(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0013202
(43) 공개일자 2021년02월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 33/02* (2006.01) *A23K 20/24* (2016.01)
*A23K 50/10* (2016.01) *A61K 33/04* (2006.01)
*A61K 33/14* (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
*A61P 43/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 33/02* (2013.01)
*A23K 20/24* (2016.05)
(21) 출원번호 10-2020-7037286
(22) 출원일자(국제) 2019년05월20일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년12월23일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2019/062958
(87) 국제공개번호 WO 2019/224149
국제공개일자 2019년11월28일
(30) 우선권주장
18173742.0 2018년05월23일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
**베링거잉겔하임베트메디카게엠베하**
독일 잉겔하임 55218
(72) 발명자
**차스펠 다닐**
독일 55216 잉겔하임 암 라인 빙거 슈트라쎄 173 베링거 잉겔하임 인터내셔날 게엠베하 코포라테 파텐츠
**부베크 위르겐**
독일 55216 잉겔하임 암 라인 빙거 슈트라쎄 173 베링거 잉겔하임 인터내셔날 게엠베하 코포라테 파텐츠
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**장훈**

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **젖소의 건유에서의 경구 볼루스의 용도**

## (57) 요 약

본 발명은, 소를, 바람직하게는 젖소를 건유시키기 위한 경구 볼루스의 용도, 및 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 소의 건유를 개선/촉진하고, 임신 및/또는 비유 중인 소의 우유 생산을 감소시키고, 소의 유방에서의 우유 축적을 감소시키고, 소의 일일 누워있는 시간을 증가시키고, 소의 경증이고 일시적인 대사성 산증을 유도하고, 소의 건물 섭취량(DMI)을 감소시키고/시키거나, 소의, 바람직하게는 젖소의 소변의 pH를 감소시키는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
*A23K 50/10* (2016.05)
*A61K 33/04* (2013.01)
*A61K 33/14* (2013.01)
*A61K 9/0053* (2013.01)
*A61P 43/00* (2018.01)
(72) 발명자
**엔데를레 홀거**
독일 55216 잉겔하임 암 라인 빙거 슈트라쎄 173 베링거 잉겔하임 인터내셔날 게엠베하 코포라테 파텐츠
**고뷔 라우렌트**
독일 55216 잉겔하임 암 라인 빙거 슈트라쎄 173 베링거 잉겔하임 인터내셔날 게엠베하 코포라테 파텐츠
**회이팡-닐젠 라이프**
독일 55216 잉겔하임 암 라인 빙거 슈트라쎄 173 베링거 잉겔하임 인터내셔날 게엠베하 코포라테 파텐츠

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

소를, 바람직하게는 젖소를 건유(drying-off)시키기 위한, 경구 볼루스(oral bolus)의 용도.

### 청구항 2

소의, 바람직하게는 젖소의 건유를 개선/촉진하는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 방법.

### 청구항 3

임신 및/또는 비유 중인 소에서, 바람직하게는 임신 및/또는 비유(lactating) 중인 젖소에서 우유 생산을 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 방법.

### 청구항 4

소의, 바람직하게는 젖소의 유방에서의 우유 축적을 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스을 투여함을 포함하는, 방법.

### 청구항 5

소의, 바람직하게는 젖소의 일일 누워있는 시간(lying time)을 증가시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 방법.

### 청구항 6

건유시 소에서, 바람직하게는 젖소에서 경증이고 일시적인 대사성 산증을 유도하는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 방법.

### 청구항 7

소에서, 바람직하게는 젖소에서 건물 섭취량(DMI: dry matter intake)을 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 방법.

### 청구항 8

소에서, 바람직하게는 젖소에서 소변의 pH를 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 방법.

### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 바람직하게는 마지막 착유일의 그리고/또는 바람직하게는 건유 전의 상기 경구 볼루스의 투여가 다음 효과들 중 하나 이상을 유발하는, 용도 또는 방법:

(a) 바람직하게는 볼루스 투여 후 적어도 48시간 동안, 임신 및/또는 비유 중인 소의 우유 생산 감소; 및/또는

(b) 바람직하게는 건유 후 며칠 동안, 그리고 볼루스 투여가 건유 8시간 내지 12시간 전에 발생시 유방에서의 우유 축적의 감소 및 이에 의한 유방 압력의 감소; 및/또는

(c) 바람직하게는 건유 익일에 일일 누워있는 시간의 증가; 및/또는

(d) 건유시 경증이고 일시적인 대사성 산증의 유도; 및/또는

(e) 바람직하게는 건유 후 며칠 동안, 건물 섭취량(DMI)의 감소; 및/또는

(f) 볼루스 투여 후 소변의 pH의 감소.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경구 볼루스가 볼루스 또는 산생성(acidogenic) 볼루스를 포함하는 경구 음이온성 염인, 용도 또는 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 볼루스 또는 산생성 볼루스를 포함하는 상기 경구 음이온성 염이 사료 첨가제/사료 보충제로서 하나 이상의 산성화제를 포함하는, 용도 또는 방법.

**청구항 12**

제11항에 있어서, 상기 하나 이상의 산성화제가 염화암모늄, 염화칼슘 및/또는 황산칼슘으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는, 용도 또는 방법.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 상기 하나 이상의 산성화제가, 염화암모늄 및 염화칼슘 및 황산칼슘, 보다 바람직하게는 10.4%(w/w)의 염화암모늄 및 51.9%(w/w)의 염화칼슘 및 20.1%(w/w)의 황산칼슘인, 용도 또는 방법.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 소가, 바람직하게는 젖소가 임신 및/또는 비유 중인 암소(cow), 바람직하게는 임신 및/또는 비유 중인 홀스타인(Holstein) 암소인, 용도 또는 방법.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 건유 전에, 상기 경구 볼루스가 1회, 2회, 3회, 4회 또는 그 이상 투여되는, 용도 또는 방법.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 보다 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 건유 전에, 보다 바람직하게는 건유 전 마지막 착유 약 12 내지 8시간 전에 상기 경구 볼루스가 2회 투여되는, 용도 또는 방법.

**청구항 17**

하나 이상의 산성화제, 바람직하게는 염화암모늄, 염화칼슘 및/또는 황산칼슘, 보다 바람직하게는 염화암모늄 및 염화칼슘 및 황산칼슘, 보다 더 바람직하게는 5 내지 15%(w/w)의 염화암모늄 및 40 내지 60%(w/w)의 염화칼슘 및 15 내지 25%(w/w)의 황산칼슘, 가장 바람직하게는 10.4%(w/w)의 염화암모늄 및 51.9%(w/w)의 염화칼슘 및 20.1%(w/w)의 황산칼슘으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 산성화제를 포함하는, 고체 볼루스 형태의 칼슘 함유 제제.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 의학, 특히 수의학 분야에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 소의, 바람직하게는 젖소의 건유(drying-off)에서의 볼루스(bolus) 또는 산생성(acidogenic) 볼루스를 포함하는, 경구용의, 바람직하게는 음이온성 염의 용도에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 암소(cow)의 건유는 암소의 생산 주기의 중요한 시기로 널리 인식되어 왔다. 지난 수십 년 동안 우유 생산량이 증가함에 따라, 비유(lactating)에서 건유로의 전환이 동물 건강 및 복지 측면에서 암소에게 점점 더 어려워지고 있는 것으로 있는 것으로 제시되어 왔다. 동물 건강의 관점에서, 착유의 중단은 우유의 생산에 대한 해로운

결과가 다음 비유까지 지속될 수 있는, 새로운 유방내 감염의 증가된 위험과 관련이 있다. 이러한 증가된 위험에 기여하는 요인들 중 하나는 건유 후 즉각적인 기간 동안 유선에서 지속적으로 우유가 생산된다는 것이다: 우유가 유방에 축적되고 증가된 유방 압력은 유두에서 우유 누출(ML: milk leakage)을 유발할 수 있다. 우유 누출은, 퇴축(involution) 과정으로 인해, 유선에서의 자연 보호 활동이 손상되는 순간과 동시에 미생물이 유방에 서식할 수 있게 한다. ML 이외에, 착유 중지 후 증가된 유방내 압력은 젖소에게 잠재적으로 불편함을 유발하여 눕는(lying) 행동을 변경할 수 있다.

[0003] 현재의 기술은 급식 식이 조절의 변화와 결합된 착유의 점진적인 또는 잔인한 중단이다. 카버골린과 같은 약물을 사용할 수 있다. 그러나, 카버골린은 합성 맥각 유도체로, D2 수용체에 대한 강력한 도파민 수용체 작용제이다. 카버골린은 뇌하수체에서 프로락틴 생산 세포의 도파민 수용체에 작용하여, 프로락틴 생산을 억제하고 프로락틴 분비 의존 과정을 억제한다. 결과적으로, 카버골린 투여는 우유 생산의 감소를 유도하여 유방의 울혈 및 유방내 압력을 감소시킨다. 카버골린은 일부 국가에서 우유 생산을 감소시킴에 의한 갑작스러운 건유의 조제로서 젖소(dairy cow)에서 사용하도록 등록되어 있어, 건유시 우유 누출을 감소시키고, 건유 기간 동안 새로운 유방내 감염의 위험을 줄이고, 불편함을 감소시킨다. 그러나, 심각한 부작용이 의심되어 카버골린에 대한 EU에서의 판매 허가는 2016년에 중단되었다.

[0004] Rerat M 및 Schlegel P(Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2013, 98(3): 458-466)는 분만 전후 젖소의 산 염기 및 미네랄 상태에 대한 식이 칼륨 및 음이온성 염의 효과를 개시한다.

[0005] Stokes SR(http://oaktrust.library.tamu.edu/bitstream/handle/1969.1

[0006] /86766/pdf_1016.pdf?sequence=1)은 클로즈-업(close-up) 건유 암소를 위한 음이온성 염 프로그램을 개시한다.

[0007] US 2002/0150633은 건유 암소 보충제를 개시한다.

[0008] EP 0 943 246은 건유 기간 동안 암소를 급식하기 위한 완전한 여물(fodder)을 개시한다.

[0009] US 5,360,823은 젖소의 우유 열병 예방 및 치료 방법을 위한 음이온성 염 제제를 개시한다.

[0010] Oetzel GR 및 Miller BE(Journal of Dairy Science 2012, 95(12): 7051-7065)는 상업용 가축(herd)의 조기 비유 건강 및 우유 생산량에 대한 경구 칼슘 볼루스 보충제의 효과를 개시한다.

[0011] 선행 기술의 문제점들을 극복하는, 소의 건유의 개선/촉진에 대한 시급한 요구가 있다.

## *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

### *과제의 해결 수단*

### *발명의 효과*

[0012] 본 발명은 소를, 바람직하게는 젖소를 건유시키기 위한 경구 볼루스(oral bolus)의 용도에 관한 것이다.

[0013] 경구 볼루스를 투여함을 포함하는, 소를, 바람직하게는 젖소를 건유시키는 상응하는 방법, 소를, 바람직하게는 젖소를 건유시키는 방법에 사용하기 위한 상응하는 경구 볼루스, 및 소를, 바람직하게는 젖소를 건유시키기 위한 의약의 제조를 위한 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0014] 본 발명은 또한, 소의, 바람직하게는 젖소의 건유를 개선/촉진하는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0015] 소의, 바람직하게는 젖소의 건유를 개선/촉진하기 위한 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도, 소의, 바람직하게는 젖소의 건유를 개선/촉진하는 방법

에 사용하기 위한 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스, 및 소의, 바람직하게는 젖소의 건유를 개선/촉진하기 위한 의약의 제조에서의 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0016] 본 발명은 또한, 임신 및/또는 비유 중인 소에서, 바람직하게는 임신 및/또는 비유 중인 젖소에서 우유 생산을 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0017] 임신 및/또는 비유 중인 소에서, 바람직하게는 임신 및/또는 비유 중인 젖소에서 우유 생산을 감소시키기 위한 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도, 임신 및/또는 비유 중인 소에서, 바람직하게는 임신 및/또는 비유 중인 젖소에서 우유 생산을 감소시키기 위한 방법에 사용하기 위한 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스, 및 임신 및/또는 비유 중인 소에서, 바람직하게는 임신 및/또는 비유 중인 젖소에서 우유 생산을 감소시키기 위한 의약의 제조에서의 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0018] 본 발명은 또한, 소의, 바람직하게는 젖소의 유방에서의 우유 축적을 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0019] 소의, 바람직하게는 젖소의 유방에서의 우유 축적을 감소시키기 위한 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도, 소의, 바람직하게는 젖소의 유방에서의 우유 축적을 감소시키는 방법에 사용하기 위한 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스, 및 소의, 바람직하게는 젖소의 유방에서의 우유 축적을 감소시키기 위한 의약의 제조에서의 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0020] 본 발명은 또한, 소의, 바람직하게는 젖소의 일일 누워있는 시간을 증가시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0021] 소의, 바람직하게는 젖소의 일일 누워있는 시간을 증가시키기 위한 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도, 소의, 바람직하게는 젖소의 일일 누워있는 시간을 증가시키는 방법에 사용하기 위한 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스, 및 소의, 바람직하게는 젖소의 일일 누워있는 시간을 증가시키기 위한 의약의 제조에서의 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0022] 본 발명은 또한, 소에서, 바람직하게는 젖소에서 경증이고 일시적인 대사성 산증을 유도하는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0023] 소에서, 바람직하게는 젖소에서 경증이고 일시적인 대사성 산증을 유도하기 위한 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게

는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도, 소에서, 바람직하게는 젖소에서 경증이고 일시적인 대사성 산증을 유도하는 방법에 사용하기 위한 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스, 및 소에서, 바람직하게는 젖소에서 경증이고 일시적인 대사성 산증을 유도하기 위한 의약의 제조에서의 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0024] 본 발명은 또한, 소에서, 바람직하게는 젖소에서 건물 섭취량(DMI: dry matter intake)을 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0025] 소에서, 바람직하게는 젖소에서 건물 섭취량(DMI)을 감소시키기 위한 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도, 소에서, 바람직하게는 젖소에서 건물 섭취량(DMI)을 감소시키는 방법에 사용하기 위한 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스, 및 소에서, 바람직하게는 젖소에서 건물 섭취량(DMI)을 감소시키기 위한 의약의 제조에서의 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0026] 본 발명은 또한, 소의, 바람직하게는 젖소의 소변의 pH를 감소시키는 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 적어도 하나의 경구 볼루스를 투여함을 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0027] 소의, 바람직하게는 젖소의 소변의 pH를 감소시키기 위한 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도, 소의, 바람직하게는 젖소의 소변의 pH를 감소시키는 방법에 사용하기 위한 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 상응하는 적어도 하나의 경구 볼루스, 및 소의, 바람직하게는 젖소의 소변의 pH를 감소시키기 위한 의약의 제조에서의 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도로서, 상기 적어도 하나의 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 상기 소에게 투여되는 적어도 하나의 경구 볼루스의 상응하는 용도도 본 발명에 포함하고자 한다.

[0028] 본 발명에 따른 이점은 다음 이점들 중 하나 이상이다.

[0029] - 바람직하게는 볼루스 투여 후 적어도 48시간 동안, 임신 및/또는 비유 중인 소의 우유 생산 감소; 및/또는

[0030] - 바람직하게는 건유 후 며칠 동안, 그리고 볼루스 투여가 건유 8시간 내지 12시간 전에 발생시 유방에서의 우유 축적의 감소 및 이에 의한 유방 압력의 감소; 및/또는

[0031] - 바람직하게는 건유 익일에 일일 누워있는 시간의 증가; 및/또는

[0032] - 건유시 경증이고 일시적인 대사성 산증의 유도; 및/또는

[0033] - 바람직하게는 건유 후 며칠 동안, 건물 섭취량(DMI)의 감소; 및/또는

[0034] - 볼루스 투여 후 소변의 pH의 감소.

## *도면의 간단한 설명*

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0035] 본 발명의 양태들이 보다 상세히 설명되기 전에, 본원 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 단수 형태 "a",

"an" 및 "the"는 문맥이 달리 명확하게 지시하지 않는 한 복수 대상을 포함한다는 점에 유의해야 한다.

[0036] 달리 정의되지 않는 한, 본원 명세서에서 사용되는 모든 기술적 용어 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 업계의 숙련가에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 모든 주어진 범위 및 값은 달리 지시되거나 당업자에 의해 달리 공지되지 않는 한 1 내지 5% 변할 수 있으므로, 용어 "약"은 일반적으로 명세서 및 청구범위에서 생략되었다. 본원 명세서에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료(material)가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법, 장치 및 재료가 이하에 설명된다. 본원에 언급된 모든 간행물은 상기 간행물에 보고된 물질, 부형제, 담체 및 방법론을 설명하고 개시할 목적으로 인용에 의해 본원에 포함되며, 이들은 본 발명과 관련하여 사용될 수 있다. 본 명세서의 어떠한 것도 본 발명이 선행 발명으로 인해 이의 개시를 선행할 자격이 없다는 것을 인정하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0037] 본 발명의 과정에서 "볼루스"는 다음과 같이 정의된다: 바람직하게는 적어도 5g의 물질/재료 또는 예방 또는 치료 목적을 위해 투여되는 물질들/재료들의 조합을 제공하는 고체 투여 형태.

[0038] 본 발명의 과정에서 "건유"는 다음과 같이 정의된다: 비유 중인 암소의 착유 중단.

[0039] 본 발명의 과정에서 "건유의 개선/촉진"은 다음과 같이 정의된다: 우유 생산의 빠른 감소.

[0040] 일 측면에서, 본 발명은 본원에 개시되고 청구된 용도 또는 본원에 개시되고 청구된 방법으로서, 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 바람직하게는 건유 전에 경구 볼루스의 투여가 다음 효과들 중 하나 이상을 유발하는 용도 또는 방법에 관한 것이다:

[0041] (a) 바람직하게는 볼루스 투여 후 적어도 48시간 동안, 임신 및/또는 비유 중인 소의 우유 생산 감소; 및/또는

[0042] (b) 바람직하게는 건유 후 며칠 동안, 그리고 볼루스 투여가 건유 8시간 내지 12시간 전에 발생시 유방에서의 우유 축적의 감소 및 이에 의한 유방 압력의 감소; 및/또는

[0043] (c) 바람직하게는 건유 익일에 일일 누워있는 시간의 증가; 및/또는

[0044] (d) 건유시 경증이고 일시적인 대사성 산증의 유도; 및/또는

[0045] (e) 바람직하게는 건유 후 며칠 동안, 건물 섭취량(DMI)의 감소; 및/또는

[0046] (f) 볼루스 투여 후 소변의 pH의 감소.

[0047] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시되고 청구된 용도 또는 본원에 개시되고 청구된 방법으로서, 경구 볼루스가 볼루스 또는 산생성 볼루스를 포함하는 경구 음이온 염인 용도 또는 방법에 관한 것이다.

[0048] 본 발명의 과정에서 "볼루스 또는 산생성 볼루스를 포함하는 음이온성 염"은 다음과 같이 정의된다: 본원에 정의되는 산성화제를 활성 성분(들)으로서 함유하는 볼루스.

[0049] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재되고 청구된 용도 또는 본원에 기재되고 청구된 방법으로서, 볼루스 또는 산생성 볼루스를 포함하는 경구 음이온성 염이 사료 첨가제/사료 보충제로서 하나 이상의 산성화제를 포함하는 용도 또는 방법에 관한 것이다.

[0050] 본 발명의 과정에서 "산성화제"는 다음과 같이 정의된다: 경구 투여시, 암소의 혈액 및/또는 소변의 pH를, 혈액의 경우 약 pH 7.44이고 소변의 pH 8.30인 정상적인 생리학적 값에 비해 음의 방향으로 변화시키는 제제.

[0051] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시되고 청구된 용도 또는 본원에 개시되고 청구된 방법으로서, 하나 이상의 산성화제가 염화암모늄, 염화칼슘 및/또는 황산칼슘으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 용도 또는 방법에 관한 것이다.

[0052] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시되고 청구된 용도 또는 본원에 개시되고 청구된 방법으로서, 하나 이상의 산성화제가 염화암모늄 및 염화칼슘 및 황산칼슘, 보다 바람직하게는 10.4%(w/w)의 염화암모늄 및 51.9%(w/w)의 염화칼슘 및 20.1%(w/w)의 황산칼슘인 용도 또는 방법에 관한 것이다.

[0053] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시되고 청구된 용도 또는 본원에 개시되고 청구된 방법으로서, 상기 소는 임신 및/또는 비유 중인 암소, 바람직하게는 임신 및/또는 비유 중인 홀스타인(Holstein) 암소인 용도 또는 방법에 관한 것이다.

[0054] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시되고 청구된 용도 또는 본원에 개시되고 청구된 방법으로서, 경구 볼루스가 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 건유 전에, 1회, 2회, 3회, 4회 또는 그 이상 투여되는 용도

또는 방법에 관한 것이다.

[0055] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시되고 청구된 용도 또는 본원에 개시되고 청구된 방법으로서, 보다 바람직하게는 마지막 착유일에 그리고/또는 건유 전에, 보다 바람직하게는 건유 전 마지막 착유 약 12 내지 8시간 전에 경구 볼루스가 2회 투여되는 용도 또는 방법에 관한 것이다.

[0056] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 하나 이상의 산성화제, 바람직하게는 염화암모늄, 염화칼슘 및/또는 황산칼슘, 보다 바람직하게는 염화암모늄 및 염화칼슘 및 황산칼슘, 보다 더 바람직하게는 5 내지 15%(w/w)의 염화암모늄 및 40 내지 60%(w/w)의 염화칼슘 및 15 내지 25%(w/w)의 황산칼슘, 가장 바람직하게는 10.4%(w/w)의 염화암모늄 및 51.9%(w/w)의 염화칼슘 및 20.1%(w/w)의 황산칼슘으로 이루어지는 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 산성화제를 포함하는 고체 볼루스 형태의 칼슘 함유 제제에 관한 것이다.

[0057] [도면의 간단한 설명]

[0058] 도 1: 처치되지 않은 임신 및 비유 중인 암소(B0); 0일에서 마지막 착유 후 1개의 산생성 볼루스를 복용한 암소(B1); 및 0일에서 마지막 착유 후 2개의 산생성 볼루스를 복용한 암소(B2)의 우유 생산량을 도시한다. 오차 막대는 각 시점의 SEM을 나타낸다. 별표는 대조군과 볼루스 간의 차이($P<0.05$)를 나타낸다.

[0059] 도 2: 볼루스 적용에 의해 영향을 받는 소변의 pH를 도시한다[폐쇄 다이아몬드는 처치되지 않은 암소(대조군)에 해당하고; 개방된 사각형은 경구 볼루스를 복용한 암소(볼루스)에 해당한다]. 오차 막대는 각 시점의 SEM을 나타낸다. 별표는 대조군과 볼루스 간의 차이($P<0.05$)를 나타낸다.

[0060] 도 3: 볼루스 적용의 영향을 받는 건물 섭취량을 도시한다[폐쇄 다이아몬드는 처치되지 않은 암소(대조군)에 해당하고; 개방된 사각형은 경구 볼루스를 복용한 암소(볼루스)에 해당한다]. 오차 막대는 각 시점의 SEM을 나타낸다. 별표는 대조군과 볼루스 간의 차이($P<0.05$)를 나타낸다.

[0061] 도 4: 볼루스 적용의 영향을 받는 우유 생산량을 도시한다[폐쇄 다이아몬드는 처치되지 않은 암소(대조군)에 해당하고; 개방된 사각형은 경구 볼루스를 복용한 암소(볼루스)에 해당한다]. 오차 막대는 각 시점의 SEM을 나타낸다. 별표는 대조군과 볼루스 간의 차이($P<0.05$)를 나타낸다.

[0062] 도 5: 볼루스 적용의 영향을 받는 건유에 대한 유방 압력($kg \cdot m/s^2$)을 도시한다[폐쇄 다이아몬드는 처치되지 않은 암소(대조군)에 해당하고; 개방된 사각형은 경구 볼루스를 복용한 암소(볼루스)에 해당한다]. 오차 막대는 각 시점의 SEM을 나타낸다. *는 대조군과 볼루스 간의 차이($P<0.05$)를 나타내는 반면, †는 대조군과 볼루스 간에 차이가 나는 경향($P<0.10$)을 나타낸다.

[0063] 도 6: 볼루스 적용의 영향을 받는 누워있기에 소요된 시간(mind/d)을 도시한다[폐쇄 다이아몬드는 처치되지 않은 암소(대조군)에 해당하고; 개방된 사각형은 경구 볼루스를 복용한 암소(볼루스)에 해당한다]. 오차 막대는 각 시점의 SEM을 나타낸다. 별표는 차이를 나타낸다($P<0.05$).

[0064] **실시예**

[0065] 이하의 실시예들은 본 발명을 추가로 설명하는 역할을 하지만, 본원 명세서에 개시된 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0066] **실시예 1**

[0067] 본 실험의 목적은 우유 생산량에 대한 비유 중인 암소에 대한 상이한 수의 산생성 볼루스의 투여의 효과를 측정하는 것이었다. 우유 생산량에 미치는 영향을 평가하기 위해, 상기 실험은 예정된 건유일 전주 동안 임신 및 비유 중인 암소에서 실시되었다.

[0068] **동물, 실험 설계 및 측정**

[0069] 우선, 84마리의 비유 및 임신(28.1±6.17kg/d의 우유 생산량 및 222±3.2일의 임신) 중인 홀스타인 암소를 패리티에 의해 차단하고(초산 29마리 및 다산 55마리), 다음 3가지 처치들 중 하나에 무작위로 할당하였다(워싱턴주 레드몬드 소재 마이크로소프트 코포레이션의 Excel의 무작위 생성기 기능 사용): 건유 5일 전에 1개의 볼루스를 적용(B1); 건유 5일 전에 5분 간격으로 2개의 볼루스를 적용(B2); 건유 5일 전에 샴 볼루스를 적용(B0). 각각 중량이 196g인 경구 볼루스(Bovikalc Dry, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Germany)의 미네랄 조성은 $NH_4Cl$(10.4%), 염화칼슘($CaCl_2$, 51.9%) 및 황산칼슘($CaSO_4$, 20.1%)이었다. 각각의 볼루스는 약 20g의 염화암모늄을 제공했다.

[0070] 암소는 비유 말기(341±32.2DIM)에 등록했으며, 전자 우유 계량기(Westfalia Surge Metatron Milk Meter; GEA Farm Technologies, Barcelona, Spain)를 사용하여 건유 전 15일 동안 매일 우유 생산을 기록했다. 동물 등록에 대한 포함 기준은 신체 검사, >15kg의 일일 우유 생산량, 임상 유방염의 징후 없음 및 4개의 기능적 4분체(functional quarter)를 기준으로 하여 우수한 일반 건강이었다.

[0071] 등록된 모든 암소를 프리-스톨(free-stall) 장착된 축사에 수용했고, NRC(2001) 권장 사항에 따라 물에 자유롭게 접근할 수 있었고, 매일 2회 비유 TMR을 급여했고, 매일 3회 착유했다.

[0072] **통계학적 검정**

[0073] 일일 우유 생산에 대한 볼루스 투여의 잠재적인 효과는 SAS의 PROC MIXED 절차(버전 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC)를 사용하여 반복 측정을 통해 혼합-효과 모델로 분석했다. 모델의 고정된 부분은 처치의 효과, 처치 적용에 대한 일(건유 5일 전) 및 이들의 2-웨이(2-way) 상호 작용을 설명하며, 무작위 부분은 처치 내의 차단(패리티) 및 암소의 효과를 설명했다. 시간이 가장 낮은 베이지안 정보 기준 값을 산출하므로, 1차 자기 회귀 분산-공분산 행렬을 사용하여 반복 측정된 값으로 모델에 입력했다. 건유에 대한 -15 내지 -6일 사이의 평균 우유 생산을 공변량으로 사용했다. 동물 수준에서 처치가 가해졌기 때문에 실험 단위는 동물이었다.

[0074] B0 처치의 1마리의 암소는 질병으로 인해 연구에서 제외되었다.

[0075] **우유 생산**

[0076] 우유 생산은, 처치와 볼루스 적용 후 경과일 사이의 상호 작용($P<0.01$)에 영향을 받아, B2에서 볼루스 투여 후 2일에 얻어진 우유 생산이 가장 많이 감소되었다(도 1). 전반적으로, 이러한 결과는, 임신 및 비유 중인 암소에 대한 2개의 산생성 볼루스의 경구 투여가 적용 후 2일에 우유 생산을 >2kg/d 감소시킨다는 것을 보여준다.

[0077] **실시예 2**

[0078] 본 실험의 목적은, 우유 생산량에 대한 2개의 산생성 볼루스 투여의 효과를 확인하고, 건물 섭취량(DMI) 및 소변의 pH에 대한 잠재적 영향을 측정하는 것이었다.

[0079] **동물 및 실험 설계**

[0080] 16마리(초산 8마리 및 다산 8마리)의 비유 및 임신(154±19.4일의 임신) 중인 홀스타인 암소(273±56.4의 DIM 및 31.7±5.59kg/d의 우유 생산량)를, 각각 9일인 두 가지 기간 및 각각의 실험 기간의 0일에 보충제가 없거나(대조군) 또는 5분 간격으로 투여되는 2개의 경구 볼루스(Bovikalc Dry, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Germany)를 통한 $CaCl_2$ 및 $CaSO_4$와 조합된 $NH_4Cl$의 보충제(볼루스)인 2개의 처치로 구성된 2개의 교차 실험에 등록했다.

[0081] 처치 단계의 개시 전에, 모든 암소의 우유 생산량 및 사료 섭취량을 기저선 참조 기간으로 9일 동안 매일 모니터링했다. 이후, 암소를 볼루스 또는 대조군에 무작위로 할당했다. 9일 후, 교차 설계에 따라 처치 그룹을 반전시켰다.

[0082] 암소를 프리-스톨 장착된 축사에 수용했고, NRC(2001) 권장 사항에 따라 일일 2회 착유했고, 물 및 균형 잡힌 TMR 형태의 사료에 자유롭게 접근할 수 있었다.

[0083] **측정**

[0084] Bach et al.(2017)에 기재된 바와 같이 매 방문시 시간 및 소비된 사료의 양을 기록한 전자 사료통(MooFeeder, MooSystems, Spain)을 사용하여 연구 내내 일일 개별 사료 섭취량을 모니터링했다. 모든 착유에서의 개별 우유 생산은 전자 우유 계량기(AfiMilk, Afikim Ltd., Israel)를 사용하여 측정했다.

[0085] 소변 샘플은 수동 자극에 의해 볼루스 적용에 대해 0, 8, 24 및 48시간에 모든 암소에서 수집했으며, 소변의 pH는 샘플링 이전에 pH 4.0 및 7.0 완충 용액으로 보정된 휴대용 pH-계량기(CRISON pH25, CRISON Instruments SA, Spain)를 사용하여 즉시 측정했다.

[0086] **통계학적 검정**

[0087] 일일 우유 생산, 사료 섭취량 및 소변의 pH를, 처치의 고정된 효과, 연구 일(day) 및 2-웨이 상호 작용을 설명하는 혼합 효과 모델을 사용하여 분석했으며, 여기에 무작위 효과로서 교차된 암소, 기간 및 순서의 무작위 효과를 더한다. 시간이 가장 낮은 베이지안 정보 기준 값을 산출하므로, 1차 자기 회귀 분산-공분산 행렬을 사용

하여 반복 측정된 값으로 모델에 입력했다. 연구의 첫 9일 동안의 일일 우유 생산 및 사료 섭취량(기저선)을 평균화하고 통계 모델에 공변량으로 입력했다. 모든 검정을 SAS로 실시했다. 동물 수준에서 처치가 가해졌기 때문에 실험 단위는 동물이었다.

[0088] **소변의 pH**

[0089] 볼루스 암소의 소변의 pH는 각각 볼루스 적용 후 0시간에 8.04±0.05에서 7.37±0.05로 그리고 처치 후 8 및 24시간에 7.55±0.05로 감소된 후, 0시간과 유사한 값으로 되돌아왔다. 대조군 암소에서는 샘플링 시간들 사이에서의 소변의 pH의 차이가 관찰되지 않았고, 이는 샘플링 기간 동안 8.07이었다(도 2).

[0090] **동물의 능력(animal performance)**

[0091] 건물 섭취량(DMI)은 대조군 암소(25.9±0.50kg/d)에 비해 볼루스 암소(24.8±0.50kg/d)에서 감소되었다($P<0.01$). 처치 적용 후 첫 3일 동안 DMI가 감소되는, 처치와 일 사이의 상호 작용($P<0.05$)이 있었다(도 3).

[0092] 실시예 1에서 관찰된 바와 같이, 우유 생산은 볼루스 적용 후 2일에 >2kg/d로 감소되었고, 상기 실시예에서, 우유 생산은 볼루스 적용 후 3일째에도 감소되었다(도 4). 우유 생산량의 감소는 볼루스 암소에서 관찰된 DMI의 감소에 의해 적어도 부분적으로 설명될 수 있다.

[0093] **실시예 3**

[0094] **동물 및 실험 설계**

[0095] 스페인 히로나의 2개의 상업용 낙농장으로부터 총 152마리의 홀스타인 암소를 본 연구에 등록했다: SAT Sant Mer(스페인 히로나)로부터 104마리의 암소 및 Mas Duran(스페인 히로나)로부터 48마리의 암소. 모든 암소는 실험 목적으로 사용되는 동물의 보호를 다루는 EEC 지침 86/609에 따라 다루었다. 본 연구는 또한 IRTA의 동물 보호 위원회에 의해 승인되고 감독되었다. 등록된 모든 암소는 먼저 패리티에 의해 차단된 다음 무작위로 2개의 처치에 할당했다(워싱턴주 레드몬드 소재 마이크로소프트 코포레이션의 Excel의 무작위 기능 사용). 실험 처치는, 보충제를 투여하지 않는 대조군(대조군)(n=76) 및 $NH_4Cl$을 $CaCl_2$ 및 $CaSO_4$와 조합하여 공급하는 2개의 경구 볼루스(Bovikalc Dry, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Germany)가 건유 전 마지막 착유 약 12 내지 8시간 전에 5분 간격으로 투여되는 처치 그룹(볼루스)(n=76)으로 구성했다.

[0096] 암소는 건유 5일 전에 연구에 등록하고, 건유 후 10일 동안 모니터링했다. 등록에 대한 포함 기준은 신체검사, ≥220일의 임신, 건유시 >20kg의 일일 우유 생산량, 임상 유방염의 징후 없음 및 4개의 기능적 4분체를 기준으로 하여 우수한 일반 건강이었다. SAT Sant Mer 농장의 모든 암소를 프리-스톨 축사에 수용했으며, 건유 시점까지 비유 TMR 배급 및 물에 자유롭게 접근할 수 있었고, 톱밥 깔집(sawdust bedding) 우리로 옮겨졌을 때 건유 암소 TMR 배급도 자유롭게 제공되었다. Mas Duran의 암소는 SAT Sant Mer의 암소와 동일한 급식 방식(regime)을 가졌지만, 비유 기간 및 건유 기간 둘 다 동안 짚 깔집이 있는 퇴비-깔집 팩(compost-bedded pack) 축사에 수용했다. 두 농장 모두에서, 비유 중인 암소를 2x10 착유 팔러에서 약 8시간 간격으로 일일 3회 착유하고, 개별 일일 우유 생산량은 전자 계량기를 사용하여 각각의 착유 동안 자동으로 기록했다. 건유 상태에서, 두 농장 모두로부터의 암소는 갑작스러운 우유 중단에 노출되었고, 세프티오푸르(Virbactan®, Virbac, Portugal)의 유방내 주입으로 처치되었다. 건유시 어떠한 암소에도 유두 실란트를 적용하지 않았다. 연구 과정 동안 모든 동물 및 수용 시설은 지속적인 사료 및 물의 가용성을 보장하기 위해 매일 2회 아침 및 오후에 검사했다.

[0097] **측정**

[0098] 건유 전 5일부터 건유 후 10일까지 1분 간격으로 암소 활동을 측정하기 위한 전자 데이터 로거(Hobo Pendant G Acceleration Data Logger, Onset Computer Corporation, Pocasset, MA)를 모든 암소에 장착했다. 각각의 데이터 로거를 수의사 랩(Eurimex® flex, Divasa-Farmavic, SA, Barcelona, Spain)을 사용하여 한쪽 뒷다리에 부착했고, HOBO 로거의 X축이 오른쪽을 가리키고 Y축이 지면에 대해 수직이 되고 Z축이 시상면으로부터 멀어지는 방향으로 가리키는 위치에 배치했다. HOBO 로거에 의해 수집된 데이터는 Onset HOBOware 소프트웨어(Onset Computer Corp., Bourne, MA, USA)를 사용하여 다운로드하고, Python으로 작성된 스크립트를 사용하여 처치하여 Yunta et al.(2012)에 개시된 바와 같이 일 및 암소당 총 누워있는 시간을 계산했다.

[0099] 처치 그룹당 무작위로 선택한 25마리의 암소로부터 건유 0, 8, 24 및 48시간 후에 10ml 진공 채혈관(BD Vacutainer Systems, Plymouth, UK)을 사용하여 미골 혈관을 통해 혈액 샘플을 수집하여 pH, Ca, P, 프로락틴

(PRL), 비-에스테르화 지방산(NEFA) 및 ß-OH-부티레이트(BHBA)를 측정했다. 이후, 혈청을 수확하여 추가의 검정까지 -20℃로 저장했다.

[0100] 혈청 중 PRL 농도 측정은 ELISA(PRL/LTH) ELISA 키트(Cusabio Biotech Co., Whuan, China)로 실시했다. 혈액의 Ca 및 P 농도는 원자 흡수 분광 광도법에 의해 측정했다. 혈청 중 혈액 BHBA 농도는 비색법 및 키트인 Autokit 3-HB(Wako Chemicals USA Inc., Richmond, VA)를 사용하여 측정했다. 혈청 중 NEFA의 농도는 키트 NEFA-HR(2)(Wako Chemicals USA Inc., Richmond, VA)와 비색법을 사용하여 측정했다.

[0101] 건유 후, ML의 존재 또는 부재를 각각의 암소에서 연속 3일 동안 대략 6 내지 8시간의 간격으로 일일 2회 기록했다. 우유 누출은 하나 이상의 유두에서 우유가 방울로 떨어지거나 흐르는 것의 관찰로 정의했다. 건유 후 3일 동안, 그리고 매일 유방 압력을 측정했다. 유방 압력의 경우, Bach et al.(2015)에 의해 이전에 개시된 바와 같이, 통증계의 팁으로부터 2cm에 2cm 워셔(washer)를 용접하여 수정된 디지털 통증계(Commander, JTech Medical Industries, Midvale, UT)를 사용했다. 간단히 말해서, 측정은, 유방의 후방의 좌측 및 우측 절반의 꼬리-배쪽에 통증계의 팁으로 피부에 대해 90° 각도로 힘을 가하고, 유방의 피부가 워셔와 접촉될 때 힘을 가하는 것을 중지하는 것으로 구성되었다. 이러한 절차를 변동 계수가 10% 미만인 평균값이 얻어질 때까지 우측 및 좌측 후구(rear quarter) 둘 다에 대해 각각 3회 반복하여 실시했다. 또한, 60DIM까지 각각의 암소에 대해 개별 일일 우유 생산량을 전자 계량기를 사용하여 측정했다.

[0102] **통계학적 검정**

[0103] 동물 수준에서 처치를 가했기 때문에 실험 단위는 동물이었다. 유방 압력 측정(2개의 후구에서 실시)은 통계학적 검정을 실시하기 전에 암소 및 샘플링 시간 내에 평균을 냈다.

[0104] 본 실험의 모든 데이터는 ML과 관련된 것을 제외하고, SAS의 PROC MIXED 절차를 사용하여 반복된 측정으로 혼합 효과 모델로 검정했다. 모델의 고정된 부분은 처치, 일 및 2-웨이 상호 작용의 효과를 설명하고, 무작위 부분은 암소, 차단(패리티) 및 무리의 효과를 설명했다. 모든 모델을 가장 낮은 베이지안 정보 기준 값을 산출하기 때문에 1차 자기 회귀 분산 공분산 구조에 적용했다.

[0105] 또한, 건유 5일 전에 수집된 눕는 행동과 관련된 데이터를 평균화하고, 건유 후 10일 동안 누워있는 시간에 대한 처치의 잠재적인 영향을 평가하기 위해 공변량으로 사용했다. 사용된 혼합-효과 모델은 처치의 고정된 효과, 건유에 대한 일, 그리고 건유전 누워있는 시간을 공변량으로 사용하고 일을 반복 측정 값으로 사용하는 2-웨이 상호 작용, 및 암소, 차단(패리티) 및 무리의 무작위 효과를 추가하여 설명했다.

[0106] ML의 관찰을 2진 반응 변수(1 = 우유 누출 존재, 0 = 우유 누출 부재)로 분류하고, 처치, 시간 및 2-웨이 상호 작용의 고정된 효과에 암소와 무리의 무작위 효과를 더하여 포함하는 Stata(버전 14.2, StataCorp LLC, College Station, TX)를 사용하여 혼합-효과 로지스틱 회귀 모델로 처치했다.

[0107] 건유 5일 전 및 임신 일의 평균 우유 생산량은 각각 대조군 암소에서 26.3±4.50kg 및 228.8±4.31일이었고, 볼루스 암소에서 27.4±5.66kg 및 227.7±5.32일이었다. 건유 전 우유 생산량과 임신 일은 처치 그룹들 사이에 차이가 없었다.

[0108] **우유 생산 및 유방 건강**

[0109] 우유 생산이 기록된 일(첫번째 60DIM) 동안 처치들 사이의 우유 생산의 차이는 관찰되지 않았으며, 평균 우유 생산량은 볼루스 암소의 경우 41.5±1.09kg/d 및 대조군 암소의 경우 41.5±1.03kg/d였다. 본 발명자들이 알고 있는 한, 다음 비유 에서의 우유 생산에 대한 건유시 음이온성 염 보충제의 잠재적인 영향에 대한 정보는 입수 가능하지 않다. 본원 명세서의 결과는 건유 전 음이온성 염 보충제가 다음 비유에서의 우유 생산에 해로운 영향을 미치지 않았음을 나타낸다.

[0110] 104마리의 암소(각각의 처치 그룹당 52마리)의 유방 건강을 분만 후 200일 동안 모니터링했다. 상기 암소들 29마리(27%)는 적어도 1건의 유방염을 보였다. 유방염의 발생률은 처치에 영향을 받지 않았으며(P=0.79), 대조군의 암소는 27.5% 및 볼루스의 암소는 26.4%의 유방염 발생률을 가졌다. 유방염의 위험 인자인 ML의 발생에 대한 영향의 부족은 아마도 분만 후 유방 건강에 차이가 없는 이유들 중 하나일 것이다.

[0111] **유방 압력**

[0112] 두 그룹 모두에서 건유 후 시간이 지남에 따라 유방 압력이 감소되었다(P<0.05). 전반적으로, 건유 후 평균 유방 압력은 대조군 암소(61.9±1.72 $kg \cdot m/s^2$)보다 볼루스 암소(55.0±1.73$kg \cdot m/s^2$)에서 더 낮았다(P<0.05).

유방 압력의 차이는 건유 24시간 후 및 48시간 후에 유의미했으며(P<0.05), 반면 72시간 후에는, 볼루스 암소는 대조군 암소보다 유방 압력이 낮은 경향이 있었다(P<0.10)(도 5). 이러한 결과는, 실시예 1 및 실시예 2와 일치하여 건유 전의 산생성 볼루스의 적용이 우유 생산을 감소시키고, 실시예 3에 나타난 바와 같이 낮은 유방 압력으로 나타나는 유방에서 우유 축적이 감소시킨다는 가설을 지지한다.

[0113] **눕는 행동**

[0114] 총 일일 누워있는 시간은 처치에 영향을 받지 않았다(P=0.98); 그러나, 대조군 암소와 비교하여 건유 후 첫 24시간 동안 추가로 85분 동안 누워있는 볼루스 그룹의 암소로, 처치와 건유에 대한 시간 사이에 상호 작용(P<0.05)이 발생했다(도 6). 건유 후 조기의 대조군 암소와 볼루스 암소 사이의 일일 누워있는 시간 차이는 볼루스보다 대조군의 유방 압력이 더 높기 때문일 수 있다.

[0115] 눕는 횟수(lying bout)의 빈도는 처치의 영향을 받지 않았다(P=0.38); 그러나, 처치와 시간 사이의 상호 작용(P<0.05)은 대조군 암소(10.8±0.54bout/d)보다 더 적은 눕는 횟수(9.5±0.55bout/d)를 갖는 볼루스 암소로 건유 후 2일에 관찰되었다. 볼루스 암소에 비해 대조군 암소에서 더욱 빈번한 눕는 횟수는, 대조군 암소가 일어서게 했을 수 있는 유방 압력으로 인한 약간의 불편함을 나타낼 수 있다. 대조군 암소와 볼루스 암소 사이에 눕는 횟수의 평균 지속 기간에는 차이가 관찰되지 않았지만(P=0.88), 볼루스 그룹의 암소는 대조군 암소(72.7±4.81min/d)보다 건유 후 2일 동안 눕는 횟수(82.3±4.81min/d)가 더 길었다(P<0.05).

[0116] **참고 문헌**


[0117] (1) Bach A et al., J. Dairy Sci. 2015, 98:7097-7101

[0118] (2) Bach A et al., J. Dairy Sci. 2017, 101:1-10

[0119] (3) EP 0 943 246

[0120] (4) Goff JP, Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 1999, 15:619-639

[0121] (5) NRC 2001, Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC

[0122] (6) Oetzel GR and Miller BE, Journal of Dairy Science 2012, 95(12): 7051-7065

[0123] (7) Rerat M and Schlegel P, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2013, 98(3): 458-466

[0124] (8) Stokes SR, http://oaktrust.library.tamu.edu/bitstream/handle/1969.1/86766/pdf_1016.pdf?sequence=1

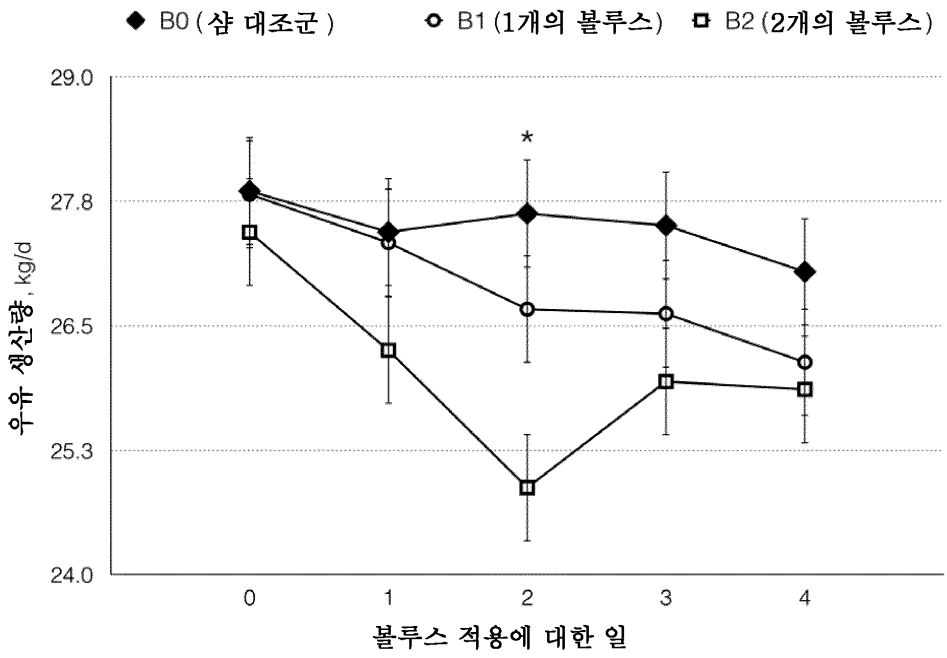
[0125] (9) US 2002/0150633

[0126] (10) US 5,360,823

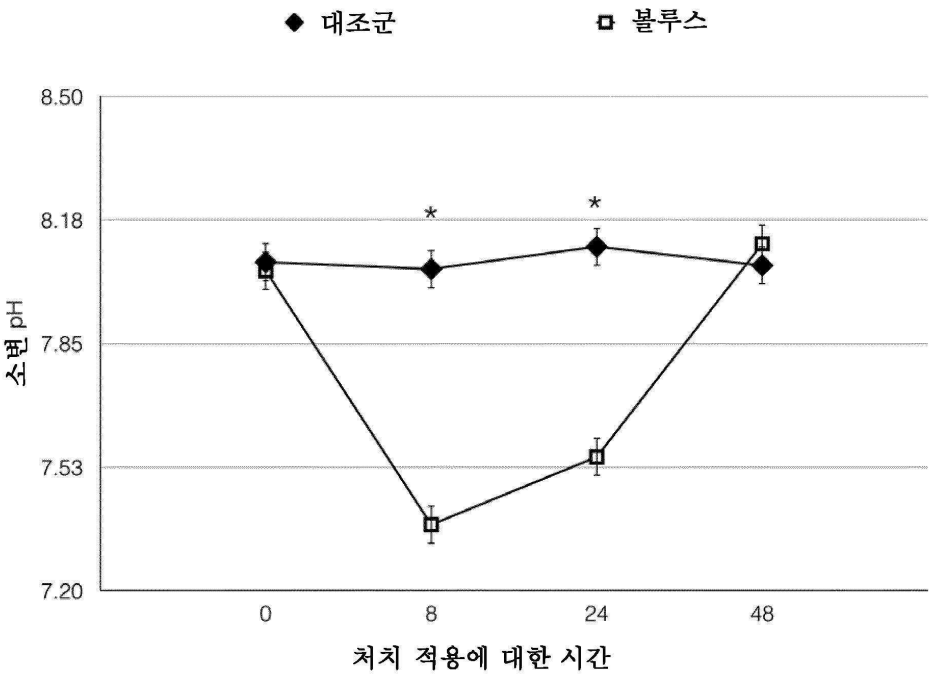
[0127] (11) Yunta CI et al., J. Dairy Sci. 2012, 95:6546-6549

도면

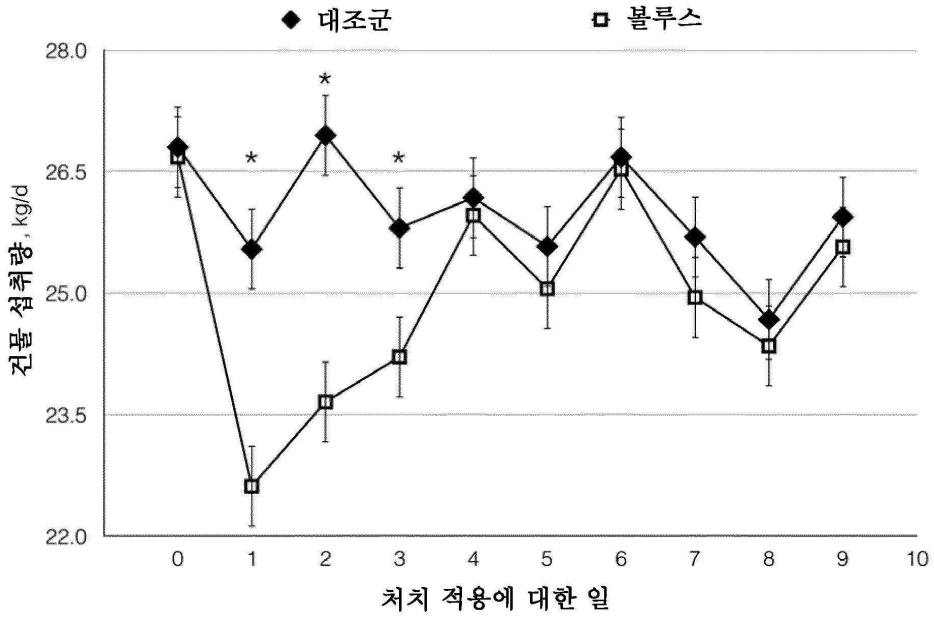
도면1


B0 (샴 대조군 )
B1 (1개의 볼루스)
B2 (2개의 볼루스)
29.0
27.8
26.5
25.3
24.0
우유 생산량, kg/d
*
0
1
2
3
4
볼루스 적용에 대한 일

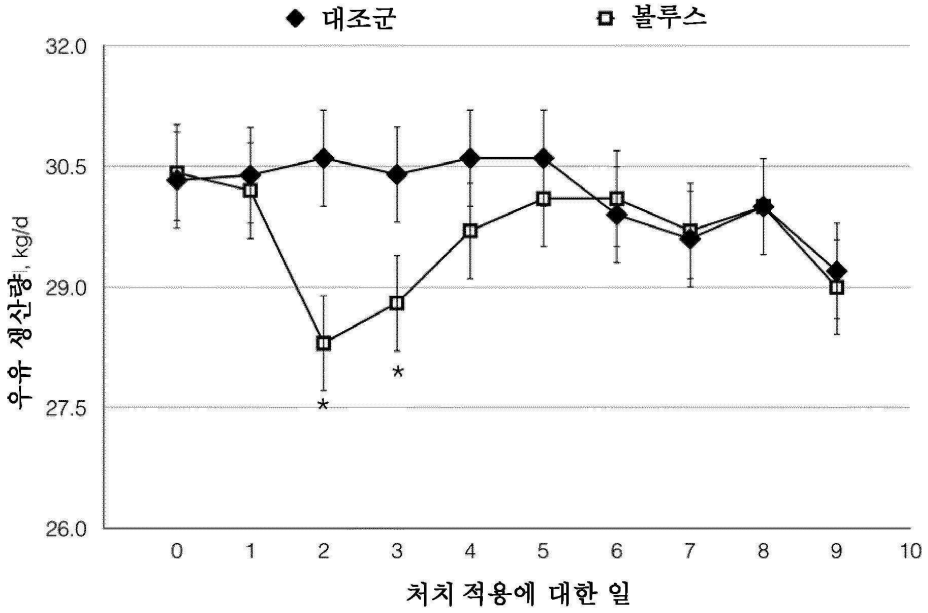
도면2


대조군
볼루스
8.50
8.18
7.85
7.53
7.20
소변 pH
*
*
0
8
24
48
처치 적용에 대한 시간

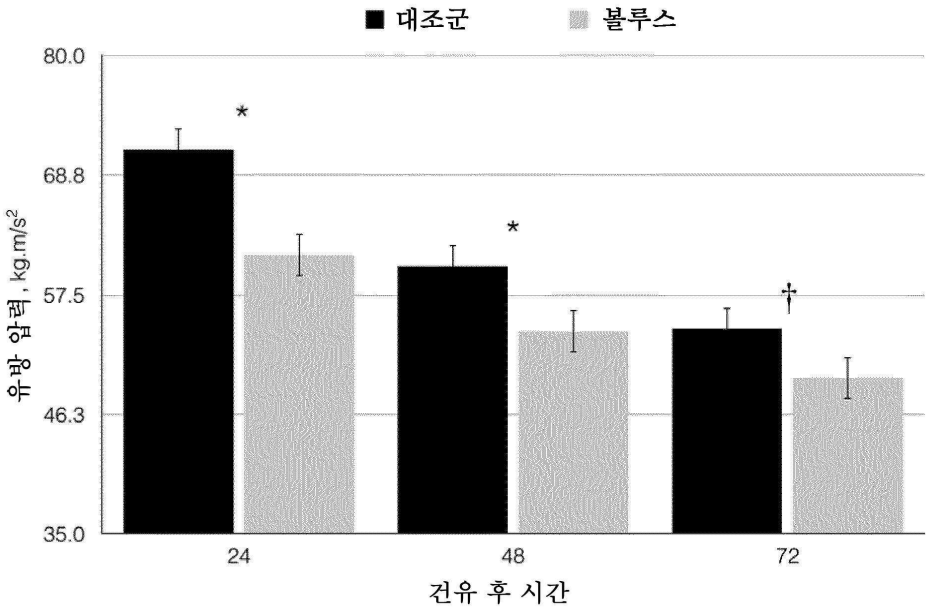
도면3


대조군
볼루스
28.0
26.5
25.0
23.5
22.0
건물 섭취량, kg/d
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
처치 적용에 대한 일

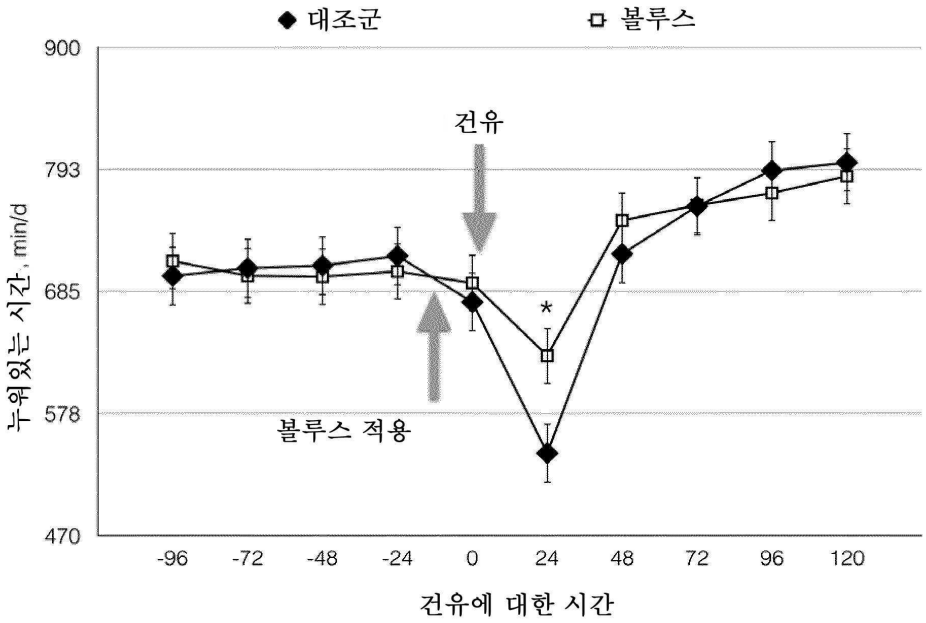
도면4


대조군
볼루스
32.0
30.5
29.0
27.5
26.0
우유 생산량, kg/d
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
처치 적용에 대한 일

도면5


대조군
볼루스
80.0
68.8
57.5
46.3
35.0
유방 압력, kg.m/s²
*
*
†
24
48
72
건유 후 시간

도면6


대조군
볼루스
900
793
685
578
470
누워있는 시간, min/d
건유
볼루스 적용
*
-96
-72
-48
-24
0
24
48
72
96
120
건유에 대한 시간