

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 9/20

A61K 9/48



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03818966.6

[43] 公开日 2005 年 9 月 28 日

[11] 公开号 CN 1674875A

[22] 申请日 2003.7.24 [21] 申请号 03818966.6

[30] 优先权

[32] 2002.8.6 [33] US [31] PCT/US02/24794

[32] 2003.2.6 [33] US [31] 10/359,889

[86] 国际申请 PCT/US2003/023125 2003.7.24

[87] 国际公布 WO2004/012655 英 2004.2.12

[85] 进入国家阶段日期 2005.2.6

[71] 申请人 奎格利公司

地址 美国宾夕法尼亚州

[72] 发明人 理查德·A·罗森布卢姆

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任
公司

代理人 杨 青 樊卫民

权利要求书 5 页 说明书 34 页

[54] 发明名称 抗微生物组合物及其应用方法

[57] 摘要

本发明提供了一种抗微生物的组合物。所述抗微生物组合物包含从姜获得的第一种成分，从绿茶获得的第二种成分，任选的从姜黄获得的第三种成分，以及任选的可接受的载体。本发明还提供了一种减轻、治疗或者预防患者微生物感染的至少一种症状或者不良影响的方法。所述方法包括在预期暴露于一种微生物之前，暴露于微生物同时，或者暴露于微生物之后给病人施用有效量的本发明组合物的步骤。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种抗微生物组合物，包含：

从姜获得的第一种成分；

5 从绿茶获得的第二种成分；以及
可接受的载体；

其中第一种成分与第二种成分以一定量存在于这种抗微生物组合物中，当组合在一起，在预期暴露于一种微生物之前、暴露同时或者暴露之后施用于病人时，可有效地减轻、治疗或者预防微生物感染的不良影响。

2. 权利要求 1 所述的抗微生物组合物，其中

第一种成分选自姜粉提取物、姜液提取物、姜粉、整株姜植物体的至少一部分、姜酊剂、姜中含有的一种或者多种化合物，及其混合物；以及

第二种成分选自绿茶粉、绿茶粉提取物、绿茶液提取物、整株绿茶植物体的至少一部分、绿茶的酊剂、绿茶含有的一种或者多种化合物，及其混合物。

20 3. 权利要求 1 所述的抗微生物组合物，其中第一种成分包含姜根粉并且第二种成分包含绿茶提取物。

4. 权利要求 3 所述的抗微生物组合物，其中每克所述组合物包含大约 5mg 至大约 20mg 的绿茶提取物。

25 5. 权利要求 4 所述的抗微生物组合物，其中每克所述组合物包含大约 30mg 至大约 150mg 的姜根粉。

6. 权利要求 3 所述的抗微生物组合物，其中每克所述组合物包含大约 7mg 至大约 15mg 的绿茶提取物。

7. 权利要求 6 所述的抗微生物组合物，其中每克所述组合物包含大约 50mg 至大约 110mg 的姜根粉。

5 8. 权利要求 1 所述的抗微生物组合物，另外包含从姜黄获得的成分。

 9. 权利要求 8 所述的抗微生物组合物，其中从姜黄获得的成分选自姜黄粉提取物、姜黄液提取物、姜黄提取物、一种或多种姜黄素类化合物、姜黄含有的一种或多种其它化合物、姜黄粉、整株姜黄植物的至少一部分、姜黄酊剂及其混合物。

10

 10. 权利要求 9 所述的抗微生物组合物，其中从姜黄获得的成分包含姜黄提取物。

15 11. 权利要求 10 所述的抗微生物组合物，其中每克所述组合物包含从 5mg 至大约 20mg 的姜黄粉提取物。

 12. 权利要求 10 所述的抗微生物组合物，其中每克所述组合物包含从大约 7mg 至大约 15mg 的姜黄粉提取物。

20

 13. 权利要求 1 所述的抗微生物组合物，还包含白藜芦醇。

 14. 一种抗微生物组合物，包含：

25 姜黄提取物；
 姜根粉；
 绿茶提取物；以及
 可接受的载体；

 其中所述姜根粉、绿茶提取物和姜黄提取物以一定量存在于所述
30 抗微生物组合物中，当组合在一起，在预期暴露于微生物之前、暴露

同时或者暴露之后施用于病人时，可有效地减轻、治疗或者预防微生物感染的不良影响。

15. 权利要求 14 所述的抗微生物组合物，还包含白藜芦醇。

5

16. 权利要求 14 所述的抗微生物的组合物，其中每克所述组合物包含大约 5mg 至大约 20mg 的绿茶提取物、大约 30mg 至大约 150mg 的姜根粉、以及大约 5mg 至大约 20mg 的姜黄粉提取物。

10

17. 一种用于减轻、治疗或者预防病人微生物感染的至少一种不良影响的方法，包含在预期暴露于微生物之前、暴露同时暴露之后给病人施用一定量组合物的步骤，所述组合物包含：

从姜获得的第一种成分；

从绿茶获得的第二种成分；以及

15

可接受的载体；

当给药后所述组合物可有效减轻、治疗或者预防病人微生物感染的不良影响。

20

18. 权利要求 17 所述的方法、其中感染的微生物选自疱疹病毒、HIV 病毒、AIDS 病毒、链球菌、流感病毒、鼻病毒以及呼吸道合胞病毒。

25

19. 权利要求 17 所述的方法，其中所述组合物以选自片剂、胶囊剂、锭剂、药片、硬糖、可咀嚼组合物以及牙用产品的形式给药。

30

21. 权利要求 17 所述的方法，其中

第一种成分选自姜粉提取物、姜液提取物、姜粉、整株姜植物体

的至少一部分、姜酊剂、姜中含有的一种或多种化合物及其混合物；
以及

5 第二种成分选自绿茶粉、绿茶粉提取物、绿茶液提取物、整株绿茶植物体的至少一部分、绿茶的酊剂、绿茶中含有的一种或多种化合物及其混合物。

22. 权利要求 17 所述的方法，其中第一种成分包含姜根粉并且第二种成分包含绿茶提取物。

10 23. 权利要求 17 所述的方法，其中每克所述组合物包含大约 5mg 至大约 20mg 的绿茶提取物，以及大约 30mg 至大约 150mg 的姜根粉。

24. 权利要求 17 所述的方法，还包含从姜黄获得的成分。

15 25. 权利要求 24 所述的方法，其中从姜黄获得的成分选自姜黄粉提取物、姜黄液提取物、姜黄提取物、一种或多种姜黄素类化合物、姜黄中含有的一种或多种其它化合物、姜黄粉、整株姜黄植物体的至少一部分、姜黄酊剂及其混合物。

20 26. 权利要求 24 所述的方法，其中从姜黄获得的成分包括姜黄提取物。

27. 权利要求 26 所述的方法，其中所述组合物包含 5mg 至大约 20mg 的姜黄粉提取物。

25

28. 权利要求 17 所述的方法，其中所述组合物还包含白藜芦醇。

29. 一种用于减轻、治疗或者预防病人微生物感染的至少一种不良影响的方法，包含在预期暴露于微生物之前、暴露同时或暴露之后
30 给病人施用一定量组合物的步骤，所述组合物包含：

姜黄提取物；
姜根粉；
绿茶提取物；以及
可接受的载体；

- 5 其中姜根粉、绿茶提取物和姜黄提取物以一定量存在于抗微生物组合物中，当组合在一起施用于病人时，可有效地减轻、治疗或者预防微生物感染的不良影响。

30. 权利要求 29 所述的方法，其中的组合物还包含白藜芦醇。

10

31. 权利要求 29 所述的方法，其中每克组合物包含大约 5mg 至大约 20mg 的绿茶提取物、大约 30mg 至大约 150mg 的姜根粉以及大约 5mg 至大约 20mg 的姜黄粉提取物。

抗微生物的组合物及其应用方法

5 发明背景

A.发明领域

本发明涉及抗微生物感染的组合物及其应用方法。更特别的是本发明涉及用于治疗微生物感染的一种或多种不良影响的抗微生物的组合物，以及这种抗微生物组合物的给药方法。

10

B.现有技术的描述

抗微生物感染的治疗

15

关于抗微生物药剂的医学文献非常多并且描述了大量包括天然存在的化合物以及实验室中生成的合成或者半合成的化合物的抗微生物物质。当今消费者在天然存在的化合物可以获得的情况下往往更喜欢使用天然存在的复合物。由于担心副作用，所述副作用可能是已被充分证明的伴随治疗的副作用或者由于长期的使用而可能引起的未知的副作用，许多消费者尤其喜欢从天然物质制备的抗微生物的治疗物，诸如采用最少化学处理的药草。

20

炎症的治疗

25

炎症可以由于微生物感染而引起。在现代的非草药药物中有两种主要类型的抗炎药物：甾体类与非甾体类。甾体类抗炎药物是基于激素物质的强效药物，诸如可的松。甾体类药物具有比非甾体类药物更强的抗炎反应。甾体类的药物可以作为丸剂服用，可以注射入血流或者直接注射到关节间隙。还有许多非甾体类的抗炎药物。乙酰氨基酚，乙酰水杨酸，布洛芬与甲氧奈普酸是最常使用的非甾体类的抗炎药物。

30

非甾体类的抗炎药具有三种主要的作用，所有的所述作用都与环

加氧酶的抑制有关，从而引起前列腺素类化合物形成的减少。首先，一种抗炎作用可以通过减低血管扩张剂前列腺素（PGE2， PG12)的生成而实现，所述前列腺素生产的减低意味着较少的血管舒张与间接较少的水肿。其次，止痛作用可以通过减少前列腺素生成而实现（减少感受疼痛的神经末梢对炎症介质血管舒缓激肽与 5-羟色胺的致敏）。第三，退热效应可以产生抗炎作用，可能是由于对炎症性的致热原诸如白细胞介素-1 的反应而产生的介质 PGE2 的减少。

这两组药物都有副作用。所述副作用可能包括连同其它情况的胃部不适，胃出血或者溃疡，肾脏问题，听觉问题以及踝关节肿胀。另外，甾体类抗炎药物可以具有更严重的副作用，包括：骨质损失、白内障、抗感染能力的降低、肿胀与体重增加、情绪改变、高血压及以及生产血细胞的骨髓有关的问题。

因此本发明某些实施方案的一个目的是提供抗微生物的组合物。

本发明某些实施方案的另一个目的是提供一种从天然产物生产的抗微生物组合物。

本发明某些实施方案的另一个目的是提供一种通过施用抗微生物的组合物来治疗微生物感染的一种方法。

本发明某些实施方案的另一个目的是提供一种通过施用由天然产物制成的组合物来治疗微生物感染的方法。

本发明的这些及其他的目的从本发明的摘要与随后的发明详述中显而易见。

发明概述

第一方面，本发明提供了一种包含从姜获得的第一种成分，从绿

茶获得的第二种成分，以及任选地一种可接受载体的抗微生物组合物，其中的第一种成分在这种抗微生物的组合物中的存在量满足下列条件：在预期暴露于一种微生物之前、暴露当时、暴露之后的病人施用

5

时，可以有效的减少、治疗或者预防微生物感染的不良影响。

另外一方面，本发明提供了用于减小、治疗或者预防病人微生物感染的至少一种不良影响的方法，所述方法包括在预期暴露于一种微生物之前、暴露当时、暴露之后该病人施用一定量的组合物的步骤，所述组合物包含从姜获得的第一种成分，从绿茶获得的第二种成分以及

10

任选地，可接受的载体。所述组合物在给药时，可以有效的减少、治疗或者预防病人微生物感染的不良影响。

优选实施方案的详述

第一方面，本发明涉及一种抗微生物组合物。本发明的抗微生物组合物包含可从姜与绿茶中获得的成分。

15

此处所用的术语“香料”既包括水果以及植物香料。

此处所用术语“甜味剂”包括糖，例如葡萄糖、蔗糖和果糖。糖还包括高果糖淀粉糖浆干粉、转化糖、包括山梨糖醇的糖醇及其混合物。人工甜味剂也包括在术语“甜味剂”的范围内。此处所使用的术语“可接受的”是指适于人和/或动物使用的无过度不良副作用（诸如毒性、刺激、和过敏反应），与合理的风险/受益比相匹配的组分。

20

另外，此处所使用的术语“安全和有效量”是指以本发明所述的方式使用时一种组分的量，足以产生治疗学要求的反应而且无过度的不良副作用（诸如毒性、刺激、或者过敏反应），与合理的风险/受益比相匹配。

25

此处所使用的术语“抑制”微生物，是指减少或者防止正在治疗的

30

人或者动物的微生物进一步生长、和/或消除某些或者所有的这种微生物。确定微生物抑制的合适方法论述在实施例。

5 用于本发明全部的活性化合物，如果可得到，可以从其他来源获得。因此短语“可以从...获得”或者短语“可能是从...中获得”是指包含从姜黄、姜、或者绿茶获得的化合物或者组合物，并因此包含相同的化合物和/或组合物的合成形式以及从其它来源获得的相同的化合物和/或组合物。

10 最优选地，本发明的抗微生物组合物包括提供一个或多个此处所述的有益效果的安全和有效量的从姜中获得的第一种成分和从绿茶获得的第二种成分。

15 本发明的抗微生物组合物的第一种成分可以从姜（姜，也通常称之为姜根）中获得。源于南亚的姜是可以生出长达一英尺和将近一英寸宽的草样叶子的 2-4 英尺高多年生植物。正如它在杂货店被称作姜根一样，其事实上由刮掉了树皮样外膜的这种植物的地下茎组成。

20 公元前四世纪 B.C.E.的中医著作就认为姜可以有效治疗恶心、腹泻、胃痛、霍乱、牙痛、出血、和风湿病。后来姜被中草药医生用于治疗包括咳嗽和早期感冒在内的许多呼吸性疾病。

25 姜的现代使用要追溯到 19 世纪 80 年代初，当时的一位名叫 D.Mowrey 的科学家注意到填充姜的胶囊减轻他在流感发病期间的恶心症状。受到这一点的启示，他进行了姜的第一个双盲研究。德国委员会 E 后来批准姜作为消化不良和运动病的治疗物质。姜已被广泛接受为一种适合恶心的治疗剂。虽然其它人认为应更慎重些，一些传统的医学著作依然认为姜适合于妊娠恶心和呕吐的治疗。

30 姜减轻肌肉的不适和疼痛。它抑制前列腺素和白细胞三烯的生物

合成和组胺的释放。因此它可作为抗炎以及抗酸药剂。它是脂加氧酶和环加氧酶体系的双重抑制剂。姜包含大约 1%至大约 4%的精油（含油树脂）。单独使用的鲜姜需要相当高的剂量（大约每日 50 克），不仅使用不便，而且还是胃粘膜的刺激物。以任何显著效果的干燥形式，每天必须服用大约 7 至大约 10 克的干姜粉。这样大剂量的姜对病人是极其不方便服用的并且影响病人日常基础的依从性。（参见 Potwardhan, 美国专利 5,494, 668。）

姜抑制前列腺素类化合物合成以及 5-脂氧合酶的产物。在急性炎症试验中姜提取物的这种效能显示出可与在相同研究中报到的乙酰水杨酸所显示的效能相媲美。（Mascolo N. 等人，Journal of Ethnopharmacology, 1989, 27, 129-140）。

炎症的一个特征是增加花生四烯酸的氧化，所述花生四烯酸是通过两个酶途径进行代谢-环加氧酶（CO）和 5-脂氧合酶（5-LO）-分别导致前列腺素和白细胞三烯的生成。有人认为（Srivastava 和 Mustafa; Medical Hypotheses, 1992,39 342-348）姜显示其改善作用的至少一种机制可能与抑制前列腺素和白三烯的生物合成有关，即它充当类花生酸生物合成的双重抑制剂。

已经进行了关于姜精油组分的许多化学研究。已经鉴定了姜精油内共超过 200 种的不同挥发物。姜的精油包含多种萜烯以及某些其它非萜类化合物的混合物。

可用于本发明的姜活性化合物包括但不限于 1,8-桉树脑、10-脱氢姜二酮、10-姜醇、6-姜二酮、6-姜醇、6-姜烯酚、8-β-17-环氧-λ-反式-12-烯-15,16-二醇、8-姜醇、8-姜烯酚、9-氧代-橙花叔醇、乙醛、乙酸、丙氨酸、α-亚麻酸、α-亚麻酸、α-水芹烯、α-蒎烯、α-蒎品烯、α-蒎品醇、α-姜烯、芳-姜黄烯、精氨酸、抗坏血酸、天门冬酰胺、β-红没药醇、β-胡萝卜素、β-榄香烯、β-桉叶油醇、β-芷香酮、β-香叶烯、

5 β -水芹烯、 β -蒎烯、 β -芹子烯、 β -倍半水芹烯、 β -谷甾醇、 β -崖柏酮、
乙酸冰片酯、硼、咖啡酸、钙、茨烯、樟脑、癸酸、辛酸、辣椒素、
石竹烯、佳味酚、绿原酸、铬、柠檬醛、香茅醛、香茅醛、钴、铜、
10 异丙基苯、姜黄素、半胱氨酸、飞燕草色素、 δ -杜松烯、榄香醇、乙
酸乙酯、肉豆蔻酸乙酯、金合欢醛、金合欢烯、阿魏酸、糠醛、 γ -氨
基丁酸、 γ -松油烯、香叶醛、香叶醇、牻牛儿醇乙酸酯、姜酮
(Gingerenone)、谷氨酸、甘氨酸、六氢姜黄素、组氨酸、异姜酮-B、
异亮氨酸、茨非醇、卵磷脂、柠檬烯、亚油酸、镁、锰、甲硫氨酸、
15 单不饱和脂肪酸(mufa)、月桂烯(myrecene)、杨梅黄酮、肉豆蔻
酸、橙花醛、橙花醇、橙花叔醇、烟酸、镍、油酸、草酸、p-香豆酸、
P-伞花炔、p-羟基苯甲酸、棕榈酸、泛酸、paradol、广藿香醇、苯基
丙氨酸、五羟黄酮、核黄素、硒、莽草酸、萜品烯-4-醇、硫胺素、色
氨酸、香草酸、香草醛、锌和姜油酮。而且，还可以使用两种或更多
20 种这些活性化合物的混合物。

15

可以从姜获得的本发明组合物的第一个成分可以多种形式掺入本
发明的抗微生物组合物中，所述方式包括提取物，诸如姜粉提取物、
姜液提出物，包括姜根粉的姜粉，和一种或多种姜的活性化合物、部
分或者整个姜植株、其酹剂及其混合物。优选地，本发明的抗微生物
20 组合物的第一个成分选自姜提取物和姜根粉。

20

每克本发明的抗微生物组合物优选地包含大约 30mg 至大约
150mg 的姜根粉。最优选地，每克的抗微生物组合物包含大约 50mg
至大约 110mg 姜根粉。这些范围利用购自 Stryka Botanics 的姜根粉末
25 作为摄取制剂，以及购自 Kalsec, Inc. of Kalamazoo, Michigan 的姜提
取物 K (Aquaresin Ginger) 作为喷物剂的基准。

25

在这里给出的各种成分的量是参照组分中的一种形式，即姜根
粉。如果某种成分以另一种形式存在，那么要使用的量将提供与此处
30 给定量的那种成分的量相同量的一种或多种活性化合物。例如，如果

30

使用姜的酞剂，所用酞剂的量将提供与上面指定的姜根粉所提供的量相等的一种或多种活性化合物。这种限定适用于此处已经给定量的某一特定形式的成分所有成分。

5 本发明的抗微生物组合物的第二种成分可以获自绿茶。从绿茶中获得的第二种成分可能具有一种抗氧化剂的活性。

10 绿茶是灌木茶（*Camellia sinensis*）的干叶和叶芽。主要产自中国和日本。干茶叶主要由已知为多酚的植物化合物（大约 36%），主要的黄酮醇（包括儿茶酚）、类黄酮、和黄酮二醇构成。这种叶子还含有包含咖啡因、可可碱和茶碱的植物生物碱（大约 4%）。对绿茶的许多研究已集中在其预防癌症的效能上。研究认为绿茶中的多酚是化学预防作用的原因（E. Kaegi, *Canadian Medical Association Journal*, 1998, 158 : 1033-35）。绿茶的药理活性主要归功于其活性化合物。

15 用于本发明的绿茶的活性化合物包括但不限于黄酮醇、儿茶酚、类黄酮、黄酮二醇、植物生物碱、咖啡因，可可碱、茶碱、酚酸、蛋白质、碳水化合物和矿物质。

20 可从绿茶获得第二种成分可以以绿茶粉、绿茶提取物，诸如绿茶粉提取物、绿茶液体提取物、以及绿茶的一种或多种活性化合物、部分或者整株绿茶植物体、绿茶叶子、其酞剂或者其混合物的形式包括在所述抗微生物的组合体内。优选地，本发明的抗微生物组合物的第二种成分选自绿茶叶、绿茶粉和绿茶提取物。更优选地，本发明的抗微生物组合物的第二种成分是绿茶提取物。

25 每克本发明的抗微生物组合物优选地包含大约 5mg 至大约 20mg 的绿茶提取物。最优选地，每克的抗微生物组合物包含大约 7mg 至大约 15mg 绿茶提取物。这些范围利用购自 Stryka Botanics 的绿茶作为摄取制剂，以及购自中国长沙 Phytoway 公司的绿茶提取无作为喷物剂

30 剂的基准。

同样优选地，本发明的抗微生物组合物包括以安全和有效量存在的从姜黄获得的一种或多种成分作为任选成分，以提供一个或多个此处所述的有益效果。

5

姜黄 (*Curcuma longa*) 或者 Hindi 的 Haldi 被广泛用作药物以及印度烹调用的普通成分。姜黄的根茎作为一种细粉用于药物和食物。

10

在 Srimal 和 Dhawan 的二阿魏酰基甲烷，一种非甾体类的消炎剂的药理学 (Pharmacology of Diferuloyl Methane, a Non-steroidal Anti-inflammatory Agent) J. Pharm. Pharmac., 25:447-452(1973)中报到了从姜黄分离的姜黄素的抗炎效果。Arora 等人(Indian Journal of Medical Research, 1971,59,1289-1291)观察到姜黄素显著的抗炎活性可与苯基丁氮酮和氢化可的松相媲美。(Indian Journal of Medical Research, 15 1971, 59, 1289-1291)。姜黄素，一种从姜黄的乙醇提取物中分离的生物碱 (二阿魏酰基甲烷) 已经显示为一种有效的抗炎剂。Thatte 等人(Indian Journal of Pharmacology, 1986, 18 (1), 19-21)还进行了抗炎和抗关节炎活性的其它研究。已经发现姜黄在急性和慢性模型中都具有显著的抗炎活性。如果单独使用，达到最佳活性的姜黄的治疗剂量所报道的范围为每日大约 5 至大约 10 克的干粉 (Patwardhan, 美国专利 5,494,668)。然而这个剂量水平可以引起恶心的感觉。

20

25

30

姜黄素不仅具有抗炎特性而且具有抗氧化、抗肿瘤及其有价值的特性。低浓度使用时，姜黄素可抑制氧化氮合酶 (NOS) 并因此抑制氧化氮产生。例如，Brouet 等人(Biochem. Biophys. Res. Commun, 1995, Jan. 17; 206(2)533-40)已经报道了在存在姜黄素 (10mM) 的条件下激活 6-24 小时巨噬细胞的可溶性提取物中 NOS 的活性比不用姜黄素激活的巨噬细胞的可溶性提取物中的活性显著降低。Northern 印迹法和免疫印迹法分析显示可诱导的 NOS 的 mRNA-和 130k Da 蛋白质在姜黄素激活的巨噬细胞与无姜黄素激活巨噬细胞相比表达水平显著降

低。当姜黄素连同脂多糖(LPS)和干扰素- γ (IFN- γ)一起加入时 NOS 诱导的抑制是最大的, 并且随着姜黄素和 LPS/IFN- γ 之间的间隔增加到 18 小时而显著地减小。

5 姜黄根茎的这种黄色色素由三种称为姜黄素类化合物组成。这三种姜黄素类化合物为姜黄素(二阿魏酰基甲烷)、脱甲氧姜黄素(羟基肉桂酰基阿魏酰基甲烷)、和双-脱甲氧姜黄素(二羟基二肉桂酰基甲烷)(参见通过色谱方法和显微镜方法进行药物分析(Drug Analysis by Chromatography and Microscopy, 169, Ann Arbor Science Inc. , 1973)。
10 姜黄(*Curcuma longa*)精油主要地由以下化合物组成:右旋樟脑(大约 1%)、环 isoprenemyrcene(大约 85%)与对--甲苯基甲醇(大约 5%),
(参见 E. Gunther, The Essential Oil, pp. 123-4, Van NOSTRAND CO.,1955)。

15 从姜黄中获得的本发明组合物的任选成分优选地包括姜黄素类化合物, 诸如二阿魏酰基甲烷)、脱甲氧姜黄素(羟基肉桂酰基阿魏酰基甲烷)、和双-脱甲氧姜黄素(二羟基二肉桂酰基甲烷)、和两个或更多种这些姜黄素类化合物的混合物。

20 适于从姜黄分离姜黄色素类化合物的方法是已知的(参见 Janaki 和 Bose 的, 从姜黄分离姜黄素的改良方法(An Improved Method the Isolation of Curcumin From Turmeric, J Indian Chem. Soc. 44: 985 (1967))。或者, 用于本发明的姜黄色素类化合物可以通过合成方法制备。

25 可以从姜黄中获得的可选择成分可以许多不同的方式掺入到本发明的组合物中。那些不同的形式优选地包括姜黄的提取物, 诸如姜黄粉提取物、姜黄液体提出物、一或多种姜黄色素类化合物、以及姜黄粉、部分或者整株姜黄植物体、其溶剂及其混合物。更优选地, 从姜
30 黄获得的可选择成分是姜黄提取物。

当使用从姜黄获得的任选成分时，每克本发明的这种抗微生物组合物优选地包含大约 5mg 至大约 20mg 的姜黄粉提取物。最优选地，每克的这种抗微生物组合物包含大约 7mg 至大约 15mg 的姜黄粉提取物。这些范围基于使用 95%的姜黄提取物，例如 Pharmline Inc.的摄取制剂中和姜黄根提取物(姜黄油树脂)例如 Kalsec,Inc. Kalamazoo, Michigan 在喷雾剂中。

可从姜和绿茶及任选地姜黄中获得的本发明的抗微生物的组合物的成分可以姜黄粉、姜粉和绿茶粉的形式加以利用，每一种可以分别从姜黄的根茎、姜根和绿茶叶子磨碎制成。对于合成途径已知的姜、绿茶或者姜黄的特定活性化合物可以进行合成。如果需要，可以按如下所述制备植物提取物。或者，姜黄粉、姜粉、绿茶粉和/或一个或多个其中包含的活性化合物可从商业来源诸如 PA 费城德拉沃公司 (Delavau Co. of Philadelphia, PA) 购得。

可用于本发明组合物中的植物提取物，例如姜黄提取物、姜提取物和绿茶提取物可以利用通常的提取程序生产。或者，这种提取物可从商业来源购得诸如的费城的 Delavau Co.。通常合适的提取过程包含这些步骤：

- 1) 洗净将从其中获得药学或者生物学活性植物提取物的植物以除去其上的所有异物；
- 2) 粒化所述植物直至获得具有从 0.001 至大约 10 立方毫米范围大小的颗粒；
- 3) 将这种颗粒物质置于至少一种极性溶剂与至少一种非极性溶剂中以获得可溶于各自溶剂的植物提取物的分离级分并混合获得的这些级分以获得本发明的有益植物提取物。

例如，以姜黄为例，这种加工包含如下步骤：

- 1) 洗净姜黄的根以除去其上的所有异物；

2) 颗粒化所述根以获得一个具有从 0.001 至大约 10 立方毫米范围大小的颗粒物质;

3) 将所述颗粒物质进行蒸馏以从所述颗粒物质获得存在的挥发性级分;

5 4) 在极性溶剂诸如水中蒸煮这种经蒸馏的颗粒物质以溶解蒸馏-处理的颗粒物质中的物质以获得第一溶液和第一残余物;

5) 从第一残余物中过滤第一溶液;

6) 蒸发从第一溶液中获得的滤液以除去溶剂并获得从颗粒物质中获得的命名为组分 A 的溶解物;

10 7) 将第一残余物用第二极性溶剂诸如 75% 至 95% 的乙醇处理 12 至 36 小时以获得第二溶液和第二残余物;

8) 从第二残余物过滤第二溶液以获得第二滤液;

9) 蒸发第二滤液以除去其溶剂并获得从颗粒物质中获得的命名为组分 B 的溶解物;

15 10) 将第二残余物置于弱极性或者非极性的溶剂中, 诸如石油醚, 12 至 36 小时以获得第三溶液和第三残余物, 并从第三残余物过滤第三溶液以获得第三滤液;

11) 蒸发第三滤液以除去其溶剂并获得从颗粒物质中获得的命名为组分 C 的溶解物;

20 12) 将挥发性级分与从颗粒物质获得的 A、B 和 C 组分均匀混合以获得有益的植物提取物。

所述过程适于从上述任一植物将药理学或者生物学活性的植物提取物制备成方便给药的剂型。

25

用于提取姜黄的溶剂包括水、乙醇、丙醇、石蜡、己烷、石油醚、甲苯、丙酮、甲基乙基酮、及其他常见的有机溶剂。水、乙醇与石油醚是适于提取姜黄的优选溶剂。用于提取姜的溶剂包括水、乙醇、丙醇、石蜡、石油醚、己烷、甲苯、丙酮、甲基乙基酮、及其他常见的有机溶剂。乙醇、水和丙酮是适于提取姜的优选溶剂。

30

本发明的抗微生物组合物可以用于治疗微生物感染，因为正如本申请的实施例所证明本发明的组合物具有抗微生物的特性。本发明的抗微生物组合物也可以用作治疗组合物，通过施用于患有以下列症状或者疾病的病人治疗一或多种微生物感染症状，包括咽喉痛、充血、喉炎、粘膜炎、和/或子宫内膜炎。

可由本发明的抗微生物组合物抑制的病毒包括，除其它病毒以外的鼻病毒、呼吸道合胞病毒（RSV）、疱疹病毒、流感病毒、HIV 病毒和西尼罗河病毒。

在优选实施方案中，由本发明抗微生物组合物抑制的病毒至少包括人鼻病毒 16、埃尔普 I 病毒（HSV-1）、流感 A/Moscow/10/99 与 B/Guangdong/120/00。

本发明的抗微生物组合物也可以用于治疗细菌感染诸如链球菌感染，与真菌感染，例如酵母菌诸如 *Candida* 的感染。

优选地，本发明的抗微生物组合物可以设计为下列剂型，包括但不限于胶囊、片剂、锭剂、药片、硬糖果、粉剂、喷雾剂、凝胶剂、酏剂、糖浆以及悬浮液或者溶液。本发明的抗微生物组合物也可以营养增补剂的形式给药，在这样情况下本发明的组合物可以是营养增补剂或者可以构成包含其他成分的营养增补剂的一部分。

本发明的抗微生物组合物也可与可接受的载体一起进行配制。可接受的载体包括不局限于：（a）碳水化合物，包括甜味剂、更优选地为果糖、蔗糖、糖、葡萄糖、淀粉、乳糖、麦芽糖、麦芽糖糊精、淀粉糖浆干粉、蜂蜜、甜味固形物、市售片剂、包括 EMDEX™、MOR-REX™、Royal-T™、DI-Pac™、Sugar-Tab™ Sweet-Rex™ 与 New-Tab™ 的营养增补剂；（b）糖醇，包括甘露糖醇、山梨糖醇与木

糖醇；以及（c）各种相对不溶解的赋形剂，包括磷酸二钙、硫酸钙、碳酸钙、微晶纤维素及其他片剂成分。

本发明至的锭剂、片剂和药片可以在形状、大小与制造工艺方面有所不同。至于口服使用的片剂，适于，可接受的载体可以另外包括乳糖与玉米淀粉。包括例如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠与滑石的润滑剂也可以加入到片剂中。片剂也可以包含诸如柠檬酸钠、碳酸钙与磷酸钙的赋形剂。也可以使用分解剂诸如淀粉、藻酸与复合硅酸盐。片剂还可以包括诸如聚乙烯吡咯烷酮、明胶、PEG-8000 与阿拉伯树胶的粘合剂。

至于适于口服使用的锭剂，常用的可接受载体可以另外地包括诸如 PEG-8000 的粘合剂。优选地锭剂重量为大约 0.1 至大约 15 克以在口服时提供合适的溶解率。更优选地，锭剂重量为大约 1 至大约 6 克。

为了制成可压缩的锭剂，可以将活性成分加入到 PEG-8000 加工的果糖中；或者抗微生物组合物的活性成分加入到结晶果糖市售的糖、诸如 Mendell' s SugartabTM、sweetrexTM、或者 EmdexTM 的直接压缩产物。若需要，诸如糖精的甜味剂可以加入，需要的调味品，诸如硅胶的助流剂，诸如硬脂酸镁的润滑剂可以加入。混合物应该保持干燥并在混合后快速制成片剂。利用传统药用混合和压片设备将所述成分混合并直接挤压成锭剂。挤压力要优选地足以产生遍及锭剂的最大硬度，以保持合适的溶解率并使锭剂的药效达到最佳。当口服时，锭剂的溶解应持续一段时间，大约为 5 至 60 分钟并且优选地大约为 20 至 30 分钟。本发明的抗微生物组合物优选地在密封的容器中以及凉爽闭光的地方贮存。

片剂与药片可利用类似于上述的方法制造伴有任选成分的微小改变。这样的改变在本领域普通技术人员熟知的技术范围内。

或者，本发明的抗微生物组合物可以与诸如水或者其它液体的溶剂或者分散剂以及任选地药用载体一起配制成诸如糖浆、漱口药、或者喷雾剂的液态形式用于在持续的时间段内将抗微生物组合物反复施用于口腔以及口咽粘膜。优选地，治疗时间为大约 5 至大约 60 分钟，并且更优选地为大约 20 至大约 30 分钟，以延长抗微生物组合物与口及咽喉组织的接触时间。或者，这种制剂可以是适于在使用前用水或者其他物质稀释的浓缩形式。

抗微生物组合物也可以配制成可咀嚼的形式，诸如软糖果、橡皮糖、充填液体的糖以及口香糖胶基、或者为诸如牙膏与漱口药的牙用产品的形式。在使用中，可咀嚼的组合物优选地在口腔中保持优选大约 5 至 60 分钟的持续时间，更优选地大约 20 至 30 分钟。牙用产品可以利用这种产品的常规方式加以利用。

本发明的抗微生物组合物可以配制成带有或者没有稀释剂的胶囊形式。对于胶囊而言，有用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。当使用悬浮液时，乳化剂和/或悬浮剂可以用于所述悬浮液中。此外，包括上述一种或多种锭剂成分的固体组合物也可用于软和硬明胶胶囊内。

本发明的抗微生物组合物也可以配制成鼻气雾剂或者吸入剂组合物。这种组合物可以利用众所周知的技术制备。对于这些类型的制剂，合适的载体可以包括以下成分：带有一种或多种防腐剂的盐、吸收促进剂以提高生物利用率、碳氟化合物、和/或传统的增溶或者分散剂。

可选择地包括在本发明抗微生物组合物中的其他物质包括白藜芦醇（三羟基 1,2-二苯乙烯）、肌醇、其他的 B 族-复合维生素、以及另外的抗炎物质。诸如甜味剂、香味素、着色剂、染料、防腐剂、乳化剂、悬浮剂、融解剂、赋形剂、缓和剂与诸如水、乙醇、丙二醇、甘油的溶剂或者稀释剂及其各种组合也可以包括在本发明的抗微生物组合物中。

5 可选择用于本发明的抗微生物组合物中的甜味剂包括但不限于糖精、天冬甜素、环己氨基磺酸盐、乙酰舒泛 K、新橙皮苷二氢查耳酮、其超级甜味剂及其混合物，所述甜味剂可以足够低的量加入到载体以免在化学上与所述微生物组合物的主要成分相互作用。

10 可选择用于本发明的抗微生物组合物的食用香料包括但不限于薄荷、薄荷醇、桉叶油素、冬青、甘草、丁香、肉桂、留兰香、樱桃、柠檬、橙、酸橙、薄荷醇及其各种组合。

15 优选地，那些可以来源于姜和绿茶的上述主要成分构成总组合物重量的大约 0.5%至大约 90%。更优选地，主要成分构成总组合物重量的大约 10%至大约 70%。最优选地，主要成分构成总组合物重量的大约 20%至大约 40%。

20 所述抗微生物组合物的非载体成分可以依据用于所述抗微生物组合物载体的量在本发明的抗微生物组合物中相应地增减，只要对所述抗微生物组合物的目标应用效果无显著影响，所述非载体成分包括上述可从姜黄、姜和绿茶获得的成分。

25 在另一个方面，本发明涉及通过给感染了微生物的病人施用本发明抗微生物组合物以减轻、治疗或者预防微生物感染的至少一个症状或者不良影响的方法，所述抗微生物组合物包括可从姜与绿茶中获得的成分。

30 在所述方法中，病人可以是人、体外细胞或者动物。优选地，病人为哺乳动物；更加优选地为人。在这种方法中，可通过施用本发明的抗微生物组合物被抑制病毒包括，连同其它病毒，鼻病毒、呼吸道合胞病毒（RSV）、疱疹病毒、流感病毒、HIV 病毒以及西尼罗河病毒。在一个优选实施方案中，通过施用所述抗微生物组合物被抑制的病毒

至少包括人鼻病毒 16、疱疹病毒 I (HSV-1)、流感 A/Moscow/10/99、与 B/Guangdong/120/00。本发明的抗微生物组合物也可以用于治疗细菌感染，诸如链球菌感染，以及真菌感染，例如酵母菌诸如 *Candida* 感染。

5

可通过本发明的这种方法治疗、减轻、或者至少部分预防的由微生物感染所引起的症状可以包括一种或者多种头痛、关节疼痛、发烧、咳嗽、打喷嚏、肌肉疼痛、流鼻涕、口干、眩晕及其他与微生物感染有关的症状。

10

所述抗微生物组合物的有效量会依据下列因素而改变，诸如所治疗的病人、给药的特定方式、所使用的特定活性成分的活性、年龄、体重、一般的健康情况、病人的性别与饮食、给药时间、排泄率、所利用成分的特定组合、组合物主要成分的总量以及疾病或者症状的严重性。在本领域普通技术人员所考虑的范围内。

15

根据需要，抗微生物组合物可以每天施用大约 1 至大约 15 次，如需要，更优选地为每天大约 2 至大约 12 次或者如需要，或者最优选地为每天大约 6 至大约 10 次。本发明的抗微生物组合物可以包括但不限于下列剂型的任一可接受的剂型进行给药：片剂、胶囊、锭剂、药片、硬糖果、粉剂、口部喷雾剂、鼻喷入剂、凝胶剂、酏剂、糖浆、可咀嚼的组合物、牙用相关产品、悬浮液及溶液。

20

抗微生物组合物的每一剂量包含安全及有效量的本发明抗微生物组合物。适于每一治疗给药的有效量包含总共大约 0.1 克到大约 1 克可以从姜与绿茶中获得的成分。更优选地，适于每一治疗给药的抗微生物组合物的有效量包含总共大约 0.2 克到大约 0.5 克可以从姜与绿茶中获得的成分。依照本发明的方法所施用的这种组合物的各种成分的量与上述本发明组合物的施用量相同。

25

30

优选地，在所述抗微生物组合物的任一口服给药期间，这种组合
物在口中保持至少大约 5 至大约 60 分钟使所述抗微生物组合物的主
要成分在其完全溶解之前与口腔组织或者咽喉接触。更优选地，这种
抗微生物组合物在口中保持至少大约 15 至大约 30 分钟。

5

下列优选范围定义的本发明的组合物适用于根据本发明方法中的
喷物剂的给药。

根据本发明的方法以喷雾剂给药的每克的这种抗微生物组合物优
选地包含大约 1mg 至大约 10mg 的 aquqresin 姜。最优选地，每克的
这种抗微生物组合物包含大约 3mg 至 7mg 的 aquqresin 姜。

10

根据本发明的方法以喷雾剂给药的每克这种抗微生物组合物优选
地包含大约 1mg 至大约 20mg 的绿茶叶提取物。最优选地，每克的抗
微生物组合物包含大约 7mg 至大约 15mg 的绿茶叶提取物。

15

当使用源自姜黄的任选成分时，根据本发明的方法以喷雾剂给药
的每克这种抗微生物组合物优选地包含大约 1mg 至大约 12mg 的可溶
解的姜黄油树脂。最优选地，每克的这种抗微生物组合物包含大约 4mg
至大约 9mg 的可溶解的姜黄油树脂。

20

如上所述，本发明的这种组合物可以包括但不限于下列口服剂型
的形式给药：片剂、胶囊、锭剂、药片、硬糖果、粉剂、口部喷雾剂、
鼻喷入剂、凝胶剂、酏剂、糖浆、可咀嚼组合物、牙用产品、悬浮液
以及溶液。

25

本发明将通过如下实施例进行进一步地说明，所述实施例不应看
作以任何方式对本发明进行限制。本发明的范围将通过附属权利要求
进行限定。实施例 1 本发明的抗微生物组合物。

30

利用上述方法配制锭剂形式的本发明的抗微生物组合物。所述锭剂的成分列举如下：

糖	1g
滑榆树皮	118mg
姜黄抽提物（5%姜黄素）	18mg
姜根	140mg
辣根	70mg
绿茶叶提取物（30%儿茶素与多酚）	14mg

实施例 2 -咽喉痛的治疗

5 患有咽喉痛的七个病人每人每两个小时通过将锭剂保持在其口腔内大约 15-30 分钟直到所述锭剂完全溶解，摄入实施例 1 配制的锭剂。在任一给定天，没有病人服用超过 10 锭的剂量量。

10 受到治疗的病人报告在咽下从 2 到 20 个锭剂后他们的咽喉痛症状完全减轻。同时发现每一锭剂可以使喉咙痛减轻达 6 小时。

实施例 3-抗微生物组合物的杀病毒活性的体外试验

15 在这个实施例中应用的杀病毒活性的体外试验方案运用人鼻病毒 16（此后称作“HRV-16”）作为目标病毒，以及由 Jacobs 等人在“人双倍体 MRC-5 的特征（Characteristics of Human diploid MRC-5, Nature(London), 227, P168-170 (1970)）中描述的与人组织相关的 MRC-5 细胞系，作为这种 HRV-16 病毒的宿主细胞。试验物质与病毒温育后残余的病毒感染活性通过显微镜观察肉眼记录由病毒复制诱导的细胞致病作用（CPE）在 MRC-5 细胞上测定鼻病毒生长的滴度。更
20 具体地说，通过观察 MRC-5 培养物中气球样/圆细胞记录 CPE。

为确定这种杀病毒的活性，应用实施例 1 的抗微生物组合物（此后称作“物质 1”）用生理盐水最初以 1/20 的稀释度然后通过系列稀释法进行进一步稀释。这种稀释的组合物与 HRV-16 一同温育预定的时

间段，然后将通过细胞感染的培养基调节至中性 pH 值终止反应。然后将得到的溶液以 1/10 的稀释度跨越平进行细胞的感染来测定 MRC-5 细胞的滴度。每一平板装有仅仅包含感染 HRV-16 的 MRC-5 细胞的病毒对照，以及仅含有未感染的 MRC-5 细胞的细胞对照。

5

所述平板在感染之后再温育 4 天。残余病毒的感染活性利用上述讨论的测定法进行测量。从表 1-4 显示的结果显示，平板上所有的对照都发挥作用。

10

从所述试验可以作出结论，物质 1 在 1/20 的稀释度 1 分钟的温育时间可有效降低 HRV 16 病毒 log 值 1.5(-log 10 TCID50)。物质 1 的 1/40 的稀释同样在 1 分钟温育期导致的 log 值减小 1.00。2-分钟和 5-分钟的温育期之后实现 HRV-16 滴度的 log 值减少 1/2。因此这些结果倾向显示物质 1 和 HRV-16 的 1 分钟接触时间将导致最有效的病毒滴度减小。

15

表 1 显示了物质 1 不同稀释度，在一个终止时间点，在 MRC-5 细胞上的残余病毒滴度和感染鼻病毒 16 的 log 减小值。

20

表 1

稀释度	等渗溶液中物质 1 的 PH 值	终止溶液的 PH 值	病毒对照 (TCID50)	1 分钟温育时间	
				残余病毒滴度 (TCID50)	Log 减少量 (TCID50)
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

表 2-4 显示，在不同稀释度物质 1 在三个不同的终止时间点，于 MRC-5 细胞上残余病毒滴度以及传染性 HRV-16 的 log 减少值的第二

个试验的结果。

表 2

物质 1 稀释度	HRV-16 对照滴度 (TCID50)	1 分钟温育时间	
		残余 HRV-16 的滴度 (TCID50)	HRV-16 的 log 减少值 (TCID50)
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

表 3

物质 1 稀释度	HRV-16 对照滴度 (TCID50)	2 分钟温育时间	
		残余 HRV-16 对照 滴度 (TCID50)	HRV-16 的 log 减少值 (CID50)
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

5

表 4

物质 1 稀释度	HRV-16 对照滴度 (TCID50)	5 分钟温育时间	
		残余 HRV-16 对照 滴度 (TCID50)	HRV-16 的 log 减少值 (TCID50)
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

利用 Vero 细胞作为宿主细胞，使用包括 Herpes I 病毒（HSV-1）的其它病毒，利用 MDCK 细胞作为宿主细胞，使用流感 A/Moscow/10/99，和 B/Guangdong/120/00 进行物质 1 的类似杀病毒的试验。这些杀病毒的试验结果总结在以下表 5-13 中。

5

表 5-7 显示物质 1 在不同的稀释度，三个不同的终止时间点，Vero 细胞上传染性鼻病毒 16 的残余病毒滴度以及 log 减少值。

表 5

物质 1 的稀释度	HSV-1 的对照滴度(-log10TCID50)	1 分钟温育时间	
		残余 HSV-1 滴度 (-log10TCID50)	HSV-1 的 log 减少值 (-log10TCID50)
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

10

表 6

物质 1 的稀释度	HSV-1 对照滴度(-log10TCID50)	2 分钟温育时间	
		残余 HSV-1 滴度 (-log10TCID50)	HSV-1 的 log 减少值 (-log10TCID50)
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

表 7

物质 1 的稀释度	HSV-1 的对照滴度(-log10TCID50)	5 分钟的温育时间	
		残余 HSV-1 滴度 (-log10TCID50)	HSV-1 的 log 减少值 (-log10TCID50)
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

表 8-10 显示物质 1 在不同的稀释度，三个不同的终止时间点，流感 A/Moscow/10/99 的残余病毒滴度和对数减少值。

5

表 8

物质 1 的稀释度	A/Moscow 的病毒滴度(-log10TCID50)	1 分钟温育时间	
		残余 A/Moscow 滴度 (-log10TCID50)	A/Moscow 的 log 减少量 (-log10TCID50)
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
柠檬酸盐缓冲液	2.80	1.80	1.00

表 9

物质 1 稀释度	A/Moscow 对照滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	2 分钟温育时间	
		残余 A/Moscow 滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	A/Moscow 的 log 减少值 (-log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	2.80	1.80	1.00

表 10

物质 1 稀释度	A/Moscow 对照滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	5 分钟温育时间	
		残余 A/Moscow 滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	A/Moscow 的 log 减少值 (-log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	2.80	0.00	2.80

B/Guangdong/120/00 的残余病毒滴度和对数减少值。

表 11

物质 1 的稀释度	B/Guangdong 病毒滴度(-log10TCID50)	1 分钟温育时间	
		残余 B/Guangdong 滴度 (-log10TCID50)	B/Guangdong 的 log 减少值 (-log10TCID50)
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
柠檬酸盐缓冲液	1.80	0.00	1.80

5

表 12

物质 1 稀释度	B/Guangdong 的对照滴度(-log10TCID50)	2 分钟温育时间	
		残余 B/Guangdong 滴度 (-log10TCID50)	B/Guangdong 的 log 减少值 (-log10TCID50)
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
柠檬酸盐缓冲液	1.80	0.00	1.80

表 13

物质 1 的稀释度	B/Guangdong 的病毒滴度 (-log10TCID50)	5 分钟温育时间	
		残余 B/Guangdong 滴度 (-log10TCID50)	B/Guangdong log 减少值 (-log10TCID50)
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
柠檬酸盐缓冲液	1.80	0.00	1.80

在表 1－13 中，TCID50=-log TCID50。

5

从上面的结果可以看出，物质 1 可以有效抑制或者消灭流感病毒和人鼻病毒。因此，物质 1 能有效治疗流感和普通感冒。

实施例 4 抗微生物组合物抑制病毒活性的体外研究

10

本实施例实行的关于杀病毒活性的体外试验方案利用人鼻病毒 16（HRV-16）作为靶病毒，人组织相关的鼻病毒敏感的 Hela 细胞作为 HRV-16 的宿主细胞，由 Conant 等人在 Basis for a numbering system. I. Hela cells for propagation and serologic procedure , J. Immunol., 100, P107-113 (1968)中描述。

15

实施例 1 的抗微生物组合物，物质 1，以下列稀释度: 1/20、1/40、1/80、1/160、与 1/320 溶于感染培养基。在 37°C(5% CO₂)将稀释物培养在 MRC-5 细胞的平板上温育 30 分钟。培养期过后，平板的孔内带

有 MRC-5 细胞的每一物质 1 的稀释物以已知的滴度 2.30 (-log 10 TCID50) 接触 HRV-16。每一平板放置病毒对照(感染 HRV 16 病毒的 Hela 细胞并且不存在物质 1)，细胞对照（仅有 Hela 细胞）以及不同稀释度的试验化合物对照（仅有 Hela 细胞与试验物质）。平板上的全部其他样本包含感染 HRV-16 病毒的 Hela 细胞以及不同稀释度的物质 1。平板在感染后继续培养 4 天。

残余病毒感染在温育试验物质 1 和病毒后，利用下列方法，通过测定由病毒诱导的细胞致病作用（CPE）在 Hela 细胞上鼻病毒的生长滴度测定残余病毒的感染活性。

在与物质 1 一起温育后残余的活 hela 细胞用结晶紫溶液染色。多余的结晶紫通过洗涤除去并且利用甲醇与乙酸的混合物来溶解被这种结晶紫染色的细胞。然后在酶联免疫吸附测定板记录仪中测定溶液的在 540 nm 处的吸光度。病毒诱导的 CPE 水平与吸光度成反比。

从结晶紫测定法获得的结果可以通过公式 $y=mx+c$ 确定毒性浓度以及物质 1 的有效浓度，公式中 x 相当于物质 1 的稀释度而 y 相当于物质 1 对这种细胞的毒性百分比。由此公式，TC50（物质 1 对所述细胞显示 50%毒性的浓度）是物质 1 的 1/571 的稀释度。

这个结果与物质 1 在不同稀释度时细胞存活百分比紧密相关，同样利用结晶紫试验进行测量，结果如下表 14 所示。

表 14

无病毒的物质 1 的稀释度	存活细胞的 %
1/320	89.7
1/160	94.6
1/80	97.6
1/40	109.3
1/20	168.2

利用相同的方程式，其中 x 仍然相当于物质 1 的稀释度而 y 相当于在病毒存在条件下物质 1 的百分比效力，EC50（试验物质在病毒存在条件下显示 50%效力的浓度)在物质 1 的 1/91 的稀释度条件下进行确定。这个结果与利用结晶紫方法测定的物质 1 在不同稀释度时存活细胞的百分比密切相关，结果如下表 15 所示。

表 15

存在病毒的物质 1 稀释度	活细胞的%
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

在表 14 和 15 中，存活细胞的%=(仅有化合物/仅有细胞)×100；
活细胞%=(仅有细胞-化合物+病毒)/(仅有细胞-仅有病毒)×100。

“仅有化合物”表示仅包含有 Hela 细胞和预定稀释度物质 1 的孔的测量结果。

“仅有细胞”表示包含仅有未感染 Hela 细胞的孔的测量结果。

“化合物+病毒”表示包含感染有 HRV-16 病毒的 Hela 细胞和预定稀释度的物质 1 的孔的测量结果。“仅有病毒”表示包含仅仅感染有 HRV-16 的 Hela 细胞的孔的测量结果。

实施例 5 本发明的一种抗微生物的锭剂
根据下列配制制备的抗微生物锭剂。

1) 葡萄糖	865.0mg
2) 滑榆树皮	150.0mg
3) 硬脂酸	75.0mg
4) 姜根	105.0mg (儿童) 或者 140.0mg (成人)
5) 辣根	70.0mg
6) 天然甜味调料	40.0mg
7) 姜黄提取物 5%姜黄素	15.0mg
8) 绿茶叶提取物 (36%C&P)	14.0mg
9) 二氧化硅	14.0mg
10) 硬脂酸镁	12.0mg
11) 三氯半乳蔗糖/Splenda	4.0mg
片剂重量:1364.0mg	

注意: 此处所用 C&P 意指“儿茶酚和石炭酸”。

实施例 6 本发明的抗微生物喷雾剂

5 根据下列配制制备的抗微生物喷雾剂。

1) 滑榆树皮浸膏	18.52mg
2) 可溶解的姜黄油树脂 (约 8.5%姜黄素)	8.82mg
3) Aquaresin 姜	7.0mg
4) 辣根调味品 WONF	0.62mg
5) 绿茶叶子比色结果为 PE50%	14.0mg
6) 天然甜味调料	40.0mg
7) 乙醇 (95%) @5%	68.2mg
8) 甘油	603.42mg
9) 蒸馏水	603.42mg
总重量	1364.0 mg

实施例 7 抗微生物的锭剂的体外试验

对实施例 5 的抗微生物锭剂对流感病毒株 A/New Caledonia/20/99 (H₁N₁)、A/Panama 2007/99 (H₃N₂) 和 B/Guangdong/120/00) 感染的 MDCK 细胞的杀病毒和阻止病毒生长的活性进行体外研究。

5 在杀病毒活性时对这种锭剂在 1/10、1/20、1/40、1/80、1/160、1/320、和 1/640 的稀释度进行了试验。用生理盐水等渗溶液(Normasol) 稀释这种锭剂。每一稀释度在这种锭剂与每一病毒接触 1、2、和 5 分钟的终点进行检测。用 1.8 毫升的 0% FBS 细胞培养基终止这种反应。

10 这个实施例株的 log 减小值记录为 -log 10 TCID₅₀ 并且利用 Karber 方程式进行计算。

表 16-不同的稀释度在 1-分钟终止时间点后传染性 A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

15

稀释度	A/New Caledonia 病毒滴度(-log10 TCID ₅₀)	1 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log10TCID ₅₀)	病毒 log 减少值 (-log10TCID 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
柠檬酸盐缓冲液	2.80	1.80	1.00

表 17-在不同的稀释度 2-分钟终止间点后传染性 A/New

Caledonia/20/99 (H1N1) 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	A/New Caledonia 病毒滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	2 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减少值 (-log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	2.80	1.80	1.00

表 18- 在不同的稀释度 5-分钟终止时间点后传染性 A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	A/New Caledonia 病毒滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	5 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减少值 (-log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	2.80	1.80	1.00

表 19- 在不同的稀释度 1- 分钟终止时点后传染性 A/Panama/2007/99 (H3N2) 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	A/Panama 病毒滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	1 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减少值 (-log ₁₀ TCID ₅₀)
1/10	4.80	3.80	1.00
1/20	4.80	3.80	1.00
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
柠檬酸盐缓冲液	4.80	0.00	4.80

5

表 20-在不同的稀释度 2-分钟终止点后传染性 A/Panama/2007/99 (H3N2) 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	A/Panama 病毒滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	2 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减少值 (-log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	4.80	2.30	2.50

10

表 21- 在不同的稀释度 5- 分钟终止时间点后传染性 A/Panama/2007/99 (H3N2) 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	A/Panama 病毒滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	5 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减小值 (-log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	4.80	2.80	2.00

5

表 22-在不同的稀释度 1-分钟终点后传染性 B/Guangdong/120/00 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	B/Guangdong 病毒滴度(-log ₁₀ TCID ₅₀)	1 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减小值 (-log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	3.30	0.00	3.30

表 23-在不同的稀释度 2-分钟终点后传染性 B/Guangdong/120/00 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	B/Guangdong 病毒 滴度(- log ₁₀ TCID ₅₀)	2 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减少值 (- log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	3.30	0.00	3.30

5

表 24-在不同的稀释度 5-分钟终点后传染性 B/Guangdong/120/00 病毒的残余病毒滴度和 log 减小值。

稀释度	B/Guangdong 病毒 滴度(- log ₁₀ TCID ₅₀)	5 分钟温育时间	
		残余流感病毒滴度 (-log ₁₀ TCID ₅₀)	病毒 log 减少值 (- log ₁₀ 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
柠檬酸盐缓冲液	3.30	0.00	3.30

在杀病毒试验中，一种已知滴度的流感病毒用作病毒对照；这个对照与试验化合物 QR-435 一样经历相同的过程。全部平板上的流感病毒与病毒对照的滴度均一致地大于 2.5 ($-\log_{10} \text{TCID}_{50}$)。

5 实施例 8 抗微生物喷雾剂的体内试验

在感染流感病毒株 A/Sydney 5/97 (H3N2) 5 分钟以前，四组六只野生雪貂接受鼻内剂量的实验或者对照化合物。阴性对照组接受磷酸盐缓冲液 (PBS) 空白对照剂。阳性对照组用 Tamiflu™ (oseltamivir 磷酸盐，从 Nutley, NJ 的 Roche 实验室获得) 来处理。一个实验组用
10 实施例 6 的鼻喷雾剂处理，而另一个实验组用不包含绿茶提取物的相似的鼻喷雾剂处理。在初使化之后，每天两次用它们的指定组合物给雪貂用药。

在 PBS 处理对照组的雪貂显示感染上流感 A 雪貂的全部典型症状，包括体重减轻、发烧、炎症细胞数增加，并且在感染之后的第一天排泄出病毒。在 Tamiflu™ 处理的对照组雪貂没有经历体重减轻，
15 没有排泄出病毒，经历了炎症细胞数增长的减少、并且没发生发热。

实施例 6 的试验制剂与这种类似的不包含绿茶提取物的鼻喷雾剂
20 都提供一种低水平的一过性炎症细胞数的减少，发热进展得以抑制，并且推迟病毒排泄可能提示病毒的抑制。然而，用实施例 6 的鼻喷雾剂处理的雪貂同样显示一些体重减少症状的减轻。用实施例 6 的鼻喷雾剂处理的雪貂比用 Tamiflu™ 处理的雪貂更加有活力。

25 在不违反本发明的精神与范围条件下，可以对上述方法的运用以及上述本发明的组合物可以有所改变。意在说明上述说明书中的所有内容应该视为说明性的，并不是一种限制意义的。本发明的范围将根据附属权利要求进行确定。