

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2016년 10월 13일 (13.10.2016)



(10) 국제공개번호
WO 2016/163757 A1

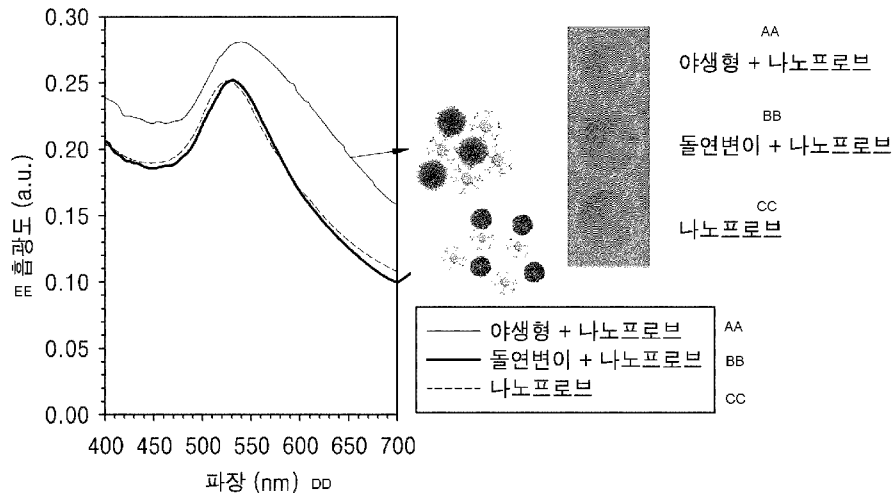
- (51) 국제특허분류:
G01N 31/22 (2006.01) A61K 31/19 (2006.01)
G01N 33/569 (2006.01) C07C 229/38 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/003610
- (22) 국제출원일: 2016년 4월 6일 (06.04.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0048664 2015년 4월 6일 (06.04.2015) KR
- (71) 출원인: 한국생명공학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY) [KR/KR]; 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 임은경 (LIM, Eun Kyung); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 정주연 (JUNG, Juyeon); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 허민희 (HEO, Min Hee); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR). 정봉현 (CHUNG, Bong Hyun); 34141 대전시 유성구 과학로 125, Daejeon (KR).

- (74) 대리인: 안소영 (AHN, So-Young); 06632 서울시 서초구 서초대로 344, 4층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: ANTIVIRAL AGENT-SENSITIVE/RESISTANT VIRUS DETECTION SYSTEM

(54) 발명의 명칭: 항바이러스제-감수성/저항성 바이러스 검출 시스템



AA ... Wild type + nanoprobe
BB ... Mutant + nanoprobe
CC ... Nanoprobe

DD ... Wavelength (nm)
EE ... Absorbance (a.u.)

(57) Abstract: The present invention relates to a nanoparticle for detecting an antiviral agent-resistant virus. The present invention enables fast and convenient diagnosis/detection, with the naked eyes, of an Oseltamivir (Tamiflu)-sensitive/resistant virus. Thus, the present invention can be usefully utilized for making a fast plan for treatment of a patient who has been infected with an influenza virus.

(57) 요약서: 본 발명은 항바이러스제 저항성 바이러스 검출용 나노입자에 관한 것이다. 본 발명을 이용하면 육안으로 오셀타미비르(타미플루) 감수성/저항성 바이러스를 빠르고 편리하게 진단/검출할 수 있다. 따라서 신속하게 인플루엔자 바이러스에 감염된 환자의 치료 계획을 세우는데 유용하게 활용될 수 있다.

WO 2016/163757 A1

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 항바이러스제-감수성/저항성 바이러스 검출 시스템 기술분야

- [1] 본 발명은 항바이러스제-감수성/저항성 바이러스 검출 시스템에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 인플루엔자(influenza, 독감)는 인플루엔자 바이러스(Influenza virus)에 의해 사람 및 동물(조류, 돼지, 개, 말 등)의 호흡기를 통해 전파되는 호흡기성 질병이다. 사람 인플루엔자(Human influenza)의 경우 매년 전 세계 10-20% 인구에서 발생하며, 전염성이 높아 매년 세계적 규모로 유행하는 경향이 있다. 인플루엔자의 증상은 고열, 두통, 근육통, 인후의 염증, 통증, 기침 등의 호흡기질환을 수반하며 심한 경우 노약자, 만성질환보유자 등의 사망을 유발할 수 있다.
- [3] 인플루엔자 감염이 의심되면 신속하게 치료하여 위험한 상황이 초래되는 것을 막고 다른 사람들에게 추가적으로 전파되는 것을 방지해야 한다. 현재 인플루엔자 감염의 치료에는 오셀타미비르 포스페이트(타미플루)가 주로 이용되고 있는데, 근래에 오셀타미비르에 저항성을 나타내는 바이러스 변이주 발생이 증가하고 있다. 바이러스를 구별할 수 있는 방법에 대해서는 다수의 문헌에서 보고된 바 있는데, 예를 들어 Marin MJ *et al.*은 인간 인플루엔자 바이러스와 조류 인플루엔자 바이러스를 구별하는 방법에 대해 개시하고 있다. 그러나 인플루엔자 감염이 의심되는 환자가 오셀타미비르 저항성 바이러스에 감염되었는지 여부를 확인할 수 있는 효과적인 방법은 현재까지 개발된 바 없다.
- [4] [선행기술문헌]
- [5] [비특허문헌]
- [6] Marin MJ *et al.* (Glyconanoparticles for the plasmonic detection and discrimination between human and avian influenza, *Org Biomol Chem.* 2013 Nov 7; 11(41):7101-7)

발명의 상세한 설명

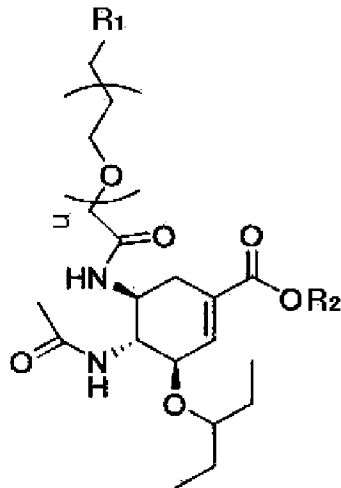
기술적 과제

- [7] 본 발명은 항바이러스제 저항성 바이러스 검출용 나노입자를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [8] 본 발명은 상기 나노입자를 이용하여 항바이러스제에 저항성을 나타내는 바이러스를 검출하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [9] 본 발명은 상기 나노입자를 포함하는 항바이러스제 저항성 바이러스 검출용 키트를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [10] 본 발명은 하기 화학식 1로 기재되는 오셀타미비르 유사체를 제공한다.
- [11] [화학식 1]

[12]



[13] 상기 화학식 1에서, n 은 1 이상의 정수이다. 바람직하게는 n 은 10 이하의 정수일 수 있고, 예컨대 n 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10일 수 있고, 예를 들어 n 은 5 이하의 정수, 예컨대 n 은 1, 2, 3, 4, 5일 수 있다. 그러나 n 의 수는 이에 제한되지 않으며, 나노입자에 따라 적절히 조정될 수 있다.

[14] 상기 화학식 1에서, R_1 은 나노입자에 결합하기에 적합한 작용기가 될 수 있으며, 예를 들어 티올(Thiol, SH), 아민(amine, NH_2), 하이드록실(hydroxyl), 카복실(carboxyl), 이소티오시아네이트(Isothiocyanate), NHS 에스테르(NHS ester), 알데하이드(Aldehyde), 에폭사이드(Epoxy), 카보네이트(Carbonate), HOBt 에스테르(HOBt ester), 글루타르알데하이드(Glutaraldehyde), 이미다졸 카바메이트(Imidazole carbamate), 말레이미드(Maleimide), 아지리딘(Aziridine), 비닐설폰(Vinylsulfone), 알데하이드(aldehyde), 하이드라진(hydrazine), 페닐 아자이드(phenyl azide), 벤조페논(benzophenone), 안트라퀴논(anthraquinone), 디엔(Diene) 기가 될 수 있다. 그러나 작용기는 이에 제한되지 않으며, 나노입자에 도입 가능한 어떠한 작용기라도 사용할 수 있다.

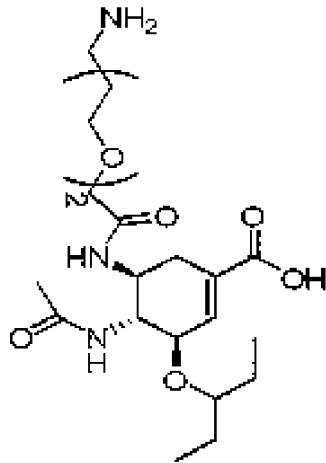
[15] 각 작용기는 공지 방법에 의해 합성될 수 있고 또한 나노입자에 결합될 수 있다.

[16] 상기 화학식 1에서, R_2 는 H 또는 $C_xH_{(2x+1)}$ 이고, x 는 10 이하의 정수일 수 있다. 예컨대 상기 x 는 1이고 R_2 는 CH_3 일 수 있고, x 는 2이고 R_2 는 C_2H_5 일 수 있고, x 는 3이고 R_2 는 C_3H_7 일 수 있고, x 는 4이고 R_2 는 C_4H_9 일 수 있고, x 는 5이고 R_2 는 C_5H_{11} 일 수 있고, x 는 6이고 R_2 는 C_6H_{13} 일 수 있고, x 는 7이고 R_2 는 C_7H_{15} 일 수 있고, x 는 8이고 R_2 는 C_8H_{17} 일 수 있고, x 는 9이고 R_2 는 C_9H_{19} 일 수 있고, x 는 10이고 R_2 는 $C_{10}H_{21}$ 일 수 있다.

[17] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 화학식 1로 기재되는 오셀타미비르 유사체는 화학식 2로 기재되는 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드(Oseltamivir-EGamine-acid) 또는 화학식 3으로 기재되는 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르(Oseltamivir-EGamide-ester)가 될 수 있다.

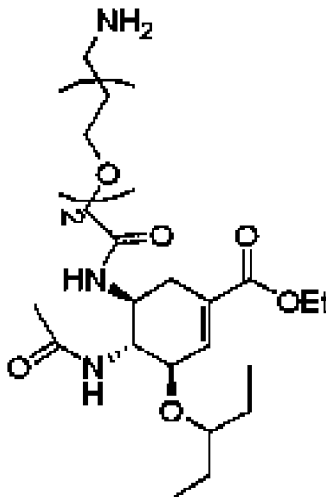
[18] [화학식 2]

[19]



[20] [화학식 3]

[21]

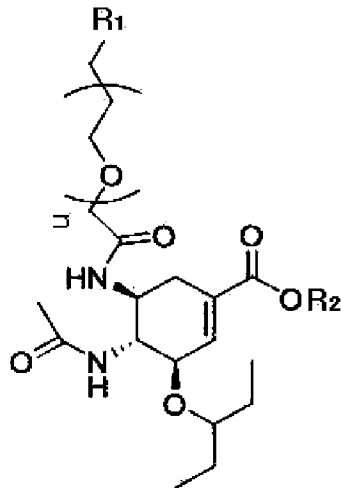


[22] 본 발명은 항바이러스제 저항성 바이러스 검출용 나노입자를 제공한다.

[23] 본 발명의 나노입자는 하기 화학식 1로 기재되는 오셀타미비르 유사체가 나노입자에 결합된 것이다.

[24] [화학식 1]

[25]



[26] 상기 화학식 1에서, n 은 1 이상의 정수이다. 바람직하게는 n 은 10 이하의 정수일 수 있고, 예컨대 n 은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10일 수 있고, 예를 들어 n 은 5 이하의 정수, 예컨대 n 은 1, 2, 3, 4, 5일 수 있다. 그러나 n 의 수는 이에 제한되지 않으며, 나노입자에 따라 적절히 조정될 수 있다.

[27] 상기 화학식 1에서, R_1 은 나노입자에 결합하기에 적합한 작용기가 될 수 있으며, 예를 들어 티올(Thiol, SH), 아민(amine, NH_2), 하이드록실(hydroxyl), 카복실(carboxyl), 이소티오시아네이트(Isothiocyanate), NHS 에스테르(NHS ester), 알데하이드(Aldehyde), 에폭사이드(Epoxy), 카보네이트(Carbonate), HOBt 에스테르(HOBt ester), 글루타르알데하이드(Glutaraldehyde), 이미다졸 카바메이트(Imidazole carbamate), 말레이미드(Maleimide), 아지리딘(Aziridine), 비닐설폰(Vinylsulfone), 알데하이드(aldehyde), 하이드라진(hydrazine), 페닐 아자이드(phenyl azide), 벤조페논(benzophenone), 안트라퀴논(anthraquinone), 디엔(Diene) 기가 될 수 있다. 그러나 작용기는 이에 제한되지 않으며, 나노입자에 도입 가능한 어떠한 작용기라도 사용할 수 있다.

[28] 각 작용기는 공지의 방법에 의해 합성될 수 있고 또한 나노입자에 결합될 수 있다.

[29] 상기 화학식 1에서, R_2 는 H 또는 $C_xH_{(2x+1)}$ 이고, x 는 10 이하의 정수일 수 있다. 예컨대 상기 x 는 1이고 R_2 는 CH_3 일 수 있고, x 는 2이고 R_2 는 C_2H_5 일 수 있고, x 는 3이고 R_2 는 C_3H_7 일 수 있고, x 는 4이고 R_2 는 C_4H_9 일 수 있고, x 는 5이고 R_2 는 C_5H_{11} 일 수 있고, x 는 6이고 R_2 는 C_6H_{13} 일 수 있고, x 는 7이고 R_2 는 C_7H_{15} 일 수 있고, x 는 8이고 R_2 는 C_8H_{17} 일 수 있고, x 는 9이고 R_2 는 C_9H_{19} 일 수 있고, x 는 10이고 R_2 는 $C_{10}H_{21}$ 일 수 있다.

[30] 본 발명의 나노입자는 직경이 1~100 나노미터 단위인 입자로서 육안 또는 흡/형광 장비로 확인이 가능한 임의의 나노입자가 될 수 있으며, 예를 들어 금나노입자, 은나노입자, 형광 나노입자, 형광 염색약 등이 될 수 있다. 상기 금나노입자 및 은나노입자는 100 나노미터 이하의 직경을 가진 다양한 형태(구형, 다각형 등)의 입자를 말한다. 상기 형광 나노입자는 형광 특성을

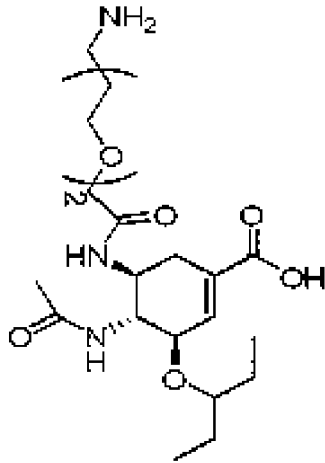
보이는 100 나노미터 이하의 나노 입자로, 동일한 물질이라 하더라도 입자의 크기에 따라 형광파장이 달라져 다양한 파장대의 형광을 얻을 수 있다. 형광 나노입자의 예는 형광 염색약이 포함된 다양한 나노 입자 및 양자점 입자(Quantum dots)로, 약 2~10nm 크기의 중심(core)과 주로 ZnS 등으로 이루어진 껍질(shell)로 구성된 것을 들 수 있다. 상기 양자점을 이루는 II-VI 또는 III-V족 화합물은 예를 들어 CdSe, CdSe/ZnS, CdTe/CdS, CdTe/CdTe, ZnSe/ZnS, ZnTe/ZnSe, PbSe, PbS InAs, InP, InGaP, InGaP/ZnS 및 HgTe로 구성된 군에서 선택될 수 있다(단일 코어(core) 또는 코어(core)/셸(shell) 형태). 형광 염색약은 예를 들어 형광성을 보이는 유기 분자 (예, 파이렌 (Pyrene) 또는 이의 유도체), 시아닌(Cyanine, Cy) 시리즈, 알렉사플루오르(Alexa Fluor) 시리즈, 보디피 (BODIPY) 시리즈, DY 시리즈, 로다민 (rhodamine) 또는 이의 유도체, 플루오레신(Fluorescein) 또는 이의 유도체, 쿠마린 (coumarin) 또는 이의 유도체, 아크리딘 호모다이어머 (Acridine homodimer) 또는 이의 유도체, 아크리딘 오렌지(Acridine Orange) 또는 이의 유도체, 7-아미노액티노마이신 D(7-aminoactinomycin D, 7-AAD) 또는 이의 유도체, 액티노마이신 D(Actinomycin D) 또는 이의 유도체, 에이씨엠에이(ACMA, 9-amino-6-chloro-2-methoxyacridine) 또는 이의 유도체, 디에이피아이(DAPI) 또는 이의 유도체, 디하이드로에티듐(Dihydroethidium) 또는 이의 유도체, 에티듐 브로마이드(Ethidium bromide) 또는 이의 유도체, 에티듐 호모다이어머-1(EthD-1) 또는 이의 유도체, 에티듐 호모다이어머-2(EthD-2) 또는 이의 유도체, 에티듐 모노아자이드(Ethidium monoazide) 또는 이의 유도체, 헥시디움 아이오다이드(Hexidium iodide) 또는 이의 유도체, 비스벤지마이드(bisbenzimidazole, Hoechst 33258) 또는 이의 유도체, 호에크스트 33342(Hoechst 33342) 또는 이의 유도체, 호에크스트 34580(Hoechst 34580) 또는 이의 유도체, 하이드록시스티바미딘(hydroxystilbamidine) 또는 이의 유도체, 엘디에스 751(LDS 751) 또는 이의 유도체, 프로피디움 아이오다이드(Propidium Iodide, PI) 또는 이의 유도체, 칼세인(Calcein) 또는 이의 유도체, 오레건 그린(Oregon Green) 또는 이의 유도체, 마그네슘 그린(Magnesium Green) 또는 이의 유도체, 칼슘 그린(Calcium Green) 또는 이의 유도체, JOE 또는 이의 유도체, 테트라메틸로다민(Tetramethylrhodamine) 또는 이의 유도체, TRITC 또는 이의 유도체, TAMRA 또는 이의 유도체, 피로닌 Y(Pyronin Y) 또는 이의 유도체, 리싸민(Lissamine) 또는 이의 유도체, ROX 또는 이의 유도체, 칼슘크림슨(Calcium Crimson) 또는 이의 유도체, 텍사스 레드(Texas Red) 또는 이의 유도체, 나일 레드(Nile Red) 또는 이의 유도체, 티아디카복시아닌(Thiadicarbocyanine) 또는 이의 유도체, 단실아마이드(dansylamide) 또는 이의 유도체, 캐스캐이드 블루 (cascade blue), DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole), FITC, Cy3, Cy5, Cy5.5 Cy7 등)이 있다. 그러나 나노입자의 종류는 이에 제한되지 않는다. 각 나노입자는 공지의 방법에

의해 합성될 수 있다.

- [31] 본 발명의 일 구현예로서, 본 발명의 나노입자는 화학식 2로 기재되는 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드(Oseltamivir-EGamine-acid) 또는 화학식 3으로 기재되는 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르(Oseltamivir-EGamide-ester)가 결합된 나노입자가 될 수 있다.

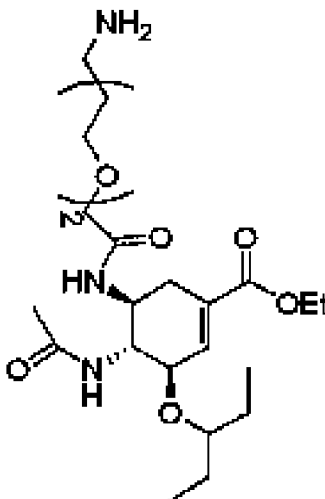
[32] [화학식 2]

[33]



[34] [화학식 3]

[35]



- [36] 상기 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드 및 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르는 오셀타미비르 유사체로서, 2회 반복되는 폴리에틸렌글리콜 링커와 아민 작용기를 통해 나노입자에 결합된 것이다. 상기 나노입자는 금나노입자가 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [37] 본 발명의 나노입자에서 결합된 오셀타미비르 유사체에서, 오셀타미비르에 폴리에틸렌 링커가 결합된 위치가 매우 중요한데, 이는 어디에 결합되느냐에 따라 적절하게 반응이 일어날지 여부가 달라지기 때문이다.

- [38] 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스는 통상적으로 H274Y 부위에 돌연변이가 일어나는 것으로 알려져 있다. 오셀타미비르는 인플루엔자

바이러스에 결합하여 뉴라미니다제(neuraminidase, NA) 활성을 감소시키는 방식으로 바이러스를 사멸시키는데, H274Y 부위에 돌연변이가 일어나면 오셀타미비르가 바이러스에 결합하기가 어렵다.

- [39] 본 발명의 나노입자에 결합된 오셀타미비르 유사체는 H274Y 부위에 돌연변이가 일어나 오셀타미비르에 저항성을 나타내는 바이러스에는 결합하지 않으며, 오셀타미비르에 감수성이 있는 바이러스에만 결합한다. 본 발명의 나노입자가 바이러스에 결합했는지 여부는 육안으로 또는 흡광도 측정을 통해 색상을 비교함으로써(비색법) 확인할 수 있다. 따라서 본 발명은 매우 간단하고 편리한 방법으로 대상체가 감염된 바이러스가 오셀타미비르 저항성 바이러스인지 여부를 확인할 수 있다.
- [40] 본 발명은 상기 나노입자를 이용하여 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스를 검출하는 방법을 제공한다.
- [41] 본 발명의 방법은, 1) 인플루엔자 바이러스에 감염된 대상체로부터 분리된 시료를 화학식 1로 기재되는 오셀타미비르 유사체가 결합된 나노입자와 접촉시키는 단계; 2) 인플루엔자 바이러스가 존재하지 않는 시료에 상기 나노입자를 접촉시킨 경우에 나타나는 색상과 동일한 색상이 상기 1) 단계의 시료에서 나타나는 경우 대상체가 감염된 인플루엔자 바이러스가 오셀타미비르 저항성 바이러스라고 판단하는 단계를 포함한다.
- [42] 상기 방법의 일 구현예로서, 상기 2) 단계의 비교는 흡광도 측정 또는 육안 관찰로 수행될 수 있다. 또한 상기 방법에 있어서, “동일한 색상”이라 함은 반응 조건, 시료의 상태 등에 채도(chroma), 명도(brightness), 색상(hue)에 있어 약간의 차이가 있더라도 실질적으로 동일하다고 볼 수 있는 정도의 색상을 의미한다.
- [43] 상기 대상체는 인간 또는 그 밖의 동물, 예컨대 조류 또는 포유류가 될 수 있다.
- [44] 상기 시료는 전혈, 혈청, 혈장, 혈액 세포, 내피 세포, 조직 생검, 림프액, 복수액, 간질액, 골수, 뇌척수액(CSF), 정액, 타액, 점액, 객담, 땀 또는 소변일 수 있다.
- [45] 본 발명은 상기 나노입자를 포함하는 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스 검출용 키트를 제공한다. 본 발명의 키트는 기타 검출에 필요한 물품들을 더 포함할 수 있으며, 사용 지침(instruction)을 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [46] 본 발명을 이용하면 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스를 육안으로 빠르고 편리하게 검출할 수 있다. 따라서 신속하게 인플루엔자 바이러스에 감염된 환자의 치료 계획을 세우는데 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [47] 도 1은 합성된 금나노입자의 모양을 전자현미경(TEM)으로 확인한 도이다.
- [48] 도 2는 합성된 금나노입자의 흡광도를 UV-비스 스펙트로스코피(UV-vis spectroscopy)로 확인한 도이다.
- [49] 도 3 내지 5는 단백질 수준에서 각 물질이 오셀타미비르 감수성 바이러스와

오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다. 도 3의 좌측 도는 오셀타미비르 포스페이트가 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다. 도 3의 우측 도는 오셀타미비르 카복실레이트가 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다. 도 4는 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드가 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다. 도 5는 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르가 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다.

[50] 도 6 내지 8은 바이러스 수준에서 각 물질이 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다. 도 6은 오셀타미비르 포스페이트가 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다. 도 7은 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드가 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다. 도 8은 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르가 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스의 뉴라미니다제 활성을 억제하는 정도를 확인한 것이다.

[51] 도 9는 본 발명의 나노입자와 오셀타미비르 감수성 바이러스 및 오셀타미비르 저항성 바이러스의 결합 양상을 나타낸 모식도이다.

[52] 도 10은 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드가 결합된 금나노입자를 오셀타미비르 감수성 바이러스와 오셀타미비르 저항성 바이러스와 각각 반응시켰을 때 흡광도를 확인한 그래프(좌측 도) 및 색상 차이를 육안으로 확인한 도(우측 도)이다.

발명의 실시를 위한 형태

[53] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[54] 또한, 이하에서 언급된 시약 및 용매는 특별한 언급이 없는 한 시그마 알드리치(Sigma Aldrich)로부터 구입한 것이다.

[55] 실시예 1. 나노입자의 제조

[56] 1-1. 오셀타미비르 유도체 합성

[57] 오셀타미비르 유도체를 하기의 반응식에 따라 합성하였다.

[58] [반응식]

[62] 실온에서 크로뮴(chromium)(VI) 옥사이드(oxide)(14.7 g, 164 mmol)의 1.5 M H₂SO₄(300 mL)용액을 교반하면서 알코올(alcohol) 1 (8.31 g, 49.2 mmol)의 아세톤(acetone)(300 mL) 용액을 천천히 적가하였다. 반응 혼합물을 6시간 동안 교반한 후 농축하여 유기 용매를 제거하고, 농축액을 CH₂Cl₂(3x50 mL)로 추출하고, 유기 층을 합쳐 무수 MgSO₄로 건조한 후 농축했다. 농축액을 컬럼

크로마토그래피(column chromatography)(Hexanes:EtOAc = 1:1 ~ 1:2)를 이용하여 분리해서 연한 노란색 액체의 acid 2 (4.51 g, 50%)를 얻었다.

[63] **Oseltamivir-EGamide-chloride (4) 합성**

[64] 실온에서 acid 2 (1.60 g, 8.78 mmol)의 CH_2Cl_2 (30mL)용액을 교반하면서 오셀타미비르 포스페이트(3) (3.00 g, 7.31 mmol), 1-ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)carbodiimide hydrochloride (2.80 g, 14.6 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (1.97 g, 14.6 mmol)과 트리에틸아민(triethylamine)(2.03 ml, 14.6 mmol)을 가했다. 실온에서 12시간 동안 교반한 후, 반응혼합물에 증류수를 가해서 반응을 종결했다. 혼합물을 CH_2Cl_2 (3x30 mL)로 추출하고, 유기 층을 합쳐 무수 Na_2SO_4 건조, 여과한 후 농축했다. 농축액을 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc:MeOH = 20:1)를 이용하여 분리하여 노란색 액체의 chloride 4 (2.16 g, 62%)을 얻었다.

[65] **Oseltamivir-EGamide-azide (5) 합성**

[66] 실온에서 chloride 4 (1.32 g, 2.77 mmol)의 DMF (15 mL) 용액을 교반하면서 소듐 아자이드(sodium azide)(540 mg, 8.31 mmol)을 가했다. 반응 용기를 70 °C에서 24시간 동안 가열했다. 반응혼합물에 증류수를 가하여 반응을 종결했다. 혼합물을 EtOAc(3x20 mL)로 추출하고, 유기 층을 합쳐 무수 Na_2SO_4 건조, 여과한 후 농축했다. 농축액을 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc:MeOH = 20:1)를 이용하여 분리하여 노란색 액체의 azide 5 (950 mg, 71%)을 얻었다.

[67] **Oseltamivir-EGamide-ester (6) 합성**

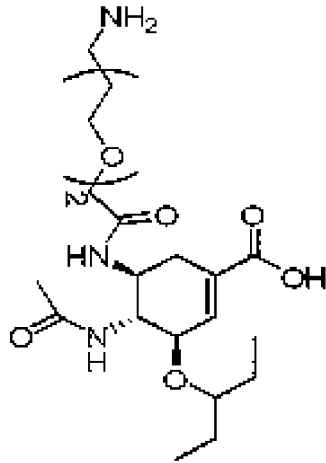
[68] 실온에서 azide 5 (950 mg, 1.96 mmol)의 THF/ H_2O (10:1, v/v, 15 mL)용액을 교반하면서 트리페닐포스핀(triphenylphosphine)(1.54 mg, 5.89 mmol)을 가했다. 반응 용기를 70 °C에서 12시간 동안 가열한 후, 반응 용매를 제거했다. 농축액을 컬럼 크로마토그래피(CH_2Cl_2 :MeOH=20:1-7:1)를 이용하여 분리하여 노란색 액체의 혼합물을 얻었다. 혼합물을 CH_2Cl_2 /MeOH에서 재결정하여 흰색 고체의 amine 6(화학식 3) (385 mg, 43%)을 얻었다.

[69] **Oseltamivir-EGamide-acid (7) 합성**

[70] 실온에서 ester 6(화학식 3) (250 mg, 0.546 mmol)의 THF/ H_2O (4:1, v/v, 5 mL)용액을 교반하면서 1 M NaOH 수용액 (0.573 mL, 0.573 mmol)을 가했다. 반응 혼합물을 6시간 동안 교반한 후, 반응 용매를 제거했다. 농축액을 CH_2Cl_2 /MeOH에서 재결정하여 흰색 고체의 acid 7(화학식 2) (113 mg, 46%)을 얻었다.

[71] [화학식 2]

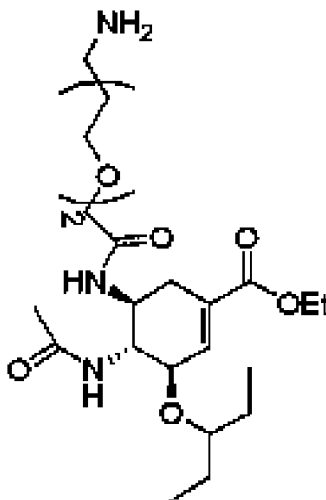
[72]



[73]

[화학식 3]

[74]

[75] **1-2. 금나노입자 합성**

[76] 100 mL의 증류수에 1 wt%의 HAuCl_4 용액 (1 mL)를 넣고 95 °C에서 강렬하게 교반시켰다. 그 상태에서, 즉시 1 wt%의 소듐 시트레이트(Sodium citrate)(5 mL)를 천천히 주입하고, 30분간 같은 조건에서 반응시켰다. 합성된 금나노입자의 모양을 전자현미경(TEM)으로 (도 1), 흡광도를 UV-비스펙트로스코피로 각각 확인하였다(도 2).

[77] **1-3. 나노입자-오셀타미비르 유도체 결합**

[78] 1-2에서 합성된 금나노입자 용액의 5 mL을 15000 rpm, 10분간 원심분리하여 과량의 소듐 시트레이트를 제거하였다. 상층액은 버리고, 1 mL의 증류수로 재분산한 뒤, 15000 rpm, 10분간 원심분리하였다. 해당 과정을 2회 더 반복하였다. 마지막 단계에서 상층액은 버리고, 증류수에 분산된 오셀타미비르 유도체 (2 mg/mL) 1 mL를 첨가하였다. 그리고, 12시간 이상 볼텍싱(vortexing)하여, 오셀타미비르 유도체 (Oseltamivir-EGamide-acid) 가 금나노입자에 결합되도록 하였다.

[79] **실시예 2. 단백질 수준에서의 뉴라미니다제 활성 비교**

- [80] 이하 실시예 2에서 NA-Fluor™ 인플루엔자 뉴라미니다제 어세이 키트(NA-Fluor™ Influenza Neuraminidase Assay Kit)(AB Applied biosystem, Prod No. 4457091)를 이용하여 뉴라미니다제(NA) 활성도를 측정하였다.
- [81] 구체적으로, 키트 내의 작업용액(working solution)(5.52 mL)에 Na-flour (480 μ L)를 녹여 용액 A를 준비하였다. 2.9 mL의 작업용액에 0.2 mL의 야생형(Wild) NA 단백질(인플루엔자 H1N1 NA, Sino biological Inc.) (0.5 mg/mL)를 첨가하였다(용액 B-wild). 돌연변이(Mutant) NA 단백질(인플루엔자 H1N1 NA (H274), Sino biological Inc.)도 용액 B-wild와 동일한 조건으로 준비하였다(용액 B-mutant). 2 mL의 증류수에 오셀타미비르 유도체 19.3 mg을 녹여 준비하였다(용액 C). 96 웰 플레이트의 각 웰에 용액 A를 50 μ L 넣고, 각각 용액 B-wild와 용액 B-mutant를 50 μ L 넣었다. 용액 C를 농도를 달리하여 준비된 웰에 50 μ L 씩 첨가하였다(비교군에서는 증류수만 첨가). 즉, 각 웰 당 용액 A + 용액 B-wild (또는 용액 B-mutant) + 용액 C를 넣은 것이다. 37°C에서 1시간 배양한 뒤, 각 웰에 Na-flour stop buffer 용액을 50 μ L 씩 넣었다. Ex: 360 nm, Em: 450nm 으로 형광을 측정하여 단백질 수준에서의 NA 활성도를 측정하였다. NA 활성도가 높을수록 형광 강도가 높음을 의미한다.
- [82] **2-1. 오셀타미비르 포스페이트**
- [83] 오셀타미비르 포스페이트는 타미플루의 주성분이다. 상기 방법으로 오셀타미비르 포스페이트(CAS 등록번호 204255-11-8)가 NA 활성에 미치는 영향을 확인하였을 때, 야생형(Wild)의 NA 활성이 매우 낮게 나타나나, 돌연변이(Mutant)의 NA 활성은 높게 유지됨을 알 수 있다 (도 3 좌측 도).
- [84] 이는 H274Y 변이가 일어난 인플루엔자 바이러스가 오셀타미비르에 저항성을 보임을 확인 한 것이다.
- [85] **2-2. 오셀타미비르 카복실레이트**
- [86] 오셀타미비르 카복실레이트는 잘 알려진 오셀타미비르 유사체이다. 상기 방법으로 오셀타미비르 카복실레이트(CAS 등록번호 187227-45-8)가 NA 활성에 미치는 영향을 확인하였을 때, 오셀타미비르 카복실레이트는 실험 농도 전 범위에서 야생형(Wild)의 NA 활성을 억제하며, 고농도로 사용되었을 때에는 돌연변이(Mutant)의 NA 활성도 억제함을 확인하였다(도 3 우측 도).
- [87] 이와 같이 실험에 사용한 야생형(Wild) NA와 돌연변이(Mutant) NA 단백질은 오셀타미비르 포스페이트(타미플루), 오셀타미비르 카복실레이트에 감수성과 저항성을 보였으므로, 해당 실험에 적당한 단백질임을 확인하였다.
- [88] **2-3. 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드 (Oseltamivir EGamide-acid)**
- [89] 상기 방법으로 실시예 1에서 제조한 본 발명의 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드가 NA 활성에 미치는 영향을 확인하였을 때, 야생형(Wild)의 NA 활성은 낮게 나타나나, 돌연변이(Mutant)의 NA 활성은 높게 유지됨을 알 수 있다(도 4). 감수성이 있는 경우와 없는 경우의 차이가 분명하므로 본 발명의 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드는 오셀타미비르 감수성/저항성

바이러스 검출에 적절하다고 판단하였다.

[90] **2-4. 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르
(Oseltamivir-EGamide-ester)**

[91] 상기 방법으로 실시예 1에서 제조한 본 발명의 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르가 NA 활성에 미치는 영향을 확인하였을 때, 야생형(Wild)의 NA 활성은 낮게 나타나나, 돌연변이(Mutant)의 NA 활성은 높게 유지됨을 알 수 있다(도 5). 감수성이 있는 경우와 없는 경우의 차이가 분명하므로 본 발명의 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르는 오셀타미비르 저항성 바이러스 바이러스 검출에 적절하다고 판단하였다.

[92] **실시예 3. 바이러스에서의 뉴라미니다제 활성 비교**

[93] 이하 실시예 3에서 NA-Fluor™ 인플루엔자 뉴라미니다제 어세이 키트 (AB Applied biosystem, Prod No. 4457091)를 이용하여 NA 활성도를 측정하였다.

[94] 구체적으로, Kit 내의 작업용액(working solution)(5.52 mL)에 Na-fluor (480 μ L)를 녹여 용액 A를 준비하였다. 바이러스 용액은 각 웰 당 각각 100개, 또는 1000개의 바이러스가 들어 있도록 준비하였다. 야생형(Wild type)(항 바이러스제 감수성 바이러스)은 판데믹 H1N1 바이러스(A/04/2009/California) (pandemic H1N1), 돌연변이(Mutant type)(항 바이러스제 저항성 바이러스)은 Influenza A/Korea/2785/2009 (pandemic H1N1)를 사용하였다. 2 mL의 증류수에 오셀타미비르 유도체 19.3 mg을 녹여 준비하였다(용액 C). 96 웰 플레이트의 각 웰에 용액 A를 50 μ L 넣고, 각각 바이러스 시료 용액을 넣었다. 용액 C를 농도를 달리하여 준비된 웰에 50 μ L 씩 첨가하였다(비교군에서는 증류수만 첨가). 즉, 각 웰 당 용액 A+각 바이러스 용액(야생형 또는 돌연변이)+용액 C를 넣었다. 37°C에서 1시간 배양한 뒤, 각 웰에 Na-fluor 정지 완충액(stop buffer) 용액을 50 μ L 씩 넣었다. Ex: 360 nm, Em: 450 nm 으로 형광을 측정하여 단백질 수준에서의 NA 활성도를 측정하였다. NA 활성도가 높을수록 형광 강도(intensity)가 높음을 의미한다.

[95] **3-1. 오셀타미비르 포스페이트**

[96] 상기 방법으로 오셀타미비르 포스페이트가 NA 활성에 미치는 영향을 확인하였을 때, 야생형(Wild)의 NA 활성이 매우 낮게 나타나나, 돌연변이(Mutant)의 NA 활성은 높게 유지됨을 알 수 있다 (도 6).

[97] **3-2. 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드 (Oseltamivir-EGamide-acid)**

[98] 상기 방법으로 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드가 NA 활성에 미치는 영향을 확인하였을 때, 오셀타미비르 포스페이트와 마찬가지로 야생형(Wild)의 NA 활성이 매우 낮게 나타나나, 돌연변이(Mutant)의 NA 활성은 높게 유지됨을 알 수 있다 (도 7).

[99] **3-3. 오셀타미비르 에틸렌글리콜 아마이드-에스테르
(Oseltamivir-EGamide-ester)**

[100] 상기 방법으로 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르가 NA 활성에

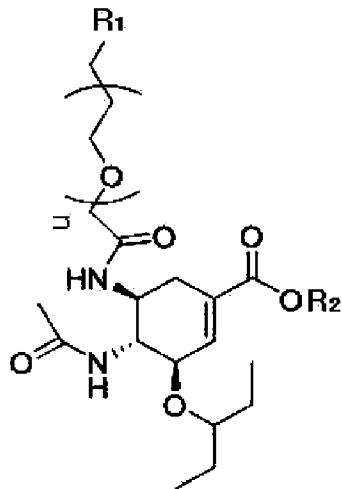
미치는 영향을 확인하였을 때, 오셀타미비르 포스페이트와 마찬가지로 야생형(Wild)의 NA 활성이 매우 낮게 나타나나, 돌연변이(Mutant)의 NA 활성은 높게 유지됨을 알 수 있다 (도 8).

- [101] 상기 결과를 통하여 오셀타미비르 유사체 중 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에시드와 오셀타미비르-에틸렌글리콜 아마이드-에스테르가 오셀타미비르 포스페이트에 감수성이 있는 바이러스의 NA 활성을 감소시키는 역할을 함을 확인하였다.
- [102] 실시예 4. 오셀타미비르-금나노입자를 이용한 항바이러스제 감수성/저항성 바이러스 검출 시스템 개발 및 효능 평가
- [103] 본 발명의 오셀타미비르 유사체-나노입자는 오셀타미비르 감수성 바이러스에만 결합하므로 상기 나노입자를 오셀타미비르 저항성 바이러스에 가했을 경우와 색상 변화가 발생하여, 육안으로 바이러스의 오셀타미비르 감수성 여부를 검출할 수 있게 된다. (도 9의 모식도 참조).
- [104] 96 웰 플레이트의 각 웰 당 바이러스가 100개, 또는 1000개의 바이러스가 들어 있도록 준비하였다. 야생형(Wild type)(항 바이러스제 감수성 바이러스)은 판데믹 H1N1 바이러스(pandemic H1N1 virus)(A/04/2009/California) (pandemic H1N1), 돌연변이(mutant type)(항 바이러스제 저항성 바이러스)는 Influenza A/Korea/2785/2009 (pandemic H1N1)을 사용하였다. 준비된 각 웰 당 실시예 1에서 제조한 오셀타미비르 유사체-금나노입자 100 μ L을 첨가한 뒤, 흡광도를 400-750 nm 범위에서 측정하여 항바이러스제 감수성/ 저항성 바이러스를 색변화를 통하여 검출 하였다. 감수성 바이러스의 경우 저항성 바이러스 또는 대조군 (바이러스 미처리) 에 비하여 흡광 파장이 이동하는 것을 확인하였으며, 또한 대조군과 돌연변이(Mutant) 처리 군은 붉은색을 보이나, 야생형(Wild) 처리 군은 보라색으로 변함을 육안으로 확인하였다(도 10).

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1로 기재되는 오셀타미비르 유사체가 결합된, 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스 검출용 나노입자.

[화학식 1]



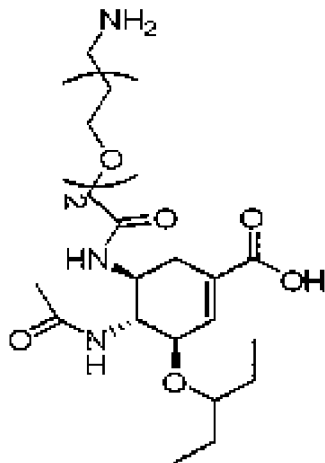
상기 화학식 1에서, n 은 10 이하의 정수이고,

R_1 은 SH 또는 NH_2 이고,

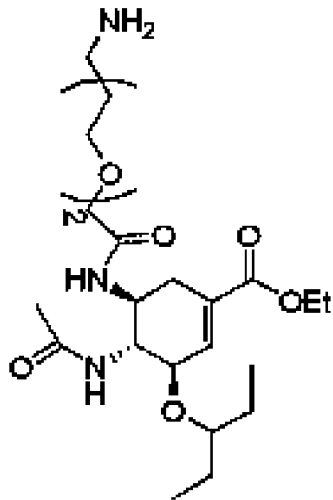
R_2 는 H 또는 $C_xH_{(2x+1)}$ 이고, x 는 10 이하의 정수일 수 있다.

[청구항 2] 화학식 2로 기재되는 오셀타미비르 에틸렌글리콜 아마이드 에시드(Oseltamivir EGamide-acid) 또는 화학식 3으로 기재되는 오셀타미비르 에틸렌글리콜 아마이드-에스테르(Oseltamivir EGamide-ester)가 결합된, 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스 검출용 나노입자.

[화학식 2]



[화학식 3]



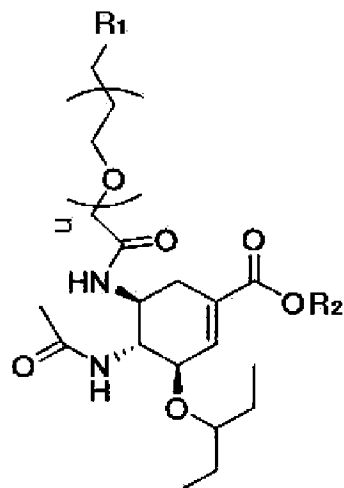
[청구항 3] 제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 나노입자는 금나노입자, 은나노입자, 또는 형광 나노입자인 나노입자.

[청구항 4] 1) 인플루엔자 바이러스에 감염된 대상체로부터 분리된 시료를 화학식 1로 기재되는 오셀타미비르 유사체가 결합된 나노입자와 접촉시키는 단계;

2) 인플루엔자 바이러스가 존재하지 않는 시료에 화학식 1로 기재되는 오셀타미비르 유사체가 결합된 나노입자를 접촉시킨 경우에 나타나는 색상과, 상기 1) 단계에서 나노입자와 접촉시킨 시료에서 나타나는 색상을 비교하는 단계; 및

3) 상기 2) 단계에서 양 색상이 동일하게 나타나는 경우, 상기 대상체가 감염된 인플루엔자 바이러스가 오셀타미비르 저항성 바이러스라고 판단하는 단계를 포함하는, 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스를 검출하는 방법.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, n은 10 이하의 정수이고,

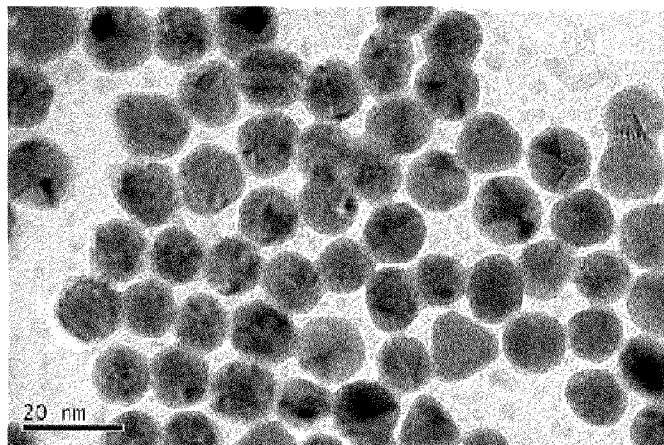
R_1 은 SH 또는 NH_2 이고,

R_2 는 H 또는 $C_xH_{(2x+1)}$ 이고, x는 10 이하의 정수일 수 있다.

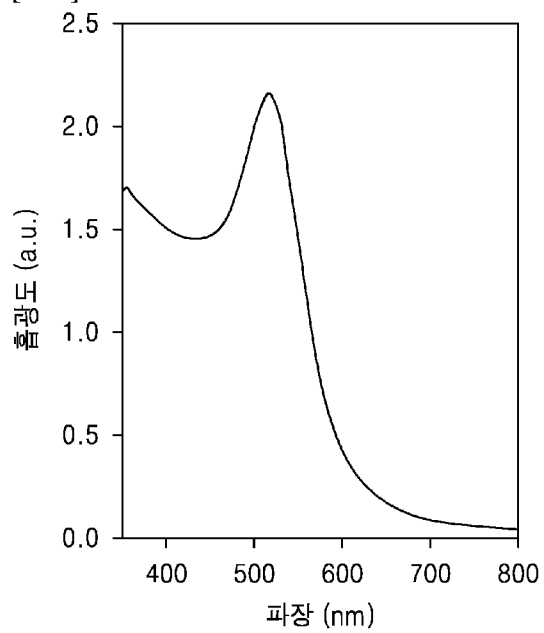
[청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 2) 단계의 비교는 흡광도 측정 또는 육안 관찰로 수행되는 방법.

[청구항 6] 제1항 또는 제2항의 나노입자를 포함하는 오셀타미비르 저항성 인플루엔자 바이러스 검출용 키트.

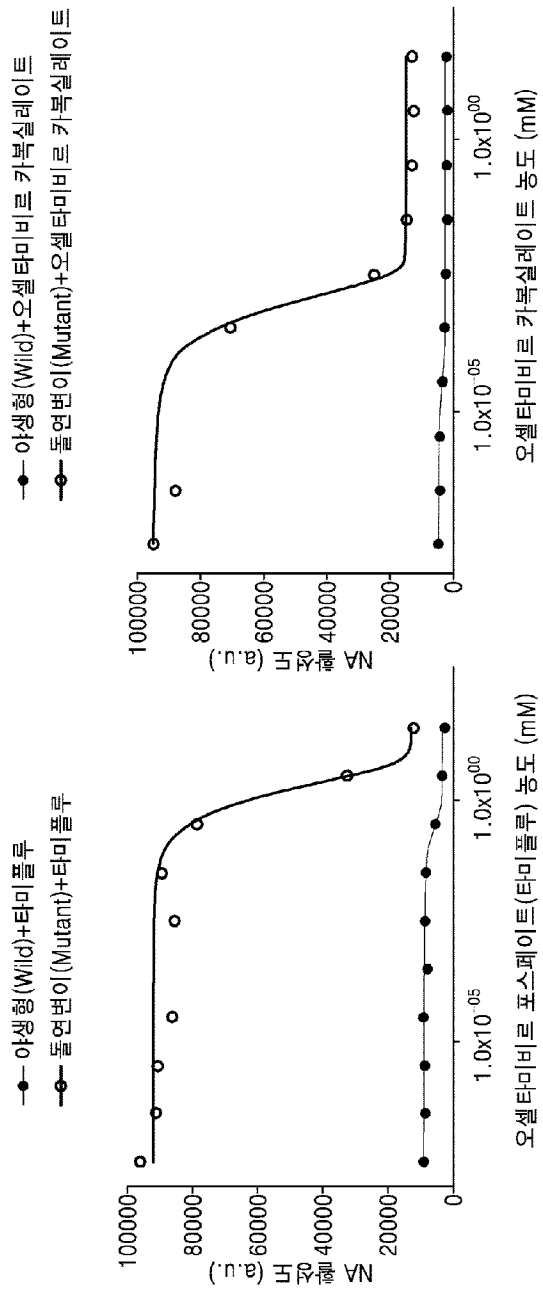
[도1]



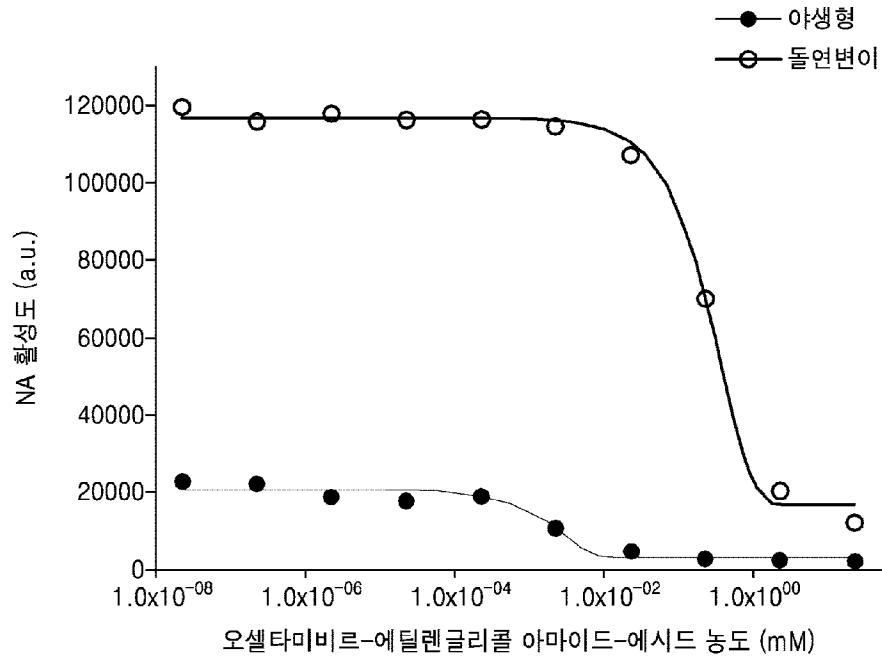
[도2]



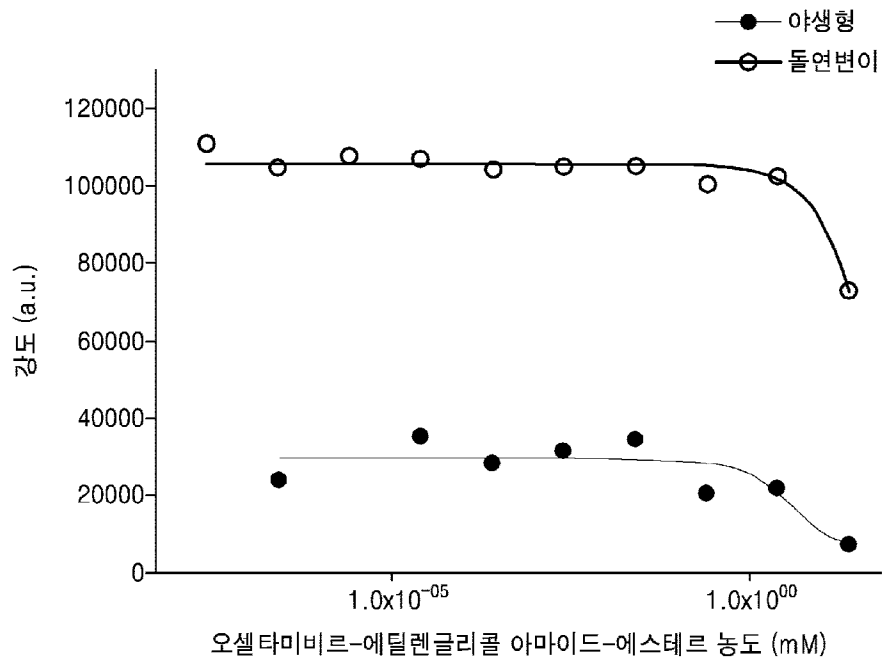
[도3]



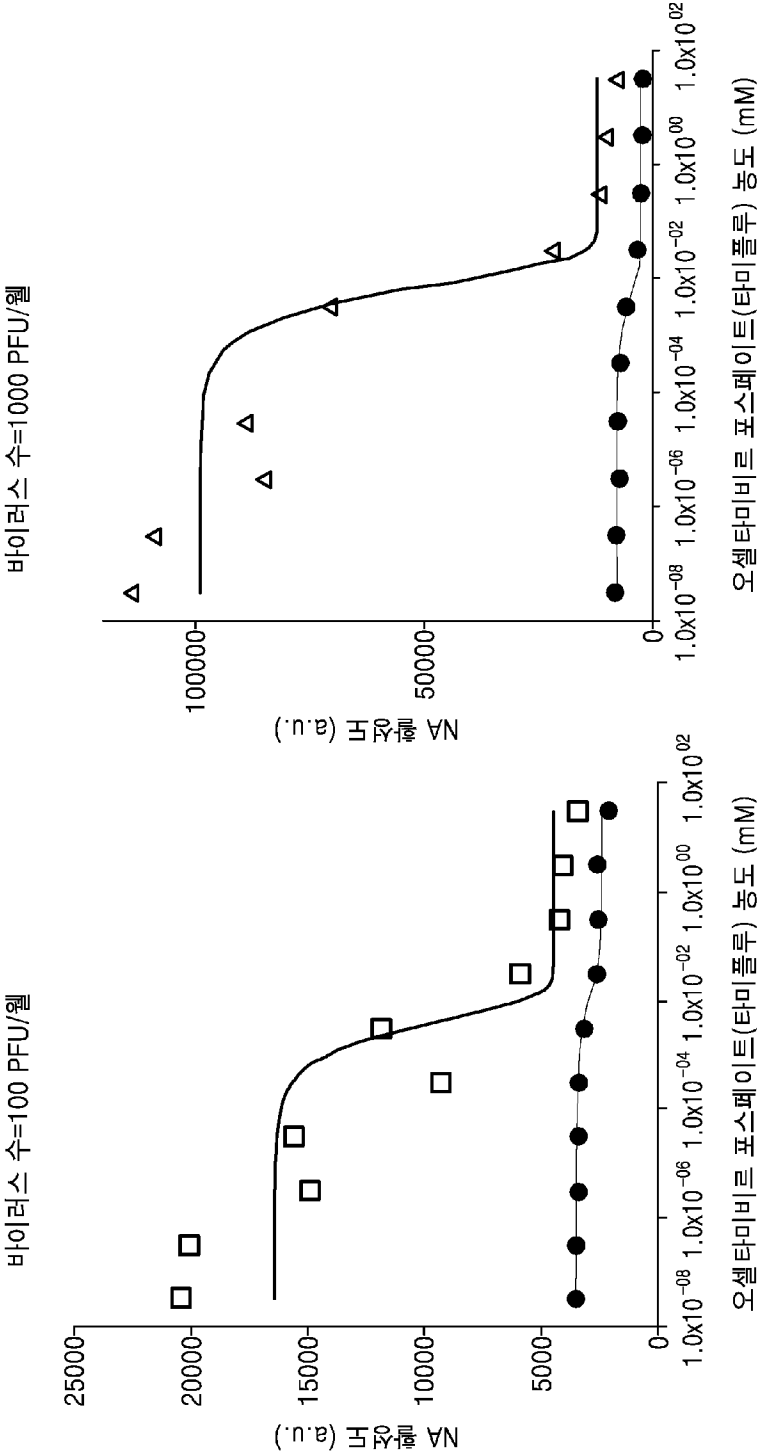
[도4]



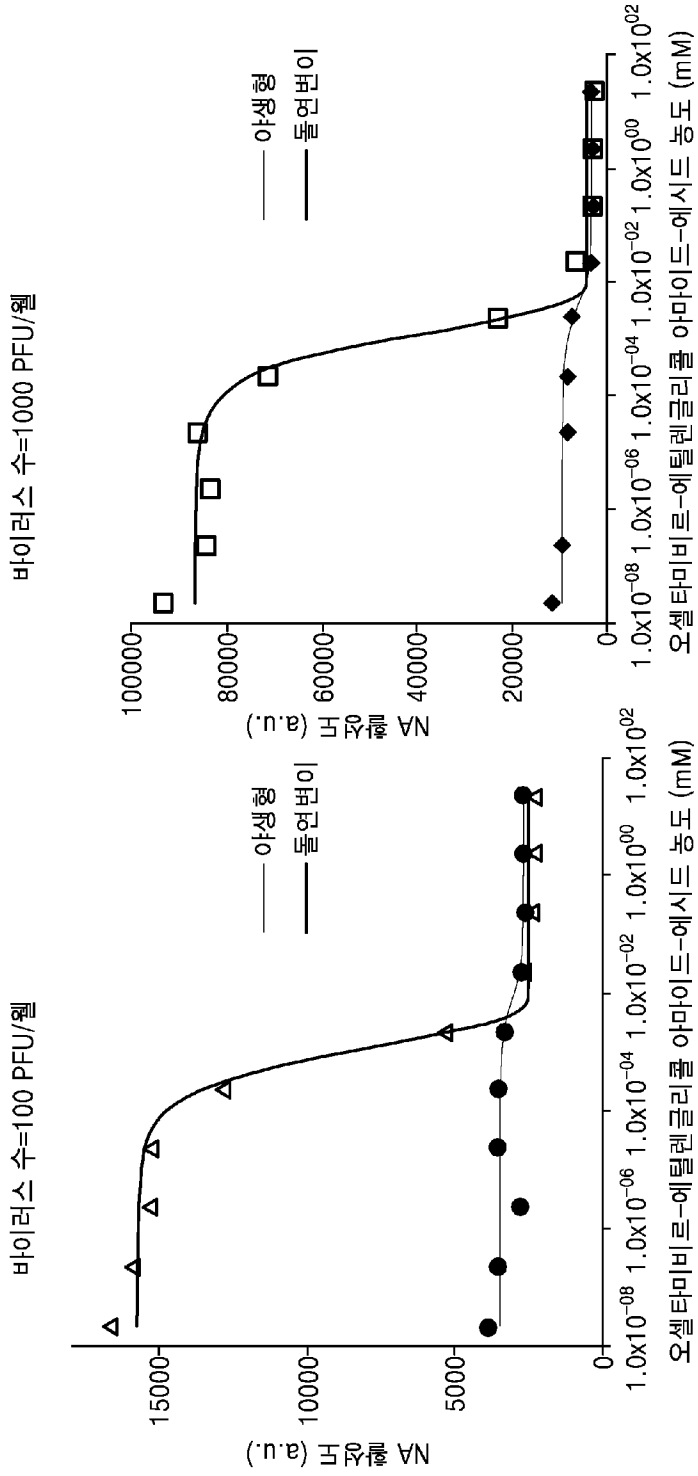
[도5]



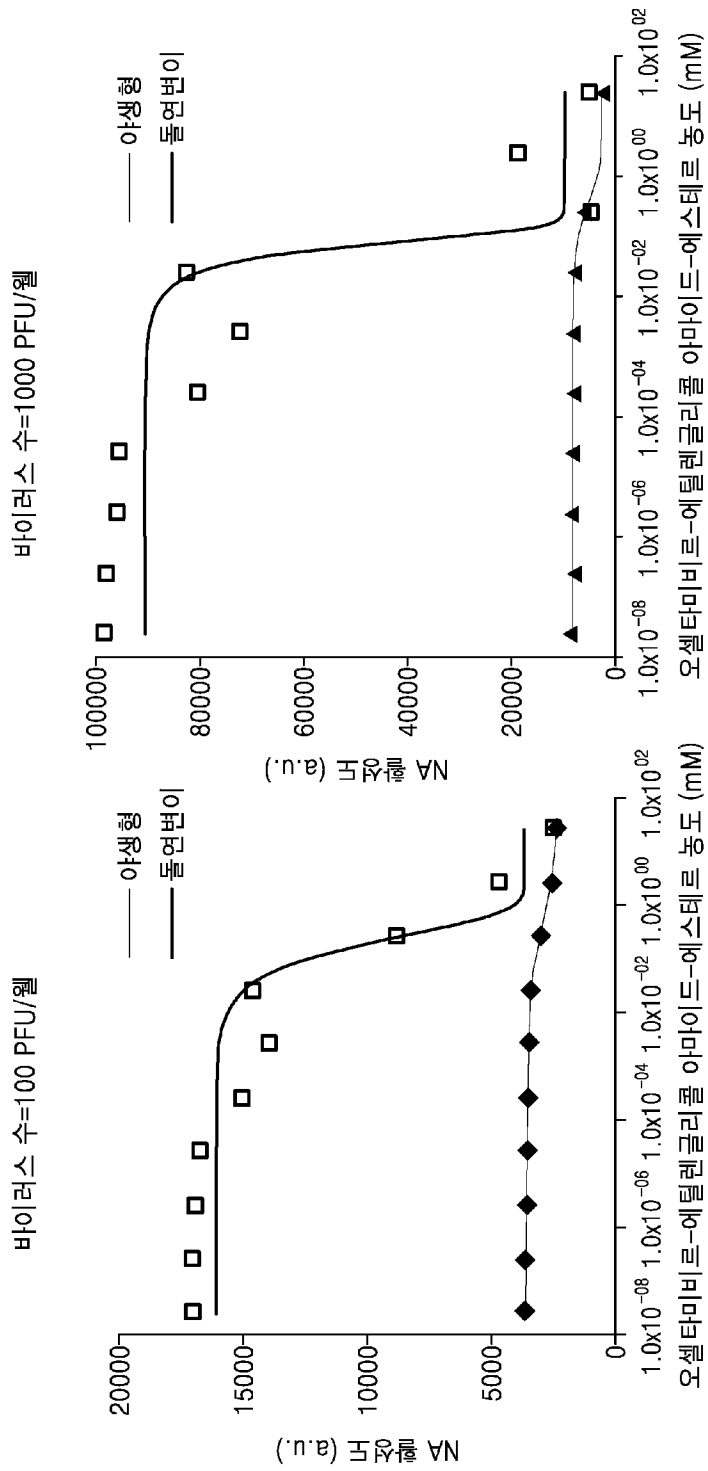
[도6]



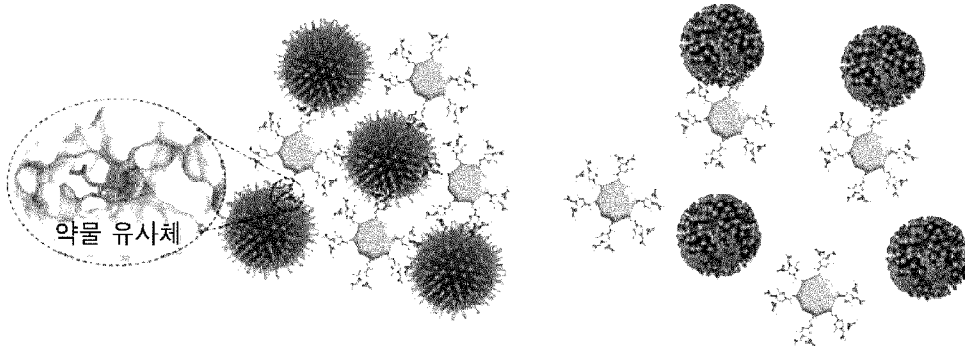
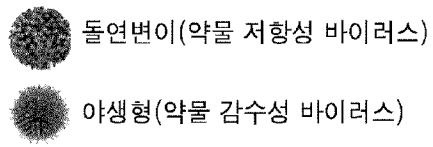
[도7]



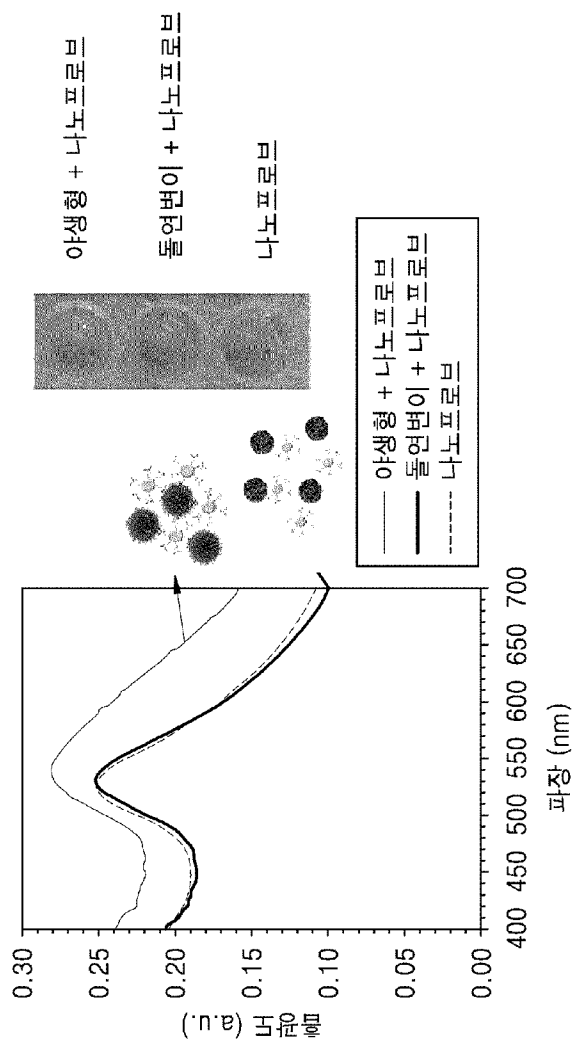
[도8]



[도9]



[도10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/003610**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****G01N 31/22(2006.01)i, G01N 33/569(2006.01)i, A61K 31/19(2006.01)i, C07C 229/38(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 31/22; C07C 335/14; A61K 31/665; A61K 31/683; C07C 275/26; C12N 15/44; C12N 15/11; C12Q 1/68; G01N 33/569; A61K 31/19; C07C 229/38

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: resistance, adaptation, resistant, oseltamivir, tamiflu, antiviral, influenza

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2013-0022896 A (CHEM. TECH. RESEARCH INC. (C-TRI)) 07 March 2013 See paragraphs [0007]-[0068]; and claims 1-9.	1-6
A	KR 10-2013-0085950 A (ACADEMIA SINICA) 30 July 2013 See paragraphs [0010]-[0295]; claims 1-34; and figures 1-14.	1-6
A	KR 10-2011-0086963 A (PANAGENE INC.) 02 August 2011 See paragraphs [0011]-[0065]; claims 1-13; and figures 1-6.	1-6
A	KR 10-2011-0114981 A (REPUBLIC OF KOREA(MANAGEMENT: KOREA CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION)) 20 October 2011 See the entire document.	1-6
A	KR 10-2012-0122385 A (BIONEER CORP.) 07 November 2012 See the entire document.	1-6



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 JULY 2016 (13.07.2016)

Date of mailing of the international search report

13 JULY 2016 (13.07.2016)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/003610

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2013-0022896 A	07/03/2013	KR 10-1331167 B1	19/11/2013
KR 10-2013-0085950 A	30/07/2013	CA 2835489 A1	17/11/2011
		CN 103068378 A	24/04/2013
		EP 2568976 A2	20/03/2013
		EP 2568976 B1	30/09/2015
		JP 2013-528160 A	08/07/2013
		US 2013-0225532 A1	29/08/2013
		WO 2011-143262 A2	17/11/2011
		WO 2011-143262 A3	01/03/2012
KR 10-2011-0086963 A	02/08/2011	NONE	
KR 10-2011-0114981 A	20/10/2011	KR 10-1254663 B1	06/05/2013
KR 10-2012-0122385 A	07/11/2012	WO 2012-148024 A1	01/11/2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 31/22(2006.01)i, G01N 33/569(2006.01)i, A61K 31/19(2006.01)i, C07C 229/38(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 31/22; C07C 335/14; A61K 31/665; A61K 31/683; C07C 275/26; C12N 15/44; C12N 15/11; C12Q 1/68; G01N 33/569; A61K 31/19; C07C 229/38

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 저항성, 적응, 내성, 오셀타미비르, 타미플루, 항바이러스, 인플루엔자

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2013-0022896 A (주식회사 씨트리) 2013.03.07 단락 [0007]-[0068]; 및 청구항 1-9항 참조.	1-6
A	KR 10-2013-0085950 A (아카데미아 시니카) 2013.07.30 단락 [0010]-[0295]; 청구항 1-34항; 및 도면 1-14 참조.	1-6
A	KR 10-2011-0086963 A (주식회사 파나진) 2011.08.02 단락 [0011]-[0065]; 청구항 1-13항; 및 도면 1-6 참조.	1-6
A	KR 10-2011-0114981 A (대한민국(관리부서 질병관리본부장)) 2011.10.20 전체 문서 참조.	1-6
A	KR 10-2012-0122385 A ((주)바이오니아) 2012.11.07 전체 문서 참조.	1-6

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2016년 07월 13일 (13.07.2016)

국제조사보고서 발송일

2016년 07월 13일 (13.07.2016)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

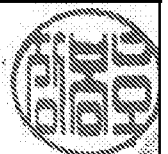
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

장봉호

전화번호 +82-42-481-3353



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0022896 A	2013/03/07	KR 10-1331167 B1	2013/11/19
KR 10-2013-0085950 A	2013/07/30	CA 2835489 A1	2011/11/17
		CN 103068378 A	2013/04/24
		EP 2568976 A2	2013/03/20
		EP 2568976 B1	2015/09/30
		JP 2013-528160 A	2013/07/08
		US 2013-0225532 A1	2013/08/29
		WO 2011-143262 A2	2011/11/17
		WO 2011-143262 A3	2012/03/01
KR 10-2011-0086963 A	2011/08/02	없음	
KR 10-2011-0114981 A	2011/10/20	KR 10-1254663 B1	2013/05/06
KR 10-2012-0122385 A	2012/11/07	WO 2012-148024 A1	2012/11/01