(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년05월14일
(11) 등록번호 10-1520428
(24) 등록일자 2015년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/47 (2006.01) *A61P 31/16* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0143032
(22) 출원일자 2013년11월22일
심사청구일자 2013년11월22일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020100017464 A
Forero, J. E. et al., Phytochemistry, 2008, 69(16), 2815-2819*
Ahn, M. J. et al., Planta medica, 2002, 68(5), 457-459*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
대한민국(농촌진흥청장)
전라북도 전주시 완산구 농생명로 300 (중동)
(72) 발명자
서상희
대전광역시 서구 둔산로 223, 4동 502호(둔산동, 청솔아파트)
김희만
인천광역시 부평구 부영로 165, 112동 609호(산곡동, 우성아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
위병갑

전체 청구항 수 : 총 12 항 심사관 : 민경난

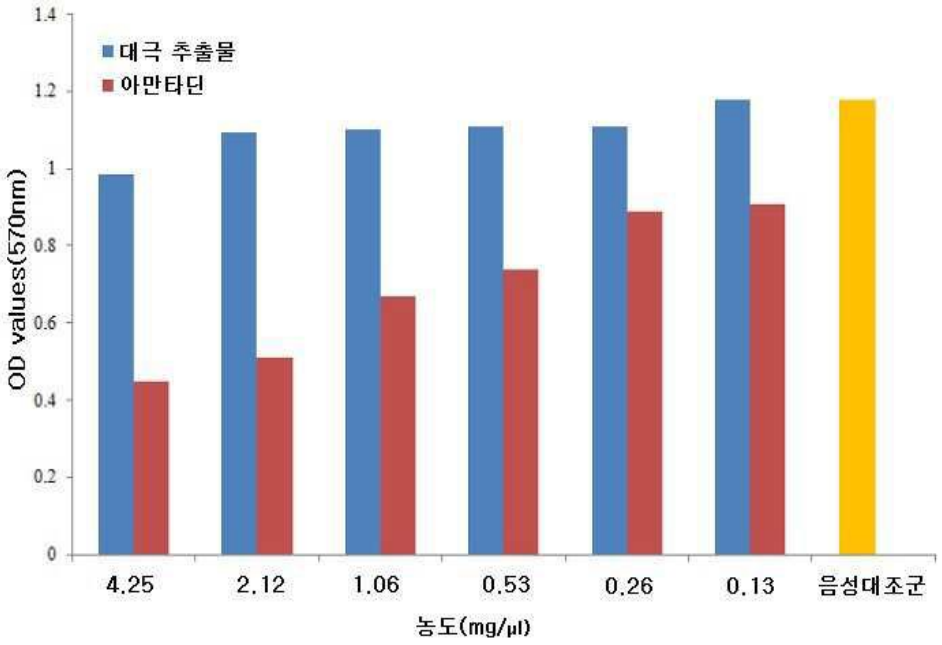
(54) 발명의 명칭 **대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 항인플루엔자용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 인체에 독감을 발병시키는 인플루엔자 바이러스(Influenza Virus)에 대하여 항바이러스 활성을 나타내는 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.) 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물; 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 항바이러

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



스제; 이를 포함하는 위생용품; 및 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명의 대극 추출물은 인플루엔자 바이러스 억제 활성이 우수하므로, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 인플루엔자 바이러스에 유발되는 질환의 예방 또는 치료할 수 있는 물질로서 의약품은 물론이고; 구강 세정제, 피부 세정제 또는 주방세제와 같은 위생용품의 소재; 및 건강기능식품 등으로 활용할 수 있어 의약산업, 위생용품 산업 및 식품산업에 응용될 경우 그 가치가 매우 높을 것으로 기대된다. 특히 본 발명의 대극 추출물은 천연물로부터 분리 추출된 물질로서, 세포독성 없이 안정성을 가지므로, 이를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 장기적 사용에도 안전한 이점을 가진다.

(72) 발명자

구근본

대전광역시 유성구 신성로84번길 43-6, 406호(신성동, 수정빌라)

박은혜

경기도 안양시 동안구 학의로 390, 103동 104호(평촌동, 대우 아파트)

염정

대전광역시 서구 둔산북로 160, 105동 506호(둔산동, 한마루아파트)

이승은

충청북도 음성군 음성읍 설성로 22, 105동 408호(한성진주아파트)

성정숙

경기도 화성시 동탄숲속로 95, 818동 801호(능동, 동탄숲속마늘 광명메이루즈)

장인복

충청북도 음성군 음성읍 반기문로 45-15, 103동 401호(금광 포란재아파트)

이정훈

충청북도 충주시 대가미14길 3, 6동 201호(교현동, 경성연립)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물로서,

상기 조성물은 대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.) 추출물을 유효성분으로 함유하고,

상기 인플루엔자 바이러스는 인체감염증 고병원성인 인플루엔자 바이러스인 A/Vietnam/HN36285/2010 H5N1, 신종 독감 바이러스인 A/California/07/2009 H1N1, 계절 독감 바이러스인 A/Wisconsin/15/09 H3N2 또는 계절 독감 바이러스인 B/Brisbane/60/2008인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 대극 추출물은 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 물 및 헥산으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 용매로 추출된 것을 특징으로 약제학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올은 메탄올인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 대극 추출물은 대극 분말에 메탄올 용매를 가하여 추출하는 단계; 추출 여액을 여과한 후 감압 증류하여 농축시키는 단계; 및 농축된 여액을 동결 건조하여 분말화하는 단계를 통해 제조되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 대극 추출물은 조성물에 0.1mg/㎕ 내지 100mg/㎕의 농도로 포함되는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 인플루엔자 바이러스는 인체감염증 고병원성인 인플루엔자 바이러스인 A/Vietnam/HN36285/2010 H5N1, 신종 독감 바이러스인 A/California/07/2009 H1N1, 계절 독감 바이러스인 A/Wisconsin/15/09 H3N2 또는 계절 독감 바이러스인 B/Brisbane/60/2008인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 인플루엔자 바이러스 감염에 의해 유발되는 질환은 독감, 감기, 인후염, 기관지염, 폐렴, 조류독감 및 염소 독감으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 8

항바이러스제로서,

대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.) 추출물을 유효성분으로 함유하고,

바이러스 종류로 인체감염증 고병원성인 인플루엔자 바이러스인 A/Vietnam/HN36285/2010 H5N1, 신종 독감 바이러스인 A/California/07/2009 H1N1, 계절 독감 바이러스인 A/Wisconsin/15/09 H3N2 또는 계절 독감 바이러스인 B/Brisbane/60/2008에 대하여 억제 활성을 갖는 항바이러스제.

청구항 9

제8항의 항바이러스제를 유효성분으로 포함하는 위생용품.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 위생용품은 구강 세정제, 피부 세정제 또는 주방세제인 것을 특징으로 하는 위생용품.

청구항 11

인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 개선용 건강기능식품으로서,

상기 건강기능식품은 대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.) 추출물을 유효성분으로 함유하고,

상기 인플루엔자 바이러스는 인체감염증 고병원성인 인플루엔자 바이러스인 A/Vietnam/HN36285/2010 H5N1, 신종 독감 바이러스인 A/California/07/2009 H1N1, 계절 독감 바이러스인 A/Wisconsin/15/09 H3N2 또는 계절 독감 바이러스인 B/Brisbane/60/2008인 것을 특징으로 하는 건강기능식품.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 건강기능식품.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 인체에 독감을 발병시키는 인플루엔자 바이러스(Influenza Virus)에 대하여 항바이러스 활성을 나타내는 조성물에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물; 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 항바이러스제; 이를 포함하는 위생용품; 및 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 일반적으로 인플루엔자 바이러스는 호흡기에 염증을 유발시키며, 감염자의 기침 및 타액으로 공기중으로 직접 전달되거나 감기환자의 접촉물 등에 의해 간접적으로도 타인에게 전염될 수 있는 전염력이 강한 바이러스이다. 잠복기는 24~30시간 정도이며 바이러스는 A, B 및 C 타입으로 크게 나뉜다. 인플루엔자 바이러스에 감염되면 각 호흡기기관의 저항력이 약화되어 기관지염, 인후염 및 폐렴 등의 합병증을 유발하게 된다. 만성질환자, 노인, 어린이 및 장기 입원환자는 면역력이 약하여 특히 위험할 수 있다.

[0003] 이러한 인플루엔자 바이러스는 매년 유행을 일으키고, 때때로 세계적 대유행을 일으킨다. 전 세계적으로 매년 25 ~ 50만 명의 목숨을 빼앗고 소아의 10 ~ 40%가 감염되고 있으며, 국가 경제적 손실을 야기하는 심각한 글로벌 질환을 유발한다. 1918년 스페인 독감 대유행 이후, 1957년 아시아 독감, 1968년 홍콩 독감 등 수십 년 주기로 인플루엔자 대유행이 나타났으며, 2009년 돼지 유래 H1N1 인플루엔자 바이러스(S-OIV)의 출현으로 WHO는 41년 만에 처음으로 멕시코 독감을 phase 6인 대유행으로 선포하였다. 2009년 9월 현재 국내 신종 인플루엔자 환자가 1만명을 넘어섰으며, 8번째 사망자가 발생하였고, 세계적으로는 27만명이 감염되었고, 3200명 이상이 사망하였다. H1N1(S-OIV)는 인체 H3N2, 돼지독감, 조류독감 바이러스 유전자가 재배열하여 만들어진 3중 재배열

(triple reassortant)로 판명되었다(NEJM, 2009). 남반구에서 높은 전염성의 새로운 변이주 창궐 가능성 때문에 대유행 대책을 세우고 있음에도 사회적 파장과 우려는 줄지 않고 있다.

[0004] 인플루엔자 감염은 오르소믹소바이러스(orthomyxoviridae)에 속하는 인플루엔자 바이러스에 의하여 야기되며, RNA 바이러스로서 항원 변이가 상대적으로 쉽기 때문에 감염인구 집단 내에서의 반복적인 재감염이 가능하다. 인플루엔자 바이러스는 A, B, C 형 세 가지가 있으며, 인체 감염을 일으키는 인플루엔자 바이러스는 A, B 형으로 바이러스 표면의 HA(hemagglutinin)와 NA(neuraminidase)에 의하여 바이러스 항원 변이가 결정된다. 바이러스 표면 단백질 HA, NA의 유전적 조합에 따라 H1 - H16 및 N1 - N9 아형이 생성되며, 이 중에서 A형 인체 인플루엔자 바이러스의 아형은 H1, H2, H3의 세 가지, N1, N2 두 가지의 서로 다른 조합에 의해 결정된다. B형 인플루엔자가 대유행을 일으키지 못하는 이유는 A형과 달리 사람에게만 감염을 일으키기 때문에 동물 바이러스로부터의 유전자를 얻는 일이 없다. C형 인플루엔자는 대부분 증상이 없고, 인체감염 보고는 거의 없다.

[0005] 인체 및 동물 바이러스가 동일한 숙주에 동시 감염되었을 때 일어나는 항원 대변이(antigenic shift)는 인수공통 감염형인 A형 인플루엔자에서 일어나며, 높은 이환율과 사망률을 갖게 되어 대유행으로 이어지고 있다. 항원 소변이(antigenic drift)는 같은 아형 내에서의 변이로 A, B형 인플루엔자 바이러스에서 매년 누적되어 나타난다. 인플루엔자 바이러스 주요 표면 항원인 HA와 NA 유전자에서의 빈번한 변이 외에도 M2이온 채널, 바이러스 RNA package와 복제기능을 갖는 핵단백질(nucleoprotein)이 최근 항바이러스 신약개발 타겟(target)으로 이용되고 있다.

[0006] 하지만 HA의 높은 변이율에 따른 백신개발이 어렵고, NA 효소 저해제를 기반으로 하는 타미플루(tamiflu), 리렌자(relenza) 등 기존 항바이러스제에 대한 내성 바이러스가 출현함에 따라, 새로운 항바이러스 활성을 갖는 소재의 개발이 절실한 실정이다.

[0007] 한편, 대극은 피자식물문 쌍떡잎식물강 쥐손이풀목 대극과 여러해살이풀로서 학명은 *Euphorbia pekinensis* RUPR.이며, 한국, 일본 및 중국에 분포한다. 국내분포지로는 전남(무안), 경남, 경북(비파산), 충남, 경기, 황해, 평북, 함북에 분포하고 있으며, 산기슭의 풀밭에 크기 약 80cm를 가지며, 갈자색의 꽃을 5~6월에 개화한다. 대극의 다른 이름으로는 능수버들, 버들옻 및 우독초라고도 불리고 있다. 이러한 대극은 이뇨작용이 있어 전신부종을 가라앉히기 위해 사용되며, 장관을 자극하여 변비에도 사용되고 있으나, 현재까지 항인플루엔자 활성에 대한 연구에 대해서는 보고된 바 없다.

[0008] 이에 본 발명자들은, 천연물질 유래의 항바이러스 소재에 대한 연구를 진행하던 중 대극 추출물을 이용하여 항바이러스 분석 실험을 수행한 결과, 대극 추출물이 인플루엔자 바이러스에 대한 억제 활성이 우수함을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2006-00939061호

(특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-0736159호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 장기간 사용에도 인체에 안정하면서 인플루엔자 바이러스 억제 활성이 우수하여 인플루엔자 바이러스에 유발되는 질환의 예방 또는 치료에 효과적인 약제학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 친환경적이면서도 인플루엔자 바이러스 억제 활성이 우수한 항바이러스제를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 항바이러스제를 포함하는 친환경적이면서도 인플루엔자 바이러스 억제 활성이 우수한 위생용품을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 장기간 사용에도 인체에 안정하면서 인플루엔자 바이러스 억제 활성이 우수하여 인플

루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 개선에 효과적인 건강기능식품을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 대극 추출물은 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 물 및 헥산으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 용매로 추출될 수 있다.

[0016] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올은 메탄올일 수 있다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 대극 추출물은 대극 분말에 메탄올 용매를 가하여 추출하는 단계; 추출 여액을 여과한 후 감압 증류하여 농축시키는 단계; 및 농축된 여액을 동결 건조하여 분말화하는 단계를 통해 제조될 수 있다.

[0018] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 대극 추출물은 조성물에 0.1mg/μl 내지 100mg/μl의 농도로 포함될 수 있다.

[0019] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 인플루엔자 바이러스는 인체감염증 고병원성인 인플루엔자 바이러스인 A/Vietnam/HN36285/2010 H5N1, 신종 독감 바이러스인 A/California/07/2009 H1N1, 계절 독감 바이러스인 A/Wisconsin/15/09 H3N2 또는 계절 독감 바이러스인 B/Brisbane/60/2008일 수 있다.

[0020] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 인플루엔자 바이러스에 의해 유발되는 질환은 독감, 감기, 인후염, 기관지염, 폐렴, 조류독감 및 염소 독감으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종일 수 있다.

[0021] 본 발명은 또한, 대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.) 추출물을 유효성분으로 함유하는 항바이러스제를 제공한다.

[0022] 본 발명은 또한, 상기 항바이러스제를 유효성분으로 포함하는 위생용품을 제공한다.

[0023] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 위생용품은 구강 세정제, 피부 세정제 또는 주방세제일 수 있다.

[0024] 본 발명은 또한, 대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.) 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0025] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

발명의 효과

[0026] 본 발명의 대극 추출물은 인플루엔자 바이러스 억제 활성이 우수하므로, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 인플루엔자 바이러스에 유발되는 질환의 예방 또는 치료할 수 있는 물질로서 의약품은 물론이고; 구강 세정제, 피부 세정제 또는 주방세제와 같은 위생용품의 소재; 및 건강기능식품 등으로 활용할 수 있어 의약산업, 위생용품 산업 및 식품산업에 응용될 경우 그 가치가 매우 높을 것으로 기대된다. 특히 본 발명의 대극 추출물은 천연물로부터 분리 추출된 물질로서, 세포독성 없이 안정성을 가지므로, 이를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 장기적 사용에도 안전한 이점을 가진다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명의 대극 추출물 농도별 처리에 따른 세포 생존율을 측정하여 그래프로 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명은 인플루엔자 바이러스의 활성 억제 작용이 우수하고 세포 내 독성을 유발하지 않는 새로운 인플루엔자 바이러스 치료제로서 대극 추출물의 신규 용도를 제공한다는 점에 특징이 있다.

[0029] 구체적으로 본 발명은 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0030] 본 발명에서 용어, '예방'이란 조성물의 투여에 의해 인플루엔자 바이러스 감염을 억제시키거나 인플루엔자 바이러스 감염에 의한 질병의 발병을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0031] 본 발명에서 용어, '치료'란 조성물의 투여에 의해 인플루엔자 바이러스 감염에 의한 증세가 호전되거나 이롭게 변경하는 모든 행위를 의미한다.

[0032] 본 발명자들은 새로운 인플루엔자 바이러스 치료제를 개발하기 위해 대극 추출물에 주목하였는데, 이는 종래 사용되고 있는 화학합성품에 의한 인플루엔자 바이러스 치료제의 경우 심각한 부작용이 초래되고 있어 안심하고 사용하지 못한다는 문제점을 고려하여 화학합성의약품에 비해 체내 부작용이 적은 치료제 발굴을 위해 천연물을 대상으로 연구하던 중, 대극 추출물이 항인플루엔자 바이러스 활성이 우수하다는 사실을 확인하게 되었다.

[0033] 본 발명의 '대극(*Euphorbia pekinensis* RUPR.)'은 피자식물문 쌍떡잎식물강 쥐손이풀목 대극과 여러해살이풀로서 능수버들, 버들옻 및 우독초라고도 불리고 있다. 이러한 대극은 이뇨작용이 있어 전신부종을 가라앉히기 위해 사용되며, 장관을 자극하여 변비에도 사용되고 있으나, 현재까지 항인플루엔자 활성에 대한 연구에 대해서는 보고된 바 없다.

[0034] 본 발명자들은 상기와 같은 특징을 갖는 대극 추출물이 인플루엔자 바이러스를 억제하는 활성이 우수함을 확인(하기 표 2 참조)함으로써, 이를 통해 인플루엔자 바이러스에 유발되는 질환의 예방 또는 치료할 수 있다는 사실을 규명하였다.

[0035] 본 발명에 따른 대극 추출물은 당업계에 공지된 추출 및 분리하는 방법을 사용하여 천연으로부터 추출 및 분리하여 수득한 것을 사용할 수 있으며, 본 발명에서 정의된 '추출물'은 적절한 용매를 이용하여 대극으로부터 추출한 것이며, 예를 들어, 대극의 조추출물, 극성용매 가용 추출물 또는 비극성용매 가용 추출물을 모두 포함한다. 바람직하게는 건조된 대극 지상부의 메탄올 추출물일 수 있다.

[0036] 상기 대극으로부터 추출물을 추출하기 위한 적절한 용매로는 약제학적으로 허용되는 유기용매라면 어느 것을 사용해도 무방하며, 물 또는 유기용매를 사용할 수 있으며, 이에 제한되지는 않으나, 예를 들어, 정제수, 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol) 등을 포함하는 탄소수 1 내지 4의 알코올, 아세톤(acetone), 에테르(ether), 벤젠(benzene), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메틸렌클로라이드(methylene chloride), 헥산(hexane) 및 시클로헥산(cyclohexane) 등의 각종 용매를 단독으로 혹은 혼합하여 사용할 수 있다.

[0037] 본 발명의 일 실시예에서, 본 발명의 대극 추출물이 비극성용매 가용 추출물인 경우 메탄올을 이용하여 추출할 수 있다.

[0038] 추출 방법으로는 열수추출법, 냉침추출법, 환류냉각추출법, 용매추출법, 수증기증류법, 초음파추출법, 용출법, 압착법 등의 방법 중 어느 하나를 선택하여 사용할 수 있다. 또한, 목적하는 추출물은 추가로 통상의 분획 공정을 수행할 수도 있으며, 통상의 정제 방법을 이용하여 정제될 수도 있다. 본 발명의 대극 추출물의 제조방법에는 제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다.

[0039] 예를 들면, 본 발명의 조성물에 포함되는 대극 추출물은 상기한 열수 추출 또는 용매 추출법으로 추출된 1차 추출물을, 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조할 수 있다. 또한 상기 1차 추출물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(silica gel column chromatography), 박층 크로마토그래피(thin layer chromatography), 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography) 등과 같은 다양한 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제된 분획을 얻을 수도 있다.

[0040] 따라서 본 발명에 있어서 대극 추출물은 추출, 분획 또는 정제의 각 단계에서 얻어지는 모든 추출액, 분획 및 정제물, 그들의 희석액, 농축액 또는 건조물을 모두 포함하는 개념이다.

[0041] 본 발명의 일실시예에 따른 대극 추출물을 제조하는 방법을 조금 더 구체적으로 살펴보면 다음과 같다.

[0042] 먼저, 본 발명의 대극 추출물은 대극 건조 분말에 메탄올 용매를 가하여 추출하는 단계; 추출 여액을 여과한 후 감압 증류하여 농축시키는 단계; 및 농축된 여액을 동결 건조하여 분말화하는 단계를 거쳐 제조될 수 있다.

[0043] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 대극 건조 분말은 대극의 지상부를 세척 건조시킨 후 분쇄하여 제조한 분말일 수 있다.

[0044] 본 발명의 조성물을 약제학적 조성물 일 수 있으며, 이러한 약제학적 조성물은 상기 유효성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제,

감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0045] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0046] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다. 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.

[0047] 본 발명의 일실시예에 있어서, 본 발명의 대극 추출물은 조성물에 0.1mg/μl 내지 100mg/μl의 농도로 포함될 수 있으며, 또한 조성물 총 중량에 대하여 0.1 ~ 90 중량%로 포함될 수 있다.

[0048] 본 발명의 약제학적 조성물로 예방 또는 치료할 수 있는 질환으로는, 독감, 감기, 인후염, 기관지염, 폐렴, 조류독감 및 염소 독감 등을 들 수 있되, 특별히 이를 한정하는 것은 아니다.

[0049] 본 발명의 조성물은 또한 식품 조성물일 수 있는데, 이러한 식품 조성물은 유효성분인 대극 추출물을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다.

[0050] 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 당알콜이다. 상술한 향미제는 천연 향미제 (타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0051] 본 발명의 식품 조성물은 상기 약제학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등이 있다.

[0052] 또한 상기 식품 조성물은 유효성분인 대극 추출물 외에 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, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 쥬스 및 과일 쥬스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.

[0053] 본 발명의 유효성분인 대극 추출물은 천연물질로서 독성 및 부작용은 거의 없으므로 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 개선의 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다.

[0054] 또한, 본 발명은 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 의약의 제조를 위한 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도를 제공한다. 상기한 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 치료용 의약의 제조를 위한 용도로 이용될 수 있다.

[0055] 또한, 본 발명은 포유동물에게 대극 추출물을 투여하는 것을 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0056] 여기에서 사용된 용어 "포유동물"은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을

말한다.

[0057] 여기에서 사용된 용어 "치료상 유효량"은 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 임상에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약제학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다.

[0058] 본 발명의 치료방법에서 본 발명의 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여가 좋다.

[0059] 본 발명은 또한, 대극(*Euphorbia pekinensis RUPR.*) 추출물을 유효성분으로 함유하는 항바이러스제를 제공한다.

[0060] 본 발명의 상기 항바이러스제는 비누, 핸드솝, 전신세정제 등의 피부 세정제 조성물, 식기나 싱크대, 도마 등을 세정하기 위한 주방용품 세정제 조성물, 에센스, 크림 등의 화장료 조성물과 같은 위생용품에 유효성분으로 첨가하면, 각각의 위생용품 본래의 기능 외에 인플루엔자 바이러스에 대한 항바이러스의 기능을 수행할 수 있다.

[0061] 본 발명의 대극 추출물은 에탄올, 메탄올, 프로판올, 부탄올, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜 등의 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 물, 헥산 등의 용제를 각각 단독으로 또는 이들을 1종 이상 혼합한 용제로 추출한 다음, 감압 및 농축하여 추출물을 얻을 수 있다. 전술한 방법으로 얻어진 건조 추출물은 구강 세정제 조성물, 피부 제성제 조성물, 주방용품 세정제 조성물, 화장료 조성물과 같은 위생용품에 위생용품 총 중량을 기준으로 0.01 내지 20중량% 첨가하여 사용할 수 있다.

[0062] 본 발명은 또한, 대극 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스 감염의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0063] 본 발명의 건강기능식품은 인플루엔자 바이러스 감염 억제를 목적으로, 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.

[0064] 본 발명에서 “건강기능식품”이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

[0065] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[0066] 상기 “식품 첨가물 공전”에 수재된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다.

[0067] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 대극 추출물을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다.

[0068] 캅셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캅셀제는 통상의 경질 캅셀에 본 발명의 유효성분인 대극 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충진하여 제조할 수 있으며, 연질 캅셀제는 대극 추출물을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캅셀기제에 충진하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캅셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.

[0069] 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 대극 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.

[0070] 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 대극 추출물과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물

을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[0071] 상기 건강기능식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.

[0072] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0073] **<실시예 1>**

[0074] **본 발명의 대극추출물 제조**

[0075] 실험에 사용된 대극 (*Euphorbia pekinensis* RUPR.)의 지상부는 2004년 5월 수원 서둔동에서 채취하여 시료로 이용하였으며 종의 동정은 농촌진흥청 약용작물과 소속 식물분류전문가에게 확인받았다 (Voucher Number : MPS000860-2).

[0076] 채취된 대극 지상부는 세척, 건조시킨 후 분쇄하여 분말로 만들어 가속용매추출장치 (accelerated solvent extractor, ASE)를 이용해 50℃에서 메탄올로 추출하였고 추출액을 여과한 후에 회전증발농축기(Rotary Evaporator, JP-SD1000, Eyela, Tokyo Rikikatai, Japan)로 감압 농축하여 용매를 제거하였다. 대극 지상부 분말 100g으로부터 얻어진 추출물은 16g이었다.

[0077] **<실시예 2>**

[0078] **대극추출물의 세포독성 평가**

[0079] 대극 추출물의 세포독성 평가를 위해 사용한 세포주는 MDCK 세포(Madin-Darby, Canine Kidney)로 세포 독성 실험 전에 먼저 실시예 1에서 제조한 대극 추출물을 100㎕ DMSO 용액에 용해시켜 사용하였으며, 사용 전까지 -70℃의 온도에서 보관하였다.

[0080] 세포 독성 실험을 위해, 먼저, 10% 소태아혈청(FBS)과 1% 페니실린(100 U/㎖)/스트렙토마이신 (100 U/㎖)이 포함되어 있는 DMEM 배양액을 이용하여 상기 세포주(MDCK)를 5% CO_2 및 37℃의 온도조건에서 배양하였다. 이후 배양된 세포를 96 웰 플레이트에 분주하고, 대극을 농도별(8.5mg/ul~0.133mg/ul)로 DMEM 배양액으로 희석한 다음, MDCK 세포에 처리하고 48시간 동안 세포 독성 여부를 관찰하였다. 보다 구체적으로 대극 추출물 원액인 17mg/㎕를 2배~128배 DMEM 배양액으로 희석한 다음 MDCK 세포에 처리하여 세포 독성 여부를 관찰하였다. 음성 대조군으로 추출물이 첨가되지 않은 DMEM 배양액을 세포에 접종하였으며 양성 대조군으로 세포독성 물질로 알려진 아만타딘(Amantadine hydrochloride, Sigma-Aldrich Co.)을 대극 추출물과 동일한 농도별 조건으로 DMEM 배양액에 희석하여 세포에 접종하였다. 세포독성을 관찰하기 위하여 MTT 에세이를 수행하였다.

[0081] MTT 에세이는 세포 독성 또는 생존율을 측정하는 실험방법으로 탈수소 효소작용에 의하여 노란색 soluble substrate인 MTT tetrazolium이 세포 안에 침투하여 미토콘드리아 속에서 적자색을 띄는 insoluble의 프로마잔 생산물 (3-(4,5-dimethylthizol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 이용하는 검사법이다. 자세하게는, 본 발명의 농도별 대극추출물 및 양성 대조군인 아만타딘 각각을 MDCK 세포에 처리하여 48시간 배양한 다음, 이후 10㎕의 MTT 시약(0.05mg)을 각 웰(well)에 첨가하였다. 오비탈쉐이커(Orbital shaker)를 이용하여 40rpm, 1분 동안 shaking 한 후 37℃, CO_2 배양기에 4시간 동안 배양하였다. 4시간 배양이후 각 웰의 상층액을 모두 제거한 후 100㎕의 Crystal Dissolving Solution(Cayman MTT cell proliferation assay kit)을 첨가한다. 3분 후 ELISA reader를 이용하여 570nm 파장으로 OD값을 측정하였다.

[0082] 그 결과 도 1에서 나타낸 바와 같이, 본 발명의 대극 추출물을 각 농도별로 처리한 모든 실험군에서 추출물을 넣지 않은 음성대조군과 비슷한 OD 값을 보인 것을 확인할 수 있었으며, 이를 통해 본 발명의 대극추출물의 경우 농도에 상관없이 세포 독성이 관찰되지 않았다. 이에 반해, 아만타딘(Amantadine hydrochloride)을 첨가하여 세포에 접종한 양성대조군에서는 OD 값이 감소하는 것으로 나타나 세포독성이 관찰되었으며, 세포독성은 아만타딘(Amantadine hydrochloride)의 농도가 감소함에 따라 점차 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

[0083] 따라서 이러한 결과를 통해 본 발명자들은 대극 추출물이 세포에 독성을 유발시키지 않아 체내 안정할 수 있다

는 사실을 알 수 있었다.

[0084] **<실시예 3>**

[0085] **대극 추출물의 항바이러스 활성 분석**

[0086] 본 발명자들은 상기 실시예 1에서 수득한 대극 추출물이 항바이러스 활성이 있는지 확인하기 위해, 혈구응집반응시험(Hemagglutination test)을 다음과 같이 수행하였다.

[0087] 앞서 준비된 MDCK 세포를 따뜻한 인산완충식염수(Phosphate buffer saline)를 이용하여 세척한 후, 하기 표 1에 제시된 인플루엔자 바이러스 4종 각각을 100 TCID50/ml (Stock용 바이러스의 10^{-5}농도)로 하여 MDCK 세포에 접종하였다. 접종 후 1시간 동안 38℃에서 배양하고 접종된 바이러스 용액을 제거한 후 대극 추출물 원액(17mg/μl) 또는 희석추출물을 500μl 용량으로 처리하여 3일 동안 38℃에서 배양하였다. 이때 상기 희석은 대극 원액(17mg/μl)을 대상으로 하기 표 2와 같이 희석(2, 4, 8, 16, 32, 64, 128배 희석)하여 사용하였으며, 배양 후 상층액을 2진 희석하여 0.5% 칠면조 혈구와 반응시켜 혈구응집억제반응을 확인하였다. 대조군은 본 발명의 대극 추출물을 처리하지 않은 무처리군으로, 대조군의 경우 대극 추출물 처리를 제외하고 모든 과정은 상기와 동일하게 이루어졌다.

표 1

[0088] 인플루엔자 바이러스 4종

구분	인플루엔자 바이러스
1	인체감염증 고병원성인 인플루엔자 바이러스(A/Vietnam/HN36285/2010 H5N1)
2	신종 독감 바이러스(A/California/07/2009 H1N1)
3	계절 독감 바이러스(A/Wisconsin/15/09 H3N2)
4	계절 독감 바이러스(B/Brisbane/60/2008)

[0089] 상기 표 1의 인플루엔자 바이러스 4종에서 고병원성인플루엔자 및 신종 독감바이러스는 미국 질병관리본부를 통해 수득하였으며, 계절독감바이러스는 영국 국립생물표준통계연구원을 통해 수득하였다.

표 2

[0090] 본 발명의 대극 추출물의 처리 농도에 따른 혈구응집반응시험 결과

바이러스 구분	추출물	추출물 희석 배수							
		원액	2	4	8	16	32	64	128
1	대극	0	0	2	2^2	2^2	2^3	2^4	2^5
2		0	0	0	2	2	2^2	2^3	2^3
3		0	0	0	2	2^2	2^3	2^3	2^4
4		0	0	2	2^2	2^2	2^2	2^3	2^3
대조군		2^8							

[0091] 그 결과, 표 2에서 나타낸 바와 같이, 인플루엔자 바이러스 4종을 대극 추출물 농도별(원액~128배 희석)로 MDCK 세포에 접종하였을 경우, 대조군에 비해 바이러스 증식이 효과적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었으며, 바이러스 증식 억제 정도는 처리한 대극 추출물의 농도 의존적으로 비례하는 것으로 나타났다.

[0092] 참고로, 상기 표 2에 기재된 수치는 혈구응집반응시험 결과이다. 2진으로 나타낸 이유는 혈구응집반응시험 시 샘플을 2진으로 희석하기 때문이다. 혈구응집반응시험은 바이러스의 정량화 방법으로, 예를 들어 추출물이 128

배 희석된 경우에서는 항인플루엔자 효과가 떨어지기 때문에 바이러스가 2^{3}~2^{4}으로 많이 나타나지만 추출물 원액의 경우 항인플루엔자 효과가 강하기 때문에 거의 바이러스 증폭이 나타나지 않는 것으로 나타났다.

[0093] 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 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1

