

기술.7

부추 및 검은생강으로부터 분리된 신규 화합물 및 그 화합물의 항바이러스제로서의 용도

A novel compound isolated from Leek and Kaempferia pandurata Rox and use of the same as antiviral agen

발명자 정보

연구책임자	성 명	김 수 기	소 속	동물생명과학대학 동물생산 · 환경학 전공
	연락처	연구실: 02-450-3728	Email: sookikimk@konkuk.ac.kr	
담당연구원	성 명	이 준 형	소 속	동물생명과학대학 동물자원연구소
	연락처	연구실: 02-450-3728	Email: dairy25@hanmail.net	

기술개요

- 근래 아시아 지역에서 발생하는 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 H5N1은 인체 감염이 아주 강한 사망률을 나타내고 있고, 신종 A형 인플루엔자 바이러스 H1N1이 발생하여 전 세계적으로 확산되고 있으며, 현재 약 4,000명의 사망 사례가 공식 집계되고 있다. 종래부터 인플루엔자 바이러스에 의해 야기되는 질환을 치료하기 위해서 아만타딘(Amatadine), 리만타딘(Rimatadine), 자나미비르(Zanamivir), 오셀타미비르(Osetamivir) 등 4가지 물질이 미국식품의약품 안전청(FDA)으로부터 승인받아 사용되고 있다. 그러나 바이러스 증식에 필수적인 세포막 단백질인 M2 단백질의 이온채널을 차단하여 바이러스의 탈외피(uncoating)를 방해함으로써 항바이러스 작용을 하는 M2 억제제인 아만타딘(Amatadine)과 리만타딘(Rimatadine)은 인플루엔자 바이러스 A형에만 효과가 있으며 40년 동안 사용되는 동안 내성을 가진 바이러스가 발생되고 신경계 및 위장에 심각한 부작용이 나타나는 것으로 보고되고 있다. 1999년 이후에는 바이러스의 증식에 중요한 역할을 하고 내성 발생빈도가 적으며, A형 및 B형 인플루엔자 바이러스 모두에 안정적으로 존재하는 뉴라미니데이즈의 저해제인 자나미비르(Zanamivir)와 오셀타미비르(Osetamivir)와 같은 약제에 의한 바이러스 감염 치료에 대한 보고되고 있다. 그러나 자나미비르의 경우에는 높은 항바이러스 효과를 가지고 있지만 낮은 생체이용률과 빠른 신장에서의 배출의 단점을 가지고 있으며, 오셀타미르는 심각한 구토증세가 나타나는 부작용이 있다.
- 현재까지 개발된 항바이러스제들은 심한 부작용을 나타내고 있으며 그 응용에 대한 많은 주의가 필요한 것으로 알려지고 있다. 또한 백신의 개발은 유행하는 바이러스 형과 맞지 않으면 효과가 낮은 문제점이 있기 때문에 감염 억제 효과가 뛰어나고 안정성이 우수한 새로운 인플루엔자 바이러스 약제의 개발 필요성이 증가하고 있다.
- 이에 따라, 본 연구자들은 고병원성 바이러스의 억제능이 우수한 것으로 나타난 부추 및 검은생강에 대하여 활성물질을 규명하고 H5N1 바이러스에 대한 억제능을 검증하여 국내 특허출원과 PCT 국제특허 출원을 하였다.

기술의 우수성(종래기술과의 차별성)

- 본 연구의 고병원성 바이러스의 억제능이 나타난 부추 및 검은생강 유래 물질은 고병원성 H5N1 바이러스에 대한 억제능을 가지고 있어서 조류독감 바이러스 치료제 후보물질로 이용될 수 있음. 천연 식품소재로부터 발굴되어 친환경 동물약품과 사료첨가제로 이용될 수 있으며 나아가 인체용 의약품의 후보물질로도 이용될 수 있을 것으로 전망된다.

국내외 시장성 및 기술동향

Influenza 치료제 시장현황

- 2009년도 influenza antivirals에 대한 전 세계 시장은 약 \$4.2 billion으로 2008년도의 약 5배 정도임. Tamiflu는 2009에 \$3.1 billion을, Relenza는 \$1.1 billion의 매출을 달성함. 한편 신속한 승인과 저가로 빈국에 공급 및 수요를 충족시키기 위한 전세계 규모의 스케일 업이 논의되고 있음. 그 증가된 매출은 고위험군 환자들에 대한 높은 수요에 기인하며 Tamiflu 및 Relenza 모두에 약제 내성균의 출현에 따른 influenza 바이러스에 대한 새로운 작용 모드를 가지는 신약의 개발이 시급하다.
- 한편, seasonal influenza vaccine에 대한 전세계 시장은 2009년도에 15%정도 증가하여 \$3500 million에 이룸. H1N1을 포함한 Influenza에 대한 전 세계 시장은 약 \$10.4 billion으로 추정된다(2009-2010).

주요국 특허 현황으로 본 연구동향

- 한국특허에서는 Influenza 바이러스 신약 분야의 타겟물질별로 점유율은, ADB(Influenza neuraminidase inhibitors)는 69%(9건), ADA(Influenza polymerase inhibitors)는 31%(4건), ADC(Influenza M2 inhibitors)는 1건도 출원되지 않았고, 미국의 경우 Influenza 바

이러스 신약 분야의 타겟물질별로 점유율은, ADB(Influenza neuraminidase inhibitors)는 74%(20건), ADC(Influenza M2 inhibitors)는 15%(4건), ADA(Influenza polymerase inhibitors)는 11%(3건)의 순으로 나타났으며, 일본의 경우 Influenza 바이러스 신약 분야의 타겟물질별로 점유율은, ADB(Influenza neuraminidase inhibitors)는 82%(18건), ADC(Influenza M2 inhibitors)는 9%(2건), ADA(Influenza polymerase inhibitors)는 9%(2건)의 순으로 나타났고, 유럽의 경우 Influenza 바이러스 신약 분야의 타겟물질별로 점유율은, ADB(Influenza neuraminidase inhibitors)는 71%(10건), ADA(Influenza polymerase inhibitors)는 29%(4건), ADC(Influenza M2 inhibitors)는 1건도 출원되지 않은 것으로 나타난다(2009-2010).

● 응용가능분야

- ◎ 본 새로운 인플루엔자 바이러스 치료제 후보물질들은 식물로부터 추출한 천연화합물이라는 점에서 안전성 등을 가질 수 있으며, 가금류 바이러스 뿐만 아니라 천연물 기반 신물질이기 때문에 인간 바이러스 치료제로 발전도 기대할 수 있다.
- ◎ 또한 본 기술의 새로운 인플루엔자 바이러스 치료제 후보물질들은 인간이나 동물들의 새로운 인플루엔자 바이러스 치료제로 의약품 또는 사료용 첨가제 등으로 적용 가능할 것이다.

● 개발상태

- ◎ 본 연구의 부추 및 검은생강으로부터 분리된 신규 항바이러스제는 부추 및 검은 생강으로부터 유효한 화합물들을 분리하여 이들의 in vitro로 단계에서 H5N1 바이러스에 대한 억제능을 검증한 결과를 특허출원한 것으로 향후 in vivo 실험 등을 통하여 이들 화합물들의 인플루엔자 바이러스에 대한 억제능 등을 검증하고, 이들 화합물들을 lead compound로 하여서 개량된 화합물들의 개량된 활성 등을 검증하고, 타겟 효소 등에 대한 기작 연구 등이 추가적으로 필요할 것으로 사료되나, 이러한 검증과정을 거쳐서 그 효과 등이 입증되는 경우에 해외특허출원을 위한 선행기술조사 결과 상기 화합물과 유사한 화합물 및 이의 항바이러스제로의 용도에 대한 선행특허가 검색되지 않아서 특허등록 가능성이 높으며, 기존의 약제에 대한 내성을 극복할 수 있는 후보물질로 적용될 수 있으며, 만약 본 화합물이 물질특허로 등록되면 다양한 의약이나 사료 또는 식품 분야에 적용될 수 있을 가능성이 있고, 특히 본 물질의 경우에 천연물 유래 물질이어서 독성 등의 문제로부터 자유로울 가능성이 있어서, 시장성, 사업성 및 기술에 대한 이전 매력도는 클 것으로 사료된다.

● 지적재산권

- ◎ 특허출원번호 : 10-2011-0019044, 10-2011-0019047, PCT/KR2012/001152, PCT/KR2012/001153

● 관련사진



● 키워드

- ◎ 조류독감바이러스 (AI), H5N1, 항바이러스, 식물 추출물, 부추, 검은생강, 세스퀴테르펜, 플라보노이드, 사료첨가제, 동물약품

● 마케팅 희망기업(잠재적 수요기업 등)

- ◎ 대기업, 사료첨가제 회사 등 중소기업

Lab.7

응용분자미생물학 연구실



성명 김수기

소속 동물생명과학부

직책	인원	성명(담당분야)
교수	1	김수기 (총괄)
Postdoc 박사과정	2	이준형 (식물유래 생리활성 물질 분리 및 항바이러스 평가) 김경현 (동물 사양실험)
석사	3	김지호 (유용 미생물 분리 동정) 유미상 (유용 미생물 분리 및 시제품 제작) 손윤정 (생리활성 물질 기능성 평가)

학사 1985년 건국대학교 축산대학 낙농학
석사 1987년 건국대학교 대학원 유제품제조학
박사 1993년 Osaka대학 의과대학 분자미생물학

산학협력 희망분야

◎ 식물유래 AI (조류독감바이러스) 억제물질 연구

- 식물로부터 병원성 조류인플루엔자 (AI) 방제를 위한 항바이러스 제제 및 사료첨가제 개발을 목표로 생리활성 물질을 분리 동정하였다. 신소재의 물질 국내 특허출원 이후 PCT 국제특허 심사중이다. 산학협력 및 관련분야 기업체의 기술이전을 고려하고 있다.

◎ Capsaicin 분해 균주 개발

- 고추의 주성분인 캡사이신을 분해하는 균주를 분리하여 국내 특허등록을 하였다. 이 균주를 이용하여 맵지 않는 캡사이신 유도체들을 제조하고 이를 이용하여 항비만 식품 개발을 연구하고 있다.

◎ 식물발효물 연구

- 식물을 유용균으로 발효하여 항산화, 항균 등의 활성을 증진시켜 발효물의 기능성을 입증하고 이를 이용하여 식품 및 사료첨가제로 개발하고자 한다. 현재 양파, 마늘발효는 국내 특허출원 중이고 파과에 속하는 일부 식물발효는 특허출원 예정이다.

◎ 가축의 사료첨가제용 생균제(probiotics) 및 효소 생산 연구

- 가금, 양돈 및 한우를 비롯한 가축미생물에서 소화촉진용 생균제를 개발하고 있다. 선별된 균주를 유전적으로 개량하여 효소를 대량 생산하는 연구도 함께 수행하고 있다. 현재 Xylanase 생산 균주 개발에 연구를 수행 중이다.

◎ 병원성미생물에 대한 연구

- 가축의 질병을 유발시키는 세균의 번식을 억제하기 위하여 Quorum sensing에 대한 연구를 수행하고 있다. 인수공통 전염병인 호흡기 질병에 대한 새로운 병원성 유전자들을 규명하였다.

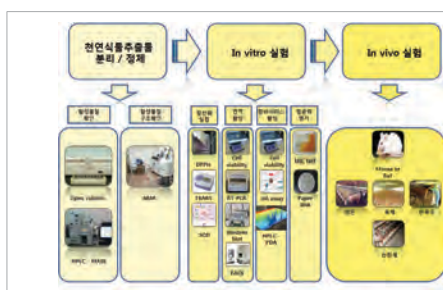
◎ 인제거 및 악취제거 미생물 연구

- 인(phosphate)은 필수영양소로서 인의 효율적 이용을 위하여 세균은 약 40개 이상의 유전자들을 발현시키고 있다. 이들 유전자들의 신호전달 메커니즘을 밝히고 응용하는 연구를 수행하고 있다. 축산환경에서 악취, 오폐수와 오염물질 등을 보다 효율적으로 처리할 수 있는 균주 선별과 유전적 개량에 대하여 연구하고 있다. 악취제거에 대하여 특허출원 준비 중이며 기술이전 형태의 산학협력을 고려하고 있다.

◎ 농업부산물 이용한 자원재활용 연구

- 다양한 농업부산물을 발효시켜 효소를 대량생산하고 이를 가축의 사료자원 혹은 사료첨가제로 사용하고자 연구하고 있으며 산학협력을 희망하고 있다.

대표연구분야



- ◎ 기능성 소재의 탐색: 미생물, 동식물자원, 광물질 등으로부터 항균활성, 항바이러스 활성 및 면역증강 활성을 가지는 다양한 생리활성 물질을 발굴.

◎ 기능성 소재의 정제 및 물질특성 확인

- 조류독감바이러스 (AI) 억제효과 등 in vitro 및 in vivo 실험을 위한 물질 정제
- HPLC, FPLC 등으로 정제, 후보물질 동정 및 기능성 소재로서의 그 특성을 밝힘.

◎ 기능성 소재의 대량생산시스템 확립

- 선정된 유용 기능성 소재의 대량생산을 할 수 있는 생산시스템을 확립.

● 대표기술 개요 및 개발현황

Allium tuberosum and *Kaempferia pandurata* Roxb. with antiviral compounds against avian influenza H5N1

Plant	Extraction	CPE inhibitory concentration (μg/ml)	Activity	HA titer reduction
<i>Allium tuberosum</i>	Chloroform	10	○	5 log
<i>Kaempferia pandurata</i> Roxb	Butanol	10	○	5 log

Allium tuberosum

Kaempferia pandurata Roxb

1.고병원성 조류독감 바이러스 방제용 기능성 소재 및 식품 개발 : 고병원성 조류인플루엔자(AI) 방제를 위한 면역증강 및 치료물질을 개발하여 기능성을 평가함으로써 사료첨가제 및 건강기능식품 개발을 위한 산업화 원천기술을 확보하고 미생물, 동·식물자원, 광물질 등으로부터 항균활성, 항바이러스활성 및 면역증강 활성을 가지는 다양한 물질을 발굴. 기능성 소재로서의 그 특성을 밝힘.

2. 생물학적 기술을 이용한 맵지 않은 캡사이신 개발 : 캡사이신을 분해하는 특성을 가진 유용균을 이용하여 맵지 않은 캡사이신노이드 분획물 정제, LC/MS/MS 이용 캡사이신노이드 구조 규명하고 확보된 캡사이신 분해 능력을 갖는 바실러스 균주와 정제된 맵지 않은 캡사이신노이드를 활용한 유육제품 제조 방법 개발.

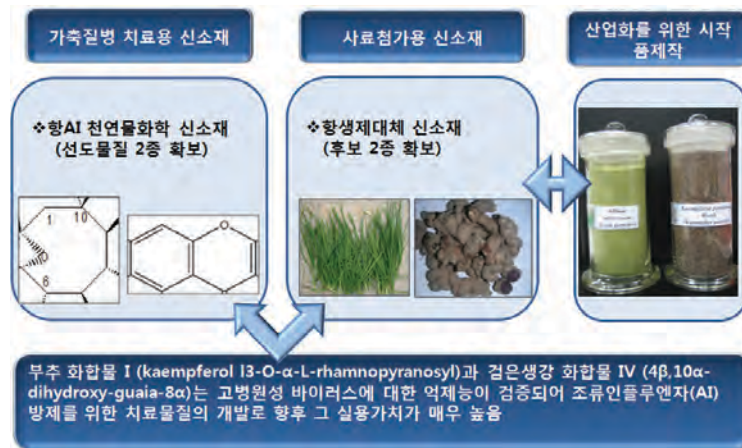
3. 축산전용 생균제 현장적용 기술개발: 축산농가용 사료첨가생균제로 활용성이 우수한 미생물의 확립 및 발효 최적화 및 현장적용을 위한 대량 배양 시스템 구축 및 사양 평가.

가축에게 급여시 생리활성 증진에 효능이 우수한 균주선발하고 기존에 확보된 균주들을 대상으로 항균활성, 항산화활성, 소화효소 분비 능력 등을 평가하고 확립된 균주의 최적 발효조건 도출하여 생균제 육계 및 이유자돈 사양시험 수행(사양시험생균제 평가효율분석, 가축 생산성 분석).

4. 부추를 이용한 친환경 돈육개발에 관한 연구: 이유자돈의 폐사율을 감소시키고 항생제 사용량을 감소, 무항생제 사육시스템을 부추급여를 통하여 검증하였고, 또한 돼지의 병원성 세균 (소화기성, 호흡기성 병원균)에 대하여 높은 항균활성을 지닌 유용 미생물 자원을 탐색하여 부추의 첨가제의 기능을 극대화.

5. 부산물을 이용한 발효 섬유질 배합사료 제조 연구 : 농업부산물의 특성규명 및 사료가치 증진용 균주 선발. 부산물 발효물의 특성 및 사양안전성 향상 방안 모색. 섬유질 배합사료의 기능성을 규명.

● 개발 관련 시제품 사진



● 특허

- 부추를 첨가한 양돈사료 조성물 (등록 10-0893155, 대한민국, 2009.04.16)
- 캡사이신을 분해하는 능력을 가지고 있는 신규한 바실러스 균주 (등록 10-0930291, 대한민국, 2009.11.30)
- 검은 생강으로부터 분리된 신규 화합물 및 그 화합물의 항바이러스제로서의 용도 (출원 10-2011-0019047, 대한민국, 2011.03.03)
- 부추로부터 분리된 신규 화합물 및 그 화합물의 항바이러스제로서의 용도 (출원 10-2011-0019044, 대한민국, 2011.03.03)
- 병원성미생물에 대하여 항균활성을 나타내는 식물 또는 그 추출물을 유효성분으로 하는 항생용 조성물 (등록 10-1106506, 10-1106055, 10-1106054, 10-1106053, 10-1106052 대한민국, 2012.01.09)
- NOVEL COMPOUND ISOLATED FROM KAEMPFERIA PANDURATA ROXB AND USE THEREOF AS ANTIVIRAL AGENT. (PCT/KR2012/001152, 대한민국, 2012.02.15)
- NOVEL COMPOUND ISOLATED FROM ALLIUM TUBEROSUM AND USE THEREOF AS ANTIVIRAL AGENT. (PCT/KR2012/001153, 대한민국, 2012.02.15)

● 연구 실적

과학기술/학술적 연구성과(단위 : 건)													
전문학술지 논문게제				초청 강연 실적	학술대회 논문발표		지식재산권				수상 실적	출판실적	
국내논문		국외논문			국내	국제	출원		등록			저역서	보고서
SCI	비SCI	SCI	비SCI				국내	국외	국내	국외			
1	7	8	－	5	15	5	10	2	9	－	－	2	8

● 논문

- Effects of Plant Oils and Minerals for the Inhibition of Lipase Activity of Staphylococcus aureus Isolated from Fermented Pork Meat. 2011. Korean journal for food science of animal resources, 30(5):764-772.
- Immunotoxicity activity of sesquiterpenoids from black galingale (Kaempferia parviflora Wall, Ex, Baker) against Aedes aegypti L. 2011. Immunopharmacology and immunotoxicology, 33(2):380-383.
- Identification of PhoB Binding Sites of the yibD and ytfK Promoter Regions in Escherichia coli. 2011. Journal of microbiology, 49(2):285-289.
- Composition and immunotoxicity activity of essential oils from leaves of Zingiber officinale Roscoe against Aedes aegypti L. 2011. Immunopharmacology and immunotoxicology, 33(1):201-204.
- Comparison of Three Selective Media and Validation of the VIDAS Campylobacter Assay for the Detection of Campylobacter jejuni in Ground Beef and Fresh-Cut Vegetables. 2011. Journal of Food Protection, 74(3):456-460.
- Prevalence, Antibiotic Resistance, and Molecular Characterization of Salmonella Serovars in Retail Meat Products. 2011. Journal of Food Protection, 74(1):161-166.
- Anti-complement Activity of Isolated Compounds from the Roots of Clerodendrum bungei Steud. 2010. Phytotherapy research, 24(11):1720-1723.

- ◎ 가축용 생균제 *Lactobacillus plantarum*을 이용한 양파즙발효의 균체성장과 항산화활성. 2010. 생명과학회지, 20(11):1729-1737.
- ◎ Neuroprotective effects of a sesquiterpene lactone and flavanones from *Paulownia tomentosa* Steud. against glutamate-induced neurotoxicity in primary cultured rat cortical cells. 2010. Phytotherapy Research, 24(12):1898-1900.
- ◎ Real-time PCR을 이용한 가축생균제용 유산균 정량분석. 2010. 생명과학회지, 20(12):1896-1901.
- ◎ Production of ready-to-reconstitute functional beverages utilizing whey protein hydrolysates and probiotics. 2010. Korean J. Food Sci. Ani. Resour, 30(4):575-581.
- ◎ 안전축산물 생산을 위한 가축사료내 중금속 오염 분석에 관한 연구. 2010. 생명과학회지, 20(5):717-722.
- ◎ Screening of antiviral medicinal plants against avian influenza virus H1N1 for food safety. 2010. Korean J. Food Sci. Ani. Resour, 30(2):345-350.
- ◎ Effect of Dietary Plant Extracts (Coxynil®, growell®, respowell®) in Broilers. 2009. Korean Journal of life science, 19(11):1547-1552.
- ◎ Isoflavone Aglycone from Fermented Soy Pulp Prevents Osteoporosis in Ovariectomized Rats. 2009. ASIAN Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 4(6):288-296.
- ◎ Screening of a natural feed additive having anti-viral activity against influenza A/H5N1. 2008. Korean J. Food Sci. Ani. Resour, 28(4):512-516.

● 보유 장비

 1. 단백질분리정제기(FPLC) 용도 : 단백질 정제	 2. 형질전환장치 (Gene Pulser Xcell) 용도 : 균주형질전환	 3. LC(AUTOSAMPLER) 용도 : VOC 분석
 4. GC (AUTO SAMPLER) 용도 : VOC 분석	 5. HPLC 용도 : 물질 규명 분석	 6. 분광광도계 (UV1700) 용도 : 자외선조사용
 7. Fermentor 5L Jar 용도 : 유용균주 발효분석	 8. 감압농축기 (CCA-1110) 용도 : 물질추출 및 농축	