(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0038258
(43) 공개일자 2010년04월14일

(51) Int. Cl.
A61K 36/258 (2006.01) *A61P 31/16* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-0097442
(22) 출원일자 2008년10월04일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 궁동 220번지 충남대학교
(72) 발명자
송규용
대전 유성구 궁동 충남대학교 약학과
서상희
대전광역시 서구 삼천동 청솔아파트 4동 502호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
신동인

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 흑인삼엽 가공 건조분말 또는 그 추출물을 유효성분으로함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및치료용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 고온고압 제조방법을 이용하여 제조된 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 본 발명의 조성물은 뛰어난 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스(highly pathogenic avian influenza)에 대한 억제 효과를 나타내므로, 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 치료용 약학조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

(72) 발명자

김영호

대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 107-301호

박용진

대전광역시 서구 월평동 301 누리아파트 110-1405

박천정

충청남도 금산군 금산읍 중도리 230-3

특허청구의 범위

청구항 1

3 내지 7년근 인삼엽을 세척 후, 40 내지 60℃의 온도에서 20 내지 28시간 동안 건조시키는 1차 건조공정; 가압하에 110 내지 145℃의 온도에서 2 내지 6시간 동안 증숙하는 1차 증숙공정; 50 내지 70℃의 온도에서 9 내지 15시간 동안 수분함량이 14% 이내로 건조하는 제 2차 건조공정으로 수득한 흑인삼엽을 생약 분쇄기를 이용하여 50 내지 200 ㎛의 입자크기로 분쇄하는 제조공정을 통하여 얻어진 흑인삼엽 건조분말을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 2

제 1항에 기재된 흑인삼엽 건조분말 질량의 1 내지 5배의 물을 가하여 3 내지 7시간동안 방치하고, 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매를 추출 용매로 사용하여 얻어진 흑인삼엽 추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 치료용 약학조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스는 H1N1, H1N2, H2N2, Human B, H3N2, H3N8, H5N1, H5N2, H5N3, H5N8, H5N9, H7N1, H7N2, H7N3, H7N4, H7N7, H9N2 또는 H10N7의 혈청형을 가짐을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 4

3 내지 7년근 인삼엽을 세척 후, 40 내지 60℃의 온도에서 20 내지 28시간 동안 건조시키는 1차 건조공정; 가압하에 110 내지 145℃의 온도에서 2 내지 6시간 동안 증숙하는 1차 증숙공정; 50 내지 70℃의 온도에서 9 내지 15시간 동안 수분함량이 14% 이내로 건조하는 제 2차 건조공정으로 수득한 흑인삼엽을 생약 분쇄기를 이용하여 50 내지 200 ㎛의 입자크기로 분쇄하는 제조공정을 통하여 얻어진 흑인삼엽 건조분말을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 5

제 4항에 기재된 흑인삼엽 건조분말 질량의 1 내지 5배의 물을 가하여 3 내지 7시간동안 방치하고, 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매로부터 선택된 용매를 추출 용매로 사용하여 얻어진 흑인삼엽 추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 6

제 4항 또는 제5항에 있어서, 상기 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스는 H1N1, H1N2, H2N2, Human B, H3N2, H3N8, H5N1, H5N2, H5N3, H5N8, H5N9, H7N1, H7N2, H7N3, H7N4, H7N7, H9N2 또는 H10N7의 혈청형을 가짐을 특징으로 하는 건강기능식품.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명의 목적은 고온고압 제조방법을 이용하여 제조된 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 억제효과를 갖는 항바이러스용 약학조성물 및 건강기능식품을 제공하는 것이다.

배 경 기 술

[0002] [문헌 1] Selmons et al., Avian Dis., 18(1), pp.119-124, 1974

[0003] [문헌 2] Webster RG et al., Microbiol Rev., 56(1), pp.152-179, 1992

[0004] [문헌 3] Alexander DJ, Vet. Microbiol., 74(1-2), pp.3-13, 2000

[0005] [문헌 4] Song CS et al., Korean J. Poult. Sci., 31(2), pp.129-136, 2004

[0006] [문헌 5] Walter JH, Bull. NY Acad. Med., 54, pp.855-864, 1978

[0007] [문헌 6] Taubenberger JK et al., Science, 275, pp.1793-1796, 1997

[0008] [문헌 7] Potter CW, J. appl. Microbiol., 91, pp.572-579, 2001

[0009] [문헌 8] Oxford JS, Rev. Med. Virol., 10(2), pp.119-133, 2000

[0010] [문헌 9] Suarez DL et al., J. Virol., 72(8), pp.6678-6688, 1998

[0011] [문헌 10] Capua I et al., Avian Pathol., 32, pp.47-55, 2003

[0012] [문헌 11] Capua I and Marangon S, Avian Pathol., 32, pp.335-343, 2003

[0013] [문헌 12] Swayne DE et al., Avian Dis., 41, pp.910-922, 1997

[0014] [문헌 13] Swayne DE et al., Avian Dis., 44, pp.132-137, 2000

[0015] [문헌 14] Ward P et al., J. antimicrob. Chemother., 55(supp1), pp.i5-i21, 2005

[0016] [문헌 15] 고려삼의 이해, 고려인삼학회, p.9, 1995

[0017] [문헌 16] Advances in Ginseng Research, 고려인삼학회, pp.127-137, 1998

[0018] [문헌 17] 인삼의 근, 엽 및 경의 사포닌함량 비교, 고려인삼학회, p.118, 1987

[0019] [문헌 18] 대한민국 특허등록 10-2008-0844991

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0020] 인플루엔자 바이러스(Influenza virus)는 오르소믹소 계통(Family Orthomyxoviridae)에 속하는 RNA 바이러스로서 혈청형은 A형, B형, C형 등 3가지로 구분된다. 그 중 B형과 C형은 사람에서만 감염이 확인되고 있으며, A형은 사람, 말, 돼지, 기타 포유류 그리고 다양한 종류의 가금과 야생조류에서 감염이 확인되고 있다 (Selmons et al., Avian Dis., 18(1), pp.119-124, 1974; Webster RG et al., Microbiol Rev., 56(1), pp.152-179, 1992).

[0021] A형 인플루엔자 바이러스의 혈청형은 바이러스 표면의 두 가지 단백질인 헤마글루티닌(Hemagglutinin; HA), 뉴라미니다제(Neuraminidase; NA)의 종류에 따라 구분되며, 혈청형에 따라 144종류(HA형 16종과 NA형 9종)로 분류할 수 있다. HA 단백질은 바이러스가 체세포에 부착하는 역할을 하며, NA 단백질은 바이러스가 세포 내로 침투할 수 있도록 한다(Alexander DJ, Vet. Microbiol., 74(1-2), pp.3-13, 2000). A형 인플루엔자 바이러스의 정상적인 자연숙주는 오리, 갈매기 등과 같은 야생 물새류로 알려져 있으며, 전 세계적으로 야생조류에 대한 인플루엔자 감염 역학 조사를 실시한 결과, 현존하는 모든 16종의 HA형과 9종의 NA형 인플루엔자 바이러스가 야생조류에서 감염되고 있음이 확인되었다(Selmons et al., Avian Dis., 18(1), pp.119-124, 1974). A형으로 분류되는 조류인플루엔자 바이러스는 인수(人獸) 공통 전염병 바이러스로, 병원성에 따라 닭에 감염 시 가벼운 호흡기 증상을 유발하는 비병원성 조류 인플루엔자, 1 내지 30% 내외의 폐사와 산란 저하를 유발하는 저병원성 조류 인플루엔자 (Low pathogenic avian influenza: LPAI) 그리고 95% 이상의 높은 치사성을 보이고 "조류독감(버드플루: Bird flu)"이라고도 불리는 고병원성 조류 인플루엔자 (Highly pathogenic avian influenza: HPAI)등 크게 3가지 병형으로 구분하고 있다 (Alexander DJ, Vet. Microbiol., 74(1-2), pp.3-13, 2000). 이중 고병원성 조류 인플루엔자는 국제수역사무국 (OIE)에서 A 등급으로, 그리고 국내에서는 제 1종 가축전염병으로 분류하고 있다.

[0022] 고병원성 조류 인플루엔자(HPAI)는 1980년도 이후 미국(1983년), 호주(1985, 1992, 1994, 1997년), 멕시코(1994년), 파키스탄(1994, 2004년), 홍콩(1997, 2001년), 이탈리아(1997, 1999년), 네덜란드(2003년), 벨기에(2003년), 독일(2003년), 캐나다(2004년) 등 전 세계적으로 발생이 확인되고 있다. 특히 2003년 12월 한국을 시작으로 2004년 베트남, 일본, 태국, 캄보디아, 라오스, 라오스, 인도네시아, 중국 등 동남아시아와 극동아시아 전 지역에서 거의 동시 다발적으로 혈청형 A/H5N1 HPAI가 발생 되었다. 특히 베트남과 태국 등지에서 발생한

HPAI는 그 당시 한국과 일본 등지에서 발생한 인체에 감염이 안 되는 전통적인 HPAI와는 달리 감염조류와 접촉 시 인체 감염이 가능한 변이형 조류독감(변이형 A/H5N1 HPAI) 바이러스로 2004년 3월까지 베트남에서는 감염조류와 접촉한 22명이 감염되어 그중 15명이 사망하였고, 인접국인 태국에서는 감염조류와 접촉한 11명이 감염되어 그중 8명이 사망하여 현재 전 세계가 우려의 목소리를 높이고 있는 실정이다. 최근 HPAI의 발생빈도가 과거에 비하여 10배가량 증가된 셈이며, 특히 2001년도부터는 전 세계적으로 매년 발생되는 양상을 취하고 있어 HPAI를 효과적으로 방제할 수 있는 보다 새로운 개념의 방제대책이 요구되고 있다(Song CS et al., Korean J. Poult. Sci., 31(2), pp.129-136, 2004).

[0023] 사람 인플루엔자에 대한 최초의 기록은 기원전 412년으로 거슬러 올라가나, 인류 최초의 인플루엔자 대유행(pandemic influenza) 기록은 1173년부터 1174년에 유럽 전역에서 발생한 것으로 추정하고 있다. 20세기에 접어들면서 인플루엔자에 대한 기록이 보다 과학적으로 다루어지면서 남겨진 자료를 근거해 보면 20세기 이후 지금까지 사람에서 3번의 인플루엔자 대유행 있었다. 1918년부터 1920년 사이에 전 세계적으로 유행한 20세기 이후 1차 인플루엔자 대유행 (일명 스페인 독감)은 인류가 겪은 가장 큰 피해로 기록되고 있으며 그 기간 중 2천만 명에서 5천만 명의 사람이 사망하였다 (Walter JH, Bull. NY Acad. Med., 54, pp.855-864, 1978). 스페인 독감의 원인 바이러스는 돼지 인플루엔자 바이러스와 매우 유사한 혈청형 A/H1N1으로 판명되었으며 지금도 매년 전 세계적으로 유행하고 있는 유행성 독감의 주된 유행주이다(Taubenberger JK et al., Science, 275, pp.1793-1796, 1997). 1957년부터 1958년 사이에 발생한 20세기 이후 2차 인플루엔자 대유행은 중국에서 시작하여 6-7개월 사이에 해안을 따라 인근의 홍콩, 싱가포르, 일본, 대만 등지로 급속도로 전파되었다. 이 기간 중 전 세계 인구의 약 40- 50% 정도가 감염되었으며, 그중 25% 정도가 임상증상을 보였으며, 주로 유아층이나 중장년층들만이 감염되어 사망하였으며, 그 기간 중 약 1백만명의 사람이 사망하였다(Potter CW, J. appl. Microbiol., 91, pp.572-579, 2001). 원인 바이러스는 혈청형 A/H2N2 인플루엔자 바이러스로 확인되었다. 또한 1968부터 1969년 사이에 발생한 3차 인플루엔자 대유행은 홍콩에서 유래된 것으로 확인되었으며 대만, 필리핀, 싱가포르, 베트남 등지로 급속히 전파되었다. 원인 바이러스는 혈청형 A/H3N2 바이러스로서 이전의 혈청형 H2N2 바이러스와 HA형이 다른데, 이 HA형은 조류로부터 전달된 것으로 분석되고 있으며, 지금도 매년 전 세계적으로 유행하고 있는 유행성 독감의 주된 유행주이다 (Oxford JS, Rev. Med. Virol., 10(2), pp.119-133, 2000).

[0024] 조류에서 주로 문제시되고 있는 AIV 중 일부 혈청형은 사람에 감염되어 독감증세를 보이다가 사망을 유발하기도 한다. 현재까지 "홍콩조류독감"이라 불리고 있는 혈청형 A/H5N1을 포함하여 혈청형 A/H7N7, 그리고 혈청형 A/H9N2 등 총 3종의 조류 유래 조류독감 바이러스 중 일부의 변종 바이러스들이 인체에 감염될 가능성이 있는 것으로 추정되고 있다. 따라서 현재 이들 3종의 혈청형에서 유래된 변종 바이러스에 대한 연구가 전 세계적으로 진행되고 있는 실정이다 (Suarez DL et al., J. Virol., 72(8), pp.6678-6688, 1998).

[0025] 최근 베트남에서 보고되고 있는 조류 독감 바이러스 (혈청형 A/H5N1 조류 인플루엔자 바이러스)의 종속간의 장벽을 뛰어넘는 인체감염 사례는 20세기 이후 4차 사람 인플루엔자 대유행의 전주곡으로서 전 세계가 현재 이 인체감염이 가능한 변이 바이러스의 사람에서 사람으로의 직접전염 등 그 전파양상에 주목하고 있다. 이 변이 바이러스는 혈청형 A/H5N1이 속하는 조류 인플루엔자 바이러스이며, 이 바이러스 역시 인류가 처음으로 경험하는 지금까지 조류에서만 유행하던 조류 인플루엔자 바이러스이기 때문이다.

[0026] 인플루엔자 바이러스는 호흡기에 감염되어 전신증상을 일으키고, 주기적으로 모습을 바꿀 뿐 아니라, 숙주를 죽이지 않고 숙주가 죽기 전에 다른 숙주로 이동하기 때문에 과학자들은 인플루엔자 바이러스는 인류의 종말까지 살아남는 바이러스일 것으로 추측한다. 인류에게 가장 큰 경제적 손실을 가져오는 바이러스이며, 예방백신이 개발되어 있기는 하지만 바이러스의 변이를 따라잡지는 못하고 있는 실정이며, 아직 근본적인 바이러스 치료는 이루어지지 않고 있다.

[0027] 조류 인플루엔자 예방 백신 중 생바이러스 백신은 변이가 쉽게 되는 바이러스의 특성상 개발이 거의 불가능한 실정이며, 현재까지 개발된 백신은 크게 사독 백신과 유전자 재조합 백신으로 구분할 수 있다. 1999년도 이탈리아 그리고 2003년 홍콩에서는 HPAI 발생이 장기화되고 전국으로 확산 되면서 조류 인플루엔자 예방 백신을 선택적 살 처분 정책과 병행하여 HPAI 퇴치의 수단으로 이용하였으며, 현재 이탈리아와 홍콩에서는 조류 인플루엔자 예방 백신의 사용이 HPAI를 방제하는데 효과적이었다는 긍정적인 평가를 받고 있다(Capua I et al., Avian Pathol., 32, pp.47-55, 2003; Capua I and Marangon S, Avian Pathol., 32, pp.335-343, 2003). 이탈리아(혈청형 A/H7N1)와 홍콩(혈청형 A/H5N1)에서 긍정적인 평가를 받은 백신은 모두 사독 백신으로 HA형은 동일하나 NA형이 다른 이종 혈청형의 바이러스 (혈청형 A/H7N3, 혈청형 A/H5N2)로 사독 백신을 제조하여 항체검사 시 야외감염과의 구별을 시도한 경우이다. 그러나 이 사독 백신은 기존 A형 조류 인플루엔자 표준 진단법인 한천 겔 침강(AGP, Agar Gel Precipitation) 검사법으로는 백신항체와 야외감염항체의 구분이 불가능하고 NA형을 감별하는

형광항체법은 대규모의 항체 모니터링 검사에 적합하지 않다는 점이 가장 큰 단점으로 지적되고 있다. 또한 현재 개발되어 있는 사독 백신은 HPAI 감염시 분변으로 배출되는 바이러스의 양을 줄여줄 수는 있지만 완벽하게 질병의 확산을 막지는 못하는 것으로 평가되고 있다 (Capua I et al., Avian Pathol., 32, pp.47-55, 2003; Capua I and Marangon S, Avian Pathol., 32, pp.335-343, 2003).

[0028] 멕시코의 경우, 1993년도 후반 혈청형 A/H5N2 저병원성 조류 인플루엔자 발생시 전국으로 확산된 바이러스가 고병원성으로 병원성이 증강되어 결국 살 처분 정책을 포기하고, 처음에는 자국 내에서 분리된 바이러스를 이용하여 자가 사독 오일 백신을 생산하여 사용하다가, 백신 접종계와 야외 감염계의 구분을 위하여 첨단 유전자 재조합 백신 접종으로 전환하여 현재까지 사용하고 있다. 멕시코에서 지금까지 사용되고 있는 백신은 계두 바이러스(fowl pox virus)에 HPAI 바이러스의 표면 단백인 헤마글루티닌(Hemagglutin) 유전자를 삽입하여 백신 접종시 계두와 HPAI를 동시에 효과적으로 예방할 수 있는 첨단 유전자 재조합 바이러스 벡터 백신이나, 또 한편으로는 우리나라를 포함하여 계두 백신을 사용하는 국가에서는 기존의 계두 백신 접종으로 유도된 항체의 간섭현상으로 인하여 바이러스 벡터 백신의 효과가 반감되는 단점도 있는 것으로 평가되고 있다. 그 외 전염성 후두 기관염(Infectious Laryngotracheitis Virus; ILT)에 HPAI 바이러스의 표면 단백인 헤마글루티닌(Hemagglutin) 유전자를 삽입하여 유전자 재조합 바이러스 백터 백신이 개발되어 있으나 이것 역시 우리나라를 포함하여 전염성 후두 기관염 백신을 사용하는 국가에서는 효과가 반감되며, 사용 가능 대상이 닭에만 국한된다는 단점이 있는 것으로 평가되고 있다 (Swayne DE et al., Avian Dis., 41, pp.910-922, 1997; Swayne DE et al., Avian Dis., 44, pp.132-137, 2000).

[0029] 아만타딘(amantadine)과 리만타딘(rimantadine)은 인플루엔자 바이러스의 M2 이온 채널 단백의 기능을 억제하는 물질로 생체 내 인플루엔자 바이러스의 증식을 억제하는 대표적인 항바이러스 제제들이다. 그러나 이들 두 가지 항바이러스 제제들은 혈청형 A형 인플루엔자 바이러스에만 효과적이며, M2 단백질이 없는 혈청형 B형 인플루엔자 바이러스에는 효과가 없는 것으로 확인되었다. 또한 아만타딘과 리만타딘은 사용 시 인플루엔자 바이러스 M2 단백의 이온채널기능에 영향을 미치지 못하는 변이 바이러스의 출현이 매우 쉽게 일어나는 단점이 있는 것으로 확인되고 있다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 개발된 자나미비르(zanamivir)와 오셀타미비르(oseltamivir)는 인플루엔자 바이러스의 뉴라미니다제(neuraminidase) 단백의 기능을 억제하는 물질로 생체 내 인플루엔자 바이러스의 증식을 억제하는 대표적인 항바이러스 제제들이다. 이들 두 가지 항바이러스 제제들은 16종의 모든 혈청형 A형 인플루엔자 바이러스와 혈청형 B형 인플루엔자 바이러스에도 효과적인 것으로 알려져 있다. 그러나 자나미비르는 흡입 및 정맥 투여해야 하는 단점이 있으며, 오셀타미비르는 경구투여가 가능하나 최근 내성 바이러스의 출현 보고와 경구투여 시 구토와 현기증 등의 부작용이 있어 단점으로 지적되고 있다 (Ward P et al., J. antimicrob. Chemother., 55(supp1), pp.i5-i21, 2005). 따라서 백신 및 치료제와 더불어 사람의 면역력을 증가시키는 것과 동시에 안전한 천연물질의 개발은 대유행시 치사율을 감소하게 하는 중요한 수단이 될 것이다.

[0030] 인삼은 파낙스(Panax)속에 속하는 다년생 식물로, 파낙스속 식물은 식물 분류학상 오가과(Araliaceae)에 속하는 다년생 숙근초로서 지구상에 십여 종이 알려져 있다. 대표적인 종으로는 고려인삼(Panax ginseng), 화기삼(Panax quinquefolia), 전칠삼(삼칠, Panax notoginseng), 죽절삼(Panax japonica), 삼엽삼(Panax trifolia), 히말라야삼(Panax pseudoginseng), 베트남삼(Panax vietnamensis) 등이 있다(고려삼의 이해, 고려인삼학회, p.9, 1995; Advances in Ginseng Research, 고려인삼학회, pp.127-137, 1998).

[0031] 이러한 파낙스 속 식물에서 가장 중요한 성분은 사포닌이다. 특히 파낙스 속 식물에는 다른 식물과는 달리 담마란(dammarane) 골격에 1~4 개의 당이 결합되어 있는 사포닌을 공통으로 함유하고 있다. 특히 고려인삼에 함량이 높은 사포닌은 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rg1, Re 등이다. 이러한 사포닌 성분들은 다양한 약효를 나타내는데 그 구조에 따라 약효의 종류와 강도가 매우 다르다(고려삼의 이해, 고려인삼학회, p.9, 1995).

[0032] 그러나 지금까지의 인삼 및 가공인삼에 대한 연구가 뿌리에 대부분 국한되어 있다. 실제로 인삼의 주 효능을 나타내는 사포닌은 뿌리에 4-5% 존재하며 엽에는 이보다 4배 가량 높은 18-20% 정도 존재한다(인삼의 근, 엽 및 경의 사포닌함량 비교, 고려인삼학회, p.118, 1987). 따라서 본 실험실에서는 인삼의 활성성분 함량을 더욱 높이기 위한 노력의 결과로써 증숙법의 하나인 한약재의 가공방법 중 물과 불을 함께 사용하는 것으로 가장 대표적인 방법인 구증구포의 원리 및 이 방법에 비해서 시간적으로 단축되고 대량 생산이 가능한 표준화된 흑인삼엽의 제조방법에 대해서 특허를 등록한 바 있다(대한민국 특허등록 제 10-2008-0844991); 흑인삼엽 추출물을 함유하는 항암용 조성물). 그러나 현재까지 상기의 방법으로 제조된 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물의 HPAI에 대한 억제 효과에 대해서는 개시되거나 연구된 바가 없다.

[0033] 이에 본 발명자들은 인삼의 프리미엄화 시대를 맞이하여 고온고압에 의해서 제조된 흑인삼엽 건조분말 또는 그

추출물이 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 뛰어난 억제효과를 나타냄을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

과제 해결수단

[0034] 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 고온고압 제조방법으로 제조된 흑인삼엽(Black *Panax Ginseng leaf*)의 건조분말 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

[0035] 또한, 본 발명은 고온고압의 제조방법으로 제조된 흑인삼엽의 건조분말 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0036] 본원에서 정의되는 건조분말은 흑인삼엽을 자연건조, 동결건조 또는 열풍건조, 바람직하게는 열풍건조함을 특징으로 한다.

[0037] 본원에서 정의되는 추출물은 흑인삼엽의 조추출물 또는 극성용매 가용 추출물임을 특징으로 한다.

[0038] 본원에서 정의되는 상기 조추출물은 정제수를 포함한 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매에 가용한 조추출물을 포함한다.

[0039] 본원에서 정의되는 상기 극성용매 가용 추출물은 정제수를 포함한 물, 탄소수 1 내지 4의 저급알코올 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물, 부탄올 또는 이들의 혼합용매에 가용한 추출물을 포함한다.

[0040] 본원에서 정의되는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스는 H1N1, H1N2, H2N2, Human B, H3N2, H3N8, H5N1, H5N2, H5N3, H5N8, H5N9, H7N1, H7N2, H7N3, H7N4, H7N7, H9N2 또는 H10N7, 바람직하게는 H1N1, H3N2, Human B, H5N1, H9N2, H7N1 또는 H7N2의 혈청형을 가짐을 특징으로 한다.

[0041] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0042] 본 발명의 흑인삼엽의 건조분말 및 그 추출물은 하기와 같은 공정을 통하여 제조될 수 있다.

[0043] 본 발명의 흑인삼엽 가공 건조분말은 3 내지 7년근, 바람직하게는 4 내지 6년근 인삼엽을 초음파 세척기로 3분간 총 3회 세척 후, 30 내지 70℃, 바람직하게는 40 내지 60℃의 온도에서 12 내지 36시간, 바람직하게는 20 내지 28시간 건조하는 제 1차 건조공정; 건조 인삼엽을 0.05 내지 0.45MPa, 바람직하게는 0.10 내지 0.20MPa, 보다 바람직하게는 0.10 내지 0.14MPa의 압력하에 95 내지 155℃, 바람직하게는 110 내지 145℃의 온도에서 1 내지 8시간, 바람직하게는 2 내지 6시간 동안 증숙하는 제 1차 증숙공정; 40 내지 80℃, 바람직하게는 50 내지 70℃의 온도에서 6 내지 18시간, 바람직하게는 9 내지 15시간 동안 수분함량이 14% 이내로 건조하는 제 2차 건조공정으로 수득한 흑인삼엽을 생약 분쇄기를 이용하여 50 내지 200 ㎛의 입자크기로 분쇄하는 제조공정을 통하여, 본 발명의 흑인삼엽 가공 건조분말(이하, “BGL”이라 함)을 수득할 수 있다.

[0044] 본 발명의 조추출물은 상기에서 얻은 건조분말을 분쇄한 후, BGL의 약 1 내지 5배, 바람직하게는 2 내지 4배 질량의 물을 가하여, 실온에서 3 내지 7시간 방치한 후, 80% 에탄올을 0.5 내지 2ℓ를 가하여, 3시간 씩 3회 냉침추출, 열수추출, 초음파 추출, 환류 추출, 가열추출, 바람직하게는 환류 추출하여 실온까지 냉각시킨 후 여과한 뒤 감압농축기를 이용하여 에탄올을 제거하여 본 발명의 조추출물(이하, “BGLE”이라 함)을 수득할 수 있다.

[0045] 또한, 본 발명의 극성용매 가용 추출물은 상기에서 얻은 조추출물, 바람직하게는 흑인삼엽의 에탄올 조추출물 중량의 20 내지 30배, 바람직하게는 25 내지 28배 부피(v/v)의 물에 현탁시킨 후, 부탄올을 물과 동량 부피를 가하여 1 내지 5회, 바람직하게는 2 내지 4회 추출하여 부탄올, 물 등의 극성용매에 가용한 극성 용매 가용 추출물을 수득할 수 있다.

[0046] 상기 제조 방법으로 제조된 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물은 기존의 수삼이나 백삼, 또는 홍삼에는 없거나, 극미량으로 존재하던 활성 성분(Rb1, Rb2, Rb3, Rc, Rd, Re, Rg1, Rk1, Rg5, Rg3(S), Rg3(R), Rh2)의 함량이 증강됨을 특징으로 한다.

[0047] 또한, 본 발명의 제조 방법으로 제조된 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물은 강한 고병원성 조류인플루엔자 바이러스에 대한 억제효과를 나타냄을 특징으로 한다.

[0048] 본 발명은 상기의 제조방법으로 얻어진 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 치료용 약학조성물을 제공한다.

[0049] 본 발명의 건조분말 또는 그 추출물을 함유하는 약학조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 건조분말 또는 그 추출물을 0.1 내지 50 중량%로 포함한다.

[0050] 그러나 상기와 같은 조성은 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 변할 수 있다.

[0051] 본 발명의 건조분말 또는 그 추출물 자체는 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.

[0052] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

[0053] 본 발명의 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 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 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0054] 본 발명의 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 조성물은 1일 0.2 내지 200 ㎎/㎏으로, 바람직하게는 2 내지 100 ㎎/㎏으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0055] 본 발명의 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

[0056] 본 발명의 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물은 기존의 인삼이 사용되어오던 용도, 즉 각종 의약품 제제, 한약, 건강식품, 식품, 차, 향장품 등보다 더 효능이 강화된 원료로 사용될 수 있다.

[0057] 또한, 본 발명은 상기 제조방법으로 얻어진 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물을 유효성분으로 함유하는 고병원성 조류인플루엔자 바이러스의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0058] 본 발명의 건조분말 또는 그 추출물을 포함하는 조성물은 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 개선을 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 발명의 건조분말 또는 그 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강보조 식품류 등이 있고, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료인 형태로 사용할 수 있다.

[0059] 본 발명의 식품 또는 음료 중의 상기 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물의 양은 일반적으로 본 발명의 건강식품 조성물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

[0060] 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물을 함유하는 외에 액체성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당,

과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.

[0061] 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제 (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. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

효 과

[0062] 본 발명은 고온고압 제조방법을 이용하여 제조된 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물이 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스에 대한 억제효과를 나타냄을 확인함으로써, 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스의 예방 및 치료용 약학조성물 및 건강기능식품에 이용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0063] 이하, 본 발명을 하기 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

[0064] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0065] **실시예 1. 흑인삼엽 건조분말의 제조**

[0066] 금산에서 재배한 5년근 인삼엽 1Kg을 구입한 후, 초음파 세척기(JAC, 4020)에 넣고 3분간 총 3회 반복해서 세척하였다. 세척된 인삼엽을 50℃에서 24시간동안 건조기(Lab Tech-one, LTO-DO-150S)로 1차 건조시킨 뒤, 다시 0.12MPa하에 110 내지 145℃에서 4시간동안 증숙기(Sanyo, MLS-3780)로 증숙하였다. 열선이 내장된 건조기의 내부온도를 60℃로 유지시킨 후 펜을 돌리면서 골고루 인삼엽을 12시간 동안 2차 건조시켜 수분함량이 14% 이하인 본 발명의 흑색으로 변한 흑인삼엽 226g을 수득하여 22.6%의 수율을 얻었으며, 이를 생약 분쇄기(한일전자, HMF-1000A)를 이용하여 50 내지 200 ㎛의 입자크기로 분쇄하여 흑인삼엽 건조분말 224g을 수득하여 하기 실시예의 시료로 사용하였다.(이하, “BGL”이라 함).

[0067] **실시예 2. 흑인삼엽 추출물의 제조**

[0068] 2-1. 흑인삼엽 에탄올 조추출물의 제조

[0069] 상기의 실시예 1의 방법으로 제조된 BGL 50g를 취하여 100㎖의 물을 넣고 실온에서 5시간 방치한 뒤, 80% 에탄올(20% 물) 1ℓ를 가하여 3시간 씩 3회 환류 추출(TOPS, MS-DM607)하여, 추출한 용액을 실온까지 냉각시킨 후, 여과한 뒤 감압 농축기(Buchi, R-210)를 이용하여 에탄올 용매를 제거하여 흑인삼엽 에탄올 조추출물 18.12g을 수득하여(이하, “BGLE”라 한다), 하기 실험의 시료로 사용하였다.

[0070] 2-2. 흑인삼엽 부탄올 추출물의 제조

[0071] 상기 실시예 2-1에서 수득한 BGLE 18.12g에 물 500㎖을 넣어 현탁시킨 후, 에테르 500㎖을 가하여 비극성 물질을 제거하였다. 남아있는 수층에 수포화 부탄올 500㎖을 가하여 인삼엽에 존재하는 사포닌을 4회 추출한 후, 부탄올 용매를 감압농축기(Buchi, R-210)로 제거하여 인삼엽 사포닌이 다량 함유된 부탄올 추출물 9.65g을 수득하여(이하, “BGLEB”라 한다), 하기 사포닌 성분 분석의 시료로 사용하였다.

[0072] **실시예 3. 흑인삼엽 사포닌 성분 분석**

[0073] 흑인삼엽 추출물에 존재하는 인삼사포닌의 성분을 분석하기 위하여 상기한 실시예 2-2에서 얻은 BGLEB 20mg을 메탄올 1㎖에 녹인 후, 0.45㎛ 필터로 여과한 여액을 하기 표 1의 HPLC 분석 조건에서 성분을 분석하였다.

[0074] 성분을 분석한 결과, 흑인삼엽 1g당 Rb1이 0.2 내지 0.5mg, Rb2+Rb3가 1.4 내지 2.1mg, Rc가 1.3 내지 2.0mg, Rd가 2.1 내지 2.5mg, Re가 1.0 내지 1.5mg, Rg1이 0.4 내지 0.9mg, Rk1+Rg5가 112 내지 134mg, Rg3(S)+Rg3

(R)가 17 내지 26mg, Rh2가 30 내지 38mg이 존재함을 확인하였다.

표 1

[0075]

컬럼: Shiseido C18 column (5㎛, 150×4.6mm)	
유량(Flow rate)	1㎖/min
디텍터(Detector)	ELSD-LT detector
용매(Solvent)	A; CH_3CN:H_2O:5%CH_3COOH = 15:80:5, B; CH_3CN:H_2O = 80:20 0분(0%B), 0-10분(30% B), 10-25분(50% B), 25-40분(100% B), 40-50분(100% B), 50-55분(0% B), 55-58분(0% B)
온도	40도

[0076] **실험예 1. 항바이러스 활성의 측정**

[0077] 상기 실시예2-1에서 수득한 BGLE의 바이러스 억제효과를 측정하기 위하여 아래와 같이 실험을 수행하였다.

[0078] 본 실험에서는 고병원성 조류인플루엔자 바이러스인 H5N1 (NIBRG-14; 영국 NIBSC)을 사용하였다. 각 실험군은 동일하게 BALB/c 마우스 6 마리를 한 군으로 하여 실험에 사용하였다. (주)샘타코에서 구입한 3 주령의 BALB/c 마우스 (수컷)에 매일 50 mg/Kg/day의 농도로 BGLE을 30일 동안 투여한 후, 100 마우스 치사량(mouse lethal dose) 50/ml 의 0.1 ml H5N1 백신균주 (NIBRG-14; 영국 NIBSC)를 코로 접종하였다. 감염 후 14일 동안 마우스의 치사율을 관찰하였다. 대조군은 본 발명의 흑인삼엽 에탄올 추출물을 투여하지 않고 바이러스를 감염시킨 군이다.

표 2

[0079]

시료	투여량(mg/kg/day)	치사율 (%)
BGLE	50	33
대조군	-	100

[0080] 실험 결과, 상기 표 2에 나타낸 바와 같이, 대조군은 바이러스 감염 2주 후 100% 치사율을 보였다. 반면에 흑인삼엽 에탄올 조추출물 투여군(BGLE)은 바이러스 감염 2주 후 실험에 사용된 6마리 마우스 중 2마리가 사망하여 33%의 치사율을 보였다. 즉, 흑인삼엽은 바이러스 억제효과가 우수하다고 판단된다.

[0081] **실험예 2. 급성독성실험**

[0082] 대한실험공급센터에서 공급받은 6주령의 특정병원체부재(specific pathogen-free, SPF) SD계 랫트를 사용하여 급성독성실험을 하기와 같이 실시하였다.

[0083] 각 그룹 당 2마리씩의 동물에 상기 실시예 2-1의 BGLE을 1 g/kg의 용량으로 1회 경구 투여 후, 동물의 폐사여부, 임상증상 및 체중변화를 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학적 검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 강장기와 흉강 장기의 이상 여부를 관찰하였다.

[0084] 실험결과, 실험 물질을 투여한 모든 동물에서 특이할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사 및 부검 소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과, 본 발명의 추출물은 랫트에서 각각 1 g/kg까지도 독성변화를 나타내지 않았으며, 경구투여 최소치사량(LD_{50})은 1 g/kg이상인 안전한 물질로 판단됨을 확인할 수 있었다.

[0085] 본 발명의 흑인삼엽 건조분말 또는 그 추출물을 포함하는 약학조성물의 제제예를 하기와 같이 예시하는 것일 뿐, 이에 의해 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 위함이다.

[0086] **제제예 1. 산제의 제조**

[0087] BGL 20 mg

[0088] 유당 100 mg

[0089] 탈크 10 mg

[0090] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

[0091] **제제예 2. 정제의 제조**

[0092] BGLE 10 mg

[0093] 옥수수전분 100 mg

[0094] 유당 100 mg

[0095] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0096] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0097] **제제예 3. 캅셀제의 제조**

[0098] BGLEB 10 mg

[0099] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0100] 락토오스 14.8 mg

[0101] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0102] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0103] **제제예 4. 주사제의 제조**

[0104] BGL 10 mg

[0105] 만니톨 180 mg

[0106] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0107] $Na_2HPO_412H_2O$ 26 mg

[0108] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2 ㎖) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0109] **제제예 5. 액제의 제조**

[0110] BGLE 20 mg

[0111] 이성화당 10 g

[0112] 만니톨 5 g

[0113] 정제수 적량

[0114] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ㎖로 조절한 후 갈색병에 충진하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0115] **제제예 6. 건강 식품의 제조**

[0116] BGLEB 1000 mg

[0117] 비타민 혼합물 적량

[0118] 비타민 A 아세테이트 70 ㎍

[0119] 비타민 E 1.0 mg

[0120] 비타민 B_1 0.13 mg

[0121] 비타민 B_2 0.15 mg

[0122] 비타민 B_6 0.5 mg

[0123] 비타민 B_{12} 0.2 ㎍

[0124] 비타민 C 10 ㎎

[0125] 비오틴 10 ㎍

[0126] 니코틴산아미드 1.7 ㎎

[0127] 엽산 50 ㎍

[0128] 판토텐산 칼슘 0.5 ㎎

[0129] 무기질 혼합물 적량

[0130] 황산제1철 1.75 ㎎

[0131] 산화아연 0.82 ㎎

[0132] 탄산마그네슘 25.3 ㎎

[0133] 제1인산칼륨 15 ㎎

[0134] 제2인산칼슘 55 ㎎

[0135] 구연산칼륨 90 ㎎

[0136] 탄산칼슘 100 ㎎

[0137] 염화마그네슘 24.8 ㎎

[0138] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0139] **제제예 7. 건강 음료의 제조**

[0140] BGL 100 ㎎

[0141] 비타민 C 15 g

[0142] 비타민 E(분말) 100 g

[0143] 젖산철 19.75 g

[0144] 산화아연 3.5 g

[0145] 니코틴산아미드 3.5 g

[0146] 비타민 A 0.2 g

[0147] 비타민 B_1 0.25 g

[0148] 비타민 B_2 0.3g

[0149] 물 정량

[0150] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

[0151] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.