



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0007950

(43) 공개일자 2016년01월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/05 (2006.01) A61K 31/015 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0086822

(22) 출원일자 2014년07월10일

심사청구일자 2014년07월10일

(71) 출원인

계명대학교 산학협력단

대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)

전북대학교 산학협력단

전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 (덕진동1가)

(72) 발명자

서영호

대구 수성구 청수로 257, 1304동 1002호 (황금동, 캐슬골드파크3단지)

김원일

전북 전주시 덕진구 호성로 170, 308동 403호 (호성동2가, 진흥더블파크3단지아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 6 항

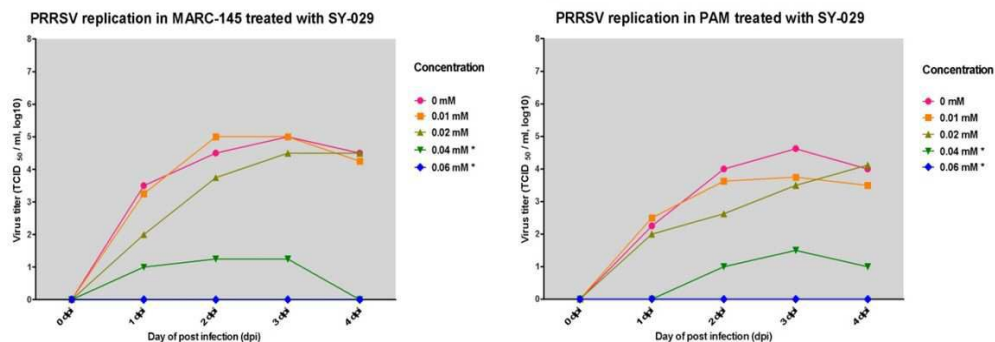
(54) 발명의 명칭 SY-029를 유효성분으로 함유하는 항바이러스 조성물

(57) 요약

본 발명은 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유한 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 상기 조성물은 돼지 호흡기 생식기 증후군 바이러스와 같이 질병을 유발시키는 바이러스의 증식 및 감염을 억제함으로써, 바이러스에 의한 질병을 효과적으로 예방할 수 있다. 또한 본 발명의 SY-029는 다른 정상 세포에 세포독성이 없는 생체에 안전한 화합물임이 확인됨에 따라, 본 발명의 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유한 항바이러스 조성물은 바이러스 감염에 의한 질환을 치료하거나 예방할 수 있는 의약품이나 건강식품 또는 사료 첨가제로 유용하게 사용할 수 있다.

대표도 - 도1

Antiviral assay



(72) 발명자

김범석

전북 전주시 덕진구 호성로 170, 305동 1104호 (호성동2가, 진흥터블파크3단지아파트)

조호성

전북 전주시 완산구 전릉로 128-5, 102동 703호 (서신동, 롯데아파트)

이상명

전북 익산시 약촌로 202, 104동 611호 (영등동, 신일아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 313005

부처명 농림축산식품부

연구관리전문기관 농림수산기술기획평가원

연구사업명 생명산업기술개발사업

연구과제명 돼지생식기호흡기증후군(PRRS) 청정화를 위한 양돈장 질병 발생 위험도 제어 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 전북대학교 산학협력단

연구기간 2013.08.26 ~ 2016.08.25

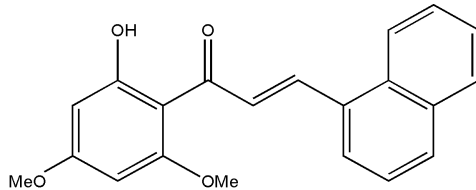
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스 조성물.

[화학식 1]



청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 바이러스는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스, 돼지 유행성설사(Porcine Epidemic Diarrhea; PED)바이러스, 돼지전염성위장염(Transmissible Gastroenteritis; TGE)바이러스, 돼지 쉰코바이러스 2형(Porcine circovirus type 2; PCV2)바이러스, 소바이러스설사(Bovine Viral Diarrhea; BVD)바이러스, 다양한 축종의 로타바이러스(Rotavirus), 코로나바이러스(Coronavirus), 파보바이러스(Parvovirus), 칼리시바이러스(Calicivirus), 인플루엔자바이러스(Influenzavirus), 플라비바이러스(Flavivirus), 피코르나바이러스(Picornavirus), 페스티바이러스(Pestivirus), 램도바이러스(Rhabdovirus), 버나바이러스(Birnavirus), 레트로바이러스(Retrovirus) 및 헤르페스 바이러스(Herpesvirus)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 항바이러스 조성물.

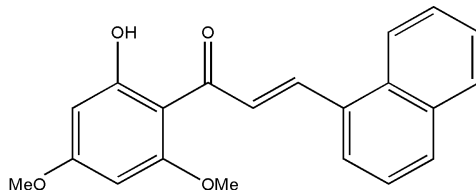
청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 조성물은 약학조성물 또는 건강식품조성물에서 선택되는 것을 특징으로 하는 항바이러스 조성물.

청구항 4

하기 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 사료 첨가제.

[화학식 1]



청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 사료 첨가제는 돼지, 소, 닭, 염소, 양, 말, 어류, 개 및 고양이로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 사료 첨가제.

청구항 6

청구항 4에 있어서, 상기 사료 첨가제는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스, 돼지 유행성설사(Porcine Epidemic Diarrhea; PED)바이러스, 돼지전염성위장염

(Transmissible Gastroenteritis; TGE)바이러스, 돼지 쉰코바이러스 2형(Porcine circovirus type 2; PCV2)바이러스, 소바이러스설사(Bovine Viral Diarrhea; BVD)바이러스, 다양한 종류의 로타바이러스(Rotavirus), 코로나바이러스(Coronavirus), 파보바이러스(Parvovirus), 칼리시바이러스(Calicivirus), 인플루엔자바이러스(Influenzavirus), 플라비바이러스(Flavivirus), 피코르나바이러스(Picornavirus), 페스티바이러스(Pestivirus), 램도바이러스(Rhabdovirus), 버나바이러스(Birnavirus), 레트로바이러스(Retrovirus) 및 헤르페스바이러스(Herpesvirus)로 이루어진 군에서 선택된 바이러스 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 사료 첨가제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 바이러스(virus)란 라틴어로 독성물질을 의미하며, 세균여과지(0.22 μ m)를 통과하는 일군의 감염형 병원성 입자를 의미한다. 바이러스는 숙주세포의 종류에 따라 박테리오파지, 식물 바이러스, 동물 바이러스로 분류하기도 하며, 핵산의 종류에 따라 DNA 바이러스, RNA 바이러스로 분류할 수 있다. 최근 신종플루, AI 및 구제역 등 다양한 바이러스 질병이 사회적으로 큰 문제를 일으켰으며, 이에 따라 바이러스 질병의 효과적인 대책에 대한 고민이 사회적으로 큰 관심을 불러일으키고 있다.

[0003] 돼지 호흡기 생식기 증후군은 PRRS 바이러스(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS)에 의한 질병으로 자돈이나 육성돈이 PRRS 바이러스에 감염되면 기침, 호흡곤란, 폐렴 등 호흡기 증상을 보이며, 모돈의 경우 임신말기에 유산 및 조산을 나타내거나 허약자돈을 분만하며, 수컷의 경우 정액성상의 이상을 일으키는 등의 번식장애와 호흡기 증상으로 인한 성장부진을 나타내는 질병이다.

[0004] PRRS 바이러스(PRRSV)는 크게 미국형과 유럽형으로 나뉘지며, 1987년 미국에서 첫 발생이 보고된 이후 캐나다, 독일, 네덜란드, 벨기에, 스페인, 영국, 일본, 대만 및 한국 등 많은 국가에서 발생이 보고되고 있다. 우리나라의 경우 1992년부터 이 질병에 대한 연구를 시작하여 진단법을 확립하고, 국내 양돈에 대한 역학조사를 실시하여 국내에도 유입을 확인한 이후로 현재까지 양돈업에 막대한 피해를 입히고 있다. 이러한 막대한 경제적 피해에도 불구하고, 현재까지 돼지 생식기 호흡기 증후군에 대한 바이러스 질병을 효과적으로 치료하는 방법이 전무한 상태이다.

[0005] 또한 기존의 항바이러스 제제의 단점을 극복하여 독성 및 부작용이 거의 없이 우수한 항바이러스 활성을 발휘할 수 있는 조성물에 대한 요구가 여전히 존재하는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2012-0106869호

발명의 내용

해결하려는 과제

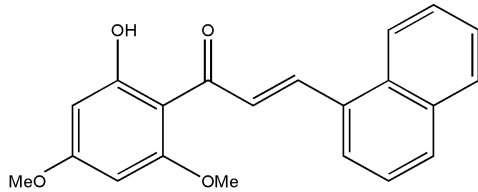
[0007] 본 발명은 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공하여, 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스와 같이 질병을 유발시키는 바이러스의 감염 및 증식을 억제할 수 있는 항바이러스 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을

유효성분으로 함유하는 항바이러스 조성물을 제공한다.

[화학식 1]



또한 본 발명은 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 사료첨가제를 제공한다.

발명의 효과

본 발명에 따른 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염은 돼지 호흡기 생식기 증후군 바이러스와 같이 질병을 유발시키는 바이러스의 증식 및 감염을 억제함으로써, 바이러스에 의한 질병을 효과적으로 예방할 수 있다. 또한 본 발명의 SY-029는 다른 정상 세포에 세포독성이 없는 생체에 안전한 화합물임이 확인됨에 따라, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유한 조성물을 바이러스 감염에 의한 질환을 치료하거나 예방할 수 있는 의약품 또는 건강식품 조성물이나, 가축 사료 첨가제로 유용하게 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 복미형 PRRSV의 표준주인 VR2332가 감염된 MARC-145 또는 PAM 세포에 0, 0.01, 0.02, 0.04 또는 0.06 mM 농도의 SY-029를 투여하고 24시간 마다 VR2332 증식억제 효과를 확인한 그래프이다.

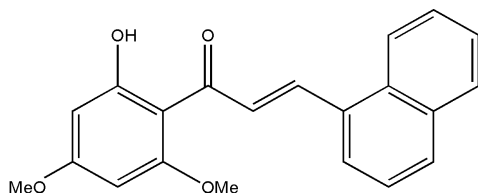
도 2는 MARC-145 또는 PAM 세포에서 0, 0.01, 0.02, 0.04 또는 0.06 mM 농도의 SY-029 투여에 따른 세포독성을 확인한 결과이다.

도 3은 VR2332가 접종된 돼지 동물 모델과 비 접종된 돼지 동물 모델에 각각 0, 40, 200 또는 400 μ g/kg 농도의 SY-029를 처리하고 바이러스 혈중 농도를 확인한 결과이며, *는 VR2332를 접종한 돼지를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 항바이러스 조성물을 제공한다.

[화학식 1]



본 발명의 일실시예에 따르면, 복미형 PRRSV의 표준주인 VR2332가 접종된 MARC-145 및 PAM 세포를 화학식 1로 표시되는 SY-029가 0.04 mM 농도로 포함된 배지에서 배양시킨 결과, 도 1과 같이 MARC-145 및 PAM 세포에 PRRSV의 증식이 유의성 있게 감소하였으며, 0.06 mM 농도의 SY-029 화합물이 포함된 배지에서 배양된 MARC-145 및 PAM 세포에서는 PRRSV의 증식이 완전히 억제된 것을 확인할 수 있었다.

또 다른 일실시예에 따르면, 돼지 동물 모델에 SY-029를 접종한 실험군과 비접종 대조군에 PRRSV의 표준주인 VR2332를 주사하고 1주일간 혈중 바이러스 농도를 관찰한 결과 도 3과 같이, 비접종 대조군보다 SY-029를 접종한 실험군의 혈중 바이러스 농도가 약 5 내지 10배 낮게 나타났으며, SY-029에 의한 바이러스 감염 억제가 확인 되었으며, 상기 결과들로부터 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물이 항바이러스 효과를 나타내는 것이 확인 되었다.

- [0019] 상기 바이러스는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스, 돼지 유행성설사(Porcine Epidemic Diarrhea; PED) 바이러스, 돼지전염성위장염(Transmissible Gastroenteritis; TGE) 바이러스, 돼지 쉰코바이러스 2형(Porcine circovirus type 2; PCV2), 소바이러스설사(Bovine Viral Diarrhea; BVD) 바이러스, 다양한 축종의 로타바이러스(Rotavirus), 코로나바이러스(Coronavirus), 파보바이러스(Parvovirus), 칼리시바이러스(Calicivirus), 인플루엔자바이러스(Influenzavirus), 플라비바이러스(Flavivirus), 피코르나바이러스(Picornavirus), 페스티바이러스(Pestivirus), 램도바이러스(Rhabdovirus), 버나바이러스(Birnavirus), 레트로바이러스(Retrovirus) 및 허피스바이러스(Herpessvirus)로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.
- [0020] 보다 바람직하게는 상기 바이러스는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스일 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [0021] 상기 약제학적으로 허용가능한 염으로는 약제학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 아황산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 말레인산, 푸마르산, 글루코산, 메탄설폰산, 아세트산, 글리콘산, 석신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 시트르산, 아스파르탄산 등을 사용할 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명의 화학식 1로 표시되는 SY-029는 약제학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.
- [0023] 본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 화합물을 수산화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹이고 과량의 유기산을 가하거나 무기산의 산수용액을 가한 후 침전시키거나 결정화시켜서 제조할 수 있다. 이어서 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시켜서 부가염을 얻거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.
- [0024] 또한 상기 조성물은 약학조성물 또는 건강식품조성물에서 선택될 수 있다.
- [0025] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 약학조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 사용하는 적절한 담체, 부형제, 봉해제, 감미제, 피복제, 팽창제, 율활제, 활택제, 향미제, 향산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 율활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0026] 구체적으로 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 사용할 수 있으며, 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 율활제들도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제에는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 있으며 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수용성제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수용성제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0027] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 약학조성물은 통상적인 방법에 따라 과립제, 산제, 피복정, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 젤, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 액제로 제형화하여 사용할 수 있다.
- [0028] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 약학조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 대상체로 투여할 수 있다.
- [0029] 상기 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 바람직한 투여량은 대상체의 상태 및 체중, 질환의 종류 및 정도, 약물 형태, 투여경로 및 기간에 따라 달라질 수 있으며 당업자에 의해 적절하게

선택될 수 있다. 본 발명의 일실시예에 따르면 이에 제한되는 것은 아니지만 1일 투여량이 0.01 내지 200 mg/kg, 구체적으로는 0.1 내지 200 mg/kg, 보다 구체적으로는 0.1 내지 100 mg/kg 일 수 있다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고 수회로 나누어 투여할 수도 있으며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

[0030] 본 발명에 있어서, 상기 대상체는 인간을 포함하는 포유동물일 수 있으나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 건강식품은, 전체 건강식품 100 중량부에 대하여 화학식 1로 표시되는 SY-029를 0.01 내지 90 중량부, 0.1 내지 90 중량부, 1 내지 90 중량부, 또는 10 내지 90 중량부로 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0032] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 건강식품은 유기산, 인산염, 항산화제, 유당 카제인, 텍스트린, 포도당, 설탕 및 솔비톨로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 유기산은 이에 제한되는 것은 아니지만 구연산, 후말산, 아디픽산, 젖산 또는 사과산일 수 있으며, 인산염은 이에 제한되는 것은 아니지만 인산나트륨, 인산칼륨, 산성피로인산염 또는 폴리인산염(중합인산염)일 수 있으며, 항산화제는 이에 제한되는 것은 아니지만 폴리페놀, 카테킨, 알파-토코페롤, 로즈마리 추출물, 감초 추출물, 키토산, 탄닌산 또는 피틴산 등의 천연 항산화제일 수 있다.

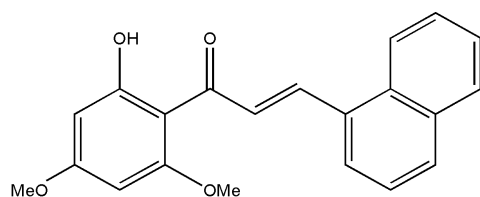
[0033] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 건강식품은 상기 유효성분 이외에도 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 또한 본 발명의 일실시예에 따른 식품 조성물은 천연 과일 주스, 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0034] 본 발명의 일실시예에 따르면, 건강식품의 제형은 이에 제한되는 것은 아니지만 고형, 분말, 과립, 정제, 캡슐, 액상 또는 음료 형태일 수 있다.

[0035] 또한 상기 건강식품은 이에 제한되는 것은 아니지만 과자류, 당류, 아이스크림 제품류, 유가공품, 식육제품, 어육제품, 두부류 또는 목류, 식용유지류, 면류, 다류, 음료류, 특수영양식품, 건강보조식품, 조미식품, 얼음, 인삼제품류, 김치절임식품, 건포류, 과일, 야채, 과일 또는 야채의 건조제품, 절단제품, 과일주스, 야채주스, 이들의 혼합주스, 칩류, 면류, 축산가공식품, 수산가공식품, 유가공식품, 발효유식품, 두류식품, 곡류식품, 미생물발효식품, 제과제빵, 양념류, 육가공류, 산성음료수, 감초류, 허브류 등의 식품의 제조에 사용될 수 있다.

[0036] 또한 본 발명은 화학식 1로 표시되는 SY-029 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 사료 첨가제를 제공한다.

[0037] [화학식 1]



[0038]

[0039] 상기 사료 첨가제는 돼지, 소, 닭, 염소, 양, 말, 어류, 개 및 고양이로 이루어진 군에서 선택될 수 있다. 보다 바람직하게는 돼지일 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

[0040] 상기 사료 첨가제는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스, 돼지 유행성설사(Porcine Epidemic Diarrhea; PED) 바이러스, 돼지전염성위장염(Transmissible Gastroenteritis; TGE) 바이러스, 돼지 쉼코바이러스 2형(Porcine circovirus type 2; PCV2), 소바이러스설사(Bovine Viral Diarrhea; BVD) 바이러스, 다양한 축종의 로타바이러스(Rotavirus), 코로나바이러스(Coronavirus), 파보바이러스(Parvovirus), 칼리시바이러스(Calicivirus), 인플루엔자바이러스(Influenzavirus), 플라비바이러스(Flavivirus), 피코르나바이러스(Picornavirus), 페스티바이러스(Pestivirus), 램도바이러스(Rhabdovirus), 버나바이러스(Birnavirus), 레트로바이러스(Retrovirus) 및 헤르페스바이러스(Herpesvirus)로 이루어진 군에서 선택된 바이러스 활성을 억제할 수 있다.

[0041] 보다 상세하게는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스일

수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

[0042]

이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0043]

<합성예 1> SY-029 합성 과정

[0044]

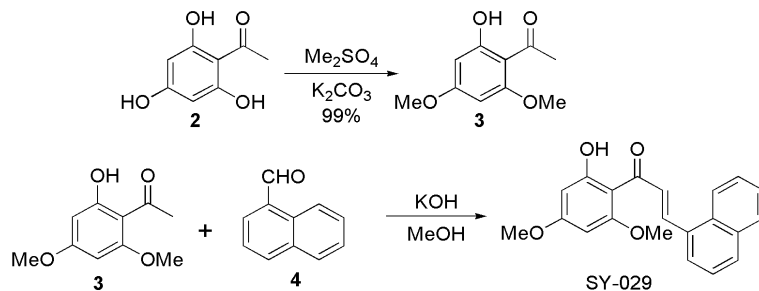
모든 반응은 아르곤 하에서 수행되었으며, 모든 화학물질은 구매 후 추가 정제 없이 사용하였다. 얇은 층 크로마토그래피(Thin layer chromatography; 이하 TLC)는 Merck silica gel 60 F₂₅₄ 플레이트를 이용하여 수행하였으며, TLC 플레이트는 UV, *p*-아니스알데하이드(*p*-anisaldehyde), 세륨 암모늄 몰리브덴산염(ceric ammonium molybdate), 닐하이드린(ninhydrin) 및 과망간산칼륨(potassium permanganate) 염색의 조합을 통하여 시각화하였다.

[0045]

하기 반응식 1과 같은 방법으로 SY-029 [(E)-1-(2-하이드록시-4,6-디메톡시페닐)-3-나프탈렌-1-일)프로프-2-엔-1-온]((E)-1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-3-(naphthalen-1-yl)prop-2-en-1-one)]를 합성하였다.

[0046]

[반응식 1]



[0047]

[0048]

2,4,6-트리하이드록시아세토펜(2)과 디메틸 설페이트를 포타슘 카보네이트를 아세톤에 녹인 후 반응시켜 2-하이드록시-4,6-디메톡시아세토펜(3)을 합성하였다.

[0049]

화합물 3(0.2 g, 1.02 mmol), 1-나프탈알데하이드(0.14mL, 1.02 mmol)와 포타슘 하이드록사이드(1.0 g)을 메탄올 20 mL에 녹인 혼합물을 50℃에서 24시간 동안 교반시켰다. 그 혼합물에 6N HCl을 첨가하여 pH 6으로 중화시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출된 유기층을 포화된 NaHCO₃ 용액으로 3번 반복하여 세척하고 Na₂SO₄로 건조시킨 후 감압 농축하였다.

[0050]

상기 최종 산물을 실리카 컬럼(Biotage SNAP HP-Sil)을 이용한 MPLC(Biotage Isolera One instrument)로 정제하여 노란색 고체 상태의 화합물 SY-029를 32% 수득하였다. 합성된 SY-029 화합물의 NMR 스펙트라(spectra)를 Bruker 400 (400 MHz for ¹H; 100 MHz for ¹³C) 분광기를 이용하여 측정하였다. R_f = 0.27 (1:9 에틸아세테이트:헥산).

[0051]

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 14.40 (s, 1H), 8.61 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 8.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 7.90-7.87 (m, 2H), 7.83 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.60-7.49 (m, 3H), 6.13 (d, *J* = 2.0, 1H), 5.96 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.82 (s, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 192.8, 168.7, 166.6, 162.8, 139.3, 134.0, 133.2, 132.0, 130.6, 130.4, 129.0, 127.0, 126.4, 125.7, 125.4, 123.9, 106.6, 94.1, 91.5, 57.4, 56.1. ESI MS (*m/e*) = 335 [M+1]⁺.

[0052]

하기의 참조예는 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는 참조예를 제공하기 위한 것이다.

[0053]

<참조예 1> 물질 준비

[0054] 합성에 1과 같은 방법으로 합성된 SY-029 화합물을 RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 배지를 이용하여 필요한 농도로 준비하였고 0.22 필터(filter)를 사용하여 멸균한 후 소분하여 -20℃에 보관하였다.

[0055] 또한 모든 실험에 사용된 SY-029 화합물의 순도는 95% 이상이었다.

[0056] <참조예 2> 세포 및 바이러스 배양

[0057] 복미형 PRRSV의 표준주인 VR2332를 (American Type Culture Collection: ATCC)구입하여 사용하였으며, 당 실험실에서 유지중인 PRRS 바이러스의 감수성 주화세포주인 MARC-145와 돼지폐포대식세포(Porcine Alevolar Macrophage, 이하 PAM)를 PRRSV에 대한 SY-029의 항바이러스 효과 평가에 사용하였다.

[0058] 각각의 세포는 10 % 태아소혈청(FBS, Gibco, Invitrogen), 2 mM L-글루타민, 100 IU/ml 페니실린, 100 µg/ml 스트렙토마이신 및 0.25 µg/ml 암포테리신 B (Gibco, Invitrogen corporation)가 포함된 RPMI-1640 배지에서 배양되었다.

[0059] <실시예 1> in vitro 에서 PRRS 바이러스에 대한 SY-029의 항바이러스 효과 확인

[0060] 1. 세포를 이용한 항바이러스 효과 확인

[0061] 25cm² 플라스크에 배양한 MARC-145 또는 PAM에 10² TCID₅₀/100 µl로 준비된 VR2332를 접종하고 1시간 동안 배양한 후 접종액을 버리고 각각 0, 0.1, 0.02, 0.04 및 0.06 mM 농도의 SY-029 화합물이 포함된 RPMI 배양배지로 교체하여 4일간 배양하였다.

[0062] 배양기간 동안 24시간 마다 배양 상층액을 수거하여 바이러스 역가를 Karber 방법을 이용하여 TCID₅₀로 측정하였다.

[0063] 그 결과 도 1과 같이, VR2332 접종 후 0.04 mM 농도의 SY-029가 포함된 배지에서 배양된 MARC-145 및 PAM 세포에서 PRRSV의 증식이 유의성 있게 감소하였으며, 0.06 mM 농도의 SY-029 화합물이 포함된 배지에서 배양된 MARC-145 및 PAM 세포에서는 PRRSV의 증식이 완전히 억제되었다.

[0064] 2. 세포 독성 확인

[0065] 상기 결과와 같이 PRRSV의 증식 억제가 SY-029 화합물에 의한 세포 독성 때문인지를 확인하기 위해, SY-029 화합물의 세포 독성을 확인하였다.

[0066] 세포 독성 평가를 위해, 0 내지 0.06 mM 농도의 SY-029 화합물이 포함된 배지에 MARC-145 또는 PAM 세포를 접종하여 24시간 동안 배양한 후 cytotoxicity assay kit (Cytotox-Glo™, Promega)를 이용하여 제조사의 설명서에 따라 세포독성을 측정하였다.

[0067] 그 결과 도 2와 같이 SY-029 화합물이 포함되지 않은 배지에서 배양된 세포와 비교하여 SY-029 화합물에 의해 유의한 세포 독성이 나타나지 않았다.

[0068] 상기 결과들로부터 SY-029는 정상세포에는 세포 독성을 나타내지 않으면서, PRRS 바이러스의 증식을 억제시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0069] <실시예 2> in vivo 에서 PRRS 바이러스에 대한 SY-029의 바이러스 감염 억제 효과 확인

[0070] PRRSV 음성인 4주령 돼지 12마리(전북 정읍시 소재 도원농장)를 구입한 후 4그룹으로 나누어 사육한 뒤 생리식염수에 SY-029 화합물을 0, 40, 200 및 400 µg/kg의 농도로 희석하여 동물의 근육에 주사하였다. SY-029 주사 후 10³ TCID₅₀/ml 농도의 VR2332를 각 그룹의 자돈 1마리에 2 ml씩 비강을 통해 주사하였다. (주사된 자돈 번호: 54, 57, 60, 63)

[0071] 주사 후 매주 채혈을 실시하여 바이러스의 감염 및 증식을 분석하였다.

[0072] 그 결과 도 3과 같이, 바이러스 주사 1주일 후 SY-029를 주사 한 54, 57 및 60번 자돈들은 비접종 자돈인 63번 보다 약 5 내지 10배 낮은 혈중 바이러스 농도가 확인되었으며, SY-029 비접종 그룹에서는 나머지 2마리 모두 VR2332 바이러스에 감염된 반면, 40µg/kg의 SY-029가 접종된 그룹에서는 1 마리의 자돈에서 바이러스 감염이 확인되었으며, 200 또는 400 µg/kg을 주사한 그룹에서는 SY-029 접종 후 1주일간 한 마리도 PRRS 바이러스에 감염

되지 않았다.

[0073] 상기 결과로부터 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이상의 SY-029 처리는 1주일간 PRRS 바이러스의 감염을 억제하는 것을 확인하였다.

[0074] 이하, 본 발명의 약학조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0075] <제제예 1> 주사제의 제조

[0076] SY-029 10 mg, 소듐 메타비설파이트 3.0 mg, 메틸파라벤 0.8 mg, 프로필파라벤 0.1 mg 및 주사용 멸균증류수 적량을 혼합하고 통상의 방법으로 최종 부피가 2 ml이 되도록 제조한 후, 2 ml 용량의 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조하였다.

[0077] <제제예 2> 정제의 제조

[0078] SY-029 10 mg, 유당 100 mg, 전분 100 mg 및 스테아린산 마그네슘 적량을 혼합하고 통상의 정제 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조하였다.

[0079] <제제예 3> 캡슐제의 제조

[0080] SY-029 10 mg, 유당 50 mg, 전분 50 mg, 탈크 2 mg 및 스테아린산 마그네슘 적량을 혼합하고 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0081] 이하, 본 발명에 따른 SY-029를 이용한 건강식품 제조예를 설명하나, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아니라 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0082] <제조예 1> 건강식품의 제조

[0083] SY-029 10 mg, 비타민 혼합물 적량(비타민 A 아세테이트 70 μg , 비타민 E 1.0 mg, 비타민 B 1 0.13 mg, 비타민 B 2 0.15 mg, 비타민 B 6 0.5 mg, 비타민 B 12 0.2 μg , 비타민 C 10 mg, 비오틴 10 μg , 니코틴산아미드 1.7 mg, 엽산 50 μg , 판토텐산 칼슘 0.5 mg), 무기질 혼합물 적량(황산제1철 1.75 mg, 산화아연 0.82 mg, 탄산마그네슘 25.3 mg, 제1인산칼륨 15 mg, 제2인산칼슘 55 mg, 구연산칼륨 90 mg, 탄산칼슘 100 mg, 염화마그네슘 24.8 mg)을 혼합한 다음 과립을 제조하고 통상의 방법에 따라 건강식품을 제조하였다.

[0084] <제조예 2> 건강음료의 제조

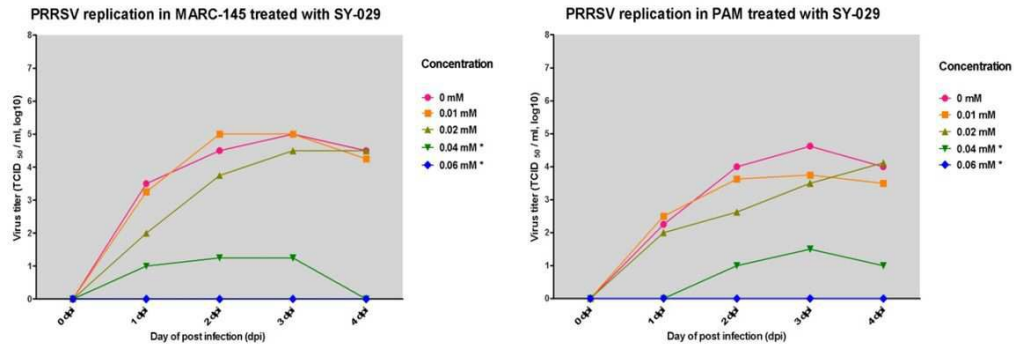
[0085] SY-029 10 mg, 구연산 1000 mg, 올리고당 100 g, 매실농축액 2 g, 타우린 1 g 및 정제수를 가하여 전체 900 ml가 되도록 하며, 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관하였다.

[0086] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

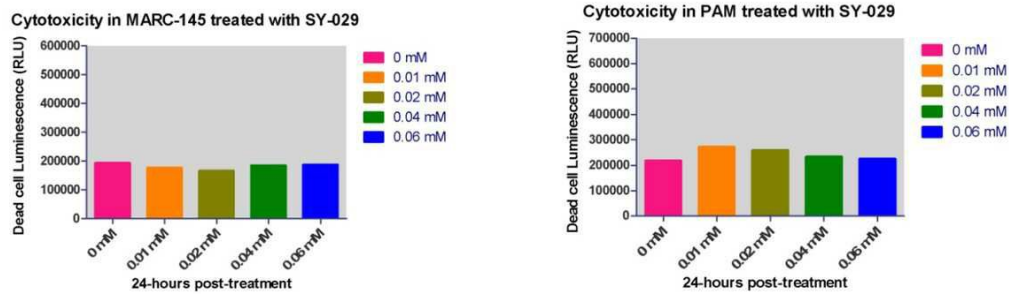
도면1

Antiviral assay



도면2

Cytotoxicity assay



도면3

Viremia after treatment with SY-029

