



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0102487
 (43) 공개일자 2007년10월18일

(51) Int. Cl.

A61K 36/9068 (2006.01) *A61K 36/82*
 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7013374

(22) 출원일자 2007년06월14일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2007년06월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2005/045218

국제출원일자 2005년12월14일

(87) 국제공개번호 WO 2006/065889

국제공개일자 2006년06월22일

(30) 우선권주장

11/012,764 2004년12월14일 미국(US)

(71) 출원인

더 큐글리 코포레이션

미국, 펜실베니아 18901-1349, 도이레스타운, 피. 오. 박스 1349, 세디 리트리트 로드 621, 웰스 빌딩

(72) 발명자

로젤틀롬, 리차드, 에이.

미국, 펜실베니아 19454, 노스 웨일스, 탱레우드 드라이브 1416

(74) 대리인

박경재

전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 질병 전염률을 감소시키는 조성물 및 그 방법

(57) 요 약

항균성(anti-microbial) 조성물의 예방 의학적 방법 및 항-투과 용도들이 개시되어 있다. 이 방법은 생강으로부터 얻을 수 있는 제1 성분; 녹차로부터 얻을 수 있는 제2 성분; 강황(tumeric)으로부터 얻을 수 있는 임의의 제3 성분; 및 허용되는 담체를 갖는 조성물의 일정 량을 포유동물 또는 새에게 투여하는 단계를 포함한다. 이 조성물은 투여될 때 질병에 걸리는 별病률을 감소시키거나 또는 질병의 전염률을 예방 의학적으로 방지하는데 효과적이다. 또한, 본 발명의 방법들에 사용되는 비강(nasal) 및 인후(throat) 분무 조성물들이 개시되어 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

생강으로부터 얻을 수 있는 제1 성분;

녹차로부터 얻을 수 있는 제2 성분; 및

허용되는 담체를 포함하는 조성물의 안전하고 효과적인 양을 미생물에 의해 유발된 질병에 노출되거나 또는 미생물에 의해 유발된 질병에 걸린 포유 동물 또는 새에 투여하는 단계를 포함하고,

상기 양은 투여될 때 상기 포유 동물 또는 새에 노출된 다른 포유 동물 또는 새가 상기 질병에 걸리는 발병률을 감소시키는 데 효과적인 것인, 미생물의 전염률을 감소시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 질병은 바이러스, 세균, 진균 및 효모로 구성된 군으로부터 선택된 미생물에 의해 유발되는 것인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 미생물은 헤르페스 바이러스, HIV 바이러스, AIDS 바이러스, 인플루엔자 바이러스, H5N1 인플루엔자 바이러스, 코감기 바이러스, SARS 바이러스 및 호흡기 합포체(syncytial) 바이러스로 구성된 군으로부터 선택된 바이러스인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 정제, 캡슐제, 로젠제, 트로키제, 하드 캔디, 씹어먹는 조성물 및 치과용 제품으로 구성된 군으로부터 선택된 형태로 투여되는 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 비강 분무제 또는 인후 분무제로서 투여되는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제1 성분은 생강 분말 추출물, 생강 유체 추출물, 생강 분말, 전체 생강 식물의 적어도 일부, 생강 텅크(tincture), 생강에 함유된 1개 이상의 화합물들, 및 이들의 혼합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 것이고,

상기 제2 성분은 녹차 분말, 녹차 분말 추출물, 녹차 유체 추출물, 전체 녹차 식물의 적어도 일부, 녹차 텅크, 녹차에 함유된 1개 이상의 화합물들, 및 이들의 혼합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 제1 성분은 생강 뿌리 분말을 포함하고, 상기 제2 성분은 녹차 추출물을 포함하는 것인 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 조성물의 각각의 그램은 약 1 mg 내지 약 20 mg의 녹차 추출물, 및 약 1 mg 내지 약 150 mg의 생강 뿌리 분말을 함유하는 것인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 조성물은 강황으로부터 얻을 수 있는 제3 성분을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 강황으로부터 얻을 수 있는 성분은 강황 분말 추출물, 강황 유체 추출물, 강황 추출물, 1개 이상의 쿠르쿠미노이드(curcuminoid) 화합물들, 강황에 함유된 1개 이상의 다른 화합물들, 강황 분말, 전체

강황 식물의 적어도 일부, 강황 텅크(tincture), 및 이들의 혼합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 강황으로부터 얻을 수 있는 성분이 강황 추출물을 포함하는 것인 방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 조성물이 약 1mg 내지 약 20 mg의 강황 분말 추출물을 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제9항에 있어서, 상기 조성물은 양고추냉이 뿌리로부터 얻을 수 있는 제4의 성분을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 조성물은 에탄올, 레스베라트롤(resveratrol), 프로필렌 글리콜 및 글리세린으로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 성분들을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 조성물이 에탄올을 포함하는 것인 방법.

청구항 16

생강으로부터 얻을 수 있는 제1 성분;

녹차로부터 얻을 수 있는 제2 성분; 및

허용되는 담체를 포함하는 조성물의 일정 량을 질병에 노출되었거나 또는 그 질병에 노출될 포유 동물 또는 새에 투여하는 단계를 포함하고,

상기 양은 투여될 때 질병의 심각도, 질병의 증상들의 심각도, 및 질병의 증상들의 발병률 중의 1개 이상을 감소시키는 데 효과적인 것인,

질병의 심각도, 질병의 증상들의 심각도, 및 질병의 증상들의 발병률 중의 1개 이상을 감소시키기 위한 조성물의 예방 의학적 사용 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 질병은 바이러스, 세균, 진균 및 효모로 구성된 군으로부터 선택된 미생물에 의해 유발되는 것인 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 바이러스는 헤르페스 바이러스, HIV 바이러스, AIDS 바이러스, 인플루엔자 바이러스, H5N1 인플루엔자 바이러스, 코감기 바이러스, SARS 바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 19

제16항에 있어서, 상기 조성물은 정제, 캡슐제, 로젠제, 트로키제, 하드 캔디, 씹어먹는 조성물 및 치과용 제품으로 구성된 군으로부터 선택된 형태로 투여되는 것인 방법.

청구항 20

제16항에 있어서, 상기 조성물은 비강 분무제 또는 인후 분무제로서 투여되는 것인 방법.

청구항 21

제16항에 있어서,

상기 제1 성분은 생강 분말 추출물, 생강 유체 추출물, 생강 분말, 전체 생강 식물의 적어도 일부, 생강 텅크,

생강에 함유된 1개 이상의 화합물들, 및 이들의 혼합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 것이고,

상기 제2 성분은 녹차 분말, 녹차 분말 추출물, 녹차 유체 추출물, 전체 녹차 식물의 적어도 일부, 녹차 텅크, 녹차에 함유된 1개 이상의 화합물들, 및 이들의 혼합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 22

제16항에 있어서, 상기 제1 성분은 생강 뿌리 분말을 포함하고, 상기 제2 성분은 녹차 추출물을 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제16항에 있어서, 상기 조성물의 각각의 그램은 약 1 mg 내지 약 20 mg의 녹차 추출물, 및 약 5 mg 내지 약 150 mg의 생강 뿌리 분말을 함유하는 것인 방법.

청구항 24

제16항에 있어서, 상기 조성물은 강황으로부터 얻을 수 있는 제3 성분을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 강황으로부터 얻을 수 있는 성분이 강황 분말 추출물, 강황 유체 추출물, 강황 추출물, 1개 이상의 쿠르쿠미노이드 화합물들, 강황에 함유된 1개 이상의 다른 화합물들, 강황 분말, 전체 강황 식물의 적어도 일부, 강황 텅크, 및 이들의 혼합물들로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 26

제24항에 있어서, 상기 강황으로부터 얻을 수 있는 성분이 강황 추출물을 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제24항에 있어서, 상기 조성물이 약 1mg 내지 약 20 mg의 강황 분말 추출물을 포함하는 것인 방법.

청구항 28

제16항에 있어서, 상기 조성물은 양고추냉이 뿌리로부터 얻을 수 있는 제4의 성분을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 29

제16항에 있어서, 상기 조성물은 에탄올, 레스베라트롤, 프로필렌 글리콜 및 글리세린으로 구성된 군으로부터 선택된 1개 이상의 성분들을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 조성물이 에탄올을 포함하는 것인 방법.

명세서

기술분야

<1>

본원 발명은 2003년 2월 6일자로 출원되어 현재 계류중인 미합중국 특허 출원 제10/359,889호의 일부 계속 출원이고; 이는 다시 2002년 8월 6일자로 출원되어 미합중국을 지정하고 영어로 공개된 국제 특허 출원 제PCT/US02/24794호의 일부 계속 출원이고; 이는 다시 2002년 4월 15일자로 출원된 미합중국 특허 출원 제10/122,991호이자 현재 미합중국 특허 제6,596,313호의 부분 계속 출원이고; 이는 다시 2001년 8월 6일자로 출원된 미합중국 특허 제09/923,090호이자 현재 미합중국 특허 제6,592,896호의 부분 계속 출원이다.

<2>

본 발명은 미생물에 의해 유발되는 질병에 걸리는 발병률을 감소시키는 조성물의 예방 의학적 용도에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 발명은 미생물 감염증의 1가지 이상의 증상 또는 부작용들을 치료, 감소 또는 예방하는 방법들 및 미생물 감염증의 감염률(infectivity) 또는 전염을 감소시키는 방법들에 관한 것이다.

배경 기술

- <3> 바이러스성 병원론(Viral Pathogenesis)은 바이러스들이 숙주에서 병을 일으키는 방법이다. 바이러스들의 병원론은 특정 장기들에서 세포들의 개체군들을 이산시켜 특정 숙주에서 병의 징후들 및 증상들을 생성하는 바이러스성 부상의 메커니즘에 집중한다.
- <4> 감염증을 개시하기 위해, 바이러스는 숙주 세포로의 엔트리를 획득해야 한다. 엔트리 경로들은 바이러스에 의존하고, 피부, 눈, 호흡기, GI 및 비뇨기 뿐만 아니라 순환계를 포함한다. 일부 바이러스들은 그들의 조직 손상을 그들의 도입부에 아주 근접하게 편재시키고, 특히 인플루엔자, 파라인플루엔자, 코감기 바이러스들(rhioviruses) 및 코로나바이러스(coronavirus)등의 바이러스들은 상기도(the upper respiratory tract)를 감염시킨다. 일단 바이러스 입자가 세포에 침입하면, 바이러스 코딩된 단백질들은 그 세포가 바이러스의 계놈을 복제하여 바이러스 특이성 단백질들을 생성하게 한다. 이를 단백질들은 바이러스의 계놈에 따라 완전한 비리온들(virions)로 조합되어 방출된다. 외피로 싸인 바이러스들의 경우에, 이 비리온들은 액체 맴브레인을 획득하고, 이 액체 맴브레인을 통해 바이러스 특이성 글리코단백질들을 삽입할 것이다. 외피로 싸인 바이러스 부류들은 헤르페스비루스과(Herpesviridae), 레트로비루스과(Retroviridae), 오르토믹소비루스과(Orthomyxoviridae), 파라믹소비루스과(Paramyxoviridae), 플라비비루스과(Flaviviridae), 토가비루스과(Togaviridae) 및 코로나비루스과(Coronaviridae)를 포함한다. 코감비 바이러스들은 외피로 싸여있지 않은 피코나비루스과(Picornaviridae)의 구성원이다.
- <5> 바이러스들은 숙주 세포에 들어가 감염증을 개시하는 많은 메커니즘들에 연루되어 있다. 세포 맴브레인에 융합하기 위해, 바이러스들은 맴브레인 융합 활성을 갖는 맴브레인 글리코단백질을 갖는다. 많은 외피로 싸인 바이러스는 세포 표면 수용체에 결합한 후 수용체-매개된 식균 작용(endocytosis)을 유도하여, 세포가 엔도조밀 소포를 형성하게 한다. 일단 소포 내부에서는 바이러스 입자가 탈피 과정을 겪는다. 이는 바이러스 계놈에 대한 최적의 pH가 유지되고, 바이러스 계놈이 세포 뉴클레아제들로부터 보호되는 것을 보장한다.
- <6> 인플루엔자 바이러스들은 오르토믹소비루스과 바이러스들에 속하고, 이들은 8개의 세그먼트들을 갖는 네거티브-스트랜드된 RNA 계놈들을 함유하는 외피로 싸인 바이러스들이다. 바이러스 RNA는 10개의 바이러스 특이성 단백질들을 코딩한다. 감염 주기의 개시는 숙주 세포-표면 수용체들에 바이러스 외피를 결합시키는 것을 필요로 하고, 수용체-매개된 식균 작용 및 바이러스와 엔도조밀 맴브레인들의 융합이 이어진다. 융합 과정은 바이러스 계놈이 세포질 내로 방출되는 것을 허용하고, 여기서 바이러스 계놈은 핵으로 이동하여 바이러스 계놈이 바이러스 전사와 복제를 개시한다. 인플루엔자 수용체 결합 및 맴브레인 융합을 책임지는 단백질은 헤마글루터닌 단백질(HA 또는 H 항원)이다. 대부분의 균주들에 대해, HA 단백질은 비리온의 표면 상의 가장 풍부한 글리코단백질이다. HA 단백질은 또한 항체들을 중화시키는 타겟이다. 3개의 세로타입 바이러스들: A, B 및 C가 있다. 세로타입 A 및 B는 임상 질환들의 대부분의 원인이 된다. 인플루엔자 A는 가장 빈번하게 발생하고, 그것은 더욱 전염성이 강하고, 대부분의 전염병 및 유행병에 대한 책임이 있다. 인플루엔자 A는 표면 항원 HA 및 뉴라미니다제(neuraminidase) (N 항원)에 기초하여 추가로 서브타입화될 수 있고, H 및 N 항원들은 주요 항원 결정자들이다. 균주들은 또한 제1 단리물의 지리적 위치, 일련 번호 및 단리한 연도에 기초하여 분류된다. 뉴라미니다제는 감염된 숙주 세포로부터 새로운 바이러스 입자들의 방출을 조장하는 효소이다. 제3의 단백질인 M 단백질(매트릭스 단백질)은 맴브레인 채널 단백질이고, A 균주에서 M2 및 B 균주에서 NB로서 공지되어 있다. 이를 표면 바이러스 맴브레인 글리코단백질들은 면역 시스템이 반응하는 타겟들이다.
- <7> 인플루엔자 바이러스 입자들은 상기도 및 하기도에서 상피 세포들에 부착되어, 그 세포를 침입하고, 그들의 계놈을 방출하고, 숙주 세포 복제 기구를 정복하여 바이러스 단백질 및 핵산을 재생한다. 성숙한 바이러스 입자들은 숙주 세포의 용해에 의해 방출된다. 호흡기 상피에서 결과적인 결합들은 2차 감염되기 쉬운 가능성의 증가를 초래한다. 인플루엔자는 주로 호흡기 분비물들에 의해 전염되고, 이를 분비물들은 기침 및 재채기에 의해 전파된다. 인플루엔자는 또한 바이러스로 오염된 손이 코 또는 눈과 직접 접촉하게 될 때 직접 접촉에 의해 전파된다. 인큐베이션 기간은 1일 내지 4일이고, 감염된 사람은 일반적으로 증상이 나타나기 하루나 이틀전에 감염되고, 발병이 개시된 후 5일 동안 감염된 채로 남아 있을 수 있다. 어린이들 및 면역력이 약화된 사람들은 장기간 동안 바이러스를 보유한다.
- <8> 인플루엔자는 복제 중에 주요 표면 항원들 중의 하나 또는 모두로의 변화들을 작게 하는 경향이 있다(즉, 점 돌연변이). 이를 변화들은 부분적으로 교정의 결여 및 바이러스 전자 장치에서 예상 정정 메커니즘의 결여에 기인한다. 이른바 항원성 드리프트는 이것이 바이러스에 대한 이전 노출로부터 부분 면역성 만으로 바이러스가 사람들을 감염시킬 수 있게 하기 때문에 계절 전염병에 대한 책임이 있다. 인플루엔자 A 바이러스들은 특히 항

원성 드리프트인 경향이 있다. H 및 N 항우너들에서 주요 변화들은 항원성 시프트를 초래한다. 항원성 시프트는 새로운 바이러스 서브타입을 초래하고, 이는 최소 개체군 면역성으로 인한 주요 전염병 및 유행병을 유발할 수 있다.

<9>

인플루엔자는 급성 호흡기 감염증의 편재된 전염병들 및 포괄적인 유행병을 유발할 수 있는 심각한 인간의 재앙으로서 입증되었다. 매년 인플루엔자 바이러스는 미국에서 20,000 내지 40,000 명이 사망하고, 300,000 명이 입원하는 사건들의 원인이 된다. (Sandha 및 Mossad, Influenza in the Older Adult. Indications for the Use of Vaccine and Antiviral Therapy, Ceriatrics 56:43-51, 2001, Oxford 등, In: Antigenic Variation, Ed. Craig & Scherf, Academic Press, London 53-83페이지, 2003). 1918년의 유행병으로 4천만명 이상의 사람들이 죽은 것으로 믿어진다. 어린이들 및 청년들이 더 많은 감염증들을 겪지만, 심각한 질병은 천식, 당뇨병, 신부전증 및 심장병과 같은 만성 질환이나 면역력이 약화된 사람들에서 더욱 흔하다. 조류 인플루엔자는 인플루엔자 바이러스의 A형 균주들에 의해 유발된다. 조류 인플루엔자는 전세계적으로 발생한다. 감염된 새들은 경미한 질병에서 고도로 전염성인 치명적인 질병에 이르는 광범위한 증상들을 보일 수 있다. 이 균주에 의한 감염증은 원기 부족, 알 생산의 감소, 알 껍질의 연화, 머리, 눈꺼풀 등의 부기, 코의 배출물, 기침 또는 설사 등의 심각한 증상들이 갑자기 개시되는 것과 연관되고, 결국 사망에 이른다(WHO, 2004). 현재, 새들을 감염시킬 수 있는 15가지 서브타입이 확인되었지만, H7, H5 및 H9 서브타입만이 발병과 연관된다. 현재 아시아 및 브리티시 컬럼비아 발명은 각각 H5N1 및 H7N3 균주들에 의해 유발되었다. 상기 고찰된 바와 같이, 인플루엔자 바이러스들은 이들 바이러스들이 핵산 복제를 교정하는 메카니즘 뿐만 아니라 그러한 에러들을 정정하는 수선 시스템이 결여되어 있기 때문에 공공의 건강상의 관심사이다. 따라서, 인플루엔자 바이러스들은 상이한 종들의 다른 서브타입들로부터 유전자 물질을 교환 또는 맞바꿀 수 있고, 하나의 종들에서 다른 관련 없는 종들로 종 특이적 바이러스들의 교차 감염을 정상적으로 방지하는 종 장벽을 서브타입들이 교차하게 한다. 이러한 종 장벽은 보편적으로 조류 인플루엔자 바이러스가 인간을 감염시키는 것을 방지하지만, 때때로 새로운 균주들이 조류 및 인간 인플루엔자 바이러스 균주들 모두로부터 유전자 물질을 가질 수 있다. 유전자 물질의 이러한 교환은 인간과 가금류 및 돼지를 사이에 치밀하게 근접할 때 발생한다. 돼지는 인간과 조류 균주들 모두에 대한 저장기로서 작용할 수 있다. 따라서, 돼지는 인간 뿐만 아니라 조류 종들을 감염시킬 수 있는 새로운 균주들의 발생을 위한 새로운 인큐베이터로서 작용한다.

<10>

인플루엔자를 치료하기 위해 미국에서 이용되고 있는 4가지 항바이러스 약물: 아만타딘(amantadine), 리마타딘(rimantadine), 자나미비르(zanamivir) (Zanamivir) (Relenza™) 및 오셀타미비르(Oseltamivir) (Tamiflu™)가 있다. 아마타딘과 리마타딘은 인플루엔자 A에 대해서만 효과적이다. 아마타딘, 리마타딘 및 오셀타미비르는 예방약으로 승인되었다. 예방법은 인플루엔자가 발병한 동안 매우 위험에 처한 백신 접종하지 않은 사람들에 대해서만 지시된다. 항비루스제는 불량한 내성 및 저항의 발생으로 인해 사용이 제한된다. 현재, 아만타딘은 인플루엔자 감염증에 대해 사용되는 주요 항비루스성 화합물이지만, 그의 활성은 인플루엔자 A 바이러스들로 제한된다. 자나미비르 및 오셀타미비르 등의 항-뉴라미니다제 억제제들은 인플루엔자 A 및 B 감염증 둘 다의 치료에 사용하도록 면허된 항비루스제의 새로운 부류이다 (Carr 등, Influenza Virus Carrying Neuraminidase with Reduced Sensitivity to Oseltamivir Carboxylate has Altered Properties In Vitro and is Compromised for Infectivity and Replicative Ability In Vivo, Antiviral Res. 54:79-88, 2002). 따라서, 인플루엔자 A 및 B에 대한 신규하고 효과적인 항비루스제 약품의 개발은 임상적으로 크게 중요하다 (Bamford, Neuramindase Inhibitors as Potential Anti-Influenza Drugs, J. of Enzyme Inhibition, Review 10:1-16, 1995).

<11>

인플루엔자 백신들은 일반적으로 인플루엔자 시즌의 착수 전에 사용되고, 이것들은 전형적으로 큰 위험성에 처한 것으로 생각되는 개체군의 세그먼트에 주어진다. 백신들은 여러 가지 형태로 올 수 있고, 이들은 질병의 증상을 예방하거나 또는 적어도 약화시키는 것을 목표로 한다. 백신들은 바이러스에 노출되기 전에 제공되어 널리 만연된 전염병들 또는 유행병들을 유발하기 쉬운 균주에 대해 중화된 항체들을 생성한다. 그러나, 백신 접종은 비용이 많이 들 수 있고, 백신 원료들이 빠르게 고갈될 수 있다. 또한, 백신들은 원인이 되는 바이러스 성분을 함유할 수 없다. 다시 말하자면, 백신 생산은 어떤 균주가 우세한 균주로서 출현할지를 추정하는 것에 의존한다. 따라서, 임의의 주어진 해에, 여러 가지 인플루엔자 균주에 대해 한정적으로 보호된다. 더욱이, 주사를 통해 백신을 제공하는 전형적인 방법은 많은 사람들이 불쾌해 한다. 다른 한편, 예방 의학적 치료법들은 감염증을 예방하거나 또는 바이러스에 노출 후 질병의 심각도를 경감시키기 위해 사용된다.

<12>

오셀타미비르(Oseltamivir™) 뿐만 아니라 자나미비르 또는 렐렌자(Releenza™) (Glaxo Wellcome, 차세대 항비루스성)는 성숙한 바이러스 입자들의 방출을 차단하고, 따라서 이웃하는 세포들의 감염을 예방하는 뉴라미니다제

억제제들이다. 뉴라미니다제 억제제들은 인플루엔자 감염증의 증상들을 경감시키고, 질병의 기간을 단축시킨다. 예방은 저항하는 균주가 출현할 위험이 있고 발휘될 증상들이 개시한 48-시간 창 내에 주어져야 한다.

<13> 심각한 급성 호흡기 증후군(SARS)는 21세기 최초의 주된 새로운 감염성 질병이다. 최초의 사건은 중국 광동에서 2002년 11월에 나타났지만, 그것은 단지 2003년 3월에 새로운 질병으로 인식되었다. 이 질병의 전파는 국제 항공기 여행으로 가속화됨으로써, 사건들이 22세기에 보고되었다. 그러나, 현대 통신 기술들 및 세계의 공동 노력으로, 이 질병은 확인된 4개월 내에 포함되었다. 이 질병은 높은 질병률 및 높은 사망률을 유발하였고, 그 증상들은 고열, 두통, 근육통 및 마른 기침을 포함한다. 사망률은 60세 이상의 그룹에서 60%를 초과하였다 (Peiris JS 등, 2003). SARS는 조직 배양 및 전자 현미경 연구들에서 바이러스 전파에 연루된 여러 가지 실험 실 기술들을 통해 새로운 바이러스에 의해 유발되는 것으로 확인되었다. 이는 완전한 계놈 서열이 결정된지 며칠 후에 확인되었으며, 이는 책임있는 새로운 코로나바이러스인 것을 지시한다. 따라서, 이러한 유형의 감염성 질병에 대해 사용하기 위한 항균 약물들의 개발이 크게 중요하다.

<14> 질병을 유발하는 다른 미생물들은 연쇄상구균(*Streptococcus*) 포도상구균(*Staphylococcus*), 대장균(*E. Coli*), 슈도모나스속(*Pseudomonas*) 및 헤모필루스속(*Haemophilus*) 등의 그램-양성 및 그램-음성 세균 뿐만 아니라 효모, *C. albicans*를 포함하는 진균성 감염증들을 포함한다. 이들 미생물들에 의한 활성 감염증은 주로 항생제들에 의해 치료되지만, 일부 환자들은 항생제들에 잘 견디지 못한다. 다른 사람들은 인후염 등의 세균성 또는 진균성 감염증의 증상들을 감소시키거나 제거하는 치료법에 의한 항생제 요법을 증대시키고자 할 수 있다. 또 다른 사람들은 노출 바로 전후 또는 그 동안 예방 의학적 치료에 의해 이들 세균 또는 진균들 중의 하나에 의한 감염증들의 심각도를 예방 또는 약화시키고자 할 수 있다.

<15> 연구 관심사는 최근에 만성 질병들에 대한 현저한 보호를 제공할 수 있고 항균 활성 또는 항-종양 활성을 갖는 잠재적인 항생제 화합물들을 함유하는 여러 허브들에 집중되고 있다. 플라보노이드류 등의 항산화제 기질들은 민들레, 생강, 녹차 및 로즈마리 등의 각종 허브류에서 발견될 수 있다. 최근에 녹차 추출물(GTE)은 Madin-Darby 개의 신장 (MDCK) 세포들에서 인플루엔자 A 및 B 바이러스들의 성장을 억제하고, 다른 연구들에서, 녹차의 성분들 중의 하나인 에피갈로카테킨(Epigallocatechin)-3-갈레이트(EGCG)는 말초 혈액 임파구들에서 HIV-1(111B) 및 BaI HIV 균주들의 복제를 억제하는 것으로 보고되었다. 이들 기질들은 여러 질병들을 치료하는 분야에서 유용한 것으로 입증되었지만; 항산화제 기질들과 사용하기 위한 예방 의학적 방법의 생성에 있어서는 어떠한 진보도 없었다.

<16> 따라서, 당 분야에서는 미생물에 의해 유발된 질병에 걸리는 발병률의 감소를 위한 예방 의학적 방법을 제공할 필요성이 있다.

발명의 상세한 설명

<17> 따라서, 본 발명의 특정 실시 형태들의 목적은 미생물에 의해 유발된 질병에 걸리는 발병률을 감소시키는 방법을 제공하는 것이다.

<18> 제1 국면에서, 본 발명은 질병에 걸리는 발병률을 감소시키기 위해 항균성 조성물을 예방 의학적으로 사용하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 생강으로부터 얻을 수 있는 제1 성분; 녹차로부터 얻을 수 있는 제2 성분; 및 허용되는 담체를 갖는 항균 조성물의 일정량을 미생물에 의해 유발된 질병에 노출되었거나, 또는 노출될 포유동물 또는 새에게 투여하는 단계를 포함한다. 항균성 조성물의 양은 투여될 때 질병에 걸리는 발병률을 감소시키는 데 효과적이다.

<19> 본 발명의 제2 국면에서, 생강으로부터 얻을 수 있는 제1 성분; 녹차로부터 얻을 수 있는 제2 성분; 및 허용되는 담체를 갖는 예방 의학적 항균 조성물이 개시되어 있다. 항균 조성물은 미생물에 의해 유발된 질병에 노출되었거나, 또는 노출될 포유동물 또는 새에게 비강(nasal) 분무제 및 인후(throat) 분무제로서 투여될 때, 상기 질병에 걸리는 발병률을 감소시키는데 효과적이다.

<20> 본 발명을 특성화하는 이들 장점들 및 다양한 기타 장점들 및 신규성의 특징들은 본원에 첨부되어 그의 일부를 형성하는 특히 청구의 범위에 의해 지적된다. 그러나, 본 발명, 그의 장점들 및 그의 사용에 의해 얻어진 목적들을 더 잘 이해하기 위해, 본 발명의 바람직한 실시 형태를 개시하는 수반되는 설명 부분을 참조해야 한다.

실 시 예

<21> 제1 국면에서, 본 발명은 하나의 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 생강, 녹차 및 강황으로부터 얻을

수 있는 성분들을 포함한다.

- <22> 본 명세서에 사용된 바의 "향미제(flavors)"는 과일 및 식물 향미제들 둘 다를 포함한다.
- <23> 본 명세서에 사용된 바의 "감미제"라는 용어는 당류, 예를 들면 포도당, 자당 및 과당을 포함한다. 당류는 또한 진한 과당 옥수수 시럽 고체, 전화당, 소르비톨을 포함하는 당 알콜류, 및 이들의 혼합물들을 포함한다. 인공 감미료들 역시 "감미제"라는 용어의 범위에 포함된다.
- <24> 본원에 사용된 바의 "허용되는"이라는 용어는 불필요한 부작용 (예, 독성, 자극 및 알레르기 반응) 없이 타당한 위험/효과 비율이 적당한 인간 및(또는) 동물들과 사용하기 적절한 성분을 의미한다.
- <25> 더욱이, 본원에 사용된 바와 같이, "안전하고 효과적인 양"이라는 용어는 불필요한 부작용 (예, 독성, 자극 및 알레르기 반응) 없이 본원에 개시된 방식으로 사용될 때 타당한 위험/효과 비율이 적당한 목적하는 치료 반응을 내기에 충분한 성분의 양을 의미한다.
- <26> 본 명세서에 사용된 바의 미생물을 "억제하는"이라는 용어는 미생물의 추가의 성장을 감소시키거나 또는 예방하거나, 미생물이 정상 세포들에 부착되는 것을 방지하고(하거나) 치료 중인 인간 또는 동물로부터 감염성 입자들의 일부 또는 전부를 제거하는 것을 의미한다. 미생물 억제를 결정하는 적절한 방법들은 실시예들에서 고찰된다.
- <27> 본 명세서에 사용된 바의 "전염률"이라는 용어는 하나의 숙주에서 다른 숙주로 미생물이 전이되는 것을 의미한다.
- <28> 본 발명에 사용된 모든 활성 화합물들은 만일 이용된다면 다른 소스들로부터 얻어질 수 있다. 따라서, "로부터 얻을 수 있는" 또는 "로부터 입수할 수 있는"이라는 용어는 강황, 생강 또는 녹차로부터 얻을 수 있는 화합물들 또는 조성물들을 포함하는 것을 의미하고, 따라서 동일한 화합물들 및(또는) 조성물들 뿐만 아니라 다른 소스들로부터 얻은 동일한 화합물들 및(또는) 조성물들의 합성 형태들을 포함한다.
- <29> 제1 실시 형태에서, 본 발명의 조성물은 생강으로부터 얻을 수 있는 제1 성분, 녹차로부터 얻을 수 있는 제2 성분을 본원에 개시된 유리한 효과들 중의 하나 이상을 제공하는 안전하고 효과적인 양으로 포함한다.
- <30> 본 발명의 조성물의 제1 성분은 생강(Zingiber officinale, 또한 통상적으로 생강 뿌리라 칭하기도 함)으로부터 얻을 수 있다. 남아시아에 자생하는 생강은 2-내지 4-피트의 다년생(perennial)으로, 1피트 길이 및 거의 1인치 폭에 이르는 잔디처럼 생긴 잎들을 생산한다. 식료품점에서 불리워지는 대로의 생강 뿌리는 실제로 식물의 땅속 줄기로 구성되어 있고, 그의 껍질형 외피는 벗겨져 있다.
- <31> 본 발명에 사용될 수 있는 생강의 활성 화합물들은 1,8-시네올, 10-데히드로전지디온, 10-진저올, 6-진저디온, 6-진저올, 6-쇼가올, 8- β -17-에폭시- λ -트랜스-12-엔-15, 16-디올, 8-진저올, 8-쇼가올, 9-옥소-네롤디올, 아세트알데히드, 아세트산, 알라닌, α -리놀렌산, α -리놀레산, α -펠란드렌, α -피엔, α -테르피넨, α -테르핀올, α -진지베렌, α -쿠르쿠멘, 아르기닌, 아스코르브산, 아스파라긴, β -비사볼올, β -카로텐, β -엘레멘, β -유데스몰, β -이오논, β -미르센, β -펠란드렌, β -피엔, β -셀리넨, β -세스퀴펠란드렌, β -시토스테롤, β -투존, 보르닐-아세테이트, 보론, 카페인산, 칼슘, 캄펜, 캠퍼, 카프리산, 카프릴산, 캡사이신, 카리오플렌, 카비콜, 클로로겐산, 크롬, 시트랄, 시트로넬알, 세트로넬올, 코발트, 구리, 쿠멘, 쿠르쿠민, 시스틴, 텔피니딘, δ -카디넨, 엘레몰, 에틸 아세테이트, 에틸-미리스테이트, 파르니잘, 파르네센, 페룰산, 푸르푸랄, γ -아미노부티르산, γ -테르피넨, 게라니알, 게라니올, 게라닐-아세테이트, 진저레논, 글루탐산, 글리신, 헥사하이드로쿠르쿠민, 히스티딘, 이소진저레논-B, 이소류신, 캠프페롤, 레시틴, 리모넨, 리놀레산, 마그네슘, 망간, 메티오닌, 무파, 미레센, 미리세틴, 미리스트산, 네르알, 네르올, 네롤리돌, 니아신, 니켈, 올레산, 옥살산, p-ку마르산, p-시멘, p-히드록시-벤조산, 팔리트산, 판토텐산, 파라돌, 파초울산 알콜, 페닐알라닌, 퀴에세틴, 리보플라빈, 셀레니움, 쉬키미산, 테르피넨-4-올, 티아민, 트립토판, 바닐산, 바닐린, 아연, 및 진저론을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다. 또한, 이들 활성 화합물들의 2개 이상의 혼합물들이 사용될 수 있다.
- <32> 생강으로부터 얻을 수 있는 본 발명의 조성물의 제1 성분은 생강 분말 추출물, 생강 유체 추출물, 생강 뿌리 분말을 포함하는 생강 분말, 생강의 활성 화합물들 중의 하나 이상, 생강 식물의 일부 또는 전체 및 이들의 혼합물들 등의 추출물들을 포함하는 많은 상이한 형태들로 본 발명의 조성물에 혼입될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 조성물의 제1 성분은 생강 추출물, 생강 뿌리 분말로부터 선택된다.
- <33> 본 발명의 조성물의 각각의 그램은 약 1 mg 내지 약 150 mg의 생강 뿌리 분말을 함유하는 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는, 조성물의 각각의 그램은 약 6 mg 내지 약 110 mg의 생강 뿌리 분말을 함유한다. 이들 범위는

기준선으로서 섭취된 제형 중의 생강 뿌리 분말, 예 Stryka Botanics 및 분무 제형 중의 생강 추출물 K (Aquaresin® Ginger), 예 미시건주 칼라마주사의 Kalsec®의 사용을 이용한다.

- <34> 여러 가지 성분들의 양은 그 성분, 즉 생강 뿌리 분말의 일 형태로 본원에 주어진다. 그 성분이 다른 형태로 제공되는 경우, 사용되어야 하는 양은 본원에 주어진 성분의 양과 동일한 양의 1개 이상의 활성 화합물들을 제공하게 될 것이다. 예를 들면, 생강 텅크가 사용되는 경우, 사용된 텅크의 양은 상기 생강 뿌리 분말의 양으로 제공되는 바와 동일한 양의 1개 이상의 활성 화합물들을 제공하는 양일 것이다. 이는 그 양들이 그 성분의 하나의 특정 형태에 대해 본원에 주어지는 모든 성분들에 적용된다.
- <35> 본 발명의 조성물의 제2 성분은 녹차로부터 얻을 수 있다. 녹차로부터 얻는 제2 성분은 항산화제 효과를 가질 수 있다. 녹차는 관목(shrub) 동백나무과(Camellia sinensis)의 건조된 잎들 및 잎눈들이다. 이는 주로 중국 및 일본에서 생산된다. 건조된 차 잎들은 주로 폴리페놀류(약 36%), 주로 플라보놀류(카테킨 포함), 플라보노이드류, 플라본디올류로 공지된 식물 화학 물질들로 구성되어 있다. 이 잎들은 또한 카페인, 티오브로민 및 티오플린을 포함하는 식물 알칼로이드류(약 4%)를 포함한다.
- <36> 녹차의 약리학적 활성들은 주로 그의 활성 화합물들에 기인한다. 본 발명에 유용한 녹차의 활성 화합물들은 플라보놀류, 카테킨류, 플로보노이드류, 식물 알카로이드류, 카페인, 티오브로민, 티오플린, 페놀산, 단백질들, 탄수화물들 및 미네랄들을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다.
- <37> 녹차로부터 얻을 수 있는 제2 성분은 녹차 분말, 녹차 추출물들, 예를 들면 녹차 분말 추출물, 녹차 유체 추출물 및 녹차의 1개 이상의 활성 화합물들, 녹차 식물들의 일부 또는 전부, 녹차 잎들, 그의 텅크, 또는 이들의 혼합물들의 형태로 조성물에 포함될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 조성물의 제2 성분은 녹차 잎들, 녹차 분말 및 녹차 추출물로부터 선택된다. 더욱 바람직하게는, 본 발명의 조성물의 제2 성분은 녹차 추출물이다.
- <38> 본 발명의 조성물의 각각의 그램은 바람직하게는 약 1mg 내지 약 20 mg의 녹차 추출물을 함유한다. 가장 바람직하게는, 이 조성물의 각각의 그램은 약 4 mg 내지 약 15 mg의 녹차 추출물을 함유한다. 이들 범위는 기준선으로서 섭취된 제형 중의 녹차, 예 Stryka Botanics 및 분무 제형 중의 녹차 추출물, 예 중국 ChanSha사의 Phatoway의 사용을 이용한다.
- <39> 생강, 녹차, 및 강황으로부터 얻을 수 있는 본 발명의 조성물의 성분들은 강황 분말, 생강 분말, 및 녹차 분말의 형태로 사용될 수 있으며, 이들 각각은 강황의 근경(rhizome), 생강 뿌리 및 녹차 잎들의 형태로 분쇄될 수 있다. 생강, 녹차 또는 강황의 특별한 활성 화합물에 대해, 합성 경로는 공지되어 있으며, 활성 화합물이 합성될 수 있다. 바람직한 경우, 식물 추출물들은 아래 개시된 바와 같이 제조될 수 있다. 대안으로, 강황 분말, 생강 분말, 녹차 분말 및(또는) 내부에 포함된 1개 이상의 활성 화합물들은 미시건주 칼라마주사의 Kalsec® 등의 상용 소스로부터 구매할 수 있다.
- <40> 본 발명의 조성물들에 사용될 수 있는 식물 추출물들, 예를 들면 강황 추출물, 생강 추출물, 녹차 추출물 및 양고추냉이 추출물은 통상의 추출 과정들을 사용하여 생산될 수 있다. 대안으로, 이 추출물들은 미시건주 칼라마주사의 Kalsec® 등의 상용 소스로부터 구매할 수 있다.
- <41> 상기 임의의 식물들로부터 편리하게 투여할 수 있는 용량 형태로 제약학적으로 또는 생물학적으로 활성인 식물 추출물들을 제조하는 공정들은 당업계에 잘 공지되어 있다.
- <42> 본 발명의 조성물은 본원의 실시예들에 의해 나타낸 바의 현저한 항균 활성들을 갖기 때문에, 본 발명의 조성물은 바이러스 감염증을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 또한 인후염, 울혈, 후두염, 점막염 및(또는) 점막 염증을 포함하는 바이러스성 감염증의 1개 이상의 증상들을 1개 이상의 이를 증상 또는 병으로 고통받는 환자들에 투여됨으로써 치료하는 치료 조성물로서 사용될 수도 있다.
- <43> 본 발명의 조성물은 또한 질병에 걸리는 발병률을 감소시키기 위해 사용될 수도 있다. 본 발명의 조성물의 이러한 적용에서, 본 발명의 조성물의 안전하고 효과적인 양은 본 발명의 조성물이 투여되지 않고, 미생물에 의해 유발된 질병에 노출되었거나 또는 노출될 포유 동물 또는 새에 상대적으로 상기 질병에 걸리는 발병률을 감소시키기 위해, 미생물에 유발된 질병에 노출되었거나 또는 노출될 포유 동물 또는 새에게 투여된다.
- <44> 바람직하게는, 본 발명의 조성물은 캡슐제류, 정제류, 로젠지제류, 트로키제류, 하드 캔디류, 분말류, 분무제류, 젤제류, 엘리시르제류, 시럽류 및 혼탁액류 또는 용액제류를 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는 임의의 허용될 수 있는 복용량으로 제형될 수 있다. 본 발명의 조성물은 또한 영양 보충물의 형태로 투여될 수 있으며, 이 경우 본 발명의 조성물은 영양 보충물일 수 있거나, 또는 추가의 성분들을 함유하는 영양 보충물의

일부를 형성할 수 있다.

- <45> 본 발명의 조성물은 허용되는 담체와 함께 제형될 수도 있다. 허용되는 담체는 (a) 감미제, 더욱 바람직하게는 과당, 포도당, 자당, 텍스트로스, 전분, 락토스, 말토스, 말토덱스트린류, 옥수수 시럽 고형물류, 벌꿀 고형물류, 상용 정체 영양 보충물류, 예를 들면 EmdexTM, Mor-RexTM, Di-PacTM, Sugar-TabTM, Sweet-RexTM, 및 New-TabTM를 포함하는 탄수화물류; (b) 만니톨, 소르비톨 및 크실리톨을 포함하는 당 알콜류; 및 (c) 인산이칼슘, 황산칼슘, 탄산칼슘, 미세결정질 셀룰로스 및 기타 정체 성분들을 포함하는 여러가지 상대적으로 불용성인 부형제들을 포함할 수 있지만, 이들로만 제한되지 않는다.
- <46> 본 발명에서 로젠제제류, 정제류 및 트로키제류는 형태, 크기 및 제조 기술이 상이할 수 있다. 경구용 정제의 경우, 허용되는 담체는 락토스 및 콘 스타치를 추가로 포함할 수 있다. 윤활제류는 예를 들면 스테아르산 마그네슘 및 라우릴 황산 나트륨 및 활석을 포함하여, 정제들에 부가될 수도 있다. 정제류는 또한 시트르산 나트륨, 탄산 칼슘 및 인산 칼슘 등의 부형제들을 함유할 수도 있다. 전분, 알긴산 및 착물 실리케이트류와 같은 봉해제들이 사용될 수도 있다. 정제류는 또한 폴리비닐피롤리돈, 젤라틴, PEG-8000 및 아카시아 겸 등의 결합제들을 포함할 수도 있다.
- <47> 경구용 로젠제제들의 경우에, 통상의 허용되는 담체는 PEG-8000 등의 결합제를 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는 로젠제제류는 약 0.1 내지 약 15 g 중량을 취하여 경구로 섭취될 때 적절한 분해 속도를 제공한다. 더욱 바람직하게는, 로젠제제류는 약 1 내지 약 6g의 중량을 취한다.
- <48> 로젠제제류의 생산은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 당업계의 통상의 기술을 가진 자들이 본 발명의 조성물과 함께 용이하게 로젠제제들을 생산할 수 있다. 이 조성물은 기밀 용기 및 서늘한 암실에 저장되는 것이 바람직하다.
- <49> 정제류 및 트로키제류는 임의의 성분들의 최소 변화에 의해 당업계에 공지된 절차들을 사용하여 제조될 수 있다. 그러한 변화들은 통상의 기술을 가진 당업자의 기술 내에서 이루어진다.
- <50> 대안으로, 본 발명의 조성물은 지속되는 기간에 걸쳐 구강 및 인두 점막으로 조성물을 반복 전달하기 위해, 물 또는 기타 액체들과 같은 용매 또는 분산제와 함께 임의로 제약학상 허용되는 담체 중에서 시럽제, 구강 세척제류 또는 분무제류 등의 액체 형태로 제형될 수 있다. 바람직하게는, 치료 시간은 구강 및 인후 조직과 조성물이 장기간 접촉되게 허용하도록 약 5 내지 60분이고, 더욱 바람직하게는 약 20 내지 30분이 된다. 대안으로, 그러한 제형들은 물 또는 기타 물질들에 의해 사용 전에 적절히 희석되는 농도일 수 있다.
- <51> 이 조성물은 씹을 수 있는 형태, 예를 들면, 소프트 캔디, 겸 드롭스, 액체 충전된 캔디류 및 츄잉껌 베이스류로 또는 치과용 제품, 예를 들면 치약류 및 구강 세척제류로 제형될 수도 있다. 사용 중에, 씹을 수 있는 조성물은 바람직하게는 약 5 내지 60분의 지속되는 시간에 걸쳐, 더욱 바람직하게는 약 20 내지 30분에 걸쳐 입안에서 지체된다. 치과용 제품들은 그러한 제품류를 사용하는 통상의 방식으로 사용될 수 있다.
- <52> 본 발명의 조성물은 희석제의 춘부하에 캡슐 형태로 제형될 수 있다. 캡슐용으로 적절한 희석제류는 락토스 및 건조된 콘스타치를 포함한다. 혼탁액류가 사용될 때, 유화제 및(또는) 혼탁제류가 이 혼탁액들에 사용될 수 있다. 추가로, 상기 로젠제제류의 성분들 중의 1개 이상을 포함하는 고체 조성물들이 연질 및 경질 젤라틴 캡슐류에 사용될 수 있다.
- <53> 본 발명의 조성물은 비강 에어로졸 또는 흡입 조성물로 제형될 수도 있다. 그러한 조성물은 잘-공지된 기술들을 사용하여 제조될 수 있다. 이들 유형의 제형들에 대해, 적절한 담체들은 다음 성분들: 1개 이상의 보존제들을 갖는 염수, 생체 적합성을 증진시키는 흡수 촉진제류, 플루오로카본류 및(또는) 통상의 용해제 또는 분산제들을 포함할 수 있다.
- <54> 본 발명의 조성물에 임의로 포함될 수 있는 기타 물질들은 레스베라트롤(트리히드록시스틸렌), 이노시톨, 기타 B-착물 비타민류, 및 추가의 항-염증제들을 포함한다. 또한, 감미제류, 플라보린트류, 착색제류, 염료류, 보존제류, 유화제류, 혼탁제류, 용융제류, 부형제류, 완화제류 및 용매 또는 희석제류, 예를 들면 물, 에탄올, 프로필렌 글리콜, 글리세린 및 이들의 여러 가지 조합물 등의 성분들이 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다.
- <55> 임의의 실시 형태에서, 본 발명의 조성물은 본원에 개시된 1개 이상의 유리한 효과들을 제공하는 안전하고 효과적인 양으로 강황으로부터 얻을 수 있는 1개 이상의 성분들을 포함한다. 강황(Curcuma longa) 또는 인도 북부의 할디(Haldi)는 의약품으로서 뿐만 아니라 인도 요리의 통상의 성분으로서 매우 광범위하게 사용된다. 강황

근경은 미세한 분말로서 의약품 및 요리에 사용된다.

- <56> 강황 근경의 노란색 안료는 쿠르쿠미노이드류로서 공지된 3가지 화합물들로 구성되어 있다. 이 3가지 쿠르쿠미노이드류는 쿠르쿠민(디페롤로일메탄), 데스메톡시쿠르쿠민(히드록시신나모일페롤로일메탄), 및 비스-데스메톡시쿠르쿠민(디히드록시디신나모일메탄)이다 (Drug Analysis, Chromatography and Microscopy, 169페이지, Ann Arbor Science Inc., 1973 참조). 강황(Curcuma longa)의 필수 오일류는 주로 다음 화합물들: d-캡퍼(약 1%), 시클로-이소프렌미르센(약 85%) 및 p-톨릴메틸카르빈올(약 5%)로 구성되어 있다(E. Gunther, The Essential Oil, 123-4페이지, Van Nostrand Co., 1955 참조).
- <57> 강황으로부터 얻은 본 발명의 조성물의 성분은 바람직하게는 쿠르쿠미노이드류, 예를 들면 쿠르쿠민(디페롤로일메탄), 데스메톡시쿠르쿠민(히드록시신나모일페롤로일메탄), 및 비스-데스메톡시쿠르쿠민(디히드록시디신나모일메탄) 및 이들 쿠르쿠미노이드류의 2개 이상의 혼합물들을 포함한다.
- <58> 강황으로부터 쿠르쿠미노이드류를 단리시키는 방법들은 공지되어 있다 (Janaki 및 Bose, An Improved Method for the Isolation of Curcumin From Turmeric, J. Indian Chem. Soc. 44:985, 1967). 대안으로, 본 발명에 사용하기 위한 쿠르쿠미노이드류는 합성 방법들에 의해 제조될 수 있다.
- <59> 강황으로부터 얻을 수 있는 성분은 각종 상이한 형태들로 본 발명의 조성물 내로 혼입될 수 있다. 이들 상이한 형태들은 바람직하게는 강황 추출물들, 예를 들면 강황 분말 추출물들, 강황 유체 추출물들, 1개 이상의 쿠르쿠미노이드 화합물들 및 강황 분말, 강황 식물의 일부 또는 전부, 이들의 텅크 및 이들의 혼합물들을 포함한다. 더욱 바람직하게는, 강황으로부터 얻을 수 있는 임의의 성분은 강황 추출물이다.
- <60> 강황으로부터 얻을 수 있는 성분이 사용될 때, 본 발명의 조성물의 각각의 그램은 바람직하게는 약 1 mg 내지 약 20 mg의 강황 분말 추출물을 함유한다. 가장 바람직하게는, 조성물들의 각각의 그램은 약 6 mg 내지 약 15 mg의 강황 분말 추출물을 함유한다. 이들 범위는 섭취된 제형 중의 강황 추출물, 예 Pharmline, Inc. 및 분무제형 중의 강황 뿌리 추출물 (Oleoresin Turmeric), 예 미시건주 칼라마주사의 Kalsec®의 사용에 기초한다.
- <61> 또한, 본 발명의 조성물은 본원에 개시된 1개 이상의 유리한 효과들을 제공하는 안전하고 효과적인 양으로 양고추냉이 뿌리로부터 얻을 수 있는 1개 이상의 성분들을 포함할 수 있다.
- <62> 양고추냉이 뿌리로부터 얻을 수 있는 임의의 성분은 Cochlearia Armoracia로부터의 추출물들을 함유할 수 있다. 양고추냉이는 겨자에서 발견되는 것들과 유사한 휘발성 오일들을 함유한다. 이들은 글루코시놀레이트류(겨자오일 글루코시드류), 글루코나스터틴 및 시니그린을 포함하고, 이는 위에서 분해될 때 알릴 이소티오시아네이트를 생산한다.
- <63> 에탄올, 프로필렌 글리콜 및 글리세린 및 이들의 여러 가지 조합물들이 추가의 활성 성분들로서 전체적으로 약 10중량%에 이르는 양으로 본 발명의 조성물에 임의로 포함될 수 있다. 가장 바람직하게는, 에탄올의 전체 중량 당 약 10% 이하가 활성 성분으로서 부가된다. 심지어 더욱 바람직하게는 2.5 내지 7중량%의 에탄올이 부가된다.
- <64> 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 임의의 감미제들은 사카린, 아스파탐, 시클라메이트류, 아세설팜 K, 네오헤스페리딘 디하이드로칼콘, 기타 당 감미제류 및 이들의 혼합물들을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않고, 조성물의 주 성분들과 화학적으로 상호 작용하지 않도록 충분히 적은 양으로 담체에 부가될 수 있다.
- <65> 본 발명의 조성물에 사용될 수 있는 임의의 향미제는 페퍼민트, 페퍼민트-멘톨, 유칼립톨, 동록유(wintergreen), 감초, 정향, 계피, 시피아민트, 체리, 레몬, 오렌지, 라임, 멘톨 및 이들의 여러 가지 조합물들을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다.
- <66> 바람직하게는, 생강, 녹차 및 임의로 강황으로부터 유도될 수 있는 상기 주성분들은 전체 조성물 중량의 약 0.5 내지 약 90%를 구성한다. 더욱 바람직하게는, 이 주성분들은 전체 조성물 중량의 약 10 내지 약 70%를 구성할 것이다. 가장 바람직하게는, 이 주성분들은 전체 조성물의 약 20 내지 약 40%를 구성한다.
- <67> 상기 고찰된 바의 강황, 생강 및 녹차로부터 얻을 수 있는 성분들을 포함하는 조성물의 담체-외의 성분들은 그의 의도된 용도를 위해 조성물의 효과에 실질적으로 영향을 미치지 않으면서 조성물에 사용된 담체의 양에 의존하여 본 발명의 조성물에서 비례적으로 증가되거나 또는 감소될 수 있다.
- <68> 전염을 감소시키거나 또는 예방하는 것은 한명의 환자(감염됨)에서 다른 환자(감염되지 않음)로 미생물이 전파되는 것을 방지하거나 또는 감소시키는 것이다. 일부 환자들은 감염증의 보균자들로서 생각될 수 있다. 보균

자들은 미생물들을 활성으로 보유하지만, 급성 감염증으로 고통받지 않는 개체들이다. 이들 보균자들은 미생물에 의해 지속적으로(또는 만성적으로) 감염되었다고 한다. 지속적으로 감염된 사람들 외에, 다른 감염성 개체들은 활동적으로 감염된 자들 및 특히 급성 감염증의 초기 또는 후기 단계에 있는 자들일 수 있다. 본 발명의 일 국면은 다른 포유 동물들 또는 새들로 질병이 전파되는 것을 예방하고(하거나) 감염된 포유 동물 또는 새의 질병의 증상들을 감소시키기 위해 미생물에 의해 감염된 포유동물 또는 새에게 본 발명의 조성물을 투여하는 것에 관한 것이다.

- <69> 예방 의학적 요법은 미생물에 곧 노출될 것이거나 또는 미생물에 최근에 노출된 환자를 목표로 한다. 그러한 예방 의학적 요법은 단독으로, 또는 백신을 증대시키는데 효과적일 수 있다. 예방 의학적 요법은 아직 이용될 수 있는 백신이 없는 미생물들에 대해 사용될 수도 있다. 예방 의학적 요법에서, 본 발명의 조성물은 미생물에 노출될 것이거나 또는 미생물에 최근에 노출된 환자에게 그 환자에서 미생물에 의해 활성인 감염증의 발병률을 감소시킬 목적으로 투여된다.
- <70> 다른 국면에서, 본 발명은 생강 및 녹차로부터 얻을 수 있는 성분들을 포함하는 본 발명의 조성물을 바이러스에 의해 감염된 환자에게 투여함으로써 바이러스 감염증의 적어도 하나의 증상 또는 부작용을 감소, 치료 또는 예방하는 방법에 관한 것이다.
- <71> 본 발명에서, 환자들은 인간, 시험관내 세포 시스템 또는 동물일 수 있다. 바람직하게는, 그 환자는 포유동물, 더욱 바람직하게는 인간이다. 이 방법에서, 본 발명의 조성물을 투여함으로써 억제될 수 있는 바이러스는 다른 바이러스들 중에서, 코감기 바이러스, 인플루엔자 바이러스들, West Nile 바이러스, 단순 포진 바이러스, HIV-1, HIV-2, 아데노바이러스, 코로나바이러스, 인플루엔자 바이러스, 풍진 바이러스, 황열 바이러스 및 호흡기 합포체(syncytial) 바이러스(RSV)를 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 이 조성물의 투여에 의해 억제될 수 있는 바이러스들은 적어도 인간의 코감기 바이러스 16, 헤르페스 1 바이러스(HSV-1), 인플루엔자 A/모스크바/10/99, 조류 인플루엔자 A(H5N1) 및 B/광동/120/00을 포함한다.
- <72> 대안으로, 환자는 통상의 시판 중인 가금류: 칠면조, 오리, 거위 및 닭, 드물게는 타조 뿐만 아니라 통상적으로 애완 동물로 키우는 기타 새 종들, 예를 들면 카나리아류 및 앵무새류를 포함하는 새(조류) 종들의 구성원일 수 있다. 이 조성물은 새의 비강으로 이 조성물을 직접적으로 분무함으로써 투여될 수 있거나, 또는 이 조성물은 새들이 걸어 다니는 곳에 연무를 생성함으로써 투여될 수 있다. 따라서, 이 조성물은 살바이러스 또는 바이러스 억제 방식으로 작용하도록 예방 의학적으로 제공될 수 있다. 대안으로, 이 조성물은 바이러스의 전염률을 감소시키기 위해 사용될 수 있다.
- <73> 본 발명의 이러한 방법에 의해 치료, 감소 또는 적어도 부분적으로 예방될 수 있는 바이러스 감염증에 의해 유발되는 증상들은 두통, 관절통, 열, 기침, 재채기, 근육통, 콧물, 구강 건조, 현기증 및 바이러스 감염증과 관련된 기타 증상들 중의 1개 이상을 포함할 수 있다. 새들에서, 이들 증상들은 원기 부족, 알 생산의 감소, 알 껍질의 연화, 머리, 눈꺼풀 등의 부기, 코의 배출물, 기침 또는 설사 등을 포함한다.
- <74> 이 방법에서, 본 발명의 조성물을 투여함으로써 억제될 수 있는 미생물들은 연쇄상구균(*Streptococcus*) 포도상구균(*Staphylococcus*) 등의 그램-양성균, 대장균(*E. Coli*), 슈도모나스속(*Pseudomonas*), 헤모필루스속(*Haemophilus*) 등의 그램--음성균 및 히스토플라즈마(*Histoplasma*) 및 블라스토마이코시스(*Blastomycosis*) 등의 진균 및 *C. albicans* 및 크리토코쿠스(*Cryptococcus*) 등의 효모를 포함한다.
- <75> 이 조성물의 효과적인 양은 치료 중인 환자, 특정 투여 모드, 사용된 특정 활성 성분들의 활성, 환자의 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 성별 및 식습관, 투여 시간, 분비 속도, 사용된 성분들의 특정 조합, 조성물의 주성분의 전체 함량, 및 질병 또는 증상의 심각도와 같은 인자들에 따라 변화할 것이다. 당업계의 통상의 기술을 가진 자들의 기술 내에서 이들 인자들이 고려된다.
- <76> 이 조성물은 필요에 따라 1일 약 1 내지 약 15회, 더욱 바람직하게는 필요에 따라 1일 약 2 내지 약 12회, 가장 바람직하게는 필요에 따라 약 6 내지 약 10회 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 정제류, 캡슐제류, 로젠제류, 트로키제류, 하드 캔디류, 분말류, 경구 분무제류, 비강 분무제류, 겔제류, 엘리시르제류, 시럽류, 씹을 수 있는 조성물류, 치과용 제품류, 혼탁액류 및 용액제류를 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는 상기한 바의 임의의 허용될 수 있는 복용량 형태로 투여될 수 있다.
- <77> 이 조성물의 각각의 용량은 본 발명의 조성물의 안전하고 효과적인 양을 함유한다. 각각의 치료 투여용으로 효과적인 양은 생강 및 녹차로부터 얻어질 수 있는 성분들을 전체 약 0.1g 내지 약 1g 함유한다. 더욱 바람직하게는, 각각의 치료 투여용 조성물의 효과적인 양은 생강 및 녹차로부터 얻어질 수 있는 성분들을 전체 약 0.2g

내지 약 0.5g 함유한다. 본 발명의 방법에 따라 투여된 조성물의 여러 성분들의 양들은 본 발명의 조성물에 대해 상기 주어진 것과 동일하다.

<78> 바람직하게는, 이 조성물을 각각 경구 투여하는 동안, 이 조성물은 그것이 완전히 용해되기 전에 조성물의 주성분들이 구강 조직 또는 인후와 접촉할 수 있도록 적어도 약 5 내지 약 60분 동안 구강 내에 머무른다. 더욱 바람직하게는, 이 조성물은 적어도 약 15 내지 약 30분 동안 구강 내에 머무른다.

<79> 이 조성물이 분무제로서 투여될 때, 활성 성분들 각각의 양들은 예를 들면 로젠키제 또는 캡슐제와 비교한 바, 분무 조성물은 활성 성분들이 필요한 위치에 보다 직접적으로 이들 성분들을 전달하므로 감소될 수 있다.

<80> 다음의 바람직한 범위들은 본 발명의 방법들에 따른 분무 제형으로 투여하기에 적합한 본 발명에 따른 조성물을 한정한다.

<81> 본 발명의 방법들에 따라 분무제로 투여되는 조성물의 각각의 그램은 바람직하게는 약 1 mg 내지 약 10 mg의 aquaresin® 생강을 함유한다. 가장 바람직하게는, 이 조성물의 각각의 그램은 약 3 mg 내지 약 7 mg의 aquaresin® 생강을 함유한다.

<82> 본 발명의 방법들에 따라 분무제로 투여된 조성물의 각각의 그램은 바람직하게는 약 1 mg 내지 약 20 mg의 녹차 잎 추출물을 함유한다. 가장 바람직하게는, 이 조성물의 각각의 그램은 약 4 mg 내지 약 15 mg의 녹차 잎 추출물을 함유한다.

<83> 본 발명의 방법들에 따라 분무제로 투여된 조성물의 임의의 실시 형태의 각각의 그램은 바람직하게는 약 1 mg 내지 약 12 mg의 가용성 올레오레진 강황을 함유한다. 가장 바람직하게는, 이 조성물의 각각의 그램은 약 4 mg 내지 약 9 mg의 가용성 올레오레진 강황을 함유한다.

<84> 본 발명은 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로서 해석되지 않아야 하는 아래 주어진 실시예들에 의해 추가로 예시될 것이다. 본 발명의 범위는 이에 첨부된 특허 청구의 범위들에 의해 결정되어야 한다.

실시예 1 - 본 발명의 조성물

<86> 로젠키제류의 형태로 제형된 본 발명의 조성물은 상기 절차를 사용하여 제조되었다. 로젠키제의 성분들은 아래 열거된다:

<87> 자당 1 g

<88> 느릅나무 껌질 118 mg

<89> 강황 추출물(5% 쿠르쿠민) 18 mg

<90> 생강 뿌리 140 mg

<91> 양고추냉이 뿌리 70 mg

<92> 녹차 잎 추출물(30% 카테킨 및 폴리페놀류) 14 mg

실시예 2 - 인후염의 치료

<94> 인후염으로 고통받는 7명의 환자들 각각은 실시예 1에 따라 제형된 하나의 로젠키제를 2시간마다 섭취하고, 이로젠키제가 완전히 용해될 때까지 약 15-30 분 동안 그 또는 그녀의 구강 내에 그 로젠키제를 유지하였다. 임의의 주어진 날에 10개 이상의 로젠키제를 섭취한 환자는 없었다.

<95> 치료받은 환자들은 2 내지 20개의 로젠키들을 섭취한 후 그들의 인후염 증상이 완전히 경감되었음을 보고하였다. 또한, 각각의 로젠키제는 6시간여 동안 인후염의 경감을 제공할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

실시예 3 - 조성물의 시험관내 살바이러스 활성 시험

<97> 이 실시예에 사용된 살바이러스 활성에 대한 시험관내 시험 프로토콜은 타겟 바이러스로서 인간 코감기 바이러스 16(이하 "HRV-16") 및 HRV-16 바이러스들에 대한 숙주 세포로서 Jacobs 등이 Characteristics of Human diploid MRC-5, Nature(런던), 227:168-170(1970)에 개시된 인간 조직들에 관련된 MRC-5 세포주를 사용한다. 바이러스와 함께 시험 기질들을 인큐베이션한 후 잔류 바이러스 감염률은 현미경 관찰을 통해 바이러스 복제에 의해 유도된 사이토파티 효과(CPE)를 시작적으로 득점화함으로써 코감기 바이러스 성장을 위해 MRC-5 세포주에 대해 적정하였다. 보다 상세하게는, CPE는 MRC-5 배양에서 공기 주입/라운딩 세포들을 관찰함으로써 득점되었

다.

<98> 살바이러스 활성을 측정하기 위해, 실시예 1의 조성물(이하, "기질 1")이 1/20의 초기 희석도로 사용되었고, 이어서 염수 중의 일련의 희석도로 희석되었다. 희석된 조성물들은 설정된 시간 동안 HRV-16RHK 함께 인큐베이션 되었고, 이어서, 반응은 세포 감염 배지에 의해 중성 pH로 조절됨으로써 종료되었다. 결과의 용액은 세포들의 감염을 수행하도록 시험 플레이트를 가로질러 1/10의 희석도로 MRC-5 세포들 상에서 적정되었다. 각각의 플레이트는 HRV-16 감염된 MRC-5 세포들 만을 함유하는 바이러스 대조군, 및 감염되지 않은 MRC-세포들 만을 함유하는 세포 대조군을 수용하였다.

<99> 이 플레이트들은 감염 후 4일 동안 추가로 인큐베이션되었다. 잔류 바이러스 감염률은 상기 분석법을 사용하여 측정하였다. 표 1-4에 나타낸 결과들로부터, 플레이트 상의 모든 대조군들이 잘 작용하였다.

<100> 이 분석으로부터, 1/20 희석도에서 기질 1이 1-분의 인큐베이션 기간에 1.50($-\log_{10}$ TCID₅₀)의 HRV-16 바이러스 로그 감소를 생성하는데 효과적인 것으로 결정되었다. 기질 1의 1/40 희석도는 또한 1-분의 인큐베이션 기간에 1.00($-\log_{10}$ TCID₅₀)의 로그 감소를 생성하였다. 2-분 및 5-분의 인큐베이션 기간 후, HRV-16 역가에서 1/2 로 그 감소가 달성되었다. 따라서, 이들 결과들은 기질 1과 HRV-16 사이의 1-분의 접촉 시간이 가장 효과적인 바이러스 역가 감소를 생산함을 지시하는 경향이 있다.

<101> 표 1은 상이한 희석도에서 기질 1의 1종료 시점에서 MRC-5 세포들에 대한 감염성 코감기 바이러스 16의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가들을 보여준다.

표 1

희석도	등장성 용액 중 의 기질 1의 pH 값	종결된 용액의 pH 값	바이러스 대조군 (TCID ₅₀)	1분 인큐베이션	
				잔류 바이러스 역 가 (TCID ₅₀)	로그 감소 (TCID ₅₀)
1/20	5.03	7.73	3.80	2.30	1.50
1/40	5.13	7.77	3.80	3.30	0.50
1/80	4.98	7.83	3.80	3.80	0.00
1/160	4.98	7.73	3.80	3.80	0.00

<104> 표 2-4는 상이한 희석도에서 기질 1의 3가지 종료 시점에서 MRC-5 세포들에 대한 감염성 HRV-16의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가들에 대한 2차 시험 결과들을 보여준다.

표 2

기질 1의 희석도	HRV-16 대조군 (TCID ₅₀)	1분 인큐베이션		
		잔류 HRV-16 역가 (TCID ₅₀)	HRV-16 로그 감소 (TCID ₅₀)	
1/20	3.30	1.80	1.50	
1/40	3.30	2.30	1.00	
1/80	3.30	2.80	0.50	
1/160	3.30	2.80	0.50	
1/320	3.30	2.80	0.50	

표 3

기질 1의 희석도	HRV-16 대조군 (TCID ₅₀)	2분 인큐베이션		
		잔류 HRV-16 역가 (TCID ₅₀)	HRV-16 로그 감소 (TCID ₅₀)	
1/20	3.30	2.80	0.50	
1/40	3.30	2.80	0.50	

1/80	3.30	2.80	0.50
1/160	3.30	2.80	0.50
1/320	3.30	2.80	0.50

표 4

기질 1의 희석도	HRV-16 (TCID ₅₀)	대조군 역가	5분 인큐베이션		
			잔류 (TCID ₅₀)	HRV-16 (TCID ₅₀)	역가 HRV-16 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/20	3.30		2.80		0.50
1/40	3.30		2.80		0.50
1/80	3.30		3.30		0.00
1/160	3.30		2.80		0.50
1/320	3.30		2.80		0.50

<109> 표 1-4에서, TCID₅₀ = - log₁₀ TCID₅₀

<110> 유사한 살바이러스 시험은 숙주 세포로서 Vero 세포들을 사용하는 헤르페스 1 바이러스(HIV-1), 숙주세포로서 MDCK를 사용하는 인플루엔자 A/모스크바/10/99, 및 B/광동/120/00을 포함하는 다른 바이러스들을 사용하여 기질 1에 대해 수행되었다. 이들 살바이러스 시험들에 대한 결과들은 아래 표 5-13에서 요약된다.

<111> 표 5-7은 상이한 희석도에서 기질 1의 3가지 종료 시점에서 Vero 세포들에 대한 감염성 HSV-1의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가들을 보여준다.

<112> 표 5

기질 1의 희석도	HSV-1 (TCID ₅₀)	대조군 역가	1분 인큐베이션		
			잔류 (TCID ₅₀)	HSV-1 (TCID ₅₀)	역가 HSV-1 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/40	3.80		0.00		3.80
1/80	3.80		0.00		3.80
1/160	3.80		2.80		1.00
1/320	3.80		2.80		1.00
1/640	3.80		2.80		1.00

<113> 표 6

기질 1의 희석도	HSV-1 (TCID ₅₀)	대조군 역가	2분 인큐베이션		
			잔류 (TCID ₅₀)	HSV-1 (TCID ₅₀)	역가 HSV-1 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/40	3.80		0.00		3.80
1/80	3.80		0.00		3.80
1/160	3.80		1.80		2.00
1/320	3.80		2.80		1.00
1/640	3.80		2.80		1.00

<114> 표 7

기질 1의 희석도	HSV-1 (TCID ₅₀)	대조군 역가	5분 인큐베이션		
			잔류 (TCID ₅₀)	HSV-1 (TCID ₅₀)	역가 HSV-1 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/40	3.80				

1/40	3.80	0.00	3.80
1/80	3.80	0.00	3.80
1/160	3.80	1.80	2.00
1/320	3.80	2.80	1.00
1/640	3.80	2.80	1.00

<120> 표 8-10은 상이한 희석도에서 기질 1의 3가지 종료 시점에서 인플루엔자 A/모스코바/10/99의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가들을 보여준다.

표 8

기질 1의 희석도	A/모스코바 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	1분 인큐베이션	
		잔류 A/모스코바 역가 (TCID ₅₀)	A/모스코바 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	2.80	0.00	2.80
1/20	2.80	0.00	2.80
1/40	2.80	1.80	1.00
1/80	2.80	1.80	1.00
1/160	2.80	1.80	1.00
1/320	2.80	1.80	1.00
1/640	2.80	1.80	1.00
시트레이트 완충액	2.80	1.80	1.00

표 9

기질 1의 희석도	A/모스코바 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	2분 인큐베이션	
		잔류 A/모스코바 역가 (TCID ₅₀)	A/모스코바 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	2.80	0.00	2.80
1/20	2.80	0.00	2.80
1/40	2.80	1.80	1.00
1/80	2.80	1.80	1.00
1/160	2.80	1.80	1.00
1/320	2.80	1.80	1.00
1/640	2.80	1.80	1.00
시트레이트 완충액	2.80	1.80	1.00

표 10

기질 1의 희석도	A/모스코바 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	5분 인큐베이션	
		잔류 A/모스코바 역가 (TCID ₅₀)	A/모스코바 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	2.80	0.00	2.80
1/20	2.80	0.00	2.80
1/40	2.80	1.80	1.00
1/80	2.80	1.80	1.00
1/160	2.80	1.80	1.00
1/320	2.80	1.80	1.00
1/640	2.80	1.80	1.00
시트레이트 완충액	2.80	0.00	2.80

<127> 표 11-13은 상이한 희석도에서 기질 1의 3가지 종료 시점에서 인플루엔자 B/광동/120/00의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가들을 보여준다.

표 11

기질 1의 희석도	B/광동 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	1분 인큐베이션	
		잔류 B/광동 역가 (TCID ₅₀)	B/광동 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	1.80	0.00	1.80
1/20	1.80	0.00	1.80
1/40	1.80	1.80	0.00
1/80	1.80	1.80	0.00
1/160	2.30	1.80	0.50
1/320	2.30	1.80	0.50
1/640	1.80	2.30	-0.50
시트레이트 완충액	1.80	0.00	1.80

표 12

기질 1의 희석도	B/광동 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	2분 인큐베이션	
		잔류 B/광동 역가 (TCID ₅₀)	B/광동 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	1.80	0.00	1.80
1/20	1.80	0.00	1.80
1/40	1.80	1.80	0.00
1/80	1.80	1.80	0.00
1/160	2.30	1.80	0.50
1/320	2.30	1.80	0.50
1/640	1.80	2.80	-1.00
시트레이트 완충액	1.80	0.00	1.80

표 13

기질 1의 희석도	B/광동 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	5분 인큐베이션	
		잔류 B/광동 역가 (TCID ₅₀)	B/광동 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	1.80	0.00	1.80
1/20	1.80	0.00	1.80
1/40	1.80	1.80	0.00
1/80	1.80	1.80	0.00
1/160	2.30	1.80	0.50
1/320	2.30	1.80	0.50
1/640	1.80	2.80	-1.00
시트레이트 완충액	1.80	0.00	1.80

<134> 상기 결과들로부터 알 수 있듯이, 기질 1은 인플루엔자 바이러스들 및 인간 코감기 바이러스들을 억제하거나 또는 박멸하는데 효과적이다. 결과적으론, 기질 1은 인플루엔자 및 통상의 감기를 치료하는데 효과적이다.

<135> 실시예 4 - 조성물의 시험관내 바이러스 억제 활성

<136> 이 실시예에 사용된 살바이러스 활성에 대한 시험관내 시험 프로토콜은 타겟 바이러스로서 인간 코감기 바이러스 16(HRV-16) 및 HRV-16 바이러스들에 대한 숙주 세포로서 Conant 등의 (Basis for a Numbering system. 1. Hela cell for Propagation and Serologic Procedure, J. Immunol., 100:107-113, 1968)에 개시된 인간 조직들에 관련된 코감기 바이러스 민감성 Hela 세포주를 사용한다.

<137> 기질 1은 다음 희석도: 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 및 1/320로 감염 배지 중에 용해되었다. 이들 희석물들은 37 °C에서 30분 동안 MRC-5 세포들의 플레이트들 상에서 인큐베이션되었다(5% CO₂). 인큐베이션 기간 후, 플레이트들의 웰 내의 MRC-5 세포들에 의한 각각의 기질 1 희석도는 2.30의 공지된 역가에서 HRV-16에 적용되었다(-log₁₀ TCID₅₀). 각각의 플레이트는 바이러스 대조군(기질 1 없이 HRV-16 바이러스들에 의해 감염된 Hela 세포들), 세포 대조군(Hela 세포들만) 및 상이한 희석도에서 시험 화합물 대조군들(시험 기질만을 갖는 Hela 세포들)을 수용한다. 플레이트 상의 모든 다른 시료들은 상이한 희석도로 기질 1 및 HRV-16 바이러스들로 감염된 Hela 세포들을 함유하였다. 이 플레이트들은 감염후 4일 동안 추가로 인큐베이션되었다.

<138> 바이러스와 함께 기질 1을 인큐베이션한 후 잔류 바이러스 감염률은 다음 절차를 사용하여 바이러스에 의해 유도된 사이토페틱 효과(CPE)를 측정함으로써 코감기 바이러스 성장을 위해 Hela 세포주 상에서 적정되었다.

<139> 기질 1에 의한 인큐베이션 후 나머지 생존 가능한 Hela 세포들은 크리스탈 바이올렛 용액으로 염색되었다. 과량의 크리스탈 바이올렛은 세척에 의해 제거되었으며, 크리스탈 바이올렛 염색된 세포들은 메탄올과 아세트산의 혼합물을 사용하여 용해되었다. 이어서, 이 용액의 흡수율은 ELISA 플레이트 판독기에서 540nm에서 측정되었다. 바이러스 유도된 CPE의 레벨은 흡수율에 반비례하였다.

<140> 크리스탈 바이올렛 분석으로 생성된 결과들은 식 $y = mx + c$ 을 조정함으로써 기질 1의 독성 농도 및 효과적인 농도가 결정될 수 있게 하고, 여기서 x는 기질 1의 희석도에 대응하고, y는 세포들에 대한 기질 1의 독성 백분율에 대응한다. 이 식으로부터, TC₅₀ (기질이 세포들에 대해 50% 독성을 나타내는 농도)는 기질 1의 1/571 희석도이다.

<141> 이 결과는 아래 표 14에 나타낸 바와 같이, 기질 1의 여러 희석도에서 세포 생존률과 잘 상관되고, 이 역시 크리스탈 바이올렛 분석을 사용하여 측정되었다.

<142> 표 14

바이러스 없이 기질 1의 희석도	세포 생존률%
1/320	89.7
1/160	94.6
1/80	97.6
1/40	109.3
1/20	168.2

<144> x가 가질 1의 희석도에 대응하고, y가 바이러스의 존재 하에 기질 1의 잠재적인 효능에 대응하는 동일한 식을 사용함으로써, EC₅₀ (시험 기질이 바이러스 존재 하에 50% 효능을 나타내는 농도)는 기질 1의 1/91 희석도에서 이루어지는 것으로 측정되었다. 이 결과는 아래 표 15에 나타낸 바와 같이, 크리스탈 바이올렛 분석을 사용하여 측정된 기질 1의 여러 희석도에서 생존한 세포들의 백분율과 잘 상관되었다.

<145> 표 15

기질 1의 희석도 및 바이러스	생존한 세포 %
1/320 + HRV-16	79.3
1/160 + HRV-16	62.3
1/80 + HRV-16	39.0
1/40 + HRV-16	15.9
1/20 + HRV-16	-220.0

<147> 표 14 및 15에서, 세포 생존률 % = (화합물 단독/세포 단독) x 100; 및 생존한 세포 % = (세포 단독 - 화합물 + 바이러스)/(세포 단독 - 바이러스 단독) x 100.

<148> "화합물 단독"은 소정의 희석도에서 Hela 세포들 및 기질 1만을 함유하는 웰들에 대한 측정 결과들을 나타낸다.

<149> "세포 단독"은 감염되지 않은 Hela 세포들만을 함유하는 웰들에 대한 측정 결과들을 나타낸다.

<150> "화합물 + 바이러스"는 소정의 희석도에서 HRV-16 바이러스들로 감염된 Hela 세포들과 기질 1을 함유하는 웰들에 대한 측정 결과들을 나타낸다.

<151> "바이러스 단독"은 HRV-16 만으로 감염된 Hela 세포들을 함유하는 웰들에 대한 측정 결과들을 나타낸다.

실시예 5 본 발명의 항균성 로젠키제

<153> 항균성 로젠키제는 아래 나타낸 제형에 따라 제조되었다.

<154> 1) 텍스트로스 865.0 mg

<155> 2) 느릅나무 껍질 150.0 mg

<156> 3) 스테아르산 75.0 mg

<157> 4) 생강 뿌리 105.0 mg(어린이) 또는 140.0 mg(성인)

<158> 5) 양고추냉이 뿌리 70.0 mg

<159> 6) 벌꿀 천연향 40.0 mg

<160> 7) 강황 추출물(5% 쿠르쿠민) 15.0 mg

<161> 8) 녹차 잎 추출물(30% C&P) 14.0 mg

<162> 9) 이산화 규소 14.0 mg

<163> 10) 스테아르산 마그네슘 12.0 mg

<164> 11) 자당/스플렌더 4.0 mg

<165> 정제 중량: 1364.0 mg

<166> 주: 본원에 사용된 바의 C&P는 "카테콜류 및 페놀류"를 의미한다.

실시예 6 본 발명의 항균성 분무제

<168> 항균성 분무제는 아래 나타낸 제형에 따라 제조되었다.

<169> (1) 느릅나무 껍질 추출물 18.52 mg

<170> (2) 올레오레진 강황, 가용성(~8.5% 쿠르쿠민) 8.82 mg

<171> (3) Azuaresin® 생강 뿌리 7.0 mg

<172> (4) 양고추냉이 향미제 WONF 0.62 mg

<173> (5) 녹차 잎 PE 50% 색도계 14.0 mg

<174> (6) 벌꿀 천연향 40.0 mg

<175> (7) 에탄올(95%) @ 5% 68.2 mg

<176> (8) 글리세린 603.42 mg

<177> (9) 증류수 603.42 mg

<178> 정제 중량: 1364.0 mg

실시예 7 항균성 로젠키제의 시험관내 시험

<180> 실시예 5의 항균성 로젠지제는 균주 A/뉴칼레도니아/20/99(H1N1), A/파나마/2007/99(H3N2) 및 B/광동/120/00의 인플루엔자 바이러스들에 의한 MDCK 세포들의 감염증에 반한 살바이러스 및 바이러스 억제 활성에 대해 시험되었다.

<181> 살바이러스 활성을 측정하는데 있어서, 로젠지제는 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 및 1/640의 희석도로 시험되었다. 이 로젠지제는 염수 등장성 용액(Normasol)으로 희석되었다. 각각의 희석도는 로젠지제가 각각의 바이러스와 접촉하게 된 후 1, 2 및 5분의 종료 시점에 시험되었다. 반응은 0% FBS 세포 배지 1.8 ml로 종결되었다.

<182> 이 실시예에서 로그 감소는 $-\log_{10}$ TCID₅₀로 보고되었으며, Karber 식을 사용하여 계산되었다.

<183> 표 16 - 상이한 희석도에서 1분의 종료 시점 후 감염성 A/뉴 칼레도니아/20/99(H1N1)의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	A/뉴칼레도니아 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	1분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	2.80	0.00	2.80
1/20	2.80	2.30	0.50
1/40	2.80	1.80	1.00
1/80	2.80	2.30	0.50
1/160	2.80	1.80	1.00
1/320	2.80	1.80	1.00
1/640	2.80	1.80	1.00
시트레이트 완충액	2.80	1.80	1.00

<185> 표 17 - 상이한 희석도에서 2분의 종료 시점 후 감염성 A/뉴 칼레도니아/20/99(H1N1)의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	A/뉴칼레도니아 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	2분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	2.80	0.00	2.80
1/20	2.80	1.80	1.00
1/40	2.80	1.80	1.00
1/80	2.80	1.80	1.00
1/160	2.80	1.80	1.00
1/320	2.80	1.80	1.00
1/640	2.80	1.80	1.00
시트레이트 완충액	2.80	1.80	1.00

<187> 표 18 - 상이한 희석도에서 5분의 종료 시점 후 감염성 A/뉴 칼레도니아/20/99(H1N1)의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	A/뉴칼레도니아 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	5분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	2.80	0.00	2.80
1/20	2.80	1.80	1.00
1/40	2.80	1.80	1.00

1/80	2.80	1.80	1.00
1/160	2.80	1.80	1.00
1/320	2.80	1.80	1.00
1/640	2.80	1.80	1.00
시트레이트 완충액	2.80	1.80	1.00

<189> 표 19 - 상이한 희석도에서 1분의 종료 시점 후 감염성 A/파나마/2007/99(H3N2)의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	A/파나마 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	1분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	4.80	3.80	1.00
1/20	4.80	3.80	1.00
1/40	4.80	4.80	1.00
1/80	4.80	4.30	0.50
1/160	4.80	4.80	0.00
1/320	4.80	4.80	0.00
1/640	4.80	4.80	0.00
시트레이트 완충액	4.80	0.00	4.80

<191> 표 20 - 상이한 희석도에서 2분의 종료 시점 후 감염성 A/파나마/2007/99(H3N2)의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	A/파나마 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	2분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	4.80	3.80	1.00
1/20	4.80	4.30	0.50
1/40	4.80	4.80	0.00
1/80	4.80	4.30	0.50
1/160	4.80	4.80	0.00
1/320	4.80	4.80	0.00
1/640	4.80	4.80	0.00
시트레이트 완충액	4.80	2.30	2.50

<193> 표 21 - 상이한 희석도에서 5분의 종료 시점 후 감염성 A/파나마/2007/99(H3N2)의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	A/파나마 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	5분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	4.80	3.80	1.00
1/20	4.80	4.30	0.50
1/40	4.80	4.80	0.00
1/80	4.80	4.80	0.00
1/160	4.80	4.80	0.00
1/320	4.80	4.80	0.00

1/640	4.80	4.80	0.00
시트레이트 완충액	4.80	2.80	2.00

<195> 표 22 - 상이한 희석도에서 1분의 종료 시점 후 감염성 B/광동/120/00 바이러스의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	B/광동 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	1분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	3.30	1.30	2.00
1/20	3.30	1.80	1.50
1/40	3.30	2.80	0.50
1/80	3.30	2.80	0.50
1/160	3.30	2.80	0.50
1/320	3.30	2.80	0.50
1/640	3.30	2.80	0.50
시트레이트 완충액	3.30	0.00	3.30

<197> 표 23 - 상이한 희석도에서 2분의 종료 시점 후 감염성 B/광동/120/00 바이러스의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	B/광동 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	2분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	3.30	1.80	1.50
1/20	3.30	1.80	1.50
1/40	3.30	2.80	0.50
1/80	3.30	2.80	0.50
1/160	3.30	2.80	0.50
1/320	3.30	2.80	0.50
1/640	3.30	2.80	0.50
시트레이트 완충액	3.30	0.00	3.30

<199> 표 24 - 상이한 희석도에서 5분의 종료 시점 후 감염성 B/광동/120/00 바이러스의 로그 감소 및 잔류 바이러스 역가.

희석도	B/광동 바이러스 역가 (TCID ₅₀)	5분 인큐베이션	
		잔류 인플루엔자 역가 (TCID ₅₀)	바이러스 로그 감소 (TCID ₅₀)
1/10	3.30	1.80	1.50
1/20	3.30	1.80	1.50
1/40	3.30	2.80	0.50
1/80	3.30	2.80	0.50
1/160	3.30	2.80	0.50
1/320	3.30	3.30	0.00
1/640	3.30	1.80	1.50
시트레이트 완충액	3.30	0.00	3.30

- <201> 살바이러스 분석에서, 인플루엔자 바이러스의 공지된 역가는 바이러스 대조군으로서 사용되었고; 이러한 대조군은 시험 화합물 QR-435와 동일한 과정을 수행하였다. 모든 플레이트들에 대한 인플루엔자 역가는 2.5 이상의 바이러스 대조군 역가와 일치하였다(-log₁₀ TCID₅₀).
- <202> 실시예 8 항균성 분무제의 생체내 시험
- <203> 페렛(ferret)이 인플루엔자 감염증의 연구를 위해 정해진 동물 모델이다 (Boyd 및 Beeson, 1975; Chen 등, Induction and Relief of nasal Congestion in Fettets Infected with Influenza, Int. J. Exp. Pathol. 76:55-64, 1995; Scheiblauer 등, Pathogenicity of Influenza A/Seal/Mass/1/80 Virus Mutants for Mammalian Species, Arch. Virol. 140:341-8, 1995; Sweet 및 Smith, Pathogenicity of Influenza Virus, Microbiol. Rev. 44:303-30, 1980; Toms 등, The relation of Pyrexia and Nasal Inflammatory Response to Virus Levels in Nasal Washings of Ferrets Infected with Influenza Viruses of differing Virulence, Br. J. Exp. Pathol. 58:444-58, 1997; Webster 등, Protection of Ferrets Against Influenza Challenge with a DNA Vaccine to Haemagglutinin, Vaccine 12:1495-8, 1994). 페렛 모델은 인플루엔자 백신들의 효능을 결정하기 위해 이미 사용되었다 (Fenton 등, 1981; Webster 등, 1994). 페렛 동물 모델을 이용한 전염률 연구는 인플루엔자 바이러스의 수령 만연에 대한 공여체를 나타낼 뿐만 아니라, 바이러스의 균력에 대한 돌연변이들 효과들을 보여준다 (Herlocher 등, Ferrets as a Transmission Model for Influenza: Sequence changes on the HA1 of type A(H3NS) Virus, J. of Infect. Diseases 184:542-46, 2001; Herlocher 등, Influenza virus carrying an R292K Mutation in the Neuraminidase Gene is not Transmitted in Ferrets, Antimicrobial Res. 54:99-111, 2002).
- <204> 균주 A/시드니/5/97(H3N2)의 인플루엔자 바이러스에 의해 감염되기 5분 전, 6마리의 투약하지 않은 페렛들로 된 4개의 군들은 실험 조성물 또는 대조용 조성물들을 비내 용량으로 섭취하였다. 네거티브 대조군은 포스페이트 완충액(PBS) 위약을 섭취하였다. 포지티브 대조군은 Tamiflu™ (오셀타미비르 포스페이트, 뉴저지주 Roche Laboratories of Nutley사로부터 입수할 수 있음)로 처리하였다. 하나의 실험군은 실시예 6의 비강 분무제로 처리되고, 다른 군은 녹차 추출물을 포함하지 않는 유사한 비강 분무제로 처리되었다. 초기 접종 투여 후, 페렛들은 1일 2회로 할당된 조성물을 투약받았다.
- <205> PBS 처리된 대조군의 페렛들은 체중 손실, 열, 증가된 염증 세포수 및 감염 후 1일째에 바이러스 발산을 포함하여, 인플루엔자 A로 감염된 페렛들의 전형적인 모든 증상들을 나타냈다. Tamiflu™ 처리된 대조군에서 페렛들은 어떠한 체중 손실이나 바이러스 발산도 없고, 염증 세포수의 감소를 겪고, 어떠한 열병성 질병도 겪지 않았다.
- <206> 실시예 6의 시험 제형 및 녹차 추출물을 포함하지 않는 유사한 비강 분무제 모두는 염증 세포수의 저-레벨 중간 감소를 제공하고, 열성 질병의 진전을 방지하고, 바이러스 억제를 지시할 수 있는 방식으로 바이러스 발산을 저연시켰다. 그런, 실시예 6에 따라 비강 분무제로 처리된 페럿들은 또한 체중 손실의 약간의 약화를 보였다. 실시예 6에 따른 비강 분무제로 처리된 페렛들은 Tamiflu™로 처리된 페렛들보다 더 활성이다.
- <207> 실시예 9 생체내 전염률 및 예방 의학 시험
- <208> 비강 분무제 QR-435의 특성들이 시험되었다. QR-435에 대한 제형은 다음과 같다:
- <209> QR-435 제형
- <210> 올레오레진 강황 0.0308 중량%
- <211> Aquaresin® 생강 0.0326 중량%
- <212> 양고추냉이 오일 #58 0.00300 중량%
- <213> 녹차 PE 030725 0.0220 중량%
- <214> 글리세린 2.3368 중량%
- <215> 탈이온수 97.5749 중량%
- <216> 이 연구는 감염된 동물이 치료될 때 감염된 동물과 가깝게 살고 있는 동물들로의 바이러스 전염을 방지하고, 감염되지 않은 동물들로의 예방법을 제공하기 위해 분무제에 의한 비강내 도포 효과를 탐구한다.
- <217> 대략 6-8개월령이고, 체중이 700-1200g인 50마리의 페렛들(알비노 도는 퍼치, 영국 링컨샤이어, Highgate Farms

로부터)은 표 25에 나타낸 바와 같이 전자 태깅 후 6개의 그룹들로 분할되었다. 건강 점수는 0일 내지 6일에 측정되었고, 적절한 동물이 인플루엔자 A/시드니/5/97[H3N2] 요낭 원료로 콧구멍당 0.25 ml로 비강내 감염을 위해 마취하에 배치되었다.

<218> 표 25 치료군 분배 할당

그룹	페렛들의 수	치료
1	5	위약-전염
2	5	위약-예방
3	10	QR 435-예방
4	10	QR 435-전염
5	10	Tamiflu TM -예방
6	10	Tamiflu TM -전염

<220> 프로토콜 중의 그룹 3 및 4는 상기 그룹 3으로 나타내고, 그룹 4 및 5는 상기 그룹 4로 나타내고, 그룹 7 및 8은 상기 그룹 5로 나타내고, 그룹 9 및 10은 상기 그룹 6으로 나타낸다. 그룹들은 짹을 이루고 동물 복지 이유만으로 5마리의 그룹들로 부분 분할된다.

<221> 표 26 - 공여체 동물들의 감염 상태

<223> 페렛 ID # 그룹 비강 증상 전신 증상 혈청 변환 바이러스 발산

<225> 037284841 위약-전염 Y Y Y N

<226> 034537339 위약-예방 Y Y Y N

<227> 034543003 QR435 예방 Y N Y N

<228> 036534054 QR435 예방 Y Y Y N

<229> 034540555 QR435 전염 Y Y 시료 없음 저

<230> 036788799 QR435 전염 Y N 시료 없음 저

<231> 036803821 TamifluTM 예방 N Y Y 저

<232> XXXCTamifluTM 예방 Y Y Y N

<233> XXXDTamifluTM 전염 Y Y Y N

<234> 036800314 TamifluTM 전염 Y Y Y 저

전염률 연구

<237> 전염률 연구의 목적은 시험 화합물이 공여체 페럿에서 동일한 펜으로 감염되지 않은 수용체 페럿들로 인플루엔자 바이러스를 전염되는 것을 방지할 수 있는지 여부를 결정하는 것이다. 그룹당 하나의 페럿은 바이러스로 접종되었고, 접종된지 대략 5분 후, 나머지 접종되지 않은 동물들은 시험 화합물이나 대조 화합물을 투여받았다. 시험 화합물이나 대조 화합물의 부피는 복용 시간당 전체 0.28ml로 콧구멍당 0.14 ml였다. 접종된 동물은 24시간 동안 격리되고, 이후 1일째에 적절한 그룹으로 재도입되었다. 접종된 동물은 시험 화합물 또는 적절한 대조물로 매일 2번 치료받았다. 나머지 페럿들은 실험 기간 전반에 걸쳐 치료받지 않았다. 0 내지 6일째에, 페럿들은 임상적 징후들, 체중 손실 및 열병에 대해 관찰되었다. 비강내 세척 수집은 6일째에 수행되었고, 회수된 세척물의 부피가 측정되었고, 비강 세척물의 중량이 실험 노트에 기록되었다. 회수된 비강 세척물의 바이러스 역가는 MDCK 세포들을 사용하여 측정되었다.

- <238> 표 27-31은 전염률 실험 결과들을 보여준다. 표 27은 인플루엔자의 비강 증상들을 갖는 동물들의 백분율을 보여준다.
- <239> 표 27 - 인플루엔자의 비강 증상들을 갖는 동물들의 백분율
- <240> (공여체 동물들은 배제됨)
- <241> -----
- <242> 일
- <243> 그룹 -----
- <244> 1 2 3 4 5 6
- <245> -----
- <246> 위약 0% 0% 0% 100% 75% 50%
- <247> TamifluTM 0% 12.5% 37.5% 50% 0% 12.5%
- <248> QR435 0% 0% 0% 0% 25% 37.5%
- <249> -----
- <250> 표 28은 감소된 신체 활동성을 갖는 동물들의 백분율을 보여준다.
- <251> 표 28 - 감소된 신체 활동성을 갖는 동물들의 백분율
- <252> (공여체 동물들은 배제됨)
- <253> -----
- <254> 일
- <255> 그룹 -----
- <256> 1 2 3 4 5 6
- <257> -----
- <258> 위약 0% 0% 0% 100% 0% 0%
- <259> TamifluTM 0% 0% 0% 0% 0% 12.5%
- <260> QR435 0% 12.5% 0% 0% 12.5% 0%
- <261> -----
- <262> 인플루엔자 질병에 대한 여러 가지 기준이 고려되었고, 증상들을 보이는 동물들의 백분율을 측정하기 위해 사용되었다. 비강 증상들이 고려될 때(표 27), 4일까지, 위약 군의 동물들 100%(4/4)가 인플루엔자 증상을 가진 반면, 대조적으로 4일째에 50%(4/8)의 동물들만이 TamifluTM 처리된 군에서 증상을 가졌다. QR435 치료군의 동물들중 어느 것도 증상을 보이지 않았다. 그러나, 6일까지 QR435 치료군 동물의 37.5%가 비강 증상들을 가졌다. 이들이 인플루엔자 감염 또는 비강 분무제의 자극에 의해 유발되는지 여부에 관한 것은 분명치 않다.
- <263> 감소된 활성과 같은 인플루엔자의 전신 증상들이 고려될 때 4일까지 위약군의 모든 동물들(4/4)은 증상들이 있었지만, 성글 동물(12.5%)만이 능동 치료 그룹들에서 감염 후 어느 날에 질병의 징후를 보였다.
- <264> 표 29는 치료 군에 의한 실험실 확인된 인플루엔자 및 혈청 전환을 보인다. 각각의 동물은 접종 투여 전 및 감염 후 24일 째에 출혈함으로써 인플루엔자 감염은 혈청학으로 확인될 수 있다. 혈청 전환은 A/시드니/5/97(H3N2)에 대한 항 HAI 항체들에서 4배 증가로 한정되었다. 표 29에서, 위약 치료군 및 TamifluTM 처리된 군 모두에서 동물들 10%가 혈청 전환된 것으로 보인다. 그러나, 시험된 동물들의 57%(4/7)만이 QR435 치료군에서 혈청 전환되었다. 실험 실패로 인해, 하나의 혈청 시료가 시험될 수 없었다.
- <265> 표 29 - 실험실 확인된 인플루엔자 : 치료군에 의한 혈청 전환

<266>

 <267> 혈청 전환된 혈청 전환된

<268> 동물들의 수# 동물들의 백분율

<269>

<270> 위약 4/4 100

<271> QR435 4/7* 57

<272> TamifluTM 8/8 100

<273>

* 동물 1마리는 추기에 도태되어 시료로 취하지 않았다.

<275>

표 30은 감염 후 6일째에 비강 점막으로부터 평균 바이러스 발산을 보여준다. 비강 세척은 감염 후 6일째에 수행되었고, 시료들은 인플루엔자 바이러스에 대해 MDCK 세포들 상에서 적정되었다. 표 30은 2개의 능동 치료 군 사이의 바이러스를 발산하는 동물들의 수의 실질적인 차이를 보여준다. QR435 치료군에서 단일 동물만이 TamifluTM 처리된 군의 모든 동물들에 비교하여 바이러스를 발산하였다. 예상 외로, 위약 그룹의 단일 동물(25%)만이 바이러스를 발산하였다.

<276> 표 30 - 실험실 확인된 인플루엔자 : 감염 후 6일째에 비강 점막으로부터 바이러스 발산

<277>

 <278> 6일째 바이러스를 6일째 바이러스를 발산한

<279> 발산한 동물들의 수# 동물들의 백분율

<280>

<281> 위약 $\frac{1}{4}$ 25%

<282> QR435 1/7* 14

<283> TamifluTM 8/8 100

<284>

* 동물 1마리는 추기에 도태되어 시료로 취하지 않았다.

<286>

치료군에 의한 평균 바이러스 발산이 계산되었으며, 그 차이들은 ANOVA에 의해 비교되었다. 그 결과는 통계학적으로 유효한 것으로 밝혀졌다($p=0.02$). T-시험들은 다수의 시험에 대해 Bonferroni 교정을 사용하여 수행되었고, TamifluTM 처리된 군은 위약 치료군($p=0.021$) 및 QR435 치료군($p=0.04$) 모두에서 보다 현저히 많은 바이러스를 발산하는 것으로 밝혀졌다.

<287>

표 31은 치료군에 의한 평균적인 최고 건강 득점을 보여준다. 최고 건강 득점의 평균 및 표준 편차는 예방의 학적 연구 결과들에서 상기한 바와 같이 산출되었다. 그 결과는 유효하였다($p=0.02$). 개개의 그룹들은 상기한 바와 같이 비교되었고, 두 치료군은 위약군에서보다 현저히 낮은 최대 건강 점수를 갖는다 (QR435 $p=0.006$ 및 TamifluTM $p=0.003$)

<288>

표 31 치료군에 의한 평균 최대 건강 점수

<289>

그룹	평균	N	표준 편차
위약	1.0000	4	.0000
QR435 치료군	.8750	8	.35355
Tamiflu TM	.7500	8	.70711
전체	1.0500	20	.68633

<290> 감염 후 건강 점수들의 합을 포함하는 AUC형 척도는 각각의 동물에 대해 계산되었고: 치료군의 평균 및 표준 편차가 계산되고 ANVOA에 의해 비교되었다.

<291> 표 32는 그 결과를 보여주며, 치료 군간의 차이는 크게 유효하였다($p = 0.002$). 개별 그룹들은 다수의 시험에 대해 t-시험 및 Bonferroni 교정을 사용하여 비교하였고, 두 치료군은 위약군에서보다 현저히 낮은 최대 건강 점수를 가졌다 (QR435 $p=0.06$ 및 TamifluTM $p=0.03$)

<292> 표 32 치료군에 의한 평균 전체 건강 점수

그룹	평균	N	표준 편차
위약	4.2000	4	.95743
QR435 치료군	.3750	8	.64087
Tamiflu TM	.5000	8	.83452
전체	1.5000	20	1.53125

<294> 감염 후 평균 최대 중량 변화는 유사하게 계산되었고, ANVOA에 의해 비교되었다. 그 결과들은 유효하지 않았다 ($p=0.90$). 두 치료군은 위약군에서보다 현저히 적은 중량 손실을 가졌다 (QR435 $p=0.055$ 및 TamifluTM $p=0.019$). 감염 후 중량 변화들의 합을 비교하는 AUC형 척도는 각각의 동물에 대해 계산되었고 ANVOA에 의해 비교되었다. 치료 군간의 차이는 유효하지 않았다($p = 0.64$).

예방 의학 연구

<295> 예방 의학 연구의 목적은 감염되지 않은 수용체 폐럿들을 시험 화합물로 처리하는 것이 감염된 공여체로부터 바이러스 감염을 방지할 수 있는지 여부를 결정하기 위한 것이다. 그룹당 한마리의 폐럿이 바이러스로 접종되었고, 접종한지 약 5분 후, 나머지 접종되지 않은 동물들은 시험 화합물이나 대조 화합물을 투약받았다. 접종되지 않은 동물은 24시간 이상 격리된 후, 1일째에 적절한 그룹으로 재도입되었다. 접종된 동물은 시험 화합물 또는 적절한 대조물로 치료받지 않았다. 나머지 폐럿들은 시험 화합물 또는 적절한 대조물로 매일 2번 치료받았다. 시험 화합물이나 대조 화합물의 부피는 복용 시간당 전체 0.28ml로 콧구멍당 0.14 ml였다. 0 내지 6일 째에, 모든 폐럿들은 임상적 징후들, 체중 손실 및 열에 대해 관찰되었다. 비강내 세척 수집은 6일째에 수행되었고, 회수된 세척물의 부피가 측정되었고, 비강 세척물의 중량이 실험 노트에 기록되었다. 회수된 비강 세척 물의 바이러스 역가는 MDCK 세포들을 사용하여 측정되었다. 24일째에 대조군 분석을 위해 혈액이 취해졌다.

<296> 각각의 공여체 동물은 성공적으로 감염되었다. 연구 파라메터들로 인해, 각각의 공여체 동물이 성공적으로 감염되었고, 각각의 공여체 동물이 감염 및 혈청 전환의 임상적 징후들을 나타내는 것은 중요하다. 그러나, 바이러스 발산은 비강 세척에서 검출되지 않았다. 세척이 이루어지는 날인 6일 전에 바이러스 발산이 종종 중단됨으로써 공여체 동물들에서 바이러스 발산이 거의 없거나 또는 전혀 없음이 놀랍지 않다.

<297> 표 33-38은 예방 의학 실험의 결과들을 보여준다. 표 33은 인플루엔자의 비강 증상을 갖는 동물들의 백분율을 보여준다. 표 34는 시험 가진 동안 감소된 신체 활동성을 갖는 동물들의 백분율을 보여준다.

<298> 표 33 - 치료군에 의해 인플루엔자의 비강 증상을 갖는 동물들의 백분율

<299> (공여체 동물들은 배제됨)

<300> -----

<301> 일

<302> 그룹 -----

<303> 1 2 3 4 5 6

<304> -----

<305> 위약 0 0 0 0 75% 75%

<307> TamifluTM 0 0 25% 0 0% 12.5

<308> QR435 0 0 0 0 25% 25%

<309>

<310> 표 34 - 감소된 신체 활동성을 갖는 동물들의 백분율

<311> (공여체 동물들은 배제됨)

<312>

<313> 일

<314> 그룹 -----

<315> 1 2 3 4 5 6

<316>

<317> 위약 0 0 100% 100% 0 0

<318> TamifluTM 0 0 0 0 0 0

<319> QR435 0 0 0 0 0 0

<320>

예방 의학 연구 결과

<322> 예방 의학 연구에서, 위약군의 75%(3/4)가 5일째에 인플루엔자 감염증의 비강 증상을 가진 한편, TamifluTM군의 25%는 3일째에 비강 증상들을 보였고, QR435 군의 25%는 5일째에 비강 증상들을 보였다. 감소된 신체 활동성을 보이는 동물들의 백분율이 고려될 때, 그 결과들은 더욱 극적이었고, 위약군의 100%는 감소된 신체 활동성을 보였고, TamifluTM 또는 QR435 군중 어느 것의 동물들도 감소된 활동성의 어떠한 징후도 보이지 않았다. 표 35는 치료군에 의한 평균 최대 건강 점수를 보여준다. 각각의 동물에 대한 최대 건강 점수의 평균 및 표준 편차는 치료 군에 의해 계산되고, 다음으로 ANOVA에 의해 비교되었다. 그 결과는 유의 수준에 도달하였다($p=0.087$).

<323> 표 35 치료군에 의한 평균 전체 건강 점수

그룹	평균	N	표준 편차
위약	1.0000	4	.00000
QR435 치료군	.3750	8	.51755
Tamiflu TM	.3750	8	.51755
전체	.5000	20	.51299

<325> 감염 후 건강 점수들의 합을 포함하는 AUC형 척도가 각각의 동물에 대해 계산되었고; 치료군의 평균 및 표준 편차가 계산되고 ANOVA에 의해 비교되었다. 표 35는 그 결과를 보여주고, 치료군들 간의 차이는 크게 현저하였다 ($P<0.0005$). 개별 군들은 다수의 시험에 대해 t-시험 및 Bonferroni 정정을 사용하여 비교하였고, 두 치료군은 위약군에서보다 현저히 낮은 전체 건강 점수를 가졌다

<326> 표 36 치료군에 의한 평균 전체 건강 점수

그룹	평균	N	표준 편차
위약	3.5000	4	1.00000
QR435 치료군	.3750	8	.51755
Tamiflu TM	.5000	8	.75593
전체	1.5000	20	1.43178

- <328> 각각의 동물은 접종 투여 전 및 감염 후 24일 째에 출혈함으로써 인플루엔자 감염은 혈청학으로 확인될 수 있다. 혈청 전환은 접종 군주에 대해 HA1 항체들에서 4배 증가되었다.
- <329> 표 37. 실험실 확인된 인플루엔자 : 치료군에 의한 혈청 전환
-
- <330>
- <331> 혈청 전환된 혈청 전환된
- <332> 동물들의 수# 동물들의 백분율
-
- <333>
- <334> 위약 2/2* 100%
- <335> QR435 0/8 0%
- <336> TamifluTM 8/8 100%
-
- <337>
- <338> 표 38은 실험실 확인된 인플루엔자 및 치료군에서 감염 후 6일째에 동물들의 바이러스 발산 백분율을 보여준다. 비강 세척은 감염 후 6일째에 수행되었고, 시료들은 인플루엔자 바이러스에 대해 MDCK 세포들 상에서 적정되었다. 표 38은 2개의 능동 치료 군 사이의 바이러스를 발산하는 동물들의 수의 실질적인 차이를 보여주고, 즉, 위약 치료군에서 75% 및 TamifluTM 치료군에서 87.5%에 비해 QR435 치료군에 대해 동물들중 어느 것도 바이러스를 발산하지 않았다.
- <339> 표 38 - 실험실 확인된 인플루엔자 : 치료군에 의해 감염 후 6일째에 바이러스 발산
-
- <340>
- <341> 6일째 바이러스를 6일째 바이러스를 발산한
- <342> 발산한 동물들의 수# 동물들의 백분율
-
- <343>
- <344> 위약 $\frac{3}{4}$ 75%
- <345> QR435 0/8 0%
- <346> TamifluTM 7/8 87.5%
-
- <347>
- <348> 치료군에 의한 평균 바이러스 발산이 계산되었으며, 그 차이들은 ANOVA에 의해 비교되었다. 그 결과는 통계학적으로 유효한 것으로 밝혀졌다($p=0.001$). T-시험들은 다수의 시험에 대해 Bonferroni 교정을 사용하여 수행되었고, QR435 치료군은 위약 치료군($p=0.004$) 및 TamifluTM 치료군 ($p=0.002$) 모두에서 보다 현저히 적은 바이러스를 발산하는 것으로 밝혀졌다.
- <349> 각각의 동물에 대한 최대 중량 변화의 평균 및 표준 편차는 치료군에 의해 계산되었고, 이어서 ANOVA에 의해 비교되었다. 그 결과는 유효하였다($p=0.0018$). 개개의 그룹들은 다수의 비교를 위해 t-시험 및 Bonferroni 교정을 사용하여 비교하였다. 두 치료군은 위약 치료군에서보다 현저히 적은(또는 매우 근접한) 중량 손실을 가졌다 (QR435 $p=0.055$ 및 TamifluTM $p=0.019$).
- <350> 감염 후 중량 변화의 합을 포함하는 AUC형 척도는 각각의 동물에 대해 계산되었고: 치료군의 평균 및 표준 편차가 계산되고 ANVOA에 의해 비교되었다. 치료군 간의 차이는 유효하지 않았다($p=0.461$).
- <351> 감염 후 평균 최대 중량 변화는 유사하게 계산되었고, ANVOA에 의해 비교되었다. 그 결과들은 유효하지 않았다 ($p=0.018$). 두 치료군은 위약군에서보다 현저히 적은 중량 손실을 가졌다 (QR435 $p=0.055$ 및 TamifluTM $p=0.019$). 감염 후 중량 변화들의 합을 비교하는 AUC형 척도는 각각의 동물에 대해 계산되었고 ANVOA에 의해

비교되었다. 치료군 간의 차이는 유효하지 않았다($p = 0.461$).

<352> 결론

<353> Tamiflu™ 처리된 포지티브 치료군(오셀타미비르 포스페이트, 매일 2회 5 mg/kg으로 투여됨)은 일반적으로 전염률 및 예방 의학 시험 모두에서 인플루엔자 증상들로부터 보호되었다. 다른 한편, 이들 동물들은 수용체 동물들의 바이러스 발산 및 혈청 전환 모두에 의해 나타낸 바와 같이 감염되었다. 이와 대조적으로, 시험 화합물 QR-435는 감염을 방지하는데 100% 효과적이었고, 전염을 방지하는데 부분적으로 효과적이었다. 따라서, 이 화합물의 중요한 잇점은 감염을 방지하는 그의 능력, 특히 질병의 만연을 감소시킬 수 있는 바이러스 입자들의 발산의 억제이다.

<354> 실시예 10 - SARS 바이러스에 대한 살바이러스 및 바이러스 억제 활성의 시험관내 비교

<355> 2개의 조성물들 QR439 및 QR439(a)은 SARS 바이러스에 대한 살바이러스 및 바이러스 억제 활성에 대해 시험관내에서 시험되었다. QR439는 다음과 같이 제형되었다:

<356> (1) 아쿠아레진® 생강 0.6849 중량%

<357> (2) 올레오레진 강황 0.6466 중량%

<358> (3) 녹차 PE 0.4619 중량%

<359> (4) 글리신 49.1039 중량%

<360> (5) 탈이온수 49.1039 중량%

<361> QR439(a)는 다음과 같이 제형되었다:

<362> (1) 아쿠아레진® 생강 0.6840 중량%

<363> (2) 올레오레진 강황 0.6466 중량%

<364> (3) 녹차 PE 0.4619 중량%

<365> (4) 양고추냉이 0.063192 중량%

<366> (5) 글리신 49.0723 중량%

<367> (6) 탈이온수 49.0723 중량%

<368> 시험에서, 포지티브 대조군 화합물들은 살바이러스 분석을 위해 1% 트리톤-X 100 (인공 침에서 [0.1% NaHCO₃, 18% KH₂PO₄, 0.1% 위의 뮤신, 6.0-6.5로 조절된 pH]) 및 바이러스 억제 분석을 위해 1% DMSO(PBS 중) 중의 리바비린(200 μ/ml)이었다.

<369> 네거티브 대조군 화합물은 살바이러스 분석만을 위해 인공 타액(0.1% NaHCO₃, 18% KH₂PO₄, 0.1% 위의 뮤신, 6.0-6.5로 조절된 pH)이었다. Urbani SARS 바이러스는 10⁵ TCID₅₀/ml의 원료 역가에서 사용되었다. 시험 화합물들, QR439 및 QR439(a)은 Sterets Normasol (Seton Prebbles Ltd) 중에서 회색되어 살바이러스 분석을 위해 다음 회색도를 생성한다: 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 및 1/640.

<370> 살바이러스 분석 방법

<371> 잔류 바이러스 역가는 96-웰 플레이트를 내에서 바이러스 성장에 대해 c1008 (Vero 76의 클론) 세포들에 대해 적정되었다. 그 결과는 CPE(사이토파티 효과)에 대해 분석되었고, 바이러스 역가는 Karber 방법을 사용하여 측정되었다.

<372> 다음 단계들이 살바이러스 분석을 수행하는데 사용되었다. 시험 화합물 360 μl가 40 μl의 바이러스와 혼합되었다. 혼합물이 진탕되고, 이어서 30초, 1, 2, 4 또는 8분 동안 인큐베이션되었다. 반응은 감염 배지 (DMEM, 2mM L-글루타민, HEPES, 페니실린-스트렙토마이신)를 부가함으로써 특정 시간에 종료되었다. 바이러스 및 시험 화합물들 모두가 이 단계에서 10배 회색되기 때문에 감염 배지를 부가하는 회색 효과에 의해 반응 종료가 유발된다. 잔류 바이러스 감염도는 96-웰 플레이트를 가로질러 10배 회색도에서 C1008 세포들 상에서 적정되었다. C1008 세포들은 37°C에서 인큐베이션되었다. 그 결과들은 CPE에 대해 득점되고, 바이러스 역가가 계

산되었다. 세포들은 감염후 3, 4 및 5일째에 CPE에 대해 조사되었다.

<373> 세포 독성 분석법

C1008 세포들에 대한 세포 독성 분석은 바이러스 억제 분석을 위해 사용할 희석도들을 결정하기 위해 전체 3개의 화합물들 상에서 수행되었다. 각각의 시험 화합물 및 대조 화합물 $200\mu\text{l}$ 가 96-웰 플레이트의 제1 웰들(이중으로)에 부가되고, 이어서 2배 희석 시리즈 후에 플레이트를 가로질러 적정되었다. 플레이트는 35°C , 5% CO_2 에서 인큐베이션되었다. 세포들은 3일간 인큐베이션된 후 CPE에 대해 관찰되었다.

<375> 바이러스 억제 분석법

바이러스 억제 분석을 위해 사용된 희석도는 다음과 같다: 다음 희석도에서 QR439 및 QR439(a): 1/200, 1/300, 1/400, 1/500, 1/600. 감염 배지(DMEM, 2mM L-글루타민, HEPES, 폐니실린-스트렙토마이신)이 적절한 것으로 각각의 시험 화합물을 희석하기 위해 사용되었다. 각각의 희석된 시험 화합물 및 포지티브 대조군 $100\mu\text{l}$ 가 C1008 세포들(이중으로)의 웰들에 부가된 후, 35°C , 5% CO_2 에 대해 인큐ベ이션되었다. 인큐ベ이션 기간 후, Urbani SARS 바이러스 $10\mu\text{l}$ ($10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$)가 시험 화합물 및 포지티브 대조군의 각각의 웰에 부가되었다. 플레이트는 CPE에 대해 세포들을 관찰하기 전에 3-5일 동안 35°C , 5% CO_2 에서 인큐ベ이션되었다. 세포들의 OD(광학 밀도)를 측정한 크리스탈 바이올렛 분석은 CPE가 기록된 후 플레이트 상에서 수행되었다. OD 값들은 시험 화합물들에 대해 TCG_{50} 및 EC_{50} 를 결정하기 위해 사용되었다.

<377> 결과

시험 화합물에 대해 수행된 세포 독성 분석의 결과들은 아래 표 39에 나타낸다. 각각의 희석되지 않은 화합물은 플레이트의 제1 컬럼의 웰들에 이중으로 부가되고, 2배 희석 시리즈로 플레이트를 가로질러 희석된다. 1/8 내지 1/16 희석도 범위의 농도는 살바이러스 분석에서 플레이트들에 부가된 시험 화합물들의 농도와 등가이다. 이는 종료 매질이 부가되었을 때 시험 화합물들이 1/10으로 희석되기 때문이다.

표 39. 세포 독성 분석

시험 화합물	2-배 희석도 시리즈									
	UD	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
QR439	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
QR439(a)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
세포 단독	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<381> + 모든 웰들이 독성을 나타냄

<382> - 모든 웰들이 독성을 나타내지 않음

<383> +/- 하나의 웰이 독성을 나타내고, 다른 웰은 독성을 나타내지 않음

<384> 표 39는 모든 시험 화합물들이 1/8 희석도에서 세포들에 대해 독성임을 나타낸다(이는 희석되지 않은 화합물들에 대한 바이러스 억제 분석에 사용된 희석도와 동등하다). 살바이러스 및 바이러스 억제 분석에서, 1/128 이상의 희석도는 독성을 제거하는데 사용되었다.

<385> CPE 관찰들(표 40)은 임의의 시험된 3개의 화합물들에 대한 어떠한 바이러스 억제 활성도 없었음을 보여준다.

표 40. CPE 관찰

	QR439	QR439(a)	리보비린	세포 단독	바이러스 대조군

시험 화합물들의 희석도*	A	+	+	T	-	+
	B	+	+	T	-	+
	C	+	+	T	-	+
	D	+	+	T	-	+
	E	+	+	T	-	+
	F	ND	ND	T	-	+
	10배 희석	희석되지 않음	10	10^3	10^4	10^5
희석되지 않은 바이러스		+	+	+/-	-	-

<388> + 모든 웰들에서 바이러스 감염

<389> - 모든 웰들에서 어떠한 바이러스 감염도 없음

<390> +/- 하나의 웰에서 바이러스 감염이고, 다른 웰에서 감염을 나타내지 않음

<391> T 모든 웰들에서 독성

<392> ND 바이러스 억제 분석이 제6 시리얼 희석에서 행해지지 않음

<393> * QR439 및 QR439(a)에 대해 사용된 희석도는 A=1/200, B=1/300, C=1/400, D=1/500, E=1/600

<394> 시험 화합물들 QR439 및 QR439(a)에 대해 수행된 살바이러스 분석 결과들은 표 41 및 표 42에 각각 나타낸다. 이 표들은 시험 화합물들의 1/10 희석 후 바이러스 역가의 감소를 지시하고, 이는 희석되지 않은 바이러스의 1/10 희석과 동가이다.

<395> 표 41. 시험 화합물 QR439와 접촉 후 바이러스 역가의 로그 감소

바이러스 역가에서 로그 감소 ($-\log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$)						
초기 희석도	시험 화합물 접촉 시간(분)					바이러스 대조군 역가 ^a
	0.5	1	2	4	8	
미희석	T	T	T	T	T	2.5
1/10	≥ 1.0	2.5				
1/20	≥ 1.0	2.5				
1/40	2.5 [*]	3.0				
1/80	2.0 [*]	2.5				
1/160	2.5 [*]	2.5 [*]	2.0	2.5 [*]	2.5 [*]	3.0
1/320	0.0	1.5	1.0	1.5	2.5 [*]	3.0
1/1/640	0.0	0.5	1.5	0.5	1.0	3.0

<397> a $-\log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$

<398> * 어떠한 바이러스 희수도 없음. 그러나, Karber 계산 방법(초기 1/10 희석도를 고려함)을 사용하여 0.5 $\text{TCID}_{50}/\text{mL}$ 의 역자가 얻어진다.

<399> 표 42. 시험 화합물 QR439(a)과 접촉 후 바이러스 역가의 로그 감소

바이러스 역가에서 로그 감소 ($-\log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{mL}$)						
초기 희석도	시험 화합물 접촉 시간(분)					바이러스 대조군 역가 ^a
	0.5	1	2	4	8	

미희석	T	T	T	T	T	2.5
1/10	≥ 1.0	2.5				
1/20	2.0*	2.0*	2.0*	≥ 1.0	≥ 1.0	2.5
1/40	2.0*	2.0*	2.0*	2.0*	2.0*	3.0
1/80	2.0*	2.0*	2.5*	2.5*	2.5*	2.5
1/160	2.5	3.0*	3.0*	3.0*	3.0*	3.0
1/320	0.0	0.5	0.0	0.5	1.0*	1.5
1/1/640	0.5	0.5	1.5	0.5	0.0	2.5

<401> a $-\log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$

<402> * 어떠한 바이러스 회수도 없음. 그러나, Karber 계산 방법(초기 1/10 회석도를 고려함)을 사용하여 0.5 $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 의 역가가 얻어진다.

<403> 그 결과들은 QR439에 대해, 1/320(30초) 및 1/640(30초, 1분, 및 4분)을 제외하고, 모든 접촉 시점들에서 1/40 내지 1/640 회석도로 살바이러스 활성의 현저한 감소가 있었음을 보여준다. 그 결과들은 QR439(a)에 대해 1/20(4 및 8분)을 제외하고 모든 접촉 시점들에서 1/20 내지 1/60 회석도로 살바이러스 활성의 현저한 감소가 있었음을 보여준다.

실시예 11 - H3N2 인플루엔자 감염에 대한 항균성 비강 분무제의 효능

<405> 40마리의 페럿들은 인플루엔자 A/시드니/5/97[H3N2]로 감염되고, 상기 실시예 9에 사용된 바의 QR435 또는 대조화합물들로 4일 동안 매일 처리되었다. 임상 징후들은 체중, 직장 온도, 세포 카운트 및 바이러스 발산에 따라 측정되었다. 바이러스 접종 A/시드니/5/97은 전염성이 강하고, 질병 징후들이 관찰되었고, 단 위약 치료된 (PBS) 페럿들은 인플루엔자 A 감염증의 독특한 증상들을 나타낸다. 포지티브 대조군(Tamiflu™)은 체중 손실, 열 및 임상 증상들을 감소시키는데 효과적이다. QR435 투여 군들에서 어떠한 질병의 감소도 주의되지 않았다.

<406> 시험 기질은 상기 실시예 9에서 주지된 바의 식을 갖는 1.8% 활성 화합물을 함유하는 비강 분무제였다. 포지티브 대조 기질은 매일 2회 5 mg/kg으로 투여되는 Tamiflu™(오슬레타미비르 인산염)이었다. 인산염 완충 염수(비강 분무제로서)는 대조군으로서 사용되었고, 1일 4회 비강내로 투여되었다.

<407> 접종 개시 바이러스는 A/시드니/5/97[H3N2]이고, 레트로스크린 바이러스 호흡으로 얻어진다. 페럿들은 인플루엔자로 성공적으로 감염되었고, PBS 치료군(네거티브 대조군)에서 연관된 질병의 고전적인 징후들을 나타냈다. Tamiflu™ 치료군(포지티브 대조군)은 바이러스 발산, 체중 손실 및 질병 득점들에서 통계학적으로 현저한 (또는 거의 현저한) 감소를 갖는 질병의 심각도의 감소를 보였다.

<408> 두 시험 화합물 치료군들(매일 QR435 2회 및 매일 QR435 4회) 중 어느 것도 치료 목적으로 감소된 질병을 나타내지 않았다. 그러나, 상기 실시예 9에서 주지된 바와 같이, QR435는 항-전염 및 예방 의학적 용도로 효과적인 것으로 입증되었다.

실시예 12

<410> 이미 나타낸 항-전염 특성들을 보유하지만, 자극적인 비강 분무 특성들을 감소시킬 노력으로, 양고추냉이 농도들을 변화시키는 효능은 페렛 모델에서 시험되었다. QR-435 완전 양고추냉이 ALS 타액 과다 분무제 제형은 다음과 같다:

QR-435 제형

<412> 올레오레진 강황 0.0308 중량%

<413> 아쿠아레진® 생강 0.0326 중량%

<414> 양고추냉이#58 0.00300 중량%

<415> 녹차 PE 030725 0.0220 중량%

<416> 글리신 2.3368 중량%

<417> 탈이온수 97.5749 중량%

<418> 50% 양고추냉이 시험 제형에서, 양고추냉이 오일은 0.0015중량%로 감소되었고, 글리세린 및 탈이온수는 0.00075 중량% 만큼 증가되었다. 유사하게, 25% 양고추냉이 연구에서, 양고추냉이 오일은 0.000075로 감소되었고, 글리세린 및 탈이온수는 0.001125중량% 만큼 증가되었다.

<419> 표 43은 여러 페럿 그룹들 및 펜 치료 프로토콜의 분배를 보여준다. 각각의 그룹은 세부적인 이유로 2개의 펜들로 엄격히 부분 분할되었다. 각각의 그룹은 4개의 수용체 동물들 및 하나의 공여체 동물들로 구성되었다.

<420> 표 43. 그룹 분배

그룹	페럿들의 수	치료
1a	5	위약(PBS) QDS
1b	5	위약(PBS) QDS
2a	5	QR435 100% 양고추냉이 QDS
2b	5	QR435 100% 양고추냉이 QDS
3a	5	QR435 50% 양고추냉이 QDS
3b	5	QR435 50% 양고추냉이 QDS
4a	5	QR435 25% 양고추냉이 QDS
4b	5	QR435 25% 양고추냉이 QDS
5a	5	QDS = 비강내로 1일 4회 복용
5b	5	BDS = 경구로 1일 2회 복용

<422> 동물들은 동물 식별 및 체온 모니터링을 위해 프로그램 가능한 주사용 트랜스폰더들을 사용하여 전자적으로 태그되었다. 혈액 시료들은 표면상의 정맥들로부터 취했고, 심장 천공에 의해 최종 출혈이 취해졌다.

<423> 비강내로 감염된 공여체 페럿들은 다음과 같다: 5마리의 군으로부터 하나의 동물이 제거되고 바이러스 0.5 ml (콧구멍당 0.25 ml)로 감염되는 한편 동물들은 마취하에 있었다. 공여체 동물들은 시험 물질로 시험되지 않았다. 공여체 페럿들은 표 43에서 개략된 바의 치료군 할당 및 표 44에서의 연구 스케줄에 따라 치료되었다. 비강 세척물 수집이 수행되고, 비강 세척 회수물 부피를 측정하기 위해 회수된 비강 세척물 부피가 측정되고 청량되었다.

<424> HI 분석은 페럿들의 혈청 음성을 결정할 뿐만 아니라, 필요하다면 감염 후 혈청 전환 정도를 결정하기 위해 상동성 바이러스에 대해 시료에 따라 수행되었다. 건강 점수, 체중 및 온도가 기록되었다. 비강 세척 시료들에 대한 전체 세포 카운트들은 비강 상피로부터 회수된 염증 세포 응답을 평가하기 위해 트리판 블루를 사용하여 결정되었다. 비강 세척액들로부터 바이러스 발산은 MDCK 세포들을 사용하여 수행되었다.

<425> 표 44. 연구 스케줄

일	0	1	2	3	4	5	6	16
전자 태깅	X							
마취	X							X
체온	X	X	X	X	X	X	X	
체중	X	X	X	X	X	X	X	
건강 점수	X	X	X	X	X	X	X	
공여체의 감염	X							
공여체의 격리	X							
공여체 통합		X						
비강 세척							X	
HAI에 대한 혈청	X							X
시험 물품 투약 수령인	X	X	X	X	X	X	X	

<427> 표 45는 인플루엔자 바이러스에 노출된 후 공여체 동물들의 임상적 징후들을 보여준다. 표에서 알 수 있듯이, 각각의 공여체 동물은 인플루엔자 바이러스로 성공적으로 감염되었다.

<428> 표 45. 공여체 임상적 징후들

펜*	중량 손실률% (피크에서 골까지)	열 >1SD, >2SD 또는 >3SD	혈청 전환
1a	0.80	>3SD	Y
1b	2.31	>3SD	Y
2a	2.88	>3SD	Y
2b	0.91	>3SD	Y
3a	1.90	>2SD	Y
3b	1.43	>2SD	Y
4a	2.76	>2SD	Y
4b	1.15	>3SD	Y
5a	2.49	>1SD	Y
5b	0.93	>2SD	Y

<430> * 치료 프로토콜에 대해 표 43 참조

<431> 수용체 페럿들에서 인플루엔자 관련 질병은 다음 파라메터들을 사용하여 결정되었다: 체중 손실, 열, 바이러스 발산, 혈청 전환, 임상학적 비강 및 활성 징후들, 비강 세포 카운트들. 대조군들(PBS 치료 군들 1a 1b)은 체중 손실, 열, 혈청 전환 및 일병의 일부 임상적 징후들의 존재(활성 및 비강 징후들을 포함함)를 포함하는 인플루엔자 질병의 전형적인 징후들을 보여주었다. Tamiflu™ 치료군들은 임의의 명백한 임상적 징후들을 보이지 않았고, 혈청 전환되지 않음으로써, Tamiflu™ 치료는 인플루엔자 질병을 감소시키는데 효과적인 것으로 확인되었다. 그룹들 간의 체중 손실률의 비교는 질병에 차이가 있음을 제안한다. 체중 손실은 각각의 페럿의 각각의 중량을 발견하고, 이어서 후속 골을 식별함으로써 계산되었다. 피크와 골 사이의 체중의 차이는 0일째에 취한 기준선 중량의 백분율로서 계산되었다. 그룹들은 치료에 의해 체중 손실과 비교되었고, 여러 치료들은 질병의 현저한 감소를 나타냈다. 표 46으로부터 결과들은 PBS 치료군이 모든 다른 치료군들과 현저하게 달랐음을 지시한다 (PBS vs. 100% 양고추냉이 p=0.008; PBS vs. 50% 양고추냉이 p=0.022; PBS vs. 25% 양고추냉이 p=0.005; PBS vs. Tamiflu™ p=0.003).

<432> 따라서, 시험 화합물은 다른 페럿으로부터 자연적인 전염 경로를 통해 인플루엔자에 의해 감염된 동물들에서 체중 손실을 방지하는데 있어서 포지티브 대조군(Tamiflu™) 만큼 효과적이었다.

<433> 표 46A. 결과 비교

<434> 종속 변수: 펜들 내로 분리된 체중 변화

그룹 번호	평균	표준 오차	95% 신뢰도 간격	
			하위 경계	상위 경계
PBS	-2.860	.405	-3.686	-2.034
100% 양고추냉이	-1.231	.405	-2.057	-.405
50% 양고추냉이	-1.478	.405	-2.304	-.651
25% 양고추냉이	-1.141	.405	-1.967	-.315
Tamiflu™	-.980	.405	-1.806	-.154

<436> 표 46B. 쌍별로 비교

<437> 종속 변수: 펜들 내로 분리된 체중 변화

(I) 그룹 번호	(J) 그룹 번호	평균 차이(I-J)	표준 오차	유효도	95% 신뢰도 간격	
					하위 경계	상위 경계

PBS	100% 양고추냉이 50% 양고추냉이 25% 양고추냉이 Tamiflu™	-1.629 -1.682 -1.719 -1.880	.572 .572 .572 .572	.008 .022 .005 .003	-2.797 -2.551 -2.887 -3.048	-.460 -.214 -.550 -.712
100% 양고추냉이	PBS 50% 양고추냉이 25% 양고추냉이 Tamiflu™	1.629 2.46 -9.000E-0 -.251	.572 .572 .572 .572	.008 .670 .876 .664	.460 -.922 -1.258 -1.420	2.797 1.415 1.078 .917
50% 양고추냉이	PBS 100% 양고추냉이 25% 양고추냉이 Tamiflu™	1.382 -.246 -.336 -.497	.572 .572 .572 .572	.022 .670 .561 .391	.214 -1.415 -1.505 -1.666	2.551 .922 .832 .671
25% 양고추냉이	PBS 100% 양고추냉이 50% 양고추냉이 Tamiflu™	1.719 -9.000E-02 .336 -.161	.572 .572 .572 .572	.005 .876 .561 .780	.550 -1.078 -1.666 -1.330	2.887 1.258 1.505 1.007
Tamiflu	PBS 100% 양고추냉이 50% 양고추냉이 25% 양고추냉이	-1.880 .251 .497 .161	.572 .572 .572 .572	.003 .664 .391 .780	.712 -.917 -.671 -1.007	3.048 1.420 1.666 1.330

<439> a. 다수 비교를 위한 조정: 최소한의 현저한 차이 (조정 없음과 동등)

<440> 이전의 체온 측정에서 3SD(표준 편차)보다 더 큰 온도 증가를 보이는 개개의 폐럿들은 강한 열성 질병을 갖는 것으로 생각된다. 각각의 그룹에 대해, SD는 1일째에 각각의 그룹의 평균 온도로부터 계산되었다. 0일째에 마취제의 사용 및 폐럿 온도의 가능한 후속 변형들로 인해, 1일째 온도는 기준선 평균 및 SD를 발생시키기 위해 사용되기에 더욱 적절한 것으로 생각된다. 표 47은 이전 온도 측정으로부터 3SD 증가로 정의된 바의 열병의 요약이다.

<441> 표 47. 결과 비교

펜 번호*	열병인 펜당 폐럿들의 수 (>3SD 상승)	그룹 번호	열병인 그룹당 폐럿들의 수 (>3SD 상승)
1a	2	1	4
1b	2		
2a	1	2	1
2b	0		
3a	0	3	1
3b	1		
4a	3	4	5
4b	2		
5a	0	5	1
5b	1		

<443> * 펜 치료 프로토콜에 대해 표 43 참조

표 48. 경미한 열성 질병

웬 번호	열병인 웬당 폐럿들의 수 (>2SD 상승)	그룹 번호	열병인 웬당 폐럿들의 수 (>2SD 상승)
1a	3	1	7
1b	4		
2a	2	2	4
2b	2		
3a	1	3	2
3b	1		
4a	3	4	5
4b	2		
5a	2	5	4
5b	2		

* 웬 치료 프로토콜에 대해 표 43 참조

<447> 이전 온도 측정으로부터 3SC 상승에 의해 정의된 바의 열의 \bar{X} 분석을 사용하여 다음이 측정되었다:

<448> PBS 치료 vs. 50% 양고추냉이 $p = 0.106$ (표 49)

<449> PBS vs. 10% 양고추냉이 $p = 0.106$ (표 50)

<450> PBS vs. TamifluTM $p = 0.106$ (표 51)

<451> 표 48은 이전 온도 측정으로부터 2SD 이상의 분명한 온도 상승을 갖는 폐럿들의 수를 요약하고, 이는 경미한 열성 질병을 갖는 것으로 생각된다.

<452> 표 49. PBS와 50% 양고추냉이 치료 사이에 열병인 폐럿들의 수의 \bar{X} 분석

<453> (기준선으로부터 온도의 >3SD 상승)

		그룹 번호		전체
		PBS	100% 양고추냉이	
열 기준선으로부터 =>3SD 상승	아니요 카운트	4	7	11
	예상 카운트	5.5	5.5	11.0
	그룹 번호내 %	50.0%	87.5%	68.8%
	예 카운트	4	1	5
	예상 카운트	2.5	2.5	5.0
	그룹 번호내 %	50.0%	12.5%	31.3%
전체	카운트	8	8	16
	예상 카운트	8.0	8.0	16.0
	그룹 번호내 %	100%	100%	100%

<455> Chi-제곱 시험

	값	df	Asump. Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (1-측면)
피어슨 Chi-제곱	2.618 ^b	1	.106		
연속성 교정 ^a	1.164	1	.281		
유사 정량	2.756	1	.097		
피셔의 추출물 시험				.282	
리니어 바이 리니어	2.455	1	.117		
연관성					.141
유효 경우의 N	16				

<457> a. 2x2 표에 대해서만 계산됨

<458> b. 2 세포들(50.0%)은 5 미만의 예상 카운트를 갖는다. 최대 예상 카운트는 2.50이다.

<459> 표 50. PBS와 100% 양고추냉이 치료 사이에 열병인 폐럿들의 수의 χ^2 분석

<460> (기준선으로부터 온도의 >3SD 상승)

		그룹 번호		전체
		PBS	50% 양고추냉이	
열 기준선으로부터 =>3SD 상승	아니요 카운트	4	7	11
	예상 카운트	5.5	5.5	11.0
	그룹 번호내 %	50.0%	87.5%	68.8%
	예 카운트	4	1	5
	예상 카운트	2.5	2.5	5.0
	그룹 번호내 %	50.0%	12.5%	31.3%
전체	카운트	8	8	16
	예상 카운트	8.0	8.0	16.0
	그룹 번호내 %	100%	100%	100%

<462> Chi-제곱 시험

	값	df	Asump. Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (1-측면)
피어슨 Chi-제곱	2.618 ^b	1	.106		
연속성 교정 ^a	1.164	1	.281		
유사 정량	2.756	1	.097		
피셔의 추출물 시험				.282	
리니어 바이 리니어	2.455	1	.117		
연관성					.141
유효 경우의 N	16				

<464> a. 2x2 표에 대해서만 계산됨

<465> b. 2 세포들(50.0%)은 5 미만의 예상 카운트를 갖는다. 최대 예상 카운트는 2.50이다.

<466> 표 51. PBS와 TamifluTM 치료 사이에 열병인 폐럿들의 수의 χ^2 분석

<467> (기준선으로부터 온도의 >3SD 상승)

		그룹 번호		전체
		PBS	50% 양고추냉이	
열 기준선으로부터 =>3SD 상승	아니요 카운트	4	7	11
	예상 카운트	5.5	5.5	11.0
	그룹 번호내 %	50.0%	87.5%	68.8%
	예 카운트	4	1	5
	예상 카운트	2.5	2.5	5.0
	그룹 번호내 %	50.0%	12.5%	31.3%
전체	카운트	8	8	16
	예상 카운트	8.0	8.0	16.0
	그룹 번호내 %	100%	100%	100%

<469> Chi-제곱 시험

	값	df	Asump. Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (1-측면)
피어슨 Chi-제곱	2.618 ^b	1	.106		
연속성 교정 ^a	1.164	1	.281		
유사 정량	2.756	1	.097		
피셔의 추출물 시험				.282	.141
리니어 바이 리니어	2.455	1	.117		
연관성					
유효 경우의 N	16				

<471> a. 2x2 표에 대해서만 계산됨

<472> b. 2 세포들(50.0%)은 5 미만의 예상 카운트를 갖는다. 최대 예상 카운트는 2.50이다.

<473> 이전 온도 측정으로부터 2SD 상승에 의해 정의된 바의 열의 \bar{X} 분석을 사용하여 다음이 측정되었다:

<474> PBS 치료 vs. 50% 양고추냉이 p = 0.012 (표 52)

<475> PBS vs. 10% 양고추냉이 p = 0.106 (표 53)

<476> PBS vs. TamifluTM p = 0.106 (표 54)<477> 표 52. PBS와 50% 양고추냉이 치료 사이에 열병인 폐럿들의 수의 \bar{X} 분석

<478> (기준선으로부터 온도의 >2SD 상승)

		그룹 번호		전체
		PBS	50% 양고추냉이	
열 기준선으로부터 =>2SD 상승	아니요 카운트	1	6	7
	예상 카운트	3.5	3.5	7.0
	그룹 번호내 %	12.5%	75%	68.8%
	예 카운트	7	2	9
	예상 카운트	4.5	4.5	9.0
	그룹 번호내 %	87.5%	25%	56.3%
전체	카운트	8	8	16
	예상 카운트	8.0	8.0	16.0
	그룹 번호내 %	100%	100%	100%

<480> Chi-제곱 시험

	값	df	Asump. Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (1-측면)
피어슨 Chi-제곱	6.349 ^b	1	.012		
연속성 교정 ^b	4.063	1	.044		
유사 정량	26.904	1	.009		
피셔의 추출물 시험				.041	
리니어 바이 리니어	5.952	1	.015		
연관성					.020
유효 경우의 N	16				

<482> a. 2x2 표에 대해서만 계산됨

<483> b. 4 세포들(100.0%)은 5 미만의 예상 카운트를 갖는다. 최대 예상 카운트는 3.50이다.

<484> 표 53. PBS와 100% 양고추냉이 치료 사이에 열병인 폐럿들의 수의 χ^2 분석

<485> (기준선으로부터 온도의 >2SD 상승)

		그룹 번호		전체
		PBS	100% 양고추냉이	
열 기준선으로부터 =>2SD 상승	아니요 카운트	1	6	5
	예상 카운트	2.5	2.5	5.0
	그룹 번호내 %	12.5%	50%	31.3%
	예 카운트	7	4	11
	예상 카운트	5.5	5.5	11.0
	그룹 번호내 %	87.5%	50%	68.8%
전체		8	8	16
		예상 카운트	8.0	8.0
		그룹 번호내 %	100%	100%

<487> Chi-제곱 시험

	값	df	Asump. Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (1-측면)
피어슨 Chi-제곱	2.618 ^b	1	.016		
연속성 교정 ^a	1.164	1	.281		
유사 정량	2.756	1	.097		
피셔의 추출물 시험				.282	
리니어 바이 리니어	2.455	1	.117		
연관성					.141
유효 경우의 N	16				

<489> a. 2x2 표에 대해서만 계산됨

<490> b. 2 세포들(50.0%)은 5 미만의 예상 카운트를 갖는다. 최대 예상 카운트는 2.50이다.

<491> 표 54. PBS와 TamifluTM 치료 사이에 열병인 폐럿들의 수의 χ^2 분석

<492> (기준선으로부터 온도의 >2SD 상승)

		그룹 번호		전체
		PBS	50% 양고추냉이	
열 기준선으로부터 =>2SD 상승	아니요 카운트	1	4	5
	예상 카운트	2.5	2.5	5.0
	그룹 번호내 %	12.5%	50%	31.3%
	예 카운트	7	4	11
	예상 카운트	5.5	5.5	11.0
	그룹 번호내 %	87.5%	50%	68.8%
전체	카운트	8	8	16
	예상 카운트	8.0	8.0	16.0
	그룹 번호내 %	100%	100%	100%

<494> Chi-제곱 시험

	값	df	Asump. Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (2-측면)	추출물 Sig. (1-측면)
피어슨 Chi-제곱	2.618 ^b	1	.106		
연속성 교정 ^a	1.164	1	.281		
유사 정량	2.756	1	.097		
피셔의 추출물 시험				.282	.141
리니어 바이 리니어	2.455	1	.117		
연관성					
유효 경우의 N	16				

<496> a. 2x2 표에 대해서만 계산됨

b. 2 세포들(50.0%)은 5 미만의 예상 카운트를 갖는다. 최대 예상 카운트는 2.50이다.

<498> 결론

<499> 모든 시험 기질 치료된 페럿들이 혈청 전환되는 한편, 100% 및 50% 양고추냉이 성분과 함께 QR-435는 체중 및 온도로 측정된 바와 같이 전신 질병을 현저하거나 또는 거의 현저하게 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 질병의 다른 임상 징후들은 임의의 치료에 의해 저지되지 않았다. 대조군들은 인플루엔자 질병의 임상 징후들을 보였다. PBS 치료군들은 인플루엔자 감염의 전형적인 징후들: 체중 손실, 열 및 혈청 전환 뿐만 아니라 질병의 낮은 임상 징후들, 감소된 활동도 및 비강 징후들을 보인다. Tamiflu™ 처리군은 어떠한 현저한 체중 손실도 보이지 않고, 낮은 임상 징후들, 바이러스 발산, 열의 심각도가 감소되었고, 어떠한 혈청 전환도 보이지 않았다.

<500> 치료 시험 군들에서, 질병의 심각도는 열 및 체중 손실로 정의되었다. 모든 치료 복용량들은 PBS 그룹과 비교하였을 때 체중 손실의 심각도를 현저히 감소시켰다. 열이 온도에서 2SD 상승으로 정의되었을 때, 50% 양고추냉이 치료 군은 열 발생의 현저한 감소를 보였다. 100% 양고추냉이 치료군은 또한 열을 저지하였고, 거의 유효한 것으로 밝혀졌다. 열이 온도의 3SD 상승으로 정의되었을 때, 100% 및 50% 양고추냉이 치료군들은 열 발생률에서 거의 현저하게 감소되었지만, 25% 양고추냉이 치료는 열을 저지하지 않았다. 따라서, 100% 및 50% 양고추냉이 치료는 25% 양고추냉이 치료보다 더 큰 정도로 전신 징후들을 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 이는 열 및 중량 손실 모두를 저지하기 위해 50% 이상의 양고추냉이를 필요로 하는 강한 용량 의존도를 제안한다. 50% 이상의 양고추냉이에 의한 치료는 공여체로부터 수용체로 전염된 바이러스의 역ガ를 감소시킴으로써, 질병 증상들의 심각도를 감소시킨다. 50% 이상의 양고추냉이에 의한 치료는 치료 방식으로 작용함으로써 질병을 저지할 수도 있다.

<501> 실시예 13

<502> 조류 균주에 의한 인간 감염이 최초로 문서화된 경우는 18명중 6명의 사망을 초래한 1997 홍콩 H5N1 감염증이었다. 보다 최근의 발병은 동남아에서 발생하여 표 55에 나타낸 바와 같이 수많은 질병들을 초래한다.

표 55. SE 아시아에서 확인된 인간 H5N1(조류) 인플루엔자 경우들

국가	전체 증례 수	사망자 수
베트남	22	15
태국	12	8
계	34	23

<505> 이 연구는 조류 균주 인플루엔자 바이러스 A/베트남/1194/04, H5N1의 인간 단리물에 대해, 아래 표 56-57에 주어진 제형들의 효능을 조사하였다. 네거티브 대조군은 DMEM-DMSO 1%인 한편, 바이러스 억제 분석에서 포지티브 대조군은 $0.37 \mu M$ 에서 아마타딘이었다. 살바이러스 분석에 대한 포지티브 대조군은 1% 트윈-20/20% ETOH/PBS (최종 농도)였다. 또한, 세포 단독 및 바이러스 단독 포지티브 대조군들이 사용되었다. 세포 단독 대조군은 유지 배지만을 사용하였다. 바이러스 단독 대조군에 대해, 시험 과정들은 세포 유지 배지가 시험 화합물들 대신에 사용된 것을 제외하고는 동일하였다. 표 56-57은 시험된 제형들을 디스플레이한다.

표 56. 제형 I

성분	중량%
올레오레진 강황, 예, Kalsec	0.6466
아쿠아레진 생강, 예, Kalsed.	0.6840
양고추냉이 - 양고추냉이 오일, 예, Kalsec	0.06312
녹차 PE - 90% 파이토웨이	
녹차 PE 030725	
후이젠 S09160304	0.4619
글리세린	49.0723
물	49.0723
계	100.0002

표 57. 제형 II

성분	중량%
식물성 오일중의 강황 추출물 예, Kalsec.	0.6466
올레오레진 생강, 예, Kalsed.	0.6840
양고추냉이 - 양고추냉이 오일, 예, Kalsec	0.06312
녹차 PE - 90% 파이토웨이 녹차 PE 030725 후이젠 S09160304	0.4619
글리세린	36.9077
물	36.9077
네오비 M-5 배지 사슬 트리글리세리드	12.2850
BASF T-Maz 폴리소르베이트 80K	12.0441
전체	100.0001

<510> 살바이러스 분석의 종료점은 사이토페틱 효과(CPE)의 육안 관찰에 의해 결정되었고, 잔류 바이러스 역가는 Karber 방법에 의해 결정되었다. 시험 화합물들에 노출된 바이러스 역가의 감소는 바이러스 단독 대조군에 비

교합으로써 결정되었다. 항 바이러스 활성은 $-\log_{10}$ TCID₅₀/m1의 감소이다(옥스포드, J.S. 등의 "Sodium deoxycholate exerts a direct destructive effect on HIV and Influenza viruses in-vitro and inhibits retrovirus-induced pathology in an animal model." Antive. Chem. Chemother., 5(3):176-181(1994)). 바이러스 억제 분석의 종료점은 CPE 점수들에 의해서 결정되었다. 항 바이러스 활성은 감염의 존재 또는 부재로 나타낸다.

511> 바이러스 억제 분석

<512> 바이러스 억제 분석에서, 제형들 I-II 모두는 $1/10(10^1)$, $1/100(10^2)$, 및 $1/1000(10^3)$ 으로 희석되었다. 추가로, 희석되지 않은 제형들 I-II(10^0)이 시험되었다. 바이러스 억제 분석에서, Mardin-Darby 개의 신장(MDCK) 세포들은 96-웰 플레이트들 내에 과종되고($100\mu\text{l}/\text{웰}$), 5% CO₂에 의해 37°C에서 2일 동안 인큐베이션되었다. 2일 후, 세포들은 $100\mu\text{l}/\text{웰}$ PBS로 2회 세척한 후 $100\mu\text{l}/\text{웰}$ 감염 배지에 노출되었다. 순수한 바이러스 원료의 $1/10^3$ 희석물이 세포들에 부가되었고, 표준 인큐베이터 조건들(즉, 5% CO₂에 의해 37°C) 하에 1 내지 2시간 동안 부착되었다. 이어서, 각각의 시험 제형(희석되고 희석되지 않음)은 $50\mu\text{l}/\text{웰}$ 에서 감염된 웰들에 부가되었다. 이 플레이트들은 표준 인큐베이터 조건들 하에 3시간 동안 인큐베이션되었다. CPE 관찰 및 크리스탈 바이올렛 염색은 분석의 종료점을 결정하였다. 추가로, 헤마글루틴화 분석(HA)이 다음 2-배 희석 시리즈로 수행되었다.

<513> 크리스탈 바이올렛 염색 하에, 제형 I이 희석되지 않은 채로 및 $1/10^1$ 희석으로 사용되었을 때 일부 바이러스 억제 활성이 관찰되었다. 효과적인 농도, EC₅₀ 은 $1/10^{1.88}$ (즉, $1/10^1$ 과 $1/10^2$ 사이의 희석)인 것으로 계산되었다.

<514> 이러한 분석에서, CPE는 제형 II의 모든 희석에 대해 모든 시험 웰들에서 관찰되었다. 크리스탈 바이올렛 염색 하에, 제형 II에 의해 어떠한 바이러스 억제 활성도 관찰되지 않았다.

<515> 표 58은 바이러스 억제 분석으로부터 HA 분석을 보여준다.

516> 표 58. 바이러스 억제 분석 활성

희석(10^x)	HA 역가	
	제형 I	신규 제형 II
0	64	<2*
-1	32	<2*
-2	256	128
-3	256	256

<518> * 여기 기록된 HAU(HA 유닛들) 값은 항바이러스 활성보다 오히려 화합물의 독성으로 인한 것이기 쉽다.

<519> 아마타딘에 대한 HA 역가는 A/베트남/1194/04 균주에 대한 활성을 거의 나타내지 않는 16 내지 32 HAU 범위이다.

520> 살바이러스 분석

<521> 살바이러스 분석에서, 제형 I 및 제형 II 모두는 1/10 및 1/80으로 희석되었다. 살바이러스 분석에서, Mardin-Darby 개의 신장(MDCK) 세포들은 96-웰 플레이트들 내에 과종되고($100\mu\text{l}/\text{웰}$), 5% CO₂에 의해 37°C에서 2일 동안 인큐베이션되었다. 2일 후, 세포들은 $100\mu\text{l}/\text{웰}$ PBS로 2회 세척한 후 $100\mu\text{l}/\text{웰}$ 감염 배지에 노출되었다. 순수한 바이러스 원료의 $1/1000$ 희석물($40\mu\text{l}/\text{웰}$)이 각각의 시험 화합물($360\mu\text{l}$)에 부가되고, 30초 또는 5분 동안 실온에서 인큐베이션되도록 방치되었다. 반응은 감염 배지(3.6 m1)를 부가함으로써 종료되었다. 반응의 종료는 1:10 희석으로 유발되었다. 종료 혼합물은 96-웰 플레이트들의 제1 열에 이중으로($111\mu\text{l}$) 부가되고 10-배 희석 시리즈에 따라 플레이트를 가로질러 적정되었다. 플레이트들은 표준 인큐베이터 조건들 하에 3일 동안 인큐베이션되고 CPE 드점되었다. 헤마글루틴화

<522> 분석(HA)이 2-배 희석 시리즈에 따라 수행되었다.

<523> 표 59는 제형을 사용하는 살바이러스 분석으로부터 HA 데이터를 보여준다.

<524> 표 59. 제형 I에 대한 살바이러스 활성

회석(10^x)	제형 I (HAU)			
	1/10			1/80
	시간(분)			
0	0.5 <2	5 <2	0.5 <2	5 <2
-1	<2	<2	<2	<2
-2	<2	<2	<2	<2
-3	<2	<2	<2	<2
-4	<2	<2	<2	<2
세포 대조군	<2	<2	<2	<2
바이러스 대조군	64	64	64	32

<526> 이 데이터는 5분 인큐베이션 후 제형 I에 대해서 및 30초 인큐베이션한 후만 1/10 회석물에 대해 살바이러스 활성이 존재함을 지시한다.

<527> 표 60은 제형 II를 사용하는 살바이러스 분석으로부터 HA 데이터를 보여준다.

<528> 표 60. 제형 II에 대한 살바이러스 활성

회석(10^x)	제형 II (HAU)			
	1/10		1/80	
	시간(분)			
0	0.5 256	0.5 256	0.5 32	5 256
-1	<2	<2	16	32
-2	<2	<2	<2	<2
-3	<2	<2	<2	<2
-4	<2	<2	<2	<2
세포 대조군	<2	<2	<2	<2
바이러스 대조군	32	64	64	64

<530> VY 60은 제형 II에 의해 검출될 수 있는 일부 살바이러스 활성이 존재하지만, 제형 I에 대해 관찰된 것에 비교할 때 정량적으로 감소되었음을 보여준다. 두 살바이러스 분석의 포지티브 대조군은 1% 트원-20/20% ETOH/PBS 였다. 포지티브 대조군은 모든 플레이트들 상에서 일관되게 <2HAU를 갖고, 따라서 A/베트남/1194/04 균주에 대항하는 양호한 항바이러스 활성을 나타낸다.

결론

<532> 제형 I은 바이러스 억제 분석에서 시험하였을 때 검출 가능한 항바이러스 활성을 갖는다. 그 활성은 바이러스 복제에서 대략 10-배 감소로 적절히 분류되었다. 그러나, 일부 비특이적 변화들이 QR 제형들에 의해 인큐베이션되었을 때 세포 단일층에서 관찰되었고, 따라서, 항세포 대비 항바이러스 효과의 정확한 분포는 정량화될 수 없다. 특정한 신규 항바이러스들은 세포 기능에 대한 효과를 통해 바이러스 억제 활성을 발휘하도록 고안되었다. QR 혼합물의 다른 성분들은 상이한 항세포 및 항바이러스 효과들을 발휘할 수 있다.

<533> 살바이러스 활성은 제형 II에서 검출되었지만, 제형 II는 제형 I보다 낮은 효능을 가졌다. 하나의 가능한 미래 연구는 완전 화합물의 각각의 구성 성분의 기여를 조사하는 것일 수 있다.

<534> 오늘날까지 NI(뉴라미다제 억제제) 봉쇄제들은 조류 인플루엔자 균주 H5N1을 억제하는 것으로 보이는 한편, 아만타딘은 조류 H5N1 균주들에 반하여 비교적 활성이 적은 것으로 보인다.

<535>

그러나, 본 발명의 수많은 특징들 및 장점들이 상기 명세서에 개시되어 있더라도, 그것들은 단지 예시적인 것임을 이해해야 한다. 상기 개시된 상기 본 발명의 방법들 및 조성물들에 대해 본 발명의 정신 및 범위에서 벗어나지 않는 많은 변화들이 이루어질 수 있다. 상기 설명에 포함된 모든 사안들은 예시적인 것으로 해석되어야 하고, 제한적인 의미로 해석되지 않도록 의도된다. 본 발명의 범위는 이에 첨부된 특허 청구의 범위로부터 결정되어야 한다.