)에서 관찰되지 않았다. 이들 연구는 마이크로신 60이 감각화 반응을 야기하지 않음을 입증하였다.

[0192] 따라서, 무손상 피부, 깊게 개방된 피부 상처, 결막부에 경구 및 흡입 경로에 의해 또는 복막내 주사에 의해 적용되는 경우, 마이크로신 60은 생성물과 관련된 역효과를 나타내지 않았다. 또한, 피부 및 점막에서 매우 다양한 특성의 상처를 갖는 수천 명이 넘는 처치된 환자는 우수한 항균 및 미용 결과가 나타나는 것을 경험하였다. 따라서, 국소 적용된 마이크로신 60은 상기 임상 시험에서 효과적이며, 허용성이 높을 것이다.

[0193] 마이크로신 60을 밀폐된 투명한 240 mL PET 병에 포장하였다. 이 생성물을 상온에서 보관하였으며, 이는 상기 병에서 2 년까지 안정하게 유지된다. 그의 높은 생물학적 안전성의 프로파일로부터, 마이크로신 60은 예를 들면 오염 또는 부식의 위험없이 싱크대로 비워 안전하게 배출시킬 수 있다.

[0194] 실시예 13

[0195] 본 실시예는 인두염 치료를 위한 예시적인 ORP 수용액의 효과를 결정하는데 사용될 수 있는 임상 연구를 보여준다.

[0196] 마이크로신 60을 사용한 다수회의 미생물 시험을 미국 및 멕시코 모두에서 진행하였다. 처음에 몇 초 동안 노출시켰을 때 90%를 초과하는 박테리아가 박멸되었다. 상기 표준에 따라 마이크로신 60이 나타내는 항박테리아 및 항진균 활성을 표 5에 요약하였다.

표 5

사멸 시간

박테리움	카탈로그	작용 시간 (99.999% 미만의 감소)
슈도모나스 아에루기노사	ATCC 25619	1 분
스타필로코커스 아우레우스	ATCC 6538	1 분
에스제리치아 콜라이	ATCC 11229	1 분
살모넬라 티피	CDC 99	1 분
칸디다 알비칸스	ATCC	1 분
바실러스 서브틸리스	9372	
저 포자 (10^4)		10 분
고 포자 (10^6)		15 분

[0197]

[0198] 살포자 활성 시험은 PAHO [Pan-American Health Organization]/WHO 프로토콜에 따라 수행하였다.

[0199] 마이크로신 60의 살바이러스 활성은 최근 HIV에 대해 미국에서 수행된 연구에서 확인되었으며, 리스테리아 모노사이토게네스(*Listeria monocytogenes*), MRSA 및 미코박테리움 튜베르쿨로시스에 대한 그의 활성도 기록되어 있다. 따라서, 마이크로신 60은 제안된 바와 같이 투여된 경우에 1 분 내지 15 분의 노출로 박테리아, 진균, 바이러스 및 포자를 박멸시킬 수 있음이 입증되었다.

[0200] 또한, 인두염/편도염의 치료를 위한 마이크로신 60의 효능을 평가하는데 사용될 수 있는 임상 연구는 다음과 같

다. 상기 연구에는, A군 β -용혈성 스트렙토코커스가 원인이며 치료를 받지 않은 40 명의 급성 인두염/편도염 환자가 동원되었다. 포함 기준은 다음과 같다: 연령은 12 내지 40세이고, 하기 징후들 중 둘 이상을 나타내어야 한다: 구강인두 화상; 삼킬 때 통증; 인두 홍반 또는 편도선 홍반 (삼출액의 존재 또는 부재); 경부 림프선 종; 및 A군 스트렙토코커스 항원에 대한 양성 면역분석 (StrepA 시험-애보트 랩스(Abbott Labs)). 제외 기준은 다음과 같다: 열 $> 38^{\circ}\text{C}$; 기관지 경련 (클리닉에 의해 제외됨); 심한 기침; 부비동염-비염 (클리닉에 의해 제외됨); 식도 역류 (클리닉에 의해 제외됨); 연구 전 2 주 동안의 항생제 사용; 최근 8 주 이내에 다른 임상 연구에 참여했던 환자; 류마티스열; 연쇄상구균 감염후 사구체신염; 중증의 만성 심장병; 중증의 신장, 간 또는 폐 기능부전; 및 임신 및 수유.

[0201] 연구를 시작할 때, 환자는 파라세타몰 및 아스피린을 비롯한 해열제 및 진통제와 같은 공용 약제를 사용할 수 있으나, 이부프로펜, 메솔리드(Mesulid), COX-2 억제제 또는 스테로이드와 같은 소염제는 사용할 수 없다. 환자에게 임의의 특정 연구 절차를 이행하기 전에 사전 서명 동의서를 받아야 한다.

[0202] 환자를 3 부류의 방문객으로 평가하였다. 제1 방문객에서, 환자는 임상적으로 급성 인두염/편도염을 앓고 있으며, 임상 병력을 수집하고, 건강 진단, 스트렙토코커스에 대한 신속한 면역분석 및 인두 삼출액의 수집을 수행하였다. 책임자로 판단하여 사전 동의서에 서명을 받은 후에, 환자의 구강인두를 각각 마이크로신 60 5 mL를 처방하여 30초씩 2회 세정하였다. 세정을 3 일 동안 하루에 총 4회로 3 시간 마다 수행하였다.

[0203] 제2 방문객은 마이크로신 60으로 처리한지 72 시간이 경과한 환자이다. 제2 방문객에서, 임상 경과 및 마이크로신 60의 부작용을 평가하였다. 새로운 인두 삼출물을 수집하였으며, 임상 경과에 따라 항생제 또는 완화제를 사용하여 치료를 계속할지 여부를 결정할 것이다. 제3 방문객은 10일 후에 처리가 중단된 환자이다.

[0204] 본 연구에서 적절하게 임상적으로 평가받기 위해, 각각의 환자는 배양물에 의해 확인된 A군 β -용혈성 스트렙토코커스 인두염/편도염이 존재해야 한다. 모든 환자는 각각 5 mL의 마이크로신 60을 투여하는 18회의 30초 세정, 또는 72 시간 동안 최대 24회의 세정에 응해야 한다.

[0205] 효능의 일차적인 파라미터는 마이크로신 60을 투여한 후에 수집한 배양물에 비해 초기 배양물의 박테리아 로드 가 3 순위 등급 감소하는 것이다. 상기 박테리아를 사용한 평가는 마이크로신 60으로 처리한지 72 시간 후에 실현된다. 효능의 이차적인 파라미터는 특히 인두 통증 및 연하 장애의 감소가 강조되는 임상적으로 보고된 개선이다. 임상적 징후가 방문객 1, 2 및 3에서 보고되었다.

[0206] 허용성은 부작용 보고서로 평가하였다. 부작용은 치료 과정에서 나타나는, 소독제와 관련이 있거나 없는, 마이크로신 60을 사용한 치료를 받은 환자가 진술한 임의의 징후로 정의된다.

[0207] 세균학상 효능의 결과 (효능의 이론적 기준)는 임상적 징후와는 무관하게 세균학자에 의해 발표되었다. A군 스트렙토코커스 항원 및 초기 인두 삼출물 배양물에 대한 시험을, 평가 계획에 따라 마이크로신 60을 투여하기 전에 제1 방문객에서 수행하였다 (방문객 1). 인두 삼출물의 두번째 수집 및 배양을 마이크로신 60을 투여하고 72 시간 후에 수행하였다 (방문객 2). 모든 배양물에 대해 안티바이오그램(antibiogram)을 수행하여, 표준 확산 디스크 시험에 의해 페니실린, 에리트로마이신, 클라리트로마이신 및 리노마이신에 대한 박테리아의 내성을 결정하였다. 세균학상 효능은 초기 배양물 및 마이크로신 60을 투여하고 72 시간 후에 수집한 배양물 사이에서 박테리아 수가 3 순위 등급 감소하는 것으로 정의된다.

[0208] 세균학상 실패는 처리 72 시간 후 배양물에서의 박테리아 수의 감소가 3 순위 등급 미만일 때 나타난다. 샘플의 수송이 48 시간을 초과하여 지연되는 경우, 스왑이 수송 배지에 침지되지 않은 경우, 샘플이 손실된 경우에 불확실한 반응이 보고되었다. 이들 경우는 연구 분석에서 제외되며, 40 명의 적합한 환자에서 연구가 완료될 때까지 새로운 환자의 경우로 대체한다.

[0209] 환자에게 마이크로신 60 투여가 끝났을 때 제2 방문객으로부터 추적 조사 및 기록 단계를 시작하였다. 이들 평가에서, 임상 경과 및 가능한 부작용의 존재에 따라 환자를 다음과 같이 분류하였다:

[0210] 초기 증상 및 징후가 제거되지 않은 경우 또는 전반적인 징후를 포함한 일반적인 상태가 악화된 경우는 치료가 실패한 경우이다. 이러한 경우에, 프로카인 페니실린, 클라리트로마이신 또는 아지트로마이신과 같은 경구용 항생제가 주치의가 지시한 투여량 및 시간에 처방되고, 1 주 내에 평가된다.

[0211] 방문객 1에 존재하던 징후 및 증상이 제거된 경우는 임상적으로 치유된 경우이다. 급성 과정이 치유된 경우, 이들 환자에서의 연구를 중단하고 임상적으로 치유된 것으로 보고하였다. 임의의 경우에, 환자에게 1 주 내에 제3의 검토를 위해 다시 방문해 줄 것을 요청하였다.

- [0212] 불확실한 경과. 임의의 양호한 원인, 예를 들면 동시감염에 대해 임상적으로 평가될 수 없었던 임의의 환자의 경과, 또는 평가가 매우 늦게, 72 시간 후에 수행된 경우의 경과. 이러한 경우에, 환자는 연구 분석에 계속 포함될 수 있으며, 단 72시간에 인두 삼출물 및 배양물의 결과를 보고할 수 있다.
- [0213] 상기 임상 연구에 사용된 통계학적 분석은 72 시간 동안 각각 30 초씩 마이크로신 60으로 18회 이상 세정한 모든 환자를 대상으로 하였다. 상기 동일한 기준에 의해 허용성 분석에 임의의 환자가 포함되는 것으로 간주된다. 효능 분석에 대한 이론적 기준은 마이크로신 60으로 처리하고 72 시간 후에 수집한 배양물에서 β -용혈성 스트렙토코커스의 박테리아 수가 3 순위 등급 감소하는 것이다. 통계학적 분석은 윌콕슨(Wilcoxon) 페어링 샘플 시험에 의해 실현된다. 임상적 변화의 통계학적 분석은 정량적 변화에 대해 ANOVA 시험을 이용하여 실현된다. 평가가능한 최소 환자수는 30명이다.
- [0214] 부작용은 약품을 투여한 환자 또는 임상 조사 대상에서 일어나는 임의의 불리한 사건으로, 반드시 약제와 인과 관계를 갖지는 않는다. 따라서, 부작용은 의학 제품의 사용과 일시적으로 연관된 바람직하지 못하고 의도하지 않은 임의의 증상 (비정상적인 실험실 발견 포함), 징후 또는 질병일 수 있으며, 이는 의학의 사용과 관련이 있는 것으로 간주되는지 여부와 관계없다. 연구 동안 악화된 기존의 상태도 부작용으로 보고된다.
- [0215] 치료는 부작용의 정도가 중간 내지 중증인 경우에 72 시간의 지속 시간 도중 임의의 시점에 중단시킨다. 이후의 치료는 주치의에 의해 결정된다. 이와 같이, 본 실시예에 따라, 본 발명의 ORP 수용액의 부비동염 치료를 위한 효과가 입증되었다.
- [0216] 실시예 14
- [0217] 본 실시예는 아데노바이러스-항원형 5에 대한 예시적인 ORP 수용액의 살바이러스 활성을 보여준다. 본 실시예에서는, E1a-, 부분적으로는 E1b-, 및 부분적으로 E3-결실된 인간 아데노바이러스 유형 5에 기초한 아데노바이러스 (Ad) 벡터를 사용하였다. pCMV의 전사 조건하에 녹색 형광 단백질 (GFP) 리포터 유전자를 함유하는 서틀 플라스미드를 준비하였다 (pAd-Track). 상기 pShuttle 플라스미드와 AdEasy 1 플라스미드의 상동성 재조합을 전기-컴피텐트(electrocompetent) 박테리아에서 수행하였다. 삽입체를 갖는 클론을 제한 엔도뉴클레아제 분해에 의해 시험하였다. 확인되면, 초나선형 플라스미드 DNA를 대규모 증식을 위해 DH10B 세포에 형질전환시켰다. 이후에, 293 세포 (ATCC 1573)를 혈청-무함유 배지 (OptiMEM-GIBCO)에서 배양하고, Pad로 분해된 재조합 플라스미드로 형질감염시켰다. 감염된 세포를 세포 변성 효과에 대해 모니터링하고, 수집하고, 냉동 및 해동 주기를 3회 반복하여 용해시켰다. 생성된 바이러스 (AdGFP)를 제조자의 지시에 따라 아데노퓨어(AdenoPure) 컬럼 (BD 클론테크(BD Clontech))으로 정제하였다. 바이러스를 OD 260/280으로 정량화하였다. 최종 수율은 1.52×10^{11} pfu/mL이었다.
- [0218] 녹색 형광 단백질 유전자 (AdGFP)를 코딩하는 아데노바이러스를 실험시키는 ORP 수용액의 효능은, 형광-활성화된 유세포측정을 이용하는, 대조군 AdGFP 바이러스 또는 ORP 수용액-처리된 AdGFP로 감염된 HeLa 세포로부터의 형광 방출의 검출에 기초한 시험을 이용하여 평가하였다. HeLa 세포의 감염은 항상 7.5×10^7 pfu/mL (즉, 150 m.o.i.)에서 수행하였다. 모든 시험 조건 하에, 세포는 광학 현미경에서 정상인 것으로 나타났다. 대조군 HeLa 세포에서 측정된 백그라운드 형광은 0.06%였다. 대조군 AdGFP로 감염시킨 후에, 88.51%의 HeLa 세포가 GFP를 발현시켰다. ORP 수용액에 노출시킨 후에, 아데노바이러스 감염성은 노출 기간에 반비례하여 감소하였다. 따라서, 1 분, 5 분 및 10 분 동안 ORP 수용액-처리된 바이러스는 단지 각각 HeLa 세포 배양물의 2.8%, 0.13% 및 0.09%에서 GFP를 발현시킬 수 있었다. 모든 시험된 조건 (즉, 7.5×10^7 pfu)에서 자가 형광 및 초기 바이러스 로드를 고려하였을 때, AdGFP-HeLa 대조군에서의 감염 역가는 6.6×10^7 pfu였다. 바이러스를 ORP 수용액으로 처리한 군에서, 바이러스를 ORP 수용액에 1 분, 5 분 및 10 분 노출시켰을 때의 감염 역가는 각각 2.0×10^6 , 5.2×10^4 및 2.2×10^4 이었다. 이에 따라, 바이러스를 ORP 수용액에 1 분, 5 분 및 10 분 노출시켰을 때 $\log_{10}$ 감소 인수는 각각 1.5, 3.1 및 3.5였다. 이들 결과는 함께 바이러스를 ORP 수용액에 5 분 동안 노출시키면 바이러스 로드의 3 초과와 $\log_{10}$ 감소가 달성된다는 것을 보여준다.
- [0219] 실시예 15
- [0220] 본 실시예는 무생물적 환경 표면의 소독을 위한 미국 환경보호청(United States Environmental Protection Agency) 프로토콜을 사용하여 HIV에 대한 예시적인 ORP 수용액의 살바이러스 효과를 보여준다.
- [0221] HIV-1의 SF33 균주를 본 연구에 사용하였다. 건강한 공여자로부터 수득한 말초혈 단핵 세포를 HUT 배지에서 3

일 동안 PHA (3 $\mu\text{g/mL}$, 시그마(Sigma)) 및 인간 IL-2 (20 U/mL, 로쉐(Roche))로 활성화시켰다. 세포를 세척하고, SF33 균주로 감염시켰다. 상등액을 제4일 및 제6일에 수집하고, ELISA (베크만 코울터(Beckman Coulter))로 p24 HIV-1 항원에 대해 시험하였다. 상등액을 실온에서 20 분 동안 3000 RPM으로 원심분리하여 세포와 세포 용해물을 분리하였다. 상등액을 분리하고, 분취하고, 바이러스를 사용하는 날까지 -80°C 에 보관하였다.

[0222] 냉동시킨 분취액을 사용 직전에 37°C 에서 2 분 동안 해동시켰다. HUT 배지 중 연속적 대수 희석액 (-1 내지 -5)을 사용하였다. 0.2 ml의 바이러스 접종원을 55 cm^2 멸균 폴리스티렌 페트리 접시의 바닥에 균일하게 스프레딩하여 바이러스 막을 제조하였다. 바이러스 막은 생물학적으로 안정한 캐비넷에서 이들이 육안으로 건조된 것으로 나타날 때까지 (20 분) 실온 (21°C)에서 공기-건조시켰다 (바이러스 균주 (SF33)가 복제될 수 있고, 세포 변성 효과를 나타낼 수 있도록 하기 위해, 상기 절차를 건조시키지 않은 HUT 배지에 남아있는 바이러스 현탁액을 사용하여 반복하였다).

[0223] 대조군 막을 2 ml의 HUT 배지에 5 분 동안 노출시켰다. 이어서, 바이러스를 스크래핑하고, 희석하였다. 별도의 건조된 막을 실온에서 각각의 ORP 수용액 2 ml에 5 분 동안 노출시켰다. 노출 시간 이후에, 플레이트를 스크래핑하여, 이들의 내용물을 다시 현탁시켰다. 바이러스-ORP 수용액 혼합물을 즉시 HUT 배지로 희석 (10:1)하였다. 이와 같이 생성된 현탁액의 연속적 log 희석액을 감염성에 대해 분석하였다 (MT-2 세포에 대한 ORP 수용액의 가능한 직접적인 세포독성 효과를 제어하기 위해, ORP 수용액의 2 ml 분취액을 배지로 연속적으로 (10:1 내지 10:5) 희석하고, MT-2 세포 배양물에 접종하였다).

[0224] MT-2 세포주를 감염성 분석에서 지표 세포주로 사용하였다. 이 세포주는 HIV-1로 감염시켰을 때 신시티아 (syncytia) 형성으로 이루어진 세포 변성 효과를 나타내었다. 4개의 마이크로웰에 시험군 (ORP 수로 재구성됨) 및 대조군 (조절 배지로 재구성됨)으로부터 수득한 재구성된 바이러스 현탁액의 각각의 희석액 0.2 ml를 접종하였다. 감염되지 않은 세포 대조군에 시험 배지만을 접종하였다. 배양물을 37°C 및 5% CO_2 에서 인큐베이션하였다.

[0225] 배양물은 ELISA를 이용하여 세포 변성 효과의 존재 또는 부재 뿐만 아니라 p24-HIV-1 항원의 존재에 대해 2일 마다 주기적으로 스코어링하였다. 실험에 의해 대조군 HIV-1로 감염시킨 결과 세포 변성 효과가 나타났으며, Ag p24 단백질이 감염된 MT-2 배양물의 상등액으로 방출되었다. 이와 달리, ORP 수용액으로 HIV-1을 5 분 동안 처리한 결과, 2 가지 분석에 의해 MT-2 배양물에서 측정된 바와 같이 바이러스 로드와 3 초과와 $\log_{10}$ 감소가 달성되었다. 따라서, 이러한 결과는 효능의 수준이 무생물적 표면에 대한 HIV-1 살바이러스 활성을 위한 EPA 요구에 부합한다는 것을 보여준다.

[0226] 실시예 16

[0227] 본 실시예는 인간 이배체 섬유아세포 (HDF)의 생존성에 대한 예시적인 ORP 수용액 대 과산화수소 (HP)의 효과를 입증한다. 상기 잠재적인 독성을 연구하기 위해, HDF를 시험관내에서 ORP 수용액 및 과산화수소 (HP)에 노출시켰다. HP는 진핵세포에 독성이고, 세포자멸 및 괴사를 증가시키고, 세포 생존성을 감소시키는 것으로 알려져 있다. 본 실시예에서, 세포 생존성, 세포자멸 및 괴사는 5 및 30 분 동안 순수한 ORP 수용액 및 880 mM HP (HP의 방부 용도를 위해 사용되는 농도)에 노출된 HDF에서 측정하였다.

[0228] HDF 배양액은 3개의 상이한 음경 포피로부터 얻고, 이를 본 연구의 목적을 위해 함께 모아 동결보존하였다. 이 배체 세포만을 모든 실험에 사용하였다. 세포 주기 분석에서, DNA 이배체성은 적어도 총 20,000회로부터 수집된 $\text{CV} \leq 7\%$ 의 단일 G0-G1 피크 및 상응하는 G2/M 피크의 존재로서 정의되었다. 도 4A-4C는 5 및 30 분의 노출 시간에 따른 결과를 각각 백색 및 흑색 막대로 표시하여 보여준다. 상기 파라미터의 동시 분석은 A) 7-아미노악티노마이신 D (7 AAD); B) 에넥신 V-FITC 및 C) 요오드화프로피듐을 사용하여 유동 세포 측정에 의해 동일한 세포 집단에서 수행하였다. 도 4A-4C는 평균 $\pm$ SD ($n=3$)로 표현된 비율값을 보여준다.

[0229] 세포 생존성은 항균 농도의 최대 강도-ORP 수용액 및 880 mM HP에 5 분 노출시킨 후에 각각 75% 및 55%이었다 (도 4A). 최대 강도 ORP 수용액의 세포 생존성에 대한 효과는 치사량에 가까우나 소독력이 있는 것으로 여겨지는 매우 희석된 HP 용액 (즉, 500 μM)와 대등하다. 노출을 30 분으로 연장하면, 세포 생존성은 각각 70% 및 5%로 더욱 감소하였다. 분명한 사실은, ORP 수용액이 괴사를 통해 세포 사멸을 유도하였다는 사실이고, 이것은 15%의 세포가 두 노출 시간에서 유동 세포 측정 분석에서 요오드화프로피듐을 포함하였기 때문이다 (도 4C). 세포자멸은 단지 3%의 ORP 수용액 처리된 세포만이 세포 표면에 에넥신-V (세포자멸 마커)를 노출하기 때문에 그에 의해 ORP 수용액이 세포 사멸을 유도하는 메커니즘으로는 보이지 않는다 (도 4B). 상기 비율은 대

조균에서 측정된 것과 실질적으로 유사하였다. 이와 대조적으로, HP는 5 및 30 분 노출 후에 각각 20% 및 75%의 처리된 세포의 괴사 및 15% 및 20%의 세포자멸을 유도하였다. 상기 결과는 함께 (비회석된) ORP 수용액이 방부 농도의 HP보다 HDF에 대한 독성이 훨씬 더 낮음을 보여준다.

[0230] 실시예 17

[0231] 본 실시예는 HDF에서 산화성 DNA 손상 및 DNA 애덕트 8-히드록시-2'-데옥시구아노신 (8-OHdG)의 형성에 대한 예시적인 ORP 수용액의 효과를 과산화수소 (HP)와 비교하여 보여준다. 세포에서 8-OHdG 애덕트의 생산은 DNA의 특정 잔기의 산화성 손상의 마커로 알려져 있다. 또한, 상기 애덕트의 높은 세포 수준은 돌연변이 발생, 발암 및 세포 노화와 밀접하게 관련된다.

[0232] 도 5는 30 분 동안의 대조군 처리, ORP 수용액 처리 및 HP 처리 후에 HDF로부터의 DNA 샘플에 존재하는 8-OHdG 애덕트의 수준을 보여준다. DNA는 노출 직후 (T0, 백색 막대) 또는 시험 기간 3시간 후 (T3, 흑색 막대)에 추출하였다. DNA를 분해하고, 8-OHdG 애덕트를 제조자의 지시에 따라 ELISA 키트로 측정하였다. 값 (ng/mL)은 평균 $\pm$ SD로 제시된다 (n=3). 30 분 동안 ORP 수용액에 노출한 경우, 30 분 동안 인큐베이션한 후의 대조군 세포에 비해 처리된 세포에서 애덕트의 형성이 증가되지 않았다. 이와 대조적으로, 500 μ M HP로 30 분 처리하면 대조군 처리된 또는 ORP 수용액 처리된 세포에 비해 8-OHdG 애덕트의 수가 약 25배 증가되었다.

[0233] ORP 수용액 처리된 세포는 ORP 수용액에 노출된 후 3시간 동안 보충된 DMEM에 유지될 경우 8-OHdG 애덕트의 수준을 감소시킬 수 있었다. 3시간의 동일한 회수 기간에도 불구하고, HP 처리된 세포는 대조군 처리된 또는 ORP 수용액 처리된 세포보다 약 5배 더 많은 애덕트를 계속 제시하였다. 이들 결과는 함께 ORP 수용액에 대한 급성 노출은 유의한 DNA 산화성 손상을 유도하지 않음을 입증한다. 상기 결과는 또한 ORP 수용액이 시험관내 또는 생체내에서 돌연변이 발생 또는 발암을 유도하지 않을 것임을 나타낸다.

[0234] 실시예 18

[0235] 본 실시예는 낮은 농도의 예시적인 ORP 수용액 대 HP에 대한 장기 노출의 HDF에 대한 효과를 입증한다. 만성 산화성 스트레스는 세포의 조기 노화를 유도한다고 알려져 있다. 지속적인 산화성 스트레스를 모방하기 위해서, 1차 HDF 배양액을 20회의 군집 배가 (doubling) 동안 낮은 농도의 ORP 수용액 (10%) 또는 HP (5 μ M)에 만성적으로 노출시켰다. SA- β -갈락토시다제 효소의 발현 및 활성은 생체내 또는 시험관내에서 노화 과정과 관련된 것으로 이미 보고되었다. 본 실시예에서 SA- β -갈락토시다제 효소의 발현은 ORP 수용액 또는 HP에 HDF를 1개월 동안 연속 노출시킨 후에 분석하였다. 그 결과를 도 6에 도시하였다. 효소 SA- β -갈락토시다제의 발현은 20개의 현미경 영역에서 청색 세포의 수를 계수함으로써 분석하였다. 도 6은 SA- β -갈락토시다제를 과다발현하는 세포의 수 (n=3)로 나타난 바와 같이 HP 처리만이 세포 노화를 가속시킴을 보여준다. 낮은 용량의 HP로 장기 처리하면, 86%의 세포에서 SA- β -Gal 발현이 증가한 반면, ORP 수용액으로 처리한 경우에는 상기 단백질의 과다발현을 유도하지 않았다. 본 실시예로부터 ORP 수용액은 조기 세포 노화의 유도자가 아니라고 결론 내릴 수 있다.

[0236] 실시예 19

[0237] 본 실시예는 복막 박테리아 로드의 감소 및 복막염 환자의 입원일수 감소에 대한 예시적인 ORP 수용액의 효과를 보여준다. 2004년 6월부터 2005년 1월까지 멕시코 시트의 루벤 레네로(Ruben Lenero) 병원에 입원하고, 급성 일반화된 재발성 복막염으로 진단된 모든 환자를 ORP 수용액-처리군에 포함시켰다. 재발성 복막염은 복강의 오염을 초래하는 위장 또는 비뇨-생식 기관의 보존성 손실의 결과로 정의하였다. 동일한 기관에서 2003년과 2004년 사이에 유사한 복막 감염을 나타내는 쌍을 이룬 사건들의 회귀 분석을 대조군으로 수행하였다. 20명의 연속 환자를 ORP 수용액-처리군 (즉, 연구군)에 예비 포함시켰다.

[0238] 입원시, 모든 환자에서 개방 수술 및 복부의 모든 4분면의 수술 중 복막 세척 ("IOPL")을 시행하였다. 수술 중 복막-배양 샘플을 2개의 군에서 모두 채취하였다. 2개의 군 모두에 10 L의 염수 용액을 사용한 후에 연구군에만 5 L의 ORP 수용액을 사용하여 IOPL을 수행하였다. 잉여량의 ORP 수용액을 제거하고, 추가의 세정을 수행하지 않았다. 2개의 군에서 복강을 플라스틱 메쉬로 덮었다. 그러나, 연구군에서는, ORP 수용액이 흡수된 드레싱을 메쉬의 상부에 올려 놓았다. 드레싱은 교체되었다 (t.i.d.). 실험적 항미생물 요법을 클리다마이신 및 세포타심 또는 아미카신을 포함하는 2 가지 항생제를 사용하여 모든 환자에서 시작하였다. 연구군에서의 수술 후 관리 100 mL의 ORP 수용액으로 메쉬를 매일 관류하는 것을 포함하며 (t.i.d.), 추가로 세정 또는 세척을 수행하지 않았다. 중증의 복막염 환자는 72 시간마다 다시 개복술 및 IOPL을 수행할 필요가 있었다. 호기성 및 진균에 대한 복막액 배양액은 2개의 군에서 1 주일까지 72 시간마다 수집하였다. 입원 기간을 기록하였다.

[0239]

시설의 의료 기록으로부터 20명의 대조군 환자를 선별하고, 연령, 성별 및 복막염 병인에 의해 연구군과 짝을 지었다. 대조군과 연구 집단은 연령, 성별 및 입원시 예후 인자가 유사하였다. 복막염의 해부학적 기점 및 병인도 또한 2개의 군이 유사하였다 (표 6).

표 6

진단

진단	대조군	연구군	총	%
충수염	3	6	9	23.0
외상후	1	3	4	10.0
췌장염	6	3	9	23.0
담낭염	1	2	3	7.5
결장암	0	1	1	2.5
소장 누공	4	1	5	12.5
계실염	1	1	2	5.0
위 천공	4	0	4	10.0
다른 기관 천공	0	2	2	5.0
기타	0	1	1	2.5
총	20	20	40	100.0

[0240]

[0241]

수술후 복막염이 대조군 및 연구군에서 각각 19명 및 17명의 환자에게서 나타났다. 모든 환자에게서 IOPL을 수반하는 수술 치료를 수행하였다. 대조군/연구군에서 수행된 수술의 유형의 다음과 같다: 충수 절제술 (3/6), 위 절제술 (4/0), 담낭 절제술 (1/2), 괴사성 췌장 절제술 (6/3), 문합에 의한 소장 봉합/절제술 (4/3), 하트만 (Hartman) 수술 (1/1), 결장 절제술 (0/1) 및 기타 (1/4). 2개의 군에서 항생제 사용은 매우 비슷하였다. 대조군 및 연구군에서, 각각 16명 및 15명의 환자에게 3 가지 항생제가 투여되었으며, 4명 및 5명의 환자에게는 3 가지가 넘는 항생제가 투여되었다. 환자를 ICU에서 유지시키고, 수술 후에 기계적으로 산소를 공급하였다. 수술 직전 복막내 샘플을 40명의 환자 모두에게서 수집하였다 (표 7).

표 7

복막내 샘플로부터 분리된 미생물 및 복막염 환자의 입원 기간

유기체	대조군			연구군		
	단리된 균주 (n)		입원일	단리된 균주 (n)		입원일
	Peri-op	Post-op		Peri-op	Post-op	
씨. 알비칸스	10	7	19.4	7	0	6.3
이. 콜라이	3	2	17.6	6	1	10.2
에스.아우레우스	10	9	22.3	8	1	14.1
코아쿨라제 음성 연쇄상구균	0	0	0	2	0	17.8
에이.바우만나이	0	0	0	1	0	22.4
이.파에칼리스	3	3	23.7	1	0	28.6
에이.자일로속시단스	0	0	0	1	0	28.6
피.아에루기노사	2	2	24.0	3	0	33.9
이.코아카에	1	1	13.0	1	0	37.0
총	29	24	31.9	30	2	22.4

[0242]

[0243]

샘플을 수술 직전에, 그리고 염수 용액 (대조군)을 단독으로 사용하거나 또는 염수 용액 및 ORP 수용액 (연구군)을 사용하여 수술 중 세척을 수행한 다음 주에 수득하였다. 이어서, 입원시 분리된 각각의 미생물 및 전체 군에 대해 평균 입원일을 분석하였다.

[0244]

수술 직전 샘플을 40 명의 환자 모두에게서 수집하였다 (표 7). 이들 샘플에서 성장한 미생물 수의 평균은 대조군에서는 29개, 연구군에서는 30개였다. 분리된 미생물을 표 8에 나타내었다. 에스체리치아 콜라이, 엔테로

코커스, 스타필로코커스 아우레우스, 슈도모나스 아에루기노사 및 진균은 상기 군으로부터 각각 3/6, 4/2, 10/8, 2/3 및 10/7 경우로 분리되었다. 에이. 자일로속시단스(*A. xilosidans*) (1), 코아글라제(coagulase) 음성 연쇄상구균 (2) 및 에이. 바우만니이 (1)에 대한 양성 배양물은 연구군에서 발견되었다.

[0245]

2차 복막내 배양물을 수술 이후 처음 1 주일 동안 수집하였다 (표 7). 이 시점에서, 대조군에서 분리된 유기체 수의 평균 (24)은 수술 직전 샘플 (29)에서와 거의 동일하였다. 중요하게는, 연구군에서 양성 샘플의 수가 상당히 많이 감소하였다. 수술 직전 샘플의 30개의 양성 배양물로부터, 하나 만이 에스. 아우레우스에 대해 양성으로 남아 있고, 다른 하나가 이. 콜라이에 대해 양성으로 남아 있었다. 입원일 분석에서, 대조군은 연구군 (22.4 일)에 비해 장기 (31.9 일) 입원하였다. 이와 같이, ORP 수용액은 복막 박테리아 로드 및 복막염 환자의 입원 기간을 효과적으로 감소시켰다.

[0246]

또한 사망률을 분석하였다. 대조군에서는 6명의 환자가 사망하였고, 연구군에서 3명의 환자가 사망하였다. 이들은 모두 1차 수술 이후 처음 30일 이내에 사망하였으며, 계산된 상대적 위험은 대조군의 경우가 보다 높았다 (즉 3.3 대 0). 그러나, 샘플 크기가 통계적 유의성을 달성하기에는 너무 작았다. IOPL에 ORP 수를 사용하였을 때 국부적인 부작용이 기록되지 않았다. 연구군에서 생존한 환자를 6 내지 12 개월 동안 추가 조사하였다. ORP 수-처리군 환자 20명 중에서 추가 조사 기간 동안 장 폐색 또는 경화성 복막염을 시사하는 데이터가 나타난 환자는 없었다.

[0247]

실시예 20

[0248]

본 실시예는 비만 세포 탈과립의 억제에 예시적인 ORP 수용액 (마이크로신)의 유효성을 보여준다. 비만 세포는 제I형 과민증 질환의 주요한 요인으로 인식되어 왔다. 아토피성 피부염, 알레르기 비염, 및 아토피성 천식에서 관찰된 여러 임상 증상은 별개의 이환 조직에 존재하는 비만 세포의 IgE-항원 자극에 의해 생성된다. 아토피성 천식의 발병 기전의 현재 받아들여지고 있는 관점은 소위 반응 초기에 알레르겐이 매개자, 예를 들어 히스타민, 류코트리엔, 프로스타글란딘, 키니신, 혈소판 활성화 인자 (PAF) 등을 방출시키기 위해 IgE-보유 폐비만 세포 (MC)를 촉발시킴으로써 과정을 개시시킨다는 것이다. 다시, 상기 매개자는 기관지 수축을 유발하고, 혈관 투과성 및 점액 생산을 향상시킨다. 상기 모델에 따르면, 비만 세포 활성화 후에, 이들 세포는 다른 염증 세포, 예를 들어 호산구, 호염기구, T 림프구, 혈소판 및 단핵 식세포의 국부 동원 및 활성화에 참여하는 종양 괴사 인자 알파 (TNF- α), IL-4, IL-5 및 IL-6를 포함하여 다양한 전염증성 시토킨을 분비한다. 상기 동원된 세포는 다시 이후에 자율성이 될 수 있는 염증 반응의 발생에 기여하고, 천식 징후를 악화시킨다. 상기 후기 반응은 주위 조직의 생활 조직 (plastic) 변경을 유도할 수 있는 장기간의 염증 과정을 구성한다 (문헌 [Kumar et al., pp. 193-268] 참조).

[0249]

비만 세포의 항원 자극은 IgE에 결합하여 이후에 수용체-결합 IgE의 특정 항원과의 상호작용에 의해 응집될 수 있는 다량체 단백질인 IgE에 대한 고친화도 수용체 (Fc ϵ RI 수용체)의 활성화를 통해 발생한다. 그의 구조는 4개의 폴리펩티드, 즉 그의 신호 전달 능력을 증폭시키는 작용을 하는 IgE 결합 α 사슬, β 사슬, 및 코딩되는 면역수용체 티로신계 (ITAM) 활성화 모티프를 통한 주요 신호 전달자인 2개의 디설파이드 연결된 γ 사슬을 포함한다. 상기 수용체의 가교결합에 의해 활성화된 신호전달 경로의 특성은 골수-유래 비만 세포 (BMMC), 래트 백혈병 세포주 RBL 2H3, 마우스 및 래트 복막 비만 세포, 및 다른 비만 세포주, 예를 들어 MC-9를 사용하여 결정하였다. 이들 모두에서, IgE에 결합된 항원의 존재는 비만 세포 탈과립, 칼슘 이동, 세포골격의 재배열 및 시토킨 생산을 유도하는 시토킨 유전자 전사를 활성화시키는 상이한 전사 인자 (NFAT, NF κ B, AP-1, PU.1, SP1, Ets 등)의 활성화를 유발한다.

[0250]

성숙한 뮤린 골수 유래 비만 세포(BMMC)에 4시간 동안 37°C에서 모노클로날 항-디니트로페놀 IgE (300 ng/10⁶ 개 세포)를 부가하였다. 배양 배지를 제거하고, 세포를 생리학적 완충액 (티로드 (Tyrode) 완충액/BSA)에 재현탁시켰다. 이어서, 세포를 별개의 농도의 ORP 수용액 (그의 마이크로신 실시양태)으로 15 분 동안 37°C에서 처리하였다. 완충액을 제거하고, 세포를 신선한 티로드/BSA에 재현탁시키고, 상이한 농도의 항원 (디니트로페놀에 커플링된 인간 알부민)으로 30 분 동안 37°C에서 자극하였다. 탈과립은 별개의 탄수화물을 가수분해하는 상기 효소의 능력을 기초로 한 비색 반응을 사용하여 자극된 세포의 상등액 및 펠렛에서의 β -헥소사미니다제 활성 결정에 의해 측정하였다 (β -헥소사미니다제는 비만 세포에 히스타민을 함유하는 동일한 과립에 위치하는 것으로 밝혀졌다). 그 결과 (도 7)는 ORP 수용액의 농도가 증가하면서 탈과립이 유의하게 감소함을 보여준다.

[0251]

놀랍게도, ORP 수용액 (마이크로신)의 비만 세포 탈과립에 대한 억제 효과는 적어도 임상적으로 효과적인 "비만 세포 안정화제" 및 확립된 항-알레르기 화합물인 나트륨 크로모글리케이트 (인텔 (Intel; 상표명))에서 관찰된 것과 유사하였다. 탈과립은 다시 별개의 탄수화물을 가수분해하는 상기 효소의 능력을 기초로 한 비색 반응을

사용하여 자극된 세포의 펠렛 및 상등액에서의 β -핵소사미니다제 효소 활성에 의해 측정하였다. 항-DNP 모노클로날 IgE가 부가된 세포를 나트륨 크로모글리케이이트 (인텔™)와 함께 15 분 동안 예비 인큐베이션하거나 하지 않은 상태에서 자극하였다. 크로모글리케이이트는 탈과립 감소에 있어 ORP 수용액보다 더 효과적이지 않았다 (도 7과 도 8 비교; 두개 모두 적어도 약 50%의 탈과립 감소를 달성함).

[0252]

실시예 21

[0253]

본 실시예는 칼슘 이온 운반체에 의한 비만 세포 활성화에 대한 예시적인 ORP 수용액의 억제 활성을 보여준다.

[0254]

비만 세포는 칼슘 이온 운반체에 의해 유도되는 칼슘 유동의 활성화를 통해 자극될 수 있다. 칼슘 이온 운반체에 의해 활성화된 신호전달 경로의 특성은 골수-유래 비만 세포 (BMMC), 래트 백혈병 세포주 RBL 2H3, 마우스 및 래트 복막 비만 세포, 및 다른 비만 세포주, 예를 들어 MC-9를 사용하여 결정하였다. 상기 모든 시스템에서, 칼슘 이동은 비만 세포 탈과립 (예를 들어 히스타민 방출), 세포골격의 재배열, 및 시토킨 생산 및 분비를 유도하는 시토킨 유전자 전사를 활성화시키는 상이한 전사 인자 (예를 들면, NFAT, NF κ B, AP-1, PU.1, SP1, Ets)의 활성화를 유발한다.

[0255]

성숙한 뮤린 BMMC에 4시간 동안 37°C에서 모노클로날 항-디니트로페놀 IgE (300 ng/10⁶개 세포)를 부가하였다. 배양 배지를 제거하고, 세포를 생리학적 완충액 (티로드 완충액/BSA)에 재현탁시켰다. 이어서, 세포를 별개의 농도의 ORP 수용액 (마이크로신)으로 15 분 동안 37°C에서 처리하였다. 완충액을 제거하고, 세포를 신선한 티로드/BSA에 재현탁시키고, 칼슘 이온 운반체 (100 mM A23187)로 37°C에서 30 분 동안 인큐베이션하여 자극하였다. 탈과립은 별개의 탄수화물을 가수분해하는 상기 효소의 능력을 기초로 한 비색 반응을 사용하여 자극된 세포의 상등액 및 펠렛에서의 β -핵소사미니다제 활성 결정에 의해 측정하였다 (β -핵소사미니다제는 비만 세포에 히스타민을 함유하는 동일한 과립에 위치하는 것으로 밝혀졌다). 그 결과 (도 8)는 ORP 수용액의 농도가 증가하면서 탈과립이 유의하게 감소함을 보여준다.

[0256]

상기 결과는 ORP 수용액이 히스타민 방출의 비-특이적 억제제임을 시사한다. 따라서, ORP 수용액은 심지어 상이한 농도에서도 자극원 (예를 들어 항원 또는 이온 운반체)과 무관하게 비만 세포의 탈과립을 억제할 것이다. 임의의 이론에 매이기를 원하지 않지만, ORP 수용액은 아마도 원형질막 및/또는 세포골격 수준에서 분비 경로 시스템을 변경할 것이다. ORP 수용액의 작용 메커니즘은 비-특이적인 것으로 생각되기 때문에, ORP 수용액은 넓은 잠재적인 임상 용도를 가질 수 있을 것으로 생각된다.

[0257]

실시예 22

[0258]

본 실시예는 비만 세포 시토킨 유전자 전사의 활성화에 대한 예시적인 ORP 수용액의 효과를 보여준다.

[0259]

도 10A 및 10B는 상이한 농도에서 15 분 동안 ORP 수용액으로 처리되고 실시예 20에 기재된 바와 같이 추가로 항원에 의해 자극된 비만 세포로부터 RNAase 보호 분석을 보여준다. 자극 후에, mRNA를 친화도 크로마토그래피 컬럼 (RNAeasy 키트, 퀴아젠 (Qiagen))을 사용하여 추출하고, RNAase 보호 분석은 항원 투여 후에 별개의 시토킨의 mRNA 생산을 검출하기 위해서 표준 키트 조건 (클론테크 (Clontech), 벡톤 & 디킨슨 (Becton & Dickinson))을 사용하여 수행하였다. 시토킨은 TNF- α , LIF, IL13, M-CSF, IL6, MIF 및 L32를 포함하였다.

[0260]

도 10A 및 10B는 ORP 수용액 (마이크로신)이 실험에 사용된 ORP 수용액 또는 항원의 농도에 무관하게 비만 세포에 항원을 투여한 후에 시토킨 mRNA 수준을 변경시키지 않음을 보여준다.

[0261]

본 연구에서, 전염증 유전자의 전사체 수준 (즉, 자극된 비만 세포의 RNA 함량)은 상이한 농도의 항원으로 자극된 후에 ORP 수용액 처리된 비만 세포에서 변경되지 않았다. 따라서, ORP 수용액은 그의 전사에 영향을 주지 않으면서 상기 시토킨의 분비 경로를 억제하였다.

[0262]

실시예 23

[0263]

본 실시예는 TNF- α 의 비만 세포 분비에 대한 예시적인 ORP 수용액의 억제 활성을 보여준다.

[0264]

비만 세포를 상이한 농도의 ORP 수용액으로 15 분 동안 처리하고, 실시예 20에 기재된 바와 같이 항원에 의해 추가로 자극하였다. 이후에, 조직 배양 배지를 교체하고, TNF- α 수준을 측정하기 위해 신선한 배지의 샘플을 다양한 시간 (2-8 시간)에서 수집하였다. 샘플을 동결시키고, 제조사의 지시에 따라 시판되는 ELISA 키트 (바이오소스 (Biosource))를 사용하여 추가로 분석하였다.

[0265]

도 11은 항원 자극 후에 ORP 수용액 처리된 세포로부터 배지로 분비되는 TNF- α 의 수준이 처리되지 않은 세포에

비해 유의하게 감소됨을 보여준다.

- [0266] TNF- α 의 방출 및 다양한 다른 전염증성 분자의 방출은 히스타민 경로보다 별도의 분비 경로에 의존하므로, ORP 용액은 후기 염증 단계를 유도하는 다른 시토킨의 분비를 증진시킬 수 있다.
- [0267] 따라서, ORP 수용액은 항원-자극된 비만 세포의 TNF- α 분비를 억제하였다. 이 결과는 ORP 수용액을 사용하면 외과 수술 절차 이후에 다양한 상처에서 염증 반응을 감소시킬 수 있다는 임상적 관찰과 일치하는 것이다.
- [0268] 실시예 24
- [0269] 본 실시예는 MIP 1- α 의 비만 세포 분비에 대한 예시적인 ORP 수용액의 억제 활성을 보여준다.
- [0270] 비만 세포를 상이한 농도의 예시적인 ORP 수용액 (마이크로신)으로 15 분 동안 처리하고, 실시예 20에 기재된 바와 같이 항원에 의해 추가로 자극하였다. 이후에, 조직 배양 배지를 교체하고, MIP 1- α 수준을 측정하기 위해 신선한 배지의 샘플을 다양한 시간 (2-8 시간)에서 수집하였다. 샘플을 동결시키고, 제조사의 지시에 따라 시판되는 ELISA 키트 (바이오소스)를 사용하여 추가로 분석하였다.
- [0271] 도 12는 항원 자극 후에 ORP 수용액 처리된 세포로부터 배지로 분비되는 MIP 1- α 의 수준이 처리되지 않은 세포에 비해 유의하게 감소됨을 보여준다.
- [0272] 따라서, ORP 수용액은 항원-자극된 비만 세포의 MIP 1- α 분비를 억제하였다. 이 결과는 ORP 수용액을 사용하면 외과 수술 절차 이후에 다양한 상처에서 염증 반응을 감소시킬 수 있다는 임상적 관찰과 일치하는 것이다.
- [0273] MIP 1- α 의 방출 및 다양한 다른 전염증성 분자의 방출은 히스타민 경로보다 별도의 분비 경로에 의존하므로, ORP 용액은 후기 염증 단계를 유도하는 다른 시토킨의 분비를 증진시킬 수 있다.
- [0274] IL-6 및 IL-13 분비를 측정하는 유사한 연구 결과를 도 13 및 14에 도시하였다.
- [0275] 실시예 20-23 및 본 실시예는 ORP 수용액이 IgE 수용체 가교결합에 의해 개시되는 초기 및 후기 알레르기 반응을 억제할 수 있음을 추가로 입증한다.
- [0276] 실시예 25
- [0277] 본 실시예는 예시적인 ORP 수용액을 사용한 독성 연구 결과를 보여준다.
- [0278] 급성 전신 독성 연구는 예시적인 ORP 수용액인 마이크로신 60의 잠재적인 전신 독성을 결정하기 위해 마우스에서 수행하였다. 5마리의 마우스에게 복막내 경로에 의해서 단일 용량 (50 mL/kg)의 마이크로신 60을 주사하였다. 5마리의 대조군 마우스에게 단일 용량 (50 mL/kg)의 염수 (0.9% 염화나트륨)를 주사하였다. 모든 동물에서 사망률 및 유해한 반응에 대해 주사 직후, 주사 4시간 후, 및 이어서 7일 동안 1일 1회 관찰하였다. 모든 동물을 또한 주사 전 및 제7일에 체중을 측정하였다. 연구 동안 사망은 발생하지 않았다. 모든 동물은 연구 기간 내내 임상적으로 정상으로 보였다. 모든 동물의 체중이 증가하였다. 본 연구로부터 추정된 마이크로신 60 급성 복막내 LD50은 50 mL/kg을 초과하였다. 본 실시예는 마이크로신 60이 유의한 독성을 보이지 않고 본 발명에 따른 치료 용도에 안전함을 입증한다.
- [0279] 실시예 26
- [0280] 본 실시예는 예시적인 ORP 수용액의 잠재적인 세포유전학적 독성을 결정하기 위해 수행된 연구를 보여준다.
- [0281] ORP 수용액의 마우스에 대한 복막내 주사의 돌연변이 유발 가능성을 평가하기 위해 예시적인 ORP 수용액 (마이크로신 (상표명) 10%)을 사용하여 미소핵 시험을 수행하였다. 포유동물의 생체내 미소핵 시험은 무린의 다염성 적혈구의 염색체 또는 유사분열 기구의 손상을 야기하는 물질을 확인하기 위해 사용된다. 상기 손상은 늦은 (lagging) 염색체 단편 또는 단리된 전체 염색체를 함유하는 세포내 구조체인 "미소핵"을 형성시킨다. ORP 수용액 연구는 각각 10마리의 마우스 (수컷 5마리/암컷 5마리)의 3개의 군, 즉 ORP 수용액을 투여한 시험군; 0.9% NaCl 용액을 투여한 음성 대조군; 및 돌연변이원성 시클로포스파미드 용액을 투여한 양성 대조군을 포함하였다. 시험 및 음성 대조군에는 각각 ORP 수용액 또는 0.9% NaCl 용액을 2일 (제1일 및 2일) 동안 연속적으로 복막내 주사하였다 (12.5 mL/kg). 양성 대조군 마우스에는 제2일에 시클로포스파미드 (8 mg/mL, 12.5 mL/kg)를 단일 복막내 주사로 투여하였다. 모든 마우스를 주사 직후에 임의의 유해한 반응에 대해 관찰하였다. 모든 동물은 연구 기간 내내 임상적으로 정상으로 보였고, 어떠한 독성 징후도 임의의 군에서 볼 수 없었다. 제3일에, 모든 마우스의 체중을 측정하고, 희생시켰다.
- [0282] 대퇴골을 희생시킨 마우스로부터 절제하고, 골수를 추출하고, 2개의 도말 표본을 각각의 마우스로부터 제조하였

다. 각각의 동물에 대한 골수 슬라이드를 40X 배율로 관찰하였다. 총 적어도 200개의 적혈구를 계수함으로써 골수 독성 지수인 다염성 적혈구 (PCE) 대 정염성 적혈구 (NCE)의 비율을 각각의 마우스에 대해 결정하였다. 이어서, 마우스당 최소 2000개의 측정가능한 PCE의 미소핵화된 다염성 적혈구의 발생률을 평가하였다. 데이터의 통계적 분석은 통계 소프트웨어 패키지 (Statview 5.0, 에스에이에스 인스티튜트 인크. (SAS Institute Inc., 미국))로부터 만과 휘트니 (Mann and Whitney) 시험 (5% 위험 역치에서)을 사용하여 수행하였다.

[0283] 양성 대조군 마우스는 그의 각각의 음성 대조군에 비해 통계상 유의하게 더 낮은 PCE/NCE 비를 나타냈고 (수컷: 0.77 대 0.90 및 암컷: 0.73 대 1.02), 처리된 골수에 대한 시클로포스파미드의 독성을 보였다. 그러나, ORP 수용액 처리된 마우스 및 음성 대조군의 PCE/NCE 비 사이에 통계상 유의한 차이가 존재하지 않았다. 유사하게, 양성 대조군 마우스는 ORP 수용액 처리된 마우스 (수컷: 11.0 대 1.4 / 암컷: 12.6 대 0.8) 및 음성 대조군 (수컷: 11.0 대 0.6 / 암컷: 12.6 대 1.0) 모두에 비해 통계상 유의하게 매우 많은 미소핵 함유 다염성 적혈구를 보유하고 있었다. ORP 수용액 처리된 및 음성 대조군 마우스에서 미소핵 함유 다염성 적혈구의 수 사이에 통계상 유의한 차이가 존재하지 않았다.

[0284] 본 실시예는 마이크로신(상표명) 10%가 마우스에게 복막내 주사한 후에 독성 또는 돌연변이 유발 효과를 유도하지 않았음을 입증한다.

[0285] 실시예 27

[0286] 본 연구는 예시적인 ORP 수용액인 더마신(Dermacyn)에 독성이 존재하지 않음을 입증한다.

[0287] 본 연구는 예시적인 ORP 수용액인 더마신의 세포독성 유발 잠재성을 결정하기 위해 ISO 10993-5:1999 표준에 따라 수행하였다. 0.1 mL의 더마신을 함유한 필터 디스크를 마우스 섬유아세포 세포 (L-929)의 단일층 위에 직접 아가로스 표면 상에 배치하였다. 제조된 샘플을 5% CO₂의 존재 하에 37°C에서 24시간 인큐베이션한 후에 세포 독성 손상에 대해 관찰하였다. 관찰 결과를 양성 및 음성 대조군 샘플과 비교하였다. 더마신을 함유하는 샘플은 세포 용해 또는 독성의 임의의 증거를 보이지 않은 반면, 양성 및 음성 대조군은 예상된 바와 같은 결과를 보였다.

[0288] 본 연구를 기초로 하여, 더마신은 무린 섬유아세포에 대해 세포독성 효과를 생성시키지 않는다고 결론을 내릴 수 있다.

[0289] 실시예 28

[0290] 본 연구는 예시적인 ORP 수용액인 더마신의 국부 허용성 및 전층의 피부 상처 치유 모델에서 상처층의 조직병리학에 대한 그의 효과를 평가하기 위해 16마리의 래트를 사용하여 수행하였다. 상처는 대상 래트의 양쪽 옆구리에 만들었다. 치유 과정 동안, 피부 섹션을 좌측 또는 우측 옆구리에서 채취하였다 (예를 들어, 각각 더마신 처리 및 염수 처리함).

[0291] 더마신 및 염수 처리된 외과적 상처 부위의 마손 트리크롬 (Masson's trichrome) 염색 섹션 및 콜라겐 제II형 염색 섹션을 인증된 수의학적 병리학자에 의해 평가하였다. 섹션은 연결 조직 증식, 섬유아세포 형태 및 콜라겐 형성, 단면에 신생 표피의 존재, 염증 및 피부 궤양 형성 정도의 표시로서 콜라겐 제2형 발현의 양에 대해 평가하였다.

[0292] 조사 결과는 더마신이 래트에 허용성이 높다는 것을 보여준다. 두 옆구리의 상처 (각각 더마신 처리 및 염수 처리됨)로부터의 피부 섹션에 처리 관련 조직병리학적 병변이 존재하지 않았다. 염수 처리된 상처 부위와 더마신 처리된 상처 부위 사이에 관련되는 조직병리학적 차이가 존재하지 않았고, 이는 더마신 치료가 허용성이 높다는 것을 나타낸다. 염수 처리된 상처 부위와 더마신(상표명) 처리된 상처 부위 사이에 콜라겐 제2형 발현의 유의한 차이가 존재하지 않았고, 이는 더마신이 상처 치유 동안 섬유아세포 또는 콜라겐 합성에 대해 유해한 효과를 갖지 않음을 나타낸다.

[0293] 실시예 29

[0294] 상기 실시예는 본 발명에 따른 예시적인 산화 환원 전위수 마이크로신의 효과적인 항미생물 용액으로서의 용도를 입증한다.

[0295] 시험관내 시간-사멸 평가를 마이크로신 산화 환원 전위수를 사용하여 수행하였다. 마이크로신을 50 가지 상이한 미생물 균주, 즉 25 가지의 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection) (ATCC) 균주 및 25 가지의 동일한 종의 임상적 단리물(Clinical Isolate)의 시험 현탁액에 대해 평가하였다 (문헌 [Tentative

Final Monograph, Federal Register, 17 June 1994, vol. 59:116, pg. 31444]에 기재되어 있음). 30 초, 1 분, 3 분, 5 분, 7 분, 9 분, 11 분, 13 분, 15 분 및 20 분 동안 마이크로신에 노출시킨 후에 각각의 시험 균주의 초기 집단으로부터의 감소율 및 Log_{10} 감소를 결정하였다. 모든 아가-플레이팅을 2회 수행하였으며, 마이크로신은 99% (중량/부피) 농도에서 평가하였다. 모든 시험은 21 C.F.R. Part 58에 명시된 굿 래버러토리 프랙티스 (Good Laboratory Practices)에 따라 수행하였다.

[0296]

하기 표는 5.0 Log_{10} 보다 큰 수준으로 감소된, 시험된 모든 집단에 대한 30초 노출 마크 (mark)시의 상기 언급된 시험관내 시간-사멸의 평가 결과를 요약한 것이다.

표 8

시험관 내 30초 사멸

번호	미생물 종	초기 집단 (CFU/mL)	노출 후 집단 (CFU/mL)	Log_{10} 감소	감소율
1	아시네토박터 바우만나이 (ATCC #19003)	2.340×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.3692	99.9999
2	아시네토박터 바우만나이 임상 단리물 BSLI #061901Ab3	1.8150×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.2589	99.9999
3	박테로이데스 프라길리스 (ATCC #43858)	4.40×10^{10}	$< 1.00 \times 10^3$	7.6435	99.9999
4	박테로이데스 프라길리스 임상 단리물 BSLI #061901Bf6	2.70×10^{10}	$< 1.00 \times 10^3$	7.4314	99.9999
5	칸디다 알비칸스 (ATCC #10231)	2.70×10^{10}	$< 1.00 \times 10^3$	6.3345	99.9999
6	칸디다 알비칸스 임상 단리물 BSLI #042905Ca	5.650×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.7520	99.9999
7	엔테로박터 아에로게네스 (ATCC #29007)	1.2250×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.0881	99.9999
8	엔테로박터 아에로게네스 임상 단리물 BSLI #042905Ea	1.0150×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.0065	99.9999
9	엔테로코커스 파에칼리스 (ATCC #29212)	2.610×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.4166	99.9999
10	엔테로코커스 파에칼리스 임상 단리물 BSLI #061901Ef82	1.2850×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.1089	99.9999
11	엔테로코커스 파에시움 VRE, MDR (ATCC #51559)	3.250×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.5119	99.9999
12	엔테로코커스 파에시움 임상 단리물 BSLI #061901Ef1	1.130×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.0531	99.9999
13	에스체리치아 콜라이 (ATCC #11229)	5.00×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.6990	99.9998
14	에스체리치아 콜라이 임상 단리물 BSLI #042905Ec1	3.950×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.5966	99.9997
15	에스체리치아 콜라이 (ATCC #25922)	6.650×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.8228	99.9998
16	에스체리치아 콜라이 임상 단리물 BSLI #042905Ec2	7.40×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.8692	99.9998
17	해모필루스 인플루엔자에 (ATCC #8149)	1.5050×10^9	$< 1.00 \times 10^4$	5.1775	99.9993

[0297]

18	해모필루스 인플루엔자에 임상 단리물 BSLI #072605Hi	1.90×10^9	$< 1.00 \times 10^4$	5.2788	99.9995
19	클렙시엘라 옥시토카 MDR (ATCC #15764)	1.120×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.0492	99.9999
20	클렙시엘라 옥시토카 임상 단리물 BSLI #061901Ko1	1.810×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.2577	99.9999
21	클렙시엘라 뉴모니아에 오제나에 중 (ATCC #29019)	1.390×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.1430	99.9999
22	클렙시엘라 뉴모니아에 임상 단리물 BSLI #061901Kpn2	9.950×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.9978	99.9999
23	마이크로코커스 루테우스 (ATCC #7468)	6.950×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.8420	99.9999
24	마이크로코커스 루테우스 임상 단리물 BSLI #061901MI2	1.5150×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.1804	99.9999
25	프로테우스 미라빌리스 (ATCC #7002)	1.5950×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.2028	99.9999
26	프로테우스 미라빌리스 임상 단리물 BSLI #061901Pm2	2.0950×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.3212	99.9999
27	슈도모나스 아에루기노사 (ATCC #15442)	6.450×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.8096	99.9999
28	슈도모나스 아에루기노사 임상 단리물 BSLI #072605Pa	1.3850×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.1414	99.9999
29	슈도모나스 아에루기노사 (ATCC #27853)	5.550×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.7443	99.9999
30	슈도모나스 아에루기노사 임상 단리물 BSLI #061901Pa2	1.1650×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.0663	99.9999
31	세라티아 마르세센스 (ATCC #14756)	9.950×10^8	$< 1.00 \times 10^3$	5.9978	99.9999
32	세라티아 마르세센스 임상 단리물 BSLI #042905Sm	3.6650×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.5641	99.9999
33	스타필로코커스 아우레우스 (ATCC #6538)	1.5050×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.1775	99.9999
34	스타필로코커스 아우레우스 임상 단리물 BSLI #061901Sa1	1.250×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.0969	99.9999
35	스타필로코커스 아우레우스 (ATCC #29213)	1.740×10^9	$< 1.00 \times 10^3$	6.2405	99.9999

[0298]

36	스타필로코커스 아우레우스 임상 단리물 BSLI #061901Sa2	1.1050 x 10 ⁹	< 1.00 x 10 ³	6.0434	99.9999
37	스타필로코커스 에피테르미디스 (ATCC #12228)	1.0550 x 10 ⁹	< 1.00 x 10 ³	6.0233	99.9999
38	스타필로코커스 에피테르미디스 임상 단리물 BSLI #072605Se	4.350 x 10 ⁸	< 1.00 x 10 ³	5.6385	99.9998
39	스타필로코커스 해몰리티쿠스 (ATCC #29970)	8.150 x 10 ⁸	< 1.00 x 10 ³	5.9112	99.9999
40	스타필로코커스 해몰리티쿠스 임상 단리물 BSLI #042905Sha	8.350 x 10 ⁸	< 1.00 x 10 ³	5.9217	99.9999
41	스타필로코커스 호미니스 (ATCC #27844)	2.790 x 10 ⁸	< 1.00 x 10 ³	5.4456	99.9996
42	스타필로코커스 호미니스 임상 단리물 BSLI #042905Sho	5.20 x 10 ⁸	< 1.00 x 10 ³	5.7160	99.9998
43	스타필로코커스 사프로피티쿠스 (ATCC #35552)	9.10 x 10 ⁸	< 1.00 x 10 ³	5.9590	99.9999
44	스타필로코커스 사프로피티쿠스 임상 단리물 BSLI #042905Ss	1.4150 x 10 ⁹	< 1.00 x 10 ³	6.1508	99.9999
45	스트렙토코커스 뉴모니아에 (ATCC #33400)	2.1450 x 10 ⁹	< 1.00 x 10 ⁴	5.3314	99.9995
46	스트렙토코커스 피오게네스 (ATCC #19615)	5.20 x 10 ⁹	< 1.00 x 10 ³	6.7160	99.9999
47	스트렙토코커스 피오게네스 임상 단리물 BSLI #061901Spy7	2.5920 x 10 ⁹	< 1.00 x 10 ³	6.4141	99.9999

[0299]

[0300]

그의 미생물 감소는 5.0 Log₁₀ 미만에서 측정되었지만, 마이크로신은 또한 표 8에 포함되지 않은 3개의 나머지 종에 대한 항미생물 활성을 보였다. 보다 구체적으로, 마이크로신에 대한 30초 노출은 스트렙토코커스 뉴모니아에 (임상 단리물; BSLI #072605Spn1)의 집단을 4.5 Log₁₀보다 큰 수준으로 감소시켰고, 이것은 상기 종에 대한 검출 한계이었다. 또한, 칸디다 트로피칼리스 (ATCC #750)로 시험할 때, 마이크로신은 30초 노출 후에 3.0 Log₁₀을 초과한 미생물 감소를 보였다. 추가로, 칸디다 트로피칼리스 (BSLI #042905Ct)로 시험할 때, 마이크로신은 20분 노출 후에 3.0 Log₁₀을 초과한 미생물 감소를 보였다.

[0301]

시험관내 시간-사멸 평가의 예시적인 결과는 마이크로신 산화 환원 전위수가 넓은 스펙트럼의 시험 미생물에 대해 신속한 (즉, 대부분의 경우에 30초 미만) 항미생물 활성을 보임을 입증한다. 평가된 50개의 그람 양성, 그람 음성 및 효모종 중에서 47개의 미생물 집단은 생성물에 노출한 지 30초 내에 5.0 Log₁₀보다 큰 수준으로 감소하였다.

[0302]

실시에 30

[0303]

본 실시예는 본 발명에 따라 사용된 예시적인 산화 환원 전위수인 마이크로신 대 히비클렌스 (HIBICLEN) (등록상표) 클로르헥시딘 글루코네이트 용액 4.0% (중량/부피) 및 0.9% 염화나트륨 관류액 (USP)의 항미생물 활성을 비교하여 보여준다.

[0304]

시험관내 시간-사멸 평가를 참조 생성물로서 히비클렌스(등록상표) 클로르헥시딘 글루코네이트 용액 4.0% (중량/부피) 및 멸균 0.9% 염화나트륨 관류 용액 (USP)을 사용하여 실시예 29에 기재된 바와 같이 수행하였다. 각각의 참조 생성물은 구체적으로 텐터티브 파이널 모노그래프 (Tentative Final Monograph)에 표시된 10개의 아메리칸 타입 컬처 컬렉션 (ATCC) 균주의 현탁액에 대해 평가하였다. 이어서, 수집된 데이터를 실시예 29에 기록된 마이크로신 미생물 감소 활성에 대해 분석하였다.

[0305]

마이크로신 산화 환원 전위수는 5개의 시험 균주의 미생물 집단을 히비클렌스(등록상표) 클로르헥시딘 글루코네이트 용액에 대해서 관찰된 값과 동등한 수준으로 감소시켰다. 마이크로신과 히비클렌스(등록상표)는 모두 에스체리치아 콜라이 (ATCC #11229 및 ATCC #25922), 슈도모나스 아에루기노사 (ATCC #15442 및 ATCC #27853), 및 세라티아 마르세센스 (ATCC #14756)에 대해 30초 노출 후에 5.0 Log₁₀보다 큰 수준의 미생물 감소를 제공하였다. 또한, 상기 표 9에 나타낸 바와 같이, 마이크로신은 30초 노출 후에 5.8420 Log₁₀ 감소를 제공함으로써

마이크로코커스 루테우스 (ATCC #7468)에 대해 우수한 향미생물 활성을 보였다. 그러나, 히비클렌스(등록상표)와의 직접적인 마이크로코커스 루테우스 (ATCC #7468) 활성 비교는 가능하지 않았는데, 그 이유는 30초 노출 후에, 히비클렌스(등록상표)가 시험 검출 한계만큼 집단을 감소시켰기 때문이다 (상기 특정한 경우에, 4.8 Log₁₀ 보다 큰 수준으로 감소시킴). 평균 0.9% 염화나트륨 관류 용액은 상기 논의한 각각의 6개의 시험 군주의 미생물 집단을 총 20 분의 노출 후에 0.3 Log₁₀ 미만의 수준으로 감소시켰음을 알 수 있다.

[0306]

마이크로신 산화 환원 전위수는 시험된 4개의 시험 군주, 즉 엔테로코커스 파에칼리스 (ATCC #29212), 스타필로코커스 아우레우스 (ATCC #6538 및 ATCC #29213), 및 스타필로코커스 에피더미디스 (ATCC #12228)에 대해 히비클렌스(등록상표)와 염화나트륨 관류액 모두 보다 큰 향미생물 활성을 제공하였다. 하기 표는 상기 4개의 종에 대한 시험관내 시간-사멸 평가의 미생물 감소 결과를 요약한 것이다.

표 9

비교 결과

미생물 종	노출 시간	Log ₁₀ 감소		
		마이크로신	히비클렌스(등록상표)	NaCl 관류액
엔테로코커스 파에칼리스 (ATCC #29212)	30초	6.4166	1.6004	0.3180
	1분	6.4166	2.4648	0.2478
	3분	6.4166	5.2405	0.2376
	5분	6.4166	5.4166	0.2305
	7분	6.4166	5.4166	0.2736
	9분	6.4166	5.4166	0.2895
	11분	6.4166	5.4166	0.2221
	13분	6.4166	5.4166	0.2783
	15분	6.4166	5.4166	0.2098
	20분	6.4166	5.4166	0.2847
스타필로코커스 아우레우스 (ATCC #6538)	30초	6.1775	1.1130	0.0000
	1분	6.1775	1.7650	0.0191
	3분	6.1775	4.3024	0.0000
	5분	6.1775	5.1775	0.0000
	7분	6.1775	5.1775	0.0000
	9분	6.1775	5.1775	0.0000
	11분	6.1775	5.1775	0.0267
	13분	6.1775	5.1775	0.0000
	15분	6.1775	5.1775	0.0191
	20분	6.1775	5.1775	0.0000
스타필로코커스 아우레우스 (ATCC #29213)	30초	6.2405	0.9309	0.0000
	1분	6.2405	1.6173	0.0000
	3분	6.2405	3.8091	0.0460
	5분	6.2405	5.2405	0.0139
	7분	6.2405	5.2405	0.0000
	9분	6.2405	5.2405	0.0113
	11분	6.2405	5.2405	0.0283
	13분	6.2405	5.2405	0.0000
	15분	6.2405	5.2405	0.0000
	20분	6.2405	5.2405	0.0615
스타필로코커스 에피더미디스 (ATCC #12228)	30초	5.6385	5.0233	0.0456
	1분	5.6385	5.0233	0.0410
	3분	5.6385	5.0233	0.0715
	5분	5.6385	5.0233	0.0888
	7분	5.6385	5.0233	0.0063
	9분	5.6385	5.0233	0.0643
	11분	5.6385	5.0233	0.0211
	13분	5.6385	5.0233	0.1121
	15분	5.6385	5.0233	0.0321
	20분	5.6385	5.0233	0.1042

[0307]

[0308]

상기 시험관내 시간-사멸 비교 평가 결과는 마이크로신 산화 환원 전위수가 히비클렌스(등록상표)와 동등한, 에스체리치아 콜라이 (ATCC #11229 및 ATCC #25922), 슈도모나스 아에루기노사 (ATCC #15442 및 ATCC #27853), 세라티아 마르세센스 (ATCC #14756) 및 마이크로코커스 루테우스 (ATCC #7468)에 대한 향미생물 활성을 보일 뿐만 아니라, 엔테로코커스 파에칼리스 (ATCC #29212), 스타필로코커스 아우레우스 (ATCC #6538 및 ATCC #29213) 및 스타필로코커스 에피더미디스 (ATCC #12228)에 대한 보다 효과적인 치료를 제공함을 입증한다. 표 9에 제시된 바와 같이, 마이크로신은 일부 종에서 보다 신속한 향미생물 반응 (즉, 30초 미만)을 보인다. 또한, 마이크로신에 노출시키면 표 9에 나열된 모든 종에서 전체 미생물 감소가 보다 크게 나타난다.

[0309]

실시예 31

- [0310] 본 실시예는 페니실린 내성 스트렙토코커스 뉴모니아에 (ATCC 51915)에 대한 ORP 수용액의 효과를 입증한다.
- [0311] 다수의 BAP 플레이트를 접종하기 위한 동결 배양물을 사용하고, 35 내지 37 °C에서 CO₂와 함께 2 내지 3일 동안 인큐베이션하여 스트렙토코커스 뉴모니아에 배양물을 준비하였다. 인큐베이션한 후에, 3 내지 7 mL의 멸균 희석액/배지를 각각의 아가 플레이트로 옮기고, 스왑(swabbed)하여 유기체를 현탁시켰다. 모든 플레이트로부터의 현탁액을 수집하고, 멸균 튜브에 옮기고, 4.0 McFarland 표준과 비교하였다. 현탁액을 멸균 거즈를 통해 여과하고, 시험 절차에 사용하기 전에 불활성하여 혼합하였다.
- [0312] 유기체 현탁액의 접종원 0.1 mL를 49.9 mL의 마이크로신 또는 대조군 물질에 첨가하였다. 각각의 노출 기간에, 시험 혼합물을 회전시켜 혼합하였다. 시험 혼합물을 25.0 °C에서 15 초, 30 초, 60 초, 120 초, 5 분 및 15 분 동안 노출시켰다.
- [0313] 1.0 mL 샘플을 시험 혼합물로부터 분리하고, 9.0 mL의 중화제에 첨가하여 접종된 중화 시험 혼합물의 100개 희석액을 준비하였다. 100개 접종된 중화 시험 혼합물의 5 mL 분취액을 10 mL의 버터필드(Butterfield) 완충액으로 미리 적셔놓은 0.45 마이크로리터 필터 장치로 옮겼다. 필터를 대략 50 mL의 버터필드 완충액으로 세정하고, 무균 처리하여 장치로부터 분리하고, BAP 플레이트로 옮겼다. 추가의 1:10 연속 희석액을 제조하고, 접종된 중화 시험 혼합물의 10⁻³ 내지 10⁻⁴ 희석액의 1.0 mL 분취액을 BAP 상에 2별 플레이팅하였다.
- [0314] 박테리아 계대배양 플레이트를 CO₂에서 48±4 시간 동안 35 내지 37°C에서 인큐베이션하였다. 계대배양 플레이트를 조사 전에 2 내지 8 °C에서 2 일 동안 냉장시켰다. 인큐베이션 및 저장 후에, 아가 플레이트에서 성장이 나타나는지 육안으로 관찰하였다. 콜로니 형성 유닛을 계수하고, 각각의 노출 시점에서의 생존자 수를 측정하였다. 성장을 나타내는 대표적인 계대배양물을 시험 유기체의 확인을 위해 적절하게 조사하였다.
- [0315] 예시적인 ORP 수용액인 마이크로신은 25.0 °C에서 15 초, 30 초, 60 초, 120 초, 5 분 및 15 분의 접촉 시간 후에 페니실린 내성 스트렙토코커스 뉴모니아에 (ATCC 51915)의 > 99.93197279%의 감소를 나타내었다.
- [0316] 실시예 32
- [0317] 본 실시예의 목적은 박테리아 현탁액 분석을 이용하여 예시적인 ORP 수용액 (더마신) 대 바시트라신의 미생물 활성을 결정하는 것이다.
- [0318] 더마신은 즉시 사용 가능한 제품으로, 시험 과정 동안 희석 과정을 수행할 필요가 없었다. 바시트라신은 재수화된 농축 용액으로, 33 유닛/mL로 희석시킬 필요가 있다.
- [0319] 비. 아트로페우스(*B. atropheus*)의 구입한 포자 현탁액 (2.5×10⁷개/mL)을 시험에 사용하였다. 또한, 슈도모나스 아에루기노사 및 스태필로코커스 아우레우스의 신선한 현탁액을 제조하고, 분광광도계를 사용하여 측정함으로써 역가가 허용가능한지 확인하였다.
- [0320] 9 마이크로리터의 시험 물질을 100 uL의 미생물 현탁액에 첨가하였다. 시험 혼합물을 20 °C로 유지하면서, 20 초, 5 분 및 20 분 동안 접촉시켰다. 1.0 mL의 시험 혼합물 (전체 혼합물)을 20 분 동안 9.0 mL의 중화제에 첨가하였다 (이는 본래의 중화 튜브 또는 ONT임). 1.0 mL의 중화 시험 혼합물을 5 분 및 20 분의 접촉 시간 동안 트립티크 소이 아가(Tryptic Soy Agar) 상에 2별 플레이팅하였다. 추가의 희석 및 스프레딩 플레이트를 20 초 시점에 사용하여 가산 플레이트를 완성하였다.
- [0321] 모든 플레이트를 총 3 일 동안 30 °C 내지 35 °C에서 인큐베이션하고, 인큐베이션 기간 동안 매일 평가하였다. 시험 과정 동안 더마신 및 바시트라신에 노출된 미생물의 수를 결정하기 위해, 현탁액을 4회 10-배 희석하고, 최종 2개의 희석액 1.0 mL를 적절하게 2별 플레이팅하였다.
- [0322] 시험 유기체로 시험한 경우 더마신은 모든 시점에서 식물성 박테리아를 모두 박멸하고, 5 분 및 20 분 시점에 포자를 모두 박멸하는 것으로 나타났다 (>4 로그 감소). 바시트라신은 대략 1 log 감소만을 제공하였다. 마이크로신은 20 초 시점에서 포자를 일부 감소시키는 것으로 나타났다. 바시트라신은 시험 기간 동안 박테리아 또는 포자 집단을 감소시키는 어떠한 증거도 나타내지 않았다.
- [0323] 실시예 33
- [0324] 본 실시예는 생물학적 막에서 박테리아에 대한 2 가지 예시적인 ORP 수용액 (M1 및 M2)의 효과를 보여준다.
- [0325] 모든 연구에 사용된 모 균주는 피. 아에루기노사 PA01이다. 모든 플랑크톤 균주는 22 °C에서 220 rpm의 진탕 플

라스크 중의 최소 배지 (1 리터 당 2.56 g Na_2HPO_4 , 2.08 g KH_2PO_4 , 1.0 g NH_4Cl , 0.04 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.1 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.1 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 및 0.004 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, pH 7.2)에 서 호기성 성장시켰다. 생물학적 막을 아래 기재된 바와 같이 22 °C의 최소 배지에서 성장시켰다. 글루타메이트 (130 mg/L)를 유일한 탄소 공급원으로 사용하였다.

[0326] 생물학적 막을 이전에 설명된 바와 같이 성장시켰다 (문헌 [Sauer et. al., J. Bacteriol. 184:1140-1154 (2002)], 본원에 참고로 포함됨). 요컨대, 비순환 연속 유동 튜브 반응기 시스템의 실리콘 배관의 내부 표면을 사용하여 22 °C에서 생물학적 막을 배양하였다. 다음과 같은 조건하에 성장시킨지 3일 후 (성숙-1 단계), 6일 후 (성숙-2 단계) 및 9일 후 (분산 단계)에 생물학적 막을 수확하였다. 튜브를 전체 길이에 걸쳐 펀칭하여 생물학적 막 세포를 내부 표면으로부터 수확함으로써, 루멘으로부터 세포 물질을 방출시켰다. 생성된 세포 페이스트를 얼음 상에서 수집하였다. 샘플링 전에, 대량의 액체를 배관으로부터 퍼징하여 분리된 플랑크톤 세포로 인한 방해물을 방지하였다.

[0327] 플랑크톤 및 생물학적 막 세포의 집단 규모는 연속 희석 플레이트 계수법을 이용하여 CFU의 개수로 결정하였다. 이를 위해, 생물학적 막은 SOS에 다양한 기간 동안 노출시킨 후에 내부 표면으로부터 수확하였다. 비순환 유동 세포에서 성장한 생물학적 막의 영상은 올림푸스(Olympus) BX60 현미경 (올림푸스, 미국 뉴욕주 멜빌 소재) 및 100 배율의 A100PL 대물 렌즈를 사용하여 빛을 투과시켜 관찰하였다. 마그나파이어(Magnafire) 냉각 3개-칩 전하 커플링 장치 카메라 (옵트로닉스 인크(Optronics Inc.), 미국 캘리포니아주 갈레나 소재) 및 30-ms 노출을 사용하여 영상을 순간 포착하였다. 또한, LSM 510 메타 도립 현미경 (차이스(Zeiss), 독일 하이델베르크 소재)을 사용하여 공초점 주사 레이저 현미경 관찰을 수행하였다. LD-아포크롬(LD-Apochrome) 40_/0.6 렌즈 및 LSM 510 메타 소프트웨어 (차이스)를 사용하여 영상을 획득하였다.

[0328] 처리한지 60 분 이내에 M1-처리된 생물학적 막에서 2-log 감소가 관찰되었다. 이러한 발견은 모든 10.8 분 (+/- 2.8 분)의 M1로의 처리가 생물학적 막의 생존성을 50% 감소시켰음을 나타낸다.

표 10

M1 사멸

시간 (분)	생존률 (%)
0	100
10	50
20	25
34	12.5
47	6.25
54	3.125

[0329]

[0330] 그러나, 결과는 모든 4.0 분 (+/- 1.2 분)의 M2로의 처리가 생물학적 막 생존성을 50% 감소시켰음을 나타내므로, M2가 전체적으로 생물학적 막을 사멸시키는데 M1 보다 어느 정도 더 효과적이었다.

표 11

M2 사멸

시간 (1분)	생존률 (%)
0	100
2.5	50
7	25
12	12.5
15	6.25
20	3.125

[0331]

[0332] 따라서, ORP 수는 생물학적 막에서 박테리아에 대해 효과적이다.

- [0333] 본 명세서에 인용된 공보, 특허출원, 및 특허를 포함한 모든 문헌은 마치 이들 각각의 문헌이 개별적으로 및 구체적으로 참고로 포함된 것을 나타내고 본 명세서에 전체로서 기술된 것처럼 동일한 정도로 참고로 포함된다.
- [0334] 본 발명의 기술하는 문맥에서 (특히, 이하의 청구범위의 문맥에서) 용어 부정관사 ("a"와 "an") 및 정관사 ("the") 및 유사한 지시어의 사용은 본 명세서에서 다른 식으로 지시되거나 문맥에 의해서 명백히 반대되는 것이 아닌 한은 단수 및 복수를 모두 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 용어 "이루어지는", "갖는", "포함하는" 및 "함유하는"은 다른 식으로 지시되지 않는 한은 제한이 없는 용어 (즉, "포함하며, ~로 한정되지 않는"을 의미함)로 이해되어야 한다. 본 명세서에서 값의 범위를 열거한 것은 본 명세서에서 다른 식으로 나타내지 않는 한은, 단지 이 범위에 속하는 각각의 별개의 값에 대하여 개별적으로 언급하는 약기적인 (shorthand) 방법에 대한 대응으로 사용하기 위한 의도이며, 각각의 별개의 값은 마치 이것이 본 명세서에 개별적으로 열거된 것처럼 명세서에 포함된다. 본 명세서에 기술된 모든 방법은 본 명세서에 다른 식으로 나타내거나, 다른 식으로는 문맥에 의해서 명백하게 반대되지 않는 한은 임의의 적합한 순서로도 수행될 수 있다. 본 명세서에 제공된 임의의, 그리고 모든 예 및 예시적 용어 (예를 들어, "~와 같은")의 사용은 단지 본 발명을 더 잘 설명하기 위한 것이며, 다른 식으로 특허청구되지 않는 한은 본 발명의 범위에 대한 제한을 두고자 하는 것은 아니다. 명세서의 어떤 언어도 본 발명을 실시하는데 필수적인 것으로서 어떤 비-특허청구된 요소를 나타내는 것으로 이해되지는 않아야 한다.
- [0335] 본 발명을 수행하기 위하여 본 발명자들에게 공지된 최상의 모드를 포함한 본 발명의 바람직한 실시양태가 본 명세서에 기술되어 있다. 이들 바람직한 실시양태의 변형은 전술한 설명을 읽음으로써 당업자에게 명백하게 될 것이다. 본 발명자들은 숙련된 전문가가 필요에 따라서 이러한 변형을 사용할 것으로 예상하며, 본 발명자들은 본 명세서에 구체적으로 기술된 것과는 다른 식으로 본 발명을 실시하고자 한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법에서 허용하는 바에 따라서 본 명세서에 첨부된 특허청구범위에 열거된 내용의 모든 변형 및 등가물을 포함한다. 또한, 그의 모든 가능한 변형에서 상술한 요소들의 모든 조합은 본 명세서에 다른 식으로 나타내거나, 다른 식으로는 문맥에 의해서 명백하게 반대되지 않는 한 본 발명에 포함된다.

도면의 간단한 설명

- [0018] 도 1은 예시적인 ORP 수용액을 생산하기 위한 3-챔버의 (three-chambered) 전해 전지 (electrolysis cell)를 도시하고 있다.
- [0019] 도 2는 3-챔버의 전해 전지를 도시한 것으로서, 생산 공정 동안 생성될 것으로 여겨지는 이온 종을 보여준다.
- [0020] 도 3은 예시적인 ORP 수용액을 생산하기 위한 공정의 개략적 흐름도이다.
- [0021] 도 4A-4C는 예시적인 ORP 수용액 (MCN) 대 과산화수소 (HP)로 처리된 인간 이배체 섬유아세포 (HDF)에서의 세포 생존성, 세포자멸 및 괴사의 비교 그래프를 도시하고 있다.
- [0022] 도 5는 예시적인 ORP 수용액 (MCN) 대 500 μ M 과산화수소 (HP)로 처리된 HDF에서의 8-히드록시-2'-데옥시구아노신 (8-OHdG) 애덕트 수준의 비교 그래프이다.
- [0023] 도 6은 낮은 농도의 예시적인 ORP 수용액 (MCN) 대 과산화수소 (HP)에 대한 장기 노출 이후에 HDF에서의 β -갈락토시다제 발현에 의해 입증된 세포 노화를 보여준다.
- [0024] 도 7은 다양한 농도의 예시적인 ORP 수용액 (MCN)으로 처리된 항원-활성화된 비만 세포의 탈과립에 대한 효과를 보여준다.
- [0025] 도 8은 크로모글리케이트로 처리된 항원-활성화된 비만 세포의 탈과립에 대한 효과를 비교하여 보여준다.
- [0026] 도 9는 다양한 농도의 예시적인 ORP 수용액 (MCN)으로 처리된 항원-활성화된 비만 세포 및 칼슘 이온 운반체 (A23187)-활성화된 비만 세포의 탈과립에 대한 효과를 보여준다.
- [0027] 도 10A-10B는 대조군 대 ORP 수용액-처리된 비만 세포에서 항원 투여 후의 시토킨 mRNA 수준을 보여주는 RNase 보호 분석이다.
- [0028] 도 11은 다양한 농도의 예시적인 ORP 수용액 (MCN)으로 처리된 항원-활성화된 비만 세포에 의한 TNF- α 분비의 비교 그래프이다.
- [0029] 도 12는 다양한 농도의 예시적인 ORP 수용액 (MCN)으로 처리된 항원-활성화된 비만 세포에 의한 MIP 1- α 분비

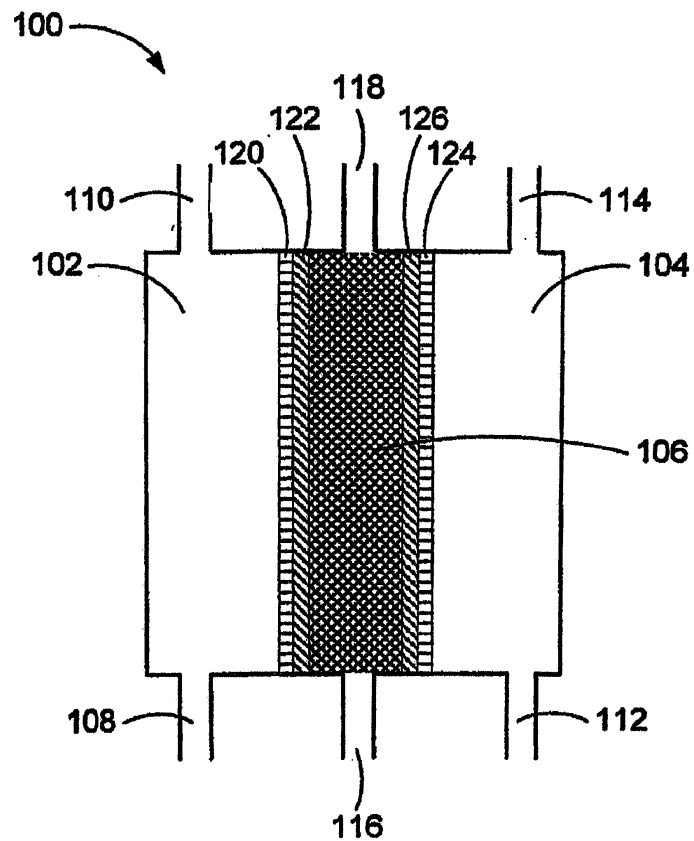
의 비교 그래프이다.

[0030] 도 13은 다양한 농도의 예시적인 ORP 수용액 (MCN)으로 처리된 항원-활성화된 비만 세포에 의한 IL-6 분비의 비교 그래프이다.

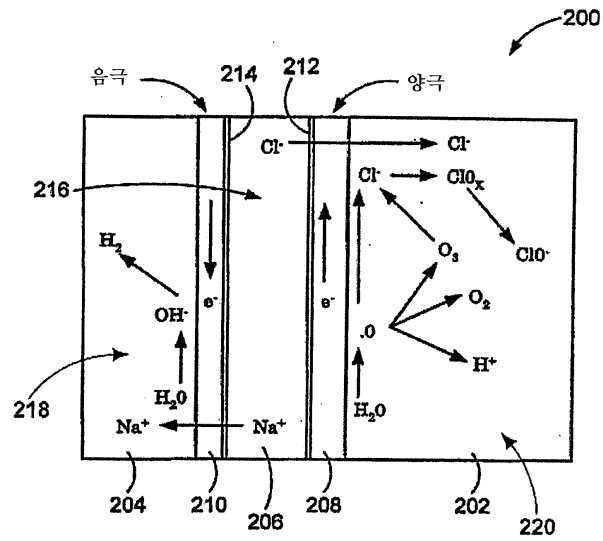
[0031] 도 14는 다양한 농도의 예시적인 ORP 수용액 (MCN)으로 처리된 항원-활성화된 비만 세포에 의한 IL-13 분비의 비교 그래프이다.

도면

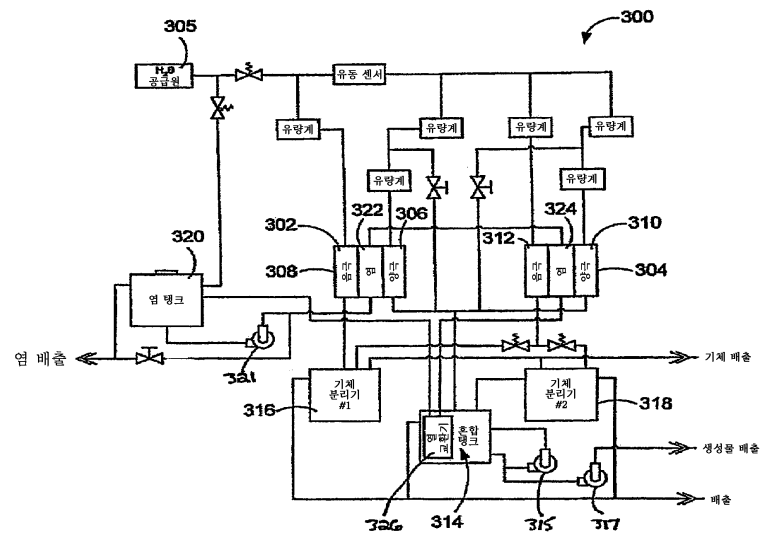
도면1



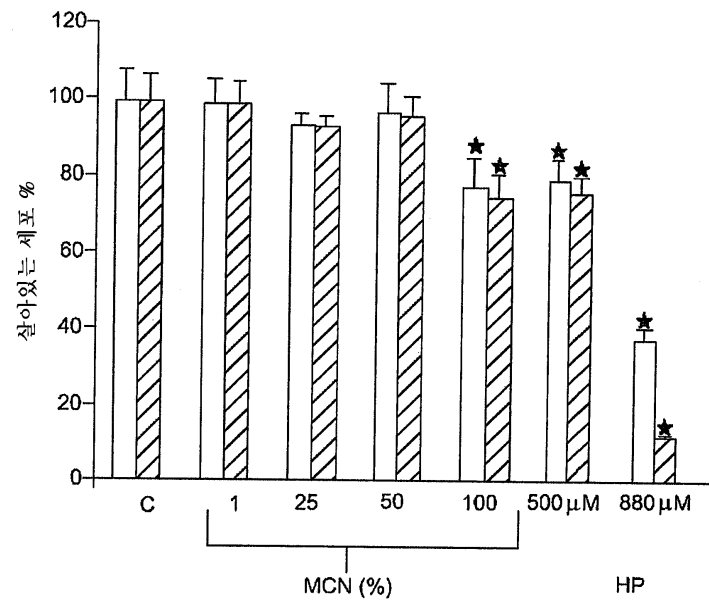
도면2



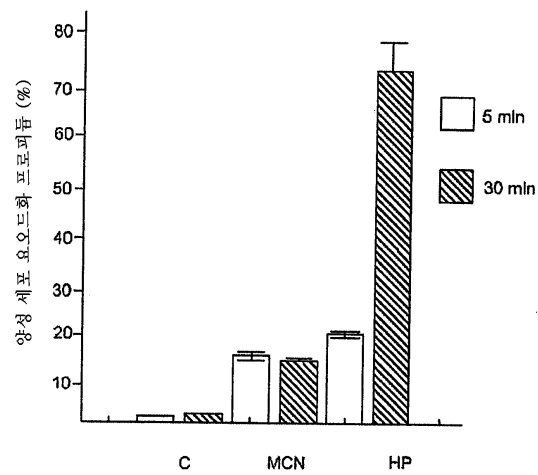
도면3



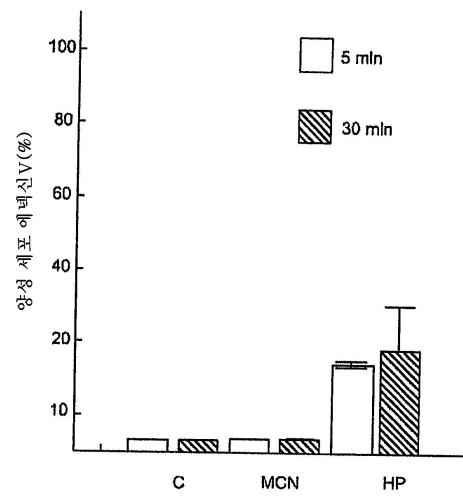
도면4A



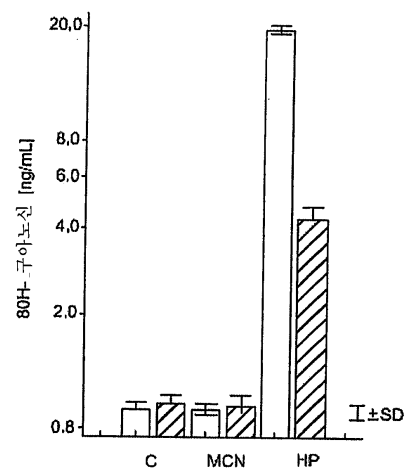
도면4B



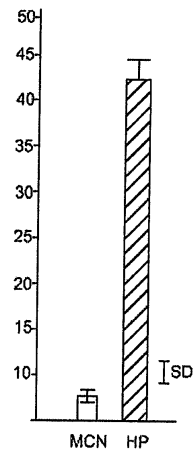
도면4C



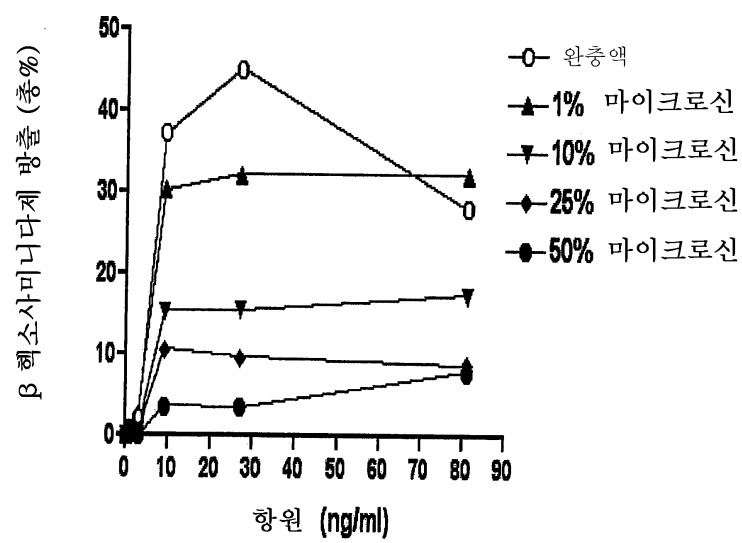
도면5



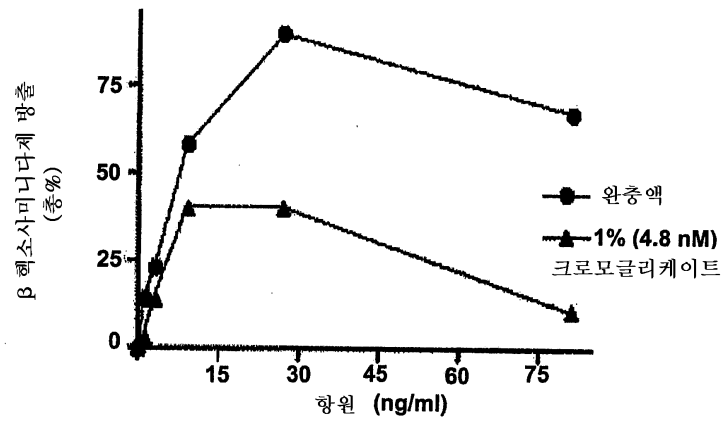
도면6



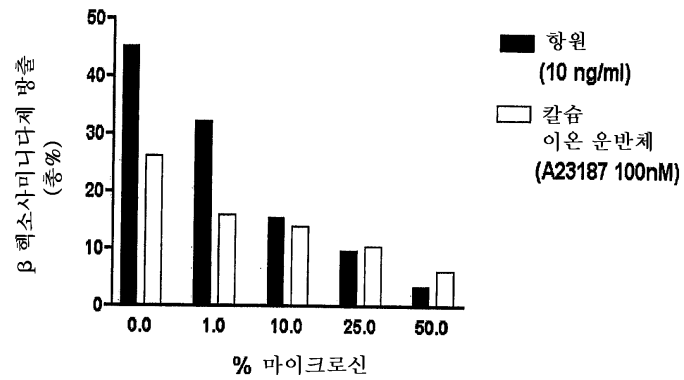
도면7



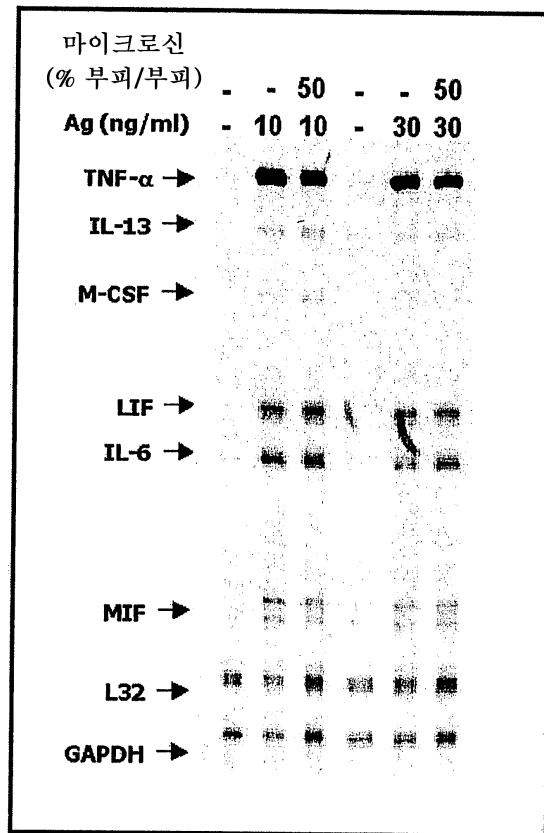
도면8



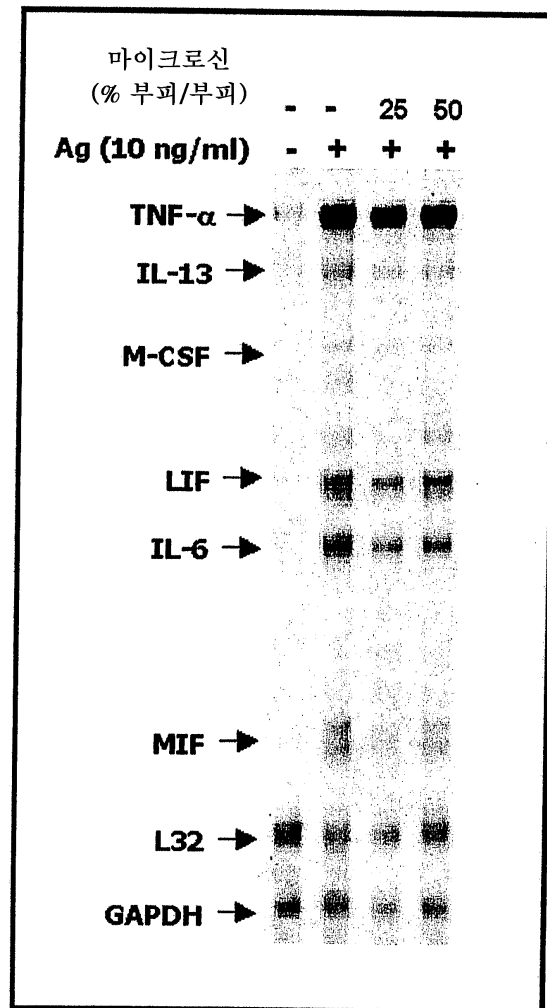
도면9



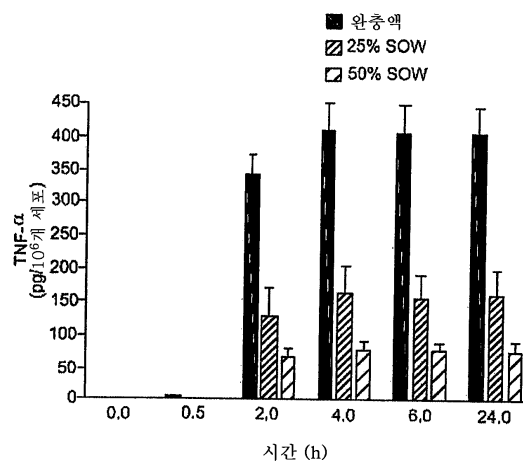
도면10A



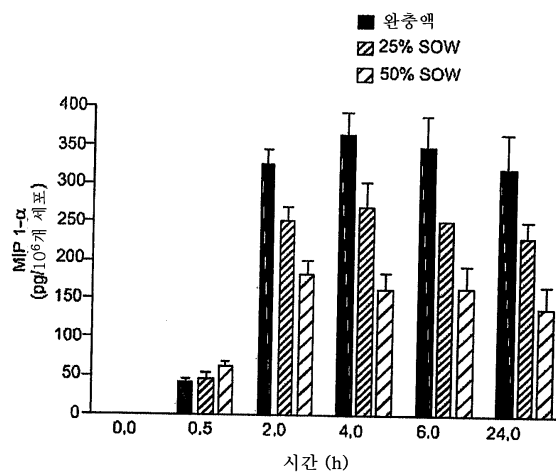
도면10B



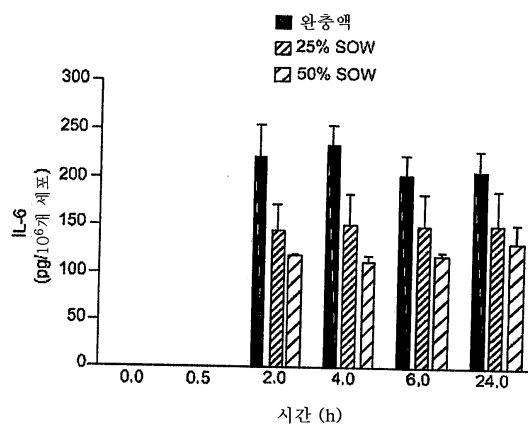
도면11



도면12



도면13



도면14

