



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0174162
(43) 공개일자 2024년12월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/73 (2006.01) A23K 10/30 (2016.01)

A23L 33/105 (2016.01) A61P 1/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/73 (2013.01)

A23K 10/30 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2023-0073183

(22) 출원일자 2023년06월07일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

엠테라파마 주식회사

서울특별시 강서구 마곡중앙8로1길 38, 1층 102호
(마곡동)

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)

(72) 발명자

손미원

경기도 용인시 수지구 동천로113번길 10, 1201동
1402호

최상진

경기도 수원시 영통구 청명북로 33, 438동 1304호
(영통동, 청명마을삼성아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

최은선

전체 청구항 수 : 총 22 항

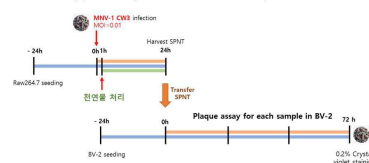
(54) 발명의 명칭 **숨양지꽃, 은양지꽃 또는 전호 추출물을 포함하는 노로바이러스 또는 알파허피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 숨양지꽃 및 은양지꽃로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 추출물을 포함하는 노로바이러스 감염 질환 개선, 예방, 또는 치료용 조성물 및 숨양지꽃, 은양지꽃 및 전호로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 추출물을 포함하는 알파허피스바이러스 감염 질환 개선, 예방, 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 조성물은 노로바이러스 또는 알파허피스바이러스의 활성을 억제시킴으로써, 바이러스 감염 질환 등의 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.

대표도

Antiviral assay protocol against MNV-1 with natural product



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A61P 1/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/32 (2013.01)

(72) 발명자

김신연

서울시 강서구 강서로 447, 202동 1103호

최진규

경기도 부천시 소삼로 47, 105동 1302호

김세웅

서울특별시 서초구 방배선행길 1, 106동 107호 (방배동, 방배우성아파트)

이진수

경기도 광명시 오리로 801, 204동 1501호

김선여

서울특별시 강남구 삼성로 51길 37, 110동 2202호

송문정

서울특별시 강남구 역삼로 307, 203동 2004호

박은영

서울특별시 강서구 우현로 67, 103동 701호

조재환

경기도 용인시 수지구 수풍로 13, 106-1406

박민선

경기도 남양주시 화도읍 수레로 1234-13, 202-1702

명세서

청구범위

청구항 1

숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는, 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 노로바이러스는 인체 노로바이러스(human norovirus)인 것을 특징으로 하는, 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 노로바이러스 감염 질환은 비세균성 위장염인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 은양지꽃 추출물은 헥산, 클로로포름, 부탄올, 에틸 아세테이트 및 물로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 용매로 분획되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 은양지꽃 추출물은 헥산 분획물 또는 클로로포름 분획물인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 6

숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는, 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 노로바이러스 감염 질환은 비세균성 위장염인 것을 특징으로 하는, 식품 조성물.

청구항 8

숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는, 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 동물용 사료 조성물

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 노로바이러스 감염 질환은 비세균성 위장염인 것을 특징으로 하는, 동물용 사료 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 추출물을 포함하거나, 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군으로부터 선택된 혼합물로부터 추출된 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 11

숨양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는, 알파헤르페스바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 알파헤르페스바이러스는 단순포진바이러스 (Herpes simplex virus-1; HSV-1) 또는 수두-대상포진바이러스 (Varicella-Zoster virus; VZV)인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 단순포진바이러스 감염 질환은 단순포진, 구순포진, 구내염, 수막염 및 뇌염 (encephalitis)으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 수두-대상포진바이러스 감염 질환은 수두-대상포진바이러스 대상포진 및 무발진 대상포진(Zoster Sine Herpete)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 은양지꽃 추출물은 헥산, 클로로포름, 부탄올, 에틸 아세테이트 및 물로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 용매로 분획되는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 16

제11항에 있어서, 상기 은양지꽃 추출물은 헥산 분획물 및 클로로포름 분획물인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 은양지꽃 추출물은 헥산 분획물인 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 18

숨양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는,

알파헤피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 알파헤피스바이러스는 단순포진바이러스 (Herpes simplex virus-1; HSV-1) 또는 수두-대상포진바이러스 (Varicella-Zoster virus; VZV)인 것을 특징으로 하는, 식품 조성물.

청구항 20

솜양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는, 알파헤피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 동물용 사료 조성물

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 알파헤피스바이러스는 단순포진바이러스 (Herpes simplex virus-1; HSV-1), 수두-대상포진바이러스 (Varicella-Zoster virus; VZV)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 사료 조성물.

청구항 22

제11항에 있어서, 솜양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 추출물을 포함하거나, 솜양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군으로부터 하나 이상 선택된 혼합물로부터 추출된 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 솜양지꽃, 은양지꽃 또는 전호 추출물을 포함하는 노로바이러스 또는 알파헤피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 구체적으로, 솜양지꽃, 은양지꽃 또는 전호 추출물, 또는 은양지꽃의 분획물은 노로바이러스 또는 알파헤피스바이러스에 대하여 우수한 항바이러스 효과를 갖는다.

배경 기술

[0003] 바이러스란 자가 복제가 불가능한 미생물을 의미하며, 현재 지구상에 수천 종의 바이러스가 존재한다. 이들 중 일부 바이러스들은 인간을 감염시키며, 이러한 바이러스성 감염은 현재 지구 온난화 및 세계화 등으로 세계적인 증가 추세에 있다.

[0004] 인체 노로바이러스는 양성단일가닥 RNA를 게놈으로 가지는 칼리시바이러스과(*Caliciviridae*)에 속하는 노로바이러스로, 전세계적으로 겨울철 장염의 주된 원인이 되는 비세균성 위장염(gastroenteritis) 원인 중 가장 높은 비율을 차지한다. 인체노로바이러스는 감염된 환자의 분변 또는 에어로졸화 된 구토물을 통해 환경에 유입되며, 바이러스로 오염된 음식이나 식수를 섭취함으로써 감염된다. 인체 노로바이러스의 방출은 설사와 같은 증상이 멈춘 이후에도 최대 8주까지 관찰된다는 보고가 있다. 또한 100개 미만의 바이러스 입자로도 감염이 가능하기 때문에 전염성이 매우 높으며, 적은 양의 바이러스 오염이 광범위한 집단 장염을 초래하는 등 국민 보건 증진을 위해 제어해야 하는 중요한 병원체에 해당한다. 특히 요양원 등 다수의 면역저하자들이 집단생활을 하는 시설에서는 전파가 용이하고 증상도 중증으로 악화될 수 있으므로 노로바이러스에 대한 예방 및 치료 관리가 시급하다.

[0005] 인체 노로바이러스 연구가 어려운 가장 큰 문제는 인체 노로바이러스(human noroviruses)를 감염하여 바이러스

를 생산할 수 있는 배양 시스템이 매우 비효율적이라는 점이다. 그 결과 감염성이 있는 인체 노로바이러스의 바이러스 유전자의 역할 및 생활사에 대한 연구는 매우 제한적일 수밖에 없다. 또한 바이러스 감염제어를 확인할 수 있는 바이러스 배양시스템의 부재는 항바이러스제 개발의 가장 중요한 제한단계로 작용하고 있다. 이러한 문제를 극복하기 위한 대체 바이러스(surrogate virus) 시스템으로서 마우스노로바이러스 (murine noroviruses, MNVs)가 활용되고 있다. 특히 마우스노로바이러스(MNV-1)는 마우스를 숙주로 감염시키는 노로바이러스로 발견된 이후, 노로바이러스 중에서는 유일하게 세포배양이 용이하며 인체 노로바이러스와 동일한 감염경로를 갖는다. 마우스노로바이러스의 발견 이전에는 칼리시바이러스과에 속하는 고양이 칼리시바이러스(Feline calicivirus 9, FCV-9)가 한때 인체 노로바이러스의 대체바이러스로 받아들여졌으나, 마우스노로바이러스 발견 이후에는 전파경로와 병원성 특징이 상이하여 사용되지 않고 있다. 인체 노로바이러스와 마우스노로바이러스는 위장관 감염을 통해 분변으로 전파되는 반면, 고양이 칼리시바이러스는 호흡기감염을 통해 전파되는 바이러스로 상이한 성질을 다수 가지고 있어 마우스노로바이러스가 보다 적절한 대체 바이러스 시스템으로 받아들여지고 있다.

[0006] 현재 전세계적으로 인체 노로바이러스에 대한 특이적 백신 또는 항바이러스제가 허가받은 경우는 전무한 상황이나, 고령화로 인해 요양원 등 집단생활시설이 늘어나는 등 노로바이러스 감염 치료에 대한 미충족 의료수요는 점점 증가하고 있다.

[0007] 인체 감염 허피스바이러스 대부분은 국내 70-90% 이상의 높은 감염률을 나타내며, 한 번 감염되면 인체에서 잠복감염을 형성하고, 숙주에서 잠복감염과 재활성을 반복하여 평생동안 감염성을 유지하는 만성바이러스로서, 면역기능 저하에 따른 재활성이나 선천감염을 통해 다양한 질병을 유발하고 환자의 면역상태에 따라 치명적인 감염 예후를 나타내는 대표적인 기회감염 병원체(opportunistic infection pathogens)이다. 장기이식(organ transplant) 및 조혈모세포 이식(Hematopoietic Stem Cell Transplant)의 증가, 인체면역결핍바이러스 (HIV-1) 감염 등, 면역 저하에 따른 재활성 허피스바이러스 감염 제어가 중요한 이슈가 되고 있으며, 허피스바이러스의 지속감염으로 인한 노년층 인구의 면역 저하는 최고속으로 고령화 사회에 진입하고 있는 국가에서 중요한 보건 사회경제적 부담으로 작용하고 있다.

[0008] 인체 감염 허피스바이러스 1형인 단순포진바이러스(Herpes simplex virus-1; HSV-1)는 신경계에서 잠복감염을 형성하는 알파허피스바이러스로 숙주에서 평생 감염을 지속하면서 면역 저하 등에 의해 재활성되어 증식함으로써 피부와 입, 입술, 눈 또는 성기 주변 등에서 나타나는 포진으로 인한 단순포진, 구순포진, 구내염, 단순포진 각막염과 더불어 수막염, 뇌염을 유발할 수 있으며, 신생아에서는 치명적인 뇌염(encephalitis)을 유발할 수 있다.

[0009] 인체 감염 허피스바이러스 3형인 수두-대상포진바이러스(Varicella-Zoster virus; VZV)는 초기감염에서 전염성이 매우 높은 수두(Varicella)를 일으키는 원인성 감염체로 잘 알려져 있으며, VZV는 초기 감염 이후, 감각신경계 (dorsal root ganglia, DRG)에서 잠복감염을 형성하다가 면역 저하 등에 의한 재활성으로 극심한 통증을 유발하는 대상포진을 일으킨다. VZV의 재활성은 흉부, 시신경절, 안면신경 부위 등에 발생하는 대상포진을 유발하며, 또한 피부 포진이 없이도 피부 이상 감각이나 방사통이 발생하는 무발진 대상포진(Zoster Sine Herpete)이 발생할 수 있다. 일부 환자에서는 대상포진이 치료된 후에도 통증이 지속되는 '대상포진 후 신경통(postherpetic neuralgia, PHN)'을 유발할 수 있다. 재활성화 된 VZV에 의한 대상포진 후 발병하는 합병증 중 가장 흔한 합병증인 '대상포진 후 신경통(PHN)'은 환자마다 다양한 정도의 통증을 느끼며, 보통 발진 후 적어도 4 개월 이상 통증이 지속되는 경우 대상포진 후 신경통으로 분류하는데, 이러한 만성적인 통증은 환자에게 육체적인 고통은 물론 심리적으로 불안, 우울, 불면증을 야기하여 환자의 삶의 질에 상당히 큰 악영향을 끼치기 때문에 VZV의 재활성 및 감염의 신속 제어가 매우 중요하다.

[0010] 기존에 사용되는 항허피스바이러스제들의 경우 잠복감염까지 제어할 수 있는 근원적인 치료법은 전무하고, 대부분 바이러스 DNA 중합효소(DNA pol)을 타겟으로 개발된 뉴클레오시드 유사체이다. 이들 약물은 고령의 노인뿐 아니라 장기이식 및 조혈모세포이식, HIV 감염으로 인한 면역결핍환자의 경우 약물의 독성이 심하게 나타나고, 더 중요하게는 이들 환자에서 약물내성의 돌연변이 출현이 증가하고 있어 신규 감염 제어물질의 발굴이 시급하다.

[0011] 본 발명자들은 천연물이 바이러스 활성화에 미치는 영향을 연구하여, 노로바이러스 및 알파허피스바이러스의 감염을 효과적으로 억제할 수 있는 천연물 추출물들을 발굴함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0013] 본 발명은 노로바이러스 감염에 의한 질환을 예방 또는 치료할 수 있는, 숨양지꽃 또는 은양지꽃 추출물을 유효 성분으로 하는 항바이러스 활성을 갖는 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0014] 또한 본 발명은 숨양지꽃 또는 은양지꽃 추출물을 포함하는 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0015] 또한, 본 발명은 숨양지꽃 또는 은양지꽃 추출물을 포함하는 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 동물용 사료 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0016] 본 발명은 알파허피스바이러스 감염에 의한 질환을 예방 또는 치료할 수 있는, 숨양지꽃, 은양지꽃 또는 전호 추출물을 유효성분으로 하는 항바이러스 활성을 갖는 약학 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0017] 또한 본 발명은 숨양지꽃, 은양지꽃 또는 전호 추출물을 포함하는 알파허피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0018] 또한, 본 발명은 숨양지꽃, 은양지꽃 또는 전호 추출물을 포함하는 알파허피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 동물용 사료 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0020] 본 발명은 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0021] 일 실시태양에서, 상기 약학 조성물은 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 추출물을 포함하거나, 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군으로부터 선택된 혼합물로부터 추출된 추출물을 포함할 수 있다.
- [0022] 일 실시태양에서, 상기 노로바이러스는 인체 노로바이러스일 수 있다.
- [0023] 일 실시태양에서, 상기 노로바이러스 감염 질환은 비세균성 위장염일 수 있다.
- [0024] 일 실시태양에서, 상기 은양지꽃 추출물은 핵산, 클로로포름, 부탄올, 에틸 아세테이트 및 물로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 용매로 분획될 수 있다.
- [0025] 일 실시태양에서, 상기 은양지꽃 추출물은 핵산 분획물 또는 클로로포름 분획물일 수 있다.
- [0026] 본 발명은 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0027] 일 실시태양에서, 상기 노로바이러스 감염 질환은 비세균성 위장염일 수 있다.
- [0028] 본 발명은 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는 노로바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 동물용 사료 조성물을 제공한다.
- [0029] 일 실시태양에서, 상기 노로바이러스 감염 질환은 비세균성 위장염일 수 있다.
- [0030] 본 발명은 숨양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는 알파허피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.
- [0031] 일 실시태양에서, 상기 약학 조성물은 숨양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 추출물을 포함하거나, 숨양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군으로부터 선택된 혼합물로부터 추출된 추출물을 포함할 수 있다.
- [0032] 일 실시태양에서, 상기 알파허피스바이러스는 단순포진바이러스 또는 수두-대상포진바이러스일 수 있다.
- [0033] 일 실시태양에서, 상기 단순포진바이러스 감염 질환은 단순포진, 구순포진, 구내염, 수막염 및 뇌염(encephalitis)으로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 질환일 수 있다.
- [0034] 일 실시태양에서, 상기 수두-대상포진바이러스 감염 질환은 수두-대상포진바이러스 대상포진 및 무발진 대상포

진(Zoster Sine Herpete)로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 질환일 수 있다.

- [0035] 일 실시태양에서, 상기 은양지꽃 추출물은 헥산, 클로로포름, 부탄올, 에틸 아세테이트 및 물로 이루어진 군에서 하나 이상 선택된 용매로 분획될 수 있다.
- [0036] 일 실시태양에서, 상기 은양지꽃 추출물은 헥산 분획물 또는 클로로포름 분획물일 수 있으며, 바람직하게는 헥산 분획물일 수 있다.
- [0037] 본 발명은 솜양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는 알파헤피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0038] 일 실시태양에서, 상기 알파헤피스바이러스는 단순포진바이러스 또는 수두-대상포진바이러스일 수 있다.
- [0039] 본 발명은 솜양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 추출물을 유효성분으로 포함하는 알파헤피스바이러스 감염 질환의 예방 또는 개선용 동물용 사료 조성물을 제공한다.
- [0040] 일 실시태양에서, 상기 알파헤피스바이러스는 단순포진바이러스 또는 수두-대상포진바이러스일 수 있다.

발명의 효과

- [0042] 본 발명의 솜양지꽃 및 은양지꽃 추출물은 노로바이러스의 증식 억제를 유도하는 우수한 효과를 갖는다. 따라서, 본 발명의 솜양지꽃 및 은양지꽃 추출물은 노로바이러스의 감염 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.
- [0043] 또한, 본 발명의 솜양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물은 알파헤피스바이러스의 증식 억제를 유도하는 우수한 효과를 갖는다. 따라서, 본 발명의 조성물은 알파헤피스바이러스의 감염 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0045] 도 1은 노로바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 과정을 나타낸 모식도이다.
- 도 2는 솜양지꽃 및 은양지꽃 추출물의 노로바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 3은 솜양지꽃 추출물 및 분획물 5종의 노로바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 4는 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 과정을 나타낸 모식도이다.
- 도 5는 솜양지꽃 및 은양지꽃 추출물의 HSV-1 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 6은 솜양지꽃 및 은양지꽃 추출물의 HSV-1 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가에서 플라크 크기 변화를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 7은 전호 추출물의 HSV-1 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 8은 솜양지꽃 추출물 및 분획물 5종의 HSV-1 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 9는 솜양지꽃, 은양지꽃 및 전호 추출물의 VZV 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 10은 솜양지꽃 및 은양지꽃 추출물의 VZV 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가에서 플라크 크기 변화를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 11은 솜양지꽃 추출물 및 분획물 5종의 VZV 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸

사진 및 그래프이다.

도 12는 솜양지꽃 분획물 2종의 VZV 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가 결과를 나타낸 사진 및 그래프이다.

도 13은 솜양지꽃 핵산 분획물의 VZV 알파헤피스바이러스에 대한 항바이러스 효능 평가에서 플라크 크기 변화를 나타낸 사진 및 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0046] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 실시태양 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시태양 및 실시예에 한정되지 않는다.
- [0047] 본 발명의 솜양지꽃은 *Potentilla discolor Bunge*으로 장미과 양지꽃속에 속하며, 한국, 대만, 러시아, 일본, 중국 등지에서 넓은 분포를 나타내는 식물을 의미한다.
- [0048] 본 발명의 은양지꽃은 *Potentilla nivea L.*으로 장미과 양지꽃속에 속하며, 한반도 북부지방 및 러시아, 일본, 중국, 유럽, 북미 등에 분포하는 식물을 의미한다.
- [0049] 본 발명의 전호는 *Anthriscus sylvestris*으로 미나리과 전호속에 속하며, 유럽, 아시아, 아프리카 등에 분포하는 식물을 의미한다.
- [0050] 상기 솜양지꽃, 은양지꽃, 및 전호 추출물은 줄기, 열매, 뿌리, 또는 잎의 추출물일 수 있으나, 이에 제한되지 않으며, 바람직하게는 솜양지꽃 전초, 은양지꽃 전초, 전호 잎, 줄기 및 꽃일 수 있다.
- [0051] 본 발명에 사용된 용어 "추출물"은 당업계에서 조추출물(crude extract)로 통용되는 것을 의미하지만, 광의적으로 추출물을 추가적으로 분획(fractionation)한 분획물도 포함한다. 즉 추출물은 상술한 용매를 이용하여 얻은 것뿐만 아니라, 여기에 정제 과정을 추가적으로 적용하여 얻은 것을 포함한다. 예컨대, 상기 추출물을 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외여과막을 통과시켜 얻은 분획, 다양한 크로마토그래프(크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등, 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 분획도 본 발명의 추출물에 포함된다.
- [0052] 발명에 사용되는 추출물은 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출, 초음파 추출 또는 당업계에 알려진 통상적인 추출방법을 통해 추출한 것일 수 있다.
- [0053] 본 발명에 사용되는 추출물은 당업계에서 공지된 통상적인 추출용매를 사용하여 얻을 수 있다. 추출용매로는 극성 용매 또는 비극성 용매를 이용할 수 있다. 극성 용매로는 물, C1 내지 C6의 알코올(예: 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 노말-프로판올, 이소-프로판올 및 노말-부탄올 등), 아세트산, 또는 상기 극성 용매들의 혼합물을 포함한다. 비극성 용매로는 아세톤, 아세토나이트릴, 에틸아세테이트, 메틸아세테이트, 부틸아세테이트, 플루오로알칸, 헥산, 에테르, 클로로포름, 디클로로메탄 또는 상기 비극성 용매들의 혼합물을 포함한다. 바람직하게, 추출 용매는 에탄올(바람직하게, 0.01 내지 90% 에탄올), 메탄올(바람직하게, 0.01 내지 90% 메탄올), 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물일 수 있다.
- [0054] 본 발명에 사용된 용어 "노로바이러스"는 양성단일가닥 RNA를 게놈으로 가지는 칼리시바이러스과(*Caliciviridae*), 노로바이러스속(*Norovirus*)에 속하는 바이러스를 의미한다.
- [0055] 본 발명에 사용된 용어 "알파헤피스바이러스"는 헤피스바이러스과(*Herpesviridae*) 또는 알파헤피스바이러스아과(*Alphaherpesvirinae*)에 속하는 바이러스를 의미한다.
- [0056] 본 발명에 사용된 용어 "수두-대상포진바이러스"는 알파헤피스바이러스아과(*Alphaherpesvirinae*), 바이셀라바이러스속(*Varicellovirus*)에 속하는 *Varicella-zoster virus*를 의미하며, "VZV" 또는 "Human herpesvirus 3"으로 지칭되기도 한다.
- [0057] 본 발명에 사용된 용어 "단순포진바이러스"는 알파헤피스바이러스아과(*Alphaherpesvirinae*), 단순바이러스속(*Simplexvirus*)에 속하는 Herpes simplex virus-1를 의미하며, "HSV-1"으로 지칭되기도 한다.
- [0058] 본 발명의 식품 조성물은 건강기능식품, 유제품, 발효제품 또는 식품 첨가물일 수 있다.
- [0059] 상기 건강기능식품은 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며,

"기능성"은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.

- [0060] 본 발명의 동물용 사료 조성물은, 모든 비-인간 동물, 예를들어 비-인간 영장류, 양, 개, 소, 말 등에게 섭취시킬 수 있다.
- [0061] 본 발명에 사용된 용어 "예방"은 조성물의 투여에 의해 질환의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 조성물의 투여에 의해 질환의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0062] 본 발명에 사용된 용어 "개선"은 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물의 투여로 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0063] 본원 명세서 전체에서 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0064] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 하나, 하기의 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것이며 본원 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다.

[0066] [제조예 1]

[0067] **솜양지꽃, 은양지꽃 및 전초 추출물의 제조**

- [0069] 솜양지꽃 전초(B), 은양지꽃 전초(F), 전초 잎, 줄기 및 꽃(G) 3종 천연물 추출물을 한국식물추출물은행 (한국생명공학연구원 오창분원)으로부터 분양받아 100% DMSO를 용매로 용해시켜 추출물을 제조하였다.

[0071] [제조예 2]

[0072] **솜양지꽃 전초 분획물의 제조**

- [0074] 솜양지꽃 전초에 10배수의 99.5% 메틸알콜을 넣은 후, 450분간 sonication 한 뒤 72시간 침지추출하였다. 상기 추출물을 여과한 다음 50℃에서 감압농축하여 솜양지꽃 전초 추출물을 제조하였다. 이후 상기 방법으로 제조된 전초 추출물을 10배수의 증류수에 녹였다. 해당 용액에 동일한 부피의 헥산을 넣어 액체-액체 추출법으로 3회 추출한 뒤 50℃에서 감압농축하여 솜양지꽃 전초 헥산(Hexane) 분획물을 제조하였다. 여액에 동일한 부피의 클로로포름(Chloroform)을 넣어 액체-액체 추출법으로 3회 추출한 뒤 50℃에서 감압농축하여 솜양지꽃 전초 클로로포름 분획물을 제조하였다. 여액에 동일한 부피의 에틸아세테이트(Ethyl Acetate)를 넣어 액체-액체 추출법으로 3회 추출한 뒤 50℃에서 감압농축하여 솜양지꽃 전초 에틸아세테이트 분획물을 제조하였다. 여액에 동일한 부피의 수포화 부탄올(Butanol)을 넣어 액체-액체 추출법으로 3회 추출한 뒤 50℃에서 감압농축하여 솜양지꽃 전초 부탄올 분획물을 제조하였다. 여액을 50℃에서 감압농축하여 솜양지꽃 전초 물 분획물을 제조하였다.

[0076] [실시예 1]

[0077] **노로바이러스에 대한 솜양지꽃 및 은양지꽃 전초 추출물 및 솜양지꽃 분획물의 항바이러스 효능 평가**

- [0079] 마우스노로바이러스인 murine norovirus 1(MNV-1, CW3 strain)을 대상으로 솜양지꽃(B) 및 은양지꽃(F) 및 솜양지꽃의 5종의 분획물에 대한 항바이러스 효능 평가를 수행하였다.
- [0080] 도 1에 나타난 바와 같이, 마우스대식세포주(murine macrophage)인 Raw264.7 세포주를 감염 하루 전 6 well plate에 3×10^5 cells/well로 분주하였고, 다음 날 MNV-1을 MOI (Multiplicity of infection) 0.01로 감염시킨 후 천연물 솜양지꽃(B) 및 은양지꽃(F) 추출물을 50 ug/ml로 처리하였다. 감염 24시간일 때 상등액을 수거하여 10배 계대희석시킨 희석액을 마우스 미세아교세포주(Murine microglial cell)인 BV-2에 감염시키고 3일간 배양

함으로써 plaque assay로 바이러스 역가를 측정하였다.

[0081] 솜양지꽃 5종의 분획물의 시료 농도 및 처리농도는 하기 표 1과 같다.

표 1

시료	시료 농도(mg/ml)	처리 농도(μ g/ml)
헥산 분획물	7.97	7.97
클로로포름 분획물	11.87	11.87
에틸아세테이트 분획물	1.92	1.92
부탄올 분획물	3.7	3.7
물 분획물	24.6	24.6

[0082]

[0083] 솜양지꽃 추출물(B)의 분획물 5종에 대해서도 동일한 방식으로 항바이러스 효능을 평가하였다.

[0084] 솜양지꽃(B)과 은양지꽃(F) 추출물에 대한 실험결과를 도 2에 나타내었고, 도 2에 나타난 바와 같이 솜양지꽃(B)과 은양지꽃(F) 처리시 노로바이러스 증식이 현저히 저해되었다. 특히 은양지꽃(F) 추출물 처리시에 100% 저해효능을 나타내어 매우 우수한 항바이러스 효능을 확인하였다.

[0085] 솜양지꽃(B) 추출물의 5종의 분획물에 대한 실험결과를 도 3에 나타내었고, 도 3에 나타난 바와 같이 솜양지꽃(B)의 헥산 분획물 및 클로로포름 분획물을 처리한 실험군에서 플라크 형성이 현저히 저해되어 우수한 항바이러스 효능을 갖는 것을 확인하였다.

[0086] 따라서, 솜양지꽃(B) 및 은양지꽃(F) 전초 추출물, 및 솜양지꽃(B)의 헥산 분획물 및 클로로포름 분획물은 우수한 항바이러스 효능을 갖고, MNV-1 증식을 저해하는 강력한 항바이러스 물질을 포함하는 것을 알 수 있다.

[실시예 2]

[0089] 알파헤르피스바이러스에 대한 솜양지꽃 전초 추출물, 은양지꽃 전초 추출물, 솜양지꽃 분획물 및 전초 추출물의 항바이러스 효능 평가

[0091] 신경계감염 알파헤르피스바이러스인 HSV-1과 VZV에 대한 항바이러스 효능을 평가하기 위해 plaque reduction assay를 수행하였다.

[0092] 도 4에 나타난 바와 같이, 감염 하루 전에 Vero 세포나 Mewo 세포를 12웰 플레이트에 분주하고, 실험 당일 각 웰 당 >100 PFU의 바이러스를 1시간 동안 감염시킨 후, 추출물 또는 분획물과 혼합한 overlay media를 각 웰에 채우고 HSV-1을 3일간 배양한 후 형성되는 플라크(plaque)의 숫자를 계수하였다.

[0093] VZV를 MeWo 세포에서 2시간 동안 감염시키고, 추출물 또는 분획물을 처리한 후 4-6일간 배양한 후 플라크의 숫자를 계수하였다. Vehicle 처리 샘플에서의 플라크 숫자를 기준으로 추출물 또는 분획물처리 샘플의 상대적인 바이러스 플라크 형성 비율(%)을 분석하였다.

[0095] 2-1 HSV-1 항바이러스 효능 평가 결과

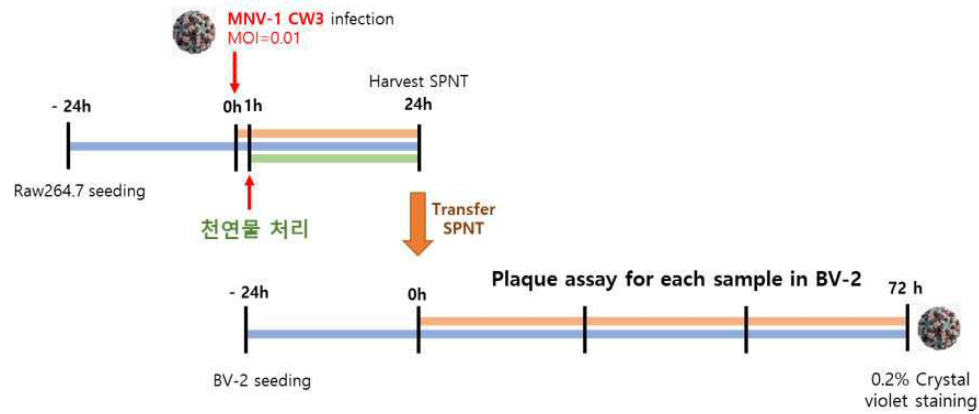
[0096] HSV-1에 대한 항바이러스 효능평가를 위해 gold standard assay에 해당하는 plaque reduction assay를 수행하였다. African Green Monkey kidney 유래 세포주인 Vero 세포에 각 well 당 >100 PFU의 HSV-1을 1시간 동안 감염시킨 후, 추출물을 10, 25, 50 μ g/ml 처리한 overlay media를 처리하여 3일간 배양하여 그 결과를 도 5에 나타내었다.

- [0097] 도 5에 나타난 바와 같이, 양성대조군으로서 사용한 뉴클레오사이드 유사체인 Gancyclovir (GCV)는 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 처리하였고, 플라크의 형성이 저해되는 것을 확인하였다. 또한, 숨양지꽃(B)와 은양지꽃(F) 추출물을 10, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 처리했을 때, 고농도에서 매우 높은 항바이러스 효능을 나타내었다.
- [0098] Plaque reduction assay에서는 플라크 형성 숫자와 더불어 플라크의 사이즈도 항바이러스 효능의 지표가 된다. 숨양지꽃(B)와 은양지꽃(F) 추출물을 처리했을 때, 도 6에 나타난 바와 같이 플라크의 크기가 10 및 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다.
- [0099] 또한, 전호(G) 추출물에 대한 plaque reduction assay를 수행하여 그 결과를 도 7에 나타내었다. 도 7에 나타난 바와 같이, 전호(G) 추출물을 10, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 처리했을 때 모든 농도에서 플라크가 형성되지 않아 매우 뛰어난 항바이러스 효능이 나타내었다. 또한, 농도를 더욱 낮추어 2와 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 처리했을 때도 플라크의 형성이 완전히 저해되는 것을 확인하였다.
- [0100] 결국, 숨양지꽃(B), 은양지꽃(F) 및 전호(G)의 추출물은 HSV-1에 대한 뛰어난 항바이러스 효능을 갖는 것을 알 수 있다.
- [0101] 추가로, 숨양지꽃(B)의 분획물 5종에 대해 항바이러스 효능을 상기 표 1에 나타난 농도로 plaque reduction assay를 수행하여 그 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8에 나타난 바와 같이, 숨양지꽃(B)의 헥산 분획물과 클로로포름 분획물이 HSV-1에 대한 우수한 항바이러스 효능을 나타내는 것을 확인하였다.
- [0103] **2-2 VZV 항바이러스 효능 평가 결과**
- [0104] Human malignant melanoma 유래 세포주인 MeWo 세포에 >100 PFU의 VZV를 2시간 동안 감염시킨 후, 추출물을 10, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리한 media를 4-6일간 배양하였다.
- [0105] 도 9에 나타난 바와 같이, 숨양지꽃(B)과 은양지꽃(F) 추출물을 처리했을 때 농도 의존적으로 VZV 플라크 수가 감소하였다.
- [0106] 또한 도 10에 나타난 바와 같이, 숨양지꽃(B)과 은양지꽃(F) 추출물을 처리했을 때 VZV 플라크의 크기도 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다.
- [0107] VZV 감염에 대해 농도 의존적 억제 효능을 나타낸 숨양지꽃(B)의 분획물 5종을 대상으로 상기 표 1에 나타난 농도로 plaque reduction assay를 수행하여 그 결과를 도 11 내지 도 13에 나타내었다. 도 11에 나타난 바와 같이, 숨양지꽃(B) 추출물에 대한 5종의 분획물(헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물 분획물) 중 부탄올, 에틸 아세테이트 및 물 분획물은 항바이러스 효능을 나타내지 않는 것을 확인하였다.
- [0108] 또한, 도 12 및 도 13에 나타난 바와 같이, 헥산 분획물(1.59, 3.99, 7.97 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 클로로포름 분획물(2.37, 5.94, 11.87 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에 대하여 농도 의존적 항바이러스 효능 시험시, 헥산 분획물은 농도 의존적으로 VZV 플라크 형성이 감소하고 플라크의 사이즈가 감소하여 항바이러스 효능을 갖는 것을 확인하였다.
- [0109] 따라서, 숨양지꽃 및 은양지꽃 추출물은 신경계감염 알파헤르페스바이러스 중 수두-대상포진바이러스(VZV)의 감염을 효과적으로 억제하는 항바이러스 효능을 가지고, 특히 숨양지꽃의 헥산 분획물은 농도 의존적 항바이러스 효능을 갖는 것을 알 수 있다.

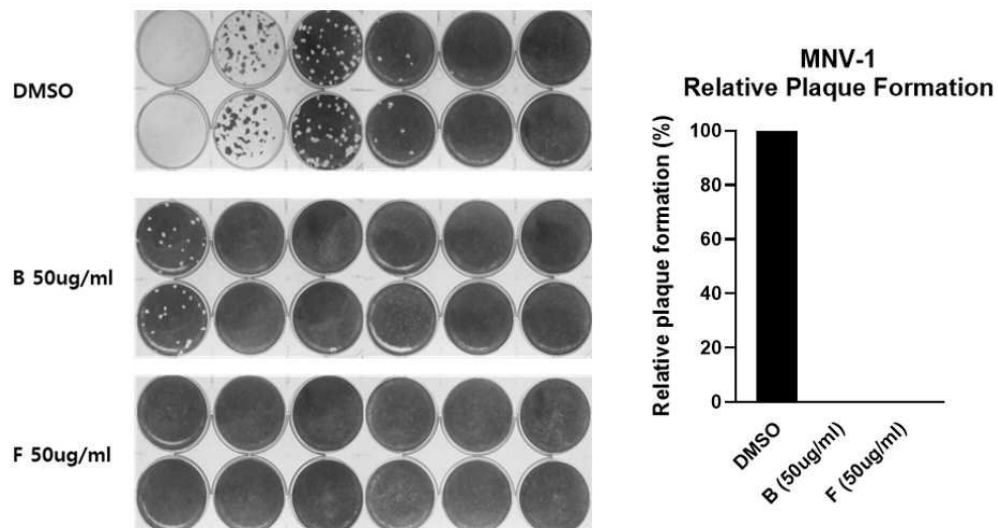
도면

도면1

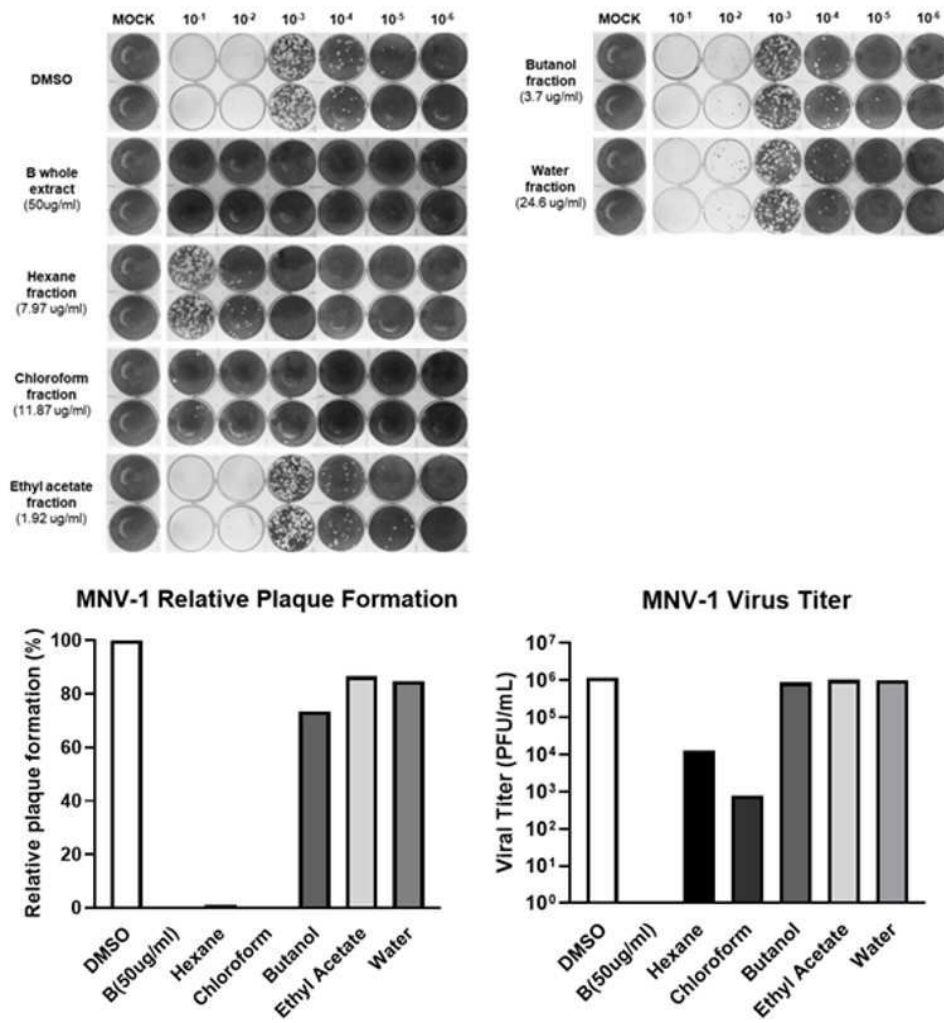
Antiviral assay protocol against MNV-1 with natural product



도면2

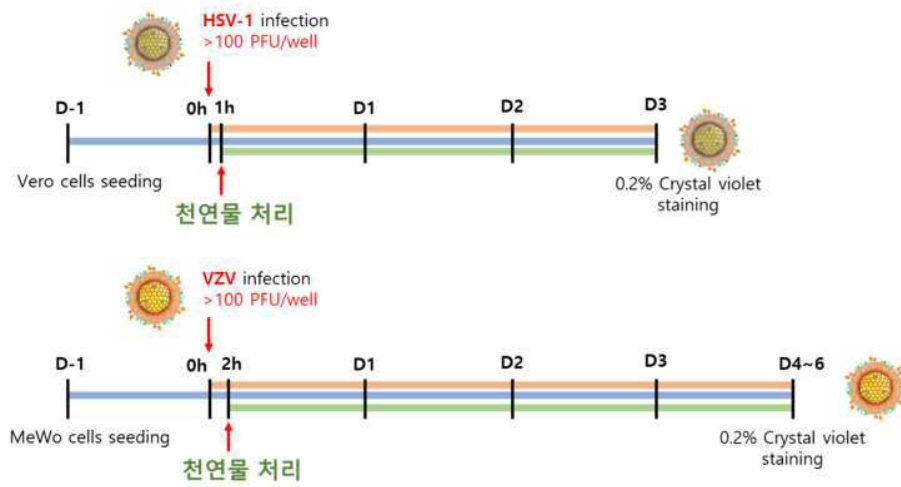


도면3

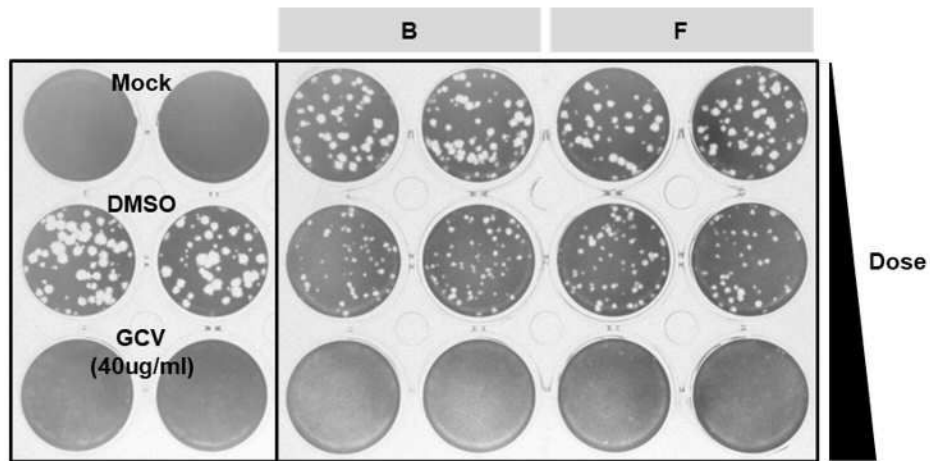


도면4

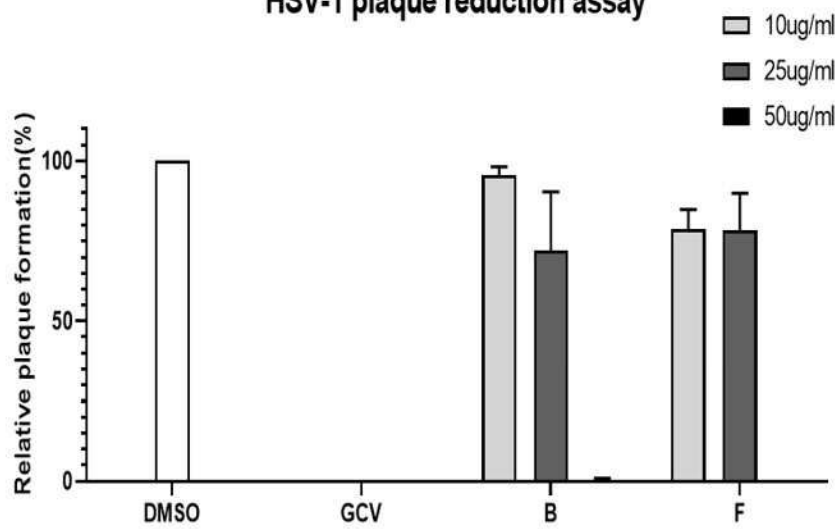
Plaque reduction assay protocol against HSV-1 & VZV



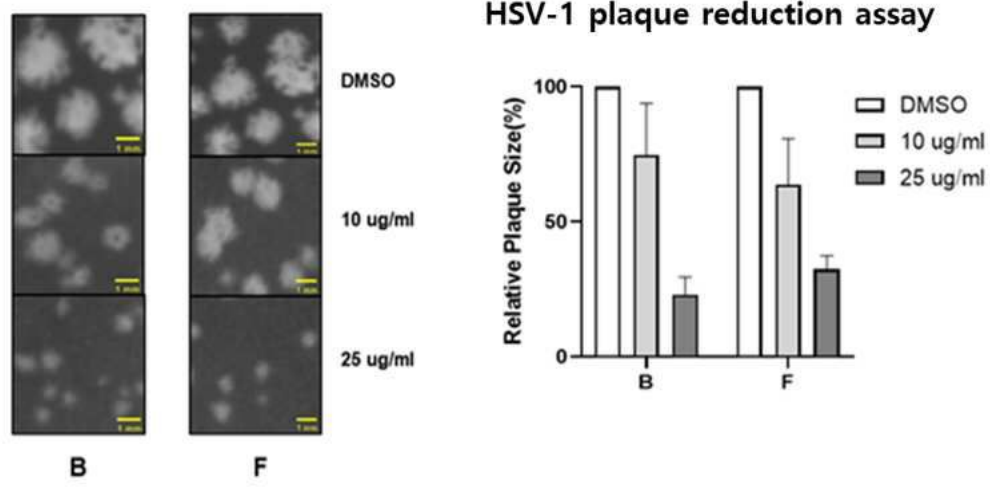
도면5



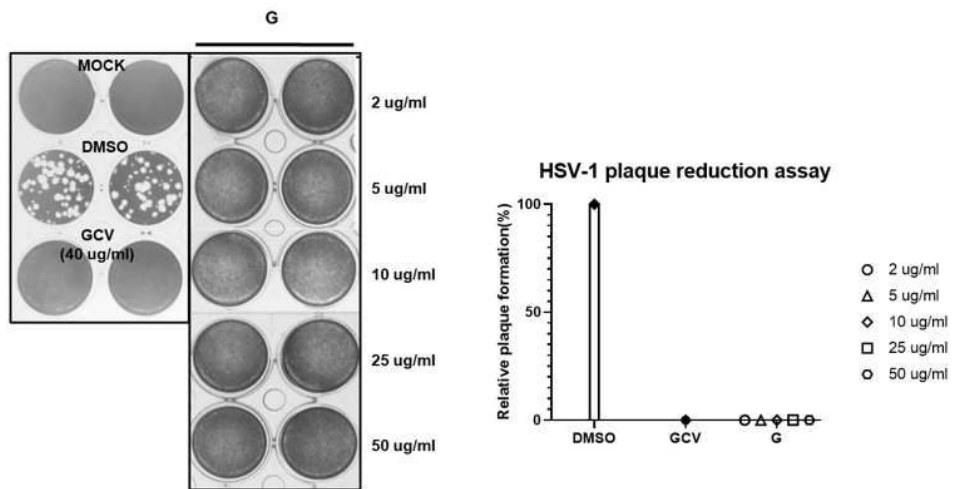
HSV-1 plaque reduction assay



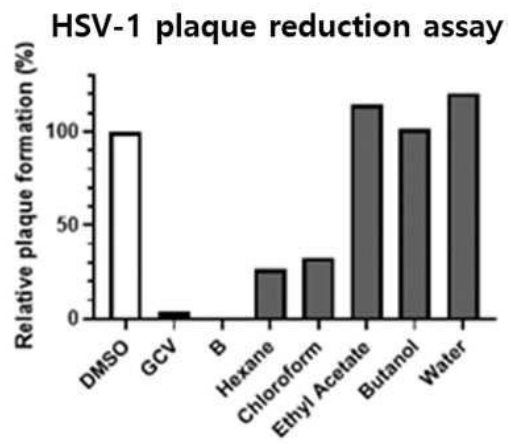
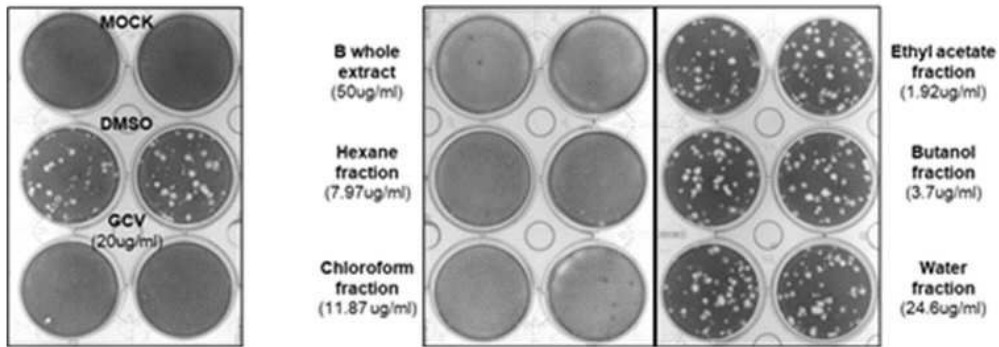
도면6



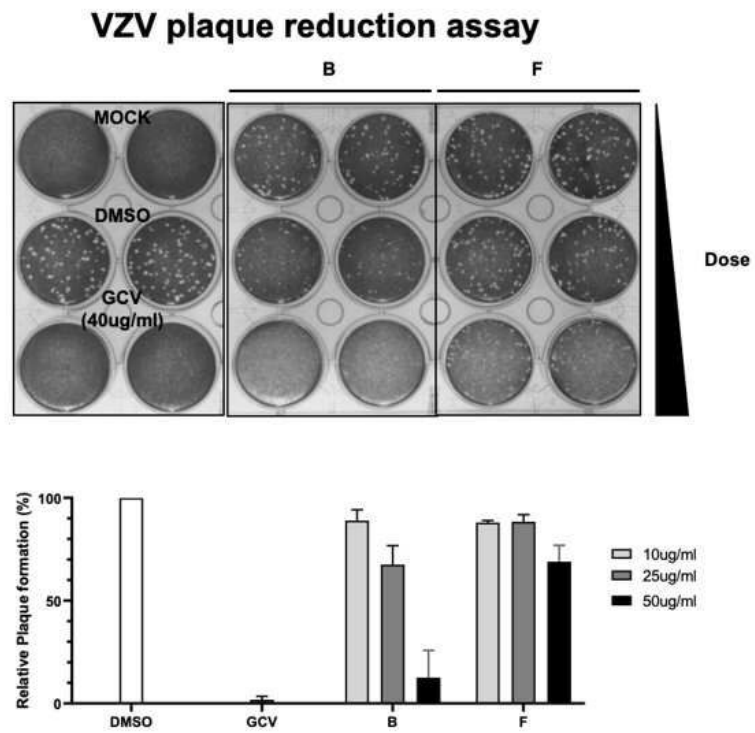
도면7



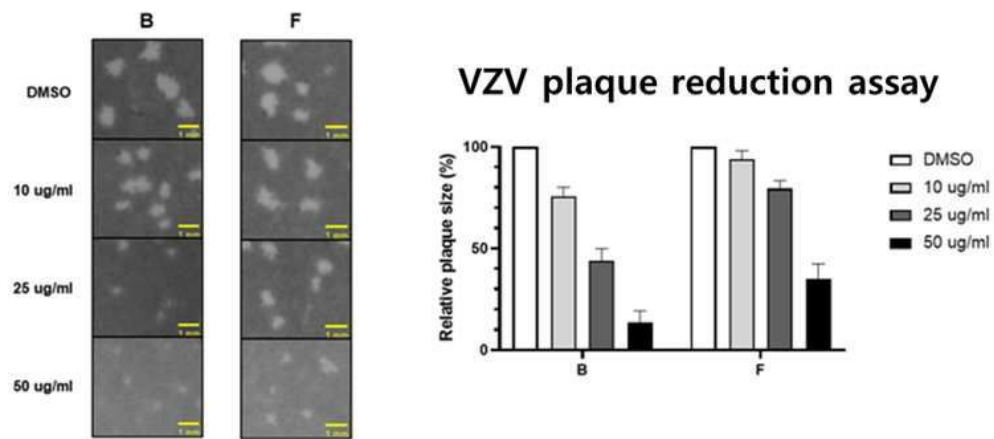
도면8



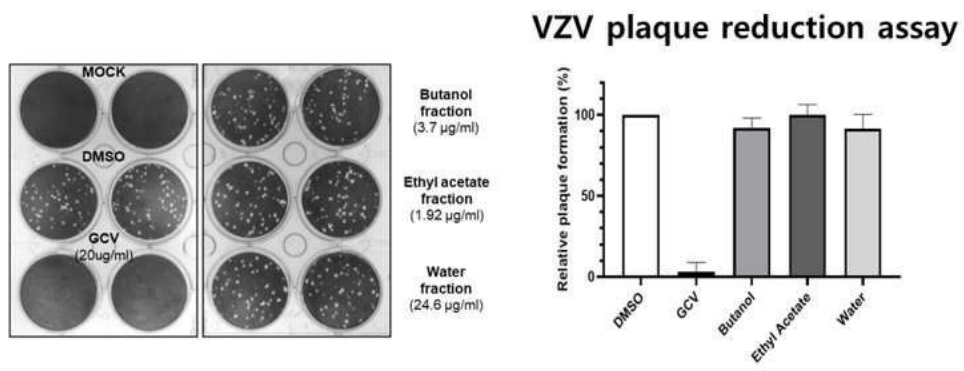
도면9



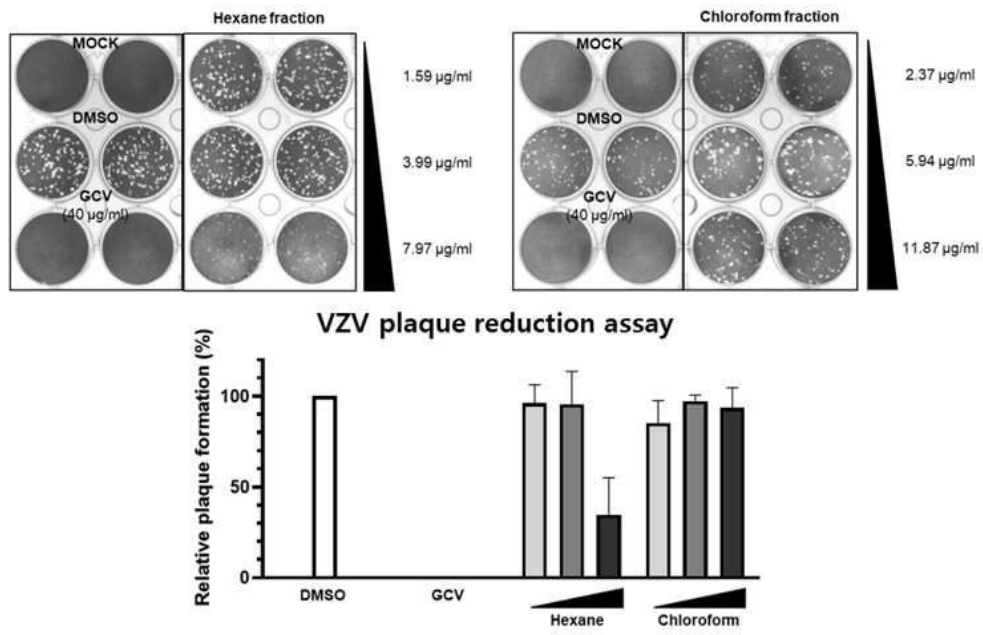
도면10



도면11



도면12



도면13

VZV plaque reduction assay

