



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년06월07일
(11) 등록번호 10-2405136
(24) 등록일자 2022년05월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/277 (2006.01) A61K 31/216 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01) A61K 31/4412 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) C12Q 1/18 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/277 (2013.01)
A61K 31/216 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7035245
(22) 출원일자(국제) 2015년05월18일
심사청구일자 2020년05월14일
(85) 번역문제출일자 2016년12월15일
(65) 공개번호 10-2017-0005110
(43) 공개일자 2017년01월11일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2015/053644
(87) 국제공개번호 WO 2015/173788
국제공개일자 2015년11월19일
(30) 우선권주장
92455 2014년05월16일 룩셈부르크(LU)
(56) 선행기술조사문헌
FEBS Letters, 561(1-3), 37-43, 2004.*
J. Immunol., 192, 4254-4262, 2014.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
아트리바 테라퓨틱스 게엠베하
독일, 72072 튀빙겐, 아이젠반스트라쎄 1
- (72) 발명자
에르하르트, 크리스티나
독일, 48159 뮌스터, 가젤스티그 44
루트비히, 스테판
독일, 48161 뮌스터, 본 에스마르흐 스트라쎄 56
- (74) 대리인
특허법인한일

전체 청구항 수 : 총 8 항

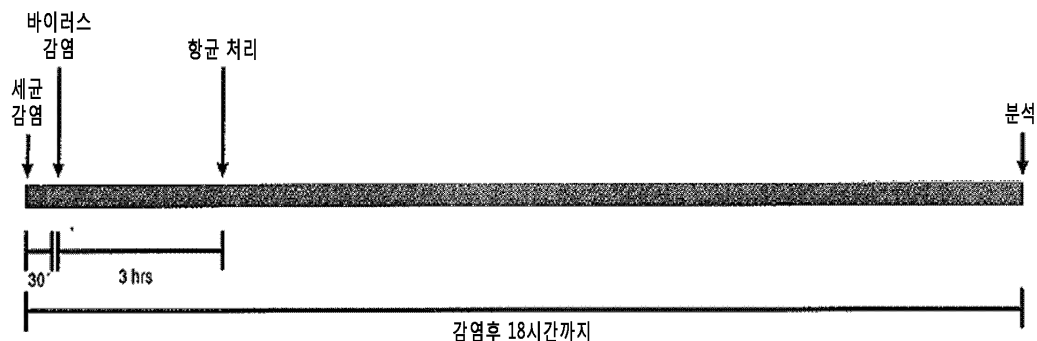
심사관 : 성선영

(54) 발명의 명칭 인플루엔자 바이러스 및 에스. 아우레우스 공감염에 대한 신규한 항-감염 전략

(57) 요약

본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염 또는 세균 감염 단독의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제에 관한 것이다. 또한, 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염 또는 세균 감염 단독의 예방 및/또는 치료에서 사용하기 위한 이러한 억제제를 포함하는 조성물이 제공되어 있다. 또한, 인플루엔자 바이러스 및 세균 또는 세균 단독으로 감염된 배양 세포를 포함하는 시험관내 시험 시스템이 제공되어 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/437 (2013.01)

A61K 31/4412 (2013.01)

A61K 31/4439 (2013.01)

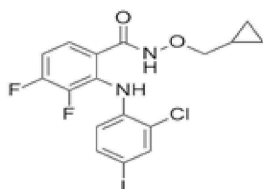
C12Q 1/18 (2013.01)

명세서

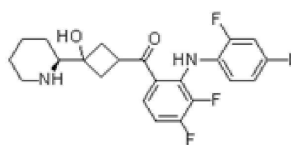
청구범위

청구항 1

세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염의 공-감염의 치료를 위한 방법에 사용하기 위한, MEK 억제제를 포함하는 조성물로서, 상기 MEK 억제제가 하기 구조식 I의 CI-1040 또는 하기 구조식 IV의 GDC-0973인, 조성물:



구조식 I



구조식 IV.

청구항 2

제1항에 있어서, 세균 감염이 스태필로코카세아에(Staphylococcaceae), 스트렙토코카세아에(Streptococcaceae), 레지오넬라세아에(Legionellaceae), 슈도모나다세아에(Pseudomonadaceae), 클라미디아세아에(Chlamydiaceae), 마이코플라스마타세아에(Mycoplasmataceae), 엔테로박테리아세아에(Enterobacteriaceae), 슈도모나달레스(Pseudomonadales) 및/또는 파스테우렐라세아에(Pasteurellaceae)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세균에 의해 매개되는, 조성물.

청구항 3

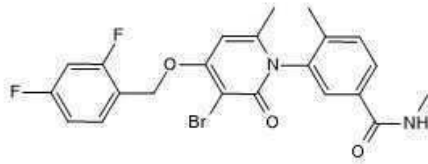
제1항에 있어서, 인플루엔자 바이러스 감염이 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스에 의해 매개되는, 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 인플루엔자 A 바이러스가 H1N1, H2N2, H3N2, H6N1, H7N7, H7N9, H9N2, H10N7, H10N8 또는 H5N1인, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, MEK 억제제가 p38 억제제 또는 NF- κ B 억제제와 조합되고, 여기서 상기 p38 억제제는 SB-202190(4-[4-(4-플루오로페닐)-5-(4-피리디닐)-1H-이미다졸-2-일]페놀), 로스마피모드(Losmapimod, GW856553), VX-702(6-[(아미노카보닐)(2,6-디플루오로페닐)아미노]-2-(2,4-디플루오로페닐)-3-피리딘카복사미드) 및 하기 구조식의 PH797804로 구성된 군으로부터 선택되고, NF- κ B 억제제는 LG-ASA(Lys-Gly-아세틸살리실레이트)인, 조성물:



청구항 6

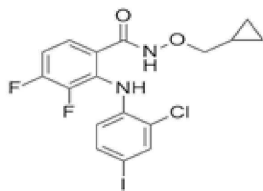
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, MEK 억제제가 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 하나 이상의 억제제와 조합되고, 여기서 상기 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 억제제가 오셀타미비르인, 조성물.

청구항 7

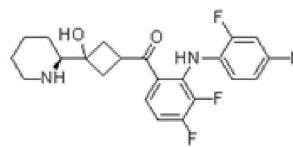
제6항에 있어서, MEK 억제제가 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 하나 이상의 억제제와 동시에, 이전에 또는 이후에 투여되는, 조성물.

청구항 8

세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염의 공-감염의 치료를 위한 방법에 사용하기 위한, MEK 억제제 및 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 억제제를 포함하는 조성물로서, 상기 MEK 억제제가 하기 구조식 I의 CI-1040 또는 하기 구조식 IV의 GDC-0973이고, 상기 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 억제제가 오셀타미비르인, 조성물:



구조식 I



구조식 IV.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염 또는 세균 감염 단독의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제에 관한 것이다. 또한, 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염 또는 세균 감염 단독의 예방 및/또는 치료에서 사용하기 위한 이러한 억제제를 포함하는 조성물이 제공되어 있다. 또한, 인플루엔자 바이러스 및 세균 또는 세균 단독으로 감염된 배양 세포를 포함하는 시험관내 시험 시스템이 제공되어 있다.

배경 기술

[0002] 인플루엔자 A 바이러스는 현저한 질병을 및 사망률을 제공하는 심각한 호흡 질환의 원인 물질이다. 인플루엔자 바이러스(IV) 감염의 과정에서 대부분의 치사 사례는 실제로 상이한 세균, 예를 들면, 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)(*S. aureus*), 스트렙토코쿠스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*) 및 헤모필루스 인플루엔자에(*Haemophilus influenzae*)에 의해 유발된 2차 폐렴의 결과이다[참조: Morens et al., 2008, Chertow et al., 2013]. 세균 공-감염의 가장 현저한 문제는 돌연한 병원성 증가[참조: Iwao et al., 2012, Paddock et al., 2012, Parker et al., 2012] 및 상이한 병원체에 대한 강력한 항-감염제의 제한된 무기이다. 인플루엔자 바이러스의 높은 변동성과 새로운 균주의 연속 출현[참조: Neumann et al., 2009, Taubenberger et al., 2010, Parry, 2013], 세균 균주의 특징[참조: Grundmann et al., 2006, Moran et al., 2006, Gillet et al., 2007, Shilo et al., 2011], 또한 이용가능한 약물/항생물질에 대한 인플루엔자 바이러스[참조: Hayden et al., 1992, Bright et al., 2006, Pinto et al., 2006, De Clercq et al., 2007, Pinto et al., 2007] 및 세균[참조: Grundmann et al., 2006, Moran et al., 2006, Shilo et al., 2011] 둘 다의 신속한 내성 발달은 불량한 치료 옵션에 대한 주요 이유이다. 더욱이, 인플루엔자 바이러스 및 세균에 의한 공감염의 치료가 지금까지 단일 화합물로 불가능하다는 것은 우연이다. 본 발명은 단일 약물을 사용함으로써 IV 및 에스. 아우레우스 공-감염에 대한 신규한 항-감염 전략을 제안한다는 점에서 이러한 문제를 해결한다. 더욱이, 본 발명은 세균 자체가 아니라 세포 인자를 표적화하는 약물을 제공함으로써 세균의 신속한 내성 발달의 문제를 해결한다.

발명의 내용

[0003] 기술적 과제는 특허청구범위에 반영되고 상세한 설명에 기재되고 실시예 및 도면에서 설명된 실시형태에 의해 해결된다.

[0004] 상기한 바와 같이, 본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제에 관한 것이다.

[0005] 또한, 본 발명은 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제에 관한 것이다.

[0006] 지난 세기에서 집중적 연구에도 불구하고, IV는 여전히 인류에 대한 심각한 위협을 나타낸다. 고령자 및 면역 부전 개인에 대해 특히 위험한 계절적 유행은 인플루엔자 A 또는 B 바이러스의 감염에 기인한 것이다.

[0007] 과거 수십년 사이에, IV로 동시에 감염된 유아 및 소아에서 특히 문제를 유발하는 메티실린-내성 에스. 아우레우스(*S. aureus*) 균주의 발생률이 증가하고 있다[참조: Iverson et al., 2011, Thorburn et al., 2012]. 세균

성 공-감염에 기인하여 발생하는 한 가지 주요한 문제는 급속하고 고도로 증가된 병원성이고, 이는 아마도 사이토킨 발현의 증가에 의해 유발되어 또한 조직 손상을 발생시킨다. 특히, 팬텀-발렌틴 류코시딘(PVL)-발현 에스. 아우레우스에 의한 공-감염시, PVL-매개된 호중구 사멸 후에 프로테아제의 조절되지 않은 방출에 기인하여 심각한 폐 상피 손상이 관찰된다[참조: Gillet et al., 2007, Niemann et al., 2012]. 세균 공-감염은 통상 IV 감염의 최초 6일 이내에 발생하여, 보다 극심한 질병, 폐렴 및 보다 높은 사망률을 발생시킨다[참조: Iverson et al., 2011, Chertow et al., 2013]. 그러나, 일부 경우에, 바이러스 감염이 이미 해소되는 것으로 생각될 때, 세균 공-감염이 나타난다. 바이러스/세균 공-감염의 치료를 위해, 제한된 가능성만이 존재한다.

[0008] 인플루엔자와 싸우기 위한 한 가지 유망한 항바이러스 전략은, 세포내 병원체로서 IV가 세포 시그널전달 메카니즘에 강력하게 의존한다는 사실에 기반한다[참조: Gong et al., 2009, Ludwig, 2009]. IV는 이의 자신의 목적을 위해 세포 인자를 빼앗는 능력을 획득했다[참조: Ludwig et al., 2003]. 추가로, IV는 이들의 숙주의 자연 면역 반응을 억제할 수 있다. 이들 의존성을 고려하면, 세포 바이러스-지원 기능은 신규한 항바이러스 개입을 위한 가장 유망한 후보이다[참조: Ludwig et al., 2003, Ludwig, 2011, Planz, 2013]. 지난해 동안, 본 발명자 등은 항-바이러스 접근법을 위한 적합한 표적으로서 Raf/MEK/ERK 분열촉진 키나제 캐스케이드[참조: Pleschka et al., 2001, Ludwig et al., 2004, Olschlager et al., 2004, Marjuki et al., 2006, Ludwig, 2009, Droebner et al., 2011], IKK/NF κ B 모듈[참조: Pleschka et al., 2001, Wurzer et al., 2004, Marjuki et al., 2006, Mazur et al., 2007, Ludwig et al., 2008, Dudek et al., 2010, Droebner et al., 2011, Ehrhardt et al., 2013, Haasbach et al., 2013], p38-시그널전달[참조: Borgeling et al., 2014] 및 또한 PI3K-시그널전달[참조: Ehrhardt et al., 2006, Ehrhardt et al., 2007a, Ehrhardt et al., 2007b, Ehrhardt et al., 2009, Eierhoff et al., 2010] 경로를 동정했다.

[0009] 바이러스 인자 이외의 세포를 표적화하는 것은, 병원체가 손실 세포 기능을 대체할 수 없기 때문에 내성 문제를 방지한다. 몇몇 세포 인자에 있어서, 화학적 화합물이 이용가능하고, 초기 단계이긴 하지만, 이들중 일부는 임상 시험에 들어가거나 이미 라이선싱되어 있다.

[0010] IV 복제와 대조적으로, 에스. 아우레우스 분열은 숙주-세포 독립적이다. 신규한 항균제 대체 수단은 병원체에 의해 정교화된 필수 유전자 생성물을 표적화하지 않지만, 세균을 사멸시키거나 숙주 면역성을 증강시키지 않고서 에스. 아우레우스 감염 동안 독성 인자를 억제한다[참조: Park et al., 2012]. 다른 전략은 인간 숙주에서 에스. 아우레우스의 콜로니화를 방지한다[참조: Park et al., 2012]. 이들 화합물은 또한 내성을 유도하는 가능성이 낮다. 최근, 에스. 아우레우스가 또한 감염 동안 이의 자신의 이익을 위해 세포 시그널전달을 이용한다고 하는 증거가 축적되고 있지만[참조: Oviedo-Boyso et al., 2011], 이러한 세균-지원 세포 인자는 여전히 항균 치료를 위한 표적으로서 상세하게 특성화되어 있지 않다.

[0011] 본 발명자들은, 놀랍게도, 항-인플루엔자 활성을 갖는 것으로 이전에 밝혀진 NF κ B, MEK 또는 p38 MAP 키나제 등의 세포내 시그널전달 인자에 대한 약물이 또한 항 에스. 아우레우스 활성을 나타내고 공감염 시나리오에서 바이러스- 및 세균 역가 둘 다를 감소시키는 것을 관찰했다. 따라서, 이들 시그널전달 억제제는 단독으로 IV 또는 에스. 아우레우스 감염의 치료를 위한 가장 유망한 후보이지만, 가장 중요하게는 세균 공감염을 수반한 중증의 인플루엔자에 대하여도 유망한 후보이다.

[0012] 한 가지 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 세균 감염은 스태필로кок세아에(Staphylococcaceae), 스트렙토кок세아에(Streptococcaceae), 레지오넬라세아에(Legionellaceae), 슈도모나다세아에(Pseudomonadaceae), 클라미디아세아에(Chlamydiaceae), 마이코플라스마타세아에(Mycoplasmataceae), 엔테로박테리아세아에(Enterobacteriaceae), 슈도모나달레스(Pseudomonadales) 및/또는 파스테우렐라세아에(Pasteurellaceae)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세균에 의해 매개된다.

[0013] 또 다른 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 인플루엔자 바이러스 감염은 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스에 의해 매개되고, 바람직하게는 인플루엔자 A 바이러스는 H1N1, H2N2, H3N2, H6N1, H7N7, H7N9, H9N2 H10N7, H10N8 또는 H5N1이다. 한 가지 실시형태에서, 인플루엔자 A 바이러스는 H1N1이다. 다른 실시형태에서, 인플루엔자 A 바이러스는 H3N2, H5N1 및 H7N9이다. 추가의 실시형태에서, 인플루엔자 A 바이러스는 H3N2, H5N1, H1N1 및 H7N9이다.

[0014] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제는 U0126, PLX-4032, AZD6244,

AZD8330, AS-703026, GSK-1120212, RDEA-119, RO-5126766, RO-4987655, CI-1040, PD-0325901, GDC-0973, TAK-733, PD98059, ARRY-438162, PF-3644022 및 PD184352, 바람직하게는 AZD8330, GSK-1120212, U0126, GDC-0973, CI-1040, PD0325901, ARRY-438162, PF-3644022 및 AZD6244, 가장 바람직하게는 U0126, GDC-0973, CI-1040, AZD8330 및 GSK-1120212로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0015] 또 다른 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 p38 억제제는 SB202190, LY2228820, CAY10571, SB 203580, Tie2 키나제 억제제, 2-(4-클로로페닐)-4-(플루오로페닐)-5-피리딘-4-일-1,2-디하이드로 피라졸-3-온, CGH 2466, SB220025, 항생물질 LL Z1640-2, TAK 715, SB202190 하이드로클로라이드, SKF 86002, AMG548, CMPD-1, EO 1428, JX 401, ML 3403, RWJ 67657, SB 202190, SB 203580, SB 203580 하이드로클로라이드, SB 239063, SCIO 469, SX 011, TAK 715, 파마피모드(Pamapimod), 로스마피모드(Losmapimod)(GW856553), 딜마피모드(Dilmapimod)(SB681323), VX 702, VX 745, 도라마피모드(Doramapimod)(BIRB 796), BMS-582949, ARRY-797, PH797804 바람직하게는 VX-702, SB202190, 파마피모드(Pamapimod), 로스마피모드(Losmapimod)(GW856553), 딜마피모드(Dilmapimod)(SB681323), 도라마피모드(Doramapimod)(BIRB 796), BMS-582949, ARRY-797, PH797804 및 SCIO-469로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0016] 또 다른 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 NF κ B 억제제는 LASAG(또한 LG-ASA로 불리움), SC75741, MG 132, TPCA-1, PCTC, IMD 0354, 루테올린, 카페산벤에틸에스테르, 카다모닌(Cardamonin), PF 184, IKK 16, SC 514, 위타페린(Withaferin) A, 아악티게닌(Arctigenin), BAY 11-7085, PSI, PR 39, Ro 106-9920, BAY 11-7821, ML-130, 셀라스트롤(Celastrol), 탄시논(Tanshinone) IIA, HU 211, 글리오톡신(Gliotoxin), CID 2858522, 호노키올(Honokiol), 안드로그라폴리드(Andrographolide), 10Z-하이메니알디신(Hymenialdisine), ACHP, 프리스티메린(Pristimerin), 설파살라진(Sulfasalazine), ML 120B 디하이드로클로라이드, 암렉사녹스(Amlexanox), 9-메틸스트렙토미돈, N-스테아로일 피토스핀고신, 2-(1,8-나프티리딘-2-일)-페놀, 5-아미노살리실산, BAY 11-7085, 에틸 3,4-디하이드록시신나메이트, 헬라날린(Helalanin), NF- κ B 활성화 억제제 II, JSH-23, 글루코코르티코이드 수용체 조절인자, CpdA, PPM-18, 아스피린(ASA), 피롤리딘디티오카바산 암모늄 염, (R)-MG132, SC75741, 로카글라미드(Rocaglamide), 나트륨 살리실레이트, QNZ, PS-1145, CAY10512, 보르테조미브(bortezomib), 살살레이트(salsalate), 레스베라트롤(resveratrol), 데옥시스페르구아린(deoxyspergualin), 설린닥(sulindac), 탈리도미드(thalidomide), AGRO-100, CHS 828 및/또는 쿠르쿠민(Curcumin), 바람직하게는, 보르테조미브, 쿠르쿠민, 아스피린(ASA), 살살레이트, 레스베라트롤, 나트륨 살리실레이트, LASAG(또한 LG-ASA로서 불리움), 데옥시스페르구아린, 설린닥, 탈리도미드, AGRO-100, CHS 828, 보다 더 바람직하게는 CS75741, ASA 및 LASAG(또한 LG-ASA로서 불리움) 및 가장 바람직하게는 LASAG(또한 LG-ASA로서 불리움)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0017] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제는 또 다른 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제와 조합되거나; 상기 p38 억제제는 또 다른 p38 억제제, MEK 억제제 및/또는 NF κ B 억제제와 조합되거나; 상기 NF κ B 억제제는 또 다른 NF κ B 억제제, p38 억제제 및/또는 MEK 억제제와 조합된다.

[0018] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 인플루엔자 바이러스 및/또는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제와 조합된다. 한 가지 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 인플루엔자 바이러스 및/또는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제와 함께 동시에, 이전에 또는 이후에 투여된다. 이와 같이, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개 억제제와 조합될 수 있다. 유사하게는, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 세균을 표적화하는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8개 억제제와 조합될 수 있다.

[0019] 한 가지 실시형태에서, 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 하나 이상의 억제제는 뉴라미니다제 억제제, 바람직하게는 오셀타미비르 포스페이트, 자나미비르, 오셀타미비르 또는 페라미비르이다.

[0020] 또 다른 실시형태에서, 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 하나 이상의 억제제는 이온 채널 단백질(M2)을 표적화하는 화합물, 바람직하게는 아만타딘 및/또는 리만타딘이다. 추가의 실시형태에서, 인플루엔자를 표적화하는 하나 이상의 억제제는 바이러스 폴리머라제 복합체의 성분, PB1, PB2, PA 또는 NP의 방해를 통해 폴리머라제 또는 엔도뉴클레아제 활성을 표적화하는 화합물, 바람직하게는 NP 차단제 뉴클레오진(Nucleozin) 또는 폴리머라제

억제제 T-705이다.

- [0021] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제와 조합된다.
- [0022] 또 다른 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제는 항생물질, 바람직하게는 젠타마이신, 리팜피신, 리소스타핀, 에리트로마이신, 레보플록사신 반코마이신, 테이코플라닌, 페니실린 및 옥사실린이다.
- [0023] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 대상체, 바람직하게는 척추동물에서 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이다.
- [0024] 또한, 본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제를 포함하는 조성물을 제공한다. 바람직하게는, 상기 조성물은 담체를 추가로 포함한다.
- [0025] 본 발명은 또한 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 바람직하게는, 상기 조성물은 담체를 추가로 포함한다.
- [0026] 또한, 본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제, 및 인플루엔자 바이러스 및/또는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제를 포함하는 조성물을 제공한다. 바람직하게는, 상기 조성물은 담체를 추가로 포함한다.
- [0027] 본 발명은 또한 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 및 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0028] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는, 이(이들)를 시험관내 시험 시스템과 접촉시킬 때, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 바이러스 및 세균 감염 둘 다를 감소시키고, 상기 시험 시스템은 a) 인플루엔자 바이러스 및 b) 세균으로 감염된 배양 세포를 포함한다.
- [0029] 한 가지 실시형태에서, 바이러스 감염의 감소는 플라크 형성 단위(pfu)/ml의 감소이고, 세균 감염의 감소는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml의 감소이다.
- [0030] 또 다른 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는, 이(이들)를 시험관내 시험 시스템과 접촉시킬 때, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 세균 감염을 감소시키고, 상기 시험 시스템은 세균으로 감염된 배양 세포를 포함한다.
- [0031] 본 발명은 또한, a) 인플루엔자 바이러스 및 b) 세균으로 감염된 배양 세포를 포함하는 시험관내 시험 시스템에 관한 것이다.
- [0032] 본 발명은 또한 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공감염을 감소시키는데 효과적인 억제제를 측정하기 위한 본 발명의 시험관내 시험 시스템의 용도를 제공한다. 한 가지 실시형태에서, 바이러스 감염의 감소는 플라크 형성 단위(pfu)/ml의 감소이고, 세균 감염의 감소는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml의 감소이다.
- [0033] 또한, 본 발명은 본 발명의 시험관내 시험 시스템을 목적하는 화합물과 접촉시키는 것을 포함하는, 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료에 효과적인 분자를 검출하는 방법으로서, 상기 목적하는 화합물이, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 바이러스 및 세균 감염 둘 다를 감소시키는, 방법에 관한 것이다.
- [0034] 본 발명은 또한 세균으로 감염된 배양 세포를 포함하는 시험관내 시험 시스템을 제공한다.
- [0035] 본 발명은, 또한, 세균 감염을 감소시키는데 효과적인 억제제를 측정하기 위한 본 발명의 시험관내 시험 시스템의 용도에 관한 것이다.
- [0036] 추가로, 본 발명은

- [0037] 시그널 형질도입, 생성된 사이토킨 및 케모킨 발현, 아폽토시스 및 괴사의 유도 및/또는 건강 및 질환을 조절하는 레독스(redox) 지혈의 수준의 검사를 임의로 포함하는, 선천성 숙주 세포 반응의 검사를 위한, 본 발명의 시험관내 시험 시스템의 용도에 관한 것이다.
- [0038] 또한, 본 발명은, 본 발명의 시험관내 시험 시스템을 목적하는 화합물과 접촉시키는 것을 포함하는, 세균 감염의 예방 및/또는 치료에 효과적인 분자를 검출하는 방법으로서, 상기 목적하는 화합물이, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 세균 감염을 감소시키는, 방법을 제공한다.
- [0039] 본 발명은 추가로 인플루엔자 바이러스 및 세균으로 감염된 배양 세포에 관한 것이다.
- [0040] 또한, 세균으로 감염된 배양 세포가 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0041] 도면은 다음을 나타낸다:

도 1: 공-감염 절차의 시간 척도. 세포는 30분 동안 IV로 감염시켰다. 에스. 아우레우스 6850을 사용한 공-감염을 수행하거나, 세포를 모의-처리했다. 세포와 세균을 용해시키고, 세균 감염 3시간후 항생물질 처리에 의해 제거했다. PBS 세척 후, 세포에 신선한 배지(DMEM/INV)를 보충하고 바이러스 감염 18시간까지 인큐베이션했다.

도 2: MEK 억제제 U0126은 공-감염 상황하에서도 IV 역가(A/Puerto Rico/8/34) 및 에스. 아우레우스 부하를 감소시켰다. 인간 폐 상피 세포를 2ml DMEM[10% FCS]에서 6-웰 플레이트(8×10^5 세포/웰)로 파종했다. 파종 16 내지 20시간 후, 세포를 세정하고, PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민(BSA), 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신](6개 웰당 500 μ l) 또는 인플루엔자 바이러스 A/푸에르토 리코/8/34를 함유하는 PBS/BA와 함께 37°C에서 감염 다중도(MOI=0.1)에서 인큐베이션했다. 30분 인큐베이션 후, 바이러스 회석물을 흡인시키고, 세포를 PBS로 세정하고, 50 μ M U0126 또는 DMSO(용매 대조군)의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.5)와 함께 또는 없이 인베이전(Invasion) 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/l HEPES](6개 웰당 2ml)를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질로 처리하여 세포와 세균을 제거했다. 따라서, 세포를 PBS로 세정하고, 이어서 20분 동안 37°C에서 DMEM/INV 항생물질[2 μ g/ml 리소스타틴(Sigma)](6개 웰당 1ml)과 함께 인큐베이션했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 50 μ M U0126 또는 DMSO 및 0.333 μ g/ml 트립신(Invitrogen)을 함유하는 DMEM/INV를 보충했다. 37°C에서 추가로 14시간의 배양 기간 후, IV 역가 및 세포내 세균을 문헌[참조: Hrincius et al., 2010, Tuscherr et al., 2011]에 기재된 바와 같이 측정했다.

IV 역가는 플라크 형성 단위(pfu)/ml(A, C)로 제시되어 있고, 에스. 아우레우스 역가는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml(B, D)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 3개 독립적 실험의 평균 \pm SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 2개 샘플 t-시험(*p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)에 의해 평가했다. (E) 50 μ M U0126의 존재하에 에스. 아우레우스는 DMSO 처리된 세균과 비교하여 18시간 인큐베이션시 세균 역가 감소를 제공한다. 소정량의 에스. 아우레우스 6850 현탁 배양물을 50 μ M U0126 또는 DMSO가 보충된 DMEM/INV에서 회석시키고, 37°C에서 18시간 동안 인큐베이션했다. 세균을 회석하고 아가 플레이트 상에서 단계 회석에 의해 측정했다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 3개 독립적 시험의 평균 \pm SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 2개 샘플 t-시험(*p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)에 의해 평가했다.

도 3: MEK 억제제 U0126은 공-감염 상황하에서도 IV 역가(A/FPV/Bratislava/79) 및 에스. 아우레우스 부하를 감소시킨다. 인간 폐 상피 세포를 2ml DMEM[10% FCS]에서 6-웰 플레이트(8×10^5 세포/웰)로 파종했다. 파종 16 내지 20시간 후, 세포를 세정하고, PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민(BSA), 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신](6개 웰당 500 μ l) 또는 인플루엔자 바이러스 A/FPV/브라티슬라바/79를 함유하는 PBS/BA와 함께 37°C에서 감염 다중도(MOI=0.001)에서 인큐베이션했다. 30분 인큐베이션한 후, 바이러스 회석물을 흡인시키고, 세포를 PBS로 세정하고, 50 μ M U0126 또는 DMSO(용매 대조군)의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.5)와 함께 또는 없이 인베이전(Invasion) 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/l HEPES](6개 웰당 2ml)를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질로 처리하여 세포와 세균을 제거했다. 따라서, 세포를 PBS로 세정하고, 이어서 20분 동안 37°C에서 DMEM/INV 항생물질[2 μ g/ml 리소스타틴(Sigma)](6개 웰당 1ml)과 함께 인큐베이션했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 50 μ M U0126 또는 DMSO를 함유하는 DMEM/INV를 보충했다. 37°C에서 추가로 14시간의 인큐베이션 기간 후, IV 역가 및 세포내 세균을 문헌[참조: Hrincius et al., 2010, Tuscherr et al., 2011]에 기재된 바와 같이 측정했다. IV 역가는 플라크 형성 단위(pfu)/ml(A,

C)로 제시되어 있고, 에스. 아우레우스 역가는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml(B, D)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 2개 독립적 실험의 평균±SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 2개 샘플 t-시험(*p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)에 의해 평가했다.

도 4: p38 억제제 SB202190는 공-감염 상황하에서도 IV 역가 및 에스. 아우레우스 부하를 감소시킨다. 인간 폐 상피 세포를 2ml DMEM[10% FCS]에서 6-웰 플레이트(8×10^5 세포/웰)로 파종했다. 파종 16 내지 20시간 후, 세포를 세정하고, PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민(BSA), 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신](6개 웰당 500μl) 또는 인플루엔자 바이러스 A/푸에르토 리코/8/34를 함유하는 PBS/BA와 함께 37℃에서 감염 다중도(MOI=0.1)에서 인큐베이션했다. 30분 인큐베이션 후, 바이러스 희석물을 흡인시키고, 세포를 PBS로 세정하고, 10 μM SB202190 또는 DMSO(용매 대조군)의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.5)와 함께 또는 없이 인베이전(Invasion) 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES](6개 웰당 2ml)를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질로 처리하여 세포의 세균을 제거했다. 따라서, 세포를 PBS로 세정하고, 이어서 20분 동안 37℃에서 DMEM/INV 항생물질[2μg/ml 리소스타핀(Sigma)](6개 웰당 1ml)과 함께 인큐베이션했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 10 μM SB202190 또는 DMSO 및 0.333μg/ml 트립신(Invitrogen)을 함유하는 DMEM/INV를 보충했다. 37℃에서 추가로 14시간의 인큐베이션 후, IV 역가 및 세포내 세균을 문헌[참조: Hrincius et al., 2010, Tuscherr et al., 2011]에 기재된 바와 같이 측정했다. IV 역가는 플라크 형성 단위(pfu)/ml(A, C)로 제시되어 있고, 에스. 아우레우스 역가는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml(B, D)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 3개 독립적 실험의 평균±SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 2개 샘플 t-시험(*p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)에 의해 평가했다.

도 5: NF-κappaB(NF κ B) 억제제 LG-ASA는 공-감염 상황하에서도 IV 역가 및 에스. 아우레우스 부하를 감소시킨다. 인간 폐 상피 세포를 2ml DMEM[10% FCS]에서 6-웰 플레이트(8×10^5 세포/웰)로 파종했다. 파종 16 내지 20시간 후, 세포를 세정하고, PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민(BSA), 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신](6개 웰당 500μl) 또는 인플루엔자 바이러스 A/푸에르토 리코/8/34를 함유하는 PBS/BA와 함께 37℃에서 감염 다중도(MOI=0.1)에서 인큐베이션했다. 30분 인큐베이션 후, 바이러스 희석물을 흡인시키고, 세포를 PBS로 세정하고, 5mM LG-ASA의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.5)와 함께 또는 없이 인베이전(Invasion) 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES](6개 웰당 2ml)를 보충했다. 물을 용매 대조군으로 사용했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질로 처리하여 세포의 세균을 제거했다. 따라서, 세포를 PBS로 세정하고, 이어서 20분 동안 37℃에서 DMEM/INV 항생물질[10% FBS, 2μg/ml 리소스타핀(Sigma)](6개 웰당 1ml)과 함께 인큐베이션했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 5mM LG-ASA 또는 물 및 0.333μg/ml 트립신(Invitrogen)을 함유하는 DMEM/INV를 보충했다. 37℃에서 추가로 14시간의 인큐베이션 기간 후, IV 역가 및 세포내 세균을 문헌[참조: Hrincius et al., 2010, Tuscherr et al., 2011]에 기재된 바와 같이 측정했다. IV 역가는 플라크 형성 단위(pfu)/ml(A, C)로 제시되어 있고, 에스. 아우레우스 역가는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml(B, D)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 2개 독립적 실험(바이러스 역가) 및 3개 독립적 실험(세균 역가)의 평균±SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 2개 샘플 t-시험(*p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)에 의해 평가했다.

도 6: 바이러스 뉴라미니다제 억제제 타미플루는 IV 복제를 감소시키지만 에스. 아우레우스 부하를 증가시킨다. 인간 폐 상피 세포를 2ml DMEM[10% FCS]에서 6-웰 플레이트(8×10^5 세포/웰)로 파종했다. 파종 16 내지 20시간 후, 세포를 세정하고, PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민(BSA), 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신](6개 웰당 500μl) 또는 인플루엔자 바이러스 A/FPV/브라티슬라바/79를 함유하는 PBS/BA와 함께 37℃에서 감염 다중도(MOI=0.001)에서 인큐베이션했다. 30분 인큐베이션 후, 바이러스 희석물을 흡인시키고, 세포를 PBS로 세정하고, 2 μM 타미플루 또는 Hepes(용매 대조군)의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.5)와 함께 또는 없이 인베이전(Invasion) 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES](6개 웰당 2ml)를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질로 처리하여 세포의 세균을 제거했다. 따라서, 세포를 PBS로 세정하고, 이어서 20분 동안 37℃에서 DMEM/INV 항생물질[2μg/ml 리소스타핀(Sigma)](6개 웰당 1ml)과 함께 인큐베이션했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 2 μM 타미플루 또는 Hepes를 함유하는 DMEM/INV를 보충했다. 37℃에서 추가로 14시간의 인큐베이션 기간 후, IV 역가 및 세포내 세균을 문헌[참조: Hrincius et al., 2010, Tuscherr et al., 2011]에 기재된 바와 같이 측정했다.

도 7: 세포내 에스. 아우레우스 6850의 역가는 LG-ASA 처리에 의해 감소된다. 인간 폐 상피 세포(A549)를 지시

된 양의 LG-ASA의 존재(A, C) 및 부재(B, D)하에 3시간 동안 0.5MOI 에스. 아우레우스 6850 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L PEPES]로 감염시켰다. 감염 3시간 후, DMEM/INV 항생물질[2 μ g/ml 리소스타핀(Sigma)]을 사용하여 항생물질 세척을 도입하여 비-내재화된 세균을 제거하고, 이어서 세포에 지시된 양의 LG-ASA를 함유하는 DMEM/INV를 보충했다. 세포 형태를 광학 현미경(A, B)에 의해 모니터링하고, 내재화된 세균의 양을 감염 18시간 후(C, D)에 아가 플레이트 상에서 단계 희석에 의해 측정했다.

도 8: 표 2: p38 억제제.

도 9: 표 3: NF κ B 억제제.

도 10: 표 4: NF κ B 억제제.

도 11: 표 5: 항생물질.

도 12: 시험관내 공-감염 절차의 시간 척도. 인간 폐 상피 세포(A549)를, 37 $^{\circ}$ C에서 PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민(BSA), 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신]에 용해시킨 인플루엔자 A 바이러스(IAV)로 30분 동안 감염 다중도(MOI)로 감염시켰다. 30분 인큐베이션한 후, 바이러스 회석물을 흡인시키고, 세포를 PBS로 세정했다. 이어서, 스탕필로코쿠스 아우레우스 6850(S. aureus)를 사용한 세균 감염을 수행하거나, 세포를 모의-처리했다. 따라서, 세포에 지시된 양의 억제제(U0126 또는 C1-1040) 또는 용매 대조군 이외에 에스. 아우레우스와 함께 또는 없이 인베이션 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 항생물질 세척[DMEM, 10% FBS, 2 μ g/ml 리소스타핀 또는 100 μ g/ml 젠타마이신, 20분]을 도입하여 비-내재화된 세균을 제거했다. 추가의 PBS 세척 후, 세포에 억제제의 존재 또는 부재하에 감염 배지 DMEM(0.2% BA, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신)을 보충하고, 37 $^{\circ}$ C에서 바이러스 감염 18시간까지 인큐베이션했다.

도 13: MEK/ERK 신호전달의 억제는 단일 및 공-감염 후에 세포 생존을 증강시킨다.

인간 폐 상피 세포(A549)를, 37 $^{\circ}$ C에서 인플루엔자 A 바이러스 균주 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7)(FPV) 또는 인간 인플루엔자 바이러스 균주 A/위스콘신/67/2005(H3N2)로 감염 다중도(MOI=0.01)(H7N7) 또는 (MOI=0.5)(H3N2)로 감염시켰다. 30분 인큐베이션한 후, 바이러스 회석물을 제거하고, 세포를 PBS로 세정하고, 50 μ M U0126 또는 용매 대조군의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.1)과 함께 또는 없이 인베이션 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25mM HEPES 함유]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 20분 동안 10% FBS 및 2 μ g/ml 리소스타핀을 함유하는 DMEM/FBS로 처리하여 비-내재화된 세균을 제거했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 50 μ M U0126 또는 용매를 함유하는 감염 배지 DMEM/BA(0.2% BA, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신)을 보충했다. 37 $^{\circ}$ C에서 18시간의 인큐베이션 기간 후, 세포 형태를 광학 현미경에 의해 모니터링했다.

도 14: MEK/ERK 신호전달의 억제는 단일 바이러스 및 공-감염 동안 세포 역가를 감소시켰다.

인간 폐 상피 세포(A549)를, 37 $^{\circ}$ C에서 조류 인플루엔자 바이러스 균주 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7)(FPV)(A, C) 또는 인간 인플루엔자 바이러스 균주 A/위스콘신/67/2005(H3N2)(B, D)로 감염 다중도(MOI=0.01)(A, C) 또는 (MOI=0.5)(B, D)로 감염시켰다. 30분 인큐베이션한 후, 바이러스 회석물을 제거하고, 세포를 PBS로 세정하고, 50 μ M U0126 또는 용매 대조군의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.1)과 함께 또는 없이 인베이션 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25mM HEPES 함유]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 20분 동안 10% FBS 및 2 μ g/ml 리소스타핀을 함유하는 DMEM/FBS로 처리하여 비-내재화된 세균을 제거했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 50 μ M U0126 또는 용매를 함유하는 감염 배지 DMEM/BA(0.2% BA, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신)을 보충했다. 37 $^{\circ}$ C에서 18시간의 인큐베이션 기간 후, 세포 역가를 표준 플라크 분석에 의해 측정했다. 바이러스 역가는 플라크 형성 단위(pfu)/ml로서 선형(A, B) 또는 대수 척도(C, D)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 4개 독립적 실험의 평균 \pm SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 1개 샘플 t-시험(*p < 0.05; ** p < 0.01)에 의해 평가했다.

도 15: U0126의 투여에 의한 MEK 억제는 세균 성장을 억제시킨다.

인간 폐 상피 세포(A549)를, 37 $^{\circ}$ C에서 조류 인플루엔자 바이러스 균주 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7) 또는 인간 인플루엔자 바이러스 균주 A/위스콘신/67/2005(H3N2)(A, C)로 감염 다중도(MOI=0.01)(H7N7) 또는 (MOI=0.5)(H3N2)로 감염시켰다. 30분 인큐베이션한 후, 바이러스 회석물을 제거하고, 세포를 PBS로 세정하고,

50 μ M U0126 또는 용매 대조군의 존재하에(A) 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.1)과 함께 또는 없이 인베이전 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nM HEPES 함유]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 20분(A, C) 동안 10% FBS 및 2 μ g/ml 리소스타틴을 함유하는 DMEM/FBS로 처리하여 비-내재화된 세균을 제거했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 50 μ M U0126 또는 용매를 함유하는 감염 배지 DMEM/BA(0.2% BA, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신)을 보충했다. 내재화된 세균의 양을 감염 18시간 후(A, C)에 아가 플레이트 상에서 세포 용해물의 단계 희석에 의해 측정했다. 세균 성장에 대한 U0126의 효과는 에스. 아우레우스 6850(100CFU/ml)의 밤새 배양물에 대해 지시된 바와 같이 U0126의 투여에 의해 분석했다. 16시간 후, 단계 희석물을 BHI 아가(B, D) 상에 플레이팅했다. 세균 역가는 콜로니 형성 단위(CFU/ml)로서 선형(A, B) 또는 대수 척도(C, D)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 4개(A, C) 또는 3개(B, D) 독립적 실험의 평균 \pm SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 2개 샘플 t-시험(***) p < 0.001에 의해 평가했다.

도 16: MEK/ERK 신호전달의 억제제는 바이러스 단백질 및 염증전(pro-inflammatory) 케모킨의 감소를 유도한다. 인간 폐 상피 세포(A549)를, 37 $^{\circ}$ C에서 인간 인플루엔자 바이러스 균주 A/위스콘신/67/2005(H3N2)로 감염 다중도(MOI=5)로 감염시켰다. 30분 인큐베이션한 후, 바이러스 희석물을 제거하고, 세포를 PBS로 세정하고, 50 μ M U0126 또는 용매 대조군의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=50)과 함께 또는 없이 인베이전 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nM HEPES 함유]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 30분 동안 10% FBS 및 100 μ g/ml 젠타마이신을 함유하는 DMEM/FBS로 처리하여 세포의 세균을 제거했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 50 μ M U0126 또는 용매를 함유하는 감염 배지 DMEM/BA(0.2% BA, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신)을 보충했다. 37 $^{\circ}$ C에서 8시간의 인큐베이션 기간 후, CCL3 및 CCL5의 mRNA 수준을 특이적 프라이머(A, B)로 qRT-PCR에 의해 분석했다. 세균 세포 벽 성분(PGN) 뿐만 아니라 바이러스 단백질 발현(PB-1) 및 ERK-1/2 포스포릴화 수준은 웨스턴 블롯 분석(C)에 의해 측정했다. 데이터는 1개 실험에서 3개 생물학적 샘플 및 2개 기술적 복제물의 예비 결과를 나타낸다.

도 17: U0126의 투여는 바이러스 역가와 독립적으로 생체내에서 감소된 세균 역가를 유도한다. 12주령 Balb/C 마우스를 0일차에 50PFU의 인플루엔자 바이러스 균주 A/푸에르토 리코/8/34(PR8, H1N1)으로 감염시켰다(이소플루란으로 마취시킴). 1일차에 개시하여 마우스는 30mg/kg/1일 U0126 또는 용매 대조군(10% DMSO, 30% 크레모포르 EL, 60% PBS)의 복강내 주사(i.p)로 매일 처리했다. 3일차에 마우스는 이소플루란을 사용한 마취하에 5*10⁷CFU의 스태필로코쿠스 아우레우스 6850으로 감염시키고, U0126 또는 용매 대조군으로 직접 처리했다. 4일차에 폐를 제거하고 PBS(1000 μ l PBS당 0.1g)에서 균질화시켰다. 세균 역가의 계산을 위해 균질물의 단계 희석물을 BHI 아가 상에 플레이팅시켰다. 바이러스 역가를 측정하기 위해, 표준 플라크 분석을 수행했다. 통계학적 분석은 만-휘트니(Mann-Whitney) U 시험(* p < 0.05)을 사용하여 수행했다.

도 18: 특이적 MEK 억제제 CI-1040은 단일 및 공-감염에서 바이러스 역가를 감소시킨다.

인간 폐 상피 세포(A549)를, 37 $^{\circ}$ C에서 조류 인플루엔자 바이러스 균주 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7)(A, C) 또는 인간 인플루엔자 바이러스 균주 A/푸에르토 리코/8/34(H1N1)(B, D)로 감염 다중도(MOI=0.01)로 감염시켰다. 30분 후, 바이러스 희석물을 제거하고, 세포를 PBS로 세정하고, 10 μ M CI-1040 또는 용매 대조군의 존재하에 에스. 아우레우스 6850(MOI=0.1)과 함께 또는 없이 인베이전 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nM HEPES 함유]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 20분 동안 10% FBS 및 2 μ g/ml 리소스타틴을 함유하는 DMEM/FBS로 처리하여 세포의 세균을 제거했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 10 μ M CI-1040 또는 용매를 함유하는 감염 배지 DMEM/BA(0.2% BA, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신)을 보충했다. 37 $^{\circ}$ C에서 18시간의 인큐베이션 기간 후, 바이러스 역가를 표준 플라크 분석으로 측정했다. 바이러스 역가는 플라크 형성 단위(PFU/ml)로서 선형(A, B) 또는 대수 척도(C, D)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 2개 독립적 실험의 평균을 나타낸다.

도 19: CI-1040의 투여는 시험관내 세균 성장에 대한 억제 효과를 갖는다.

세균 성장에 대한 CI-1040의 효과는 에스. 아우레우스 6850(100CFU/ml)의 밤새 배양물에 상이한 농도(지시된 바와 같음)로 CI-1040의 투여에 의해 분석했다. 16시간 후, 단계 희석물을 BHI 아가(A, B) 상에 플레이팅했다. 세균 역가는 콜로니 형성 단위(CFU/ml)로서 선형(A) 또는 대수 척도(B)로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 예비 데이터를 나타낸다.

도 20: 특이적 MEK 억제제 코비메티닙(GDC-0973)을 사용한 처리는 생체내에서 병원체 부하를 감소시킨다.

8주령 Balb/C 마우스(그룹당 5마리)를 0일차에 50PFU의 인플루엔자 바이러스 균주 A/푸에르토 리코/8/34(PR8, H1N1)으로 감염시켰다(이소플루란으로 마취시킴). 바이러스 감염 6시간 후에, 마우스는 10mg/kg/1일 코비메티닙 또는 용매 대조군(10% DMSO, 5% 트윈 20, 85% PBS)의 경구 투여로 처리했다. 이어서, 처리를 매일 수행했다. 3일차에 마우스는 이소플루란을 사용한 마취하에 5×10^7 CFU의 스탕필로코쿠스 아우레우스 6850으로 감염시키고, 6시간 후에 코비메티닙 또는 용매 대조군으로 처리했다. 4일차에 폐를 제거하고 PBS(1000 μ l PBS당 0.1g)에서 균질화시켰다. 세균 역가의 계산을 위해 균질물의 단계 희석물을 BHI 아가 상에 플레이팅시켰다. 바이러스 역가를 측정하기 위해, 표준 플라크 분석을 수행했다. 통계학적 분석은 만-휘트니(Mann-Whitney) U 시험을 사용하여 수행했다.

도 21: LG-ASA는 인플루엔자 A 바이러스(IAV) 및/또는 스탕필로코쿠스 아우레우스(S. aureus)으로 감염시에 세포 형태를 개선시킨다.

인간 폐 상피 세포(A549)를, 37°C에서 PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신]에 용해시킨 인플루엔자 바이러스 균주 A/푸에르토 리코/8/34(H1N1)로 감염 다중도(MOI=0.1)로 감염시켰다. 30분 인큐베이션 후, 바이러스 희석물을 흡인하고, 세포를 PBS로 세정하고, 5mM LG-ASA 또는 용매 대조군의 존재하에 에스. 아우레우스 SH1000(MOI=0.1)과 함께 또는 없이 인베이션 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질[DMEM, 10% FBS, 2 μ g/ml 리소스타틴, 20분]로 처리하여 세포외 세균을 제거했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 5mM LG-ASA 또는 용매를 함유하는 DMEM/BA를 보충했다. 37°C에서 18시간의 인큐베이션 기간 후, 세포 형태를 광학 현미경으로 모니터링했다.

도 22: NF κ B 억제제 LG-ASA는 인플루엔자 바이러스 역가 및 에스. 아우레우스 부하를 감소시킨다.

인간 폐 상피 세포(A549)를, 37°C에서 PBS/BA[0.2% 소 혈청 알부민, 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신]에 용해시킨 인플루엔자 바이러스 균주 A/푸에르토 리코/8/34(H1N1)로 감염 다중도(MOI=0.1)로 감염시켰다. 30분 인큐베이션 후, 바이러스 희석물을 흡인하고, 세포를 PBS로 세정하고, 5mM LG-ASA 또는 용매 대조군의 존재하에 에스. 아우레우스 SH1000(MOI=50)(A, B), (MOI=0.01)(C-D), 에스. 아우레우스 6850(MOI=50)(E, F), (MOI=0.1)(G, H)과 함께 또는 없이 인베이션 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES]를 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질[DMEM, 10% FBS, 2 μ g/ml 리소스타틴, 20분]로 처리하여 세포외 세균을 제거했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 5mM LG-ASA 또는 용매를 함유하는 DMEM/INV를 보충했다. 37°C에서 8시간(A, B, E, F) 또는 18시간(C, D, G, H)의 인큐베이션 기간 후, IAV 역가(A, C, E, G)를 표준 플라크 분석으로 측정했다. 세포는 저등장성 쇼크에 의해 용해시키고, 내재화된 세균의 양(B, D, F, H)을 아가 플레이트 상에 단계 희석에 의해 측정했다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 3개(A-H)의 평균 \pm SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 1개 샘플 t-시험(* p < 0.05; ** p < 0.01)에 의해 평가했다.

도 23: NF κ B 억제제 LG-ASA는 인플루엔자 바이러스 역가 및 에스. 아우레우스 부하를 감소시킨다.

본 도면은 상이한 방식으로 도 22에서 획득된 데이터를 나타낸다. 특히, 각 실험의 무처리 대조군은 임의로 100%로서 설정하고, 이어서 평균을 계산했다. 통계학적 유의성은 양측 1개 샘플 t-시험(* p < 0.05; ** p < 0.01)에 의해 평가했다.

도 24: NF κ B 신호전달의 억제는 세균 내재화를 감소시킨다.

인간 폐 상피 세포(A549)를 4시간 동안 5mM(A-D) 및 10mM(C, D) LG-ASA와 함께 예비인큐베이션하고, 이어서 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES]에 용해시킨 지시된 양의 LG-ASA의 존재 및 부재하에 30분 내지 120분 동안 에스. 아우레우스 6850(MOI=50)(A, B) 및 120분 동안 USA 300(MOI=5)(C, D)로 감염시켰다. 감염 30분 내지 120분 후, 항생물질 세척[DMEM, 10% FBS, 2 μ g/ml 리소스타틴, 20분]을 포함시켜 비-내재화된 세균을 제거했다. 세포를 PBS로 3회 세척하고, 저등장성 쇼크에 의해 용해시켰다. 내재화된 세균의 양은 아가 플레이트(A, D) 상에서 단계 희석에 의해 측정했다. 데이터(A, C)는 2개 생물학적 샘플을 사용한 3개 독립적 실험의 평균 \pm SD를 나타낸다. 도 24B 및 D에서, 각 실험의 무처리 대조군은 임의로 100%로 설정하고, 이어서 평균을 계산했다. 통계학적 유의성은 양측 1개 샘플 t-시험(* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)에 의해 평가했다.

도 25: NF κ B 시그널전달의 자극은 세균 내재화를 증강시킨다.

인간 폐 상피 세포(A549)를 4시간 동안 5mM LG-ASA 및 2.5ng/ml TNF-알파와 함께 예비인큐베이션하고, 이어서 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/L HEPES](A)에 용해시킨 지시된 양의 LG-ASA 및 TNF-알파의 존재 및 부재하에 120분 동안 (A) 에스. 아우레우스 6850 또는 (B) 에스. 아우레우스 USA300(MOI=5)로 감염시켰다. 감염 120분 후, 항생물질 세척[DMEM, 10% FBS, 2 μ g/ml 리소스타틴, 20분]을 포함시켜 비-내재화된 세균을 제거했다. 세포를 PBS로 3회 세척하고, 저등장성 쇼크에 의해 용해시켰다. 내재화된 세균의 양은 감염 120분 후 아가 플레이트(A) 상에서 단계 희석에 의해 측정했다. (A) 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 4개 독립적 실험의 평균 \pm SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 일방향 ANOVA, 이어서 다중 비교 시험(* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)에 의해 평가했다. (B) 데이터는 3개 생물학적 샘플을 사용한 3개 독립적 실험의 평균 \pm SD를 나타내고, 이에 의해 각 실험의 무처리 대조군은 임의로 100%로 설정하고, 이어서 평균을 계산했다.

도 26: 마우스를 LG-ASA로 공-감염시킨 IAV/에스 아우레우스의 처리는 생존률 증강 및 체중 소실 감소를 제공한다.

(A) BALB/c 마우스(그룹당 4마리 마우스)를 0일차에 50PFU의 인플루엔자 바이러스 A/푸에르토 리코/8/34로 감염시켰다. 인플루엔자 바이러스 감염 6일후에 마우스를 10⁸ CFU 에스. 아우레우스 6850으로 추가 감염시켰다. 인플루엔자 바이러스 감염 7일후에 공-감염된 마우스를 흡입을 통해 LG-ASA(1M, 10분)으로 1일 1회 처리했다. 생존률을 14일 동안 모니터링했다.

(4/4)(흑색 라인) 무처리 공-감염된 마우스는 공-감염 1일 후에 사망한 반면, (2/4) LG-ASA 처리된 공-감염된 마우스는 생존했다(회색 라인).

(B) 2개의 독립적 실험이 제시되어 있다. 9주령 Balb/C 마우스(그룹당 4마리 마우스)를 0일차(이소플루란으로 마취시킴) 오전에 50PFU의 인플루엔자 바이러스 A/푸에르토 리코/8/34로 감염시켰다. 바이러스 감염 6시간 후, 마우스의 체중을 측정하고, 10분 동안 흡입 챔버에서 에어로졸 H₂O 또는 1M LG-ASA로 처리했다. 이 처리는 또한 0일차와 동일한 시간에서 1일차, 2일차 및 3일차에 수행했다. 3일차 오전에 마우스는 이소플루란을 사용한 마취하에 5*10⁷ CFU의 스탕필로코쿠스 아우레우스 6850으로 감염시켰다. 4일차에 마우스의 체중을 최종 측정했다. 통계학적 분석은 만-휘트니 U 시험(* $p < 0.05$)을 사용하여 수행했다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0042] 하기 기재는 본 발명의 이해에 유용할 수 있는 정보를 포함한다. 본원에 제공된 모든 정보는 선행 기술 또는 본 특허청구범위에 기재된 발명에 관련되거나, 구체적으로 또는 암묵적으로 참조된 임의의 간행물이 선행 기술이라는 것을 인정하는 것은 아니다.
- [0043] 상기한 바와 같이, 본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제에 관한 것이다.
- [0044] 또한, 본 발명은 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제에 관한 것이다.
- [0045] 본원에서 사용되는 경우, "MEK 억제제"는 또한 미토겐 활성화된 단백질키나제(MAPK) 키나제 억제제로서 지정될 수 있다. MAPK 경로에서, MAPK 키나제 키나제(MAPKKK)는 MAPK 키나제(MAPKK)를 활성화시키고, 이는 또한, 예를 들면, 시그날을 전사 인자 또는 기타 키나제 또는 작동자/시그날 형질도입 단백질로 형질도입하는 MAPK를 활성화시키는 것으로 공지되어 있다[참조: Figure 1 of Fremin and Meloche(Fremin and Meloche(2010), J. Hematol. Oncol. 11:3:8)]. 본 발명의 MEK 억제제는 바람직하게는 대상체, 예를 들면, 본원에 기재된 포유동물 또는 조류의 MEK1/2를 억제한다. 그러나, 본 발명의 MEK 억제제는 MEK, 바람직하게는 MEK1/2를 억제할 뿐만 아니라 이의 상류 키나제(즉, MAPKKK)를 억제하여 이중 억제를 발휘할 수 있다. 이론에 구속되는 것은 아니지만, PLX-4032는 이러한 이중 억제제일 수 있다. 따라서, 본 발명의 MEK 억제제는 이중 억제제에 의한 바람직한 양태에서 MEK, 바람직하게는 MEK1/2 및 상응하는 상류 MAPKKK를 억제할 수 있다. MEK1/2는 Ras/Raf 경로에서의 MAPKK이고, 여기서 Ras/Raf는 MAPKKK로서 작용하고 ERK1/2는 MAPK로서 작용한다.
- [0046] MEK 억제제는 소분자, 대분자, 펩티드, 올리고뉴클레오타이드 등일 수 있다. MEK 억제제는 단백질 또는 이의 단편 또는 핵산 분자일 수 있다. 또한, 용어 MEK 억제제에는 MEK 억제제의 약제학적으로 허용되는 염이 포함된다.
- [0047] 화합물이 MEK 억제제인지 아닌지의 측정은 당해 기술분야의 숙련가의 기술 범위 내이다. 한 가지

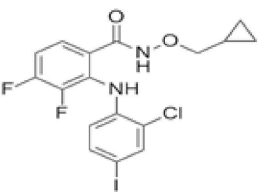
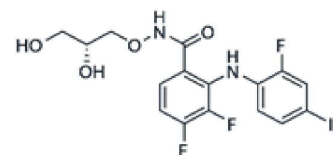
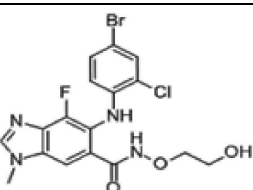
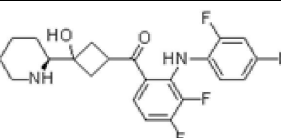
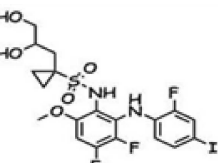
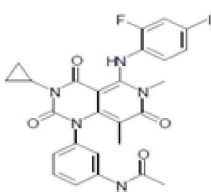
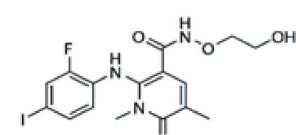
실시형태에서, MEK 억제제는 표 1에 수록된 화합물/억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

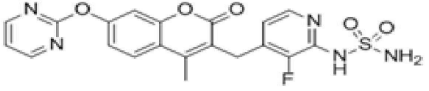
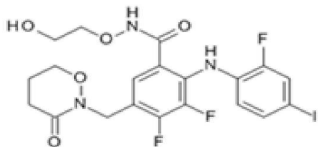
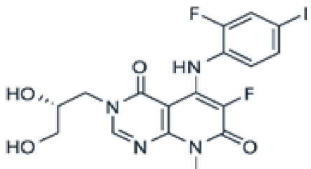
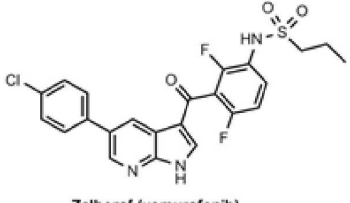
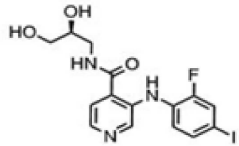
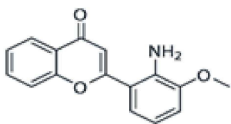
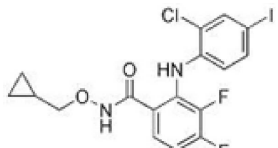
[0048] 본 발명의 MEK 억제제는 바람직하게는 U0126, PLX-4032, AZD6244, AZD8330, AS-703026, GSK-1120212, RDEA-119, RO-5126766, RO-4987655, CI-1040, PD-0325901, GDC-0973, TAK-733, PD98059, PD184352, ARRY-438162 및 PF-3644022, 바람직하게는 AZD8330, GSK-1120212, U0126, GDC-0973, CI-1040, PD0325901, ARRY-438162, PF-3644022 및 AZD6244 및 가장 바람직하게는 U0126, CI-1040, GDC-0973(Cobimetinib), AZD8330, GSK-1120212, 가장 바람직하게는 U0126, GDC-0973, CI-1040, AZD8330 및 GSK-1120212로부터 선택된다.

[0049] 이들 억제제의 일부는 하기 표 1에서 추가로 기재되어 있다.

五 1

[0050] MEK 억제제

	구조식 I CI-1040 2-(2-클로로-4-요오도페닐아미노)-N-(사이클로프로필메톡시)-3,4-디플루오로벤즈아미드
	구조식 II PD0325901 (R)-N-(2,3-디하이드록시프로폭시)-3,4-디플루오로-2-(2-플루오로-4-요오도-페닐아미노)벤즈아미드
	구조식 III AZD6244 6-(4-브로모-2-클로로페닐아미노)-7-플루오로-N-(2-하이드록시에톡시)-3-메틸-3H-벤조[d]이미다졸-5-카복사מיד
	구조식 IV GDC-0973 [3,4-디플루오로-2-[(2-플루오로-4-요오도페닐)아미노]페닐][3-하이드록시-3-[(2S)-2-피페리딘]-1-아세티디닐]메탄온
	구조식 V RDEA-119 (S)-N-(3,4-디플루오로-2-(2-플루오로-4-요오도페닐-아미노)-6-메톡시페닐)-1-(2,3-디하이드록시프로필)사이클로프로판-1-설폰아מיד
	구조식 VI GSK-1120212 N-(3-(3-사이클로프로필-5-(2-플루오로-4-요오도페닐아미노)-6,8-디메틸-2,4,7-트리아옥소-3,4,6,7-테트라하이드로피리도[4,3-d]피리미딘-1(2H)-일)페닐)아세트아מיד
	구조식 VII AZD8330 2-(2-플루오로-4-요오도페닐아미노)-N-(2-하이드록시에톡시)-1,5-디메틸-6-옥소-1,6-디하이드로피리딘-3-카복사מיד

	<p>구조식 VIII R05126766 C20H16FN5O5S</p>
	<p>구조식 IX R04987655 C20H19F3IN3O5</p>
	<p>구조식 X TAK-733 (R)-3-(2,3-디하이드록시프로필)-6-플루오로-5-(2-플루오로-4-요오도페닐아미노)-8-메틸피리도[2,3-d]피리미딘-4,7(3H,8H)-디온</p>
 <p>Zelboraf (vemurafenib)</p>	<p>구조식 XI PLX-4032 N-[3-[[5-(4-클로로페닐)-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-3-일]카보닐]-2,4-디플루오로페닐]-1-프로판설폰아미드</p>
	<p>구조식 XII AS703026 (S)-N-(2,3-디하이드록시프로필)-3-(2-플루오로-4-요오도페닐아미노)이소니코틴아미드</p>
	<p>구조식 XIII PD98059 2-(2-아미노-3-메톡시페닐)-4H-크로멘-4-온</p>
	<p>구조식 XIV PD184352 2-(2-클로로-4-요오도페닐아미노)-N-(사이클로프로필메톡시)-3,4-디플루오로벤즈아미드</p>

[0051] 또한, 바람직하게는 PLX-4032, AZD6244, AZD8330, GDC-0973, RDEA119, GSK1120212, R051267766, R04987655, TAK-733 및 AS703026로부터 선택된다. 보다 더 바람직하게는, 이들은 AZD6244, AZD8330, GSK1120212 및 PLX-4032로부터 선택되거나, PD-0325901, AZD-6244, AZD-8330 및 RDEA-119로부터 선택될 수 있다. 이들 MEK 억제제는 당해 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들면, 문헌[참조: Fremin and Meloche(2010), J. Hematol. Oncol. 11:3:8의 표 1]에 기재되어 있다.

[0052] 이들 억제제의 일부에 대한 보다 많은 정보는 또한 문헌[참조: Arthur and Ley(2013) Mitogen-activated protein kinases in innate immunity; Nature Reviews Immunology 13,679692(2013)]으로부터 취득할 수 있다.

[0053] 실제로, 첨부된 실시예에서 입증된 바와 같이, 본원에 개시된 MEK 억제제 U0126 및 CI-1040은 단독으로 세균 감염 뿐만 아니라 공-감염 시나리오에서 효과를 나타낸다.

[0054] 또한, 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에서 사용하기 위한 p38 억제제가 제공된다. "p38 MAP 키나제 억제제"는 또한 당해 기술분야에 공지되어 있다. 용어 "p38 억제제", "p38 키나제 억제제", 및 "p38 MAP 키나제 억제제"는 본원에서 교환가능하게 사용된다. 본 발명의 문맥에서, p38 MAP 키나제 억제제는 p38 MAP 키나제를 억제한다. 바람직하게는 p38 키나제 억제제는 p38 MAP 키나제의 이소형 중의 하나, 바람직하게는 p38 MAP 키나제의 4개 이소형(α , β , γ 또는 δ) 중의 하나(α -이소형이 바람직하다)를 억

제하고, 보다 바람직하게는 p38 MAP 키나제의 2개 이소형의 임의의 조합을 억제하고, 보다 바람직하게는 p38 MAP 키나제의 3개 이소형의 임의의 조합을 억제하고, 가장 바람직하게는 p38 MAP 키나제의 모든 이소형 또는 α , β , γ 및 δ 이소형을 억제한다. 일부 실시형태에서, p38 MAP 키나제 억제제는 염증 질환, 자가면역 질환, 파괴성 골 장애, 증식성 장애, 감염성 질환, 바이러스 질환 또는 신경변성 질환에 관여하는 p38의 이소형을 억제한다. p38 MAP 키나제의 α -이소형은 염증, 증식, 분화 및 아포토시스에 관여하고, p38 β , p38 δ 및 p38 γ 의 생물학적 기능한 여전히 완전하게는 이해되지 않은 것으로 보고되어 있다. 따라서, 본원에서 p38 MAP 키나제 억제제가 α -이소형을 억제하는 것이 바람직하다.

[0055] p38 MAP 키나제 억제제는 소분자, 거대 분자, 펩티드, 올리고뉴클레오타이드 등일 수 있다. p38 MAP 키나제 억제제는 단백질 또는 이의 단편 또는 핵산 분자일 수 있다. 또한, 용어 p38 억제제에는 38 억제제의 약제학적으로 허용되는 염이 포함된다.

[0056] 화합물이 p38 키나제 억제제인지 아닌지의 측정은 당해 기술분야의 숙련가의 범위 내에 있다.

[0057] 당해 기술분야에서는 p38 억제제의 다수의 예가 있다. 문헌[참조: 미국 특허 제5,965,583호, 제6,040,320호, 제6,147,096호, 제6,214,830호, 제6,469,174호, 제6,521,655호]는 p38 억제제인 화합물을 개시한다. 미국 특허 제6,410,540호, 제6,476,031호 및 제6,448,257호는 또한 p38 억제제인 화합물을 개시한다. 유사하게는, 미국 특허 제6,410,540호, 제6,479,507호 및 제6,509,361호는 p38 억제제인 것으로 주장되는 화합물을 개시한다. 미국 공개 특허원 제20020198214호 및 제20020132843호는 P38 억제제인 것으로 언급되는 화합물을 개시한다. 또 다른 p38 MAP 키나제 억제제는 BIRB 796 BS(1-(5-3급-부틸-2-*p*-톨릴-2H-피라졸-3-일)-3-[4-(2-모르폴린-4-일-에톡시)-나프탈렌-1-일]-우레아)이다[참조: Branger(2002), J. Immunol. 168:4070-4077 또는 추가의 p39 MAP 키나제 억제제를 위한 US 6,319,921].

[0058] 다른 p38 MAP 키나제 억제제는 AMG 548(Amgen), BIRB 796(Boehringer Ingelheim), VX 702(Vertex/Kissei), SCIO 469, SCIO 323(Scios Inc.), SB 681323(GlaxoSmithKline), PH-797804(Pfizer) 및 Org-48762-0(Organon NV)이다[참조: Lee and Dominguez in Curr Med Chem. 2005;12(25):2979-2994 and Dominguez in Curr Opin Drug Discov Devel. 2005 Jul;8(4):421-430].

[0059] 본 발명에 따르면, 억제제는 p38 MAP 키나제의 상류 또는 하류 또는 직접 p38 MAP 키나제에 대해 이의 조절 효과를 나타낼 수 있고, 후자의 작용 방식이 바람직하다. 억제제 조절된 p38 MAP 키나제 활성의 예는 억제제가 p38 MAP 키나제의 전사 및/또는 번역을 감소시킬 수 있거나, p38 MAP 키나제의 번역후 변형 및/또는 세포 수송을 감소 또는 억제시킬 수 있거나, p38 MAP 키나제의 반감기를 단축시킬 수 있는 것들을 포함한다. 억제제는 또한 p38 MAP 키나제에 가역적 또는 비가역적으로 결합할 수 있거나, 이의 활성화를 억제시킬 수 있거나, 이의 효소적 활성을 불활성화시킬 수 있거나, 달리는 하류 기질과의 이의 상호작용을 방해할 수 있다.

[0060] p38 MAP 키나제의 4개 이소형은 고도의 서열 상동성을 공유한다. p38 MAP 키나제의 α 및 β 이소형은 밀접하게 관련되어 있는 반면, γ 및 δ 이소형은 보다 다양하다. 고도의 구조적 유사성을 고려하면, 하나의 p38 MAP 키나제 이소형을 억제하는 능력을 갖는 특정 화합물이 종종 다른 이소형의 MAP 키나제를 억제할 수 있다는 것은 놀라운 것이 아니다. 따라서, 일부 실시형태에서, 키나제의 α -이소형에 특이적인 p38 MAP 키나제의 억제제는 이소형 특이적 억제를 가능하게 하도록 이론화되어 있는 적어도 3개 카테고리의 구조적 특징을 갖는다.

[0061] 후보 p38 MAP 키나제 억제제의 선택적 결합은 다양한 방법으로 측정할 수 있다. 다양한 이소형의 p38 MAP 키나제에 대한 유전자는 당해 기술분야에 공지되어 있다. 당해 기술분야의 숙련가는 다양한 이소형의 키나제를 용이하게 클로닝 및 발현시킬 수 있고, 이들을 정제한 다음, 후보 화합물과의 결합 연구를 수행하여 이소형 결합 특징을 측정할 수 있다. 이러한 일련의 실험은 α -이소형의 p38 MAP 키나제에 대해 수행되었고, 미국 특허 제 6,617,324 B1호에서 제공되어 있다.

[0062] 또 다른 키나제 선택성 분석은 문헌[참조: Mihara(2008), Br. J. Pharmacol. 154(1):153-164]에 기재되어 있다. 본원의 일부 실시형태에서, p38 MAP 키나제 억제제는 p38 MAP 키나제의 4개 이소형 중의 하나를 억제하고, 보다 바람직하게는 p38 MAP 키나제의 2개 이소형의 임의의 조합을 억제하고, 보다 더 바람직하게는 p38 MAP 키나제의 3개 이소형의 임의의 조합, 예를 들면, p38- α (MAPK14), - β (MAPK11), - γ (MAPK12 또는 ERK6)를 억제한다. 대안적으로, 그러나 바람직하게는, 이는 p38 MAP 키나제의 4개 모든 이소형을 억제한다.

[0063] 한 가지 실시형태에서, p38 억제제는 표 2(도 8)에 수록된 억제제로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 또 다른 실시형태에서, p38 억제제는 SB202190, LY2228820, CAY10571, SB 203580, Tie2 키나제 억제제, 2-(4-클로로페

닐)-4-(플루오로페닐)-5-피리딘-4-일-1,2-디하이드로피라졸-3-온, CGH 2466, SB220025, 항생물질 LL Z1640-2, TAK 715, SB202190 하이드로클로라이드, SKF 86002, AMG548, CMPD-1, EO 1428, JX 401, ML 3403, RWJ 67657, SB 202190, SB 203580, SB 203580 하이드로클로라이드, SB 239063, SCIO 469, SX 011, TAK 715, 파마피모드(Pamapimod), 로스마피모드(Losmapimod)(GW856553), 딜마피모드(Dilmapimod)(SB681323), VX 702, VX 745, 도라마피모드(Doramapimod)(BIRB 796), BMS-582949, ARRY-797, PH797804, SCIO-469, 바람직하게는 VX-702, SB202190, 파마피모드, 로스마피모드(GW856553), 딜마피모드(SB681323), 도라마피모드(BIRB 796), BMS-582949, ARRY-797, PH797804 및 SCIO-469로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0064] 이들 억제제의 일부에 대한 보다 많은 정보는 또한 문헌[참조: Arthur and Ley(2013) Mitogen-activated protein kinases in innate immunity; Nature Reviews Immunology 13,679692(2013)]로부터 취득할 수 있다.

[0065] MEK 억제제 및 p38 억제제 이외에, 본 발명은 또한 본 발명의 공-감염 또는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 NF- κ B(NFkB/NFkappaB) 억제제에 관한 것이다. 화합물이 NF- κ B 억제제인지 아닌지의 측정은 당해 기술분야의 숙련가의 기술 범위 내에 있다.

[0066] NF- κ B(활성화된 B 세포의 핵 인자 카파-경쇄-인핸서)는 DNA의 전사를 조절하는 단백질 복합체이다. NF- κ B는 거의 모든 동물 세포 유형에서 발견되고, 스트레스, 사이토킨, 유리 라디칼, 자외선 조사, 산화된 LDL 및 세균 또는 바이러스 항원 등의 자극에 대한 세포 반응에 관여한다. 척추동물 NF- κ B 전사 복합체는 아단위 p50(NF- κ B1), p52(NF- κ B2), c-Rel, RelA(p65) 및 RelB에 의해 형성된 임의의 다양한 호모- 및 헤테로이량체일 수 있다 [참조: Gilmore TD.(2006) Oncogene 25: 66806684]. 이들 복합체는 κ B 부위로 불리우는 DNA 조절 부위에 결합하여, 일반적으로 특이적 표적 유전자 발현을 활성화시킨다. 대부분의 세포 유형에서, NF- κ B 이량체는 임의의 몇몇 I κ B 억제제 단백질(I κ B, α , β , ϵ , γ p105 및 p100)과의 회합을 통해 불활성 형태로 세포질에 위치되어 있다. 자극의 넓은 어레이 반응하여, I κ B는 프로테아좀에 의해 포스포릴화, 유비퀴틴화 및 분해된다. 이어서, 유리된 NF- κ B 이량체는 특이적 유전자 발현을 조절할 수 있는 핵으로 이동한다.

[0067] I κ B의 포스포릴화 및 분해는 NF- κ B 복합체의 조절에 중요하고, 이는 2개의 키나제 아단위, IKK α 및 IKK β 를 함유하는 I κ B 키나제(IKK) 복합체, 및 NEMO(aka IKK γ)로 불리우는 회합된 스캐폴드형 조절 단백질에 의해 매개된다[참조: Gilmore and Herscovich(2006) Inhibitors of NF- κ B signaling: 785 and counting Oncogene. 25, 68876899]. 특히, 예를 들면, 본 발명의 실시예 3에 제시된 바와 같이, NF- κ B 시그널전달은 세포 내로 세균(예: 에스. 아우레우스) 내재화에 또한 중요하다.

[0068] 본 발명에 따르면, 억제제는 NF- κ B의 상류 또는 하류 또는 직접 NF- κ B에 대해 이의 조절 효과를 나타낼 수 있고, 후자의 작용 방식이 바람직하다. NF- κ B 활성을 조절하는 억제제의 예는 억제제가 NF- κ B의 전사 및/또는 번역을 감소시킬 수 있거나, NF- κ B의 반감기를 단축시킬 수 있는 것들을 포함한다. 억제제는 또한 가역적 또는 비가역적으로 NF- κ B에 결합할 수 있거나, 이의 활성을 억제시킬 수 있거나, 이의 활성을 불활성화시킬 수 있거나, 달리는 하류 표적, 예를 들면, 유전자에 대한 표적과의 이의 상호작용을 방해할 수 있다. 또한, NF- κ B 억제제는, 예를 들면, IKK 억제에 의한 I κ Ba 포스포릴화를 억제하는 분자 등의 단백질 키나제를 억제할 수 있다. 이러한 활성을 갖는 화합물은 SC-893, BMS-345541이고, 이는 기준 화합물로서 사용될 수 있다. 또한, NF- κ B 억제제는 단백질 포스파타제를 억제하거나, 프로테아좀 또는 유비퀴틴화를 억제할 수 있다. 기준 화합물로서 사용될 수 있는 이러한 NF- κ B 억제제의 예는 단백질 포스파타제 억제제, 보로네이트, 보르테조미, NPI-0052를 포함한다. 대안적으로, NF- κ B 억제제는 NF- κ B의 핵 이동, 또는 DNA에 대한 이의 결합을 차단할 수 있다. 기준 화합물로서 사용할 수 있는 이러한 억제제의 예는 SN50, 데하이드록시메틸에폭시퀴노마이신 및 NF- κ B 테코이 ODN을 포함한다. NF- κ B의 억제제에 대한 추가의 정보는 문헌[참조: Gupta et al.(2010) (Gupta et al.(2010) Inhibiting NF- κ B activation by small molecules as a therapeutic strategy. Biochim Biophys Acta. 1799(10-12): 775-787]으로부터 취득할 수 있다.

[0069] NF- κ B 억제제는 소분자, 거대 분자, 펩티드, 올리고뉴클레오타이드 등일 수 있다. NF- κ B 억제제는 단백질 또는 이의 단편 또는 핵산 분자일 수 있다. 또한, 용어 NF- κ B 억제제에는 NF- κ B 억제제의 약제학적으로 허용되는 염이 포함된다. 한 가지 실시형태에서, NF- κ B 억제제는 도 9 및 10의 표 3 및 4에 수록된 억제제/분자로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 또 다른 실시형태에서, NF- κ B 억제제는 도 9의 표 3에 수록된 억제제/분자로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 또 다른 실시형태에서, NF- κ B 억제제는 도 10의 표 4에 수록된 억제제/분자로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0070] 또 다른 실시형태에서, NF- κ B 억제제는 LASAG, SC75741(및 유도체), MG 132, TPCA-1, PCTC, IMD 0354, 루테올린, 카페산벤에틸에스테르, 카다모닌(Cardamonin), PF 184, IKK 16, SC 514, 위타페린(Withaferin) A, 아악티

게닌(Arctigenin), BAY 11-7085, PSI, PR 39, Ro 106-9920, BAY 11-7821, ML-130, 셀라스트롤(Celastrol), 탄시논(Tanshinone) IIA, HU 211, 글리오톡신(Gliotoxin), CID 2858522, 호노키올(Honokiol), 안드로그라폴리드(Andrographolide), 10Z-하이메니알디신(Hymenialdisine), ACHP, 프리스티메린(Pristimerin), 설펜살라진(Sulfasalazine), ML 120B 디하이드로클로라이드, 암렉사녹스(Amlexanox), 9-메틸스트렙티미돈, N-스테아로일 피토스핀고신, 2-(1,8-나프티리딘-2-일)-페놀, 5-아미노살리실산, BAY 11-7085, 에틸 3,4-디하이드록시신나메이트, 헬라날린(Helalanin), NF- κ B 활성화 억제제 II, JSH-23, 글루코코르티코이드 수용체 조절인자, CpdA, PPM-18, 아스피린(aspirin)(ASA), 피롤리딘디티오카바산 암모늄 염, (R)-MG132, SC75741(및 유도체), 로카글라미드(Rocaglamide), 나트륨 살리실레이트, QNZ, PS-1145, CAY10512, 보르테조미(bortezomib), 살살레이트(salsalate), 레스베라트롤(resveratrol), LASAG, 데옥시스페르구아린(deoxyspergualin), 설린닥(sulindac), 탈리도미드(thalidomide), AGRO-100, CHS 828 및/또는 큐르쿠민(Curcumin), 바람직하게는 보르테조미, 큐르쿠민, 살살레이트, 레스베라트롤, 나트륨 살리실레이트, LASAG, ASA, 데옥시스페르구아린, 설린닥, 탈리도미드, AGRO-100, CHS 828, 보다 더 바람직하게는 SC75741(및 유도체) ASA 및 LASAG 및 가장 바람직하게는 LASAG로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0071] SC75741 이외에 용어 "SC75741" 또는 "SC75741(및 유도체)"로서는 SC75741의 유도체가 본 발명에 의해 상정된다.

[0072] 일반적으로, 당해 기술분야의 숙련가는, 화합물이 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제인지를 발견하는 방법을 알고 있다. 화합물이 MEK 억제제 및/또는 p38 억제제인지를 결정할 수 있는 방법의 추가의 예는 MEK 및/또는 p38 NF κ B 단백질을 단리하는 것일 수 있다. 단백질은, MEK 및/또는 p38 단백질이 자연적으로 발현되거나 올리고뉴클레오타이드의 형질감염 또는 MEK 및/또는 p38 단백질의 발현을 지시하는 바이러스를 사용한 감염에 의해 과발현된 세포로부터 단리된다. 추가로, MEK 및/또는 p38 단백질은 또한 재조합에 의해 발현될 수 있다. 단백질의 단리시, 당해 기술분야의 숙련가는 잠재적 MEK 및/또는 p38 억제제의 존재 또는 부재하에 키나제의 활성을 측정할 수 있다. 키나제 활성이 주장된 억제제의 부재하보다 존재하에서 보다 낮은 경우, 당해 억제제는 각각 MEK 및/또는 p38이다.

[0073] MEK 및/또는 p38에 직접 작용하는 경우, 억제제는 약 5 μ M 이하, 바람직하게는 500nm 이하, 보다 바람직하게는 100nm 이하의 IC50 값을 나타내야 한다. 관련 실시형태에서, 억제제는, 동일한 억제제를 동일하거나 필적하는 분석으로 다른 p38 MAP 키나제 이소형에 대해 시험할 때에 관찰된 것보다 바람직하게는 적어도 10배 낮은 p38- α 이소형에 대한 IC50 값을 나타내야 한다. IC50 값은 분석 의존적이고 측정마다 변경될 가능성이 있음에 유의해야 한다. 정확한 값 자체보다는 화합물의 IC50 값의 상대적 관계를 찾는 것이 보다 중요하다.

[0074] IC50은 억제제의 부재하에 측정된 활성의 50%까지 효소를 억제하는 화합물의 농도이다.

[0075] IC50 값은 대조군과 비교하여 50% 감소를 유발하는 억제제의 농도를 사용하여 계산한다. IC50 값은 분석 의존적이고 측정마다 상이할 것이다. 이와 같이, IC50 값은 상대적 값이다. 특정 억제제에 대해 할당된 값은 절대적 기준이 아니라 일반적으로 비교되어야 한다.

[0076] 잠재적 활성화제, 억제제 또는 조절제로 처리되는 MAP 및/또는 MAPK 키나제를 포함하는 샘플 또는 분석물을 억제제, 활성화제 또는 조절제 부재하의 대조군 샘플과 비교하여 억제 정도를 조사한다. 대조군 샘플(억제제로 처리하지 않음)은 100%의 상대적 MAP 및/또는 MAPK 키나제 활성을 할당할 수 있다. MAP 및/또는 MAPK 키나제의 억제제는, 대조군에 대한 MAP 및/또는 MAPK 키나제 활성이 약 80%, 임의로 50% 또는 25 내지 0%인 경우에 달성된다. MAP 및/또는 MAPK 키나제의 활성화는 대조군에 대한 MPA 키나제 활성 값이 110%, 임의로 150%, 임의로 200 내지 500% 또는 1000 내지 3000% 이상인 경우에 달성된다. 본 발명의 예시적 MAP 키나제 결합 활성 분석은 MAP 및/또는 MAPK 키나제 리간드 블롯 분석[참조: Aymerich et al., Invest Ophthalmol Vis Sci. 42:3287-93, 2001]; MAP 및/또는 MAPK 키나제 친화성 컬럼 크로마토그래피[참조: Alberdi et al., J Biol Chem. 274:31605-12, 1999] 및 MAP 및/또는 MAPK 키나제 리간드 결합 분석[참조: Alberdi et al., J Biol Chem. 274:31605-12, 1999]이다. 이들 전체는 각각 참조로서 도입된다.

[0077] 또한, 억제제의 선택성은 문헌[참조: Mihara(2008), Br. J. Pharmacol. 154(1):153-164]에 기재된 바와 같이 키나제 선택성 분석에 의해 측정할 수 있다.

[0078] NF κ B 억제제의 경우에, 예를 들면, 무-처리된 대조군 세포에서 NF κ B의 표적 유전자의 유전자 생성물(단백질)을 측정하고 이들 표적 유전자 생성물의 발현을 NF κ B 억제제로 처리한 세포와 비교할 수 있다. 일부 표적 유전자는 문헌[참조: Oeckinghaus and Ghosh(2009), The NF- κ B Family of Transcription Factors and Its

Regulation. Cold Spring Harb Perspect Biol. Oct 2009; 1(4): a000034]에 기재되어 있다.

- [0079] 발현 수준은 세포를 억제제로 처리하는 경우에 감소된다. 다른 전략은 p-p65 축적 및 웨스턴 블롯에 의한 NF κ B의 핵 이동과 함께 I κ B α 열화를 검출하는 것일 수 있다. 또한, 억제제로 처리된 세포와 비교하여 억제제로 처리하지 않은 세포의 DNA와의 NF κ B 상호작용은 전기영동 이동도 시프트 분석(EMSA)를 사용하여 분석할 수 있다.
- [0080] 분자의 억제 특성은 또한 이의 작용을 기준 화합물과 비교하여 분석할 수 있다. 본원에서 지칭되는 "기준 화합물"은, 분자가 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 특성을 갖는지를 측정하기 위한 양성 대조군으로 사용될 수 있는 화합물을 의미한다. 이와 같이, 또한, 본원에 수록된 임의의 억제제는 이러한 기준 화합물로서 사용될 수 있다. 가능한 시험은, 예를 들면, MEK, p38 및 NF κ B 경로를 활성화하도록 자극된 세포를 기준 화합물 및 병행하여, 예를 들어, 상이한 웰에서 목적하는 화합물로 처리하는 것일 수 있다.
- [0081] 본 발명의 억제제는 치료 및/또는 예방을 위한 방법에서 사용될 수 있다. 이와 같이, 용어 "치료하는" 또는 "치료"는, 증상을 완화 또는 개선시킬 목적으로 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공감염을 앓고 있는 대상체에게 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제를 바람직하게는 의약의 형태로 투여하는 것을 포함한다. 유사하게는, 증상을 완화 또는 개선시킬 목적으로 세균 감염을 앓고 있는 대상체에게 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제를 바람직하게는 의약의 형태로 투여하는 것이 포함된다.
- [0082] 추가로, 본원에 사용된 용어 "예방"은 이의 목적이 질환을 예방하는 것인 임의의 의학적 또는 공중 위생 절차를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "예방하다", "예방" 및 "예방하는"은 소정 상태, 즉 인플루엔자 바이러스 감염 및 세균 감염 또는 세균 감염 단독을 포함하는 공감염을 획득 또는 발증하는 위험의 감소를 지칭한다. 또한, "예방"은 대상체에서 인플루엔자 바이러스 감염 및 세균 감염 또는 세균 감염 단독을 포함하는 공감염의 재발의 감소 또는 억제이다.
- [0083] 본 발명의 억제제는 공-감염을 치료하는데 효과적이다. 본원에 사용된 바와 같이 "공-감염"은 인플루엔자 바이러스 감염 및 세균 감염을 포함한다. 이러한 공감염은 세균 및 인플루엔자 바이러스를 사용한 숙주, 예를 들면 대상체 및/또는 단일 세포의 동시 감염에 의해 발생할 수 있다. 또한, 숙주, 예를 들면, 대상체 및 또는 세포는 하나 이상의 바이러스 입자 및 하나 이상의 세균으로 동시에 감염시킬 수 있다. 그러나, 이러한 공감염은 또한 순차로 발생할 수 있다. 이러한 경우에, 먼저 하나 이상의 바이러스 입자로 감염시키고, 이후 동시에 숙주 및/또는 세포를 하나 이상의 세균으로 감염시키거나, 그 반대일 수 있다. 2개 감염 사이의 시간 기간은 최대 14일, 13일, 12일, 11일, 10일, 9일, 8일, 7일, 6일, 5일, 4일, 3일, 2일, 1일, 12시간, 6시간, 3시간, 1.5 시간 또는 최소 30분의 시간 기간일 수 있다.
- [0084] 이러한 상황은 또한 제2 감염이 제1 감염에 사용된 치료에 대해 내성이 있는 외인성 또는 내인성 기원의 상이한 미생물에 의해 특히 초기의 한쪽에 대해 중복되는 중복감염일 수 있다.
- [0085] 공-감염 내에서 인플루엔자 바이러스 감염은 인플루엔자 A 바이러스 또는 인플루엔자 B 바이러스에 의해 매개되고, 바람직하게는 인플루엔자 A 바이러스는 H1N1, H2N2, H3N2, H6N1, H7N7, H7N9, H9N2 H10N7, H10N8 또는 H5N1이다. 한 가지 실시형태에서, 인플루엔자 A 바이러스는 H1N1이다. 다른 실시형태에서, 인플루엔자 A 바이러스는 H3N2, H5N1 및 H7N9이다. 추가의 실시형태에서, 인플루엔자 A 바이러스는 H3N2, H5N1, H1N1 및 H7N9이다.
- [0086] 본 발명은 또한 상기 기재된 공-감염의 설정으로 발생하거나 숙주, 예를 들면, 대상체 및/또는 세포에 존재하는 유일한 감염으로서 발생할 수 있는 "세균 감염"에 관한 것이다. 세균 감염은 임의의 세균에 의해 매개될 수 있고, 바람직하게는 스태필로кок카세아에(Staphylococcaceae), 스트렙토кок카세아에(Streptococcaceae), 레지오넬라세아에(Legionellaceae), 슈도모나다세아에(Pseudomonadaceae), 클라미디아세아에(Chlamydiaceae), 마이코플라즈마타세아에(Mycoplasmataceae), 엔테로박테리아세아에(Enterobacteriaceae), 슈도모나달레스(Pseudomonadales) 및/또는 파스테우렐라세아에(Pasteurellaceae)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세균이다.
- [0087] 다른 실시형태에서, 세균 감염은 스태필로кок쿠스(Staphylococcus), 바람직하게는 스태필로кок쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 메티실린 감수성 및 메티실린 내성 스태필로кок쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 판톤-발렌틴 류코시딘(Panton-Valentine leukocidin)(PVL)-발현 스태필로кок쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) 및/또는 스트렙토кок카세아에(Streptococcaceae), 바람직하게는 스트렙토кок쿠스 미티스(*Streptococcus mitis*), 스트렙토кок쿠스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) 또는 스트렙토кок쿠스 뉴모니아(*Streptococcus pneumonia*), 레지오넬라, 바람직하게는 레지오넬라 뉴모필라(*Legionella pneumophila*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 바람직하게는 슈도모나스 에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 클라미도필라

(*Chlamydophila*), 바람직하게는 클라미도필라 뉴모니아(*Chlamydophila pneumonia*), 마이코플라스마(*Mycoplasma*), 바람직하게는 마이코플라스마 뉴모니아(*Mycoplasma pneumonia*), 클레브시엘라(*Klebsiella*), 바람직하게는 클레브시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumonia*), 모라셀라(*Moraxella*), 바람직하게는 모라셀라 카타르할리스(*Moraxella catarrhalis*) 및/또는 헤모필루스(*Haemophilus*), 바람직하게는 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus Influenza*)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 세균에 의해 매개된다. 바람직하게는, 세균은 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 스트렙토코쿠스 뉴모니아(*Streptococcus pneumonia*) 또는 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus Influenza*)로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 가장 바람직하게는, 세균은 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)이다.

[0088] 또한, 본 발명에는 억제제가 서로 조합될 수 있는 것이 포함된다. 이와 같이, 한 가지 실시형태에서, MEK 억제제는 또 다른 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제와 조합된다. 추가의 실시형태에서, p38 억제제는 또 다른 p38 억제제, MEK 억제제 및/또는 NF κ B 억제제와 조합된다. 다른 실시형태에서, NF κ B 억제제는 또 다른 NF κ B 억제제, p38 억제제 및/또는 MEK 억제제와 조합된다. 상기와 관련하여, 용어 "또 다른 억제제"는, 예를 들면, 하나의 MEK 억제제를 또한 또 다른 MEK 억제제와 조합할 수 있고 이들 2개 MEK 억제제가 동일하지 않음을 명확하게 하기 위해 사용된다. 예를 들면, MEK 억제제 CI-1040은 MEK 억제제 GDC-0973와 조합될 수 있다. 이는 동등하게 p38 및 NF κ B 억제제와 관련된다.

[0089] 한 가지 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 인플루엔자 바이러스 및 세균을 표적화하는 하나 이상의 추가 억제제와 동시에, 이전에 또는 이후에 투여된다.

[0090] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 본 발명의 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 인플루엔자 바이러스 및/또는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제와 조합된다. 한 가지 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 인플루엔자 바이러스 및/또는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제와 동시에, 이전에 또는 이후에 투여된다. 일반적으로, 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 억제제는 인플루엔자 치료에 효과적인 임의의 억제제 또는 의약이다. 상이한 물질이 인플루엔자 감염을 감소시키는데 효과적인 것으로 공지되어 있다. 이들 중에는, 예를 들면, 바이러스 폴리머라제 복합체, PB1, PB2, PA 또는 NP의 성분을 사용한 방해물, 뉴라미니다제 억제제, 이온 채널 단백질(M2)을 표적화하는 화합물 및 폴리머라제 또는 엔도뉴클레아제 활성을 표적화하는 화합물이 있다. 본 발명은 또한 이들 억제제의 약제학적으로 허용되는 염이 포함된다.

[0091] "뉴라미니다제 억제제"는 인플루엔자 바이러스에서 표적화된 항바이러스 약물이고, 이는 바이러스 뉴라미니다제 단백질의 기능을 차단하여 바이러스를 세포에 대한 결합으로부터 방지하고, 이는 바이러스를 감염시키고/시키거나, 새롭게 생성된 바이러스가 이들이 복제되는 세포로부터 발아할 수 없기 때문에, 바이러스가 숙주 세포로부터 발아하여 재생하는 것을 방지한다. 또한, 뉴라미니다제 억제제의 약제학적으로 허용되는 염이 포함된다. 바람직한 뉴라미니다제 억제제는 오셀타미비르, 자나미비르, 페라미비르, 또는 이들 물질의 임의의 약제학적으로 허용되는 염, 예를 들면, 오셀타미비르 포스페이트, 오셀타미비르 카복실레이트 등이다. 가장 바람직한 뉴라미니다제 억제제는 오셀타미비르 포스페이트, 자나미비르, 오셀타미비르 또는 페라미비르이다.

[0092] 이온 채널 단백질(M2)을 표적화하는 화합물은, 예를 들면, 아만타딘 및/또는 리만타딘이고, 바이러스 폴리머라제 복합체, PB1, PB2, PA 또는 NP의 성분을 사용한 방해물, 폴리머라제 또는 엔도뉴클레아제 활성을 표적화하는 화합물은, 예를 들면, NP 차단제 뉴클레오진 또는 폴리머라제 억제제 T-705이다.

[0093] 대안적으로 또는 추가적으로, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제와 조합될 수 있다. 세균을 표적화하는 억제제는 세균 감염의 감소에 효과적인 임의의 억제제일 수 있다. 당해 기술분야의 숙련가에게 공지된 바람직한 억제제는 항생물질이다. 바람직한 항생물질은 표 5(도 11)로부터 수득할 수 있다. 따라서, 한 가지 실시형태에서, 항생물질은 표 5(도 11)에 수록된 항생물질로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 추가의 실시형태에서, 항생물질은 표 5(도 11)에 수록된 항생물질 부류로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 또 다른 실시형태에서, 항생물질은 표 5(도 11)에 수록된 항생물질의 일반명으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 보다 바람직하게는, 젠타마이신, 리팜피신, 리소스타핀, 에리트로마이신, 레보플록사신, 반코마이신, 테이코플라닌, 페니실린 및 옥사실린으로부터 선택된 항생물질이다.

[0094] 본 발명의 억제제 또는 억제제 배합물로 치료될 수 있는 "대상체"는 바람직하게는 척추동물이다. 본 발명의 문맥에서, 용어 "대상체"는 공-감염 또는 세균 감염 단독의 치료를 필요로 하는 개체를 의미한다. 바람직하게는, 대상체는 공-감염 또는 세균 감염 단독을 앓고 있거나 이의 위험에 있는 환자이다. 바람직하게는, 환자는 척추동물, 보다 바람직하게는 포유동물이다. 포유동물은, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 가축, 경기용 동물, 애

완동물, 영장류, 마우스 및 랫트를 포함한다. 바람직하게는, 포유동물은 인간, 개, 고양이, 소, 돼지, 마우스, 랫트 등이고, 특히 바람직하게는 인간이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간 대상체이고, 이는 임의로 1세 초과 내지 14세 미만; 50 내지 65세, 또는 65세 초과이다. 다른 실시형태에서, 대상체는 인간 대상체이고, 이는 적어도 50세인 대상체, 만성 케어 시설에 거주하는 대상체, 폐 및 심혈관계의 만성 장애를 갖는 대상체, 만성 대사 질환, 신부전, 이상해모글로빈증 또는 면역 억제 때문에 지난해 동안 정기적 의학적 후속조치 또는 입원을 필요로 하는 대상체, 14세 미만의 대상체, 장기간 아스피린 치료를 제공받은 6개월 내지 18세의 대상체, 및 인플루엔자 시즌 동안 임신 2기 또는 3기에 있는 여성으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0095] 본 발명의 방법에서, 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 억제제 및 세균을 표적화하는 억제제 뿐만 아니라 MEK 억제제, p38 억제제 또는 NF κ B 억제제는 경구, 정맥내, 흉막내, 근육내, 국소 또는 흡입에 의해 투여할 수 있다. 바람직하게는, MEK 억제제는 비내 흡입 또는 경구에 의해 투여된다.

[0096] 본 발명은 또한 상이한 조성물을 상정한다. 본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 유사하게는 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은, 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제, 및 인플루엔자 바이러스 및/또는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제를 포함하는 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은, 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제, 및 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0097] MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 및 추가로 최종적으로 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제 및/또는 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 하나 이상의 억제제를 포함하는 조성물은 약제학적 조성물일 수 있다. 바람직하게는, 이러한 조성물은 담체, 바람직하게는 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함한다. 조성물은 경구 투여가능한 현탁액 또는 정제; 비내 스프레이, 멸균 주사가 가능한 제제(정맥내, 흉막내, 근육내), 예를 들면, 멸균 주사가 가능한 수성 또는 유성 현탁액 또는 좌제의 형태로 존재할 수 있다. 현탁액으로 경구 투여하는 경우, 이들 조성물은 약제학적 제형 분야에서 이용가능한 기술에 따라 제조되고, 벌크를 부여하기 위한 미정질 셀룰로즈, 현탁화제로서의 알긴산 또는 나트륨 알기네이트, 점성 증강제로서의 메틸셀룰로즈, 및 당해 기술분야에 공지된 감미제/향미제를 함유할 수 있다. 즉시 방출 정제로서, 이들 조성물은 미정질 셀룰로즈, 인산이칼슘, 전분, 마그네슘 스테아레이트 및 락토즈 및/또는 당해 기술분야에 공지된 기타 부형제, 결합제, 증량제, 붕해제, 희석제 및 윤활제를 함유할 수 있다. 주사가 가능한 용액 또는 현탁액은 적합한 무독성, 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매, 예를 들면, 만니톨, 1,3-부탄디올, 물, 링거액 또는 등장성 염화나트륨 용액, 또는 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제, 예를 들면, 합성 모노- 또는 디글리세라이드를 포함하는 멸균 무자극성 고정유, 및 올레산을 포함하는 지방산을 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화할 수 있다.

[0098] 억제제 또는 억제제들은 바람직하게는 치료학적 유효량으로 투여된다.

[0099] 본 발명의 용도를 위한 및 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 및 임의로 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 하나 이상의 억제제 및/또는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제를 포함하는 약제학적 조성물은 포유동물 또는 조류인 환자에게 투여된다. 적합한 포유동물의 예는, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 마우스, 랫트, 소, 염소, 양, 돼지, 개, 고양이, 말, 기니아 피그, 개, 햄스터, 밍크, 물개, 고래, 낙타, 침팬지, 붉은털원숭이 및 인간을 포함하고, 인간이 바람직하다. 적합한 조류의 예는, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 칠면조, 닭, 거위, 오리, 상오리, 청둥오리, 찌르레기, 고방오리, 갈매기, 백조, 빨닭 또는 물새의 몇몇 명칭을 포함한다. 인간 환자가 본 발명의 특정 실시형태이다.

[0100] 각각의 활성 화합물/억제제에 대한 "치료학적 유효량"은, 이로써 한정되는 것은 아니지만, 사용된 화합물의 활성, 환자 체내에서 활성 화합물의 안정성, 완화되는 상태의 중증도, 치료된 환자의 전체 체중, 투여 경로, 신체에 의한 활성 화합물의 흡수, 분포 및 배출의 용이성, 치료되는 환자의 연령 및 감수성, 부작용 등을 포함하는 요인에 따라 상이할 수 있고, 당해 기술분야의 숙련자에게 명백할 것이다. 다양한 요인이 시간 경과에 따라 변화하기 때문에 투여량은 조정될 수 있다.

[0101] 본원에 기재된 억제제, 방법 및 용도는 인간 치료 및 수의학적 용도 둘 다에 적용가능하다. 본원에 기재된 화합물, 특히 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 및 임의로 인플루엔자 바이러스를 표적화하는 하나 이상의 억제제 및/또는 목적하는 치료 활성을 갖는 세균을 표적화하는 하나 이상의 억제제는 본원에 기재된 바

와 같이 생리학적으로 허용되는 담체에서 대상체에게 투여될 수 있다. 도입 방식에 따라, 화합물은 하기 언급된 바와 같은 다양한 방식으로 제형화될 수 있다. 제형 중의 치료학적 활성 화합물의 농도는 약 0.1 내지 100 중량%로 상이할 수 있다. 제제는 단독으로 또는 기타 치료제와 조합하여 투여될 수 있다.

[0102] 본 발명의 방법에서 약제학적 화합물은 임의의 적합한 단위 용량형으로 투여될 수 있다. 적합한 경구 제형은 정제, 캡슐제, 현탁제, 시럽제, 주입 검, 웨이퍼, 엘릭시르 등의 형태로 존재할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체, 예를 들면, 결합제, 부형제, 윤활제 및 감미제 또는 향미제가 경구 약제학적 조성물에 포함될 수 있다. 필요한 경우, 감미, 색 및 특정 형태의 형상을 변경하는 통상의 제제가 또한 포함될 수 있다.

[0103] 주사가능한 제형에 있어서, 약제학적 조성물은 적합한 바이알 또는 튜브에서 적합한 부형제와 혼합하여 동결건조된 분말로 존재할 수 있다. 임상에서 사용하기 전에, 약물은, 동결건조된 분말을 적합한 용매 시스템에 용해시켜 정맥내 또는 근육내 주사에 적합한 조성물을 형성함으로써 재구성할 수 있다.

[0104] 본 발명의 또 다른 실시형태에 따라, 치료학적 유효량의 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제, 및 오셀타미비르, 오셀타미비르 포스페이트, 제나미비르 및 페라미비르의 그룹으로부터 선택된 치료학적 유효량의 뉴라미니다제 억제제를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0105] 한 가지 실시형태에서, 조성물은 상기 기재된 바와 같이 치료학적 유효량(예: 0.1mg 내지 2000mg, 0.1mg 내지 1000mg, 0.1 내지 500mg, 0.1 내지 200mg, 30 내지 300mg, 0.1 내지 75mg, 0.1 내지 30mg)의 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제 및 치료학적 유효량(예: 0.1mg 내지 2000mg, 0.1mg 내지 1000mg, 0.1 내지 500mg, 0.1 내지 200mg, 30 내지 300mg, 0.1 내지 75mg, 0.1 내지 30mg)의 뉴라미니다제 억제제를 갖는 경구 투여가능한 형태(예: 정제 또는 캡슐제 또는 시럽 등)으로 존재할 수 있다.

[0106] 추가의 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제는 본 발명의 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제는, 이/이들을 시험관내 시험 시스템과 접촉시키는 경우, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 바이러스 및 세균 감염 둘 다를 감소시키고, 여기서 상기 시험 시스템은 a) 인플루엔자 바이러스 및 b) 세균으로 감염된 배양 세포를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제는 본 발명의 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 방법에 사용하기 위한 것이고, 여기서 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제는, 이/이들을 시험관내 시험 시스템과 접촉시키는 경우, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 세균 감염을 감소시키고, 여기서 상기 시험 시스템은 세균으로 감염된 배양 세포를 포함한다.

[0107] 이와 같이, 본 발명은 또한 a) 인플루엔자 바이러스 및 b) 세균으로 감염된 배양 세포를 포함하는 시험관내 시험 시스템에 관한 것이다. 이와 더불어, 본 발명은 또한 세균으로 감염된 배양 세포를 포함하는 시험관내 시험 시스템을 제공한다.

[0108] 시험관내 시험 시스템이 바이러스 및 세균 감염을 포함하는 경우에, 또한, 이들 감염은 순차로 또는 동시에 발생할 수 있다.

[0109] "배양 세포" 또는 "배양 세포들"은, 이들의 천연 환경, 예를 들면, 식물 또는 동물에 존재하지 않는 세포이다. 오히려, 배양 세포는 이들의 천연 환경으로부터 단리된 세포 또는 세포주를 포함하는 일차 세포 배양물일 수 있다. 바람직하게는, 배양 세포는 인간 폐 상피 세포이다. 바람직하게는, 배양 세포는 DMEM 등의 0.5ml, 1ml, 1.5ml, 2ml, 2.5ml, 3ml, 3.5ml, 4ml 배지에서 약 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 10×10^5 , 11×10^5 , 가장 바람직하게는 8×10^5 세포의 밀도로 파종된다. 가장 바람직하게는 2ml DMEM당 8×10^5 세포의 밀도이다.

[0110] 이러한 배양 세포는 바이러스 및 세균 또는 다른 실시형태에서 세균 단독으로 감염된다. 상기 기재된 바와 같이, 공-감염은 순차로 또는 동시 방식으로 수행할 수 있다. 예를 들면, 배양 세포를 먼저 인플루엔자 바이러스로 감염시키고 30분 후에 세균/세균들로 감염시킬 수 있다. 또한, 세포와 세균을 제거하기 위해, 3시간 후에 항생물질을 배양물에 추가로 첨가할 수 있다. 이러한 시나리오에서, 항생물질은 이어서 또한 세척 제거된 상태로 될 것이다. 다른 실시형태에서, 세포는 단지 세균으로 감염시킨다.

[0111] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "접촉"은 인플루엔자 바이러스 및 세균을 포함하는 세포를 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NFκB 억제제와 공간적으로 근접하게 되도록 하는 것을 지칭한다. 이는, 예를 들면, 배양 세포가 시린지를 통해 위치되어 있는 배지에 억제제가 적용되는 것을 의미할 수 있다.

- [0112] 접촉시, 억제제가 활성적인 경우, 세균 감염 뿐만 아니라 바이러스 감염은 감소된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 억제제는 영양 바이러스 감염의 부재하에 단지 세균 감염만을 감소시키기 위해 사용된다.
- [0113] 한 가지 실시형태에서, 바이러스 감염의 감소는 플라크 형성 단위(pfu)/ml의 감소이고, 세균 감염의 감소는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml의 감소이다. "플라크 형성 단위(pfu)/ml"는 바이러스 입자 등의 단위 용적당 플라크를 형성할 수 있는 입자 수의 척도이다. 이는 입자의 절대량의 척도가 아니라 기능적 척도이다: 결합이 있거나 이들의 표적 세포를 감염시키지 못하는 바이러스 입자는 플라크를 형성하지 않을 것이고 따라서 계수할 수 없다. 예를 들면, 1,000PFU/ μ l의 농도를 갖는 인플루엔자 바이러스의 용액은 1 μ l의 용액이 세포 단일층에서 1000개 감염성 플라크를 생성하기에 충분한 바이러스 입자를 함유하는 것을 나타낸다. 본 발명의 경우에, 억제제로 처리된 세포 배양물은, 본 발명의 억제제로 처리하기 전의 배양물과 비교하여, 처리 후에 배양물에서 감소된 수의 플라크 형성 단위를 나타낸다.
- [0114] 가능한 "플라크 형성 단위(pfu)/ml의 감소"는 다음 방식으로 분석한다. 먼저, 인플루엔자 바이러스 및 세균으로 공-감염시킨 배양 세포는, 예를 들면, 일부 세포를 페트리접시로부터 흡인하고 이들을 플레이팅하여 형성되는 세균 플라크를 계수함으로써 플라크 형성 단위(pfu)/ml를 생성하는 이들의 능력에 대해 분석한다. 이어서, 이 결과를 억제제가 적용된 후의 동일한 배양물의 세포에 의해 형성된 플라크 형성 단위(pfu)/ml의 수와 비교한다. 플라크 형성 단위(pfu)/ml의 수가, 억제제의 적용 전에 생성된 수와 비교하여, 억제제를 사용한 처리 후에 감소되는 경우, 플라크 형성 단위가 감소한다.
- [0115] "콜로니 형성 단위(CFU)/ml"는 샘플 중의 생존 세균의 수를 산정한다. 상이한 방법이 존재한다. 예를 들면, 콜로니 형성 단위를 형성하기 위해, 샘플(예: 작은 용적의 배양 세포)을 영양 아가 플레이트의 표면에 분산시키고, 계수를 위해 배양 전에 건조시킨다. 생존 세균은 조절된 조건하에 이분열을 통해 증식하는 능력으로 정의된다. 세포 배양물에서 콜로니의 외관은 현저한 성장을 필요로 한다 - 콜로니를 계수하는 경우, 콜로니가 1개 세포 또는 1,000개 세포로부터 생성되는지는 불명확하다. 따라서, 결과는 (세포/ml 또는 세포/g이 아니라) 액체의 경우 CFU/ml(밀리리터당 콜로니-형성 단위)로서 및 고체의 경우 CFU/g(그램당 콜로니-형성 단위)로서 보고하여 이러한 불확실성을 반영한다.
- [0116] "콜로니 형성 단위(CFU)/ml"는 다음 방식으로 분석할 수 있다. 먼저, 인플루엔자 바이러스 및 세균 또는 세균 단독으로 공-감염시킨 배양 세포는, 예를 들면, 일부 세포를 페트리접시로부터 흡인하고 이들을 플레이팅하여 계수함으로써 콜로니 형성 단위(CFU)/ml를 형성하는 이들의 능력에 대해 분석한다. 이어서, 이 결과를 억제제가 적용된 후의 동일한 배양물의 세포에 의해 형성된 콜로니 형성 단위(CFU)/ml의 수와 비교한다. 콜로니 형성 단위(CFU)/ml의 수가 억제제의 적용 전에 형성된 수보다 감소되는 경우, 감소가 있다.
- [0117] 일반적으로, 당해 기술분야의 숙련가들은 세균 및 바이러스 감염을 분석하는 공지된 기술을 알고 있다. 플라크 형성 단위(pfu)/ml 및 콜로니 형성 단위(CFU)/ml를 측정할 수 있는 방법은 추가로 문헌[참조: Tuchscher, L. et al. (2011). *Staphylococcus aureus* phenotype switching: an effective bacterial strategy to escape host immune response and establish a chronic infection(EMBO molecular medicine 3, 129-141 and Hrincius, E.R et al. (2010) CRK adaptor protein expression is required for efficient replication of avian influenza A viruses and controls JNK mediated apoptotic responses. Cellular microbiology 12, 831-843]에 기재되어 있다.
- [0118] 또한, 본 발명은 다음 항목에 관한 것이다:
- [0119] 항목 1. 본 발명은 또한 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공감염을 감소시키는데 효과적인 억제제를 측정하기 위한 본 발명의 시험관내 시험 시스템의 용도를 제공한다. 한 가지 실시형태에서, 바이러스 감염의 감소는 플라크 형성 단위(pfu)/ml의 감소이고, 세균 감염의 감소는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml의 감소이다.
- [0120] 항목 2. 또한, 본 발명은 본 발명의 시험관내 시험 시스템을 목적하는 화합물과 접촉시키는 것을 포함하는, 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료에 효과적인 분자를 검출하는 방법으로서, 상기 목적하는 화합물은, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 바이러스 및 세균 감염 둘 다를 감소시키는, 방법에 관한 것이다. 한 가지 실시형태에서, 바이러스 감염의 감소는 플라크 형성 단위(pfu)/ml의 감소이고, 세균 감염의 감소는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml의 감소이다.
- [0121] 항목 3. 본 발명은, 또한, 세균 감염의 감소에 효과적인 억제제를 측정하기 위한 본 발명의 시험관내 시험 시스템의 용도에 관한 것이다.

- [0122] 항목 4. 추가로, 본 발명은, 시그널 형질도입, 생성된 사이토킨 및 케모킨 발현, 아포토시스 및 괴사의 유도 및/또는 건강 및 질환을 조절하는 레독스 지혈의 수준의 검사를 임의로 포함하는, 선천성 숙주 세포 반응의 검사를 위한 본 발명의 시험관내 시험 시스템의 용도에 관한 것이다.
- [0123] 항목 5. 또한, 본 발명은, 본 발명의 시험관내 시험 시스템을 목적하는 화합물과 접촉시키는 것을 포함하는 세균 감염의 예방 및/또는 치료에 효과적인 분자를 검출하는 방법으로서, 상기 목적하는 화합물이, 접촉 전의 시험관내 시험 시스템과 비교하여, 세균 감염을 감소시키는, 방법을 제공한다.
- [0124] 항목 6. 본 발명은 추가로 인플루엔자 바이러스 및 세균으로 감염된 배양 세포에 관한 것이다.
- [0125] 항목 7. 또한, 세균으로 감염된 배양 세포가 제공된다.
- [0126] 항목 8. 본 발명은 또한, 치료학적 유효량의 본 발명의 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 또는 본 발명의 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하여, 대상체에서 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료 방법에 관한 것이다.
- [0127] 항목 9. 또한, 본 발명은 의약을 제조하기 위한 본 발명의 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 또는 본 발명의 조성물의 용도를 제공한다.
- [0128] 항목 10. 또한, 본 발명은 세균 감염 및 인플루엔자 바이러스 감염을 포함하는 공-감염의 예방 및/또는 치료를 위한 본 발명의 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 또는 본 발명의 조성물의 용도를 제공한다.
- [0129] 항목 11. 유사하게는, 본 발명은 또한 치료학적 유효량의 본 발명의 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 또는 본 발명의 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 세균 감염의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.
- [0130] 항목 12. 또한, 본 발명은 세균 감염의 예방 및/또는 치료를 위한 본 발명의 MEK 억제제, p38 억제제 및/또는 NF κ B 억제제 또는 본 발명의 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0131] ***
- [0132] 문맥이 달리 명확하게 지시하지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, 단수형 "a", "an" 및 "the"는 복수의 참조를 포함함에 유의해야 한다. 따라서, 예를 들면, "시약"에 대한 언급은 하나 이상의 이러한 상이한 시약을 포함하고, "방법"에 대한 언급은 본원에 기재된 방법을 변형 또는 치환할 수 있는 당해 기술분야의 숙련자에게 공지된 동등한 단계 및 방법에 대한 언급을 포함한다.
- [0133] 본 개시에 인용된 모든 간행물 및 특허는 이의 전체가 참조로서 도입된다. 참조로서 도입된 재료가 본 명세서와 모순되거나 일치하지 않는 한, 본 명세서에서 임의의 이러한 재료에 우선할 것이다.
- [0134] 달리 명시하지 않는 한, 일련의 요소에 선행하는 용어 "적어도"는 일련의 모든 요소를 지칭하는 것으로 이해되어야 한다. 당해 기술분야의 숙련가는 통상의 실험만을 사용하여 본원에 기재된 본 발명의 특징의 실시형태에 대한 다수의 등가물을 인지하고 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 본 발명에 포함되는 것으로 의도된다.
- [0135] 본 명세서 및 하기 특허청구범위 전체에 걸쳐, 문맥이 달리 요구하지 않는 한, 단어 "포함하다" 및 변형태 "포함한다" 및 "포함하는"은 언급된 정수 또는 단계 또는 정수 또는 단계의 그룹의 포함을 의미하고 임의의 다른 정수 또는 단계 또는 정수 또는 단계의 그룹의 배제를 의미하는 것은 아닌 것으로 이해될 것이다. 본원에서 사용되는 경우, 용어 "포함하는"은 용어 "함유하는"으로 치환될 수 있거나, 본원에서 사용되는 경우에 종종 용어 "갖는"으로 치환될 수 있다.
- [0136] 본원에서 사용되는 경우, "이루어진"은 특허청구항 요소에 지정되지 않은 임의의 요소, 단계 또는 성분을 배제한다. 본원에서 사용되는 경우, "본질적으로 이루어진"은 특허청구항의 기본 및 신규 특징에 실질적으로 영향을 미치지 않는 재료 또는 단계를 배제하지 않는다.
- [0137] 본원의 각각의 예에서, 임의의 용어 "포함하는", "본질적으로 이루어진" 및 "이루어진"은 상이한 2개 용어의 어느 하나로 대체될 수 있다.
- [0138] 몇몇 문헌이 본 명세서의 본문 전체에 걸쳐 인용되어 있다. 본원에 인용된 각각의 문헌(모든 특허, 특허원, 과학 간행물, 제조자 명세서, 설명서 등을 포함)은, 상기 또는 하기에서, 이들의 전체가 본원에서 참조로서 도입된다. 본원의 어느 것도 본 발명이 선행 발명에 의해 이러한 개시에 선행하는 권리가 없다는 것은 승인하는 것

으로 해석되어서는 안된다.

[0139]

실시예

[0140]

하기 실시예는 본 발명을 설명한다. 이들 실시예는 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 해석되어서는 안된다. 실시예는 예시의 목적으로 포함되며, 본 발명은 특허청구범위에 의해서만 한정된다.

[0141]

실시예 1

[0142]

지난 해에, IV(뉴라미니다제 및 M2 차단제)에 대한 통상의 항바이러스제 및 **에스. 아우레우스**에 대한 통상의 항생물을 사용한 백신접종 또는 치료 이외에 추가의 및 대안적 치료 전략에 대한 필요성이 착실하게 증가했다. 항바이러스 개입의 한편에서, 몇몇 세포 인자가 잠재적 표적으로서 동정되었다. 완전 대조적으로, 세균 감염 동안 세포 인자의 암기에 대한 지식 및 특히 세균 양의 감소 및/또는 사이토킨 발현 촉진의 개시에 의한 항균 치료를 위한 표적으로서의 지식은 IV 공-감염의 존재하에서도 덜 이해되어 있다.

[0143]

본 발명자들은, (1) 자손 바이러스 역가 및 (2) 세포내 세균의 역가, 및 (3) IV 및 에스. 아우레우스 공-감염시 잠재적 항감염제의 존재 또는 부재하에 숙주 방어 메카니즘의 변화의 측정을 가능하게 하는 감염 프로토콜을 확립했다. 초기 접근법에서, 본 발명자들은 단일 또는 공-감염 상황하에 IV 및 에스. 아우레우스 감염에 대해 용매 대조군과 비교하여 MEK 억제제(U0126 = 50 μ M), p38 억제제(SB202190 = 10 μ M) 및 NF κ B 억제제(LASAG = 5mM)의 효과를 조사했다. 대조군으로서, 바이러스 뉴라미니다제 억제제 오셀타미비르(Tamiflu)(2 μ m)를 Hepes와 비교하여 사용했다. 바이러스 감염의 경우, 본 발명자들은 인간 인플루엔자 바이러스 A/푸에르토 리코/8134(H1N1) 또는 조류 인플루엔자 바이러스 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7)을 사용했고, 세균 감염의 경우 본 발명자들은 에스. 아우레우스 균주 6850을 사용했다. 감염 절차(도 1): 인간 폐 상피 세포를 2ml DMEM[10% FCS] 중의 6-웰 플레이트(8×10^5 세포/웰)로 파종했다. 파종 16 내지 20시간 후, 세포를 세정하고, PBS/BA[0.2% 소혈청 알부민(BSA), 1mM MgCl₂, 0.9mM CaCl₂, 100U/ml 페니실린, 0.1mg/ml 스트렙토마이신](6개 웰당 500 μ l) 또는 바이러스를 함유하는 PBS/BA와 함께 37°C에서 지시된 감염 다중도(MOI)에서 인큐베이션했다. 30분 인큐베이션한 후, 바이러스 회석물을 흡인시키고, 세포를 PBS로 세정하고, 시험 화합물의 존재 또는 부재하에 세균과 함께 또는 없이 인베이전(Invasion) 배지 DMEM/INV[1% 인간 혈청 알부민, 25nmol/l HEPES](6개 웰당 2ml)를 지시된 MOI에서 보충했다. 세균 감염 3시간 후, 세포를 항생물질로 처리하여 세포외 세균을 제거했다. 따라서, 세포를 PBS로 세정하고, 이어서 20분 동안 37°C에서 DMEM/INV 항생물질[2 μ g/ml 리소스타틴(Sigma)](6개 웰당 1ml)과 함께 인큐베이션했다. PBS로 추가 세척 후, 세포에 시험 물질을 함유하는 DMEM/INV를 보충하고, 37°C에서 지시된 시간 동안 인큐베이션했다. A/푸에르토 리코/8/34 DMEM/INV에는 0.333 μ g/ml 트립신(Invitrogen)을 추가로 보충했다. IV 역가 및 세포내 세균의 측정은 문헌[참조: Hrincius et al., 2010, Tuschscherr et al., 2011]에 기재된 바와 같이 수행했다.

[0144]

IV 역가는 플라크 형성 단위(pfu)/ml로 제시되어 있고, 에스. 아우레우스 역가는 콜로니 형성 단위(CFU)/ml로 제시되어 있다. 데이터는 2개 생물학적 샘플을 사용한 2 내지 3개 독립적 실험의 평균 \pm SD를 나타낸다. 통계학적 유의성은 양측 2개 샘플 t-시험(*p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001)에 의해 평가했다.

[0145]

공-감염 상황하에서, 자연 면역 반응의 변화 및 자가소화 및 아포토시스 메카니즘에 기인하여, 각각 에스. 아우레우스의 존재는 IV 복제에 영향을 미쳤고 IV의 존재는 에스. 아우레우스 수준의 세포내 양에 영향을 미쳤다. 그럼에도 불구하고, 예상된 바와 같이, 본 발명자들은 IV 복제에 대한 U0126(도 2, 3), SB202190(도 4) 및 LG-ASA(도 5)의 억제 효과를 관찰했다. 흥미롭게도, 바이러스 역가는 또한 에스. 아우레우스의 존재하에 이들 억제제를 사용한 처리시 감소되었다. 추가로, 본 발명자들은, 에스. 아우레우스의 세포내 양이 IV의 부재 또는 존재와 독립적으로 U0126, SB202190 또는 LG-ASA의 존재하에 감소된 때에 기분 좋게 놀랐다. 또 다른 놀라운 관찰은 U0126(50 μ M)의 존재하에 세균 복제에 관한 것이었다. 에스. 아우레우스를 밤새 37°C에서 생존 세포 부재하에 DMEM/INV에서 배양하는 경우, 세균 역가는 이미 세포 감염 동안과 동일한 정도까지 감소되었고, 이는 세포 인자로부터 세균의 의존성을 나타낸다(도 2E).

[0146]

대조군으로서, 본 발명자들은 바이러스 뉴라미니다제 억제제 오셀타미비르(Tamiflu)의 적용시 바이러스 역가 및 세포내 세균 양을 조사했다(도 6). IV 역가는 에스. 아우레우스의 부재 또는 존재하에 유의적으로 감소되었고, 세포내 세균 양은 오히려 증가했다.

[0147]

이 결과는, 병원체 자체에 대한 물질이 아니라, IV 및 에스. 아우레우스 공-감염에 대한 항감염제로서 세포 인자를 표적화하는 물질의 큰 가능성을 입증한다.

- [0148] **실시예 2**
- [0149] 추가의 실험에서, 단일 또는 공-감염 상황하에서 인플루엔자 A 바이러스(IAV) 및 에스. 아우레우스 6850에 대한 용매 대조군과 비교하여 MEK 억제제 U0126, CI-1040 및 코비메티닙(GDC-0973)의 효과를 조사했다.
- [0150] 공-감염 절차는 도 12에 제시되어 있다. 본 실험 설정에서 인간 폐 상피 세포의 생존율을 조사하기 위해, 세포 형태를 광학 현미경에 의해 감염 18시간에서 모니터링하고(도 13), 이때의 병원체 부하를 측정했다(도 14).
- [0151] 도 13에서 볼 수 있는 바와 같이, 공-감염 뿐만 아니라 에스. 아우레우스 6850(6850), 인플루엔자 바이러스 균주 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7)(FPV) 또는 A/위스콘신/67/2005(H3N2)를 사용한 단일 감염은 약간, 그러나 명백하게 검출가능한 세포 손상을 제공했다. U0126(50 μ M)의 존재하에, 세포 층은 훨씬 덜 손상된 것으로 나타났다.
- [0152] 용매 대조군과 비교하여 인플루엔자 바이러스 복제 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7)(FPV) 또는 A/위스콘신/67/2005(H3N2)에 대한 MEK 억제제 U0126(50 μ M)의 효과는 단일 또는 공-감염 상황하에 인간 폐 상피 세포에서 측정했다(도 14).
- [0153] MEK/ERK 시그널전달의 억제는 단일 감염 상황하에 IAV 아형 H7N7 및 H3N2를 사용한 감염시에 바이러스 역가의 유의한 감소를 제공했다(도 14). 바이러스 역가는 U0126의 존재하에 공-감염 상황하에서, 또한 H7N7/에스. 아우레우스 공-감염된 세포에서 유의한 수준까지 감소되었다(도 14).
- [0154] 추가로, 내재화된 에스. 아우레우스 6850에 대한 MEK 억제제 U0126(50 μ M)의 효과를 분석했다(도 15A, C). 이 실험 설정에서 세균 역가는 억제제의 존재하에 단지 약간만 감소했다.
- [0155] 일반적으로 세균 성장에 대한 U0126의 효과를 추가로 조사하기 위해, 에스. 아우레우스 6850의 세포-비함유 밤새 배양물에 상이한 양의 U0126(10 μ M 및 50 μ M) 또는 용매를 보충했다(도 15B, D). 세균 성장은, 용매 대조군과 비교하여, 농도 의존적 방식으로 U0126의 존재하에 억제되었다(도 15B, D).
- [0156] 염증성 사이토킨- 및 케모킨 발현이 중증 염증 및 조직 손상에 기여하기 때문에, 마크로파지 염증 단백질 1 α (MIP1 α)로서 또한 공지된 CCL3 및 RANTES로서 또한 공지된 CCL5 등의 각 케모킨의 mRNA 합성을 U0126(50 μ M)의 존재 또는 부재하에 감염 실험에서 qRT-PCR에 의해 분석했다(도 16A, B). 에스. 아우레우스 6850의 존재하에 증가된 IAV-유도된 CCL3 mRNA 합성은 U0126의 존재하에 감소되었다. 유사하게는, 에스. 아우레우스의 존재하에 감소된 IAV-유도된 CCL5 mRNA 합성은 U0126(50 μ M)의 존재하에 추가로 감소되었다.
- [0157] 웨스턴-블롯 분석에서, MEK/ERK 시그널전달에 대한 U0126의 억제 효과는 인특이적 ERK1/2 항체의 사용에 의해 확인되었다(도 16C). 추가로, 바이러스 단백질 합성(PB1)의 감소는 MEK/ERK 시그널전달의 억제시 U0126의 존재하에 관찰되었다.
- [0158] 생체내 마우스 모델에서 U0126의 항-병원체 가능성을 확인하기 위해, 인플루엔자 바이러스-감염된 마우스를 무처리 상태로 유지하거나 매일 U0126으로 처리하고, 에스. 아우레우스 6850으로 중복-감염(super-infected)시켰다(도 17). U0126의 투여는 바이러스 역가와 독립적으로 생체내에서 세균 역가의 감소를 유도했다. 감소된 바이러스 역가의 실패는, 바이러스 역가가 감염 과정에서 이미 감소하고 있는 시점에서 U0126의 늦은 투여에 의해 설명될 수 있다. 전자의 실험은 억제제가, 인플루엔자 바이러스 감염 전에 제공되는 경우, 보다 높은 억제 효과를 갖는다는 것을 나타낸다. 그럼에도 불구하고, 세균 역가는 U0126의 적용시에 유의적으로 감소되었다.
- [0159] 다른 접근법에서, 용매 대조군과 비교하여, 인플루엔자 바이러스 복제 A/FPV/브라티슬라바/79(H7N7)(FPV) 또는 A/푸에르토 리코/8/34(H1N1)에 대한 MEK 억제제 CI-1040(10 μ M)의 효과를 단일 또는 공-감염 상황하에 인간 폐 상피 세포에서 측정했다(도 18).
- [0160] CI-1040에 의한 MEK/ERK 시그널전달의 억제는 단일 및 공-감염 상황하에 IAV 아형 H7N7 및 H1N1을 사용한 감염시 바이러스 역가의 감소를 제공했다(도 18).
- [0161] 일반적으로 세균 성장에 대한 CI-1040의 효과를 추가로 조사하기 위해, 에스. 아우레우스 6850의 세포-비함유 밤새 배양물에 상이한 양의 CI-1040(1 μ M 및 10 μ M) 또는 용매를 보충했다(도 19A, B). 세균 성장은, 용매 대조군과 비교하여, 농도 의존적 방식으로 CI-1040의 존재하에 약간 억제되었다(도 19A, B).
- [0162] 또 다른 MEK 억제제의 항-병원체 가능성을 확인하기 위해, 코비메티닙을 생체내 마우스 모델에서 시험하고, 인플루엔자 바이러스-감염된 마우스를 무처리 상태로 유지하거나 코비메티닙으로 매일 처리하고, 에스. 아우레우스 6850으로 중복-감염시켰다(도 20). 코비메티닙의 투여는 생체내 바이러스 및 세균 역가에서 약간, 그러나

명확하게 검출가능한 감소를 유도했다. 코비메티닙의 최대 허용 용량은 30mg/kg/1일인 것으로 최근에 밝혀졌다. 따라서, 억제 효과는, 최대 허용 용량보다 훨씬 적은, 본 실험에서 사용된 것(10mg/kg/1일)보다 높은 용량에 의해 개선될 수 있다.

[0163] 결론적으로, 이 결과는 잠재적 항-IAV/에스. 아우레우스 물질로서 상이한 MEK 억제제를 나타낸다.

[0164] 실시예 3

[0165] 추가의 실험에서, 단일 또는 공-감염 상황에서 인플루엔자 A 바이러스(IAV) 및 에스. 아우레우스 6850 감염에 대한 NF κ B-억제제 LG-ASA(LASAG)의 효과를 조사했다.

[0166] 공-감염 절차는 도 21(상부)에 제시되어 있다. LG-ASA(5mM)의 부재 및 존재하에 감염시 인간 폐 상피 세포의 생존률을 조사하기 위해, 세포 형태를 광학 현미경에 의해 감염 18시간에서 모니터링했다(도 21). LG-ASA의 부재(좌측 패널)하에 IAV 및/또는 에스. 아우레우스를 사용한 감염은 세포 파괴를 제공한 반면, 세포 형태는 LG-ASA의 존재(우측 패널)하에 개선되었다.

[0167] 인플루엔자 바이러스 복제 A/푸에르토 리코/8/34(H1N1)에 대한 NF κ B-억제제 LG-ASA(5mM)의 효과는 감염후 8시간(도 22/23 A, B, E, F) 및 18시간(도 22/23 C, D, G, H)에서 단일 또는 공-감염 상황(도 22/23)하에 인간 폐 상피 세포에서 측정했다. 2개의 상이한 에스. 아우레우스 균주를 감염 (a) 에스. 아우레우스 SH1000(도 22/23 A-D) 및 (b) 에스. 아우레우스 6850(도 22/23 E-H)에 사용했다.

[0168] IAV 복제는 감염 8시간 및 18시간에서 LG-ASA의 존재하에 감소되었지만, 세균 역가의 감소는 감염후 18시간에서만 나타났다. 도 22에서, 이 결과는 선형 척도로서 제시되어 있다. LG-ASA의 병원체 억제 효과를 보다 시각화하기 위해, 3개 독립적 실험의 무처리 대조군을 100%로서 임의로 설정하고, 평균을 제시한다(도 23).

[0169] LG-ASA는 세균 감염 동안 직접 첨가되기 때문에, 이들 결과는 세균 내재화에 대한 매우 초기 효과를 나타내고, 이들 결과는 계속적 방출 및 신규 세균 내재화를 나타낸다.

[0170] 매우 최근에, NF κ B이 단핵구에 의한 에스. 아우레우스의 식균작용에 필요하다는 것이 밝혀졌다[참조: Zhu et al., 2014; Exp. Cell Res. 1;327(2):256-63]. 이들 발견 및 본 발명자들의 관찰에 기반하여, 본 발명자들은 LG-ASA가 세균 흡수(bacterial uptake)를 방지하는지를 알고 싶어했다. 본 발명자들은 세균 감염 4시간 전에 인간 폐 상피 세포를 전-처리하고, 감염후 2시간까지 내재화된 세균을 측정했다. 내재화된 세균만이 검출되는 것을 보장하기 위해, 비-내재화된 세균은 세포 용해 전에 항생물질 세척에 의해 제거했다. 이 데이터는 에스. 아우레우스 6850의 시간 의존적 흡수를 나타내고, 이는 LG-ASA의 존재하에 차단된다(도 24A, B). LG-ASA의 농도 의존적 억제 효과는 세균 균주 에스. 아우레우스 USA300으로 추가 입증될 수 있다(도 24C, D). 도 24A, C에서 볼 수 있는, LG-ASA의 병원체 억제 효과를 보다 시각화하기 위해, 3개 독립적 실험의 무처리 대조군을 100%로 임의로 설정하고, 평균을 제시한다(도 24B, D).

[0171] 에스. 아우레우스 내재화에 대한 NF κ B-매개된 시그널전달의 중요성을 확인하기 위해, NF κ B을 세균 감염 4시간 전에 TNF- α 자극에 의해 유도했다. NF κ B의 활성화는 에스. 아우레우스 6850 및 에스. 아우레우스 USA300의 증강된 흡수를 제공했다. 대조군으로서, TNF- α -유도된 활성화는 LG-ASA에 의해 동시에 차단되었고, 이는 예상된 바와 같이 TNF- α -촉진된 세균 흡수의 억제를 제공했다(도 25).

[0172] 생체내 마우스 모델에서 LG-ASA의 항-병원체 가능성을 확인하기 위해, LG-ASA의 존재 및 부재하에 상이한 공-감염 설정을 시험했다.

[0173] 도 26에서 볼 수 있는 바와 같이, LG-ASA를 사용한 IAV/에스. 아우레우스 공-감염된 마우스의 처리는 증강된 생존률(도 26A) 및 감소된 체중 손실(도 26B)을 제공했다.

[0174] 결론적으로, 본 발명자들의 결과는 LG-ASA 등의 NF κ B 억제제가 시험관내 및 생체내에서 항-IAV/에스. 아우레우스 물질로서 작용함을 나타낸다.

[0175] 참조문헌

- Borgeling, Y., Schmolke, M., Viemann, D., Nordhoff, C., Roth, J. and Ludwig, S. (2014). Inhibition of 38 mitogen-activated protein kinase impairs influenza virus-induced primary and secondary host gene responses and protects mice from lethal H5N1 infection. *The Journal of biological chemistry* 289, 13-27.
- Chertow, D.S. and Memoli, M.J. (2013). Bacterial coinfection in influenza: a • rand rounds review. *JAMA : the 'ournal of the American Medical Association* 309, 275-282.
- Droebner, K., Pleschka, S., Ludwig, S. and Planz, O. (2011). Antiviral activity of the MEK-inhibitor U0126 against pandemic H1N1v and highly pathogenic avian influenza virus in vitro and in vivo. *Antiviral research* 92, 195-203.
- Dudek, S.E., Luig, C., Pauli, E.K., Schubert, U. and Ludwig, S. (2010). The clinically approved proteasome inhibitor PS-341 efficiently blocks influenza A virus and vesicular stomatitis virus propagation by establishing an antiviral state. *Journal of virology* 84, 9439-9451.
- Ehrhardt, C. and Ludwig, S. (2009). A new player in a deadly game: influenza viruses and the PI3K/Akt signalling pathway. *Cellular microbiology* 11, 863-871.
- Ehrhardt, C., Marjuki, H., Wolff, T., Nurnberg, B., Planz, O., Pleschka, S. and Ludwig, S. (2006). Bivalent role of the phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) during influenza virus infection and host cell defence. *Cellular microbiology* 8, 1336-1348.
- Ehrhardt, C., Ruckle, A., Hrincius, E.R., Haasbach, E., Anhlán, D., Ahmann, K., et al. (2013). The NF-kappaB inhibitor 5C75741 efficiently blocks influenza virus propagation and confers a high barrier for development of viral resistance. *Cellular microbiology* 15, 1198-1211.
- Ehrhardt, C., Wolff, T. and Ludwig, S. (2007a). Activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling by the nonstructural NS1 protein is not conserved among type A and B influenza viruses. *Journal of virology* 81, 12097-12100.
- Ehrhardt, C., Wolff, T., Pleschka, S., Planz, O., Beermann, W., Bode, J.G., et al. (2007b). Influenza A virus NS1 protein activates the PI3K/Akt pathway to mediate antiapoptotic signaling responses. *Journal of virology* 81, 3058-3067.
- Eierhoff, T., Hrincius, ER., Rescher, U., Ludwig, S. and Ehrhardt, C. (2010). The epidermal growth factor receptor (EGFR) promotes uptake of influenza A viruses (IAV) into host cells. *PLoS pathogens* 6, e1001099.
- Gillet, Y., Vanhems, P., Lina, G., Bes, M., Vandenesch, F., Floret, D. and Etienne, J. (2007). Factors predicting mortality in necrotizing communityacquired pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* containing Pantón-Valentine leukocidin. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 45, 315-321.

[0176]

- Gong, J., Fang, H., Li, M., Liu, Y., Yang, K., Liu, Y. and Xu, W. (2009). Potential targets and their relevant inhibitors in anti-influenza fields. *Current medicinal chemistry* 16, 3716-3739.
- Grundmann, H., Aires-de-Sousa, M., Boyce, J. and Tiemersma, E. (2006). Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* 368, 874-885.
- Haasbach, E., Reiling, S.J., Ehrhardt, C., Droebner, K., Ruckle, A., Hrinicius, E.R., et al. (2013). The NF-kappaB inhibitor SC75741 protects mice against highly pathogenic avian influenza A virus. *Antiviral research* 99, 336-344.
- Hayden, F. (2009). Developing new antiviral agents for influenza treatment: what does the future hold? *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 48 Suppl 1, 53-13.
- Hayden, F.G. and Hay, A.J. (1992). Emergence and transmission of influenza A viruses resistant to amantadine and rimantadine. *Current topics in microbiology and immunology* 176, 119-130.
- Iverson, A.R., Boyd, K.L., McAuley, J.L., Piano, L.R., Hart, M.E. and McCullers, J.A. (2011). Influenza virus primes mice for pneumonia from *Staphylococcus aureus*. *The Journal of infectious diseases* 203, 880- 888.
- Iwao, Y., Ishii, R., Tomita, Y., Shibuya, Y., Takano, T., Hung, W.C., et al. (2012). The emerging ST8 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in the community in Japan: associated infections, genetic diversity, and comparative genomics. *J Infect Chemother* 18, 228-240.
- Lee, I.T., Lee, C.W., Tung, W.1-1., Wang, S.W., Lin, C.C., Shu, J.C. and Yang, C.M. (2010). Cooperation of TLR2 with MyD88, PI3K, and Rad in lipoteichoic acid-Induced cPLA2/COX-2-dependent airway inflammatory responses. *The American journal of pathology* 176, 1671-1684.
- Ludwig, S. (2009). Targeting cell signalling pathways to fight the flu: towards a paradigm change in anti-influenza therapy. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 64, 1-4.
- Ludwig, S. (2011). Disruption of virus-host cell interactions and cell signaling pathways as an anti-viral approach against influenza virus infections. *Biological chemistry* 392, 837-847.
- Ludwig, S. and Planz, O. (2008). Influenza viruses and the NF-kappaB signaling pathway - towards a novel concept of antiviral therapy. *Biological chemistry* 389, 1307-1312.
- Ludwig, S., Planz, O., Pleschka, S. and Wolff, T. (2003). Influenza-virus induced signaling cascades: targets for antiviral therapy? *Trends in molecular medicine* 9, 46-52.
- Ludwig, S., Wolff, T., Ehrhardt, C., Wurzer, W.J., Reinhardt, J., Planz, O. and Pleschka, S. (2004). MEK inhibition impairs influenza B virus propagation without emergence of resistant variants. *FEBS letters* 561,37-43.

[0177]

- Marjuki, H., Alam, M.I., Ehrhardt, C., Wagner, R., Planz, D., Klenk, H.D., et al. (2006). Membrane accumulation of influenza A virus hemagglutinin triggers nuclear export of the viral genome via protein kinase Calphamediated activation of ERK signaling. *The Journal of biological chemistry* 281, 16707-16715.
- Mazur, I., Wurzer, W.J., Ehrhardt, C., Pleschka, S., Puthavathana, P., Silberzahn, T., et al. (2007). Acetylsalicylic acid (ASA) blocks influenza virus propagation via its NF-kappaB-inhibiting activity. *Cellular microbiology* 9, 1683-1694.
- Moran, G.J., Krishnadasan, A., Gorwitz, R.J., Fosheim, G.E., McDougal, L.K., Carey, R.B., et al. (2006). Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *The New England Journal of medicine* 355, 666-674.
- Morens, D.M., Taubenberger, J.K. and Fauci, A.S. (2008). Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *The Journal of infectious diseases* 198, 962-970.
- Neumann, G., Noda, T. and Kawaoka, Y. (2009). Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* 459, 931-939.
- Niemann, S., Ehrhardt, C., Medina, E., Warnking, K., Tuscherr, L., Heitmann, V., et al. (2012). Combined action of influenza virus and *Staphylococcus aureus* panton-valentine leukocidin provokes severe lung epithelium damage. *The Journal of infectious diseases* 206, 1138-1148.
- Olschlager, V., Pleschka, S., Fischer, T., Rziha, H.J., Wurzer, W., Stitz, L., et al. (2004). Lung-specific expression of active Raf kinase results in increased mortality of influenza A virus-infected mice. *Oncogene* 23, 6639-6646.
- Oviedo-Boyso, J., Cortes-Vieyra, R., Huante-Mendoza, A., Yu, H.B., Valdez-Alarcon, J.J., Bravo-Patino, A., et al. (2011). The phosphoinositide-3-kinase-Akt signaling pathway is important for *Staphylococcus aureus* internalization by endothelial cells. *Infection and immunity* 79, 4569-4577.
- Paddock, C.D., Liu, L., Denison, A.M., Bartlett, J.H., Holman, R.C., DeLeon-Carnes, M., et al. (2012). Myocardial injury and bacterial pneumonia contribute to the pathogenesis of fatal Influenza B Virus infection. *The Journal of infectious diseases* 205, 895-905.
- Park, B. and Liu, G.Y. (2012). Targeting the host-pathogen interface for treatment of *Staphylococcus aureus* infection. *Seminars in immunopathology* 34, 299-315.
- Parker, D. and Prince, A. (2012). Immunopathogenesis of *Staphylococcus aureus* pulmonary infection. *Seminars in immunopathology* 34, 281-297.
- Parry, J. (2013). H7N9 avian flu infects humans for the first time. *Bmj* 346, f2151.
- Pinto, L.H. and Lamb, R.A. (2006). The M2 proton channels of influenza A and B viruses. *The Journal of biological chemistry* 281, 8997-9000.

[0178]

Pinto, L.H. and Lamb, R.A. (2007). Controlling influenza virus replication by inhibiting its proton channel. *Molecular bioSystems* 3, 18-23.

Planz, O. (2013). Development of cellular signaling pathway inhibitors as new antivirals against influenza. *Antiviral research* 98, 457-468.

Pleschka, S., Wolff, T., Ehrhardt, C., Hobom, G., Planz, O., Rapp, U.R. and Ludwig, S. (2001). Influenza virus propagation is impaired by inhibition of the Raf/MEK/ERK signalling cascade. *Nature cell biology* 3, 301-305.

Shilo, N. and Quach, C. (2011). Pulmonary infections and community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a dangerous mix? *Paediatric respiratory reviews* 12, 182-189.

Taubenberger, J.K. and Kash, J.C. (2010). Influenza virus evolution, host adaptation, and pandemic formation. *Cell host & microbe* 7, 440-451.

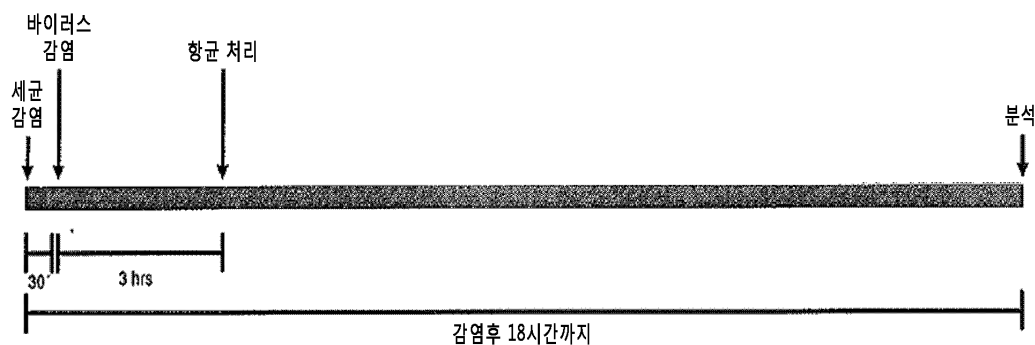
Thorburn, K. and Riordan, A. (2012). Pulmonary bacterial coinfection in infants and children with viral respiratory infection. *Expert review of anti-infective therapy* 10, 909-916.

Wurzer, W.J., Ehrhardt, C., Pleschka, S., Berberich-Siebelt, F., Wolff, T., Walczak, H., et al. (2004). NF-kappaB-dependent induction of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and Fas/FasL is crucial for efficient influenza virus propagation. *The Journal of biological chemistry* 279, 30931-30937.

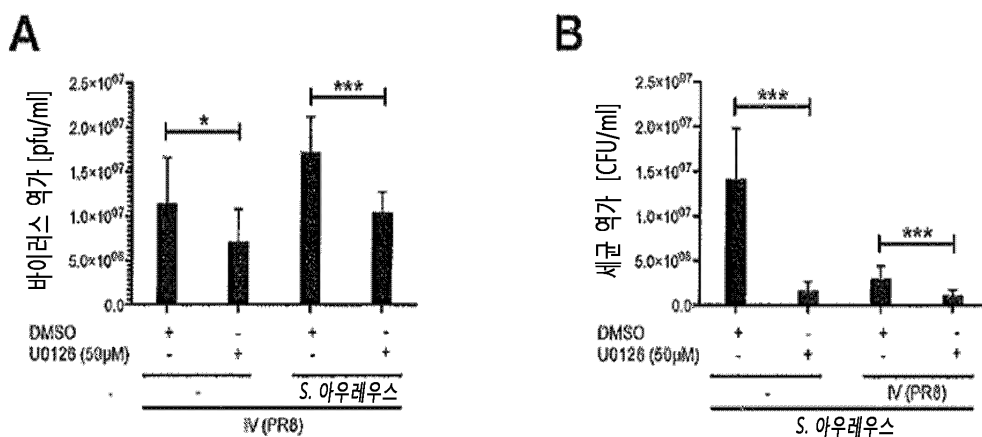
Zhu F, Yue W, Wang Y. The nuclear factor kappa B (NF-κB) activation is required for phagocytosis of *staphylococcus aureus* by RAW 264.7 cells. *Exp Cell Res*. 2014 Oct 1;327(2):256-63.

도면

도면1

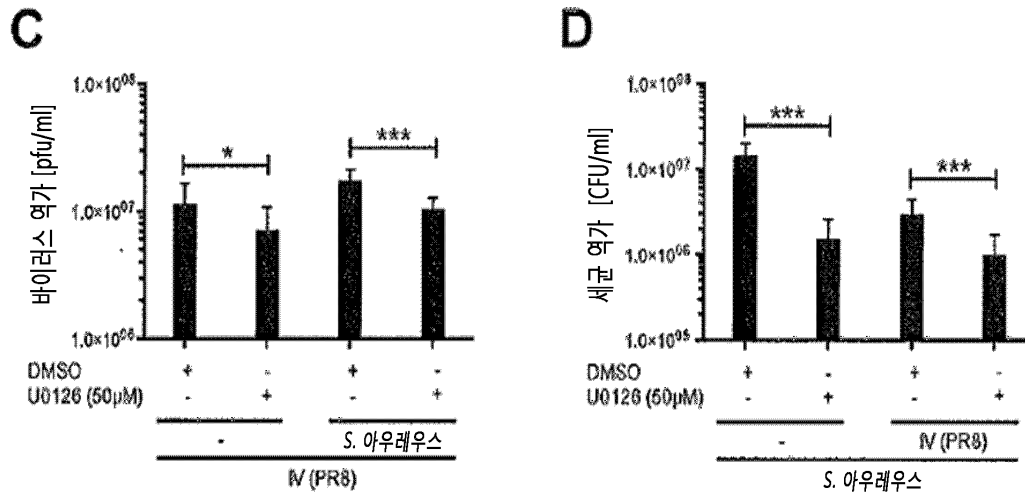


도면2a



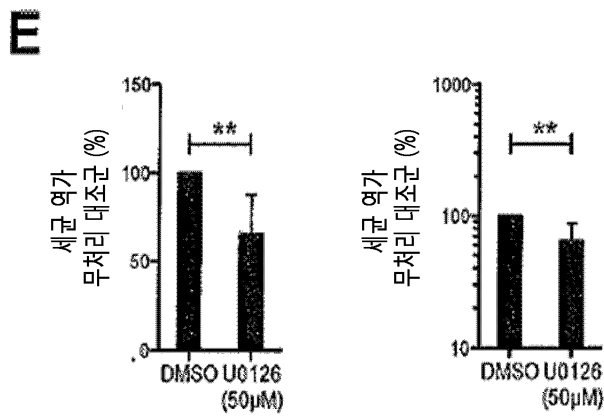
도 2

도면2b



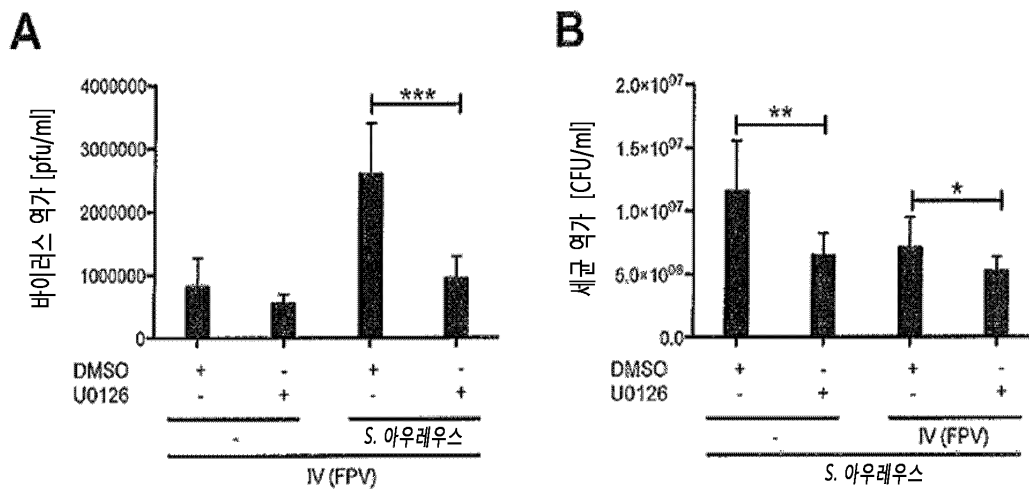
도 2(계속)

도면2c



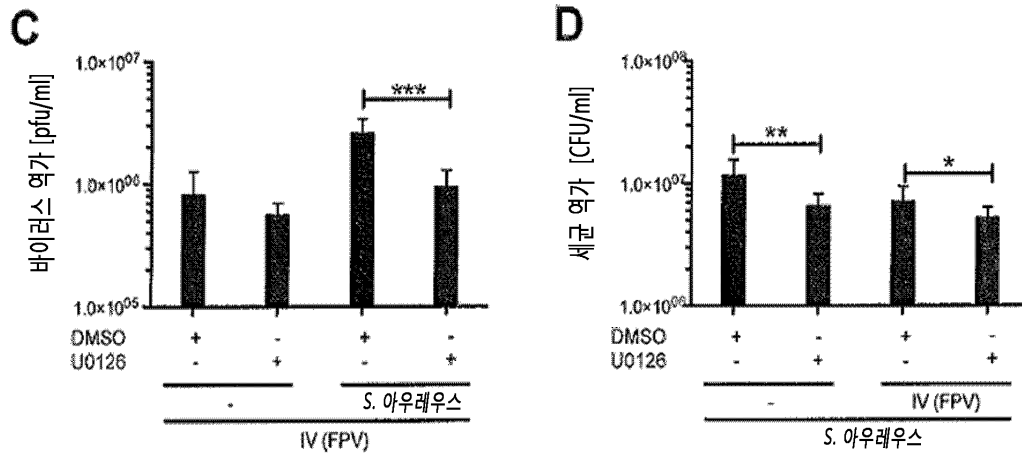
도 2(계속)

도면3a



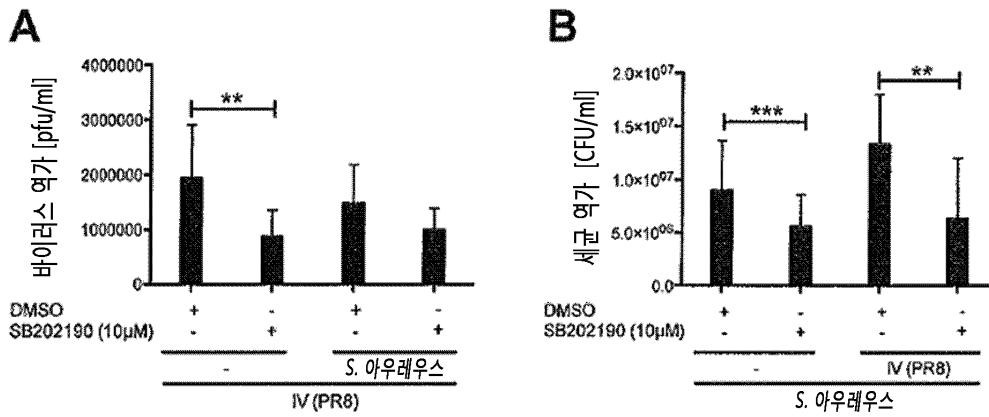
도 3

도면3b



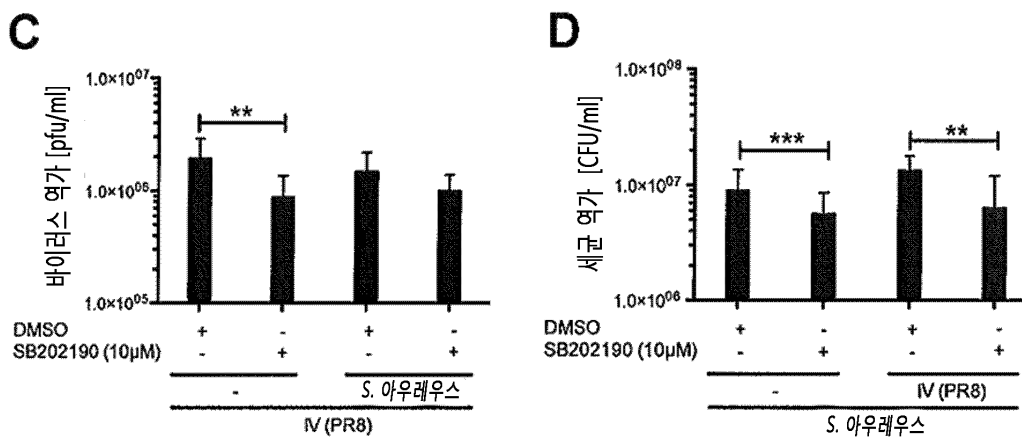
도 3(계속)

도면4a



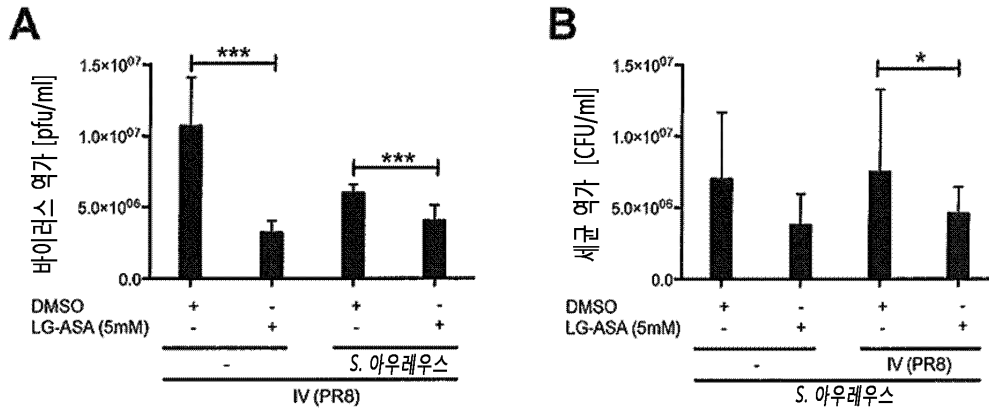
도 4

도면4b



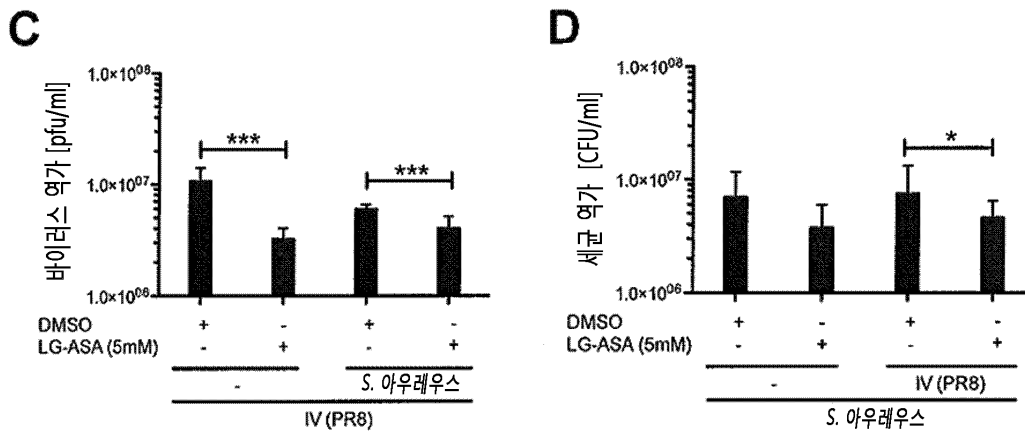
도 4(계속)

도면5a



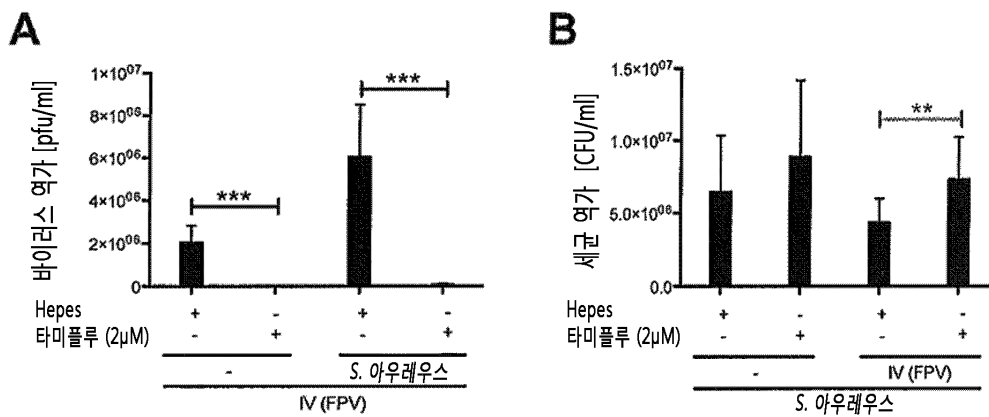
도 5

도면5b



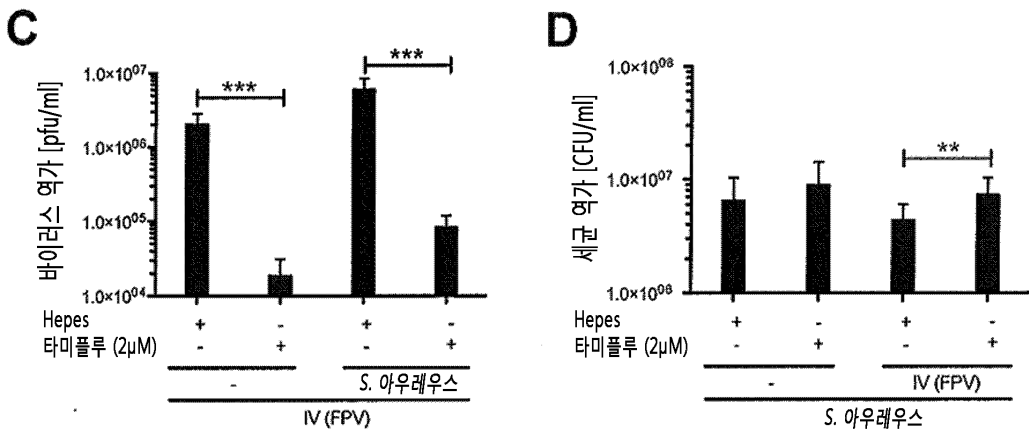
도 5(계속)

도면6a



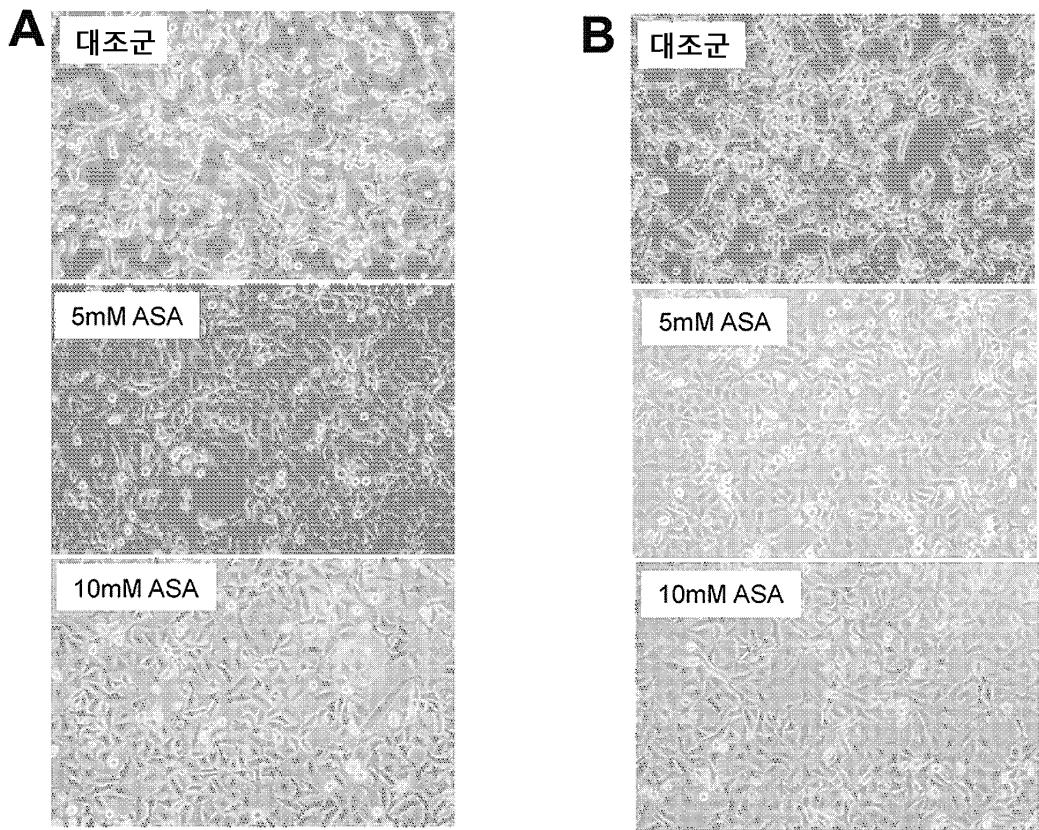
도 6

도면6b



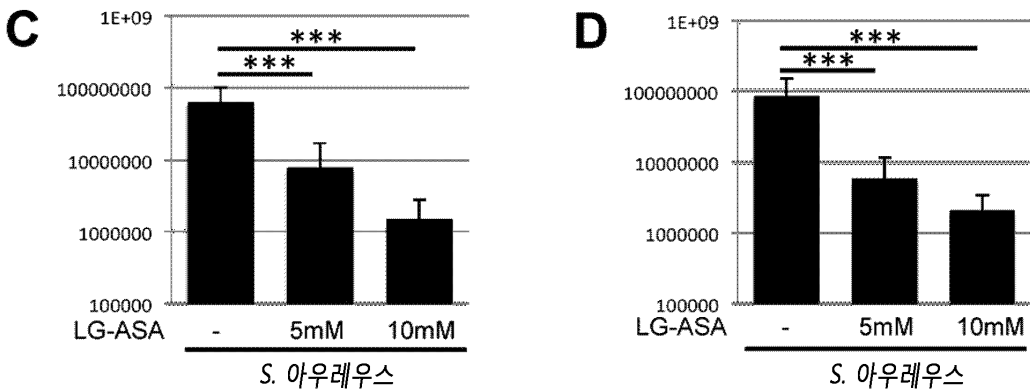
도 6(계속)

도면7a



도 7

도면7b



도 7(계속)

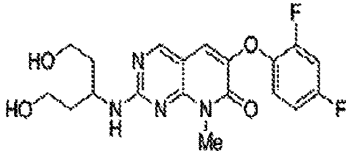
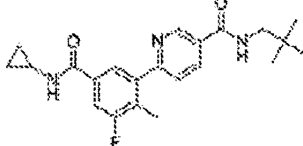
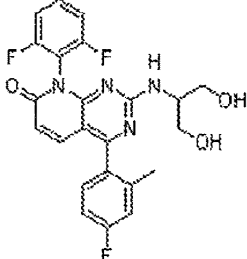
도면8a

[표 2]

p38 억제제	명칭 또는 CAS#
LY2228820	CAS # 862507-23-1
CAV10571	CAS # 152121-46-5
CGH 2466	CAS # 252108-68-8
SB220025	CAS # 165806-53-1
항생물질 LL Z1640-2	CAS # 66018-38-0
TAK 715	CAS # 303162-70-0
SB202100 하이드로클로라이드	CAS # 152121-30-7
SKE 86002	CAS # 72873-74-6
AMG548	2-[[[(2S)-2-아미노-3-페닐프로필]아미노]-3-메틸-5-(2-나프탈렌-1-yl)-6-(4-피리디닐)-4(3H)-피리미딘-4(3H)-온
CPMD-1	2'-플루오로-N-(4-하이드록시페닐)-[1,1'-바이페닐]-4-부탄아미드
EO 1428	2-메틸페닐)-[4-[(2-아미노-4-브로모페닐)아미노]-2-클로로페닐]메탄올
JX401	1-[2-메톡시-4-(메틸티오)벤조일]-4-(페닐메틸)피페리딘
ML3403	[5-[4-(4-플루오로페닐)-2-메틸티오-1H-이미다졸-4-일]-N-(1-페닐에틸)-2-피리딘아민
RWJ 67657	4-[4-(4-플루오로페닐)-1-(3-페닐프로필)-5-(4-피리디닐)-1H-이미다졸-2-일]-3-부틸-1-올
SB 202100	4-[4-(4-플루오로페닐)-5-(4-피리디닐)-1H-이미다졸-2-일]페놀
SB 203580	4-[5-(4-플루오로페닐)-2-[4-(메틸설포닐)페닐]-1H-이미다졸-4-일]피리딘
SB 203580 하이드로클로라이드	4-[5-(4-플루오로페닐)-2-[4-(메틸설포닐)페닐]-1H-이미다졸-4-일]피리딘 하이드로클로라이드
SB 239063	트랜스-4-[4-(4-플루오로페닐)-5-(2-메톡시-4-피리미디닐)-1H-이미다졸-1-일]사이클로헥산올

도 8

도면8b

SCIO 469 하이드로클로라이드	6-클로로-5-[[[(2R,5S)-4-[(4-플루오로페닐)메틸]-2,5-디메틸-1-피페라지닐]카보닐]-N,N-1-트리메틸- α -옥소-1H-인돌-3-아세트아미드 하이드로클로라이드
SX011	6-클로로-5-[[[4-[(4-플루오로페닐)메틸]-1-피페리디닐]카보닐]-N,N,1-트리메틸- α -옥소-1H-인돌-3-아세트아미드
TAK 715	N-[4-[2-에틸-4-(3-메틸페닐)-5-티아졸릴]-2-피리디닐]벤즈아미드
VX702	6-[(아미노카보닐)(2,6-디플루오로페닐)아미노]-2-(2,4-디플루오로페닐)-3-피리딘카복스아미드
SB 203580	
Tie2 키나제 억제제	CAS # 948557-43-5
2-(4-클로로페닐)-4-(플루오로페닐)-5-피리딘-4-일-1,2-디하이드로피라졸-3-온	2-(4-클로로페닐)-4-(플루오로페닐)-5-피리딘-4-일-1,2-디하이드로피라졸-3-온
VX 745	CAS # 209410-46-8
파마피모드	 <p>6-(2,4-디플루오로페녹시)-2-[[3-하이드록시-1-(2-하이드록시에틸)프로필]아미노]-8-메틸피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온; R 1503; Ro 4402257</p>
로스마피모드(GW856553)	 <p>6-[5-(사이클로프로필카바모일)-3-플루오로-2-메틸페닐]-N-(2,2-디메틸프로필)피리딘-3-카복스아미드</p>
딜마피모드(SB681323)	 <p>8-(2,6-디플루오로페닐)-2-((1,3-디하이드록시프로판-2-일)아미노)-4-(4-플루오로-2-메틸페닐)피리도[2,3-d]피리미딘-7(8H)-온 CAS#: 444606-18-2</p>

도 8(계속/표2)

도면8c

도라마피모드(BIRB 796)	<p>CAS 285983-48-4 C₃₁H₃₇N₅O₃</p>
BMS-582949	
PH797804	
ARRY-797 SCIO-469	<p>CAS 309913-83-5 C₂₇H₃₀ClFN₄O₃</p>

도 8(계속/표2)

도면9a

[표 3] NF-κB 억제제

에이. 엠스트림 NF-κB	kahweol	AIDCA 유도체	카탈포사이드	E-73	RelA 펩타이드(P1 & P6)
천연 생성물	Kava 유도체	TDZD	사이클로펜타논	에카벳 나트륨	바이러스 단백질
15d-PGI(2)	Licorice 추출물	TPCA-1	디하이드로아르테아니온	가백세이트 메실레이트	3C 프로테아제(EMC 바이러스)
칼라구알린	마누마이신 A	피리딘 유도체	도코사헥산산	칼리메피리드	개 디스토펜 바이러스
코노필린	모노클로르아민	ACHP	에모딘	하이포클로라이드	MMP(믹소마 바이러스)
에보디아민	N-아세틸 시스테인	아크롤레인	에페드라에헤르바(Mao) 추출물	로사르틴	단백질
겔다나마이신	산화질소	AGRO100	에쿠올	LY294002	C5a
페틸릴 알콜	니트로실코발아민	아미노-피리미딘	에르브스타틴	퍼바나테이트	DQ 65-79
PSK	올레안트린	AS602868	에스트로겐	페닐아르신 옥사이드	Fox1j
로카글라미드	오메가 3 지방산	아스피린	에타크린산	페니토인	GILZ
바이러스 단백질	ox-LDL	아지노티미딘	포스포마이신	Ro106-9920	HSC0
아테노바이러스 E1A	판두라틴 A	BAY-11-7082	균류 클리오톡신	사바엑산	HSP-72
NSSA(Hep-C 바이러스)	PEITC	BAY-11-7083	가미산혈 윤부예움	ua126(MEK 억제제)	인터류킨-10
단백질	페트로사 스폰지올리드 M	벤조이미다졸 유도체	게니핀	기타	인터류킨-11
Eribin 과발현	피틴산	벤질 이소티오시아네이트	게니스테인	바구스 신경 자극	인터류킨-13
Goli BG21	피세아탄놀	BMS-345541	글라브리딘	저수준 레이저 요법	MTS-SR-1xB a
KSR	피노실빈	카보폴라틴	글루코사민 설페이트	아연	온코나제
MAST205	플라귀우스 플로스클로수스 추출물	CDDO-Me	글루타민	D. 1kB 상향조절제/	RASSF1A 유전자
NPM-ALK 온코단백질	플롬바긴	CNS 828	구미강화 이탕	NF-κB 전파	ROR-알파
Hep-C 바이러스 프로테아제	포메그라네이트 추출물	화합물 5	이소말로토크로만올	천연 생성물	계면활성제 단백질 A
PEDF	프로스타글란딘 A1	화합물 A	이소말로토크로덴	PGG	TAT-SR-1 κB a

도 9

도면9b

리복시탐	쿠에르세틴	사이클로펜테논	코키아 스코파리아 과일 추출물	IS-데옥시스페르구알린	ZAS3 단백질
TNAP	렌기올론	CYL-19s	L-아스코르브산	2',8"-비아피게닌	ZUD 단백질
합성	로즈마린산	CYL-26z	레플루노미드 대사물	SF(프테리 시에민핀나타로부터)	β -아밀로이드 단백질
베타인	로트레린	디아틸피리딘 유도체	멜라토닌	아가스타워 부교사 인 추출물	합성
테스토라타딘	살코사포닌-d	DPE	미다졸람	알긴산	BMD
LY29 및 LY30	살비아 밀티오르호자 추출물	에폭시퀴논	모모르딘 I	안드로디아 캄포라타 추출물	카바틸
MOL 294**	산귀나린	가백세이트 메실레이트	모린다 오피시날리스 추출물	아피게닌	CGS 26462
폐파블록	SAm 추출물	글리벡	모슬라 디안테라 추출물	아스트라갈로사이드 IV	DHMEQ
레인	스타우로스포린	하이드로퀴논	오펜티아 퍼쿠스 인디카 추출물	ATS14(세라타몰리드)	딜타아제
SMI 및 FP	세스퀴테르펜 락톤	이부프로펜	플라티코딘 사포닌	아토르바스타틴	디옥신
B, IKK 활성 및 I κ B	스코파론	IQCAD	폴리마이신 B	블루 허니 석출물	디피리다몰
포스포릴화	실리비닌	인돌레카르복사미드	폰시루스 트리폴라타 과일 추출물	부투스 마르텐시 추출물	디설펜람
천연 생성물	실리마린	이소부틸 니트라이드	프로바이오틱	칸타리딘	에나라프틸
(S)-경제물	셀포라판	제스테론 이랑체	프로스타글란딘	치사노사이드	mEET
1'-아세톡시사비콜 아세테이트	솔린달	15-데옥시스페르구알린 유사체	레시니페라록신	클라리트로마이신	플루바스타틴
20(S)-프로토파낙사트리올	테트란딘	메토트렉세이트	스팅킹 네플 추출물	코너스 오피시날리스 추출물	인들-3-카비놀
4-하이드록시노네날	테아폴라빈	MLB120	티오펜탈	에리오칼릭신 B	JSH-2S
아세틸-보스웰산	티에노피리딘	모노클로로아민	티피파르닙	강글리오사이드	KL-11S6
아난다미드	틸리아닌	MX781(레티노이드 길항제)	티타니움	글루코코르티코이드	레플루노미드
아네톨	우르솔린산	4-HPR	TNP-470	HP 추출물	레바미솔
아피게닌	베스나리논	나파모스타트 메실레이트	트리코모나스 바지날리스	히르수테논	MEB
아르테미시아 베스타타1	웨델로락톤	NSAID	TG-농후 리포단백질	인간 모유	목시플록사신

도 9(계속/표3)

도면9c

바오간닝	위타놀리드	PS-1145(MLN1145)	우르소데옥시콜산	JM34	오마파트랄라트
베톨란산	크산토안겔을 D	PQD	크산티움 스트루마리움 추출물	KIOM-79	R-에토돌락
블랙 라즈베리 추출물	제롬본	퍼리도옥사지논 유도체	β -PEITC	렙토마이신 B	롤리프람
부들자사포닌 IV	β -카볼린	SC-514	8-MSO	네오마이신	SC236(COX-2 억제제)
카코스폰지오놀라이드 B	γ -만고스틴	스키토네민	β -라파콘	누클링	트리플루살
칼라구알린	γ -토코트리에놀	나트륨 살리실레이트	펩티드	오레고닌	취발성 마취제
카르다모민	펩티드	스타닌(몇몇)	페네티라틴	OXPAFC	E. NF- κ B DNA-결합
카르다모닌	IKKB 펩티드	셀파살라진	VIP	파에노니플로린	무기 착물
카스파롤	NEMO CC2-LZ 펩티드	셀파살라진 유사체	단백질	팔라시딘	금속(크롬, 카드뮴, 금)
코브로록신	단백질	서반타	활성화 단백질 C	피페린	납, 수은, 아연, 비소)
사이클로에폭시돈	항-트롬빈 III	탈리도마이드	HSP-70	피타바스타틴	천연 생성물
데쿠신	코리오닉 고나도트로핀	THI S2	인터류킨-13	플라티코디 라딕스 추출물	액티노다편
데하이드로아스코르빈산	FHIT	YC-1	정맥내 Ig	프로바이오틱	안토시아닌
텍사나비놀	HB-EGF	기타	Murr1 유전자 생성물	라파마이신	아르니카 몬타나 추출물
디지톡신	간세포 성장 인자	리드	뉴로피브로마토시스-2-단백질	루바브 수성 추출물	아르테미시닌
디오스게닌	인터페론- α	경증 저체온증	PACAP	살비아 밀티오르호자 추출물	바이칼레인
디테르페네스	인터류킨-10	살린(낮은 Na ⁺)	SAIF	SH 추출물	밤바라 땅콩
도코사헥사엔산	PAN1	C. I κ B 분해	ST2(IL-1-유사 수용체)	셀레노메티오닌	β -라파콘
팔카린돌	PTEN	천연 생성물	α -MSH	센푸	빌리베르딘
플라보피리돌	SOCs1	5'-메틸티오아데노신	γ -글루타밀시스테인 신타제	소포라에 라딕스 추출물	브라질리안
푸로나프토티논	바이러스 단백질	아르테미시아 이오모모기 추출물	세균/바이러스 단백질	소풍산	칼시트리올
가르시논 β	아데노바이러스	알라클로르	KIL(백시니아 바이러스 단백질)	소르부스 콧스타 추출물	캄프토테신

도 9(계속/표3)

도면9d

글로소긴 테누 이폴리아 추출 물	코어 단백질(Hep-C 바이러스)	아멘토플라본	Nef(HIV-1)	스폰딘	수테르란디아 프루테스센스
글리신 클로라 민	사이토메갈로바 이러스	안트로디아 캄 포라타#	Vpu 단백질(HIV-1)	티. 폴리글리코 사이드	캡시에이트
구글스테론	E7(파필로마바 이러스)	아르테미시아 카필라리에스 추출물	YopJ	영가에추이감- 탕	카탈포사이드
헤르비마이신 A	MC159	오쿠빈	합성	α -피넨	고양이 발톱 껍 질
호노키올	MC160	바이칼레인	1-브로모프로판	펩티드	채온기에올사세 유탕
하이포에룩사이 드	NSSB(Hep-C 바 이러스)	블랙베리 추출 물	아세트아미노펜	NCP	키토산
인디루빈-3'-옥 십	vIRF3(KSHV)	부창-탕	디아미드	PNSO	키코리 뿌리
이소라폰티게닌	합성	캡사이신	도부타민		CSPDP
클라리트로마이 신	AIM2 과발현	락소펠라스트	에프. 프로테아 쥬/프로테아제	만기페라 인디 카 껍질	
클로리크로멘	안지오펜이텐 -1	리바비린	천연 생성물	추출물	
C-K 및 Rh(2)	안티트롬빈	리파미드	사이클로스포린 A	만기페린	
코르텍스 신나 모미	AvrA 단백질	리토나비르	락타시스틴	멜라토닌	
추출물	(살모넬라)	로시글리타존	β -락톤	Mn-SOD	
크립토탄시논	β -카테닌	록시트로마이신	펩티드	멀베리 안토시 아닌	
사이토칼라신 D	브로멜라인	DAAS	ALLnL	미리세틴	
흑미 추출물	CaMKK	세로토닌 유도 체	LLM	N-아세틸-L-시 스테인	
단셀슈	CD43 과발현	심바스타틴	유비퀴틴 리가 제	나사이세린	
디테르페노이드	FLN29 과발현	SM-7368**	Z-LLL	나린긴	
Ent-카우란 디 테르페노이드	FLIP	T-614	Z-LLnV	N-에틸-말레이 미드	
에피나스틴 하 이드로클로라이 드	G-120	설파살라진	합성	니트로소글루타 티온	
에폭시퀴놀 A	Gax(호메오박스 단백질)	SUN C8079	APNE	NDGA	
에리트로마이신	HIV-1 내성 인 자	트리클로잔 플 러스 CPC	보론산 펩티드	오크나플라본	
에보디아민	인터듀킨 4	타바코 스모크	BTEE	오르토펜탄트를 린	
어유	SspH1 및 IpaH9.8	베라파밀	3,4-디클로로이 소코우마린	페닐아르신 옥 사이드	

도 9(계속/표3)

도면9e

포메스 포멘타 리우스	NDPP1(CARD 단백질)	기타	데옥시스페르구 알린	Phip	
추출물	과발현 ZIP1	열(열-유사)	DFP	필란투스 우리 나리아	
푸코이단	p8	하이퍼캡닉 아 시도시스	디설퍼람	PMC	
갈릭산	p202a	고장성	FKS06(타크로리 루스)	PTX	
고나테르마 루 시름	p21(Rec)	저체온증	보르테조립	피리티온	
가르시놀	PIAS1	알콜	살리노스포라미 드 A	피롤린디티오카 바메이트	
게라닐게라니올	프로-오피오멜 라노코르틴	E, NF-κB 트랜 스활성화	TLCK	쿠에르세틴	
긴코플라이드 B	PYPAF1 단백질	천연 생성물	TPCK	퀴놀졸린	
글리시르히진	Raf 키나제 억제제	4'-DM-6-Mptox	G. 항산화제	레바미피드	
할로푸기논	단백질 루스 베 르니시플루아	4-페닐코우마린	2,3-하이드록시 우르솔산	적색 와인	
헤마테인	과일	AHUP	성숙 마늘 추출 물	레독스 인자 1	
헤르발 화합물 861	SLPI	아데노신	아네톨디티올티 온	레스베라트롤	
하이드록시에틸 전분	Siab2	c-AMP	아포사이닌	인삼 유도체	
하이드록시에틸 푸에라린	SIRT1 테아세틸 라제	아르테미시아 실바티카 추출 물	사과 주스/추출 물	로테논	
하이퍼리신	과발현	바이포도박테리아	아르크티게닌	록시트로마이신	
카메바카우린	Siva-1	블루베리 & 베리 혼합물	아레테미사 p7F	S-알릴-시스테인	
리볼레산	솔라나 니그로 엘	BSASM	아스탁산틴	사우키논	
리토스페르미 라디스	계면활성제 단백질 A	BF 페닐프로파 노이드	베니디핀	스피로놀락톤	
마크로라이드 항생물질	Tom1 과발현	cPrG.HC	비스-유게놀	스트로페리 추출물	
메디테라네안 식물	트랜스도미넌트 p50	시워드 추출물	BG 화합물	탁시폴린	
추출물	우테로글로빈	프럭투스 베닌 카사에 추출물	BHA	램폴	
2-메톡시에스타 라디올	VEGF	글루코코르티코 이드	CAPE	테폭살린	
6-MITC	합성	기페노사이드 XLTX	카르노솔	3급-부틸 하이 드로퀴논	

도 9(계속/표3)

도면9f

니코틴	ADP 리보실화 억제제	Kwei Ling Ko3	카르베딜올	테트라사이클릭 A	
오크나 마크로 칼릭스 겹질 ext.	7-아미노-4-메틸쿠마린	LC 뿌리	카테콜 유도체	비타민 B6	
오리도닌	알리논	루테올린	셀라스테롤	비타민 C	
	아트로바스타트	마나산틴스 A, B	세파란틴	비타민 D	
PC-SPES(8 허브 혼합물)	벤포티아민	MI 겹질 추출물	키오로젠산	비타민 E 유도체	
PGG	베즈아미드	메수올	클로로필린	우고닌	
페플루아논	비스페놀 A	노빌레틴	코코아 폴리페놀	크산토후물	
필란투스 아마루스	카프로펜	포물	쿠르쿠민	야쿠키논 A,B	
추출물	카보시스테인	사이코신	DHEA	α -리포산	
식물 화합물 A	셀레록시브	캄카일링	DHEA 설페이트	α -토코페롤	
폴리오젤린	젬시타빈	사우레르네올 D & E	데하이드로에보디아민	α -토르프릴 아세테이트	
프레닐비사볼	신나말데하이드	슈양후양글리아	데메틸트라	α -토르프릴	
에이 3	vde	n#	질라게닌	석시네이트	
프로스타글란딘 E2	2-메톡시 CNA	스틸락스 복키이 추출물	디에틸디티오카바메이트	β -카로텐	
PSK	2-하이드록시 CNA	트리리놀레인	디페록사민		
퀴닌산	CDS	운카리아 토멘토스 추출물	디하이드로이소유게놀		
산제논 C	CP 화합물	WS 추출물	디하이드로리포산		
세사민	시아노구아니딘	워드만닌	딜라젠		
썬-푸	HMP	α -제아탈레놀	페노피브르산		
실리비닌	α -디플루오로 메틸오르니틴	바이러스 단백질	DMDTC		
시노네닌	DTD	BZLF1(EBV 단백질)	디메틸설폭사이드		
스위트 브레이크 페르 추출물	에반스 블루	SH 유전자 생성물(PMV)	디설파람		
테나세툼 라바툼	에보디아민	단백질	에브세이엔		
추출물	페놀도캄	안티트롬빈	에다라본		
탄시논	FEX	NF-카파 B-억제인자	EGTA		
타우린+니아신	피브라데스	PIAS3	EPC-K1		
TZD MCC-SSS	FK778	PTX-8	에피갈로카테킨-3-갈레이트		
트리코스타틴 A	플루닉신 메글루민	합성	에르고티오네인		
트리프톨리드	플루르바이프로펜	17-AAG	에틸 피루베이트		

도 9(계속/표3)

도면9g

타르포스텐 AG-126	하이드로퀴논	TMFC	가노테르마 부 식물		
우르솔산	IMD-0354	AQC 유도체	다당류		
위타페린 A	JSH-21	9-아미노아크리 딘	가르시놀		
크산토후물	KT-90	유도체	γ -글루타말시 스테인 신세타 제		
크실리톨	로바스타틴	크로맨 유도체	긴크로 빌로바 추출물		
알-가-워#	머캅토파라진	D609	글루타티온		
인-켄-하오#	페비놀린,	디테릴푸마레이 트	해파테인		
유가 쉬디게라 추출물	모노에틸푸마레 이트	EMDFC	하이드로퀴논		
팰타드	독시폴록사신	히스타민	하이드로퀴논		
그렐린	니코틴산	HIV-1 P1	IRF1 042		
팰타드 YY	닐바티핀	에살라핀	질 테트라키스		
라파마이신	NO-ASA	PEITC	이소비텍신		
바이러스 단백질	페네록시돈	프란루카스트	칸켄-카류 추출 물		
아프리카 돼지 열 바이러스	팰타드 핵산	R031-8220(PKC	캐타민		
셀다이 바이러스 C, V 단백질	페린도프릴	억제제)	라시디핀		
E1B(아데노바이 러스)	PAD	SB203580 (MAPK 억제제)	라자로이드		
ICP27(HSV-1)	α -FBN	테트라티오펠리 브테이트	L-시스테인		
H4/N5(브라코바 이러스)	피오글리타존	트라닐라스트	리곤베리엑스		
NS3/4A(Hep-C)	피르페니돈	트로글리타존	루페올		
단백질	PNO 유도체	기타	마그놀을		
아다포넥틴	퀴나드린	저중력	말통		

도 9(계속/표3)

도면10a

[표 4]

NF-κB 억제제	명칭 또는 CAS#
MG 132	N-[(페닐메톡시)카보닐]-L-류신-N-[(1S)-1-포르밀-3-메틸부틸]-L-류신아미드
TPCA-1	2-[(아미노카보닐)아미노]-5-(4-플루오로페닐)-3-티오헵타복스아미드
PCTC	피롤리딘디티오카바메이트 암모늄
IMD 0354	N-[3,5-비스(트리플루오로메틸)페닐]-5-클로로-2-하이드록시벤즈아미드
듀테올린	2-(3,4-디하이드록시페닐)-5,7-디하이드록시-4H-1-벤조피란-4-온
카페인산 펜에틸 에스테르/CAPE	3-(3,4-디하이드록시페닐)-2-프로펜산 2-페닐에틸 에스테르
카다모닌	(2E)-5-(2,4-디하이드록시-6-메톡시페닐)-3-페닐-2-프로펜-1-온
PF 184	8-[[[S-클로로-2-[3,4-디메틸-3,4-비스(하이드록시메틸)-1-피롤리딘]-4-피리디닐]카보닐]아미노]-1-(4-플루오로페닐)-4,5-디하이드로-1H-벤조[g]인다졸-3-카복스아미드
IKK16	N-[4-피롤리딘-1-일-피페리딘-1-일]-[4-(4-벤조[b]티오펜-2-일-피리미딘-2-일아미노)페닐]카복스아미드 하이드로클로라이드
SC 514	4-아미노-[2',3'-비티오펜]-5-카복스아미드
위타페린 A	(4β,5β,6β,22R)-5,6-에폭시-4,22,27-트리하이드록시-1-옥소에르고스타-2,24-디엔-26-온산 8-락톤
아르크티게닌	(3R,4R)-4-[(3,4-디메톡시페닐)메틸]디하이드로-3-[(4-하이드록시-3-메톡시페닐)메틸]-2(3H)-푸라논
Bay 11-7085	(2E)-3-[[4-(1,1-디메틸에틸)페닐]설폰닐]-2-프로펜니트릴
PSI	N-[(페닐메톡시)카보닐]-L-이소류신-L-α-글루타릴-3급-부틸-에스테르-N-[(1S)-1-포르밀-3-메틸부틸]-L-알라닌아미드
PR 39(포르신)	Arg-Arg-Arg-Pro-Arg-Pro-Pro-Tyr-Leu-Pro-Arg-Pro-Arg-Pro-Pro-Pro-Phe-Phe-Pro-Pro-Arg-Leu-Pro-Pro-Arg-Ile-Pro-Pro-Gly-Phe-Pro-Pro-Arg-Phe-Pro-Pro-Arg-Phe-Pro-NH ₂
Ro 106-9920	6-(페닐설폰)테트라졸로(1,5-b)피리다진
Bay 11-7821	(2E)-3-[(4-메틸페닐)설폰닐]-2-프로펜니트릴

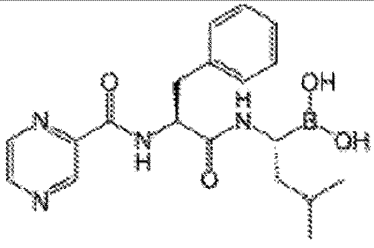
도 10

도면10b

ML-330	3-[(4-메틸페닐설폰닐)-1H-벤조이미다졸-2-아민
셀라스트롤	(9β, 13α, 14β, 20α)-3-하이드록시-9, 13-디메틸-2-옥소-24, 25, 26-트리노볼 아나-1(10), 3, 5, 7-테트라엔-29-온산
타시논 11A	6, 7, 8, 9-테트라하이드로-1, 6, 6-트리메틸페난트로[1, 2-b]-푸란-10, 11-디온
HU 211	[6aS, 10aS]-3-[1, 1-디메틸]헵틸-6a, 7, 10, 10a-테트라하이드로-1- 하이드록시-6, 6-디메틸-6H-디벤조[b, d]피란-9-메탄올
글리오독신	(3R, 5aS, 6S, 10aR)-2, 3, 5a, 6-테트라하이드로-6-하이드록시-3-(하이드록시메 틸)-2-메틸-10H-3, 10a-에피디티오피라지노[1, 2-α]인돌-1, 4-디온
CID 2858522	1-[3, 5-비스(1, 1-디메틸에틸)-4-하이드록시페닐]-2-[2-[(3-하이드록시프로 필)아미노]-5, 6-디메틸-1N-벤조이미다졸-1-일]에탄올
호노키올	5, 3'-디알릴-2, 4'-디하이드록시비페닐
안드로그라포르드	(3E, 4S)-3-[2-[(1R, 4aS, 5R, 6R, 8aS)-데카하이드로-6-하이드록시-5-(하이드록 시메틸)-5, 8a-디메틸-2-메틸렌-1-나프탈레닐]에틸리덴]디하이드로-4-하이드 록시-2(3H)-푸라논
10Z-하이메니아이 디신	(4Z)-4-[2-아미노-1, 5-디하이드로-5-옥소-4H-이미다졸-4-일리덴]-2- 브로모-4, 5, 6, 7-테트라하이드로피롤로[2, 3-c]아제핀-8(1H)-온
ACHP	2-아미노-6-[2-(사이클로프로필메톡시)-6-하이드록시페닐]-4-(4- 피페리딘)-3-피리딘카보나이트릴
프리스티메린	(9β, 13α, 14β, 20α)-3-하이드록시-9, 13-디메틸-2-옥소-24, 25, 26-트리노볼 레아나-1(10), 3, 5, 7-테트라엔-29-온산 메틸 에스테르
셀파살라진	5-[[4-(2-피리딜설폰아모일)페닐]아조]살리실산
ML 120B 디하이드 로클로라이드	N-[6-클로로-7-메톡시-9H-피리도[3, 4-b]인돌-8-일]-2-메틸-9-피리딘카복스 아미드 디하이드로클로라이드
암핵사녹스	2-아미노-7-(1-메틸에틸)-5-옥소-5H-[1]벤조피라노[2, 3-b]피리딘-3-카복실 산
9-메틸스트렙트이 미돈	CAS # 51867-94-8
N-스테아로일 피 토스핑고신	CAS # 34354-88-6
2-(1, 8-나프티리 딘-2-일)-페놀	CAS # 65182-56-1
S-아미노살리실산	CAS # 89-57-6

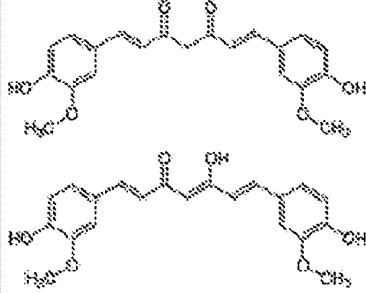
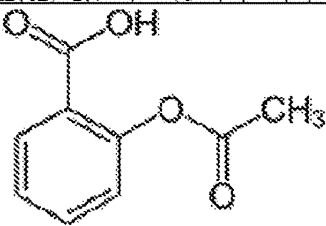
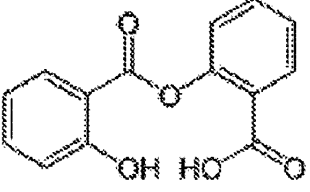
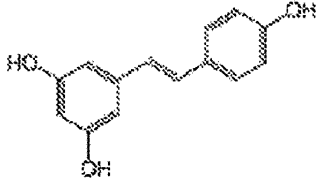
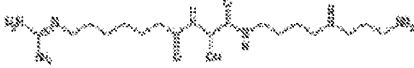
도 10(계속/표4)

도면10c

BAY 11-7085	CAS # 196309-76-9
에틸 3,4-디하이드록사신나메이트	CAS # 66648-50-8
헬라날린	CAS # 6754-13-8
NF- κ B 활성화 억제제 II, JSH-23	CAS # 749886-87-1
글루코코르티코이드 수용체 조절제, CpdA	CAS # 14593-25-0
PPM-18	CAS # 65240-86-0
아스파린	CAS # 50-78-2
LASAG	Lys-Gly-아세틸살리실레이트(또한 LG-아세틸살리실레이트로 불림), D,L-리신 아세틸살리실레이트 글리신, 또한 LG-ASA 참조
피롤라딘티오카발산 암모늄 염	CAS # 5108-96-3
(R)-MGI32	CAS # 1211877-36-9
로카글라미드	CAS # 84573-16-0
나트륨 살리실레이트	CAS # 54-21-7
QNZ	CAS # 545380-34-5
PS-1145	CAS # 431898-65-6
CAY10512	CAS # 139141-12-1
쿠르쿠민(합성)	CAS # 458-37-7
LG-ASA	Lys-Gly-아세틸살리실레이트(또한 LG-아세틸살리레이트로 불림), D,L-리신 아세틸살리실레이트 글리신, 또한 LASAG 참조
보르테조미드	 <p>(1R)-3-메틸-1-[[[(2S)-3-페닐-2-[(2-피라지닐카보닐)-아미노]프로파노일)아미노]부틸]보르슈어</p>

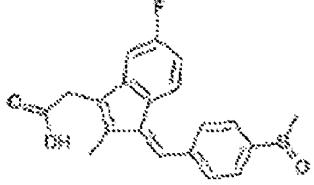
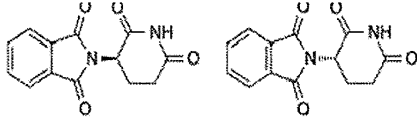
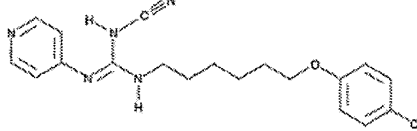
도 10(계속/표4)

도면10d

쿠르쿠민	 <p>1E,6E)-1,7-비스-(4-하이드록시-3-메톡시페닐)-헵타-1,6-디엔-3,5-디온</p>
아스피린	 <p>아세틸살리실산</p>
살살레이트	 <p>2-(2-하이드록시벤조일)옥시벤조산</p>
레스베라트롤	 <p>3,5,4'-트리하이드록시-트랜스-스틸벤</p>
테옥시스페르구알린	 <p>C₁₇H₃₇N₇O₃</p>

도 10(계속/표4)

도면10e

설린타	 [(1Z)-5-플루오로-2-메틸-1-[4-(메틸설폰닐)벤질리덴]-1H-인덴-3-일]아세트산
탈리도미드	 (R)-탈리도미드 (S)-탈리도미드
AGRO-100	또한 AS1411로서 공지됨
CHS 828	 GMX 1778(CAS 200484-11-3)

도 10(계속/표4)

도면11a

[표 5]

항생제 부류	일반명
아미노글리코사이드	아미카신, 겐타마이신, 카나마이신, 네오마이신, 네틸마이신, 토브라마이신, 파루모마이신, 스펙티노마이신
아사마이신	겔다나마이신, 허비마이신, 리파시딘, 스트렙토마이신
카바세헵	로라카베프
카바페넴	에르타페넴, 도리페넴, 이미페넴/실라스타틴, 메로페넴
세팔로스포린(제1세대)	세파드록실, 세파줄린, 세파로틴 또는 세팔로틴, 세팔렉신
세팔로스포린(제2세대)	세파클로르, 세파만돌, 세폭시틴, 세프프로길, 세푸록심
세팔로스포린(제3세대)	세픽심, 세프디니르, 세프디토렌, 세포세라존, 세포타심, 세프포독심, 세프타지덤, 세프티부렌, 세프티죽심, 세프트리아존
세팔로스포린(제4세대)	세페픽
세팔로스포린(제5세대)	세프타롤린 포사밀, 세프토비프를
글리코펩티드	테이코플라닌, 반코마이신, 텔라반신
린코사이드	클린다마이신, 린코마이신
리포펩티드	답토마이신
마크롤리드	아지트로마이신, 클라리트로마이신, 디리트로마이신, 에리트로마이신, 록시트로마이신, 트롬레안도마이신, 텔리트로마이신, 스페라마이신
모노바람	아즈트레오남
니트로푸란스	푸라졸리돈, 니트로푸란토인
옥사졸리돈	리네졸리드, 포지졸리드, 라데졸리드, 토레졸리드
페니실린	아목시클린, 암피클린, 아지오클린, 카베니클린, 클록사클린, 디클록사클린, 플루클록사클린, 메즐로클린, 메티클린, 나프클린, 옥사클린, 페니클린 G, 페니클린 V, 피페라클린, 페니클린 G, 테모클린, 티카르클린

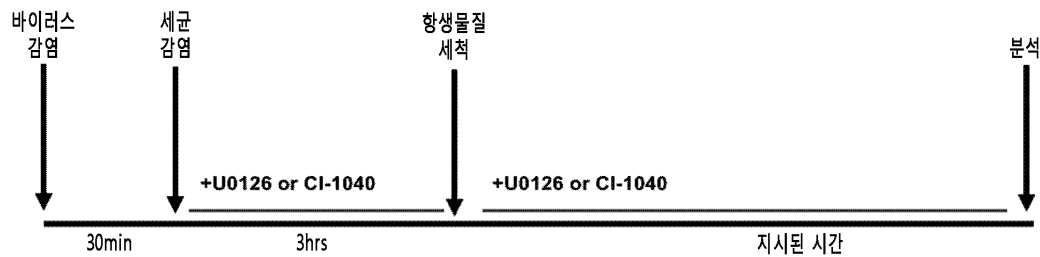
도 11

도면11b

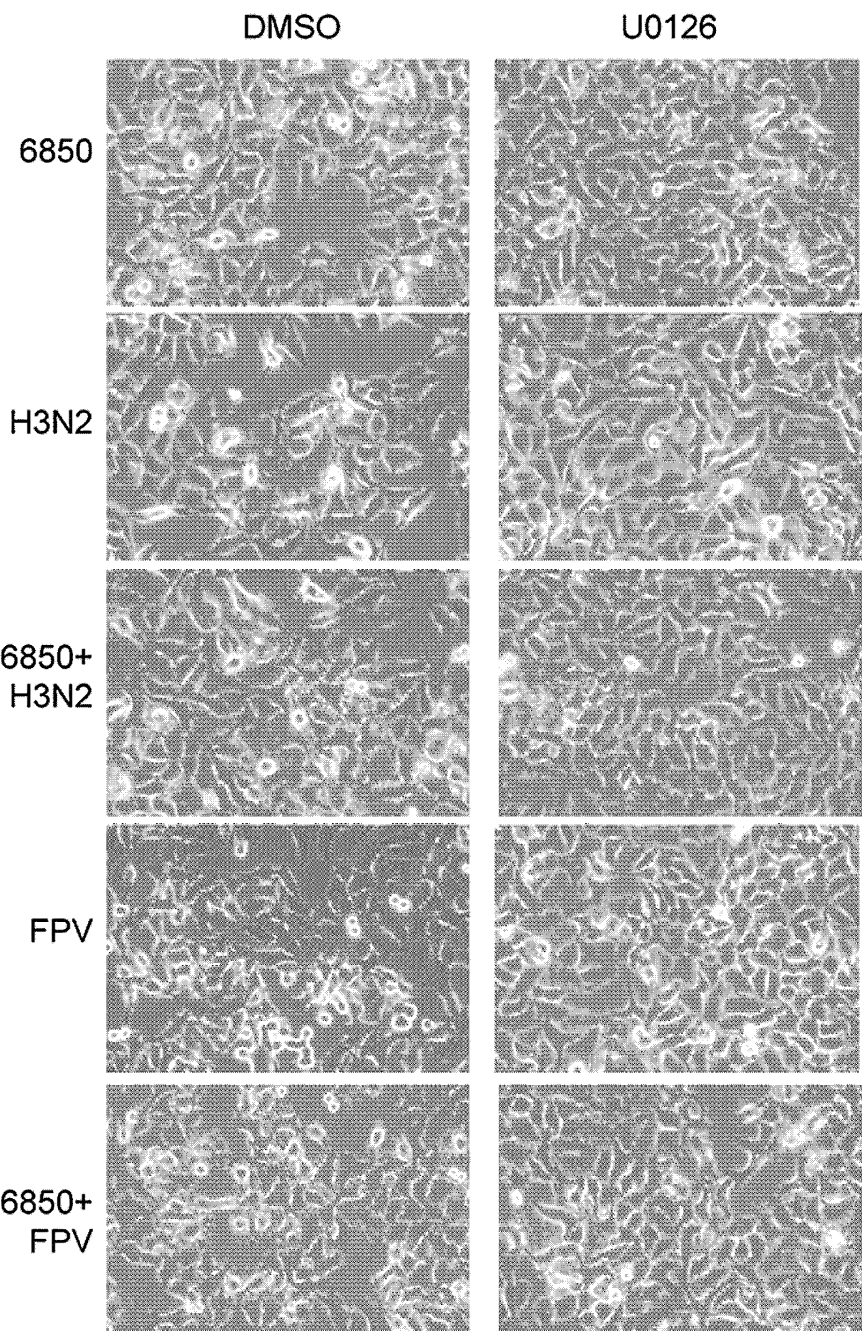
페니실린 조합물	아목시클린/클라불라네이트, 암피실린/설파탐, 피페라클린/타조박탐, 티카르실린/클라불라네이트
폴리펩티드	바시트라신, 콜리스틴, 폴리마이신 B
퀴놀론/플루오로퀴놀론	시프로플록사신, 에녹사신, 가티플록사신, 게미플록사신, 레보플록사신, 로메플록사신, 목시플록사신, 날리딕신산, 노르플록사신, 오픈플록사신, 트로바플록사신, 그레파플록사신, 스파르플록사신, 테마플록사신
설펜아미드	마페니드, 설파세트아미드, 설파디아진, 은 설파디아진, 설파디메톡신, 설파메티졸, 설파메톡사졸, 설파닐리미드(아르카익), 설파살라진, 설파속사졸, 트리메토프림-설파메톡사졸(코-트리목사졸)(TMP-SMX), 설펜아미도크리소이딘(아르카익)
테트라사이클린	데메클로사이클린, 독소사이클린, 미노사이클린, 옥시테트라사이클린, 테트라사이클린
리소스타핀	이는 스탕필로코쿠스 시물란스 메탈로엔도펩티다제이다. 이는 스탕필로코쿠스 아우레우스에 대한 항균제로서 작용할 수 있다.

도 11(계속/표5)

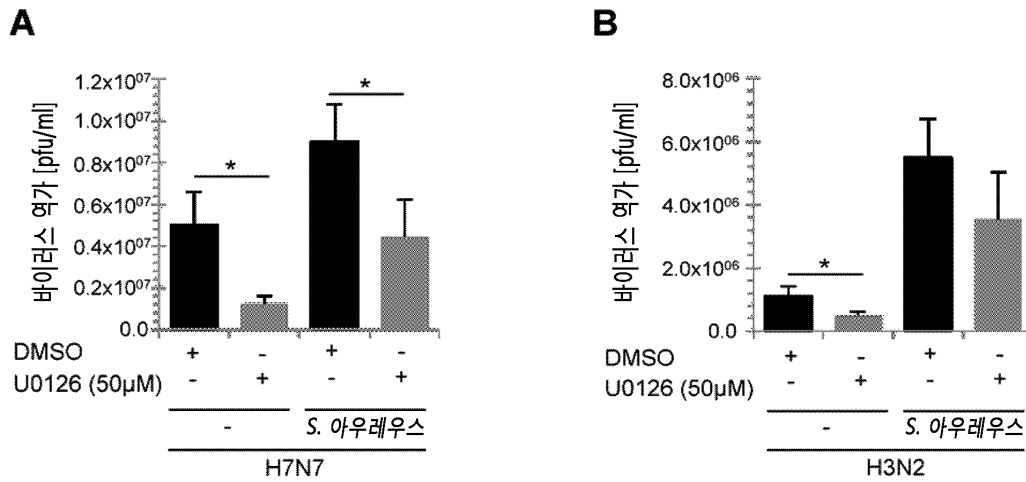
도면12



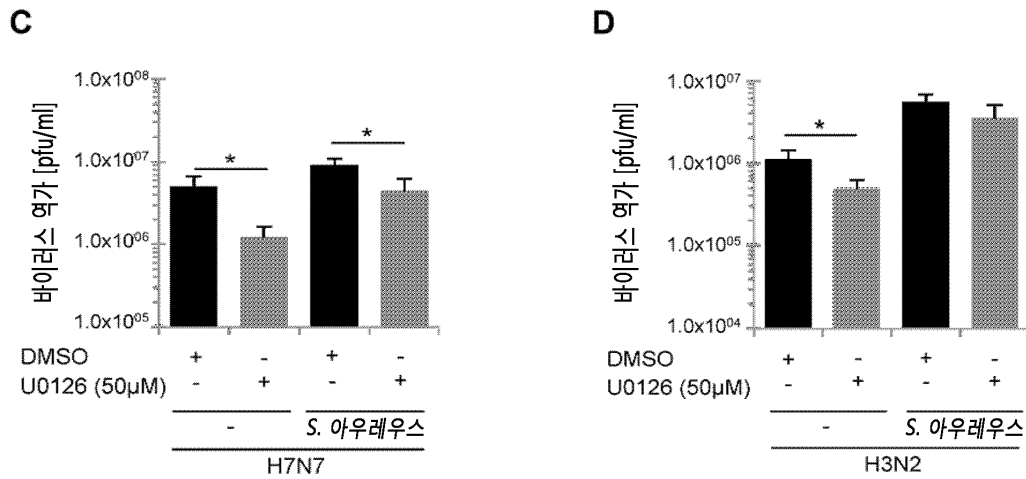
도면13



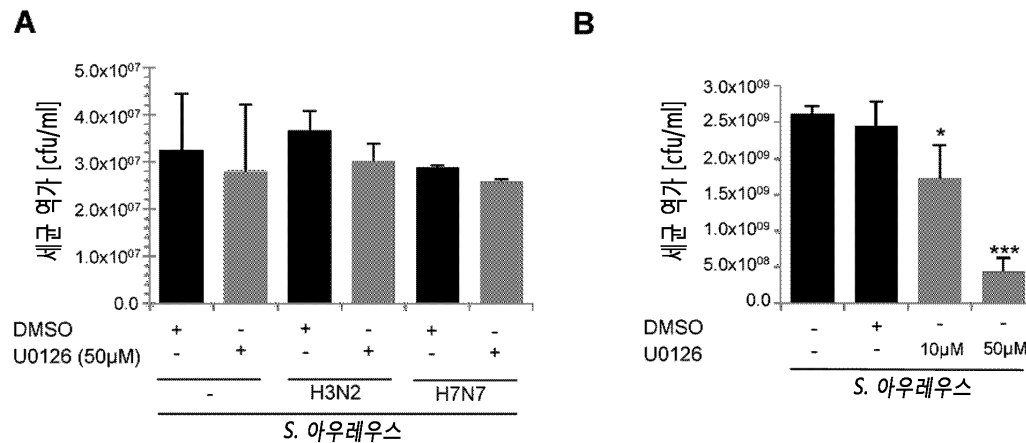
도면14a



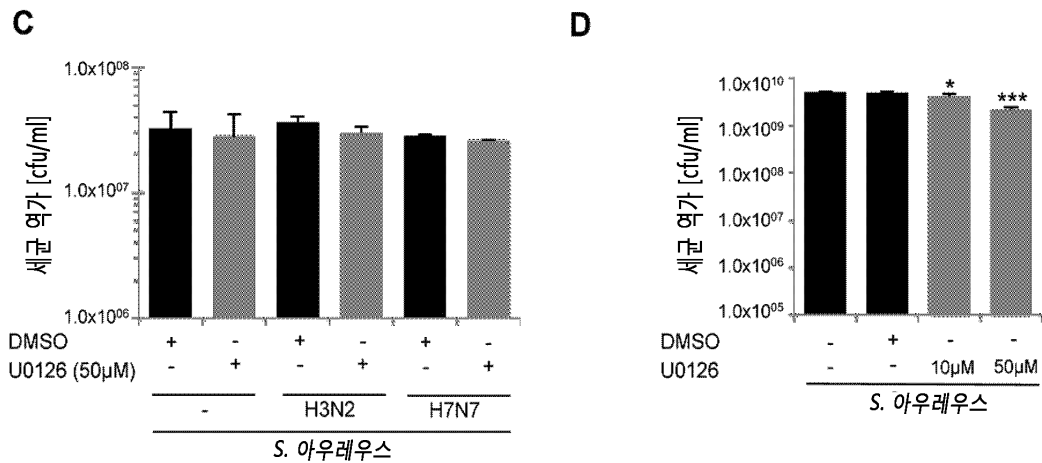
도면14b



도면15a

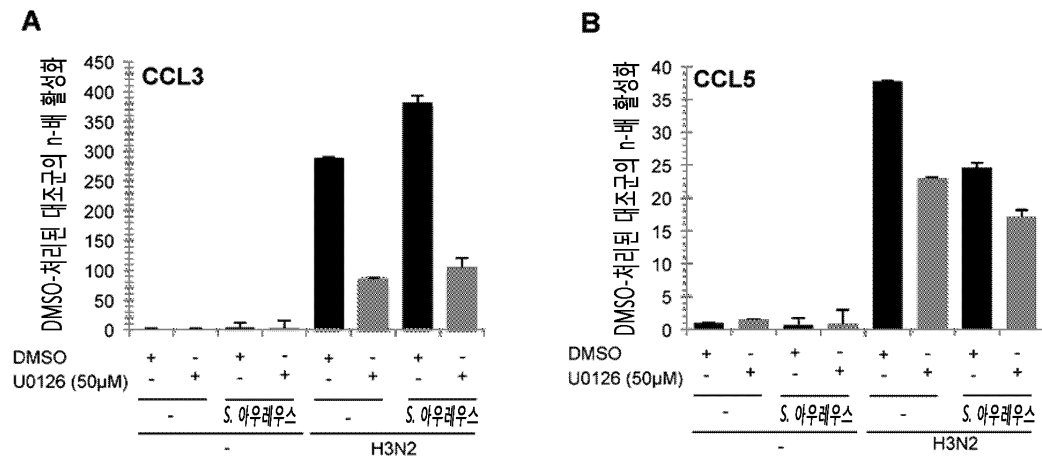


도면15b



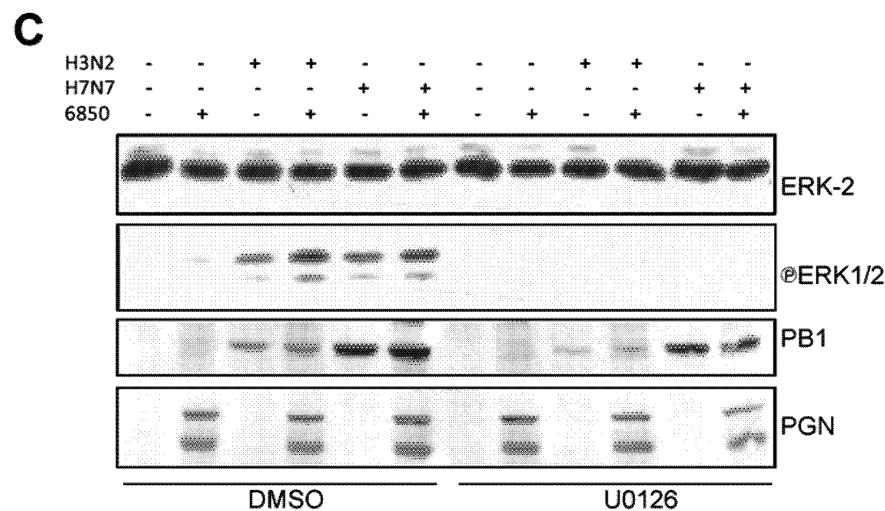
도 15(계속)

도면16a



도 16

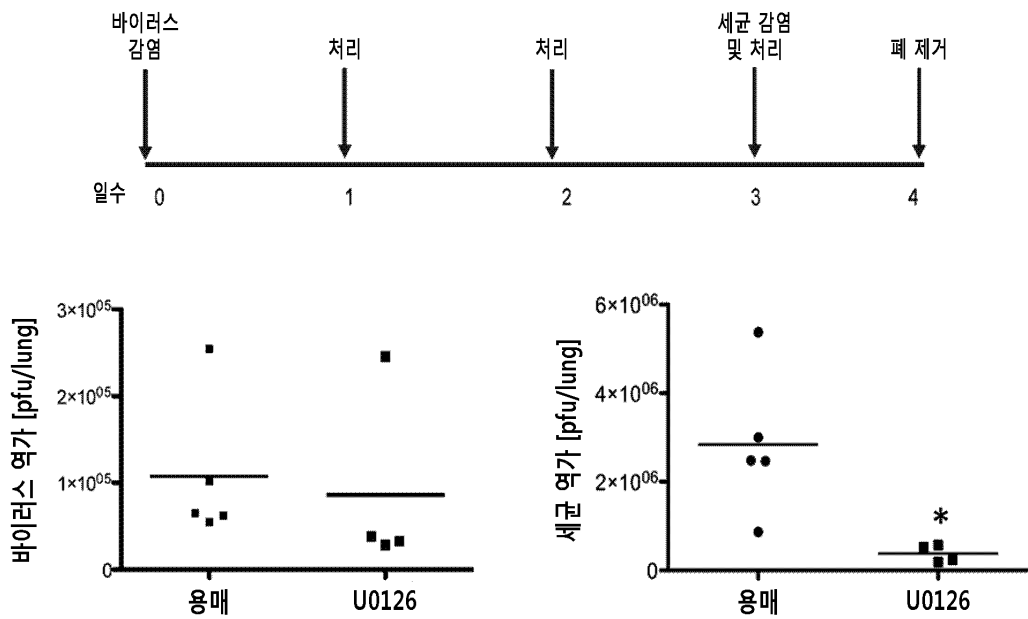
도면16b



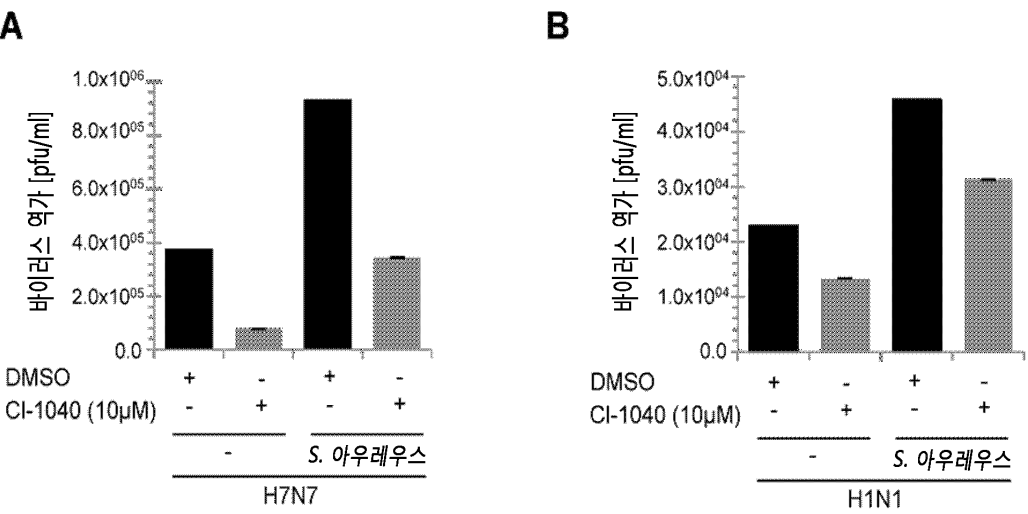
도 16(계속)

도면17

생체내 시험을 위한 감염 절차

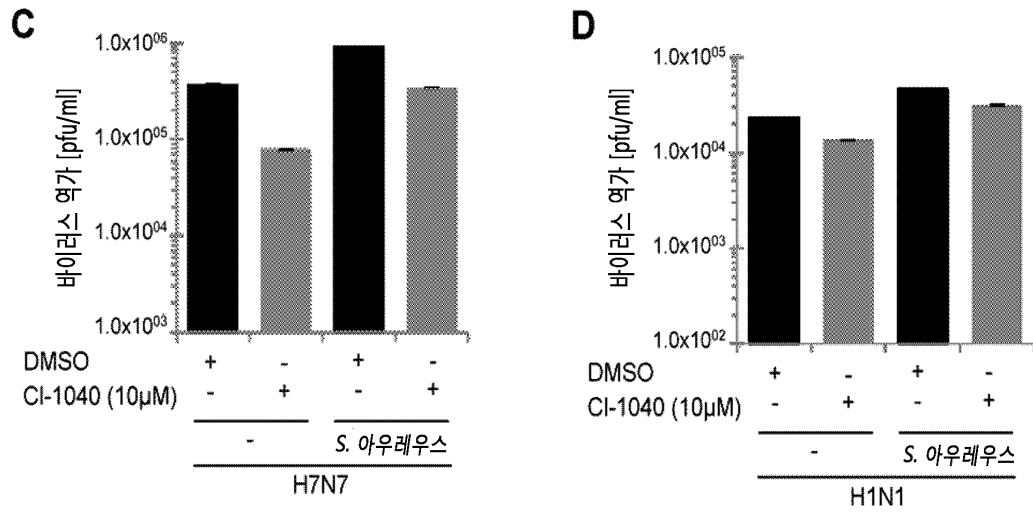


도면18a



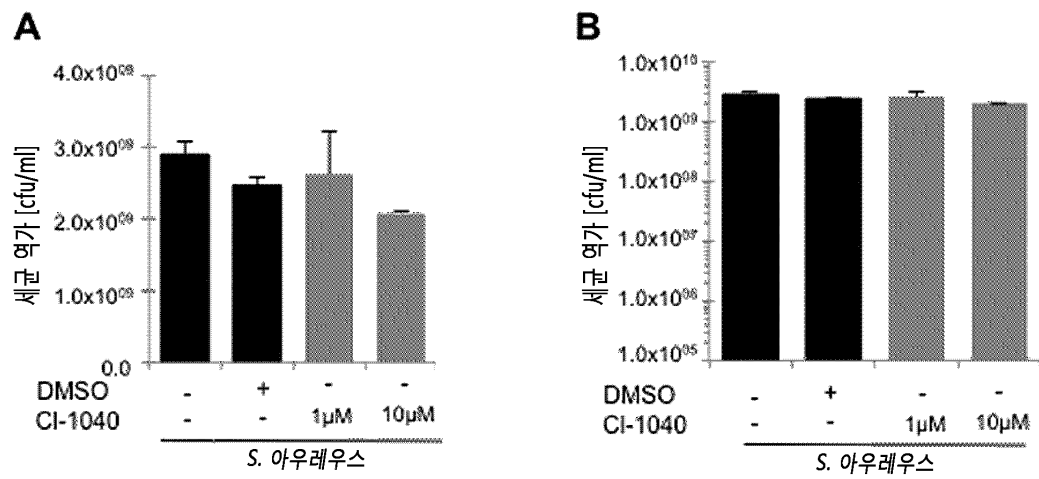
도 18

도면18b



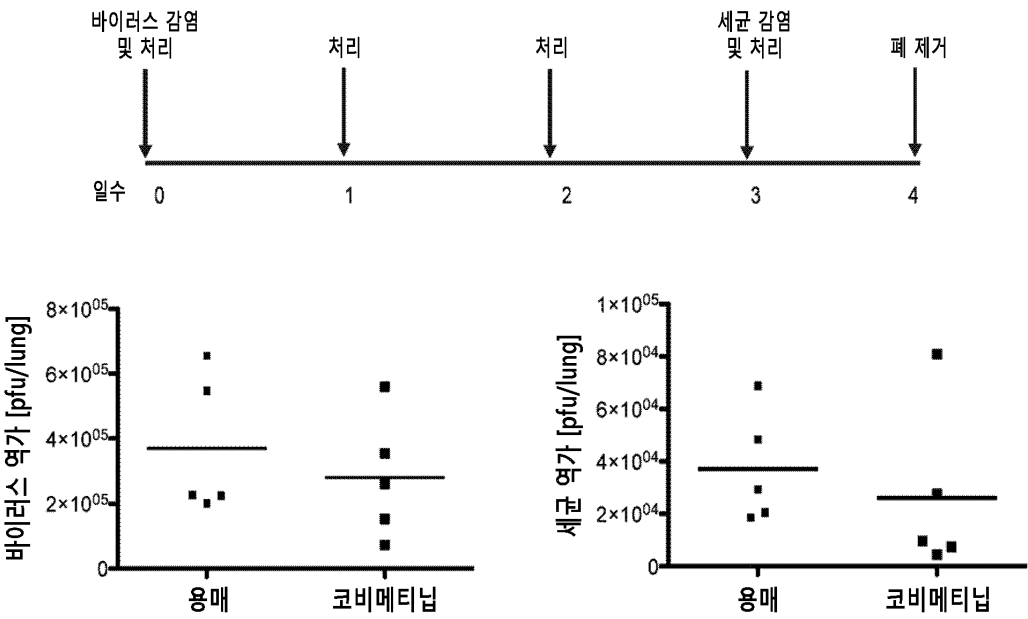
도 18(계속)

도면19

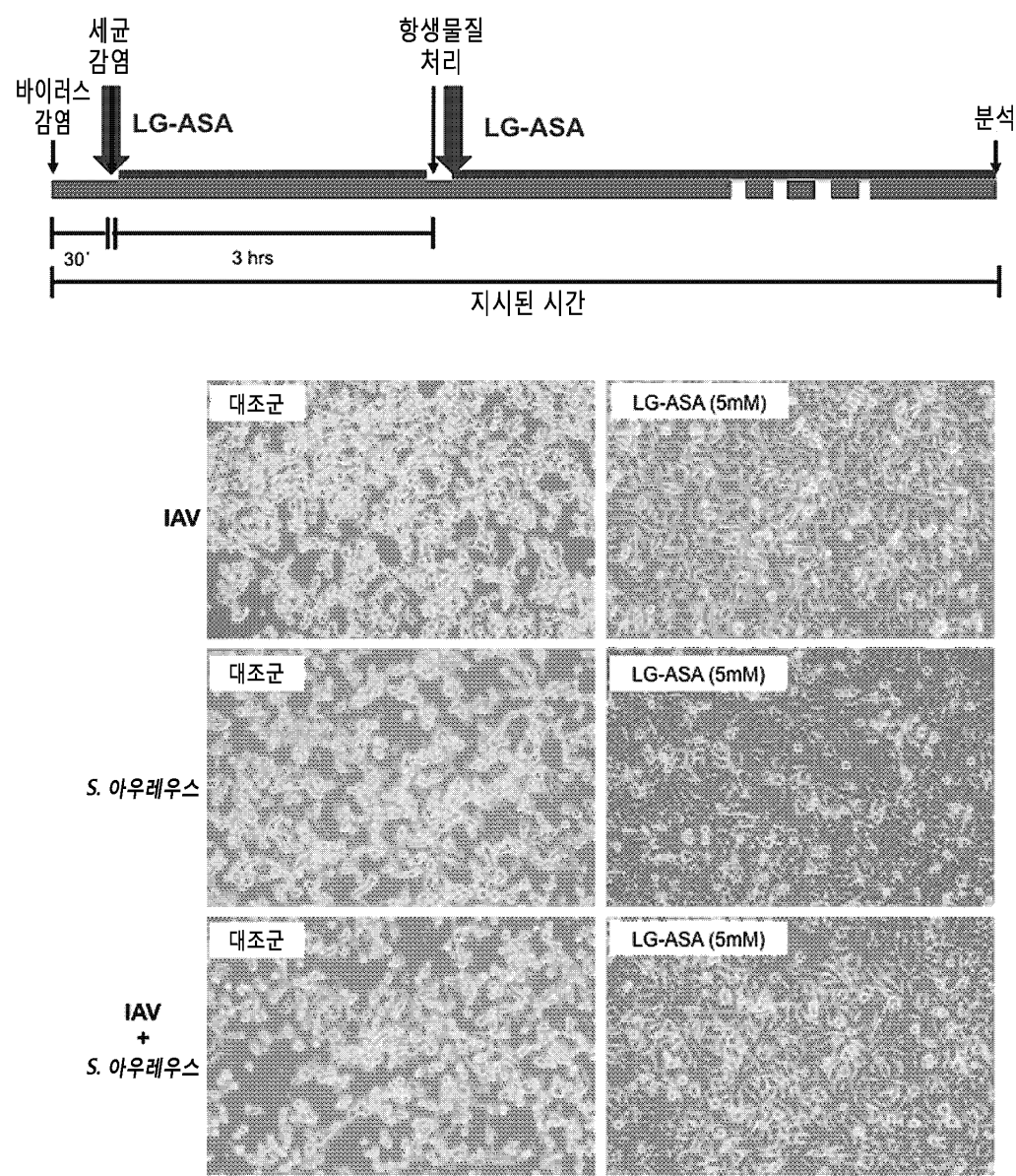


도면20

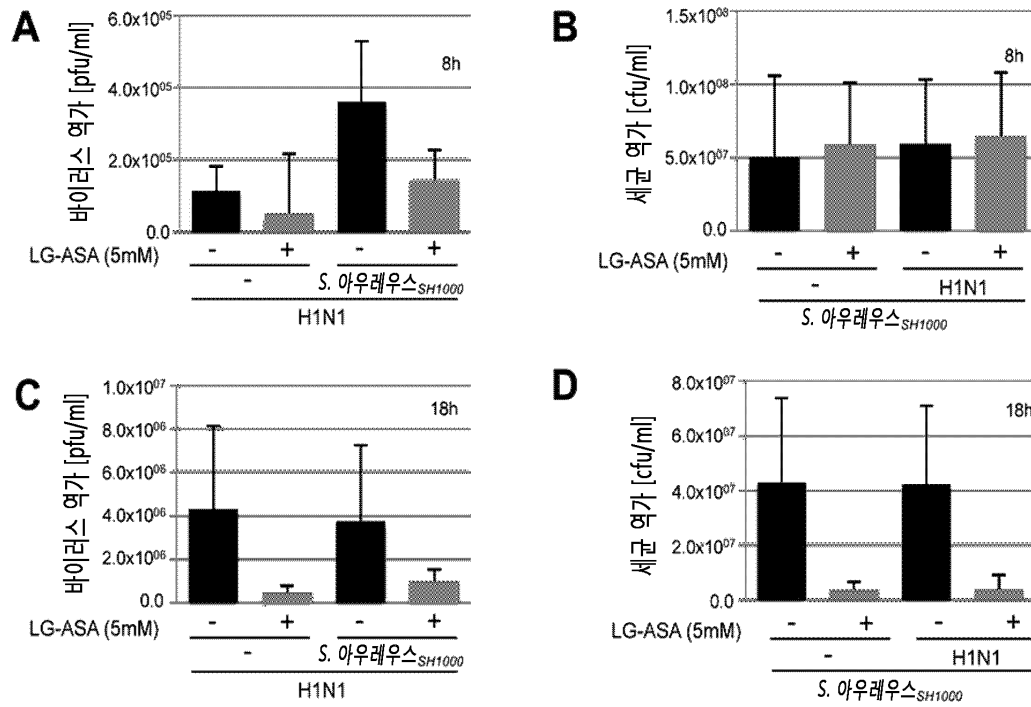
생체내 시험을 위한 감염 절차



도면21

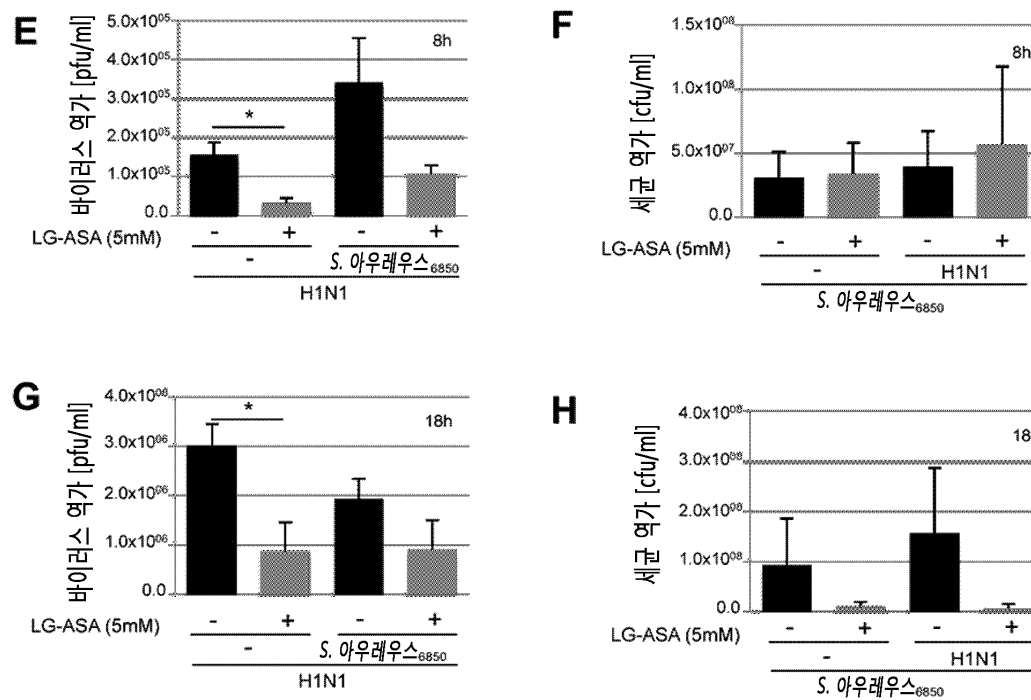


도면22a



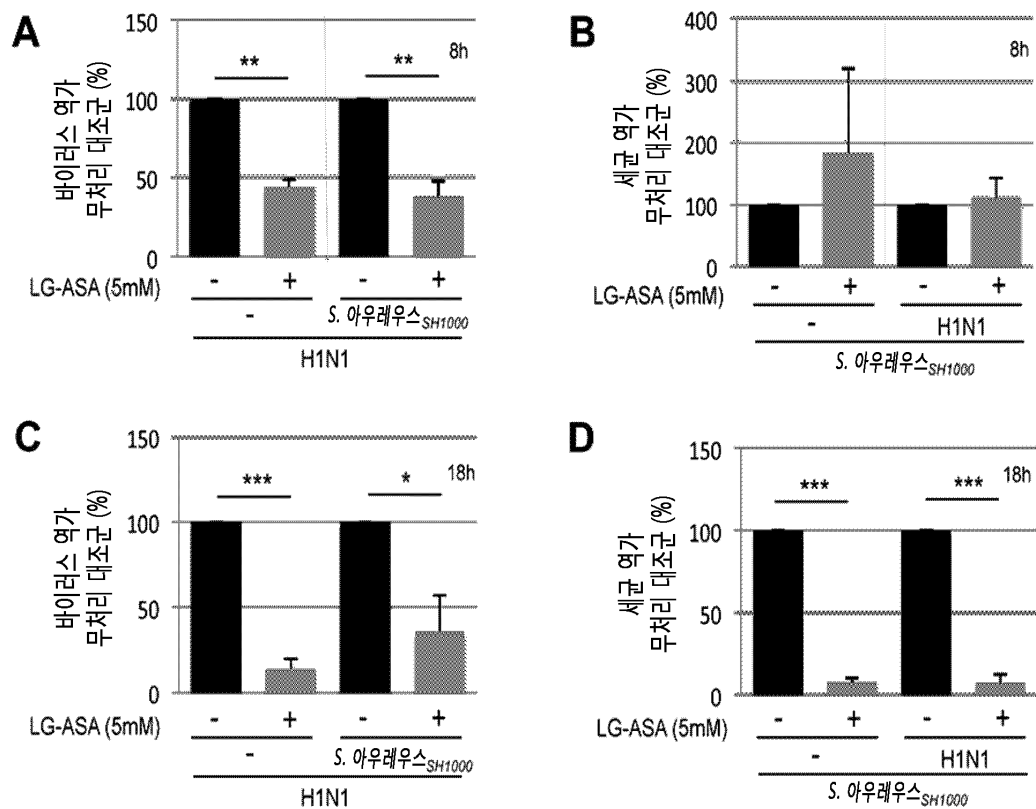
도 22

도면22b



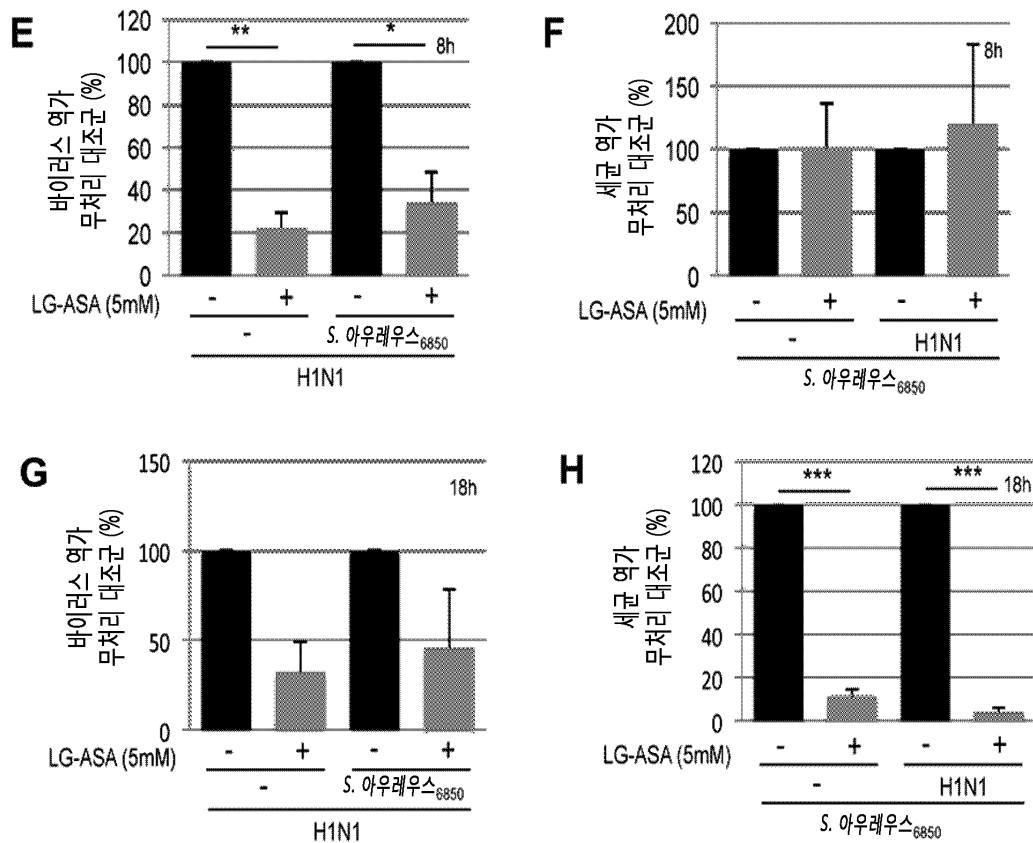
도 22(계속)

도면23a



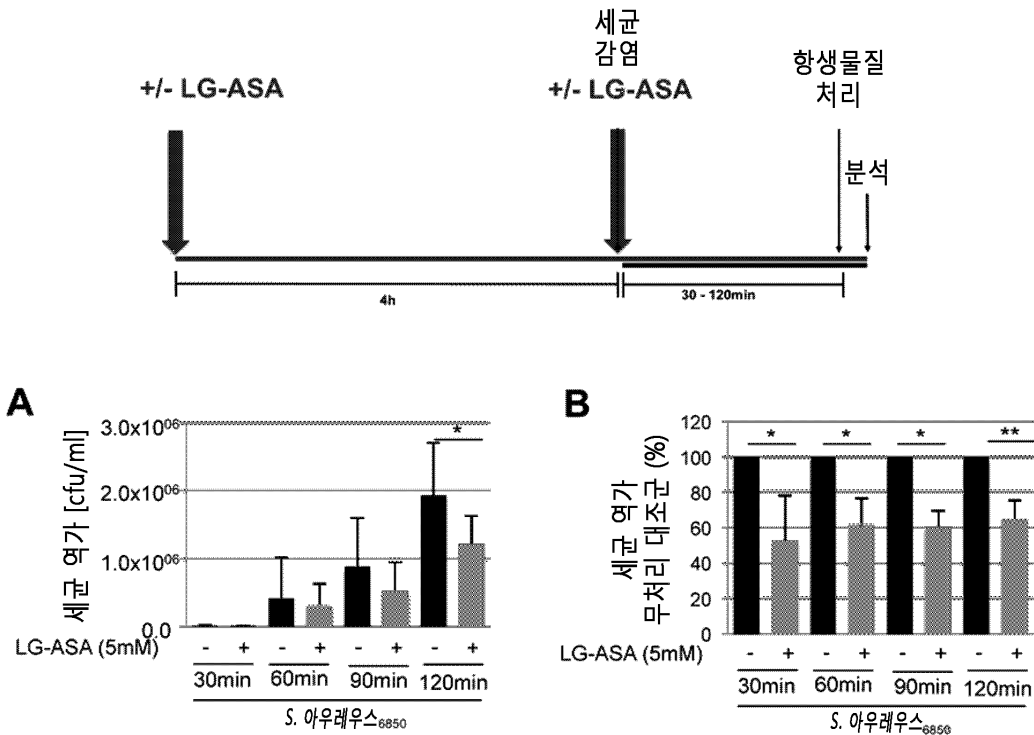
도 23

도면23b



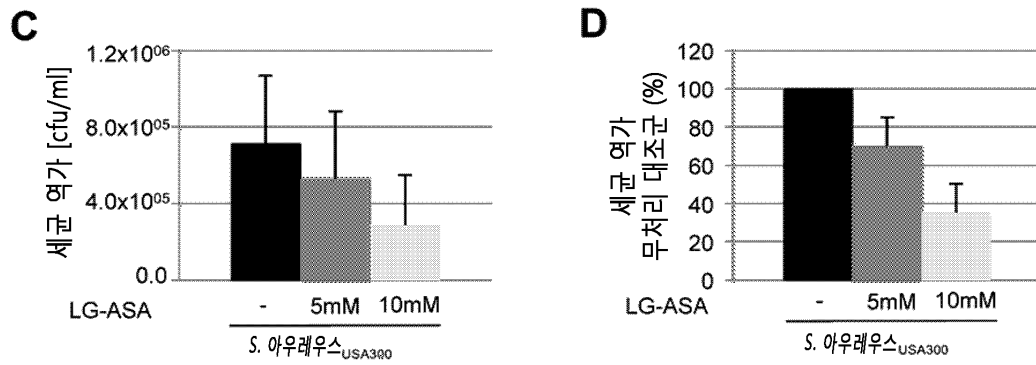
도 23(계속)

도면24a



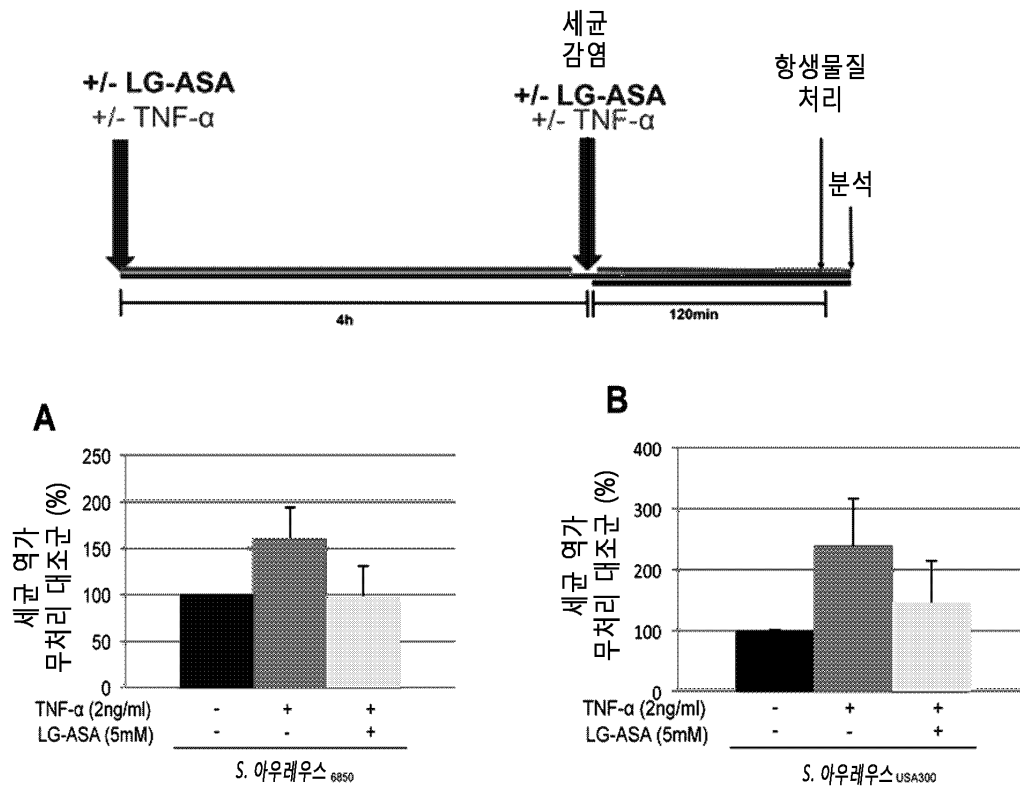
도 24

도면24b



도 24(계속)

도면25



도면26

