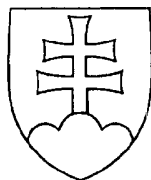


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

285 361

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. (2006):

A01N 33/00
A01N 65/00
A61K 31/13
A61K 35/00
A61K 39/385

- (21) Číslo prihlášky: 1533-98
(22) Dátum podania prihlášky: 12. 3. 1997
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: 3. 11. 2006
Vestník ÚPV SR č.: 11/2006
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 08/646 988
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: 8. 5. 1996
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: US
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: 8. 10. 1999
Vestník ÚPV SR č.: 10/1999
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: 2. 11. 2006
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: PCT/US97/02468
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: WO98/11778

- (73) Majiteľ: Squires Meryl, Barrington, IL, US;
(72) Pôvodca: Squires Meryl, Barrington, IL, US;
(74) Zástupca: ROTT, RŮŽIČKA & GUTTMANN, v. o. s., Bratislava, SK;

(54) Názov: Antimikrobiálna kompozícia a jej použitie na liečbu ochorení vyvolaných vírusom herpes simplex a iných infekčných ochorení

(57) Anotácia:
Opisuje sa kompozícia zahŕňajúca od 2 % do 90 % fytochemického koncentrátu druhu *Echinacea purpurea* a od 0,005 % do 0,8 % benzalkónium chloridu. Fytochemický koncentrát obsahuje fytochemikálie obsahujúce v hmotnostných percentách vzťahnutých na celkovú hmotnosť kompozície: od 0,3 % do 9 % echinakozidu; od 0,1 % do 7 % PSI (4-O-metylglukuróarabinoxylánu, $M_r = 35$ kD); od 0,1 % do 10 % cynarínu, t. j. kyseliny 1,5-di-O-kafeoylchínovej a kyseliny čakankovej, t. j. kyseliny 2,3-O-dikafeoylvínnej a ich derivátov; od 0,2 % do 4 % echinolónu; od 0,2 % do 8 % echinacínu B; od 0,1 % do 6 % echinaceínu; od 2 % do 7 % antokyanínov zahrnujúcich kyanidín 3-O- β -D-glukopyranozid a 3-O-(6-O-malonyl)- β -D-glukopyranozid; od 0,01 % do 0,06 % pyrolizidínových alkaloidov zahrnujúcich tusilagín a izotusilagín; od 0,003 % do 0,009 % izomérnych dodekaizobutylamidov a kyseliny tetraénovej; a od 0,01 % do 2 % karyofylénov. Ďalej sa opisuje jej použitie pri príprave lieku na rýchle a bezpečné potlačenie herpesu a iných mikrobiálnych infekcií.

SK 285361 B6

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka antimikrobiálnej kompozície a jej použitia pri príprave produktu na liečbu ochorenia vírusu herpes a konkrétnejšie medicínskej liečby vírusu herpes a iných mikrobiálnych infekcií.

Doterajší stav techniky

Vírus herpes simplex (HSV) bežne označovaný ako „vírus herpes“ alebo „herpes“ je infekčné ochorenie, ktoré dosiahlo krízové rozmery v národnom meradle s odhadovaným počtom infikovaných ľudí okolo 70 % - 80 % populácie v USA, ako publikovala American Social Health Association (Americké združenie pre zdravie spoločnosti, ASHA) a ročne sa zvyšuje o 500 000 alebo viac ľudí. Sú dva bežné druhy herpesu: vírus herpes simplex 1 (HSV 1) a vírus herpes simplex 2 (HSV 2).

Herpes sa dostáva do ľudského tela cez veľmi malé trhliny v epidermálnom tkanive, väčšinou stykom s infikovaným nositeľom, a prejavuje sa vyrážkou jedného alebo viacerých pľuzgierikov, obyčajne v zhlukoch, po čom nasleduje inkubačná perióda približne štyroch až desiatich dní. Typický priebeh vzplanutia infekcie sa začína prodromálnym štádiom; vývojom pľuzgierovitej vyrážky; potom dochádza k ulcerácii, spĺvaniu, miznutiu a k latentnej perióde. Vzplanutie môže trvať niekoľko týždňov a priemerne trvá dva-tri týždne. U niektorých jedincov so zníženou imunitou môže vzplanutie trvať mesiace. Pľuzgieriky sa môžu objaviť kdekoľvek na koži alebo sliznici, pričom sa typicky objavujú na perách ako chladné vriedky, žľazách, ústnej sliznici, na spojivkách a rohovke, na genitáliách, análnej sliznici a peri-análnom tkanive.

K symptómom herpesu patria: inguinálny opuch, bolesti, teplota, malátnosť, bolesti hlavy, bolesti svalstva a zdurenie žliaz. Niektoré osoby s orálnym herpesom, pri ktorom je zasiahnutý trojklaný nerv, majú neznesiteľné bolesti, ťažkosti s prehĺtaním, jedením a opuch tváre. Osoby s postihnutým sakrálnym nervom majú silné bolesti vo vrchnej časti nohy, opuchnutie a veľké ťažkosti s chôdzou.

Infekcia vírusom herpes simplex (HSV) sa znovu opakuje, sídliač v nervových gangliách, potom znova prepukne na určitý, doteraz neznámy podnet. Opakujúce sa herpetické infekcie sa môžu vyvolať skoro hocičím, zahŕňajúc prehnané slnenie, nedostatočnú výživu, stres, menštruáciu, potlačenie imunity, určité potraviny, liečivá, horúčkové ochorenie atď. Nedávno bol vírus herpes izolovaný zo srdcového tkaniva.

Infekcie HSV 1 a HSV 2 predstavujú veľmi vážne ohrozenie zdravia, často spôsobujúce slepotu, zvýšené riziko krčnej rakoviny, aseptickú meningitídu a encefalitídu, novorodeneckú úmrtnosť, virémiu atď. Ničivé účinky tohto ochorenia významne presahujú medicínske hľadisko ľudského utrpenia; HSV je zodpovedný za vážne psychologické a emocionálne ťažkosti, ako aj za významné ekonomické straty štátov a sveta.

Navrhli sa rozličné spôsoby liečby herpesu a zahŕňali povrchové aplikácie takých látok ako povodone-jód, idoxuridín, trifluorotymidín alebo acyclovir. Takáto liečba mala rozličný stupeň úspešnosti. Väčšina predchádzajúcich spôsobov liečby sa ukázala byť sklamaním. Acyclovir užívaný orálne na systémovú liečbu HSV, je trochu účinný. Acyclovir je však účinný len na prerušenie replikácie vírusu a používa sa systémovo na liečenie infekčného vzplanutia. Doteraz sa nenašlo nič, čo by bolo skutočne účinné pri povrchovej aplikácii. Boli zverejnené správy o kmeňoch rezistentných proti acycloviru. Jedinci so syndrómom autoimunitnej nedostatočnosti (AIDS) majú vážne zníženú imunitu a trpia obzvlášť oslabujúcimi vzplanutiami HSV. Okrem toho jedinci s AIDS môžu byť nositeľmi kmeňov HSV rezistentných na acyclovir, čo môže spôsobiť, že acyclovir je u týchto jedincov neúčinný.

Je preto maximálne dôležité, aby sa vyvinula bezpečná a úspešná metóda liečby na prekonanie vážnych ťažkostí s vírusom herpes.

Podstata vynálezu

Poskytuje sa tu kompozícia podľa vynálezu zahŕňajúca od 2 % do 90 % fytochemického koncentrátu druhu *Echinacea purpurea* a od 0,005 % do 0,8 % benzalkóniumchloridu, pričom fytochemický koncentrát obsahuje fytochemikálie obsahujúce v hmotnostných percentách vzťahnutých na celkovú hmotnosť kompozície:

- od 0,3 % do 9 % echinakozidu;
- od 0,1 % do 7 % PSI (4-O-metylglukurónoarabinoxylánu, $M_r = 35$ kD);
- od 0,1 % do 10 % cynarínu (kyseliny 1,5-di-O-kafeoylchínovej) a kyseliny čakankovej (kyseliny 2,3-O-dikafeoylvinovej) a ich derivátov;
- od 0,2 % do 4 % echinolónu;
- od 0,2 % do 8 % echinacínu B;
- od 0,1 % do 6 % echinacéinu;
- od 2 % do 7 % antokyanínov zahrnujúcich kyanidín 3-O- β -D-glukopyranozid a 3-O-(6-O-malonyl)- β -D-glukopyranozid;
- od 0,01 % do 0,06 % pyrolizidínových alkaloidov zahrnujúcich tusilagin a izotosilagin;
- od 0,003 % do 0,009 % izomérnych dodekaizobutylamidov a kyseliny tetraénovej; a
- od 0,01 % do 2 % karyofylénov,

a jej použitie na prípravu liečiva na liečenie ochorenia vyvolaných vírusom herpes simplex a iných infekčných ochorení. Toto liečivo, keď sa aplikuje zvonka, spôsobuje rýchly ústup bolesti a lieči lézie vírusu herpes.

Tento vylepšený spôsob liečenia a liek je výhodne bezpečný, lacný a účinný. Vylepšený liek, označovaný tiež ako Viracea, obsahuje novú liečebnú kompozíciu, formuláciu, antimikrobiálnu látku a roztok. Nový antimikrobiálny spôsob liečby a mikrobicídny liek sú úspešné hlavne pri liečbe vírusu herpes simplex (HSV 1 a HSV 2) pri povrchovej aplikácii a môžu osožiť pri liečbe iných mikrobiálnych infekcií podobných herpesu, ku ktorým patria, ale neobmedzujú sa iba na tieto: vírus varicella zoster (pásový opar) a cytomegalovírus. Za určitých okolností môže byť osožné použitie nového lieku systémovo.

Vylepšený spôsob liečby a liek podľa tohto vynálezu výhodne dáva neočakávané, prekvapujúco dobré výsledky. Úvodné *in vivo* skúšky s povrchovou aplikáciou preukázali ústup bolesti v priebehu niekoľkých minút a rýchle úplné vymiznutie pľuzgierovitej vyrážky u všetkých testovaných jedincov. Keď sa vynájdený spôsob liečby a liek aplikuje v prodromálnom štádiu, infekcia sa preruší a k nijakému ďalšiemu vzplanutiu nedôjde. Skúšky *in vitro* tohto nového spôsobu liečby a lieku preukázali neobyčajne prekvapujúce inhibičné účinky na vírus herpes. Ako je žiaduce, nový liek sa vyrába z ľahko skladovo dostupných chemikálií alebo produktov a poskytuje pohodlný, lacný a pre užívateľa prijateľný spôsob liečby.

Kým nový liek a antimikrobiálna kompozícia je zvlášť osožná pri výraznom inhibovaní vírusu herpes, môže byť osožná aj pri liečbe iných mikrobiálnych ochorení (chorôb

spôsobených mikróbmi), ako sú: vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV), vírus Epsteina-Barrovej, papilómvírus, celulitída, stafylokoky, streptokoky, mykobaktérie, chrípka, parainfluenza, adenovírusy, encefalitída, meningitída, arbovírus, arenavírus, anaeróbne baktérie, pikornavírus, koronavírus a syntyliavírus, ako aj vírus varicella zoster a cytomegalovírus.

Tento ľahko použiteľný mikrobicídny roztok poskytuje povlak mierne odolný proti vode pri aplikácii buď na prodomálne tkanivo, alebo na erytematóznu vezikulárnu léziu herpesu. Pri styku sa prejavuje mierne štipanie. V priebehu niekoľkých minút po nanosení bolesť v infekcii mizne. Postupne ustupuje opuch, horúčka, malátnosť, bolesť tela a ustupuje postihnutie nervov. Typicky v priebehu dvadsaťjeden hodín všetky vonkajšie symptómy a fyzikálne prejavy infekcie sa stratia a pľuzgier je suchý a zhojený. Zvlášť prekvapujúci prospešný účinok, ktorý poskytuje tento liek, je ten, že keď sa aplikuje pri prvých príznakoch vzplanutia choroby, v prodomálnom štádiu, všetky príznaky a známky ďalšieho infekčného priebehu sa zastavia! Žiadna vyrážka alebo ďalšie zhoršovanie príznakov sa neobjaví. Vypuknutie choroby sa doslova zastaví!

Tak, ako je žiaduce, nový liek (liečebná kompozícia) obsahuje inhibitory mikróbov, ktoré inhibujú, potláčajú a zastavujú mikrobiálnu infekciu ochoreniami, ktoré spôsobujú mikróby. Inhibitory mikróbov zahŕňajú fytochemikálie aspoň časti *Echinacea purpurea*. Inhibitory mikróbov môžu zahŕňať vírusové inhibitory na inhibíciu vírusových ochorení, ako sú: vírus herpes simplex 1 (HSV 1), vírus herpes 2 (HSV 2), vírus varicella zoster (herpes zoster), cytomegalovírus, HIV, vírus Epsteina-Barrovej, papilómvírus, vírusová chrípka, vírusová parainfluenza, adenovírus, vírusová encefalitída, vírusová meningitída, arbovírus, arenavírus, pikornavírus, koronavírus a syntyliavírus. Inhibitory mikróbov môžu tiež zahŕňať bakteriálne inhibitory na inhibíciu bakteriálnych infekcií, ako sú: celulitída, stafylokoky, streptokoky, mykobaktérie, bakteriálna encefalitída, bakteriálna meningitída a anaeróbne baktérie. Za určitých okolností môžu inhibitory mikróbov zahŕňať aj inhibitory plesní.

Lepšie výsledky sa dosiahnu vtedy, ak sa *Echinacea* nepoužije v lieku v surovom, nespracovanom a neposekanom stave. Pre ešte lepšie výsledky sa môžu z lieku vylúčiť: arabinóza, betaín, celulóza, med, fruktóza, masťné kyseliny, galaktóza, glukóza, železo, draslík, bielkovina, živica, sacharóza, sira, vitamín A, vitamín C, vitamín E a xylóza.

Vylepšený spôsob liečby poskytuje novú metódu a postup na použitie pri liečbe uvedených infekčných chorôb aplikáciou mikrobiálnych inhibítorov na ploche infikovanej mikróbmi a na udržanie inhibítorov mikróbov na infikovanej ploche (oblasti alebo povrchu) dovtedy, kým vymiznú, stabilizujú sa alebo sa stratia vonkajšie symptómy a fyzikálne prejavy. Liek sa môže aplikovať sprejom, nanášať ľahkým poklepaním, naprášením, tampónom, hubkou, kefkou, poliatím, dávkovaním, natieraním alebo vytvorením hrubého povlaku lieku na plochy infikované mikróbmi, ako sú: ústna sliznica, nosná sliznica, vaginálne tkanivo, labiálne tkanivo, análne tkanivo, peri-análne tkanivo, pery, kožné tkanivo, podkožné tkanivo, očné tkanivo, spojivky a očné viečka.

Keďže je spôsob liečby a liek zvlášť osočný na inhibíciu herpesu a iných infekčných chorôb u osôb (ľudských bytostí) (homo sapiens), môžu byť tiež užitočné na veterinárne účely na liečbu vírusových a bakteriálnych infekcií a infekčných ochorení zvierat, ako sú: psy, mačky, vtáky, kone, hovädzí dobytok, ovce, osípané (prasce a jatočné oší-

pané) a iné poľnohospodárske zvieratá, ako aj hlodavce a iné zvieratá nachádzajúce sa v zoolgických záhradách.

Vylepšený liek, liečebná kompozícia alebo mikrobiálna látka je fytochemický koncentrát, ktorý sa kombinuje a súčasne alebo súbežne aplikuje s benzalkónium chloridom a výhodne nosičom, rozpúšťadlom alebo riedidlom, čím vznikne mikrobicídny liečebný roztok.

Z tejto stránky zaujímavý mikrobicídny roztok obsahuje antimikrobiálnu detergentnú povrchovo aktívnu látku s rastlinnými extraktmi. V prvom aspekte vynálezu sa teda poskytuje kompozícia obsahujúca od 2 % do 90 % fytochemického koncentráta druhu *Echinacea purpurea* a od 0,005 % do 0,8 % benzalkónium chloridu. Benzalkónium chlorid môže obsahovať detergenty, zmáčadlá, emulzifikátory, odpeňovače a/alebo prísady znižujúce povrchové napätie.

Nosiče sú užitočné pri miešaní zložiek, udržiavaní zložiek v roztoku a umožňovaní jednoduchej metódy aplikácie na postihnutú plochu buď sprejom, kvapkadlom alebo aplikátorom. Ak ide o vodný roztok, pre najlepšie výsledky je výhodný sterilný vodný nosič a rozpúšťadlo, v niektorých prípadoch môže byť žiaduce použiť iné kvapalné alebo tuhé nosiče, ako sú: glycerín, minerálny olej, kremeň, olej z bavlníkového semena, kokosový olej, rastlinný olej, olej zo semien, rybí olej alebo zvierací tuk, alkohol, mastenec, kukuričná múka, včelí vosk, karnaubový vosk, beta karotén, cesnakový olej, gáľový olej, rozpustné vitamíny, rozpustné nerasty, repkový olej, orechové oleje, olivový olej, lipozómy, kyselina askorbová, prvosienský olej, pyknogenol, olej z hroznových semien, lanolín, Etocín, kolagén, aloe vera, peľ včiel, materská kašička, chondroitínsulfát A, morské rastliny, EDTA, masťné kyseliny, byliny, lecitín, bioflavonoidy, zrnne oleje alebo prášky, riasy, čaje, octy, acidofilus, bunkové soli, kyseliny askorbové, hydra 5, výťažky žliaz, aminokyseliny, psyllium, rastlinné deriváty alebo iné sterilné nosiče.

Fytochemikálie, ktoré obsahuje tento nový liek a spôsob liečby, môžu zahŕňať: arabinózu, betaín, med, echinacén, echinacín B, echinakozid, echinolón, enzýmy, fruktózu, masťné kyseliny, galaktózu, glukózu, kyselinu glukuronovú, inulín, inuloid, železo, pentadekadién, zlúčeniny polyacetylénu, polysacharidy, ako je, ale neobmedzuje sa iba na arabinogalaktán, draslík, proteín, živicu, ramnózu, sacharózu, síru, taniny, vitamíny A, C, E, xylózu. Pre lepšie výsledky zahŕňajú fytochemické koncentráty uvedené fytochemikálie s výnimkou arabinózy, betaínu celulózy, medi, fruktózy, masťných kyselín, galaktózy, glukózy, železa, draslíka, proteínu, živice, sacharózy, síry, xylózy a vitamínov A, C a E.

Fytochemikálie sa oddeľujú, extrahujú a izolujú z časti druhu *Echinacea purpurea*.

Technológia vynálezu, liečba a liek dávajú veľmi atraktívne, neočakávané, prekvapujúco dobré a konzistentné výsledky. Skúšky ukazujú, že mikrobicídny roztok (liek) a spôsob liečby sú mimoriadne užitočné na: liečbu a ovplyvňovanie priebehu prepuknutia herpesu, odstraňovania vírusu, predlžuje periody latencie choroby a dramaticky inhibuje vírus, zatiaľ čo je vo všeobecnosti bezpečný pre pacienta a životné prostredie.

V nasledujúcom opise a pripojených nárokoch je uvedené podrobnejšie vysvetlenie vynálezu.

Podrobný opis výhodných uskutočnení

Opisuje sa mikrobicíd vírusu herpes a liečenie s cieľom zmierniť bolesť, vyhojiť lézie, rýchlo potlačiť prepuknutie infekcie a inhibovať vírus herpes simplex 1 a 2 (HSV 1 a HSV 2). Je žiaduce, ak herpesový mikrobicíd a liečenie

úplne inhibujú vírus herpes, ako aj ďalšie infekčné mikrobiálne ochorenia, a sú bezpečné a netoxické pre ľudí, zvieratá a životné prostredie.

Mikrobicíd a liek na herpes zahŕňa 0,005 % až 0,8 % benzalkónium chloridu a 2 % až 90 % fytochemického koncentrátu druhu *Echinacea purpurea*. Výhodná mikrobicídová kompozícia ďalej obsahuje vodné riedidlo, výhodne sterilné vodné riedidlo.

Benzalkónium chlorid spôsobuje určité odstránenie mŕtvych buniek epitelu so širokým spektrom antimikrobiálneho pôsobenia. Liečba herpesu sa vykoná 100 % aktívnym vodným roztokom, ale môže sa tiež použiť ako koncentrát. Roztok môže obsahovať rozličné hmotnostné koncentrácie benzalkónium chloridu, od 0,005 % do 0,8 %, výhodne 0,02 % až 0,30 % a najvýhodnejšie 0,02 % až 0,26 %.

Fytochemikálie vo výťažku Echinacey majú pozoruhodnú aktivitu proti baktériám, vírusom a niektorým plesniam. Presný mechanizmus nie je známy. Pri skúškach s povrchovou aplikáciou *in vivo* na HSV 1 a 2 je do určitej miery účinný pri liečbe infekčných vzplanutí herpes simplex. Pri skúškach *in vitro* má určitú inhibičnú aktivitu proti HSV 1 a 2.

Koncentrovaná fytochemická kompozícia obsahuje nasledujúce izolované zložky, rastlinné extrakty, mikrobiálne inhibitory a antimikrobiálne zložky: polysacharidy, echinacén, echinacéin, echinakozid (ester kyseliny kávovej), echinolón, echinadiol, enzýmy, kyselinu glukurónovú, inuloid, pentadekadién, zlúčeniny polyacetylénu, arabinogalaktán, ramnózu, PS I (4-O-metylglukurónoarabinoxylán, $M_r = 35$ kD) a PS II (kyselina ramnoarabinogalaktánová, $M_r = 450$ kD), cynarín (kyselina 1,5-di-O-kafeoylchinová), kyselina (kyselina 2,3-O-dikafeoylvínna) a deriváty, alkylamidy, ketoalkíny a ketoalkény; chinóny; oleje zahŕňajúce: borneol, bomylacetát, pentadeca-8(Z)-én-2-ón, germakrén D, karyofylén, karyofylénepoxid, antokyaníny, pyrolizidínové alkaloidy, lipofilické amidy, izobutylamidy, polyacetylény.

Pre najlepšie výsledky antimikrobiálne látky fytochemického koncentrátu zahŕňajú (v hmotnostných percentách vzhľadom na celkovú hmotnosť vynájdenej liečebnej kompozície): 0,3 - 9 % echinakozidu; 0,1-7 % PS I (4-O-metylglukurónoarabinoxylánu, $M_r = 35$ kD) a PS II (kyseliny ramnoarabinogalaktánovej, $M_r = 450$ kD); 0,1 - 10 % cynarínu (kyseliny 1,5-di-O-kafeoylchinovej) a kyseliny (kyseliny 2,3-O-dikafeoylvínnej) a derivátov; 0,2 - 4 % echinolónu; 0,2 - 8 % echinacinu B; 0,1 - 6 % echinacéinu; 0,2 - 7 % antokyanínov zahŕňajúcich kyanidín 3-O-P-D-glukopyranozid a 3-O-(6-O-malonyl-β-D-glukopyranozid); 0,01 až 0,06 % pyrolizidínových alkaloidov zahŕňajúcich tusilagin a izotusilagin; 0,003 - 0,009 % izomérických dodekaizobutylamidov a kyseliny 2E, 4E, 8Z, 10E/Z-tetraénovej; a 0,01 - 2 % caryofylénu.

Kompozícia obsahuje (v hmotnostných percentách): 2 % - 90 % fytochemického koncentrátu a výhodne obsahuje nie menej ako 15 % fytochemického koncentrátu; a pre najlepšie výsledky obsahuje 40 % - 60 % fytochemického koncentrátu.

Riedidlo je rozpúšťadlom pre benzalkóniumchlorid (povrchovo aktívnu látku) a fytochemické koncentráty a môže mať úlohu nosiča v sprejoch, tubách a fľaštičkách na kvapkanie. Výhodným riedidlom je vodné riedidlo a najvýhodnejším je sterilné vodné riedidlo. Pomer vody vo vodnom roztoku k benzalkóniumchloridu môže byť v rozsahu od 30000 : 1 do 250 : 1 a výhodne na povrchovú aplikáciu od 5000 : 1 do 750 : 1. Pomer vody k spojeným koncentráciám benzalkóniumchloridu a fytochemikálií môže byť v rozsahu od 2 : 1 do 100 : 1 s výhodným rozsahom 4 : 1 až

40 : 1 a pre najlepšie výsledky tento pomer môže byť 6 : 1 až 20 : 1.

Pre najlepšie výsledky vylepšený mikrobicídny spôsob liečby a liek (mikrobicíd) na herpes obsahuje (v hmotnostných percentách): 0,02 % až 0,3 % benzalkóniumchloridu a, aby sa predišlo toxicite, výhodne menej ako 0,26 %; 40 % až 60 % fytochemikálií Echinacey; a 20 % až 60 %, najvýhodnejšie 29,74 % až 59,8 % sterilnej vody.

Kým voda je výhodným riedidlom a nosičom, za niektorých okolností môže byť žiaduce použiť iné nosiče, aby sa mohol koncentrát aplikovať sprejom, alebo kvôli lepšej rozpustnosti a účinnosti. Za určitých okolností môže byť tiež žiaduce, aby sa pridalo činidlo na ovplyvnenie viskozity. Okrem toho, ak sa odhaduje, že skladovateľnosť vylepšeného lieku na herpes je dva roky, môže byť potrebné pridať vhodné konzervačné prísady.

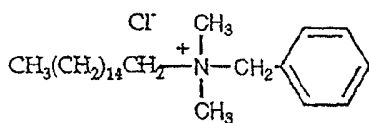
Na výhodné použitie počas vzplanutia alebo fyzikálnych prejavov herpesu a výhodne pri prvých príznakoch prodromálneho štádia pálenia, svrbenia alebo podráždenia herpesu sa má liečebný roztok (liek) aplikovať povrchovo na infikovanú plochu. Zasiahnutá (infikovaná) plocha by mala byť podľa možnosti suchá v závislosti od miesta vzplanutia. Spôsob povrchovej aplikácie lieku môže byť: nastriekanie sprejom, nanášanie ľahkým poklepávaním, kvapkadlom alebo akoukoľvek takou metódou, ktorou sa pokryje celá zasiahnutá plocha. Pokrytie roztokom (liekom) by sa malo udržiavať do úplného vymiznutia všetkých vonkajších príznakov tak, že sa opätovne aplikuje podľa potreby kedykoľvek, keď sa povlak zmenší, napríklad, po sprchovaní. Aniónové mydlá a aniónové detergenty a zvlášť mydlá obsahujúce proteíny môžu byť kontraindikované. Infikovaná plocha by sa výhodne mala pred aplikáciou lieku umyť, očistiť a vysušiť.

Klinická farmakológia

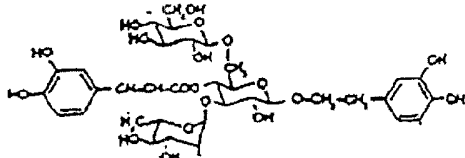
Výhodnou povrchovo aktívnou látkou je benzalkóniumchlorid. Benzalkóniumchlorid vo vodnom roztoku je komerčne dostupný pod obchodným názvom a ochrannou známkou Zephiran[®], ktorý dodáva Sanofi Winthrop Pharmaceuticals (predtým Winthrop Labs). Benzalkóniumchlorid je rýchlo účinkujúca antiinfekčná povrchovo aktívna látka so stredne dlhým účinkom. Povrchovo aktívna látka účinkuje proti baktériám a niektorým vírusom, plesniam a prvokom. Bakteriálne spóry sa považujú za rezistentné. Roztoky benzalkóniumchloridu sú podľa koncentrácie baktériostatické alebo baktericídne. Presný mechanizmus účinku benzalkóniumchloridu na baktérie nie je známy, ale sa predpokladá, že je spôsobený inaktiviáciou enzýmov. Aktivita benzalkóniumchloridu sa vo všeobecnosti zvyšuje s rastúcou teplotou a s pH. Grampozitívne baktérie sú citlivejšie na benzalkóniumchlorid ako gramnegatívne baktérie.

Nanešťastie sa benzalkóniumchlorid inaktivuje mydlami, aniónovými detergentmi, sérom a určitými proteínmi. Z uvedených dôvodov prestal byť v mnohých laboratóriách benzalkóniumchlorid obľúbený. Keď sa benzalkóniumchlorid použil samotný a skúšal sa pri povrchovej aplikácii *in vivo*, bol neúčinný na infekčné vzplanutia herpes simplex. Keď sa skúšal *in vitro* na HSV 1 a 2, prejavil benzalkóniumchlorid nežiaduco vysoké hladiny toxicity pre bunky dokonca pri vysokých zriedeniach, čo je medicínsky neprijateľné. Chemický vzorec jedného druhu benzalkóniumchloridu je uvedený. Môžu sa použiť aj iné druhy benzalkóniumchloridov.

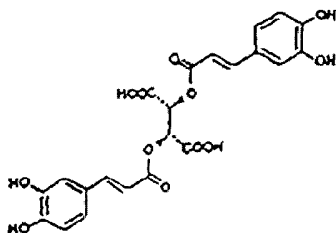
Benzalkóniumchlorid



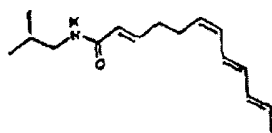
Zatiaľ čo surová, neupravená, nespracovaná a neizolovaná Echinacea je vo všeobecnosti nevhodná na liečbu herpesu, zistilo sa, že niektoré, ale nie všetky, z izolovaných zložiek a rastlinných extraktov Echinacey (ako už bolo opísané) poskytujú fytochemikálie, antimikrobiálne látky, rastlinné extrakty a inhibítory mikrobov, ktoré sú účinné pri liečbe vírusu herpes a iných infekčných ochorení. Ako už bolo uvedené, kompozícia fytochemického koncentráту sa skladá z nasledujúcich izolovaných zložiek, rastlinných extraktov, inhibítorov mikrobov a antimikrobiálnych látok: polysacharidy, echinacín, echinaceín, echinakozid (ester kyseliny kávovej), echinolón, echinadiol, enzýmy, kyselina glukurónová, inuloid, pentadekadién, zlúčeniny polyacetylénu, arabinogalaktán, ramnóza, PS I (4-O-metylglukurón-oarabinoxylán, $M_r = 35$ kD) a PS II (kyselina ramnoarabinogalaktánová, $M_r = 450$ kD), cynarín (kyselina 1,5-di-O-kafeoylchinová), kyselina (kyselina 2,3-O-dikafeoylvinna) a deriváty, alkylamidy, ketoalkény a ketoalkény; chinóny; oleje zahŕňajúce: borneol, bornylacetát, pentadeka-8(Z)-én-2-ón, germakrén D, karyofylén, karyofylénepoxid, antokyaníny, pyrolizidínové alkaloidy, lipofilické amidy, izobutylamidy, polyacetylény. Chemické vzorce niektorých rastlinných extraktov Echinacey sú uvedené.



Echinakozid



Kyselina čakanková



Echinaceín



Echinolón

Keď sa fytochemikálie Echinacey (antimikrobiálne látky, rastlinné extrakty a inhibítory mikrobov) zmiešali, skombinovali a aplikovali s povrchovo aktívnou látkou, výhodne benzalkóniumchloridom, a so sterilným vodným nosičom, výsledky boli neočakávané a prekvapujúco dobré pri potlačaní (liečbe) vírusu herpes a iných infekčných ochorení a účinnosť lieku (mikrobicidu) výrazne vzrástla. Keď sa tento synergický liek skúšal pri povrchovej aplikácii *in vivo*, infekcie herpes simplex sa okamžite zastavili. Keď sa tento synergický liek skúšal *in vitro*, povrchovo aktívna látka benzalkóniumchlorid bola podstatne menej toxická a v rámci bezpečnej úrovne a úroveň inhibičnej aktivity proti HSV 1 a 2 bola vyššia. Synergizmus interakcie a zmiešania fytochemikálií Echinacey a povrchovo aktívnych látok sa pozoroval na sledovaní rýchlej rozpustnosti zložiek, keď sa zmiešali, a na miernej lepivosti, ktorou sa vyznačovali vlastnosti roztoku. Okrem toho chemické vlastnosti fytochemikálií Echinacey, povrchovo aktívnych látok a vodného nosiča zlepšili stabilizáciu a zvýšili reaktivitu, čo je užitočné pri liečbe infekčných ochorení.

Liek sa môže použiť pri premenlivom riedení na: ústnu a nosnú sliznicu; vaginálne tkanivo; labiálne tkanivo; análne a peri-análne tkanivo; tkanivo penisu; kožné tkanivo; otvorené podkožné tkanivo; a pri vyšších zriedeniach na očné infekcie. Pri zmenených koncentráciách sa bude možno dať liek užívať parenterálne. Liek môže byť kontraindikovaný pre vaginálne alebo análne formy; pre ušný kanál; na okluzívne obvazy; alebo na prehltnutie a takéto použitie môže spôsobiť podráždenie alebo chemické poleptania. Neodporúča sa použitie lieku na liečbu anaeróbných plesňových infekcií, pretože niektoré plesne môžu byť rezistentné.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklady 1 - 7

Skúšky *in vivo*

V úvodnej štúdií *in vivo* sa uskutočnila povrchová aplikácia na zhodnotenie účinkov spôsobu liečby a lieku tohto vynálezu na siedmich skúšobných osobách, u ktorých sa skúškami zistilo, že sú pozitívni na HSV 1 alebo 2. Osoby sa liečili povrchovou aplikáciou liekom obsahujúcim povrchovo aktívnu látku benzalkóniumchlorid vo vodnom roztoku (v pomere 1 : 750) v kombinácii s bylinným výťažkom Echinacea purpurea v práškovej forme, obsahujúcim už vymenované fytochemikálie. Aplikácia kompozície sa uskutočnila dvojstupňovým postupom, najprv navlhčením postihnutej plochy alebo pluzgiera povrchovo aktívnym benzalkóniumchloridom vo vodnom roztoku pomocou spreja, dotykom alebo pomocou kvapkadla; potom vytvorením povlaku práškových fytochemikálií na zvlhčenú plochu buď tampónom, alebo ručným naprášením prášku na infikovanú plochu. Dôležitým aspektom tohto spôsobu liečby bolo udržanie úplného pokrytia zasiahnutej plochy počas vzplanutia. Plocha vzplanutia bola preto udržiavaná pokrytá liečebnou zmesou opätovným nanášaním podľa potreby.

Šesť zo siedmich osôb boli ženy, jeden bol muž. Na začiatku tejto štúdie mal muž 38 rokov, ženy mali 8, 27, 30, 32, 38 a 39 rokov. V priebehu približne šiestich týždňov bolo dvanásť infekčných vzplanutí. Deväť vzplanutí bolo HSV 2, genitálny herpes, a tri boli HSV 1, chladné vriedky. Osemročná a dvadsaťsedemročná žena mali HSV 1 (chladné vriedky). Tridsaťročná, 38-ročná a 39-ročná žena mali HSV 2 (genitálny herpes). 38-ročná mala tiež HSV 1 chladný vriedok. Muž mal HSV 2 (genitálny herpes). Všetky testované osoby mali dobre dokumentovanú históriu o-

chorenia a boli schopné určiť štandardný priebeh svojej choroby. Kvôli získaniu objektívnych údajov žiadna z testovaných osôb nevedela nič o skúšanej liečbe ani o účinku lieku. Pri opakovaných skúškach osobám povedali, že vo vzorkách preparátu môže byť zamiešané placebo.

V siedmich prípadoch sa antimikrobiálna kompozícia (liek) aplikovala priamo na tkanivo v prodomálnom štádiu. V piatich prípadoch sa antimikrobiálna kompozícia aplikovala priamo na vyhodnený pľuzgier. Antimikrobiálna kompozícia sa opätovne aplikovala podľa potreby, aby sa udržal povlak.

Pozorovania: Pri každej aplikácii lieku každý jednotliviec (skúšaná osoba) opísala pocit štipania počas niekoľkých sekúnd. Tiež opisovali značný stupeň priľnavosti liečivej (antimikrobiálnej) kompozície k pľuzgieru (pľuzgierom) alebo k postihnutej ploche. Priľnavosť kompozície k tkanivu epitelu sa do istej miery zachovala dokonca aj po osprchovaní alebo opláchnutí plochy vodou.

Výsledky: Výsledky skúšok na 7 osobách so spôsobom liečby a liekom boli neočakávane prekvapujúco dobré a veľmi konzistentné. V každom prípade osoba s radosťou opisovala, že keď sa kompozícia (liek) aplikovala na postihnutú plochu, bolesť sa úplne stratila v priebehu 10 až 20 minút, kým v minulosti nič ani nezmiernilo bolesť. V siedmich prípadoch, keď bola kompozícia (liek) aplikovaná v prodomálnom štádiu, osoby opisovali, že bolesť sa stratila, všetky príznaky, ktoré by sa predtým stupňovali do plného vzplanutia, skončili a vzplanutie sa vôbec neobjavilo. Všetky vonkajšie symptómy a fyzikálne prejavy herpesu zmizli v priebehu niekoľkých hodín po aplikácii lieku. V piatich prípadoch, keď sa kompozícia (liek) aplikovala na vyhodnené pľuzgier, osoby opisovali, že bolesť prestala o niekoľko minút a pálenie, svrbenie a podráždenie vymizlo v priebehu dvoch až štyroch hodín a pľuzgier sa vysušil a stratil sa o dvadsaťjeden hodín. Vo všetkých prípadoch ďalšie extrémnejšie oslabujúce príznaky: horúčka, malátnosť, inguinálne opuchy, mokvajúce vredy a bolestivé močenie vymizlo po aplikácii lieku.

Pri ďalšom sledovaní, keď osoby dostali zásobu kompozície (lieku) na skúšanie pri budúcich vzplanutiach, opisovali sa, že ak sa ukázali počiatočné známky vzplanutia, signalizujúce prodomálne štádium vzplanutia, kompozícia (liek) sa okamžite osobami aplikovala podľa pokynov a vzplanutie sa úplne zastavilo a ďalšie symptómy sa už neobjavili. Je významné, že osoby, ktoré zvykli mať niekoľko vzplanutí ročne, tiež opisovali, že mali značne dlhšie periódy latencie. Pri ďalšom trojročnom sledovaní jedna osoba, ktorá opisovala niekoľko vzplanutí mesačne počas štyroch rokov pred použitím tohto lieku, teraz opisuje, že sa u nej neobjavilo vzplanutie choroby viac ako rok, odkedy užila tento liek.

Doplňujúce pozorovania: Jedna osoba mužského pohlavia hlásila, že po počiatočnej aplikácii počas prodomálnej fázy vzplanutia sa osprchovala a zabudla opätovne aplikovať kompozíciu (liek) počas približne 30 hodín. Následne sa vyhodilo niekoľko pľuzgierov a začali splývať. Osoba pokračovala v opätovnej aplikácii kompozície (lieku) a potom udržiavala plochu dobre pokrytú zmesou. Vzplanutie potom vymizlo po 21 hodinách rovnakým spôsobom ako bolo opísané u iných osôb.

Ďalšie pozorovanie naznačilo, že kompozícia (liek) sa môže oslabiť alebo stať menej účinným v prítomnosti určitých proteínov alebo mydiel. Jedna osoba ženského pohlavia bola možno nadmerne horlivá pri čistení postihnutej plochy pred aplikáciou kompozície (lieku). Stalo sa to počas tretieho vzplanutia po úspechu so zmesou (liekom) pri dvoch predošlých vzplanutiach. Keď sa v tomto prípade

kompozícia (liek) aplikoval, nedostavil sa známy pocit štipania ani žiadne ustúpenie príznakov. Uplynulo približne 24 hodín, kým požiadala o radu a vzplanutie sa vyvinulo do štádia plnej pľuzgierovitej vyrážky so všetkými predchádzajúcimi príznakmi ochorenia. Dostala pokyny, aby dôkladne zmyla všetky stopy mydla z postihnutej plochy, plochu vysušila a opätovne aplikovala kompozíciu (liek). Po dodržaní pokynov osoba opísala, že vzplanutie po aplikovaní liečebnej kompozície úplne vymizlo tak, ako vo dvoch predchádzajúcich prípadoch.

Príklady 8 - 13

Dermatologické a veterinárne skúšky

Uskutočnili sa skúšky na zvieratách s cieľom určiť akúkoľvek možnú dermatologickú alergickú reakciu vyvolanú liečebnou zmesou (liekom). Použilo sa šesť zvieracích jedincov. Zvieratá zahŕňali 3 samice králika (vek neznámy); 2 psy (1 dvojročná samica a jeden deväťročný samec); jedného trojročného vykastrovaného kocúra. Pri týchto skúškach na zvieratách sa aplikovala uvedená kompozícia (liek) predtým stanoveným spôsobom do vnútra vonkajšieho ucha každého zvieratá. Vo všetkých prípadoch sa ošetrená plocha udržiavala pokrytá zmesou dvadsaťštyri hodín, čo zodpovedalo času, ktorý sa používal u ľudí. Skúšky vykonané na šiestich zvieracích jedincoch ukázali, že sa neprejavili žiadne známky dermatologického podráždenia alebo alergickej reakcie.

Príklad 14

Uvedená liečebná kompozícia obsahujúca vírusové inhibítory sa tiež skúšala na víruse papilómu spôsobujúcom bradavice na ňufáku dvojročného vykastrovaného čistokrvného koňa. Bradavice vírusu papilómu sa ťažko liečia. Bradavica merala v priemere 25 mm. Antimikrobiálna kompozícia (liek) sa aplikovala dvakrát denne. Bradavica sa potom merala pri každej aplikácii.

Výsledky: Celkom neočakávane sa bradavica výrazne zmenšovala približne o 3 mm za deň, kým sa liek na bradavicu aplikoval, a na piaty deň úplne odpadla. Pozorovalo sa, že najprv začali degradovať povrchové vrstvy bradavice, čím sa odkryli erytematózne pupence. Potom bolo zaujímavé, že bradavice sa nielen zmenšili vo svojej veľkosti šúpaním alebo olupovaním, ale sa zmenšili v bode pripojenia k epiderme subjektu a odpadli ešte stále sčasti neporušené bez zanechania jazvy.

V ďalšej, dlhodobej štúdií *in vivo* tohto vynálezu, ktorá začala s prvými siedmimi osobami v apríli 1989 a prebieha teraz 7 rokov, sa liečilo približne 100 vzplanutí infekcie týmto liekom v rozličných koncentráciách ako bolo opísané. Vo všetkých prípadoch boli rovnaké prekvapujúco dobré výsledky: 1. Bolesť sa stratila v priebehu niekoľkých minút. 2. K vypuknutiu choroby nedošlo, keď sa kompozícia aplikovala v prodomálnom štádiu. 3. Vypuknutie choroby zmizlo o dvadsaťjeden hodín, keď sa aplikovalo v štádiu pľuzgiera. 4. Dlhšie latentné periódy alebo žiadne ďalšie vzplanutia choroby.

Skúšky *in vitro*

Laboratórne skúšky sa vykonali na Chicagskej Univerzite, v Laboratóriách klinickej mikrobiológie s cieľom stanoviť inhibičnú aktivitu *in vitro* tohto spôsobu liečby a kompozície (lieku). Laboratórne skúšky vykonal zástupca riaditeľa, PhD a mimoriadny profesor patológie. Skúšky *in vitro* liečebnej kompozície označovanej v ďalšom ako „liečivo,“ poskytli prekvapujúco dobré výsledky. Zistilo sa, že spôsob liečby a kompozícia mali neočakávane prekvapujúco skvelú inhibičnú aktivitu na HSV 1 a HSV 2. Patológ

vyhlásil, že už skúšal „stovky,“ iných zmesí a nikdy nevidel niečo také dobré, ako to, ako táto kompozícia pôsobila.

Nasledujú skúšky lieku, ktoré sa uskutočnili, a výsledky, ktoré sa získali na Chicagskej univerzite. Pre jednoduchosť interpretácie niektorých vedeckých údajov a výsledkov skúšok sa používajú nasledujúce definície.

„MEM“ sa vzťahuje na minimálne esenciálne médium. Je to kultivačné médium používané v laboratóriách na pestovanie buniek, na ktorých sa budú robiť skúšky.

„Fibroplast“ je ľudská bunka mezenchýmu (bunka, ktorá sa nachádza v spojivovom tkanive, v krvi, kostiach, lymfatických cievach a v chrupavkách).

„IC₅₀“ sa vzťahuje na koncentráciu inhibítora. Na tieto skúšky sa zvolil 50 % konečný výsledok, ktorý je bežný. Nasledujúce číslo označuje najväčšie zriedenie pod 50 %.

Je to preto definícia konečného výsledku.

Ak je miesto pod nejakým zriedením prázdne, znamená to, že pri tom zriedení môže byť toxicita, nemá cenu zisťovať výsledok skúšky alebo nie sú k dispozícii interpretovateľné údaje.

Ak je miesto pod zriedením označené pomlčkou (-), značí to, že tam neboli žiadne plaky a že aktivita inhibítora bola plne úspešná.

Príklady 15 - 18

Na skúšky in vitro sa použili nasledujúce liečivá (kompozície):

Liečivo č. 1. = Povrchovo aktívna látka benzalkóniumchlorid vo vodnom roztoku v pomere 1 : 750. Povrchovo aktívna látka vo vodnom roztoku sa pred použitím prefiltrovala a zriedila rovnakým objemom 2X MEM, čím sa dosiahlo zriedenie 1 : 1500 v 1X MEM.

Liečivo č. 2. = Prášková Echinacea (fytochemikália) vo vodnom roztoku. Tento preparát sa extrahoval teplým vylúhovaním v sterilnej vode. Extrahované fytochemikálie sa pred použitím odstredili a prefiltrovali. Filterované fytochemikálie sa zriedili rovnakým objemom 2X MEM, čím sa získal neriedený preparát v 1X MEM.

Liečivo č. 3. = Prášková Echinacea (fytochemikálie) sa extrahovali a spojili s povrchovo aktívnou látkou benzalkóniumchloridom procesom chladného vylúhovania. Spojený preparát sa pred použitím odstredil a prefiltroval a zdedil sa rovnakým objemom 2X MEM, čím sa získal neriedený preparát v 1X MEM.

1. Tri dosky s 24 oddeleniami sa naočkovali fibroplastami. Použili sa tri rozličné extrakcie (na porovnanie) s piatimi koncentraciami kompozície na skrining antivírusovej aktivity v koncentráciách: neriedená, 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 a 1 : 16 v 1X MEM. Na každej doske boli štyri kontrolné oddelenia obsahujúce MEM bez liečiva.

2. Rastové médium sa odstránilo z oddelení a pridalo sa 200 μ l HSV-1 ku každému oddeleniu hornej polovice každej dosky. HSV-1 sa zriedil 1 : 5000 (2,0 μ l dodávaného HSV-1 v 10 ml MEM). Titer vírusu bol 3×10^6 na ml. Ku každému oddeleniu spodnej časti každej dosky sa pridalo tiež 200 μ l HSV-2. HSV-2 sa zriedil 1 : 2000 (5,0 μ l dodávaného HSV-2 v 10 ml MEM). Titer vírusu bol 6×10^6 na ml.

3. Dosky sa inkubovali 2 hodiny pri 37 °C.

4. Inokulum sa odstránilo a k týmto štyrom oddeleniam sa pridala jeden ml MEM obsahujúci liečivá č. 1 - 3. Koncentrácia liečiva vzťahnutá na MEM je uvedená.

Tabuľka 1

Koncentrácia	Neriedené	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
Liečivo (μ l)	4000	2000	1000	500	250
MEM (μ l)	-	2000	3000	3500	3750

5. Výsledky: HSV-1, prekrytie kvapalinou, liečivo pridané okamžite po absorpcii vírusu. Doska 1, liečivo č. 1 kontaminované baktériami! Žiadny rast, možno mŕtve tkanivo.

Doska 2, liečivo č. 2 kontaminované baktériami! Žiadny rast, možno mŕtve tkanivo.

Doska 3, liečivo č. 3. Výsledky sú uvedené v tabuľkách 2 a 3.

Tabuľka 2 - Liečivo č. 3 - Výsledky skúšky s HSV 1

Koncentrácia	Neriedené	1:2	1:4	1:8	1:16	
plakov 54	toxické	toxické	-	6*	12**	
plakov 42	toxické	toxické	-	4*	16**	
Priemer 48				5	14	IC ₅₀ >1:16

Tabuľka 3 - Liečivo č. 3 - Výsledky skúšok s HSV 2

Koncentrácia	Neriedené	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	
plakov 46	toxické	toxické	-	22*	32**	
plakov 49	toxické	toxické	-	21*	28**	
Priemer 48				22	30	IC ₅₀ =1:8

*mierna toxicita

**veľmi malé plaky

Poznámky: Skúšky s liekom (liečivo č. 3) poskytli skvelé výsledky. Bunky vyzerali dobre a bez kontaminácie. Pri menších zriedeniach môže byť preparát toxický pre niektoré bunky. Tento preparát bol neočakávane úspešný vo svojej inhibičnej aktivite.

Príklady 19 - 22

Tri dosky s 24 oddeleniami sa naočkovali fibroplastami a nasledujúcimi liečivami:

Skúšobné liečivo č. 1A = Povrchovo aktívna látka benzalkóniumchlorid vo vodnom roztoku. Povrchovo aktívna látka benzalkóniumchlorid sa pripravila zriedením 1 : 375 vo vode (32 μ l v 12,0 ml sterilnej vody). Táto sa pred použitím prefiltrovala. Tento roztok sa zriedil v rovnakom objeme 2X MEM, čím sa dosiahlo zriedenie 1 : 750 v 1X MEM. Toto zriedenie sa urobilo kvôli zachovaniu pomeru.

Skúšobné liečivo č. 2A = Prášková Echinacea purpurea (fytochemikálie) vo vodnom roztoku. Tento preparát bol roztokom 50 mg/ml (300 mg v 6,0 ml vody) práškovej *Echinacey purpureae* v sterilnej vode. Kompozícia sa premiešala krúživým pohybom a nechala sa v chladničke štyri hodiny. Preparát práškovej Echinacey sa odstreďoval pri 10 °C 15 minút pri 3500 otáčkach za minútu a pred použitím sa prefiltroval a potom sa zriedil rovnakým objemom 2X MEM, čím sa získal neriedený preparát v 1X MEM.

Skúšobné liečivo č. 3 A = Prášková Echinacea purpurea (fytochemikálie) rozpustená v povrchovo aktívnej látke benzalkóniumchloride. Tento preparát bol roztokom 50 mg/ml (300 mg v 6,0 ml benzalkóniumchloridu, 1 : 375). Kompozícia sa premiešala krúživým pohybom a nechala sa v chladničke štyri hodiny. Kompozícia fytochemikálie a povrchovo aktívnej látky sa odstreďovala pri 10 °C 15 minút pri 3500 otáčkach za minútu a pred použitím sa prefiltrovala, a potom sa zriedila rovnakým objemom 2X MEM, čím sa získal neriedený preparát v 1X MEM.

1. Na skrining týchto troch preparátov sa použili tri dosky. Koncentrácie potrebné na skrining na antivírusovú aktivitu boli 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 a 1 : 16 v 1X MEM. Na každej doske boli štyri kontrolné oddelenia obsahujúce MEM bez liečiva.

2. Rastové médium sa odstránilo z oddelení a pridalo sa 200 μ l HSV-1 ku každému oddeleniu hornej polovice kaž-

dej dosky. HSV-1 sa zriedil 1 : 5000 (2,0 µl dodávaného HSV-1 v 10 ml MEM). Titer vírusu bol 3×10^6 na ml.

3. Dosky sa inkubovali štyri hodiny pri 37 °C.

4. Inokulum sa odstránilo a k týmto štyrom oddeleniam sa pridal jeden ml MEM obsahujúci liečivá č. 1A - 3A.

Tabuľka 4

Koncentrácia	Neriedené	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
Liečivo (µl)	4000	2000	1000	500	250
MEM (µl)	-	2000	3000	3500	3750

5. Výsledky: HSV-1, prekrytie kvapalinou, kompozícia pridaná okamžite po absorpcii vírusu.

Tabuľka 5 - Liečivo č. 1A - Výsledky skúšok s HSV 1

Koncentrácia	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32
plakov 70	toxické	toxické	toxické	toxické	toxické
plakov 68					
plakov 58					
plakov 74					
Priemer 70					IC ₅₀

Poznámky: Tieto oddelenia majú jemnú zrazeninu cez bunky. Pravdepodobne sa benzalkóniumchlorid zráža s proteínmi v médiu.

Tabuľka 6 - Liečivo č. 2A - Výsledky skúšok s HSV 1

Koncentrácia	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32
plakov 72	-	-	9*	12*	
plakov 74	-	-	-	7	8
plakov 79	-	-	-	4	12
plakov 71	-	-	-	7	11
Priemer 70					IC ₅₀ > 1:32

Poznámky: Hoci tu boli nejaké plaky, boli veľmi malé.

Tabuľka 7 - Liečivo č. 3A - Výsledky skúšok s HSV 1

Koncentrácia	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32
plakov 72	toxické	toxické	toxické	toxické	-*
plakov 68					-
plakov 67					-
plakov 70					-
Priemer 70					IC ₅₀ > 1:32

Poznámky: Hoci tu bola nejaká toxicita, toto liečivo bolo veľmi úspešné v inhibovaní vírusu, neobjavili sa nijaké plaky.

Príklady 23 - 27

Štyri dosky s 24 oddeleniami sa naočkovali fibroplastyami.

Skúšobné liečivo č. 1B = Povrchovo aktívna látka benzalkóniumchlorid vo vodnom roztoku. Benzalkóniumchlorid sa pripravil zriedením 1 : 1000 vo vode (10 µl v 10,0 ml sterilnej vody). Tento sa pred použitím prefiltraval a zriedil v rovnakom objeme 2X MEM, čím sa dosiahlo zriedenie 1 : 2000 v 1X MEM. (500 µl liečiva plus 500 µl 2X MEM). Skúšobné liečivo č. 2B = Prášková Echinacea purpurea (fytochemikálie) vo vodnom roztoku. Tento preparát bol roztokom 50 mg/ml (250 mg v 5,0 ml vody) práškovej *Echinacea purpurea* v sterilnej vode. Kompozícia sa premiešala krúživým pohybom a nechala sa v chladničke štyri hodiny. Tento preparát práškovej Echinacey sa odstreďoval pri 10 °C 15 minút pri 3500 otáčkach za minútu a pred použitím sa prefiltraval a potom sa zriedil rovnakým objemom 2X MEM, čím sa získal neriedený preparát v 1X MEM. (500 µl liečiva plus 500 µl 2X MEM).

Skúšobné liečivo č. 3B = Prášková Echinacea purpurea (fytochemikálie) rozpustená v povrchovo aktívnej látke benzalkóniumchloride. Tento preparát bol roztokom 50 mg/ml

(250 mg v 5,0 ml benzalkóniumchloridu, 1 : 1000). Kompozícia sa premiešala krúživým pohybom a nechala sa v chladničke štyri hodiny. Fytochemikálie Echinacey a povrchovo aktívne látky sa odstreďovali pri 10 °C 15 minút pri 3500 otáčkach za minútu a pred použitím sa prefiltrovali, a potom sa zriedili rovnakým objemom 2X MEM, čím sa získal preparát v 1X MEM (500 µl liečiva plus 500 µl 2X MEM.)

Skúšobné liečivo č. 4B = Prášková Echinacea purpurea (fytochemikálie) vo vodnom roztoku (riedidle) a potom zmiešaná s povrchovo aktívnou látkou benzalkóniumchloridom v pomere 1 : 1000. Tento preparát bol roztokom 50 mg/ml (250 mg v 5,0 ml vody) práškovej *Echinacea purpurea* v sterilnej vode. Kompozícia sa premiešala krúživým pohybom a nechala sa v chladničke štyri hodiny. Vodný roztok fytochemikálií sa odstreďoval pri 10 °C 15 minút pri 3500 otáčkach za minútu a pred použitím sa prefiltraval. Tento preparát sa zriedil rovnakým objemom benzalkóniumchloridu v pomere 1 : 1000, čím sa získala kompozícia Echinacea-benzalkóniumchlorid. Táto kompozícia sa zriedila rovnakým objemom 2X MEM, čím sa získal preparát 1 : 4 v 1X MEM (500 µl liečiva č. 1 a 250 µl liečiva č. 2 plus 500 µl 2X MEM).

1. Na skríning týchto štyroch preparátov liečiv sa použili štyri dosky. Koncentrácie potrebné na skríning na antivírusovú aktivitu boli 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80 a 1 : 160 a 1 : 320 v 1X MEM. Na každej doske boli štyri kontrolné oddelenia obsahujúce MEM bez liečiva.

2. Rastové médium sa odstránilo z oddelení a pridalo sa 200 µl HSV-1 ku každému oddeleniu v dvoch horných radoch každej dosky. HSV-1 sa zriedil 1 : 5000 (2,0 µl dodávaného HSV-1 v 10 ml MEM). Titer vírusu bol 3×10^6 na ml. Ku každému oddeleniu dolnej polovice každej dosky sa pridalo tiež 200 µl HSV-2. HSV-2 sa zriedil 1 : 2000 (5,0 µl dodávaného HSV-2 v 10 ml MEM). Titer vírusu bol 6×10^5 na ml.

3. Dosky sa inkubovali štyri hodiny pri 37 °C.

4. Inokulum sa odstránilo a k týmto štyrom oddeleniam sa pridal jeden ml MEM obsahujúci liečivá č. 1-4.

Tabuľka 8

Koncentrácia	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
Liečivo (µl)	400	200	100	50	25
MEM (µl)	3600	3800	3900	3950	3975

5. Výsledky:

HSV-1, prekrytie kvapalinou, liečivá pridané okamžite po absorpcii vírusu.

Tabuľka 9 - Liečivo č. 1B - Výsledky skúšok s HSV 1

Koncentrácia	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
plakov 37	toxické	toxické	toxické	toxické	15?*
plakov 45					18?*
Priemer 41					IC ₅₀

Poznámky: Mierne toxické, skúška sa ťažko vyhodnocovala.

HSV-2, prekrytie kvapalinou, liečivá pridané okamžite po absorpcii vírusu.

Tabuľka 10 - Liečivo č. 1B - Výsledky skúšok s HSV 2

Koncentrácia	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
plakov 38	toxické	toxické	toxické	toxické	21
plakov 42					17
Priemer 40					19
IC ₅₀ > 1 : 320					

Poznámky. Skúška bola príliš toxická, aby sa dala dobre vyhodnotiť.

Tabuľka 11 - Liečivo č. 2B - Výsledky skúšok s HSV 1

Koncentrácia	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
plakov 39	2*	8*	23*	24	44
plakov 40	3	18	11	28	38
Priemer 40	3	13	17	26	IC ₅₀ > 1 : 80

Poznámky: malé plaky.

Tabuľka 12 - Liečivo č. 2B - Výsledky skúšok s HSV 2

Koncentrácia	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
plakov 48	21	33			
plakov 52	22	38			
Priemer 50	21,5	35,5			IC ₅₀ > 1 : 20

Tabuľka 13 - Liečivo č. 3B - Výsledky skúšok s HSV 1

Koncentrácia	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
plakov 44	1*	17	31	37	
plakov 46	-	16	28	27	
Priemer 45	-	-	17	30	32
IC ₅₀ > 1 : 40					

Poznámky: Hoci bola nejaká toxicita, liečivo veľmi úspešné, neobjavili sa nijaké plaky.

Tabuľka 14 - Liečivo č. 3B - Výsledky skúšok s HSV 2

Koncentrácia	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
n niekoľko buniek	11*	27	30	35	
plakov 44	10	32			
Priemer 44	11	29,5			IC ₅₀ > 1 : 20

Poznámky: Ťažká skúška na to, aby sa dala skutočne dobre vyhodnotiť. Liečivo však má úspešnú inhibičnú aktivitu.

Tabuľka 15 - Liečivo č. 4B - Výsledky skúšok s HSV 1

Koncentrácia	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640
plakov 47	toxické	toxické	toxické	33	
plakov 48			28		
Priemer 48			30		IC ₅₀ > 1:320

Poznámky: Príliš toxické pri vyšších hladinách. Nehľadiac na to, aj tak pri 1 : 320 bola inhibičná aktivita.

Tabuľka 16 - Liečivo č. 4B - Výsledky skúšok s HSV 2

Koncentrácia	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
plakov 38	toxické	toxické	toxické	2*	16
plakov 40				4	20
Priemer 39				3	18
IC ₅₀ > 1:640					

Poznámky: Toxicita pravdepodobne spôsobená benzalkóniumchloridom. Liečivo pri zriedení 1 : 320 malo veľmi silnú inhibičnú aktivitu.

Pri skúškach *in vitro* v príkladoch 23 - 27 sa využívali surové materiály, ktoré neboli prečistené. Aj tak skúšky ukázali prekvapujúco dobrú vírusovú inhibičnú aktivitu a pravdepodobne synergiu medzi zložkami.

V predchádzajúcich *in vitro* skúškach, v ktorých liečivá č. 3, 3A a 3B boli extrahované fytochemikálie Echinacea purpurea zmiešané s povrchovo aktívnou látkou benzalkóniumchloridom, výsledný liek preukázal väčšiu antivírusovú aktivitu a najpozoruhodnejšie preukázal synergiu medzi zložkami: Echinaceou purpurea a benzalkóniumchloridom. Možným vysvetlením je zdieľaná stabilita a zvýšená reaktivita medzi týmito dvoma zložkami. Benzalkóniumchlorid v synergetickej zmesi prejavoval nižší stupeň toxicity a synergická kombinácia (liek) prejavovala vyšší stupeň antivírusovej aktivity, zvlášť na HSV-2.

Povrchovo aktívne látky

Kým benzalkóniumchlorid je výhodnou povrchovo aktívnou látkou pre najlepšie výsledky, za určitých okolností môže byť žiaduce použiť iné kvartérne amóniové povrchovo aktívne látky alebo iné povrchovo aktívne látky.

Kvartérnou amóniovou zlúčeninou môže byť dikokodimóniumchlorid, ktorý je tiež známy ako dikokoalkyldimetylchloridy alebo dikokodimetylammóniumchlorid, alebo Di-C8-18alkyldimetylchloridy. Tento sa môže použiť v kombinácii s izopropanolom, ako je 20 - 30 % izopropanolu. Výhodný zdroj kvartérnych zlúčenín zahŕňa: 70 až 80 % kvartérnej amóniovej zlúčeniny a menej ako 0,03 % metylchloridu, má mernú hmotnosť okolo 0,87 pri 46 °C, tlak pár 44 hPa pri 20 °C, počiatočnú teplotu varu 82 °C pri 1013 hPa a prchavosť 20 - 30 % a vyrába sa pod obchodným názvom CarSpray 300 firmou Witco Corporation, Dublin, Ohio, USA. Táto kvartérna zlúčenina môže mať dezinfekčné vlastnosti a slúži ako fungicíd na liečenie plesňových a kvasinkových infekcií.

Aj iné kvartérne amóniové zlúčeniny môžu byť užitočné, ako je zlúčenina vyrábaná pod obchodným názvom Jet Quat 2C-75 firmou Jetco Chemicals, Inc. z Corsicansy, Texas, USA, alebo vyrábaná pod obchodným názvom Car-spray 400 a Carnauba Spray 200 firmou Witco Corporation, Dublin, Ohio, USA, alebo obsahujúca 9 % denaturovaného etylalkoholu, ako je látka predávaná pod obchodným názvom BTC 2125M od Stephan Company, Northfield, Illinois, USA, alebo nasledujúce výrobky MAQUAT zahŕňajúce n-alkyldimetylbenzylammóniumchlorid vyrábaný firmou Mason Chemical Company, Arlington Heights, Illinois, USA, LC-12S (67 % C12, 25 % C14, 7 % C16, 1 % C18), MC 1416 (5 % C12, 60 % C14, 30 % C16, 5 % C18), MC1412 (40 % C12, 50 % C14, 10 % C16), stearylová pasta alebo vložky SC-18 (5 % C16, 95 % C18), TC-76 alebo MQ-2525 (5 % C12, 60 % C14, 30 % C16 a 5 % C18) a MC60 25 - 50 % (25 % C12, 60 % C14 a 15 % C16). Jet Quat 2C-75 obsahuje: 50 - 75 % kvartérneho dikokodimetylammóniumchloridu, 20 - 50 % izopropylalkoholu, má mernú hmotnosť 0,88 a teplotu varu 82 °C. CarSpray 400 obsahuje: 55 - 65 % kvartérnych amóniových zlúčenín, 20 až 30 % aminov, nenasýtené, alkylované a etoxylované C14-18 a C16-18, 10 - 20 % izopropanolu a menej ako 0,03 % metylchloridu a má mernú hmotnosť približne 0,88 pri 24 °C a tlak pár 44 hPa pri 20 °C, počiatočnú teplotu varu 82 °C pri 1013 hPa a prchavosť 10 - 20 %. Carnauba Spray 200 obsahuje: 50 - 60 % kvartérnych amóniových zlúčenín, 10 až 20 % izopropanolu, 15 - 25 % vody, 1 - 10 % alkylovaného karnaubového vosku a menej ako 0,03 % metylchloridu a má mernú hmotnosť okolo 0,90 pri 26,6 °C, tlak pár 44 hPa pri 20 °C a počiatočnú teplotu varu 82 °C pri 1013 hPa a prchavosť 20 - 40 %.

Neiónové povrchovo aktívne látky sú povrchovo aktívne zlúčeniny, ktoré sa neionizujú vo vodných roztokoch. Častokrát majú tieto hydrofilné vlastnosti kvôli prítomnosti kyslíkatých reťazcov v nich (napr. polyoxyetylénový reťazec), pričom lyofilná časť molekuly je odvodená od mastných kyselín, fenolov, alkoholov, amidov alebo aminov. Príkladmi takýchto zlúčenín sú poly(etylénoxid)ové kondenzáty alkylfenolov, napr. kondenzačný produkt vzniknutý z jedného mólu nonylfenolu a desiatich mólov etylénoxidu, a kondenzačné produkty alifatických alkoholov a etylénoxidu, napr. kondenzačný produkt vzniknutý z 1 mólu tri-dekanolu a 12 mólov etylénoxidu.

Neiónové povrchovo aktívne látky môžu zahŕňať fenoletoxylyáty zahŕňajúce kondenzačné produkty etylénoxidu a alkylfenolu alebo alifatického alkoholu. Neiónové povrchové látky výhodne zahŕňajú nonofenoletoxylyát, ako je

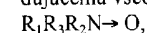
T-DET, a/alebo oktafenoletoxylát. Neiónové povrchovo aktívne látky sú reakčnými produktami etylénoxidu a n-nolfenolu a/alebo oktafenolu. Pomer fenolu k etylénoxidu môže byť v rozsahu od 2 : 20 do 4 : 16 a výhodne je okolo 8 : 12.

Neiónové syntetické povrchovo aktívne látky môžu zahŕňať neiónové detergenty. Neiónové syntetické povrchovo aktívne látky môžu tiež vznikáť kondenzáciou etylénoxidu s hydrofóbnou zásadou vznikajúcou kondenzáciou polypropylénoxidu s propylénglykolom. Hydrofóbná časť molekuly, ktorá pochopiteľne vykazuje nerozpustnosť vo vode, má molekulovú hmotnosť od asi 1200 do 2500. Prídavok polyoxyetylénových radikálov k tejto hydrofóbnej časti vedie k zvýšeniu vodorozpustnosti molekuly ako celku a kvapalný charakter produktu sa môže udržať až do bodu, v ktorom obsah polyoxyetylénu je asi 50 % celkovej hmotnosti kondenzačného produktu. Iné neiónové syntetické povrchovo aktívne látky môžu zahŕňať: polyetylénoxidové kondenzáty alkylfenolov, napr. kondenzačné produkty alkylfenolov alebo dialkylfenolov, v ktorých alkylová skupina obsahuje od asi 6 do 12 atómov uhlíka buď v priamom reťazci, alebo v usporiadaní rozvetveného reťazca, s etylénoxidom. Etylénoxid môže byť prítomný v množstvách rovných 8 až 28 mólov etylénoxidu na mól alkylfenolu. Alkylový substituent v takýchto zlúčeninách môže byť odvodený od polymerizovaného propylénu, diizobutylénu, n-oktenu alebo n-nonénu.

Neiónové povrchovo aktívne látky sa môžu tiež pripraviť kondenzáciou etylénoxidu s reakčným produktom propylénoxidu a etyléndiamínu, napr. zlúčenín obsahujúcich od asi 40 hmotnostných % do asi 80 hmotnostných % polyoxyetylénu a majúcich molekulovú hmotnosť od asi 5000 do asi 11000, získaných reakciou etylénoxidových skupín s hydrofóbnou zásadou predstavujúcou reakčný produkt etyléndiamínu a prebytku propylénoxidu; zásada pritom má molekulovú hmotnosť poriadku 2500 až 3000.

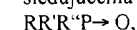
Iné neiónové povrchovo aktívne látky zahŕňajú kondenzačný produkt alifatických alkoholov, ktorý má 8 až 18 atómov uhlíka, buď v priamom reťazci, alebo v usporiadaní rozvetveného reťazca, s etylénoxidom, napr. kondenzát kokosového alkoholu a etylénoxidu, ktorý má 10 až 30 mólov etylénoxidu na mól kokosového alkoholu a frakcia kokosového alkoholu má od 10 do 14 atómov uhlíka.

Ďalšie neiónové povrchovo aktívne látky zahŕňajú terciárne aminoxidy s dlhým reťazcom zodpovedajúce nasledujúcemu všeobecnému vzorcu:



kde R_1 je alkylový radikál s asi 8 až 18 atómami uhlíka a každé z R_2 a R_3 je metylový alebo etylový radikál. Šípka vo vzorci je konvenčnou reprezentáciou semipolárnej väzby. K príkladom aminoxidov vhodných na použitie patria: dimetyldodecylaminoxid, dimetyloktylaminoxid, dimetyldodecylaminoxid, dimetyltetradecylaminoxid a dimetylhexadecylaminoxid.

K iným neiónovým povrchovo aktívnym látkam patria: terciárne fosfinoxidy s dlhým reťazcom zodpovedajúce nasledujúcemu všeobecnému vzorcu:



v ktorom R je alkylový, alkenylový alebo monohydroxyalkylový radikál majúci 10 až 18 atómov uhlíka v dĺžke reťazca a každé z R' a R'' je alkylová alebo monohydroxyalkylová skupina obsahujúca 1 až 3 atómy uhlíka. Šípka vo vzorci je konvenčnou reprezentáciou semipolárnej väzby. Príkladmi vhodných fosfinoxidov sú: dimetyldodecylfosfinoxid, dimetyltetradecylfosfinoxid, etylmetyltetradecylfosfinoxid, cetyldimetylfosfinoxid, dimetylstearylfosfinoxid, cetyletylpropylfosfinoxid, dietyldodecylfosfinoxid, dietyl-

tetradecylfosfinoxid, dipropyldodecylfosfinoxid, bis-(2-hydroxymetyl)dodecylfosfinoxid, bis-(2-hydroxyetyl)dodecylfosfinoxid, (2-hydroxypropyl) metyltetradecylfosfinoxid, dimetylolelyfosfinoxid a dimetyl-(2-hydroxydodecyl)-fosfinoxid.

Za niektorých okolností môže byť užitočné použiť iné povrchovo aktívne látky, ako sú: iná kationová povrchovo aktívna látka, amfolytická povrchovo aktívna látka alebo zwitteriónová povrchovo aktívna látka.

Kationové povrchovo aktívne látky môžu zahŕňať kationové detergenty. Kationové povrchovo aktívne látky zahŕňajú zlúčeniny, ktoré sa ionizujú vo vodnom prostredí za vzniku kationov obsahujúcich lyofilickú skupinu. Typickými takýmito zlúčeninami sú kvartérne amóniové soli, ktoré obsahujú alkylovú skupinu s asi 12 až 18 atómami uhlíka, ako je laurylbenzyltrimetylamóniumchlorid.

Amfolytickými povrchovo aktívnymi látkami sú zlúčeniny, ktoré majú aniónové aj kationové skupiny v tej istej molekule. Príkladmi takýchto zlúčenín sú deriváty alifatických aminov, ktoré obsahujú dlhý reťazec s asi 8 až asi 18 atómami uhlíka a aniónovú skupinu rozpustnú vo vode, napr. karboxysulfo, sulfo alebo sulfátovú skupinu. Príkladmi amfolytických detergentov sú: 3-dodecylaminopropánsulfonát sodný, N-metyltaurát sodný a príbuzné látky, ako sú vyššie alkyldisubstituované aminokyseliny, betaíny, tetíny, sulfátované olefinické aminy s dlhým reťazcom a sulfátované deriváty imidazolínu.

Zwitteriónové povrchovo aktívne látky môžu zahŕňať syntetické detergenty. Zwitteriónové povrchovo aktívne látky sú vo všeobecnosti derivátmi alifatických kvartérnych amóniových zlúčenín, v ktorých alifatický radikál môže byť priamy alebo rozvetvený reťazec a v ktorých jeden z alifatických substituentov obsahuje od asi 8 do 18 atómov uhlíka a jeden obsahuje aniónovú skupinu rozpustnú vo vode, napr. karboxy, sulfo alebo sulfátovú skupinu. Príkladmi zlúčenín, na ktoré sa vzťahuje táto definícia, sú: 3-(N,N-dimetyl-N-hexadecylamónio)propán-1-sulfonát a 3-(N,N-dimetyl-N-hexadecylamónio)-2-hydroxypropán-1-sulfonát.

Liečba

Výhodné liečebné ošetrenie zahŕňa metódu na liečenie vírusu herpes alebo iných infekčných ochorení odstránením fyzikálnych príznakov infekčného vzplanutia vírusu herpes simplex 1 alebo 2 (HSV 1 alebo HSV 2) alebo iných infekčných mikrobiálnych ochorení v rozmedzí 1 - 30 hodín. Toto sa dosiahne povrchovou aplikáciou opísanej antimikrobiálnej kompozície (lieku) na plochu infikovanú vírusom herpes simplex alebo iným infekčným mikrobiálnym ochorením, a udržovaním antimikrobiálnej kompozície na infikovanej ploche počas 1 - 30 hodín, výhodne aspoň 10 hodín. Antimikrobiálna kompozícia (liek) sa môže aplikovať už opísaným spôsobom a najvýhodnejšie pokrýva infikovanú plochu. Je žiaduce opláchnuť (umyť) a vysušiť infikovanú plochu, aby sa odstránilo mydlo alebo zvyšky na infikovanej ploche pred aplikáciou antimikrobiálnej kompozície (lieku). Pľuzgierovitá vyrážka vírusu herpes výhodne vymizne za 19 - 24 hodín a lézie herpesu sa vyliečia udržovaním opísaného najvýhodnejšieho lieku na infekcii počas 19 - 24 hodín.

Medzi množstvo výhod liečebného ošetrenia a lieku (kompozície) podľa tohto vynálezu patria:

1. Mimoriadne výsledky pri odstránení bolesti pri vírusových infekciách herpes simplex a iných mikrobiálnych infekciách.

2. Vynikajúca účinnosť pri rýchlom potlačaní vzplanutí vírusu herpes simplex a iných mikrobiálnych ochorení.

3. Potenciálne zachraňuje životy novorodencov a zvierat.
4. Znižuje riziko oslepnutia u novorodencov.
5. Znižuje celosvetovo ekonomické straty spôsobené herpesom a inými mikrobiálnymi ochoreniami.
6. Odstraňuje vážnu emocionálnu a duševnú úzkosť ľudí trpiacich herpesom.
7. Ľahko dostupné materiály (prísady).
8. Ľacný.
9. Bezpečný.
10. Jednoducho použiteľný.
11. Spoľahlivý.
12. Účinný.

Hoci sa ukázali a opísali praktické uskutočnenia vynálezu, je tomu treba rozumieť tak, že rozličné modifikácie a nahradenia, ako aj preskupenia častí, zložiek a krokov procesu, metód a liečby môže urobiť osoba kvalifikovaná v odbore bez toho, aby sa odchyľila od podstaty a rozsahu tohto vynálezu.

t. j. kyselinu 2,3-O-dikafeoylvínnu; borneol; bornylacetát; pentadeca8(Z)-én-2-ón; germakrén D; karyofylén; karyofylénepoxid; antokyanín, pyrolizidínový alkaloid, lipofilický amid; izobutylamid; polyacetylén; antokyanín; 3-O- β -D-glukopyranozid; 3-O-(6-O-malonyl- β -D-glukopyranozid); tusilagín; izotusilagín; izomérny dodekaizobutylamid; kyselinu tetraénovú; alebo karyofylény.

5. Kompozícia podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov na použitie ako liečivo.

6. Použitie kompozície podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov na prípravu liečiva na liečenie ochorenia vyvolaného vírusom herpes simplex 1, vírusom herpes simplex 2, vírusom *Varicella zoster*, t. j. pásový opar, cytomegalovírusom, vírusom ľudskej imunitnej nedostatočnosti - HIV alebo vírusom Epstein-Barrovej.

Koniec dokumentu

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Kompozícia zahŕňajúca od 2 % do 90 % fytochemického koncentrátu druhu *Echinacea purpurea* a od 0,005 % do 0,8 % benzalkónium chloridu, **v y z n a č u j ú c a s a t ý m**, že fytochemický koncentrát obsahuje fytochemikálie obsahujúce v hmotnostných percentách vzťahnutých na celkovú hmotnosť kompozície:

- od 0,3 % do 9 % echinakozidu;
- od 0,1 % do 7 % PS I, t. j. 4-O-metylglukuróarabinoxylánu, $M_r = 35$ kD;
- od 0,1 % do 10 % cynarínu, t. j. kyseliny 1,5-di-O-kafeoylchinovej a kyseliny čakankovej, t. j. kyseliny 2,3-O-dikafeoylvínnej a ich derivátov;
- od 0,2 % do 4 % echinolónu;
- od 0,2 % do 8 % echinacínu B;
- od 0,1 % do 6 % echinaceínu;
- od 2 % do 7 % antokyanínov zahŕňajúcich kyanidín 3-O- β -D-glukopyranozid a 3-O-(6-O-malonyl)- β -D-glukopyranozid;
- od 0,01 % do 0,06 % pyrolizidínových alkaloidov zahŕňajúcich tusilagín a izotusilagín;
- od 0,003 % do 0,009 % izomérnych dodekaizobutylamidov a kyseliny tetraénovej; a
- od 0,01 % do 2 % karyofylénov.

2. Kompozícia podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c a s a t ý m**, že riedidlom a nosičom pre kompozíciu je voda.

3. Kompozícia podľa nároku 1 alebo 2, **v y z n a č u j ú c a s a t ý m**, že kompozícia obsahuje v hmotnostných percentách:

- od 40 % do 60 % fytochemického koncentrátu druhu *Echinacea purpurea*;
- od 0,02 % do 0,30 % benzalkónium chloridu;

a

od 20 % do 60 % sterilnej vody.

4. Kompozícia podľa nároku 1, 2 alebo 3, **v y z n a č u j ú c a s a t ý m**, že fytochemický koncentrát obsahuje fytochemikálie vybraté zo skupiny obsahujúcej: echinacén; echinacén B; echinacén; echinakozid; ester kyseliny kávovej; echinolón; enzýmy; kyselinu glukurónovú; inulín; inuloid; pentadekadién; polyacetylénové zlúčeniny; polysacharidy; arabinogalaktán; ramnózu; taníny; PS I, t. j. 4-O-metylglukuróarabinoxylán, $M_r = 35$ kD; PS II, t. j. kyselinu ramnoarabinogalaktánovú, $M_r = 450$ kD; cynarín, t. j. kyselinu 1,5-di-O-kafeoylchinovú; kyselinu čakankovú,