



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년01월05일
(11) 등록번호 10-1692480
(24) 등록일자 2016년12월28일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/12 (2006.01) A23K 1/16 (2006.01)
A61K 31/015 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/12 (2013.01)
A23K 20/111 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2015-0093923
(22) 출원일자 2015년07월01일
심사청구일자 2015년07월01일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020160007950 A
논문(BIOMEDICAL RESEARCH, VOLUME 21, ISSUE 2, 2010)
논문(MEDICINAL CHEMISTRY RESEARCH, VOLUME 23, ISSUE 2, 2014.02)
논문(BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, VOLUME 19, ISSUE 7, 2009.04)

- (73) 특허권자
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)
전북대학교 산학협력단
전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 (덕진동1가)
(72) 발명자
서영호
대구광역시 수성구 청수로 257 1304동 1002호 (황금동, 캐슬골드파크3단지)
김원일
전라북도 전주시 덕진구 호성로 170 308동 403호 (호성동2가, 진흥더블파크3단지아파트)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 강승진

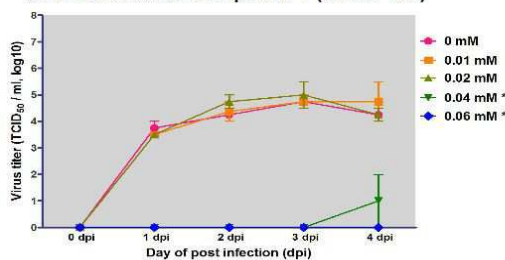
(54) 발명의 명칭 가축 바이러스 질환 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

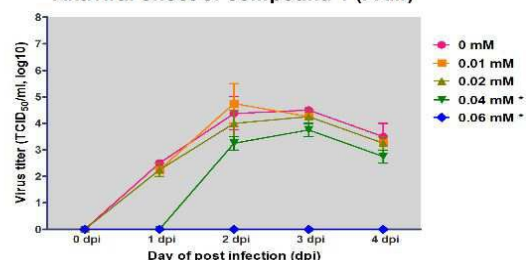
본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 가축 바이러스 질환 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 화합물은 돼지 호흡기 생식기 증후군 바이러스와 같이 질병을 유발시키는 가축 바이러스의 증식 및 감염을 억제함으로써, 바이러스에 의한 질병을 효과적으로 예방할 수 있다.

대표도 - 도1

Antiviral effect of compound 1 (MARC-145)



Antiviral effect of compound 1 (PAM)



(52) CPC특허분류

A61K 31/015 (2013.01)

(72) 발명자

김범석

전라북도 전주시 덕진구 호성로 170 305동 1104호
(호성동2가, 진흥더블파크3단지아파트)

조호성

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

이상명

전라북도 익산시 약촌로 202 104동 611호 (영등
동, 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

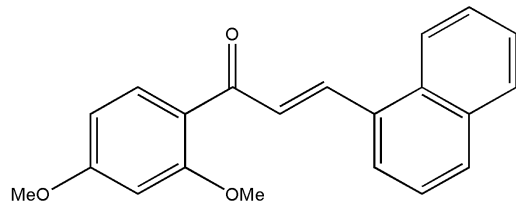
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스 질환 예방 또는 치료용 조성물.

[화학식 1]



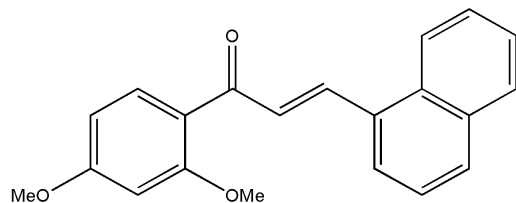
청구항 2

삭제

청구항 3

하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하며, 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스 활성을 억제하는 가축용 사료 첨가제.

[화학식 1]



청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 가축용 사료 첨가제는 돼지, 소, 닭, 염소, 양, 말, 어류, 개 및 고양이로 이루어진 군에서 선택된 가축에게 제공되는 것을 특징으로 하는 가축용 사료 첨가제.

청구항 5

삭제

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 가축 바이러스 질환을 예방하거나 치료하는 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[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 정액성 상의 이상을 일으키는 등의 번식장애와 호흡기 증상으로 인한 성장부진을 나타내는 질병이다.

[0004] PRRS 바이러스(PRRSV)는 크게 미국형과 유럽형으로 나뉘지며, 1987년 미국에

[0005] 서 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.

[0006] 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

[0007] (특허문헌 0001) 미국공개특허 2014-0161768 A1(2014.06.12)

발명의 내용

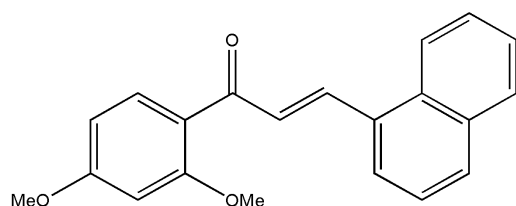
해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 조성물을 제공하여, 가축 바이러스에 의해 유발되는 질병을 효과적으로 예방하거나 치료하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 가축 바이러스 질환 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0010] [화학식 1]



[0011]

[0012] 또한, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 사료 첨가제를 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명에 따른 화합물은 돼지 호흡기 생식기 증후군 바이러스와 같이 질병을 유발시키는 가축 바이러스의 증식 및 감염을 억제함으로써, 바이러스에 의한 가축 질병을 효과적으로 예방하거나 치료할 수 있다.

도면의 간단한 설명

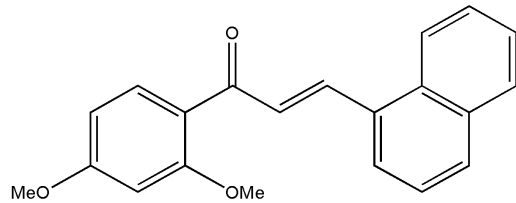
[0014] 도 1은 복미형 PRRSV의 표준주인 VR2332가 감염된 MARC-145 또는 PAM 세포에 0, 0.01, 0.02, 0.04 또는 0.06 mM 농도의 화합물 1을 투여하고 24시간 마다 VR2332 증식 억제 효과를 확인한 그래프이다.

도 2는 MARC-145 또는 PAM 세포에서 0, 0.01, 0.02, 0.04 또는 0.06 mM 농도의 화합물 1을 처리하고 세포독성을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 가축 바이러스 질환 예방 또는 치료용 조성물을 제공할 수 있다.

[0016] [화학식 1]



[0017]

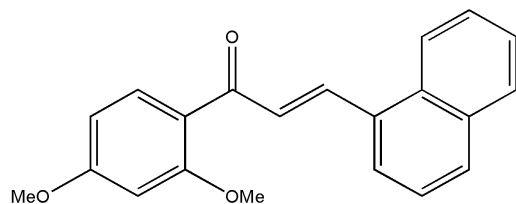
[0018] 상기 화합물은 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스, 돼지 유행성설사(Porcine Epidemic Diarrhea; PED)바이러스, 돼지전염성위장염(Transmissible Gastroenteritis; TGE)바이러스, 돼지 쉼코바이러스 2형(Porcine circovirus type 2; PCV2)바이러스, 소바이러스설사(Bovine Viral Diarrhea; BVD)바이러스, 다양한 축종의 로타바이러스(Rotavirus), 코로나바이러스(Coronavirus), 파보바이러스(Parvovirus), 칼리시바이러스(Calicivirus), 인플루엔자바이러스(Influenzavirus), 플라비바이러스(Flavivirus), 피코르나바이러스(Picornavirus), 페스티바이러스(Pestivirus), 램도바이러스(Rhabdovirus), 버나바이러스(Birnavirus), 레트로바이러스(Retrovirus) 및 허피스바이러스(Herpesvirus)로 이루어진 군에서 선택된 가축 바이러스를 억제할 수 있으며, 보다 바람직하게는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0019] 본 발명의 일실시예에 따르면, 복미형 PRRSV의 표준주인 VR2332가 접종된 MARC-145 및 PAM 세포에 화학식 1로 표시되는 화합물을 처리한 결과, 도 1과 같이 0.04 mM 농도의 화합물이 포함된 배지에서 배양된 MARC-145 및 PAM 세포에서 PRRSV의 증식이 유의성 있게 감소하였으며, 0.06 mM 농도의 화합물이 포함된 배지에서 배양된 MARC-145 및 PAM 세포에서는 PRRSV의 증식이 완전히 억제되었다.

[0020] 상기 결과로부터 화학식 1로 표시되는 화합물이 가축 바이러스의 증식 및 감염을 효과적으로 억제하는 것을 확인하였다.

[0021] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 함유하는 사료 첨가제를 제공할 수 있다.

[0022] [화학식 1]



[0023]

[0024] 상기 사료 첨가제는 돼지, 소, 닭, 염소, 양, 말, 어류, 개 및 고양이로 이루어진 군에서 선택된 가축에게 제공될 수 있으며, 보다 바람직하게는 돼지일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0025] 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)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 허피스바이러스(Herpesvirus)로 이루어진 군에서 선택된 가축 바이러스 활성을 억제할 수 있다.

[0026] 보다 바람직하게는 돼지 호흡기 생식기 증후군(Porcine Respiratory Reproductive Syndrome; PRRS) 바이러스일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0027] 상기 사료는 일반적으로 가축 사육에 사용되는 공지된 구성의 사료에 본 발명의 사료 첨가용 조성물을 추가하여 구성될 수 있다.

[0028] 상기 공지된 구성의 사료는 시판되고 있는 일반사료를 모두 포함할 수 있으며, 이에 한정되지는 않으나, 미강, 옥수수, 대두박, 콩, 수수, 쌀, 보리, 밀, 귀리, 호밀, 좁쌀, 메밀, 티리티게일, 고구마, 타피오카, 밀기울, 맥강, 대두피, 옥수수겨, 맥아근, 전분박, 커피박, 잠분, 잠사, 해조분, 면실박, 채종박, 캐놀라밀, 임자박, 호마박, 아마박, 해바라기씨박, 낙화생박, 야자박, 옥수수 글루텐, 주정박, 옥수수 배아박, 고추씨박, 루핀종실, 어분, 우모분 및 육분일 수 있다.

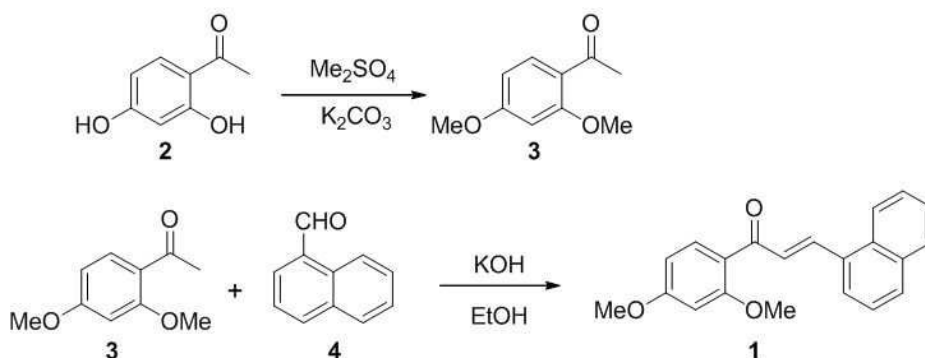
[0029] 또한 상기 조성물에는 일반적인 사료 첨가제, 예를 들면, 소금, 골분, 인산 칼슘제, 무기물 혼합제, 비타민제, 아미노산제, 항생물질, 호르몬제 등의 특수목적에 위한 사료 첨가제가 사용될 수 있다.

[0030] 본 발명에 따른 사료 첨가용 조성물은 가축 또는 가금류에게 1 일 0.5 내지 1.0g/kg의 양으로 투여할 수 있으며, 이러한 투여량은 투여대상이 되는 동물의 종류, 동물의 나이, 동물의 체중, 동물의 예방하고자 하는 질병, 원하는 효과 등에 따라 당해 분야의 전문가가 적절히 조절할 수 있다.

[0031] 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.

[0032] <합성예 1> 화합물 1 합성과정

[0033] [반응식 1]



[0034]

[0035] 1. 화합물 3 합성

[0036] 2,4-디하이드록시아세토폰(10.0 g, 65.72 mmol), 디메틸 설페이트(12.8 mL, 134.74 mmol) 및 포타슘 카보네이트(20.0 g, 144.6 mmol)를 아세톤에 용해시킨 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 그 후, 아르곤하 환류응축기에서 65℃로 6시간 동안 추가로 교반하였다.

[0037] 상기 반응혼합물을 여과하여 포타슘 카보네이트를 제거하고, 여과물을 감압농축하여 얻은 조산물을 에틸 아세테이트로 용해시켰다.

[0038] 그 후, 유기층을 NaHCO₃ 용액으로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시킨 후 감압농축하고, MPLC로 정제하여 화합물 3을 98% 수율로 얻었다.

[0039] R_f = 0.38 (1:4 ethyl acetate: hexane). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.67 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.36 (dd, J = 8.8 Hz, 2.4Hz, 1H), 6.30 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 2.42 (s, 3H) ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 196.99, 164.22, 160.76, 132.12, 120.55, 104.86, 97.75, 55.04, 55.00, 31.41.

[0040] 2. 화합물 1 합성

- [0041] 화합물 3(0.467 g, 2.56 mmol)과 1-나프탈알데하이드(화합물 4, 0.38 mL, 2.816 mmol) 및 수산화칼륨(0.5 g)을 메탄올 10 mL에 녹인 혼합물을 12시간 동안 실온에서 교반한 후, 상기 혼합물을 에틸아세테이트로 회석하였다.
- [0042] 유기층을 1N HCl 용액으로 세척하고, Na₂SO₄로 건조시킨 후 감압농축 하고, MPLC로 정제하여 화합물 1을 81.9% 수율로 얻었다.
- [0043] R_f = 0.31 (4:6 ethyl acetate: hexane). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.55 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.89-7.83(m, 4H), 7.63(d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 7.57-7.46(m, 3H), 6.57 (dd, *J* = 8 Hz, 2.4 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 2 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.828 (s, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 190.02, 164.14, 160.33, 138.48, 133.46, 132.82, 132.62, 131.52, 129.9, 129.56, 128.45, 126.48, 125.92, 125.26, 124.78, 123.43, 121.78, 105.10, 98.28, 55.46, 55.29
- [0044] 하기의 참조예는 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는 참조예를 제공하기 위한 것이다.
- [0045] **<참조예 1> 물질 준비**
- [0046] 합성예 1과 같은 방법으로 합성된 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. 또한 모든 실험에 사용된 화합물의 순도는 95% 이상이었다.
- [0047] **<참조예 2> 세포 및 바이러스 배양**
- [0048] 복미형 PRRSV의 표준주인 VR2332(American Type Culture Collection; ATCC)를 구입하여 사용하였으며, 당 실험실에서 유지중인 PRRS 바이러스의 감수성 주화세포주인 MARC-145와 돼지폐포대식세포(Porcine Alevolar Macrophage, 이하 PAM)를 PRRSV에 대한 화합물의 효과 평가에 사용하였다. 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.
- [0049] **<실시예 1> in vitro에서 PRRS 바이러스에 대한 화합물의 항바이러스 효과 확인**
- [0050] 1. 세포를 이용한 항바이러스 효과 확인
- [0051] 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 화합물 1이 포함된 RPMI 배양 배지로 교체하여 4일간 배양하였다.
- [0052] 배양기간 동안 24시간 마다 배양 상층액을 수거하여 바이러스 역가를 Karber 방법을 이용하여 TCID₅₀로 측정하였다.
- [0053] 그 결과 도 1과 같이, VR2332 접종 후 0.04 mM 농도의 화합물 1이 포함된 배지에서 배양된 MARC-145 및 PAM 세포에서 PRRSV의 증식이 유의성 있게 감소하였으며, 0.06 mM 농도의 화합물 1이 포함된 배지에서 배양된 MARC-145 및 PAM 세포에서는 PRRSV의 증식이 완전히 억제되었다.
- [0054] 2. 세포 독성 확인
- [0055] 상기 결과와 같이 PRRSV의 증식 억제가 화합물 1에 의한 세포 독성 때문인지를 확인하기 위해, 화합물 1의 세포 독성을 확인하였다.
- [0056] 세포 독성 평가를 위해, 0 내지 0.06 mM 농도의 화합물 1이 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.

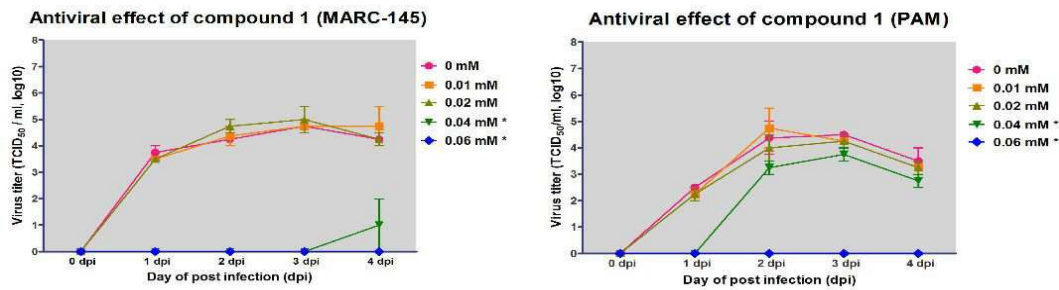
[0057] 그 결과 도 2와 같이 화합물 1이 포함되지 않은 배지에서 배양된 세포와 비교하여 화합물에 의해 유의한 세포 독성이 나타나지 않았다.

[0058] 상기 결과들로부터 화합물 1은 정상세포에는 세포 독성을 나타내지 않으면서, PRRS 바이러스의 증식을 억제시키는 것을 확인할 수 있었다.

[0059] 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



도면2

