

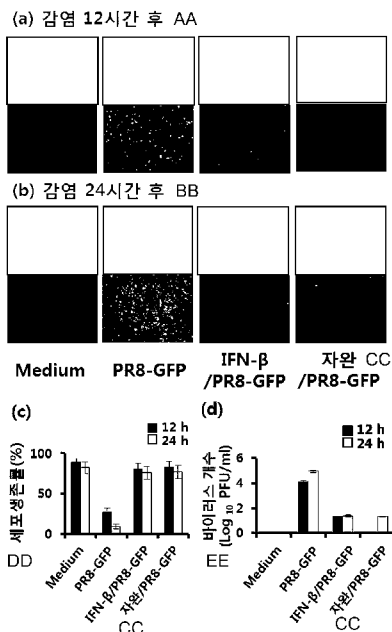


- (51) 국제특허분류: A61K 36/28 (2006.01) A61K 9/48 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/003039
- (22) 국제출원일: 2016 년 3 월 25 일 (25.03.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2015-0042940 2015 년 3 월 27 일 (27.03.2015) KR
- (71) 출원인: 한국 한의학 연구원 (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) [KR/KR]; 34054 대전시 유성구 유성대로 1672, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 마진열 (MA, Jin Yeul); 34155 대전시 유성구 덕명로 63, 102-1803, Daejeon (KR). 조원경 (CHO, Won-Kyung); 34048 대전시 유성구 엑스포로 501, 106-1103, Daejeon (KR). 이종수 (LEE, Jong-Soo); 35248 대전시 서구 둔산로 155, 109-1203, Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 35209 대전시 서구 한밭대로 745, 12 층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR INNATE IMMUNITY ENHANCEMENT AND ANTIVIRAL ACTIVITY CONTAINING *ASTER TATARICUS* EXTRACT AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭 : 자란 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 조성물



AA ... 12 Hours after infection
BB ... 24 Hours after infection
CC ... *Aster tataricus*
DD ... Cell viability (%)
EE ... Viral load (Log₁₀ PFU/ml)

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for innate immunity enhancement and antiviral activity containing an *Aster tataricus* extract as an active ingredient, a health functional food for innate immunity enhancement and antiviral activity containing an *Aster tataricus* extract as an active ingredient, a feed composition for innate immunity enhancement and antiviral activity containing an *Aster tataricus* extract as an active ingredient, and a method for innate immunity enhancement and antiviral activity enhancement in an animal, the method comprising administering an *Aster tataricus* extract to an animal excluding humans, in need of innate immunity enhancement. The *Aster tataricus*-containing composition for innate immunity enhancement and antiviral activity according to the present invention exhibits antiviral activity and innate immunity enhancement efficacy, and thus can be applied for prevention and treatment of bacterial and viral infectious diseases, and can be widely used for a medicine or a health functional food for immunity enhancement and regulation in immunodeficient or immunosuppressed patients and for a feed for innate immunity enhancement and antiviral activity, for the purpose of anti-disease enhancement of animals. Furthermore, the composition for innate immunity enhancement and antiviral activity according to the present invention scarcely causes toxicity or side effects, and thus can be safely used even in the long-term use for prophylactic purposes.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, 공개:
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, —
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를
별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 자원 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물, 자원 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품, 자원 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 조성물 및 자원 추출물을 인간을 제외한 선천면역 증진이 필요한 동물에 투여하는 것을 포함하는 동물의 선천면역 증진 및 항바이러스 활성 증진 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 선천면역 증진 및 항바이러스용 자원 조성물은 항바이러스 활성 및 선천면역 증진 효능을 나타내어, 박테리아 및 바이러스 감염성 질환의 예방 및 치료용으로 적용될 수 있고, 면역이 저하되거나 면역이 억제된 환자의 면역력 증진 및 조절을 위한 의약이나 건강기능식품, 및 동물의 항 질병 강화를 목적으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 등으로 광범위하게 이용될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 선천면역 증진 및 항바이러스용 조성물은 독성이나 부작용을 거의 일으키지 않으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 자란 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 자란 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 약학, 건강기능식품 또는 사료 조성물로 이용될 수 있는 자란 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 면역은 태어날 때부터 지니고 있는 선천 면역(*innate immunity*)과 후천적으로 생활하면서 적응되어 얻어지는 획득 면역(*acquired immunity*)으로 구분될 수 있다. 선천 면역은 일명 '자연 면역'이라고도 하며, 항원에 대해 비특이적으로 반응하고, 특별한 기억작용은 없는 것을 특징으로 한다.
- [3] 최근 들어, 생체 내 선천적 방어 면역시스템 중에서 인터페론(*interferon*)에 의해 유도되는 선천성 면역분야가 주목을 받고 있는데, 인터페론 매개 면역의 활성화는 다양한 전염병 병원체에 대한 근본적인 예방 방법이 될 수 있기 때문이다. 이에, 인터페론 활성화 기전 연구 및 인터페론을 유도시킬 수 있는 면역조절제제의 개발 연구가 활발하게 진행되고 있다.
- [4] 한편, 병원체의 감염에 따른 선천 면역의 방어 기작의 하나로 사이토카인 같은 면역 인자가 분비되는데, 이들에 의해 면역 반응이 일어나고 병원체에 대한 방어가 이루어진다. 따라서 선천 면역 반응을 유도함으로써 다양한 전염병 병원체 대한 예방 및 치료 방법이 될 수 있으며, 이를 유도시킬 수 있는 선천면역의 증진 제제에 대한 연구가 필요하다.
- [5] 바이러스(*virus*)는 라틴어로 독성물질을 의미하며, 세균여과지($0.22\mu\text{m}$)를 통과하는 일군의 감염형 병원성 입자이다. 바이러스는 숙주세포의 종류에 따라 박테리오파지, 식물 바이러스, 동물 바이러스로 분류하기도 하며, 핵산의 종류에 따라 DNA 바이러스, RNA 바이러스로 분류할 수 있다. 최근 신종 플루, AI 및 구제역 등 다양한 바이러스 질병이 사회적으로 큰 문제를 일으켰으며, 이에 따라 바이러스 질병의 효과적인 대책에 대한 고민이 사회적으로 큰 관심을 불러일으키고 있다.
- [6] 현재 바이러스성 질병을 예방하기 위한 가장 좋은 방법은 백신접종이지만, 바이러스에 의한 질병의 경우, 대체로 많은 바이러스 혈청형(아형) 생성 등에 따른 백신의 효율성 문제가 중요하게 제기되고 있다. 이러한 백신의 문제점을 보완해 줄 수 있는 바이러스 예방용 억제제의 개발 및 보급은 중요한 사항이며, 이를 위해 특히 바이러스에 대한 초기 방어시스템인 생체 내 선천적 면역시스템을 자극하여 개체 동물의 면역력을 높여주는 예방제제의 발굴 및

개발은 중요한 제제 개발 방법이 될 수 있다.

- [7] 인플루엔자바이러스의 증식을 억제하는 대표적인 항바이러스 제제로는 아만타딘(amantadine)과 리만타딘(rimantadine)이 있으나, 이들 두 가지 항바이러스 제제들은 혈청형 A형 인플루엔자바이러스에만 효과적이며, M2 단백질이 없는 혈청형 B형 인플루엔자바이러스에는 효과가 없는 것으로 확인되었다. 또한, 아만타딘과 리만타딘은 사용 시 인플루엔자바이러스 M2 단백질의 이온채널기능에 영향을 미치지 못하는 변이 바이러스의 출현이 매우 쉽게 일어나는 단점이 있는 것으로 확인되고 있다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 16종의 모든 혈청형 A형 인플루엔자바이러스와 혈청형 B형 인플루엔자바이러스에 효과적인 항바이러스 제제로 자나미비르(zanamivir)와 오셀타미비르(oseltamivir)가 개발되었다. 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.
- [8] 또한, 수포성구내염바이러스(Vesicular stomatitis virus)의 주된 통제 방법은 질병의 완전 치료가 불가능하기 때문에, 구제역과 마찬가지로 예방 및 차단 방역과 발생 지역 내 감수성 가축의 박멸이 최선의 방법이다.
- [9] 또한, 뉴캐슬병 바이러스에 대한 백신은 크게 생독 백신과 사독 백신으로 구분되는데, 가장 널리 이용되어온 대표적인 뉴캐슬병 생독 백신주인 B1주와 La Sota주(Clone주 포함)는 백신 접종 반응을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 전 세계적으로 사용되고 있는 뉴캐슬병 사독 백신인 다가 혼합 사독 오일 백신은 1회 백신 접종으로 3종 이상의 질병이 동시에 예방될 수 있으나, 산란계 농장의 경우 면역력 저하로 인한 뉴캐슬병 발생 피해 사례가 늘어나고 있다.
- [10] 또한, RNA 바이러스 가운데에서도 비교적 크기가 작은 바이러스들이 있다. 이들은 작다는 뜻의 'pico'라는 말과 'RNA'를 합쳐 피코나바이러스라고 부르며, 여기에 속한 바이러스들을 통틀어 피코나바이러스과 (Picorna viridae)라고 부른다. 피코나바이러스 과에 속하는 엔테로바이러스는 무균성 수막염, 수족구병, 포진성 구협염, 확장성 심근염, 급성 출혈성 결막염 등의 다양한 임상증상을 일으키는 약 70가지 혈청형을 포함하고 있으며, 폴리오바이러스(Poliiovirus), 콕사키바이러스(Cossackie virus) 및 에코바이러스(Echo virus)와 기타 엔테로바이러스로 분류된다. 엔테로바이러스의 직경이 20~30nm 정도이며, 단일 가닥의 RNA를 유전자로 가지고 있다. 대부분이 등뼈동물의 소화기관을 비롯하여 호흡기관 및 중추신경계까지 감염되지만 뚜렷한 증상을 나타내지 않는 경우가 많다. 콕사키바이러스(Coxsackie virus, CXV)는 피코나바이러스 과에 속하는 인간 엔테로바이러스(human enterovirus)로서, 크게 A형과 B형으로 구분된다(Pallansch MA and Roos RP, Fields Virology, 4th edi, pp723-775, 2001).
- [11] 또한, 최근 세계 곳곳에서 고 위험성 엔테로바이러스 및 변종

바이러스(엔테로바이러스 71형(EV-71), 콕사키바이러스 A24 변이주)가 새롭게 발견되어 유행되고 있어 이를 조기에 탐지하기 위한 국가 간 공동감시체계 구축이 요구되고 있다.

- [12] 콕사키바이러스를 포함하는 엔테로바이러스는 척추동물의 소화기관을 비롯하여 호흡기관 및 중추신경계까지 감염되어 다양한 임상증상을 유발하기 때문에 국가 차원의 대책 마련이 시급히 요구되고 있으나 바이러스의 종류와 혈청형이 매우 다양하여 효과적인 상용화 백신이나 치료제가 개발되어 있지 못한 실정이다.
- [13] 또한, 단순포진바이러스(Herpes Simplex Virus; 이하 HSV)는 헤르페스 바이러스 속에 속하는 DNA 바이러스로서 약 175nm의 크기를 가지는 비교적 큰 바이러스이며, 인간에게 널리 퍼져 있는 감염체이다. 단순포진 감염은 HSV 1형(이하, 'HSV-1'라 함) 및 HSV 2형(이하, 'HSV-2'라 함)의 감염으로써, 점막이나 피부를 침범하는 급성 수포성 질환이며 아토피가 있는 사람에게서 흔히 볼 수 있는 감염질환이다. HSV-1은 주로 입과 안구 주위에, HSV-2는 성기주위에 수포를 형성시킨다. 이러한 HSV의 감염은 면역기능이 저하되어 있는 환자들에게는 그 정도가 심하게 진행되며 경부암의 원인으로도 작용하는 것으로 보고되어 있다(Melnick, J. L., Adam, E. and Rawls, W., *Concer*, 34, 1355-1385, 1974). 또한, 신생아나 태아의 경우에는 스스로 HSV 항체를 생성하지 못할 뿐 아니라 모체의 항체가 태아에게 넘어가지 못하기 때문에, 일단 감염되면 대부분 치명적인 결과를 초래하게 된다고 알려져 있다. 현재, HSV-1에 의한 안구질환의 경우는 미국 내에서만 1년에 약 50만 명의 환자가 발생하며 이중 1000명 이상은 안구 이식수술을 받고 있는 것으로 알려져 있다. HSV-2의 경우 약 95%는 활동성 병변이 있는 상대방과의 성적 접촉을 통해 감염되는 것으로 알려져 있는데, 미국 성인 중 약 20~30%가 HSV-2에 감염되어 있으며, 이중 20 내지 50%는 재발성 성기 포진을 갖는 것으로 보고되어 있다(Johnson R. E. et al., *N. Engl. J. Med.*, 321, 7, 1989).
- [14] HSV는 초기 감염 후에 피부나 점막 표피세포에서 복제를 시작하여 신경조직을 따라 이동한 후, 전 생애에 걸쳐 척추 신경절에 잠복하고 있다가 면역기능이 저하될 경우 재활성화되어 감염부위로부터 여러 가지 질환을 발생시키는 것으로 알려져 있다. HSV에 의한 감염질환에 대한 치료제로는 뉴클레오사이드(nucleoside) 유도체인 아시클로비르(Acyclovir)가 초기감염에 매우 효과적인 것으로 알려져 있으나(Bryson, Y. J. et al., *N. Engl. J. Med.*, 308, 916, 1983), 이 약제의 효과를 유지하기 위해서는 약제를 계속해서 투여해야 하며, 투여가 중단될 경우 HSV에 의한 감염질환이 재발하는 것으로 알려져 있다(Mindel A. et al., *Lancet* i: 926-928(1988); Straus S.E. et al., *N. Engl. J. Med.*, 310, 1545(1984)). 또한 HSV의 최초 감염에 대한 치료 후 재발하는 경우에는 치사율이 높다고 보고되어 있다(Nahmias, A. J. and Coleman, R. M., *Immunobiology of Herpes Simplex Virus Infection* CRC Press, Boca Raton,

92-102,1984).

- [15] 지금까지 이러한 HSV의 감염을 예방하기 위한 백신이 개발되어 왔으나, 바이러스 자체를 약화시켜 사용하는 생백신(live attenuated vaccine)은 HSV의 게놈이 종양발생(oncogenesis)에 직접 관여한다는 사실이 밝혀짐으로 인해서 그 사용이 금지되어 왔다(Cappel, R., Sprecher, S., De Cuyper, F. and De Brackeleer, J., J. Med. Virol., 16, 137-145,1985).
- [16] 이러한 상황하에서, 최근 해외 및 국내에서 기존의 항바이러스 제제의 단점을 극복하고자 하는 많은 노력들이 이루어지고 있으며, 그 중의 하나로 국내에서는 생약 추출물 및 식물 추출물을 대상으로 항바이러스 효능에 대한 연구가 진행중이기는 하지만, 아직까지는 미비한 실정이므로, 기존의 항바이러스 제제의 단점을 극복하여 독성 및 부작용이 거의 없이 우수한 선천면역 증진 효과 및 항바이러스 활성을 발휘할 수 있는 생약 추출물을 유효성분으로 하는 조성물의 개발이 필요한 실정이다.
- [17] 한편, 자완(Asteris Radix)은 개미취(Aster tataricus L.)의 뿌리로 각지의 산과 들, 강기슭, 풀밭에서 널리 자라며 꽃보기식물 또는 약초로 심기도 한다. 자완, 소판, 협판채, 산백채, 자완, 자와라고도 한다. 깊은 산속 습지에서 자생하나 재배하기도 한다. 높이는 야생이 1.5m 정도이고 재배하는 것은 약 2m이다. 트리테르페노이드인 프리델린, 에피프리델린, 시오논, 결정성 사포닌, 쿠마린 화합물인 아우랍텐과 그 유도체 쿠에르세틴 등이 함유되어 있다(문관심, 약초의 성분과 이용, p718, 1984).
- [18] 약리효과로는 거담, 진해, 항균, 항암작용이 있다고 보고되어 있다. 자완의 성분 연구에 의하면, 그 뿌리에는 에피프리델리놀(epifriedelinol), 프리델린(friedelin), 시오논(shionone), 애스터사포닌(astersaponin)과 케르세틴(quercetine)이 들어 있고, 정유 중에는 라크노필롤(lachnophyllol), 라크노필롤 아세테이트(lachnophyllol acetate), 애니톨(anethole)과 지방산 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(강소신의학원편. 중약대사전. 서울 : 1998:4625-30). 또한, 한국공개특허 제2004-0065498호에 알러지성 피부염 및 피부 가려움 완화 효과를 갖는 천연조성물로 개시되어 있고, 한국등록특허 제0516194호에 항종양 활성을 갖는 생약 추출물에 관해 개시되어 있으며, 한국공개특허 제2012-0117115호에 자완 추출물을 함유하는 모발 성장 촉진 또는 탈모 방지용 조성물에 관해 개시되어 있다. 하지만 아직까지는 자완 추출물을 이용한 선천면역 증진 효과 및 항바이러스 활성에 관해 보고된 바 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [19] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 자완 추출물이 선천 면역의 주요 세포인 대식 세포를 활성화시켜 다양한 바이러스의 증식을 억제할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다. 또한, 본 발명은 독성 및

부작용이 거의 없어 장기간 안전성을 확보하면서, 각종 바이러스 또는 세균에 의한 감염성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 건강기능식품 또는 가축 사료 조성물 등에 효과적으로 이용될 수 있는 자완 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스 조성물, 동물의 선천면역 증진 및 항바이러스 활성 증진 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [20] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 자완 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물을 제공한다.
- [21] 또한, 본 발명은 자완 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품을 제공한다.
- [22] 또한, 본 발명은 자완 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 조성물을 제공한다.
- [23] 또한, 본 발명은 인간을 제외한 선천면역 증진이 필요한 동물에 자완 추출물을 투여하는 것을 특징으로 하는 동물의 선천면역 증진 및 항바이러스 활성의 증진 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [24] 본 발명에 따르면 우수한 선천면역 증진 효능을 발휘하는 자완 추출물을 이용함으로써 각종 바이러스 및 세균 감염성 질병의 예방 및 치료에 효과적으로 적용될 수 있으며, 면역력 증진에 기여할 수 있다.
- [25] 또한, 본 발명에 따른 자완 추출물을 포함하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 조성물은 독성이나 부작용을 거의 일으키지 않으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다. 따라서 본 발명에 따른 조성물은 박테리아 및 바이러스에 의한 감염성 질환의 예방 및 치료용으로 적용될 수 있고, 면역이 저하되거나 면역이 억제된 환자의 면역력 증진 및 조절을 위한 약학 조성물이나 건강기능식품, 및 동물의 항 질병 강화를 목적으로 하는 면역증진용 사료 조성물 등으로 광범위하게 이용될 수 있다.
- [26] 또한, 본 발명에 따르면 자완 추출물을 선천면역 증진에 필요한 동물에 투여함으로써 동물의 면역을 효과적으로 안전하게 증진시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [27] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 인플루엔자바이러스(PR8-GFP virus)에 대한 항바이러스 활성분석 결과이다. Medium은 음성 대조군으로 아무것도 처리하지 않은 세포군; PR8-GFP는 바이러스 감염군; IFN- β /PR8-GFP는 양성대조군으로, PR8-GFP 바이러스 감염 및 1,000Units/ml의 IFN- β 처리군; 자완/PR8-GFP는 PR8-GFP 바이러스 감염 및 자완 추출물 처리군이다.
- [28] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 수포성구내염바이러스(VSV-GFP virus)에 대한 항바이러스 활성분석 결과이다.

Medium은 음성 대조군으로 아무것도 처리하지 않은 세포군; VSV-GFP는 바이러스 감염군; IFN- β /VSV-GFP는 양성대조군으로, VSV-GFP 바이러스 감염 및 1,000Units/ml의 IFN- β 처리군; 자완/VSV-GFP는 VSV-GFP 바이러스 감염 및 자완 추출물 처리군이다.

- [29] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 단순포진바이러스(HSV-GFP virus)에 대한 항바이러스 활성분석 결과이다. Medium은 음성 대조군으로 아무것도 처리하지 않은 세포군; HSV-GFP는 바이러스 감염군; IFN- β /HSV-GFP는 양성대조군으로, HSV-GFP 바이러스 감염 및 1,000Units/ml의 IFN- β 처리군; 자완/HSV-GFP는 HSV-GFP 바이러스 감염 및 자완 추출물 처리군이다.
- [30] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 뉴캐슬병바이러스(NDV-GFP virus)에 대한 항바이러스 활성분석 결과이다. Medium은 음성 대조군으로 아무것도 처리하지 않은 세포군; NDV-GFP는 바이러스 감염군; IFN- β /NDV-GFP는 양성대조군으로, NDV-GFP 바이러스 감염 및 1,000Units/ml의 IFN- β 처리군; 자완/NDV-GFP는 NDV-GFP 바이러스 감염 및 자완 추출물 처리군이다.
- [31] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 엔테로바이러스(EV-71 virus)에 대한 항바이러스 활성분석 결과이다. Medium은 음성 대조군으로 아무것도 처리하지 않은 세포군; EV-71는 바이러스 감염군; IFN- β /EV-71는 양성대조군으로, EV-71 바이러스 감염 및 1,000Units/ml의 IFN- β 처리군; 자완/EV-71는 EV-71 바이러스 감염 및 자완 추출물 처리군이다.
- [32] 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 자완 추출물에 의한 전 염증성 사이토카인 유도 분석결과이다.
- [33] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물을 Raw 264.7 세포에 처리하여 항바이러스 유전자 중에서 IFN- β , PKR(Protein Kinase R), PML(promyelocytic leukemia), GBP1(Guanylate binding protein 1), OAS(2'-5'-oligoadenylate synthetase 1), Interferon-induced GTP-binding protein Mx1, ISG56(Interferon-stimulated gene 56), ISG20(Interferon-stimulated gene 20) 및 ISG15(Interferon-stimulated gene 15)의 mRNA 발현 유도를 확인한 결과이다.
- [34] 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 면역관련 신호전달 분자들의 활성화 유도를 확인한 결과이다.
- [35] 도 9는 본 발명의 실시예에 따른 자완 추출물에 의한 인플루엔자바이러스(H1N1 및 H5N2)의 감염 억제를 확인한 결과이다. H1N1 및 H5N2는 인플루엔자바이러스만 처리(1.0 MOI)된 군이고, Medium은 음성대조군으로 아무것도 처리되지 않은 MDCK 세포군이며, 자완/H1N1 및 자완/H5N2는 1 μ g/ml의 자완 추출물과 인플루엔자바이러스(1.0 MOI)를 동시에 처리한 군이다.
- [36] 도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 처리에 따른 H1N1

바이러스 감염 동물 모델의 생존률(%)을 나타낸 결과이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [37] 본 발명은 자완 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물에 관한 것이다.
- [38] 상기 자완 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 중에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하는 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 물, 메탄올, 에탄올, 또는 부탄올의 용매를 이용하여 추출하는 것이며, 더욱더 바람직하게는 물을 용매로 이용하여 열수 추출한 것이다. 상기 열수 추출은 1) 자완 중량을 기준으로, 5 내지 30배의 증류수를 첨가하는 단계; 2) 100~130°C의 온도에서 2~5시간 동안 열수 추출하는 단계; 및 3) 상기 열수 추출물을 여과하는 단계;를 거쳐 수행하는 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않는다.
- [39] 또한, 상기 자완 추출물은 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 또는 조정제물 또는 정제물 중 어느 하나를 포함하는 것으로 한다.
- [40] 본 발명의 자완 추출물이 항바이러스 활성을 갖는 바이러스의 일례는 오르토믹소비리대(Orthomixoviridae), 람도비리대(Rhabdoviridae), 파라믹소비리대(Paramixoviridae), 헤피스비리대(Herpesviridae) 및 피코나비리대(Picornaviridae) 중에서 선택된 하나 이상의 바이러스이며, 바람직하게는 인플루엔자바이러스, 뉴캐슬병바이러스, 수포성구내염바이러스(Vesicular stomatitis virus), 콕사키바이러스(Coxsackie virus), 엔테로바이러스 71형(Enterovirus-71), 단순포진바이러스(Herpes Simplex Virus), 리노바이러스(Rhinovirus), 호흡기세포융합바이러스(respiratory syncytial virus; RSV), 구제역바이러스(Foot and mouth disease virus), 콜로라도참진드기열바이러스, 레오바이러스, 인간면역 결핍 바이러스, B형 간염바이러스, C형 간염바이러스, 돼지열병바이러스, 소바이러스성설사바이러스(Bovine Viral Diarrhea Virus), 돼지생식기호흡기증후군바이러스(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus), 돼지오제스키병바이러스, 로타바이러스, 파보바이러스, 돼지유행성설사바이러스(Porcine epidemic diarrhea virus) 등이 있으며, 더 바람직한 바이러스의 일례는 인플루엔자바이러스, 뉴캐슬병바이러스, 수포성구내염바이러스, 단순포진바이러스, 엔테로바이러스 71형, 리노바이러스(Rhinovirus), 호흡기세포융합바이러스(respiratory syncytial virus; RSV)이지만 이에 제한하지 않는다.
- [41] 본 발명의 자완 추출물은 면역 인자 유도능을 강하게 나타내며, 개체의 선천면역을 증가시켜 바이러스의 감염 및 증식을 억제하는 효과가 있을 뿐만 아니라, 세포 독성이나 부작용을 거의 나타내지 않으므로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 것을 특징으로 한다. 병원체의 감염 시 선천 면역의

방어 기작의 하나로 면역 인자가 분비되는데, 이들 면역 인자들(TNF- α , IL-6 및 IFN- β)의 분비가 병원체를 방어하므로, 적절한 수준의 사이토카인의 반응 유도는 다양한 전염병 병원체에 대한 예방 및 치료 방법이 될 수 있다. 특히 바이러스에 대한 면역력을 증강시킬 수 있는 것이다.

- [42] 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 본 발명에 이용될 수 있는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제는 본 발명의 효과를 해하지 않는 한 특별히 제한되지 않으며, 예를 들어 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제, 윤활제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제의 대표적인 예로는, 락토즈, 덱스트로스, 슈크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 전분, 젤라틴, 글리세린, 아카시아 고무, 알지네이트, 칼슘포스페이트, 칼슘카보네이트, 칼슘실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 광물유, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 식물성 오일, 주사가능한 에스테르, 위템솔, 마크로골, 트윈 61, 카카오지, 라우리지 등을 들 수 있다. 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽제, 에어로졸, 외용제, 좌제 및 주사제로 이루어진 군으로부터 선택되는 형태일 수 있다. 약학 조성물의 제제화 방법은 기술분야에 공지된 통상의 방법에 따라 수행될 수 있으며, 특별히 제한되지 않는다.
- [43] 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물은 경구 또는 비경구 투여될 수 있으며, 투여량은 투여 대상의 연령, 성별, 체중, 상태, 질병의 정도, 약물의 형태, 투여 경로 및 기간에 따라 적절히 선택될 수 있으나, 일반적으로 약 5~500mg/kg, 바람직하게는 약 100~250mg/kg을 1일 1~3회 투여할 수 있다.
- [44] 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물의 제제화 방법, 투여량, 투여 경로, 구성성분 등은 기술분야에 공지된 통상의 기술로부터 적절히 선택될 수 있음이 통상의 기술자에게 명백하다.
- [45] 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물은 박테리아 감염성 질병 또는 바이러스 감염성 질병의 예방 및 치료에 이용될 수 있다. 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물은 유효 성분으로 자원 추출물 외에 다른 약학적 활성 성분을 함께 포함하거나, 또는 다른 유효 성분을 포함하는 약학 조성물과 혼합되어 이용될 수 있다.
- [46] 또한, 본 발명은 자원 추출물을 포함하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품은 식품학적으로 허용가능한 식품 보조 첨가제를 더 포함할 수 있다. 본 발명에 이용될 수 있는 식품학적으로 허용가능한 식품 보조 첨가제는 포도당, 과당, 말토오스, 슈크로스, 덱스트린, 시클로덱스트린과 같은 당 및

자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올과 같은 천연 탄수화물, 타우마틴, 스테비아 추출물 등의 천연 향미제, 사카린, 아스파르탐산 등의 합성 향미제, 착색제, 펙트산 또는 그의 염, 알긴산 또는 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산화제 등을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 캔디, 츄잉검, 젤리 및 음료로 이루어진 군으로부터 선택되는 형태일 수 있다. 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품 중의 자원 추출물의 함량은 식품의 형태, 풍미, 맛 등을 고려하여 적절하게 선택될 수 있으며, 예를 들어 건강기능식품 전체 중량에 대하여 0.01~30 중량%의 범위일 수 있다. 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품의 형태, 조성 및 제조방법 등은 기술분야에 공지된 통상의 기술로부터 적절히 선택될 수 있음이 통상의 기술자에게 명백하다.

[47] 또한, 본 발명은 자원 추출물을 포함하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 조성물에 관한 것이다. 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 조성물 중의 자원 추출물의 함량은 급여 가축의 종, 주령, 체중, 및 사육 조건 등에 따라 적절히 선택될 수 있으며, 사료 조성물 전체 중량에 대하여 0.01~95중량%, 바람직하게는 0.1~80중량%의 비율일 수 있다. 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 조성물은 기술분야에 공지된 사료 제조방법에 따라 제조될 수 있으며, 예를 들어, 각종 사료 원료 또는 배합사료와 본 발명의 자원 추출물을 혼합한 후, 추가적인 가공 공정, 예를 들어 펠렛 형태로의 성형 또는 과립 등의 형태로의 절단 단계 등을 더 수행함으로써 제조될 수 있다. 본 발명의 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 조성물의 구성성분, 조성, 제조방법, 급여방법 등은 기술분야에 공지된 통상의 기술로부터 적절히 선택될 수 있음이 통상의 기술자에게 명백하다.

[48] 또한, 본 발명은 인간을 제외한 선천면역 증진이 필요한 동물에 자원 추출물을 투여하는 것을 특징으로 하는 동물의 선천면역 증진 및 항바이러스 활성의 증진 방법에 관한 것이다. 본 발명의 동물의 선천면역 증진 및 항바이러스 활성 증진에 있어서, 자원 추출물의 투여량, 투여경로, 투여 시기 등은 기술분야에 공지된 통상의 기술로부터 적절히 선택될 수 있음이 통상의 기술자에게 명백하다.

[49]

[50] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[51]

[52] 실시예 1. 자원 추출물의 제조

[53] 자원 추출물은 자원의 중량을 기준으로, 20배의 증류수를 자원에 첨가하여

115°C에서 180분간 열수 추출하고, 0.45 μ m로 1차 여과한 후, 0.22 μ m로 2차 여과하여 침전물을 제거하였다. 이어서, pH를 7.0으로 조정하여 1.5ml Ep-튜브에 1ml씩 분주하고 -20°C에서 저장하여 모든 분석에 사용하였다.

[54]

[55] **실시예 2. 자란 추출물의 항바이러스 활성 분석**

[56] 인플루엔자바이러스(Influenza virus; PR8), 수포성구내염바이러스(Vesicular stomatitis virus), 단순포진바이러스(Herpes simplex virus; HSV), 뉴캐슬병바이러스(Newcastle disease virus) 및 엔테로바이러스 71형(Enterovirus-71; EV-71)에 대한 자란 추출물의 항바이러스 활성 분석을 수행하였다.

[57]

[58] **(1) 항바이러스 활성 분석 방법**

[59] 인플루엔자바이러스(Influenza virus; PR8), 수포성구내염바이러스(Vesicular stomatitis virus; VSV), 단순포진바이러스(HSV-GFP) 및 뉴캐슬병바이러스(Newcastle disease virus)를 마우스 대식세포주인 Raw 264.7 세포(8×10^5 cell/well)에 감염시켜 분석하였고, 엔테로바이러스 71형(Enterovirus-71; EV-71)은 Hela 세포에 감염시켜 분석하였다.

[60]

12-웰 TC 플레이트에 세포를 배양한 후, 1% FBS가 첨가된 DMEM에 상기 실시예 1에서 제조한 1 μ g/ml의 자란 추출물(pH 조정)을 각각 처리하였다. 음성 대조군은 1% FBS가 첨가된 DMEM만을 처리하였고, 양성 대조군(Positive control)은 마우스 IFN- β (500units/ml)를 처리하였다. 자란 추출물의 처리 12시간 후, PR8-GFP(MOI:1.0), VSV-GFP(MOI:1.0), HSV-GFP(MOI:3.0), NDV-GFP(MOI:3.0) 및 EV-71(MOI:1.0)를 각각 접종하였다. 접종하고 2시간 후 접종액을 제거하고, PBS로 3회 세척하고, 12 및 24시간 후, 바이러스 감염 정도를 확인하였다.

[61]

[62] **(2) 항바이러스 활성 분석결과**[63] **1) 인플루엔자바이러스(PR8-GFP virus)의 분석결과**

[64] 인플루엔자바이러스에 대한 항바이러스 활성 분석결과를 도 1에 개시하였다. 도 1(a)는 감염 12시간 후의 GFP(green fluorescent protein) 형광이미지를 나타내고, 도 1(b)는 감염 24시간 후의 GFP(green fluorescent protein) 형광이미지를 나타내며, 도 1(c)는 감염 12시간 및 24시간 후의 세포생존율을 나타내며, 도 1(d)는 세포 내에 존재하는 바이러스의 개수를 나타낸 것이다. 자란 추출물로 처리한 결과, 인플루엔자바이러스의 감염률이 현저하게 떨어졌으며, 세포 생존율도 바이러스 감염군에 비해 상승한 것을 확인할 수 있었다(도 1).

[65]

[66] **2) 수포성구내염바이러스(VSV-GFP virus)의 분석결과**

[67] 수포성구내염바이러스에 대한 항바이러스 활성 분석 결과를 도 2에

개시하였다. 도 2(a)는 감염 12시간 후의 GFP(green fluorescent protein) 형광이미지를 나타내고, 도 2(b)는 감염 24시간 후의 GFP(green fluorescent protein) 형광이미지를 나타내며, 도 2(c)는 감염 12시간 및 24시간 후의 세포생존율을 나타내며, 도 2(d)는 세포 내에 존재하는 바이러스의 개수를 나타낸 것이다. 도 2로부터 확인할 수 있는 바와 같이, 자완 추출물로 처리한 결과, 수포성구내염바이러스의 감염률이 현저하게 떨어졌으며, 바이러스 역가도 감소하였고, 세포 생존율도 바이러스 감염군에 비해 상승하였다.

[68]

[69] 3) 단순포진바이러스(HSV-GFP virus)의 분석결과

[70] 단순포진바이러스에 대한 항바이러스 활성 분석결과를 도 3에 개시하였다. 도 3(a)는 감염 12시간 후의 GFP 형광이미지를 나타내고, 도 3(b)는 감염 24시간 후의 GFP 형광이미지를 나타내며, 도 3(c)는 감염 12시간 및 24시간 후의 세포 생존율을 나타내며, 도 3(d)는 세포 내에 존재하는 바이러스의 개수를 나타낸 것이다. 도 3으로부터 확인할 수 있는 바와 같이, 자완 추출물로 처리한 결과, 단순포진바이러스의 감염률이 현저하게 떨어졌으며, 세포 생존율도 바이러스 감염군에 비해 상승하였다.

[71]

[72] 4) 뉴캐슬병바이러스(NDV-GFP virus)의 분석결과

[73] 뉴캐슬병바이러스에 대한 항바이러스 활성 분석결과를 도 4에 개시하였다. 도 4(a)는 감염 24시간 후의 GFP 형광이미지를 나타내며, 도 4(b)는 상대적인 GFP 형광량을 나타낸 것이다. 도 4에 개시한 바와 같이, 뉴캐슬병바이러스가 감염된 세포에 자완 추출물을 처리한 결과, 뉴캐슬병바이러스가 현저하게 감소한 것을 확인하였다.

[74]

[75] 5) 엔테로바이러스(EV-71 virus) 71형의 분석결과

[76] 엔테로바이러스 71형에 대한 항바이러스 활성 분석결과를 도 5에 개시하였다. 도 5(a)는 감염 12시간 후의 광학이미지를 나타내고, 도 5(b)는 감염 24시간 후의 광학이미지를 나타내며, 도 5(c)는 엔테로바이러스 감염 24시간 후의 자완 추출물을 처리한 군에서 바이러스 복제가 감소하였다는 것을 나타낸 것이다. 도 5에 개시한 바와 같이, 엔테로바이러스 71형이 감염된 세포에 자완 추출물을 처리한 결과, 엔테로바이러스 71형이 현저하게 감소한 것을 확인하였다.

[77]

[78] 실시예 3. 마우스 대식 세포주를 이용한 자완의 전 염증성 사이토카인

유도(pro-inflammatory Cytokine Induction) 분석

[79] 자완 추출물의 면역인자 유도효과를 확인하기 위하여 전 염증성 사이토카인 유도 분석을 수행하였다.

[80] (1) 전 염증성 사이토카인 유도 분석방법

[81] 마우스 대식세포주인 Raw 264.7을 키워 분석에 사용하였다. 6-웰 TC

플레이트에 세포를 배양한 후, 1% FBS가 첨가된 DMEM에 상기에서 제조된 자란 추출물(pH 조정)을 첨가하여 처리하였다. 음성 대조군은 1% FBS가 첨가된 DMEM만을 처리하였고, 양성 대조군은 바이러스, 암세포 등의 외부 물질에 반응하여 분비되는 사이토카인으로, 세포 내 항암 및 항바이러스 작용을 일으켜 면역반응을 유도하는 물질인 인터페론- β (IFN- β)를 1000Units/ml 처리하였다. 시료는 1 μ g/ml의 자란 추출물을 처리하고 12시간 후와 24시간 후의 세포에 대하여 TNF- α , IL-6 및 IFN- β 의 생성량(pg/ml)을 ELISA로 측정하였다.

[82]

[83] **(2) 전 염증성 사이토카인 유도 분석결과**

[84] 자란 추출물에 의한 전 염증성 사이토카인 유도 분석결과를 도 6에 개시하였다. 종양괴사인자 알파(tumor necrosis factor- α ; TNF- α)는 주로 활성화된 대식세포에 의해 분비되며, 가장 중요한 역할은 면역세포의 조절이다. 또한 바이러스 복제를 억제하는 능력이 있는 것으로 알려져 있다. 인터루킨 6(Interleukin 6; IL-6)는 B-세포를 활성화시켜 항체생산을 증가시켜 항원특이적 면역반응을 촉진하는 중요한 사이토카인이다. 인터페론(Interferon; IFN)은 세포의 조절물질로서 그 기능이 아주 다양하다. 예를 들면, 바이러스로부터의 세포보호, 조직배양에서나 골수에서의 세포분열 억제, T세포의 작용 조절, 자연면역세포(NK세포)의 기능 향진을 유도하여 식균작용을 상승시키고, 특수 암세포의 분열 억제하는 것으로 알려져 있다.

[85] 도 6에 개시한 바와 같이, Raw 264.7 세포에서 자란 추출물에 의해 전 염증성 사이토카인인 IL-6, TNF- α 및 IFN- β 가 강하게 유도되는 것을 확인할 수 있다.

[86]

[87] **실시예 4. 자란 추출물의 처리에 따른 실시간 중합효소 연쇄반응(real time PCR)을 이용한 항바이러스 유전자의 발현량 변화 분석**

[88] 사이토카인 분비와 마찬가지로 면역관련 유전자들의 발현도 증가하는지를 확인하기 위하여 Raw264.7 세포주에 1%의 자란 추출물을 처리한 후, 12시간 후에 IFN- β 와 항바이러스 유전자의 발현량을 실시간 중합효소 연쇄반응(real time PCR)을 이용하여 측정하였다.

[89] 그 결과 도 7에 개시한 바와 같이 양성대조군과 마찬가지로, 자란 추출물을 처리한 세포에서 항바이러스 유전자들의 발현량이 증가하였으며, 이와 같은 결과로부터 자란 추출물이 면역증강에 효과가 있다는 것을 재확인하였다.

[90]

[91] **실시예 5. 자란 추출물의 처리에 따른 선천면역 관련 신호전달 분자들의 발현량 변화 확인**

[92] 인터페론이나 전염증성 사이토카인 등의 분비는 체내에 침입한 바이러스에 대응하는 중요한 선천면역의 기전 요소로, 이들 사이토카인들이 분비되기 위해서는 세포에 자극된 신호들에 반응하는 특정 분자들의 활성화가 중요하므로, 본 실시예 5에서는 세포 내 신호전달 분자들의 활성화 정도를 특정

항체를 이용하여 확인하였다. 상세하게는 자완 추출물을 Raw 264.7 세포주에 처리한 후, 0, 4, 8, 12 시간 후에 세포를 회수하여 웨스턴 블랏 어세이를 수행하였다. 양성 대조군으로 LPS를 사용하였으며, 시간이 지남에 따라 인터페론 신호전달 활성화와 관련이 있는 TBK1(TANK-binding kinase 1), IRF3(Interferon regulatory factor 3) 분자들의 인산화가 증가되는 것을 확인하였고, 면역과 관련된 사이토카인의 분비에 관여하는 NF- κ B 신호전달 경로의 활성화가 p65 인산화에 의해 확인되었다(도 8).

[93]

[94] 실시예 6. 자완 추출물에 의한 H1N1 및 H5N2 바이러스 감염 억제 분석

[95] (1) 분석방법

[96] MDCK 세포주에 자완 추출물과 1.0 MOI(multiplicity of infection) 바이러스를 동시에 처리하고 24시간 후, 세포독성을 측정하기 위하여 10 μ l의 Ez-Cytox 시약을 처리하고 12시간 동안 배양하고 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[97]

[98] (2) 분석결과

[99] 자완 추출물에 의한 H1N1 및 H5N2 바이러스 감염에 의한 세포 생존도를 분석한 결과, H1N1 및 H5N2 바이러스 감염에 의해 세포 생존률이 약 20%로 감소하였으며, 자완 추출물과 1 MOI 바이러스를 동시에 처리한 군의 경우, 세포 생존률이 약 60%로 나타나, 바이러스 감염에 의한 세포 생존률의 감소를 막아주는 것을 확인하였다(도 9).

[100]

[101] 실시예 7. 자완 추출물에 의한 *In vivo* 항인플루엔자바이러스 효능 검증[102] 본 발명의 일 실시예에 따른 자완 추출물의 경구 투여에 의한 *In vivo* 항인플루엔자바이러스 효능을 분석하였다. 자완 추출물을 Balb/c 마우스에 경구투여하고, 인플루엔자바이러스인 H1N1을 5LD₅₀로 감염시킨 후, 마우스의 생존률(%)을 확인하였다.

[103] 그 결과, 도 10에 개시한 바와 같이, 감염 후 9일째 control 그룹에서는 20%의 생존률을 보이는 반면, 자완 추출물을 경구 투여한 그룹에서는 60%의 생존률을 보였다. 이와 같은 결과로부터 자완 추출물에 의한 면역 증강이 마우스를 치사시킬 수 있는 인플루엔자바이러스 감염에 대하여 방어능이 있다는 것을 검증할 수 있었다.

[104]

[105] 제조예 1. 주사제

[106] 상기 실시예 1에서 제조한 자완 추출물: 100mg

[107] 소듐 메타비설파이트: 3.0mg

[108] 메틸 파라벤: 0.8mg

[109] 프로필 파라벤: 0.1mg

[110] 주사용 멸균 증류수: 적량

[111] 상기 성분을 혼합하고 통상의 방법으로 최종 부피가 2 ml이 되도록 제조하여, 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조하였다.

[112]

[113] **제조예 2. 정제**

[114] 상기 실시예 1에서 제조한 자완 추출물: 200mg

[115] 감자 전분: 100mg

[116] 락토오스: 100mg

[117] 콜로이드성 규산: 16mg

[118] 스테아린산 마그네슘: 적량

[119] 통상의 정제 제조방법에 따라 상기 성분을 혼합하고 타정하고 정제를 제조하였다.

[120]

[121] **제조예 3. 캡슐제**

[122] 상기 실시예 1에서 제조한 자완 추출물: 100mg

[123] 유당: 50mg

[124] 전분: 50mg

[125] 탈크: 2mg

[126] 스테아린산 마그네슘: 적량

[127] 통상의 캡슐 제조방법에 따라 상기 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[128]

[129] **제조예 4. 환제**

[130] 상기 실시예 1에서 제조한 자완 추출물: 120mg

[131] 옥수수 전분: 100mg

[132] 멸균 증류수: 적량

[133] 상기 성분을 혼합하고, 통상의 환제 제조방법에 따라 적절한 크기를 갖는 구형으로 제환하여 환제를 제조하였다.

[134]

[135] **제조예 5. 건강 기능 식품**

[136] 1) 건강 음료

[137] 올리고당(2%), 액상과당(0.5%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%) 등의 음료 재료에 상기 실시예 1에서 제조된 자완 추출물을 적량 혼합하여, 살균함으로써 음료를 제조하였다.

[138] 2) 기능성 식품

[139] 상기 실시예 1에서 제조한 자완 추출물을 각종 비타민 및 미네랄 함유 기능성 식품에 적량 혼합하여 자완 추출물이 함유된 기능성 식품을 제조하였다.

[140]

[141] **제조예 6. 사료 조성물**

- [142] 동물용 배합 사료에 상기 실시예 1에서 제조된 자란 추출물을 적량 혼합하여, 사료 조성물을 제조한 후, 펠렛화 및 과립화하였다.

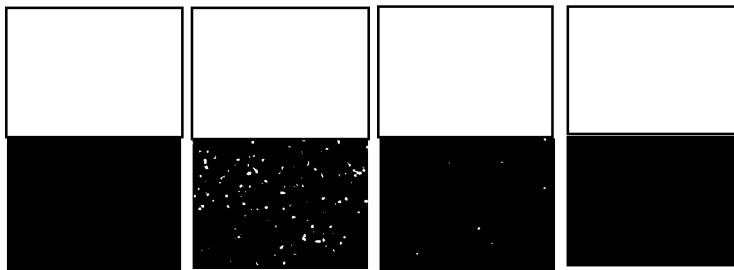
청구범위

- [청구항 1] 자원 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 자원 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올 중에서 선택된 1종 이상의 용매로 추출하는 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리대(Orthomixoviridae), 랍도비리대(Rhabdoviridae), 파라믹소비리대(Paramixoviridae), 허피스비리대(Herpesviridae) 및 피코나비리대(Picornaviridae) 중에서 선택된 하나 이상의 바이러스인 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 오르토믹소비리대(Orthomixoviridae)는 인플루엔자바이러스(Influenza virus)이고, 랍도비리대(Rhabdoviridae)는 수포성구내염바이러스(Vesicular stomatitis virus)이며, 파라믹소비리대(Paramixoviridae)는 뉴캐슬병바이러스(Newcastle disease virus)이고, 허피스비리대(Herpesviridae)는 단순포진바이러스이며, 피코나비리대(Picornaviridae)는 엔테로바이러스 71형(Enterovirus 71)인 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 약학 조성물은 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽제, 에어로졸, 외용제, 좌제 및 주사제로 이루어진 군으로부터 선택되는 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 약학 조성물.
- [청구항 7] 자원 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 건강기능식품은 식품학적으로 허용 가능한 식품 보조 첨가제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품.
- [청구항 9] 제7항에 있어서, 상기 건강기능 식품은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 캔디, 츄잉껌, 젤리 및 음료로 이루어진 군으로부터 선택되는 제형을 갖는 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품.
- [청구항 10] 제7항에 있어서, 상기 바이러스는 오르토믹소비리대(Orthomixoviridae), 랍도비리대(Rhabdoviridae), 파라믹소비리대(Paramixoviridae), 허피스비리대(Herpesviridae) 및 피코나비리대(Picornaviridae) 중에서 선택된 하나 이상의 바이러스인 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및

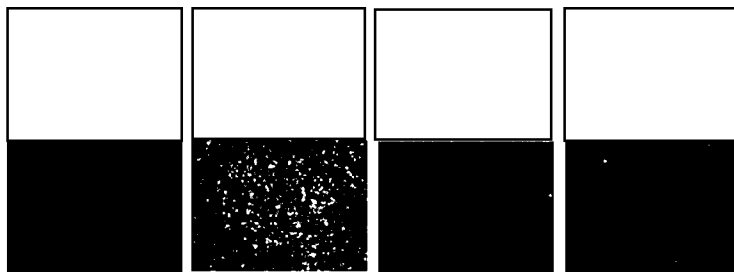
- 항바이러스용 건강기능식품.
- [청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 오르토믹소비리대(Orthomixoviridae)는 인플루엔자바이러스(Influenza virus)이고, 랍도비리대(Rhabdoviridae)는 수포성구내염바이러스(Vesicular stomatitis virus)이며, 파라믹소비리대(Paramixoviridae)는 뉴캐슬병바이러스(Newcastle disease virus)이고, 허피스비리대(Herpesviridae)는 단순포진바이러스이며, 피코나비리대(Picornaviridae)는 엔테로바이러스 71형(Enterovirus 71)인 것을 특징으로 하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 건강기능식품.
- [청구항 12] 자란 추출물을 유효성분으로 함유하는 선천면역 증진 및 항바이러스용 사료 조성물.
- [청구항 13] 자란 추출물을, 인간을 제외한 선천면역 증진이 필요한 동물에게 투여하는 것을 특징으로 하는 동물의 선천면역 증진 및 항바이러스 활성의 증진 방법.

[도1]

(a) 감염 12시간 후



(b) 감염 24시간 후

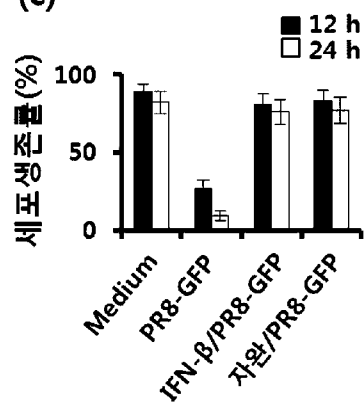


Medium

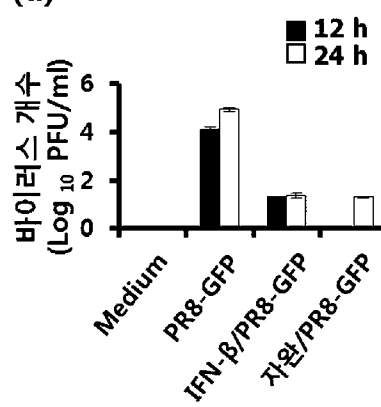
PR8-GFP

IFN- β
/PR8-GFP자완
/PR8-GFP

(c)

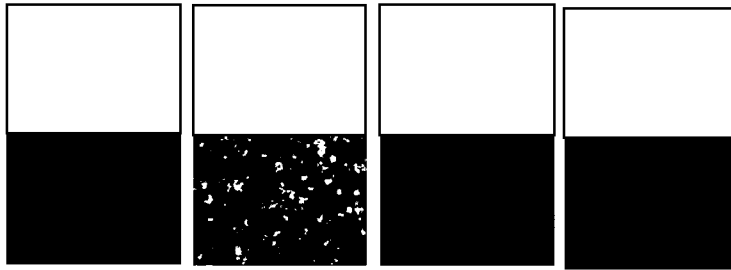


(d)

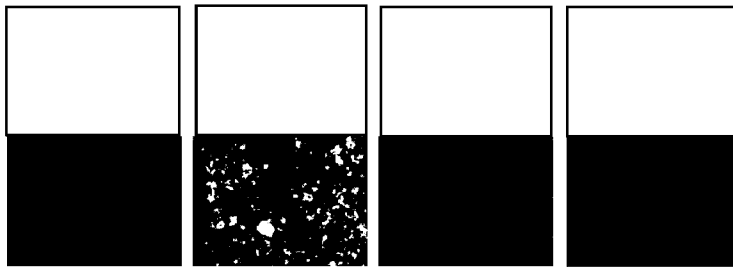


[도2]

(a) 감염 12시간 후

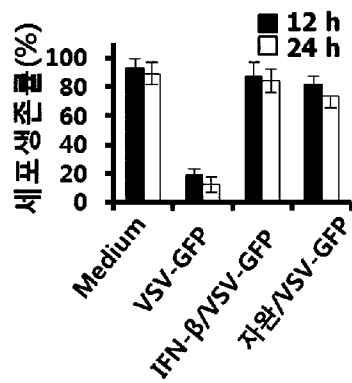


(b) 감염 24시간 후

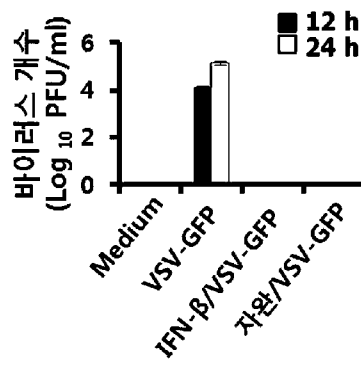


Medium VSV-GFP IFN- β /VSV-GFP 자완 /VSV-GFP

(c)



(d)

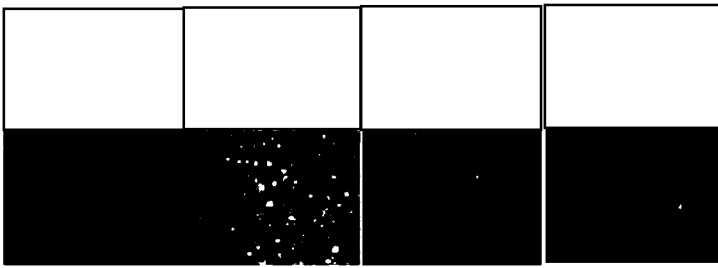


[도3]

(a) 감염 12시간 후

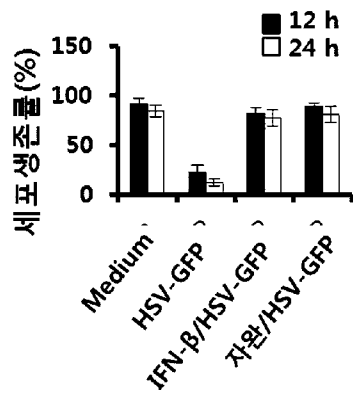


(b) 감염 24시간 후

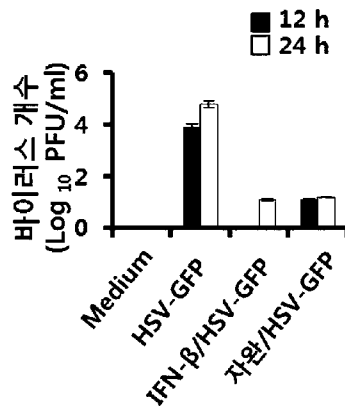


Medium HSV-GFP IFN- β /HSV-GFP 자완 /HSV-GFP

(c)

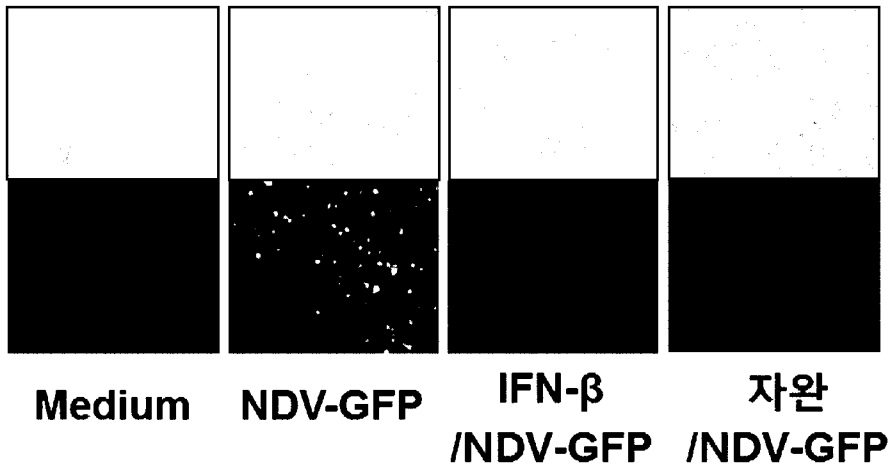


(d)

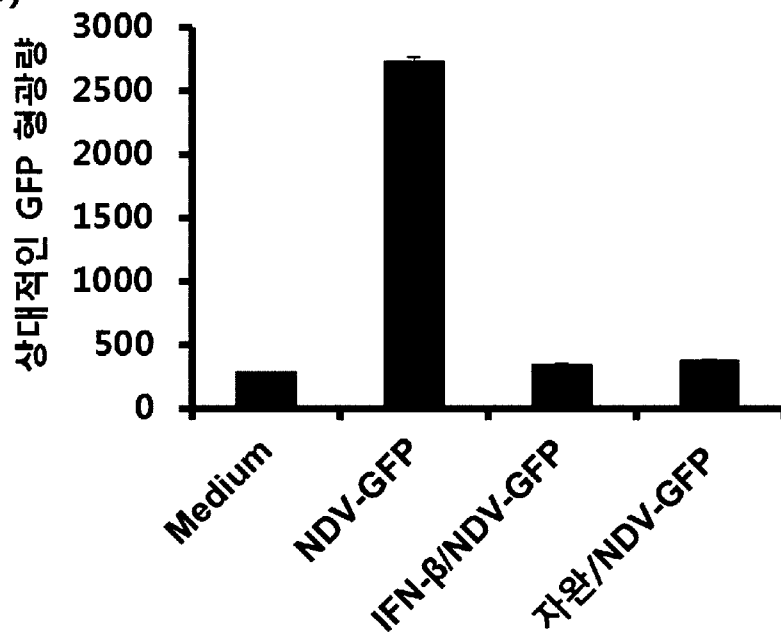


[도4]

(a) 감염 24시간 후

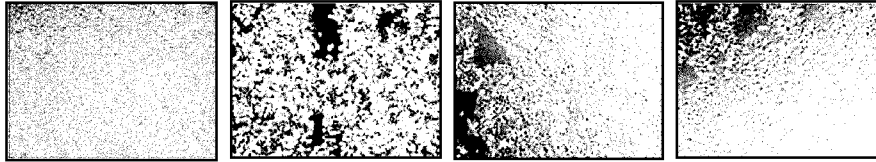


(b)

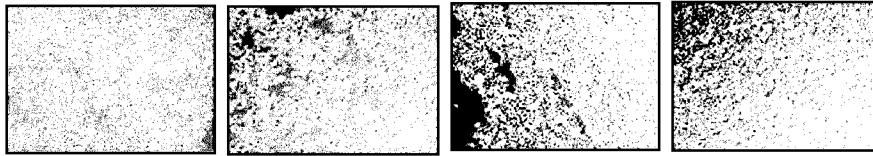


[도5]

(a) 감염 12시간 후



(b) 감염 24시간 후

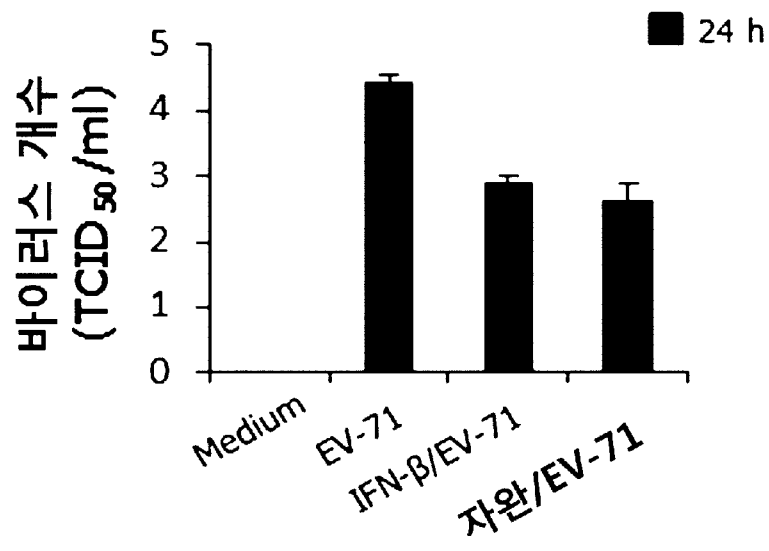


Medium

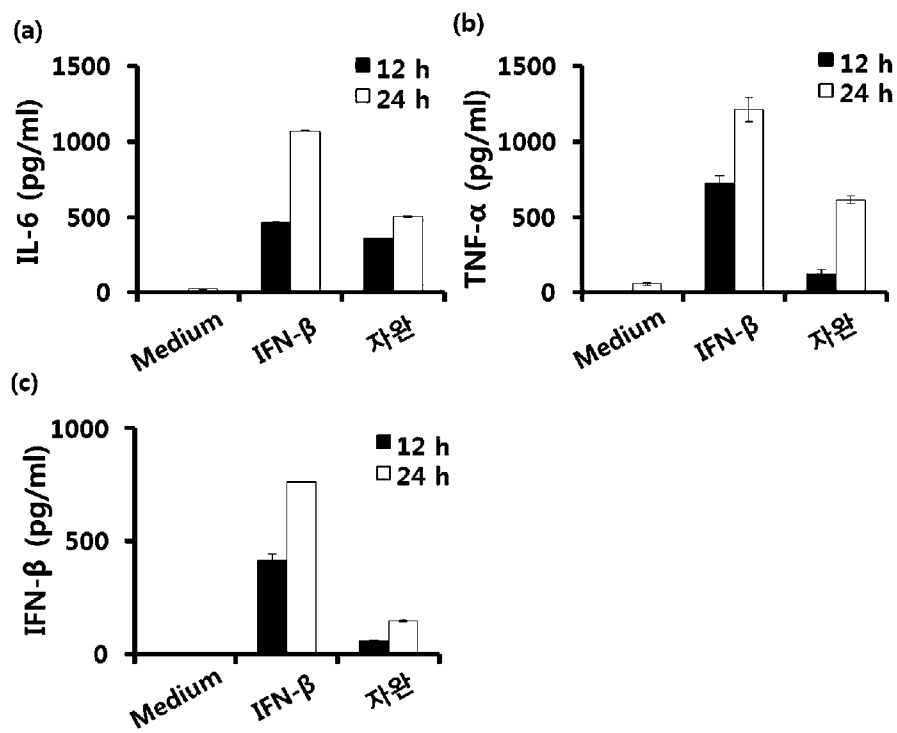
EV-71

IFN- β
/EV-71자완
/EV-71

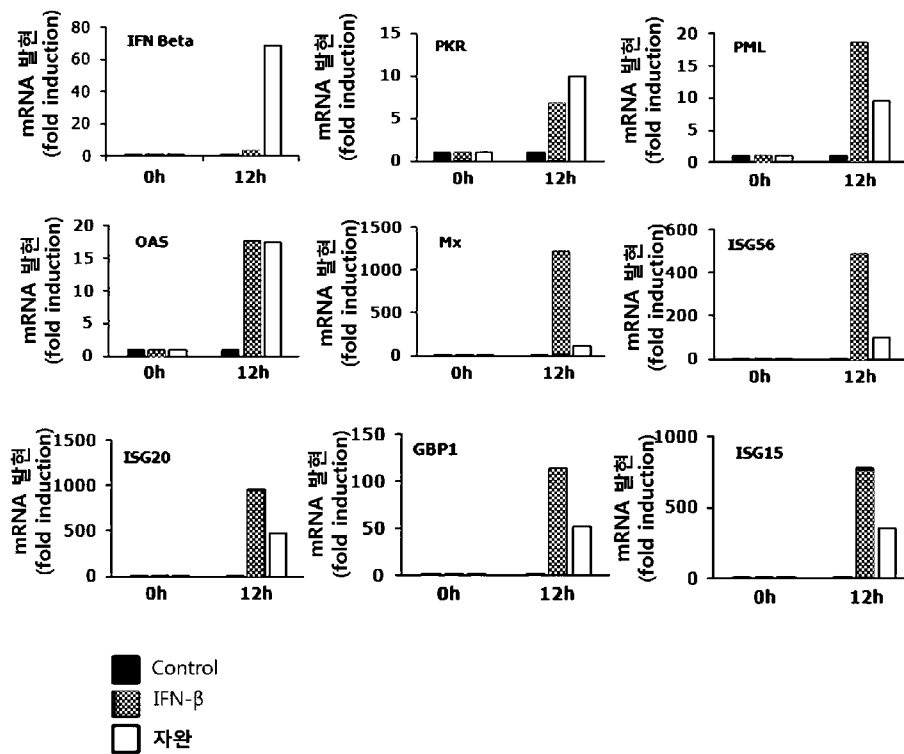
(c)



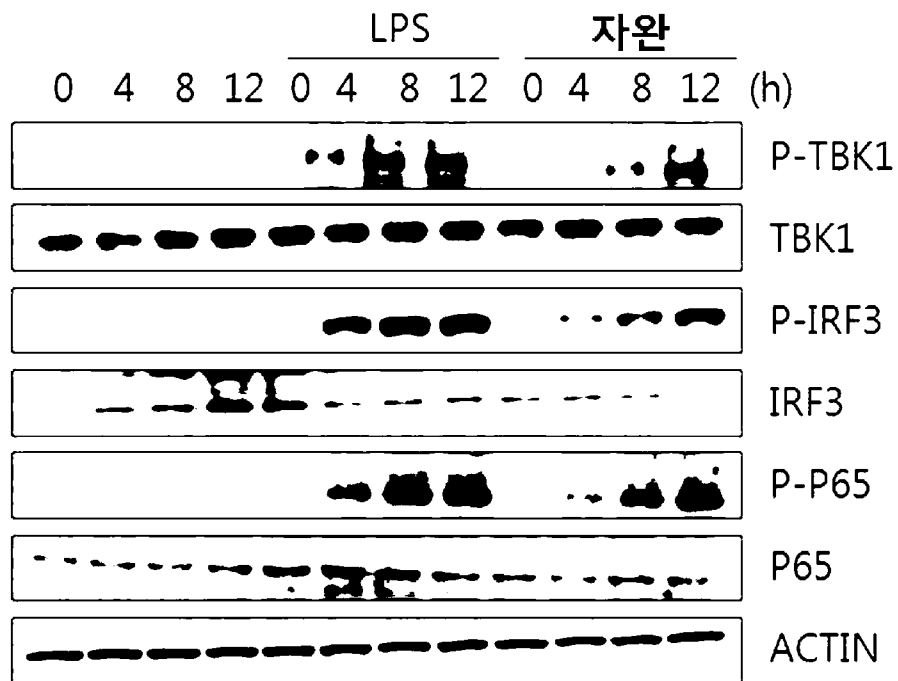
[도6]



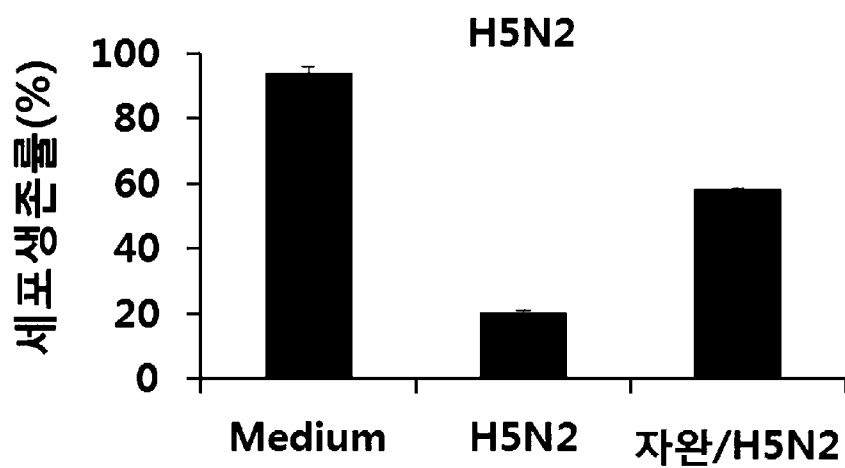
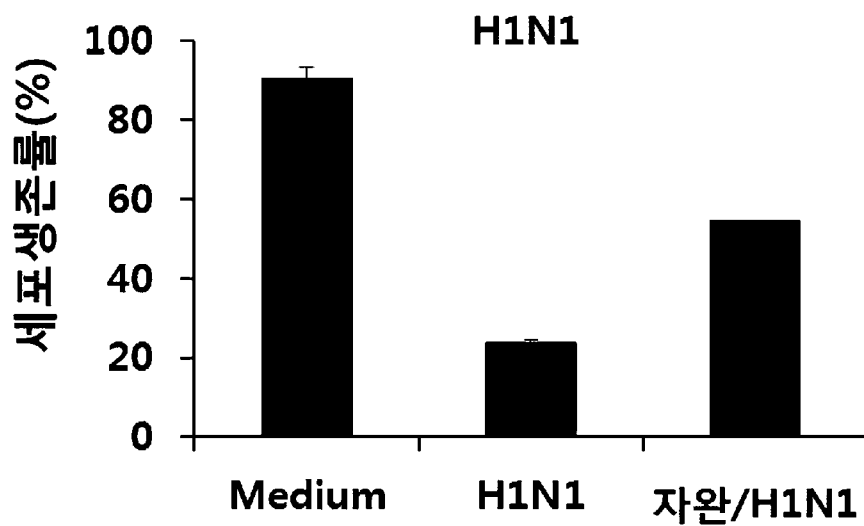
[도7]



[도8]



[도9]



[도10]

