

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2022-0123183
(43) 공개일자 2022년09월06일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7048 (2006.01) **A23L 33/125** (2016.01)
A61K 31/7056 (2006.01) **A61P 31/14** (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/7048 (2013.01)
A23L 33/125 (2020.05)
- (21) 출원번호 10-2022-0102711(분할)
(22) 출원일자 2022년08월17일
심사청구일자 2022년08월17일
- (62) 원출원 특허 10-2020-0054862
원출원일자 2020년05월08일
심사청구일자 2020년05월08일
- (30) 우선권주장
1020190054463 2019년05월09일 대한민국(KR)
- (71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
- (72) 발명자
강세찬
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 생명과학대학 414호 (서천동)
- 권정은**
경기도 수원시 영통구 반달로 76, 204호(영통동)
- (74) 대리인
위병갑

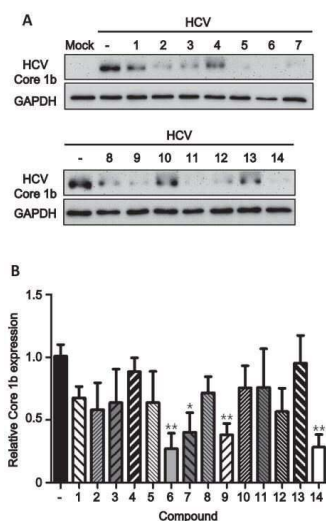
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **선향초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 포함하는 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 선향초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 포함하는 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 선향초 추출물 및 오배자 추출물에서 분리한 화합물은 HCV Core 1b 및 HCV NS5A의 발현을 억제함에 따라 C형 간염 바이러스 감염 질환 및 간질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 약학적 조성물 및 식품 조성물로 유용할 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A61K 31/7056 (2013.01)

A61P 31/14 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/324 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1415166153
과제번호	N0001722
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술진흥원
연구사업명	국제공동기술개발사업
연구과제명	선험초로부터 C형 간염 치료제 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경희대학교 산학협력단
연구기간	2015.12.01 ~ 2019.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 화합물은,

HCV Core 1b, NS5A 또는 HCV 214의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는, C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 3

아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, 리바비린과 병용 투여를 통한 C형 간염 바이러스 감염 질환의 치료 효과 증강용 약학적 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 화합물은,

HCV Core 1b, NS5A 또는 HCV 214의 발현을 억제하는 것을 특징으로 하는, 리바비린과 병용 투여를 통한 C형 간염 바이러스 감염 질환의 치료 효과 증강용 약학적 조성물.

청구항 5

아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 6

아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, 리바비린과 병용 투여를 통한 C형 간염 바이러스 감염 질환의 치료 효과 증강용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 포함하는 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 약학적 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] C형 간염 바이러스 (Hepatitis C virus, HCV: 이하 "HCV"라 함)는 주로 수혈 및 지역 특이적 감염 (communityacquired)에 의해 일어난다. HCV에 감염되면, 그 징후가 나타나는 경우 약 20%는 급성 간염으로 진행되고 약 80% 정도가 만성 간염으로 진행되고 이 중 약 30%가 간경화 및 간암으로 진행된다. 최근의 보고에 의하면, 전세계적으로 약 2억명 이상이 HCV에 감염되어 있으며 미국 내에서는 4백 50만 명 이상으로 추정되며 (최대 천오백만 명까지 될 것으로 추정됨) 유럽에서도 5백만 명 이상이 C형 간염 환자인 것으로 알려져 있다.

[0003] 현재까지 C형 간염에 대한 탁월한 백신이나 효과적인 치료제는 존재하지 않기 때문에 세계의 많은 제약회사와 연구소에서 C형 간염 치료제를 개발하고 있다. C형 간염은 B형 간염과 비교하여 전 세계적으로 고른 분포를 보

이고 있으며, 간경화와 간암으로 전이되는 비율이 B형 간염보다 월등히 높다. 그리고 만성 간염으로의 진행 비율이 훨씬 높는데 이러한 진행 기전에 대한 연구는 아직도 진행 중이다. 또한, C형 간염은 수혈을 통할 뿐만 아니라 정맥주사를 통한 약물 사용이나 문신을 하는 것에 의해서도 감염이 가능하지만 주로 직접적인 혈액 접촉에 의해서 감염된다. C형 간염 바이러스에 감염이 되면 대부분의 환자가 만성으로 진행되며 다시 간경화와 간암으로 진행되게 된다. 따라서 효과적인 백신과 치료제의 개발이 절실한 상태이다. HCV는 바이러스주(strain) 간에 그 유전형(genotype)이 다양하고 돌연변이(mutation)가 일어나는 경우가 많은데, HCV에 의한 만성간염이 된 경우 유전적 변이형(genetic variants)에 의해 재감염(reinfection), 동시감염(coinfection) 등이 일어나기도 한다. 이 때문에 C형 간염의 효과적인 백신 개발은 성공하기가 매우 어렵다.

[0004] 현재 C형 간염의 치료방법으로는 인터페론-알파(interferon- α)와 리바비린(Ribavirin)을 병용 사용하는 치료법이 시행되고 있으나 그 치료율이 낮고 부작용이 매우 심한 편이다. 인터페론 요법의 경우 전혀 반응을 보이지 않는 경우가 약 25%이고, 일시적으로 반응하다가 재발하는 경우가 약 25% 정도이다. 나머지 약 50%의 환자에서는 치료 종료 후까지 에이엘티(ALT)치가 정상으로 유지되고 HCV RNA가 음성이 되는데 그 중에서 50% 정도는 치료 종료 후 3-6개월 내에 재발하므로 결국 25% 정도에서만 6개월 이상 치료효과가 유지되는 지속적 바이러스 반응(sustained viral response)을 보이는 셈이다. 또한, C형 간염 바이러스에는 6가지 유전자형(genotype)이 존재하는데 우리나라에 가장 많은 1b형은 2, 3형에 비해 인터페론 치료에 좋은 반응을 보이지 않는다. 이러한 이유로 리바비린과 병용요법을 사용하는데 이 경우 치료 효과가 2배 정도 높아지는 것으로 나타났으나, 리바비린만을 단독으로 사용하는 경우에는 효과가 거의 없고 적혈구가 파괴되어 빈혈 등의 부작용이 나타나므로, 주로 인터페론 치료에 반응이 없거나 재발한 경우에만 처방하는 것으로 알려져 있다. 현재까지는 HCV에 특이적으로 작용하여 증식을 억제함으로써 C형 간염을 효과적으로 치료하는 항바이러스제는 개발되지 못한 상태이다. 인터페론 치료는 HCV NS5A의 치료제인 리바비린을 병용했을 때 HCV Core 1b에 대한 민감성을 높여주므로 치료효과가 나타나는 것인 반면, 리바비린 단독으로는 HCV core 1b에 대한 억제 효과가 전혀 없으므로, HCV CORE 1b 자체를 억제하면서 동시에 HCV NS5A를 억제하는 매우 효과적인 C형 간염 바이러스 질환을 치료할 수 있는 치료제를 개발하고자 하였다.

[0005] 이에 본 발명자들은 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물이 HCV Core 1b 및 HCV NS5A의 발현을 억제함에 따라 C형 간염 바이러스 감염 질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 10-0901761호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 간질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 간질환 예방 또는 개선용 건강식품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, C형 간염 바이러스 감

염 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명에 있어서, 상기 화합물은, 바람직하게는 HCV Core 1b, NS5A 또는 HCV 214의 발현을 억제하는 것이 좋다.

[0015] 또한, 본 발명은 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, 리바비린과 병용 투여를 통한 C형 간염 바이러스 감염 질환의 치료 효과 증강용 약학적 조성물을 제공한다.

[0016] 본 발명에 있어서, 상기 화합물은, 바람직하게는 HCV Core 1b, NS5A 또는 HCV 214의 발현을 억제하는 것이 좋다.

[0017] 또한, 본 발명은 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명은 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide)를 유효성분으로 포함하는, 리바비린과 병용 투여를 통한 C형 간염 바이러스 감염 질환의 치료 효과 증강용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0019] 본 발명에 따른 선학초 추출물 및 오배자 추출물에서 분리한 화합물은 HCV Core 1b 및 HCV NS5A의 발현을 억제함에 따라 C형 간염 바이러스 감염 질환 및 간질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 약학적 조성물 및 식품 조성물로 유용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 선학초 추출물(AP), 오배자 추출물(RG) 및 선학초 추출물 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64)의 HCV 단백질 발현 억제를 확인한 결과이다.

도 2는 선학초 추출물 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64)의 총 이온 크로마토그램(Total ion chromatograms; TIC)을 나타낸 것이다.

도 3은 본 발명의 선학초 추출물 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64)에서 분리한 화합물 14종의 세포독성을 확인한 결과이다.

도 4는 본 발명의 선학초 추출물 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64)에서 분리한 화합물 14종의 HCV Core 1b의 발현을 확인한 결과이다.

도 5는 본 발명의 선학초 추출물 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64)에서 분리한 화합물 14종의 NS5A의 발현을 확인한 결과이다.

도 6은 본 발명의 선학초 추출물 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64)에서 분리한 화합물 14종의 인터페론 감마 치료제와 병용 처리 시 HCV 억제 활성을 확인한 결과이다.

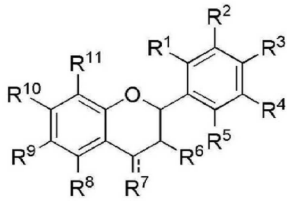
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0023] C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

[0024] 본 발명은 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함하는 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

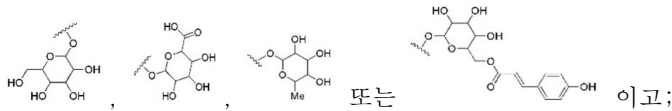
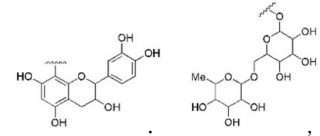
[0025] [화학식 1]



[0026]

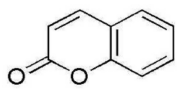
[0027] (상기 화학식 1에서,

[0028] R¹ 내지 R⁶ 및 R⁸ 내지 R¹¹은 독립적으로 -H, -OH, C₁₋₅의 직쇄 또는 측쇄 알콕시,



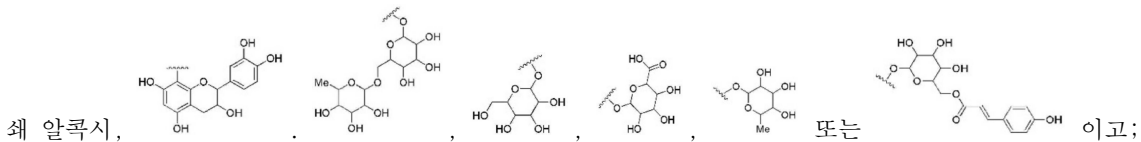
[0029] R⁷은 독립적으로 수소 또는 옥소기(=O)이다).

[0031] [화학식 2]



[0032]

[0033] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 R¹ 내지 R⁶ 및 R⁸ 내지 R¹¹은 독립적으로 -H, -OH, C₁₋₃의 직쇄 또는 측



[0034] R⁷은 독립적으로 수소 또는 옥소기(=O)일 수 있다.

[0035] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 바람직한 일례로는 하기 화합물을 들 수 있다.

[0036] (1) 프로시아니딘 B2(procyanidin B2);

[0037] (2) 택시폴린(taxifolin);

[0038] (4) 루틴(rutin);

[0039] (5) 히페린(hyperin);

[0040] (6) 루테올린(luteolin);

[0041] (7) 아스트라갈린(astragalin);

[0042] (8) 퀘르세틴(quercetin);

[0043] (9) 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide);

[0044] (10) 바이칼린(baicalin);

[0045] (11) 아프젤린(afzelin);

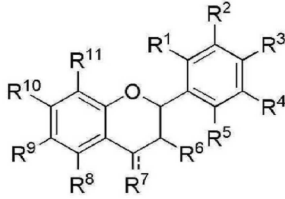
[0046] (12) 니코티폴로린(nicotiflorin);

- [0047] (13) 티리로시드(tiliroside); 및
- [0048] (14) 아피게닌(apigenin).
- [0050] 보다 바람직하게는
- [0051] (2) 택시폴린 (Taxifolin);
- [0052] (9) 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide);
- [0053] (10) 바이칼린 (baicalin);
- [0054] (11) 아프젤린 (afzelin);
- [0055] (12) 니코티폴로린(nicotiflorin); 및
- [0056] (13) 티리로시드(tiliroside)일 수 있다.
- [0057] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 (3) 쿠마린(coumarin)일 수 있다.
- [0058] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물은 탄소수 1 내지 탄소수 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 추출물을 제조할 수 있으며, 바람직하게는 50% 에탄올 수용액을 이용하여 추출할 수 있다.
- [0059] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물(extract)"은 추출 대상을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다. 상기 선학초 추출물 및 오배자 추출물은 통상의 기술분야에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.
- [0060] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물은 5 : 5 내지 8 : 2의 중량비로 혼합하여 사용할 수 있고, 바람직하게는 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물은 6 : 4의 중량비로 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0061] 본 발명의 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있으며, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제, 계면활성제 등의 회석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다.
- [0062] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose), 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스테레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 회석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0063] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 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, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0064] 본 발명의 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물의 인체에 대한 효과적인 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 일반적으로 약 0.01-1000 mg/kg/일이며, 바람직하게는 0.1-500 mg/kg/일 수 있고, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0066] C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 또는 건강식품 조성물

[0067] 본 발명은 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함하는 C형 간염 바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 또는 건강식품 조성물을 제공한다.

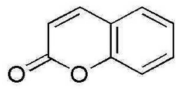
[0068] [화학식 1]



[0069] (상기 화학식 1에서,
[0070]

[0071] R¹ 내지 R¹¹은 제1항에서 정의한 바와 같다).

[0072] [화학식 2]



[0073] .

[0075] 본 발명의 조성물에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 바람직한 일례로는 하기 화합물을 들 수 있다.

[0076] (1) 프로시아니딘 B2(procyanidin B2);

[0077] (2) 택시폴린(taxifolin);

[0078] (4) 루틴(rutin);

[0079] (5) 히페린(hyperin);

[0080] (6) 루테올린(luteolin);

[0081] (7) 아스트라갈린(astragalin);

[0082] (8) 퀘르세틴(quercetin);

[0083] (9) 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide);

[0084] (10) 바이칼린(baicalin);

[0085] (11) 아프젤린(afzelin);

[0086] (12) 니코티플로린(nicotiflorin);

[0087] (13) 티리로스이드(tiliroside); 및

[0088] (14) 아피게닌(apigenin).

[0090] 보다 바람직하게는

[0091] (2) 택시폴린 (Taxifolin);

[0092] (9) 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide);

[0093] (10) 바이칼린 (baicalin);

[0094] (11) 아프젤린 (afzelin);

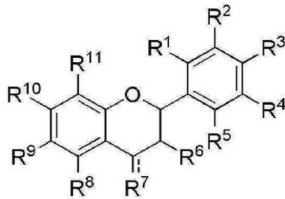
- [0095] (12) 니코티플로린(nicotiflorin); 및
- [0096] (13) 티리로시드(tiliroside)일 수 있다.
- [0097] 본 발명의 조성물에 있어서, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 (3) 쿠마린(coumarin)일 수 있다.
- [0098] 본 발명의 조성물에 있어서, 상기 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물은 탄소수 1 내지 탄소수 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 추출물을 제조할 수 있으며, 바람직하게는 50% 에탄올 수용액을 이용하여 추출할 수 있다.
- [0099] 본 발명에서 사용되는 용어 "추출물(extract)"은 추출 대상을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 회석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다. 상기 선학초 추출물 및 오배자 추출물은 통상의 기술분야에 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있다.
- [0100] 본 발명의 조성물에 있어서, 상기 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물은 5 : 5 내지 8 : 2의 중량비로 혼합하여 사용할 수 있고, 바람직하게는 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물은 6 : 4의 중량비로 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0101] 본 발명의 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 건강기능식품 및 건강식품 조성물로 사용하는 경우, 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 본 발명의 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 첨가할 수 있는 건강기능식품의 예로는 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 형태일 수 있으며, 건강식품의 예로는 각종 드링크제, 육류, 소세지, 빵, 캔디류, 스낵류, 면류, 아이스크림, 유제품, 스프, 이온음료, 음료수, 알코올 음료, 껌, 차 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품 및 건강식품 조성물을 모두 포함한다.
- [0102] 본 발명에 따른 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 함유하는 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 식품에 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물의 혼합량은 그의 사용 목적(예방 또는 개선용)에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 건강기능식품 및 건강식품 조성물 중의 상기 조성물의 양은 전체 식품 중량의 0.1 내지 90 중량부로 가할 수 있다. 그러나 건강 유지를 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [0103] 본 발명의 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 본 발명 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 함유하는 것 외에는 다른 성분에는 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 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 건강기능식품 및 건강식품 조성물 100 당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.
- [0104] 상기 외에 본 발명의 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 함유하는 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증진제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강기능식품 및 건강식품 조성물은 천연 과일주스 및 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0106] 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 화합물을 함유하는 건강 기능식품 및 건강식품 조성물 100 중량부 당 0.1 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0108] **간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

[0109] 본 발명은 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함하는 간질환 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0110] [화학식 1]

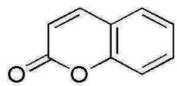


[0111]

[0112] (상기 화학식 1에서,

[0113] R^1 내지 R^{11} 은 제1항에서 정의한 바와 같다).

[0114] [화학식 2]



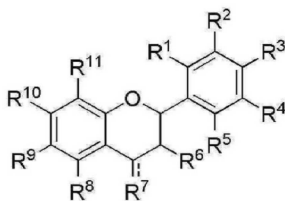
[0115]

[0116] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 상기 간질환의 예로는 지방간, 간섬유증, 간경변증 또는 간암일 수 있다.

[0118] **간질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 또는 건강식품 조성물**

[0119] 본 발명은 선학초(*Agrimonia pilosa*) 추출물 및 오배자(*Galla rhois*) 추출물로부터 분리한 하기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함하는 간질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 또는 건강식품 조성물을 제공한다.

[0120] [화학식 1]

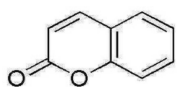


[0121]

[0122] (상기 화학식 1에서,

[0123] R^1 내지 R^{11} 은 제1항에서 정의한 바와 같다).

[0124] [화학식 2]



[0125]

[0127] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아니다.

[0129] <실시예 1> 추출물의 제조 및 화합물 분리

[0130] <1-1> 추출물의 제조

[0131] 선학초(Agrimonia Pilosa)와 오배자(Galla rhois)의 잎은 서울의 BioKorea Co., LTd(Seoul)에서 구입하고, 바우처 표본 (BMRI-AP-1601, BMRI-RG-1602)은 한국 용인 경희대학교 바이오메디컬연구센터에 기탁하였다. 건조된 샘플(20kg)을 $80 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 6시간 동안 50% 에탄올로 추출한 다음 여과하였다. 그 후, 회전 증발기를 사용하여 농축시키고 동결건조하였다. 최종 생성물 수율은 선학초 1.57kg 및 오배자 11.59kg이었다. 선학초와 오배자의 혼합물은 각각 6:4의 비율로 혼합하여 사용하였으며, APRG64로 약칭하였다. 모든 샘플은 사용전까지 4°C 에서 보관하였다.

[0133] <1-2> 화합물 분리

[0134] 상기 선학초 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64)에서 화합물을 분리하기 위해 tiMate™3000 Rapid Separation Binary System (Thermo fisher scientific Inc., Waltham, MA, USA) 및 Kinetex F5 C18 column ($2.6 \mu\text{m}$, $2.1 \times 100 \text{ mm}$)을 사용하여 HPLC를 수행하였다. 컬럼 온도를 25°C 로 유지하고, 이동상에는 용매 A(0.1% 포름산 수용액(v/v) 및 용매 B(아세트니트릴(v/v)에 0.1% 포름산 용해)가 포함되었다. 용리 기울기는 다음과 같다 0-2 min, B 5%; 2-8 min, B 5-20%; 8-16 min, B 20%; 16-28 min, B 20-35%; 28-32 min, B 35-100%; and 32-35 min, B 100%.

[0135] 유속은 $250 \mu\text{L}/\text{분}$ 이고, 주입 부피는 각 실행에 대해 $5 \mu\text{L}$ 였다. 양이온 모드에서 작동하는 SCIEX Triple TOF 5600 (SCIEX, Framingham, MA, USA)을 사용하여 MS 분석을 수행하였다. 질량분석기는 MSE acquisition mode라고 알려진 고에너지 및 저에너지 스캔을 교대로 수행했다. 동작 파라미터는 다음과 같이 설정되었다: 콘 전압(cone voltage) 40 V ; 캐필러리(capillary) 3.0 kV ; 소스 온도(source temperature) 500°C 콘 가스 유속(cone gas flow) 30 L/h ; 및 800 L/h 에서 탈용매화 가스 유속(desolvation gas flow). 데이터는 100 내지 1000 m/z 에서 수집되었다.

[0136] 실시예 1 APRG64의 총 이온 크로마토그램(Total ion chromatograms; TIC)을 도 1에 나타내었다. 하기 표 1에 총 14개의 화합물의 이름, 분자식, 머무른 시간(retention time), 질량값 및 질량 정확도에 대한 정보가 도시되었다. 피크는 Analyst Library에서 0.95보다 높은 값을 갖는 공유 특성 및 40ppm보다 작은 각 피크의 질량 정확도에 기초하여 선택하였다.

표 1

[0138]

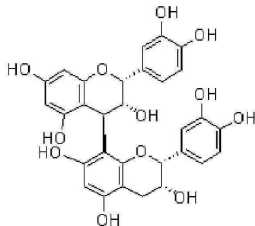
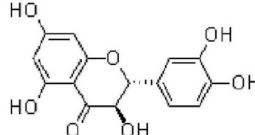
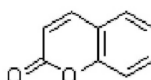
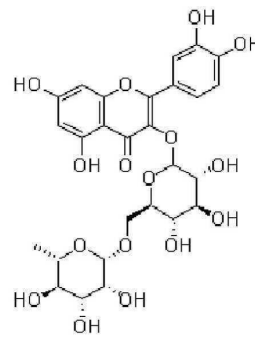
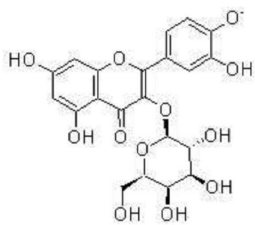
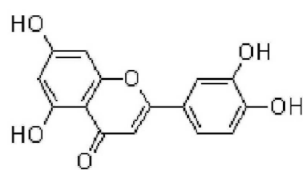
	RT (min)	이름	Molecular Formula	Observed Mass (Da)	Expected Mass (Da)	Mass Accuracy (ppm)
1	1.14	procyanidin B2	$\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{12} + \text{H}$	579.1488	579.1502	2.5
2	7.12	dihydroquercetin	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7 + \text{H}$	305.0659	305.0661	0.8
3	8.48	coumarin	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2 + \text{H}$	147.0437	147.0446	6.3
4	9.21	rutin	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} + \text{H}$	611.1605	611.1612	1.2
5	9.44	hyperin	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12} + \text{H}$	465.1030	465.1033	0.7
6	10.25	luteolin	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6 + \text{H}$	287.0552	287.0555	1.1
7	10.30	astragalin	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11} + \text{H}$	449.1073	449.1084	2.5
8	10.33	quercetin	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 + \text{H}$	303.0498	303.0505	2.4
9	10.70	apigenin 7-O- β -D-glucuronide	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11} + \text{H}$	447.0923	447.0927	1.0
10	10.76	baicalin	$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{10} + \text{H}$	447.0936	447.0927	-2.0
11	11.46	afzelin	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10} + \text{H}$	433.1126	443.1135	2.1
12	12.96	nicotiflorin	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15} + \text{H}$	595.1446	595.1663	36.5
13	16.28	tiliroside	$\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{13} + \text{H}$	595.1445	595.1451	1.1

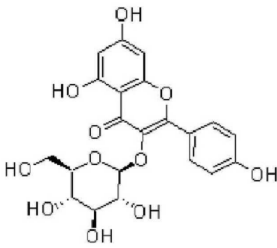
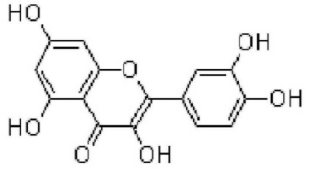
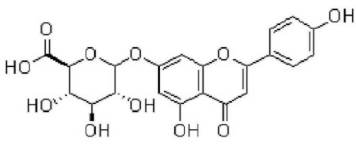
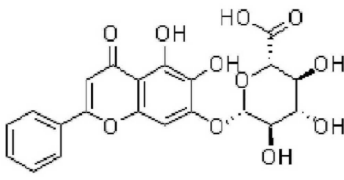
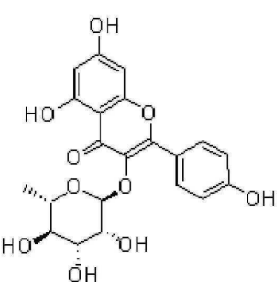
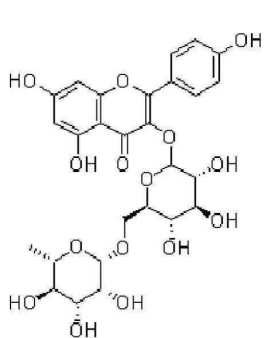
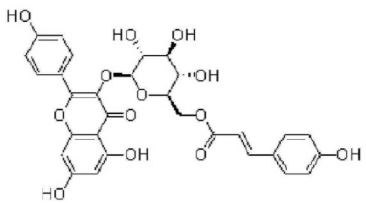
14	19.83	apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅ +H	271.0602	271.0606	1.6
----	-------	----------	---	----------	----------	-----

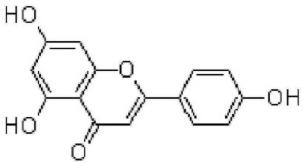
[0140] 도 2 및 상기 표 1의 결과를 바탕으로 선학초 및 오배자 추출물에서 분리한 화합물의 구조식을 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0142]

	이름	구조	IUPAC Name
1	프로시아니딘 B2(procyanidin B2)		(2R,3R)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-8-[(2R,3R,4R)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-3,4-dihydro-2H-chromen-4-yl]-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol
2	택시폴린 (taxifolin)		2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one
3	쿠마린 (coumarin)		chromen-2-one
4	루틴 (rutin)		2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one
5	히페린 (hyperin)		4-[5,7-dihydroxy-4-oxo-3-[(2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-2-yl]-2-hydroxyphenolate
6	루테올린 (luteolin)		2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4-one

7	아스트라갈린 (astragalin)		5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one
8	퀘르세틴 (quercetin)		2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one
9	아피게닌-7-글루쿠로 니드 (Apigenin 7-glucuronide)		(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-[5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxochromen-7-yl]oxyoxane-2-carboxylic acid
10	바이칼린 (baicalin)		(2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5,6-dihydroxy-4-oxo-2-phenylchromen-7-yl)oxy-3,4,5-trihydroxyoxane-2-carboxylic acid
11	아프젤린 (afzelin)		5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methylxan-2-yl]oxychromen-4-one
12	니코티플로린 (nicotiflorin)		5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methoxyoxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one
13	틸리로시드 (tiliroside)		[(2R,3S,4S,5R,6S)-6-[5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-oxochromen-3-yl]oxy-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]methyl (E)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoate

14	아피게닌 (apigenin)		5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one
----	--------------------	---	--

[0144] <준비에 1> 세포배양

[0145] Huh 7.5 세포는 10% 소태아혈청(FBS, GE Healthcare Life Sciences) 및 1% 페니실린-스트렙토마이신(PS, WELGENE, Daegu, Korea)이 보충된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, WELGENE, Daegu, Korea)에서 배양하였다. 세포는 5% CO₂가 포함된 습한 대기하에서 37℃로 유지되었다.

[0147] <준비에 2> HCV(Hepatitis C virus) RNA 준비

[0148] <2-1> 형질전환

[0149] 제조업자의 지시(ECOS 101, Yeastern Biotech Co., Ltd, Taipei, Taiwan)에 따라 세포를 형질전환 하였다. 간략하게, 1μl의 플라스미드 DNA를 50μl의 세포와 혼합한 다음 얼음에서 5분간 배양하였다. 배양된 세포를 암피실린(ampicillin)이 함유된 한천 플레이트에 적용하고 박테리아 콜로니가 나타날 때까지 37℃배양기에서 배양하였다.

[0151] <2-2> 미디프렘(Midiprep)

[0152] 미디프렘은 PureLink™HiPure Plasmid DNA Purification Kits (Invitrogen, CA, USA)을 사용하여 수행하였다. 플라스미드 DNA를 Multiskan Sky Microplate Spectrophotometer (Thermo Fisher, Waltham MA, USA)를 사용하여 적절한 부피의 TE 완충액에 용해시켜 농도 및 순도를 측정하였다. 수득된 DNA 1μg은 Mupid-2 Plus 전기 영동 시스템(ADVANCE)에서 GelRed®Nucleic Acid Gel Stain (Biotium, CA, USA)을 함유하는 아가로오스겔에 적용하였다.

[0154] <2-3> DNA 선형화

[0155] JFH-1 플라스미드는 Takaji Wakita 박사 (National Institute of Infectious Diseases, Japan)로부터 제공받았다. 플라스미드를 37℃에서 BamHI (New England Biolabs, NEB, MA, USA)로 소화시킨 후, Mungbean nuclease (New England Biolabs, NEB, MA, USA)와 함께 12분간 배양하였다. 선형화된 플라스미드 DNA를 페놀:클로로포름:이소아밀알코올로 2회 추출하고 pH 5.2 아세트산나트륨 및 100% 에탄올로 침전시켰다. 70% 에탄올로 1회 세척한 후, 분광광도계를 사용하여 농도 및 순도를 측정하였다.

[0157] <준비에 3> 시험관내 전사(Transcription)

[0158] 시험관내 전사는 제조사의 지시에 따라 MEGAscript®kit (Life Technology, CA, USA)를 사용하여 수행하였다. 전사 후, 추출된 RNA를 동일한 부피의 이소프로판올로 침전시켰다. 침전된 RNA 펠릿을 RNase 비함유 물로 충분히 용해시킨 후, 분광광도계를 사용하여 농도 및 순도를 확인하였다.

[0160] <준비에 4> 형질감염

[0161] 전기침공법(electroporation)은 Neon®transfection system (Invitrogen, CA, USA)을 사용하였다. 간단히, Huh 7.5 세포를 100μl R 완충액으로 재현탁시키고 추출된 RNA를 첨가하였다. 100μl Neon® 팁에 세포혼합물을 첨가

한 후, 충격($1400\text{ V} \cdot 20\text{ ms}^{-1}$ pulse)을 가하였다. 충격을 받은 세포를 항생제가 없는 배지로 재현탁시키고, 5% CO_2 가 포함된 습한 대기하에서 37°C 로 배양하였다.

[0163] <실험예 1> 추출물의 항 HCV 활성

[0164] 상기 실시예 1-1의 선학초 및 오배자 추출물(APRG64)이 항-HCV 활성을 나타내는지 여부를 확인하기 위해, Huh 7.5 세포를 pJFH-1 플라스미드로부터 전사된 full length HCV RNAs로 형질감염시켰다. 이틀 후, Huh 7.5 세포를 2일간 각 추출물로 처리하였다. HCV Core 1b 및 NS5A의 발현 수준은 HCV의 복제를 나타내므로, 이들 단백질의 발현 수준을 웨스턴 블롯팅으로 분석하였다.

[0165] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 선학초 추출물(AP) 및 오배자 추출물(RG)는 HCV Core 1b 및 NS5A의 발현을 억제하였으며, 선학초 추출물 및 오배자 추출물의 혼합물(APRG64) 또한 HCV 단백질의 발현을 강력하게 억제하였다.

[0167] <실험예 2> 세포독성

[0168] 먼저 Huh 7.5 세포를 다양한 농도로 상기 실시예 1-2에서 분리한 화합물 14개를 각각 24시간 처리하고, 트리판 블루가 살아있는 세포에는 염색되지 않는 점을 이용한 색소 배제법으로 세포독성을 분석하였다.

[0169] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1-2에서 분리한 화합물 14종의 최적 처리 농도는 각각 프로시아니딘 B2(Procyanidin B2) (1, $5\text{ }\mu\text{g/mL}$), 택시폴린(taxifolin) (2, $5\text{ }\mu\text{g/mL}$), 쿠마린(Coumarin) (3, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), 루틴(Rutin) (4, $5\text{ }\mu\text{g/mL}$), 히페린(hyperin) (5, $5\text{ }\mu\text{g/mL}$), 루테올린(luteolin) (6, $2.5\text{ }\mu\text{g/mL}$), 아스트라갈린(astragaloside) (7, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), 퀘르세틴(Quercetin) (8, $2.5\text{ }\mu\text{g/mL}$), 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide) (9, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), 바이칼린(Baicalin) (10, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), 아프젤린(afzelin) (11, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), 니코티플로린(Nicotiflorin) (12, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), 티리로스이드(Tiliroside) (13, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$), 및 아피게닌(apigenin) (14, $5\text{ }\mu\text{g/mL}$)이었으며, 상기 확인한 농도를 후속 실험에 사용하였다.

[0171] <실험예 3> HCV 억제 활성

[0172] 상기 실시예 1-2에서 분리한 화합물 14종의 항 HCV 활성을 확인하기 위해, 형질감염되지 않은(Mock) Huh 7.5 세포 또는 HCV RNA로 형질감염된 Huh 7.5 세포에 상기 실시예 1-2의 화합물 14종을 각각 48시간 동안 처리하고, 세포 용해물을 제조하여, HCV Core 1b 및 NS5A의 발현을 웨스턴블롯으로 분석하였다. GAPDH를 대조군으로 사용하였다. 단백질의 밴드 강도를 이미지 J 소프트웨어에 의해 정량하고 GAPDH에 대한 상대적인 표현을 나타내었다 (*, $p \leq 0.05$).

[0173] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 모든 화합물은 미처리 대조군과 비교할 때 HCV Core 1b 단백질의 발현을 억제하였다. 히페린(hyperin), 루테올린(luteolin), 아스트라갈린(astragaloside), 아프젤린(afzelin), 아피게닌(apigenin)은 다른 화합물에 비해 상대적으로 강한 억제 활성을 나타냈다.

[0174] 또한, 도 5에 나타난 바와 같이, NS5A의 발현 또한 현저하게 억제하였다. 특히, 14종의 화합물 중에서 루테올린(luteolin) 및 티리로스이드(tiliroside)는 HCV NS5A 발현에 대해 비교적 강한 억제 활성을 나타냈다.

[0176] <실험예 4> 인터페론 감마 치료제와 병용 처리 시 HCV 억제

[0177] 상기 실시예 1-2에서 분리한 화합물 14종의 인터페론 치료제와 병용 처리시 항 HCV 활성을 확인하기 위해, HCV RNA로 형질 감염된 Huh 7.5 세포에 상기 실시예 1-2의 화합물 14종 각각 상기 실시예 1-2의 화합물 14종과 인터페론 감마 치료제(리바비린)를 병용처리(CO-Treat)하여 48시간 동안 처리하고, 세포로부터 RNA 추출 및 cDNA 합성을 진행 한 후 HCV 214의 발현을 qRT-PCR로 분석하였다. Beta-actin을 대조군으로 사용하였다.

[0178] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 화합물 단독으로 처리한 군과 화합물과 인터페론 감마 치료제(리바비린)를 병용처리(co-treat)하여 처리한 군을 비교하였을 때, 루테올린(luteolin), 아스트라갈린(astragaloside), 아피게닌-7-글루쿠로니드(Apigenin 7-glucuronide) 및 아피게닌(apigenin) 화합물의 경우 Core1B를 억제하므로, 인

터페론 감마 치료제(리바비린)와 병용처리시, 상승효과가 없는 것을 확인하였으며, 단독으로 처리하였을 때 HCV 214의 발현이 현저하게 억제되는 것을 확인하였다.

[0179] 또한, 쿠마린 (coumarin), 아프젤린 (afzelin) 및 니코티플로린 (nicotiflorin) 화합물의 경우 NS5A와 Core1B 를 모두 억제하므로, 단독으로 처리하였을 때는 HCV 214의 발현이 미비하게 억제되었으나 인터페론 감마 치료제 (리바비린)를 병용 처리하였을 때 HCV 214의 발현이 우수하게 억제된 것을 확인하였다.

[0180] 따라서, 상기 실험결과로 인해 선학초와 오배자 추출물로부터 분리된 상기 실시예 1-2의 화합물은 인터페론 감마 치료제(리바비린)와 병용 처리할 수도 있고, 단독으로 처리하더라도 HCV 억제 활성을 나타내는 것을 확인하였다.

[0182] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허 청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

[0184] 약제의 제조예

[0185] 본 발명에 따른 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0187] <약제 제조예 1> 산제의 제조

[0188] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 2 g

[0189] 유당 1 g

[0190] 상기의 성분을 혼합한 후, 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0192] <약제 제조예 2> 정제의 제조

[0193] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 100 mg

[0194] 옥수수전분 100 mg

[0195] 유당 100 mg

[0196] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0197] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

[0199] <약제 제조예 3> 캡슐제의 제조

[0200] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 100 mg

[0201] 옥수수전분 100 mg

[0202] 유당 100 mg

[0203] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0204] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0206] <약제 제조예 4> 주사제의 제조

[0207] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$

[0208] 묽은 염산 BP pH 3.5로 될 때까지

[0209] 주사용 염화나트륨 BP 최대 1 ml

[0210] 적당한 용적의 주사용 염화나트륨 BP 중에 본 발명에 따른 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 용해시키고, 생성된 용액의 pH를 묽은 염산 BP를 사용하여 pH 3.5로 조절하고, 주사용 염화나트륨 BP를 사용하여 용적을 조절하고 충분히 혼합하였다. 용액을 투명 유리로 된 5 ml 타입 I 앰플 중에 충전시키고, 유리를 용해시킴으로써 공기의 상부 격자하에 봉입시키고, 120 °C에서 15 분 이상 오토클레이브시켜 살균하여 주사액을 제조하였다.

[0212] <약제 제조예 5> 경비흡수제 (Nasal spray)의 제조

[0213] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 1.0 g

[0214] 아세트산나트륨 0.3 g

[0215] 메틸파라벤 0.1 g

[0216] 프로필파라벤 0.02 g

[0217] 염화나트륨 적량

[0218] HCl 또는 NaOH pH 조정 적량

[0219] 정제수 적량

[0220] 통상의 경비흡수제의 제조방법에 따라, 염수 (0.9% NaCl, w/v, 용매는 정제수) 1 mL당 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 3 mg이 포함되도록 제조하고, 이를 불투명한 스프레이 용기에 충전하고 멸균시켜 경비흡수제를 제조하였다.

[0222] <약제 제조예 6> 액제의 제조

[0223] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 100 mg

[0224] 이성화당 10 g

[0225] 만니톨 5 g

[0226] 정제수 적량

[0227] 통상의 액제의 제조방법에 따라, 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬 향을 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체 100 mL로 조절한 후 갈색 병에 충전하고 멸균시켜 액제를 제조하였다.

[0229] 건강식품의 제조예

[0230] 본 발명에 따른 상기 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 목적에 따라 여러 형태의 건강식품으로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 건강식품의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0232] <건강식품 제조예 1> 유제품(dairy products)의 제조

[0233] 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 0.01-1 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0235] <건강식품 제조예 2> 선식의 제조

[0236] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 썬서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다. 본 발명의 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 진공 농축기에서 감압농축하고 건조분말을 얻었다. 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물의 건조분말을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

[0237] 곡물류(현미 34 중량부, 율무 19 중량부, 보리 20 중량부),

[0238] 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부),

[0239] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 (2 중량부),

[0240] 영지(1.5 중량부), 및

[0241] 지황(1.5 중량부).

[0243] 건강기능식품의 제조예

[0244] 본 발명에 따른 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물은 목적에 따라 여러 형태의 건강기능식품으로 제조 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 건강기능식품의 제조방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0246] <건강기능식품 제조예 1> 건강기능식품의 제조

[0247] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 100 mg

[0248] 비타민 혼합물 적량

[0249] 비타민 A 아세테이트 70 μ g

[0250] 비타민 E 1.0 mg

[0251] 비타민 B1 0.13 mg

[0252] 비타민 B2 0.15 mg

[0253] 비타민 B6 0.5 mg

[0254] 비타민 B12 0.2 μ g

[0255] 비타민 C 10 mg

[0256] 비오틴 10 μ g

[0257] 니코틴산아미드 1.7 mg

[0258] 엽산 50 μ g

[0259] 판토텐산 칼슘 0.5 mg

[0260] 무기질 혼합물 적량

[0261] 황산제1철 1.75 mg

[0262] 산화아연 0.82 mg

[0263] 탄산마그네슘 25.3 mg

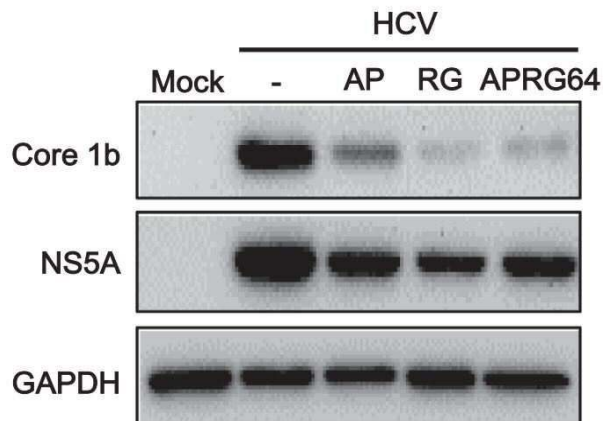
[0264] 제1인산칼륨 15 mg

[0265] 제2인산칼슘 55 mg

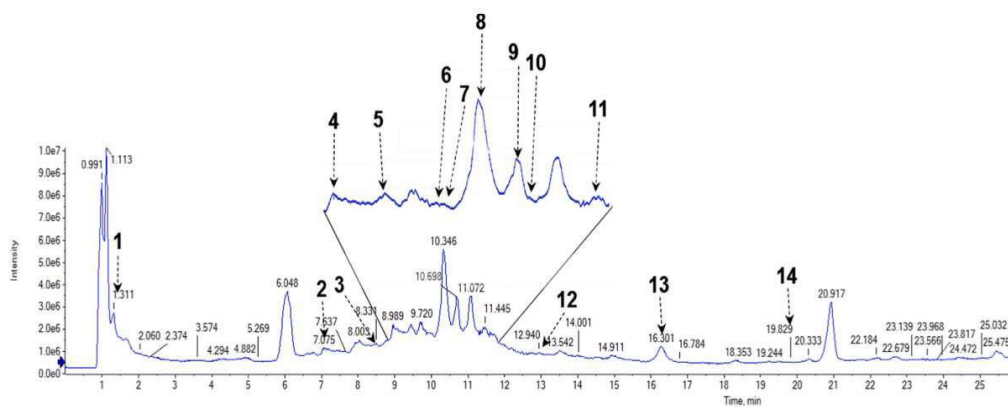
- [0266] 구연산칼륨 90 mg
- [0267] 탄산칼슘 100 mg
- [0268] 염화마그네슘 24.8 mg
- [0269] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강기능성 식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능성 식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능성 식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
- [0271] <건강기능식품 제조예 2> 건강 기능 음료의 제조
- [0272] 화학식 1 또는 화학식 2의 화합물 100 mg
- [0273] 구연산 100 mg
- [0274] 올리고당 100 mg
- [0275] 매실농축액 2 mg
- [0276] 타우린 100 mg
- [0277] 정제수를 가하여 전체 500 mL
- [0278] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간 동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 1 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다. 상기 조성비는 비교적 기호 음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요 계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

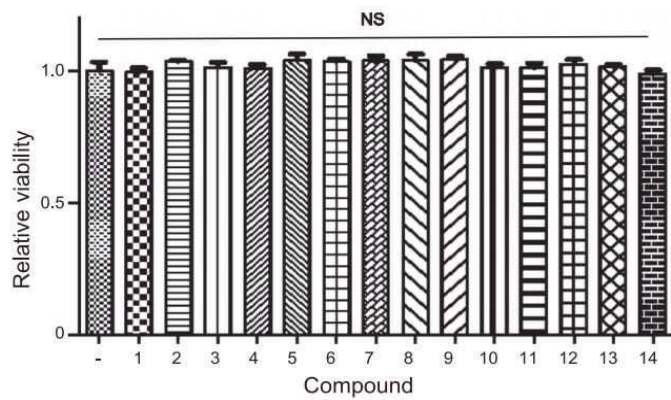
도면1



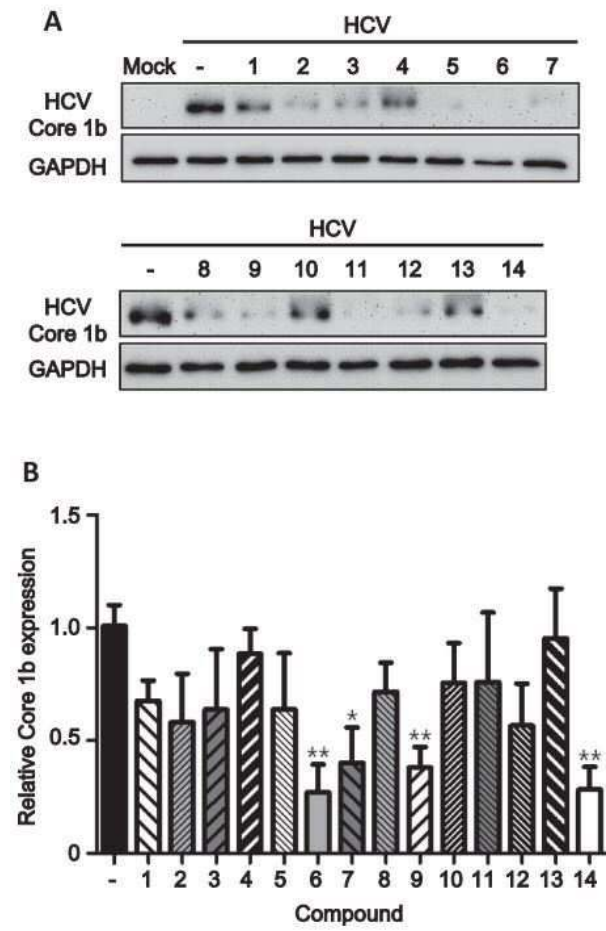
도면2



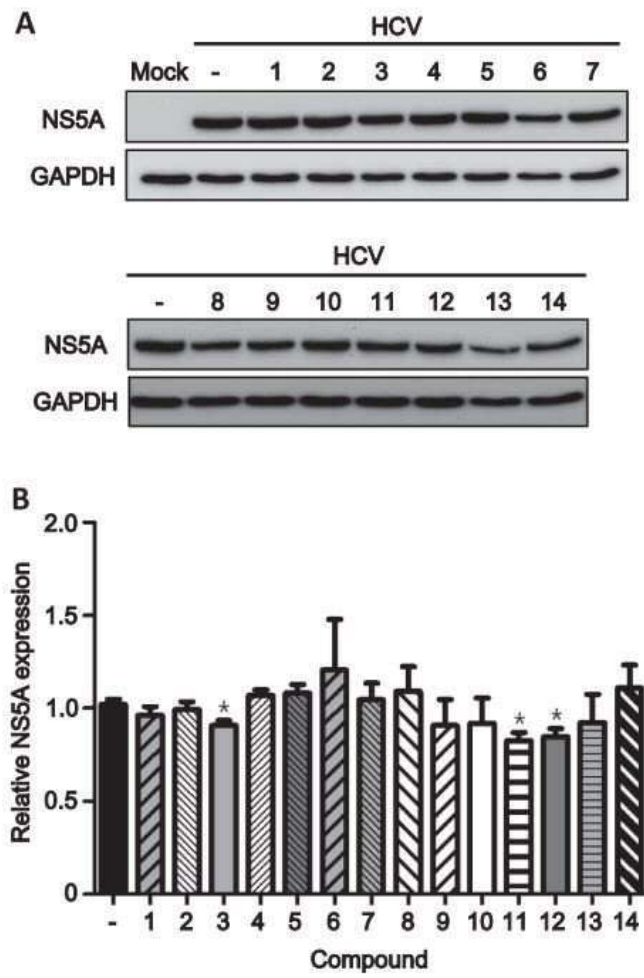
도면3



도면4



도면5



도면6

