



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0089631  
(43) 공개일자 2023년06월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/32 (2015.01) A23L 33/10 (2022.01)  
A23L 33/105 (2016.01) A61K 35/748 (2015.01)  
A61K 36/232 (2006.01) A61K 36/40 (2006.01)  
A61K 36/835 (2006.01) A61P 37/04 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 35/32 (2013.01)  
A23L 33/10 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2021-0178117

(22) 출원일자 2021년12월13일

심사청구일자 2021년12월13일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

(72) 발명자

강종성

대전광역시 유성구 어은로 57, 118-81(어은동, 한빛아파트)

김영호

대전광역시 유성구 봉명로 48, 801-302(원신흥동, 인스빌리베라)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 공간

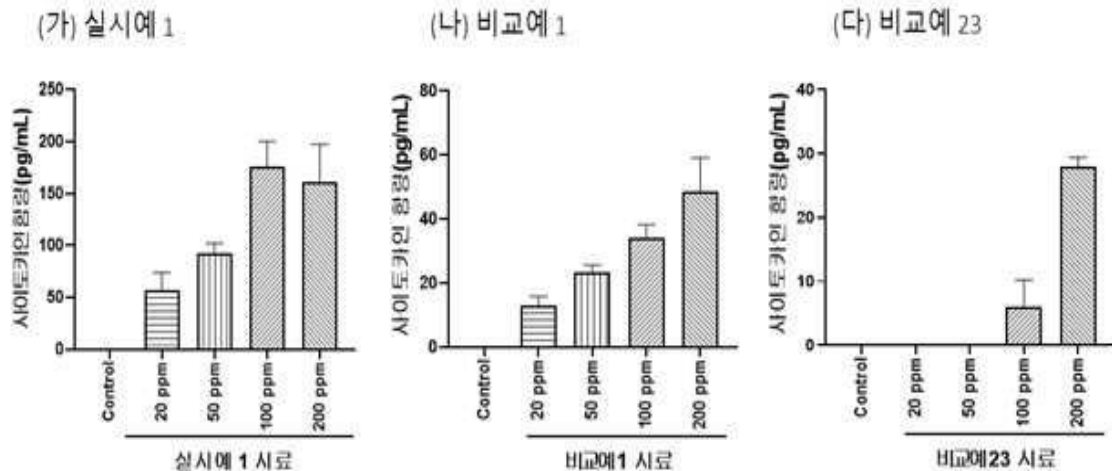
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 면역기능이 향상된 혼합 한약재 조성물

(57) 요약

본 발명은 면역기능 활성을 갖는 한약재를 포함하는 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나로 구성된 혼합 한약재 조성물로서, 인체의 면역기능을 활성 등을 통한 코로나바이러스(COVID-19), 암 등에 대한 보조적인 예방 및 치료 등에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

**A23L 33/105** (2016.08)  
**A61K 35/748** (2013.01)  
**A61K 36/232** (2013.01)  
**A61K 36/40** (2013.01)  
**A61K 36/835** (2013.01)  
**A61P 37/04** (2018.01)  
**A23V 2002/00** (2013.01)  
**A23V 2250/204** (2013.01)  
**A61K 2300/00** (2023.05)

(72) 발명자

**조정원**

세종특별자치시 시청대로 236, 316-1101(소담동,  
 새샘마을3단지)

**이영숙**

대전광역시 유성구 노은서로172번길 15(지족동)

**황인규**

대전광역시 유성구 엑스포로151번길 19, 하우스디  
 어반 C-512 (도룡동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                           |
|-------------|-------------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1345332570                                |
| 과제번호        | 2021BG015010118                           |
| 부처명         | 교육부                                       |
| 과제관리(전문)기관명 | 충남대학교 산학협력단                               |
| 연구사업명       | LINC+산학공동기술개발과제                           |
| 연구과제명       | 코로나바이러스 감염 예방 및 치료를 위한 면역증강 가미공진단의 신제형 개발 |
| 기 여 율       | 1/1                                       |
| 과제수행기관명     | 충남대학교                                     |
| 연구기간        | 2021.05.14 ~ 2021.12.14                   |

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나를 포함하는 것을 특징으로 하는 면역 활성을 증가시키는 면역증강용 약학조성물.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 면역증강용 약학조성물의 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나 혼합비율은 의 1~3 : 1 : 1~3 : 1~3 : 1~3 중량비율인 것을 특징으로 하는 면역증강용 약학조성물.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 면역증강용 약학조성물은 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나의 혼합물의 물, 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올), 5~95 % 저급알코올(메탄올, 약학조성물.

#### 청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 면역증강용 약학조성물은 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나의 혼합물의 5~95 % 메탄올 또는 에탄올 수용액의 추출물인 것을 특징으로 하는 면역증강용 약학조성물.

#### 청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항의 면역증강용 약학조성물은 정제, 캡슐제, 과립제, 산제, 환제 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것을 특징으로 하는 경구용 제제.

#### 청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 경구용 제제에는 친수성 서방폴리머, 봉해제, 희석제, 활택제, 및 결합제로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 첨가제를 포함하는 것을 특징으로 하는 경구용 제제.

#### 청구항 7

녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나 혼합비율은 1~3 : 1 : 1~3 : 1~3 : 1~3 중량비율인 것을 특징으로 하는 면역증강용 건강기능식품.

#### 청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 면역증강용 건강기능식품은 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나의 혼합물의 물, 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올), 5~95 % 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올) 수용액 용매의 추출물인 것을 특징으로 하는 면역증강용 건강기능식품.

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 본 발명은 기존 한약재 조성물에 면역활성을 갖는 스피루리나를 가미하여 코로나바이러스(COVID-19) 등 병원체의 인체 침입에 대한 면역력을 증강시킨 새로운 한약재 혼합의 조성물 개발에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0002] 코로나바이러스(COVID-19)의 주된 전파경로는 감염자의 호흡기 침방울(비말)에 의한 전파 사람 간에 전파되며, 대부분의 감염은 감염자가 기침, 재채기, 말하기, 노래 등을 할 때 발생한 호흡기 침방울(비말)을 다른 사람이 밀접 접촉(주로 2m 이내)하여 발생한다. 현재까지 보고된 연구 결과에 의하면, 비말 이외, 표면접촉, 공기 등을 통해서도 전파가 가능하나, 공기에 의한 전파는 의료기관의 에어로졸 생성 시술, 밀폐된 공간에서 장시간 호흡기 비말을 만드는 환경 등 특정 환경에서 제한적으로 전파되는 것으로 알려져 있다. 이러한 코로나 바이러스(COVID-19) 감염에 의한 주요증상 및 징후는 다음과 같다. 임상 증상은 무증상, 경증, 중등증, 중증까지 다양하다. 주요 증상으로는 발열(37.5℃ 이상), 기침, 호흡곤란, 오한, 근육통, 두통, 인후통, 후각·미각 소실 등을 야기시키며, 그 외에 피로, 식욕감소, 가래, 소화기증상(오심, 구토, 설사 등), 혼돈, 어지러움, 콧물이나 코막힘, 객혈, 흉통, 결막염, 피부 증상 등이 다양하게 나타나고 있다. 이러한 바이러스의 침투는 기관지 호흡을 통한 체내감염이므로 기관지 면역의 활성화를 위해 폐기능을 높여야 하며, 동시에 폐로 에너지를 올려주고 공급해주는 위장의 기능을 증가시킬 필요가 있다.

[0003] 최근 들어, 천연물을 이용하여 코로나바이러스 관련 질환을 예방하거나 치료할 수 있다는 연구 결과가 많이 보고되고 있다. 실제로 APRG64(용아초, 오배자 추출혼합물)는 SARS-CoV2가 세포에 부착하게 하는 단백질인 Spiking protein의 발현을 억제함을 규명하였는데, 100% 감염을 억제하지 않더라도 일부 세포 내로 침투된 바이러스의 RNA 또한 복제가 억제되었다고 보도하였다. 또한, 당귀 추출물이 체내에 코로나바이러스가 들어올 시 생기는 혈관 염증과 사이토카인 폭풍(인체에 바이러스가 침투하였을 때 면역 물질인 사이토카인이 과다하게 분비되어 정상 세포를 공격하는 현상) 등의 2차 반응을 거의 완벽하게 완화할 수 있다고 알려져 있다. 코로나바이러스 감염 예방 및 치료 관련 지금까지의 특허 현황을 보면, 코로나바이러스 감염의 예방 또는 치료용 조성물 및 3CL 프로테아제 활성의 억제용 조성물(특허등록 제10-1128088호), 노박당굴 추출물 또는 이의 분획물, 미역줄나무 추출물 또는 이의 분획물 또는 이들로부터 추출한 퀴노메치드계 트리테르펜 화합물, 초피속 식물추출물을 함유하는 항코로나바이러스 조성물(특허등록 제10-0666299호), 미역추출물을 함유하는 코로나바이러스의 예방 또는 치료용 조성물(특허등록 제10-1976528호) 등의 코로나바이러스 관련 다양한 천연 소재를 활용한 특허가 출원되어 있으나, 코로나바이러스에 대한 면역관련 천연 소재 특허는 지금까지 등록된 바가 없다.

[0004] 한편, 원방 공진단은 녹용(鹿茸), 당귀(當歸), 산수유(山茱萸), 사향(麝香) 등을 가루로 만들어 주면(酒麵)으로 반죽하여 만든 생약제제로서, 공진단은 항산화 작용을 하며, 중추신경계 질환, 염증 질환, 심혈관계 질환, 면역 질환에 효능이 있으며, 간 손상 회복 작용 및 생식능력 회복 작용을 하는 것으로 보고되고 있다. 체내의 활성산소가 증가하게 되면 산화적스트레스가 늘고 다양한 만성 질환과 대사 장애가 유발되는데, 이러한 기전을 억제하는 항산화 작용에 공진단이 관여한다고 알려져 있다(Lee J. H. et al., Journal Korean Medicinal Rehabilitation, 23: 69-78, 2013; Arnaiz S. L et al., Free Radical Biology & Medicine, 19(3): 303-310, 1995). 또한, 가감공진단(녹용, 산수유, 당귀, 침향 이외에 구기자, 산약, 진피, 계피, 황금, 오미자 추가)가 acetaminophen 유도에 따른 마우스의 손상된 간에 대해 간보호 효과가 있다고 보고하였다(김홍준 등, 대한본초학회지 25(3), 149-157 (2010)). 침향공진단을 *Lactobacillus* 유산균을 활용하여 발효시킨 추출물에서 생성된 nodakenetin이 바이러스성 neuraminidase에 대해 저해활성이 있다고 보고되었다(서지현 등, Microbiological Biotechnology Letters, 48(3), 303-309 (2020)). 이렇듯, 공진단은 혈청 thyroxine, cortisol, testosterone 및 혈중 hemoglobin의 함량 변화를 통하여 마음을 깨끗하게 하고 기를 돋우는 효능이 우수하다고 보고하였고(장용훈, 대구한의과대학 대학원. 1989), 로세테(Rosette) 형성 세포수, 적혈수용 집소가, 적혈구용 혈소가, 혈청 중 테스터스테론(testosterone)의 농도변화 등을 통하여 공진단이 면역반응, 피로회복 및 내분비 기능에 효과가(김장현, 경희대학교 대학원. 1990; Jeon M et al, Journal of Life Science, 23(9). 1155~1162, 2013). 또한, 공진단의 성분분석 및 항산화작용을 분석하여 공진단의 성분이 항산화 및 항노화작용이 있는 아미노산과 무기질 성분이 많이 있음을 보고하였다(성기문 등 대한한방내과학회지, 30, 674-684. 2009). 이러한 연구는 공진단이 추후 다양한 만성 질환, 대사 질환, 노인 질환 등에 폭넓게 응용될 가능성이 있음을 시사하고 있다. 그 밖에도 공진단이 중추신경계 손상을 회복시키고, 신경을 보호하고, 기억력을 증진하는 등의 효과를 가지고 있으며 혈압 및 고지혈증과 같은 대사성 질환을 완화하고, 생식능력을 증진시키는 등 다양한 증상에 활용되었다는 연구가 있다. 이로써 공진단의 항산화작용과 더불어 신체의 퇴행성 변화에도 유의한 약물로써 적용 가능함을 알 수 있는데, 공진단의 항염 효과와 관련된 연구에 따르면 기존 문헌적 근거만으로는 유추하기 힘들었던 각종 염증성 질환 및 신경성 손상을 동반한 통증 질환과 같은 실증적(實證的) 질환에도 응용할 수 있다고 여겨진다. 또한 다양

한 독성물질의 해독 및 간 보호 효과에 관한 연구에서는 공진단이 안정성이 지니고 있음을 보여주고 있다.

- [0005] 한편, 스피루리나는 시아노박테리아(Cyanobacteria)의 일종인 아스로스피라(Arthrospira)속에 속하는 사상형 미세조류로서 기능성 식의약 소재와 같이 상업적으로 중요한 자원으로 각광을 받고 있다. 스피루리나 또한 항산화, 중금속 독성 완화, 면역증진, 콜레스테롤 저하 등 다양한 생리활성 기능을 가지는 것으로 알려져 있으며, 주요 활성 성분으로 카로티노이드, 클로로필, 피코시아닌 등이 알려져 있다(Ali S. K. et al., International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(3), 9-15, 2012; K. Milasiusetal et al., Biochemical Composition and on the Immune Function of Sportman, 26(2), 157-172, 009)
- [0006] 그리고, 천연물추출물을 이용한 피부노화방지 및 피부면역강화 기능성 화장품조성물및 이를 포함하여 피부노화방지 및 피부면역강화 효과를 갖는 화장품(한국등록특허 제10-2206519호, 5), 면역력 저하 환자 식이용단백질 보충제및 이의 제조 방법(한국등록특허 제10-2206519호) 등의 특허에서 스피루리나 추출물이 면역관련 활성을 있다고 개시하였다.
- [0007] 그러나, 기존의 원방공진단 혹은 스피루리나 단독 추출물 등은 염증성 및 통증 질환에 활용 가능한 안전한 처방이나 코로나바이러스에 대항할 만한 면역을 갖추기에는 어려운 측면이 있고, 원방공진단의 구성 생약제인 사향은 식품으로 사용이 불가하여 사향을 대체하고 면역강화를 위한 새로운 한약재 혼합 조성물의 개발이 요구되고 있다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

- [0008] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1128088호, 코로나바이러스 감염의 예방 또는 치료용 조성물 및 3CL 프로테아제 활성의 억제용 조성물, 2012년 03월 12일, 등록.
- (특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-0666299호, 노박덩굴 추출물 또는 이의 분획물, 미역줄나무 추출물 또는 이의 분획물 또는 이들로부터 추출한 퀴노메치드계 트리테르펜 화합물, 초피속 식물추출물을 함유하는 항코로나바이러스 조성물, 2007년 01월 03일, 등록.
- (특허문헌 0003) 한국등록특허 제10-1976528호, 미역추출물을 함유하는 코로나바이러스의 예방 또는 치료용 조성물, 2019년 05월 02일, 등록
- (특허문헌 0004) 한국공개특허 제10-2021-0034320호, 천연물추출물을 이용한 피부노화방지 및 피부면역강화 기능성 화장품 조성물 및 이를 포함하여 피부노화방지 및 피부면역강화 효과를 갖는 화장품, 2021년 03월 30일, 공개
- (특허문헌 0005) 한국등록특허 제10-2206519호, 면역력 저하 환자 식이용단백질 보충제및 이의 제조 방법, 2021년 01월 18일, 등록

### 비특허문헌

- [0009] (비특허문헌 0001) 성기문 등, 공진단이 MCAO모델 흰쥐에서 gliosis 억제에 미치는 영향, 대한한방내과학회지, 30(4): 674-684, 2009
- (비특허문헌 0002) 서지현 등, 유산균으로 발효한 침향공진단으로부터 분리한 nodakenetin의 Neuraminidase 활성 억제효능, Microbiological Biotechnology Letters, 48(3): 303-309, 2020, <https://doi.org/10.4014/mb.2001.01015>
- (비특허문헌 0003) 김홍준 등 Acetaminophen 유도 마우스 간 손상에 대한 加減拱辰丹 추출물의 간보호 효과, 대한본초학회지, 25(3): 149-157 (2010)
- (비특허문헌 0004) 장용훈. 拱辰丹이 强精補氣作用에 미치는 영향. 대구한의과대학 대학원. 1989,
- (비특허문헌 0005) 김장현. 拱辰丹이 면역반응, 항피로 및 내분비기능에 미치는 영향. 경희대학교대학원. 1990.
- (비특허문헌 0006) Jeon M et al., The effects of seaweed Gongjindan on estrogen like activities,

platelet aggregation and serum lipid levels in ovariectomized rats, Journal of Life Science, 23(9): 1155~1162, 2013

(비특허문헌 0007) Lee J. H. et al., A literature review of effectiveness on the Gongjin-dan (Gongchendan). Journal of Korean Medicinal Rehabilitation, 23: 69-78, 2013.

(비특허문헌 0008) Arnaiz S. L et al., Oxidative stress by acute acetaminophen administration in mouse liver. Free Radical Biology & Medicine, 19(3): 303-310, 1995

(비특허문헌 0009) Ali S. K. et al., Spirulina - an overview, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(3). 9-15, 2012

(비특허문헌 0010) K. Milasiusetal., Effect of spirulina food supplement on blood morphological parameters, Biochemical Composition and on the Immune Function of Sportman, 26(2), 157-172, 2009

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 코로나바이러스 등에 대한 면역 활성을 증강시킨 면역증강용 한약재 혼합 조성물에 관한 내용을 제공하는 데 있다.

### 과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 코로나바이러스(COVID-19) 등에 대한 외부 병원체에 대한 면역 활성을 증강한 새로운 한약재 혼합 조성물을 제조하기 위해 여러 후보 천연 소재에 대한 면역 활성(*in vitro*)를 측정하여 최적의 한약재 조성물을 제조하고, 새롭게 제조된 한약재 혼합 조성물에 대해 고성능 액체크로마토그래프(HPLC) 및 액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS)를 활용하여 신속하고 효율적으로 측정하는 방법, 기존의 환제와 함께 새로이 정제, 산제 등 경구용 신제형에 관한 것이다.

[0012] 본 발명은 코로나바이러스 등에 대한 면역 활성을 증강한 한약재 혼합 조성물로서, 침향 공진단인 녹용, 침향, 당귀, 산수유에 스피루리나를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 면역활성이 증강된 면역증강용 조성물이다. 상기 한약재 혼합 조성물의 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나의 혼합비율은 1~10 : 1~2 : 1~10 : 1~10 : 1~10의 중량비율이며, 바람직하게는 1~3 : 1 : 1~3 : 1~3 : 1~3 중량비율에서 가장 좋은 면역증강작용을 가진다.

[0013] 본 발명의 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나의 혼합 조성물은 이들 한약재 혼합물의 물, 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올), 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올)의 수용액 및 유기용매에서 하나이상 선택된 용매의 추출물일 수 있으며, 바람직하게는 물, 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올), 5~95 % 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올)의 수용액 용매의 상온 또는 가열 추출물이며, 더욱 바람직하게는 5~95 % 저급알코올(메탄올 또는 에탄올) 수용액의 가열 추출물이다.

[0014] 또한, 본 발명은 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나의 혼합비율은 1~10 : 1~2 : 1~10 : 1~10 : 1~10의 중량비율이며, 바람직하게는 1~3 : 1 : 1~3 : 1~3 : 1~3 중량비율로 분말을 혼합하여 용매추출 없이 그대로 사용하여 면역증강용 조성물로 제조 및 사용할 수 있다.

[0015] 본 발명의 한약재 혼합 조성물의 제조단계는 다음과 같다.

[0016] (1단계) 시료 한약재인 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나 각 분말을 1~10 : 1~2 : 1~10 : 1~10 : 1~10의 중량비율로 혼합기에 넣고 혼합하는 단계;

[0017] (2단계) 상기 1단계의 혼합물을 5~95 % 저급알코올(메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올, 부탄올) 수용액 용매에서 추출하는 단계;

[0018] (3단계) 상기 2단계의 용매 추출액을 분리 감압건조, 분무건조, 또는 동결건조 등의 통상적인 건조 방법을 이용하여 농축 및 건조한 다음 추출 농축액을 얻는 단계;이다.

- [0019] 상기 3단계의 제조방법에 다음과 같은 4, 5단계를 추가할 수 있다.
- [0020] (4단계) 상기 3단계의 추출 농축액에 약학적으로 허용 가능한 담체를 첨가하여 약학조성물로 제조하는 단계;
- [0021] (5단계) 상기 4단계의 약학조성물을 약제학적 제형에 맞게 제조하는 단계;로 제조할 수 있다.
- [0022] 본 발명에 따른 약학조성물은 일반적으로 사용되는 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 적합한 형태로 제형화될 수 있다. “약학적으로 허용 가능”이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증 등과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다.
- [0023] 또한, 상기 약학조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 환제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 바람직하게는 상기 경구형 제형으로 제조할 수 있는데 경구용 제제에는 친수성 서방폴리머, 흡착제, 붕해제, 희석제, 활택제, 및 결합제로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 첨가제를 포함할 수 있다.
- [0024] 상기 경구형 제제의 부형제 중 흡착제는 메타규산알루미늄, 마그네슘, 규산 칼슘, 규산 마그네슘, 규산 알루미늄, 규산 나트륨, 규산 칼륨, 규산 칼슘 알루미늄, 규산 마그네슘 칼슘 및 알루미늄규산 나트륨으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이 바람직하다.
- [0025] 상기 친수성 서방폴리머는 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 폴리아크릴산, 폴리비닐피롤리돈, 폴리에틸렌글리콜, 폴리에틸렌옥사이드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이며, 상기 경구용 제제 전체 중량 100% 중 10 내지 35중량%로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0026] 상기 붕해제는 크로스카르멜로스 나트륨, 크로스포비돈 (가교결합된 폴리비닐피롤리돈), 나트륨 전분 글리콜레이트, 및 전분으로 이루어진 군에서 선택된 1종 혹은 2종 이상이며, 상기 경구용 제제 전체 중량 100% 중 1 내지 20중량%로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0027] 상기 희석제는 유당 수화물, 전분, 만니톨, 미결정 셀룰로오스, 및 인산 일수소칼슘으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상이며, 상기 경구용 제제 전체 중량 100% 중 5 내지 40 중량%로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0028] 상기 활택제는 활택제는 타정 시 정제의 표면이 타정 펀치에 부착되는 문제는 방지하고, 과립의 유동성을 상승시킬 수 있다. 구체적인 예로 스테아린산 마그네슘, 스테아릴푸마린산 나트륨, 탈크 등을 사용할 수 있다. 본 발명에 사용되는 상기 첨가제의 양은 정해져 있지 않으며 약제학적 지식에 기반으로 양을 조절할 수 있으나, 바람직하게 본 발명에서는 스테아린산 마그네슘을 전체 제제 중량의 1 내지 5중량%로 포함할 수 있다.
- [0029] 상기 결합제는 타정 시 발생할 수 있는 장해인 스틱킹(sticking), 라미네이팅(laminating), 캡핑(capping) 등을 예방 및 개선하고자 첨가하였으며 구체적인 예로 히드록시프로필셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨, 포비돈, 전젤라틴화 전분 등을 사용할 수 있다. 바람직하게 본 발명에서는 폴리비닐피롤리돈을 전체 제제 중량의 1 내지 5중량% 범위 내에서 사용할 수 있다.
- [0030] 또한, 본 발명에 따른 상기 경구용 제제는 정제, 캡슐제, 과립제, 산제, 환제 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것일 수 있다.
- [0031] 상기 정제는 보통의 정제, 속붕해정, 분산정, 발포정, 서방정, 또는 장용정 중에서 선택된 어느 하나의 제형으로 제조되는 것일 수 있다.
- [0032] 본 발명에 따른 경구용 제제는 (a) 한약제 혼합 각 구성 생약제의 조성물을 분쇄 및 혼합하여 한약제 혼합 분말을 제조하는 단계; (b) 상기 한약제 혼합 분말에 친수성 서방 폴리머, 붕해제, 희석제, 활택제, 및 결합제로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 첨가제를 혼합하여 혼합물을 제조하는 단계; 및 (c) 상기 혼합물을 타정하여 경구용 제제를 제조하는 단계를 포함하여 제조될 수 있다.
- [0033] 본 발명에 개시된 추출물을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 주사에 의해 투여될 수 있다. 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여시간, 투여경로, 약물의 흡수, 분포 및 배설률, 사용되는 다른 약물의 종류 및 처방자의 판단 등에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.001mg/kg/일 내지 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 100mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도

있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0034] 또한, 본 발명은 원재료 내지 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 면역증강 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 건강기능식품은 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 또는 가공한 식품을 지칭하는 것으로, 예를 들어 건강보조식품, 기능성 식품, 영양제, 보조제 등을 모두 포함한다.

[0035] 상기 한약재 추출물은 전체 식품 총 중량에 대하여 바람직하게는 1중량% 내지 90중량%, 더 바람직하게는 5중량% 내지 90중량%, 가장 바람직하게는 3중량% 내지 53중량%로 하여 첨가될 수 있다. 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제 등이 있다.

### 발명의 효과

[0036] 본 발명은 면역증강 작용이 있는 녹용, 침향, 당귀, 산수유 및 스피루리나가 포함된 혼합 한약재 조성물에 관한 것이다. 상기 한약재 조성물의 마우스대식세포(RAW 264.7 cell)에 대한 세포생존율을 통한 낮은 세포독성, 마우스대식세포(RAW 264.7 cell)에서 증가된 사이토카인에 의한 우수한 면역증강 효과와 면역 과민반응에 의한 사이토카인 폭풍과 같은 부작용을 최소화 할 수 있는 새로운 혼합 한약재 조성물로서 코로나바이러스 등에 대한 감염병에 대해 우수한 면역력 활성화 등 보조적인 예방 및 치료 등에 유용하게 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0037] 도 1은 대표적인 실시예와 비교예의 70% 에탄올 수용액 추출물의 농도변화에 따른 마우스대식세포(RAW 264.7 cell)에 대한 세포 생존율의 측정 결과를 비교한 그래프이다.

도 2는 실시예1와 비교예1 및 비교예 23에 대한 각 용매 추출물별 마우스대식세포(RAW 264.7 cell)에 의해 생산되는 종양괴사인자- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )의 사이토카인의 변화를 측정 결과를 비교한 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

[0039] <실시예 1. 녹용, 침향, 당귀, 산수유, 스피루리나 포함 혼합 한약재의 제조>

[0040] 한약재 혼합의 각 주성분 가루를 녹용:침향:당귀:산수유:스피루리나 (1:0.34:1:1:1, w/w)의 중량비율로 혼합하여 다음과 같이 검액용 시료를 조제하였다. 먼저, 한약재 혼합제 20 g을 취하여 70% 에탄올 200 mL을 첨가한 후, 2시간 동안 환류추출한 후 여과(No. 2)하였다. 여액은 -20 °C에서 24시간 동안 동결시킨 후 3일 동안 동결 건조하였다.

[0041] <실시예 2 내지 4, 비교예 1 내지 23의 혼합 한약재 제조>

[0042] 한약재 혼합의 주성분인 녹용:침향:당귀:산수유:스피루리나 혼합비율을 아래 표 1과 같이 혼합하여 실시예 1과 같이 검액용 시료를 조제하였다.

[0043] 각 혼합 한약재의 각 주성분의 조성물의 혼합비율은 표 1과 같다.

표 1

[0044] 실시예 및 비교예의 혼합 한약재 주성분의 혼합비율

| 시료    | 한약재 분말 혼합비율 |      |    |     |       |
|-------|-------------|------|----|-----|-------|
|       | 녹용          | 침향   | 당귀 | 산수유 | 스피루리나 |
| 실시예 1 | 1           | 0.34 | 1  | 1   | 1     |
| 실시예 2 | 1           | 0.34 | 1  | 1   | 0.34  |
| 실시예 3 | 1           | 0.34 | 1  | 1   | 0.68  |
| 실시예 4 | 1           | 1    | 1  | 1   | 1     |
| 비교예 1 | 1           | 0.34 | 1  | 1   | 0     |
| 비교예 2 | 1           | 1    | 1  | 1   | 0     |

|        |   |      |   |   |     |
|--------|---|------|---|---|-----|
| 비교예 3  | 1 | 0.34 | 1 | 2 | 0   |
| 비교예 4  | 1 | 0.34 | 1 | 1 | 0.1 |
| 비교예 5  | 1 | 0.34 | 1 | 1 | 5   |
| 비교예 6  | 1 | 1    | 0 | 0 | 0   |
| 비교예 7  | 1 | 0    | 1 | 0 | 0   |
| 비교예 8  | 1 | 0    | 0 | 1 | 0   |
| 비교예 9  | 1 | 0    | 0 | 0 | 1   |
| 비교예 10 | 1 | 1    | 1 | 0 | 0   |
| 비교예 11 | 1 | 1    | 0 | 1 | 0   |
| 비교예 12 | 1 | 1    | 0 | 0 | 1   |
| 비교예 13 | 1 | 0    | 1 | 1 | 0   |
| 비교예 14 | 1 | 0    | 1 | 0 | 1   |
| 비교예 15 | 1 | 0    | 0 | 1 | 1   |
| 비교예 16 | 0 | 1    | 1 | 1 | 0   |
| 비교예 17 | 0 | 1    | 0 | 1 | 1   |
| 비교예 18 | 0 | 0    | 1 | 1 | 1   |
| 비교예 19 | 1 | 0    | 0 | 0 | 0   |
| 비교예 20 | 0 | 1    | 0 | 0 | 0   |
| 비교예 21 | 0 | 0    | 1 | 0 | 0   |
| 비교예 22 | 0 | 0    | 0 | 1 | 0   |
| 비교예 23 | 0 | 0    | 0 | 0 | 1   |

[0045] <실험예 1. 면역증강 활성 검정>

[0046] 실험예 1-1. 세포 배양

[0047] RAW 264.7 마우스 대식세포(mouse macrophage cell)을 한국 세포은행으로부터 분양받았다. 분양받은 세포는 10% 소태아혈청(10% fetal bovine serum, 100 U/mL의 페니실린과 100 ug/mL의 스트렙토마이신 함유)가 첨가된 RPMI 배지에 분주하고, 37 °C, 5% 이산화탄소가 함유된 습한 환경의 배양기에서 배양하였다.

[0048] 실험예 1-2. 세포 생존률 측정

[0049] 세포 생존률 측정은 변형된 엠티티 에세이(MTT assay)를 이용하여 측정하였다. 간단히 말하면, 세포( $1 \times 10^5$  cells/mL)을 96-웰 플레이트(96-well plate) 상에 분주하고, 추출물 농도(200, 100, 50, 10  $\mu$ g/mL)별로 처리한 후, 엠티티(MTT) 용액(5 mg/mL 인산 완충 식염수)을 각각의 플레이트 웰(plate well)에 첨가한 후 37 °C에서 4시간 동안 배양하였다. 디메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide, DMSO) 100  $\mu$ L를 첨가하여 현탁된 시료가 잘 용해되도록 하였다. 각 웰(well)은 측정과장에서 자외선-가시광선 분광광도계(UV-Vis spectrophotometer)를 활용하여 검출파장 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0050] 도 1을 살펴보면, 실시예와 비교예의 대표적인 혼합 한약재 각 조성물에 대한 마우스 대식세포(RAW 264.7 cell)에 대한 세포 생존율을 측정한 결과에서 실시예와 비교예 모두 비교적 고농도인 추출물 200 ppm까지도 모두 양호한 세포 생존율을 보였다. 대조군(control)과 95% 신뢰수준( $P < 0.05$ )에서 2차 일원분산분석(ordinary one-way ANOVA)을 실시한 결과에서 유의적 차이를 보이지 않았다.

[0051] 실험예 1-3. 사이토카인 농도(Cytokine level) 측정

[0052] 마우스 대식세포(RAW 264.7 cell,  $1 \times 10^5$  cells/mL)을 96 웰 플레이트(96 well plate)에 넣고 하룻밤 동안 배양하였다. 추출물은 농도(200, 100, 50, 10  $\mu$ g/mL)별로 활성 검정 2시간 전에 미리 첨가하였다. 그런 후 50 ng/mL의 엘피에스(LPS) 10  $\mu$ L 혹은 동등한 배지를 첨가하고 24시간 동안 배양하였다. 그런 후 배양액을 원심분리한 후 상등액을 -80 °C 초저온 냉동고에 넣어 보관하였다. 티엔에프-알파(TNF- $\alpha$ )의 함량은 배양된 배지에서 산화질소(nitric oxide)의 농도는 그리에스(Griess) 반응에 의해 결정되었다. 최종적으로 흡광도는 검출파장 540 nm에서 제조사의 설명서에 따라 효소면역분석법(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)에 의해 측정되었다.

[0053] 실시예 1~4와 비교예 1~23로부터 얻은 70% 에탄올 수용액 추출물의 검액용 시료 100 ppm 농도로 처치 시 티엔에프-알파(TNF- $\alpha$ ) 사이토카인 함량(pg/mL)은 표 2에 나타내었다.

표 2

[0054]

혼합 한약재의 검액용 시료 처리에 따른 사이토카인 함량

| 시료 (100 ppm 처리) | 사이토카인 함량 (pg/mL) |
|-----------------|------------------|
| 무처리군 (control)  | 0                |
| 실시예 1           | 170 ± 30         |
| 실시예 2           | 162 ± 27         |
| 실시예 3           | 155 ± 24         |
| 실시예 4           | 140 ± 19         |
| 비교예 1           | 35 ± 9           |
| 비교예 2           | 42 ± 12          |
| 비교예 3           | 29 ± 18          |
| 비교예 4           | 55 ± 27          |
| 비교예 5           | 110 ± 45         |
| 비교예 6           | 32 ± 8           |
| 비교예 7           | 29 ± 2           |
| 비교예 8           | 30 ± 1           |
| 비교예 9           | 40 ± 3           |
| 비교예 10          | 45 ± 4           |
| 비교예 11          | 46 ± 8           |
| 비교예 12          | 80 ± 7           |
| 비교예 13          | 47 ± 8           |
| 비교예 14          | 70 ± 9           |
| 비교예 15          | 74 ± 12          |
| 비교예 16          | 55 ± 10          |
| 비교예 17          | 65 ± 4           |
| 비교예 18          | 70 ± 8           |
| 비교예 19          | 36 ± 2           |
| 비교예 20          | 33 ± 8           |
| 비교예 21          | 30 ± 2           |
| 비교예 22          | 29 ± 3           |
| 비교예 23          | 50 ± 6           |

[0055]

상기 표 2에서 보듯이 비교예 1 내지 3의 침향 공진단(녹용, 침향, 당귀, 산수유)에 스피루리나를 추가로 혼합하였을 경우(실시예 1 내지 4)에서 사이토카인의 함량이 상승적 증가효과를 보여주었으며, 비교예 4, 5의 스피루리나 추가 함량 비교실험 결과로부터 녹용 : 침향 : 당귀 : 산수유 : 스피루리나의 배합 중량비율이 1~3 : 1 : 1~3 : 1~3 : 1~3으로 혼합된 추출물일 때 특이적으로 상승적인 면역증강 효과를 보여주었다.

[0056]

또한, 비교예 6 내지 23에서 볼 수 있듯이 스피루리나 등 단독 혹은 2 ~ 3 종의 조성물을 혼합하는 것보다 실시예 1 내지 4처럼 침향 공진단의 구성 한약재인 녹용, 침향, 당귀, 산수유 등과 스피루리나가 혼합된 조성물이 보다 높은 면역활성이 있음을 보여주었다.

[0057]

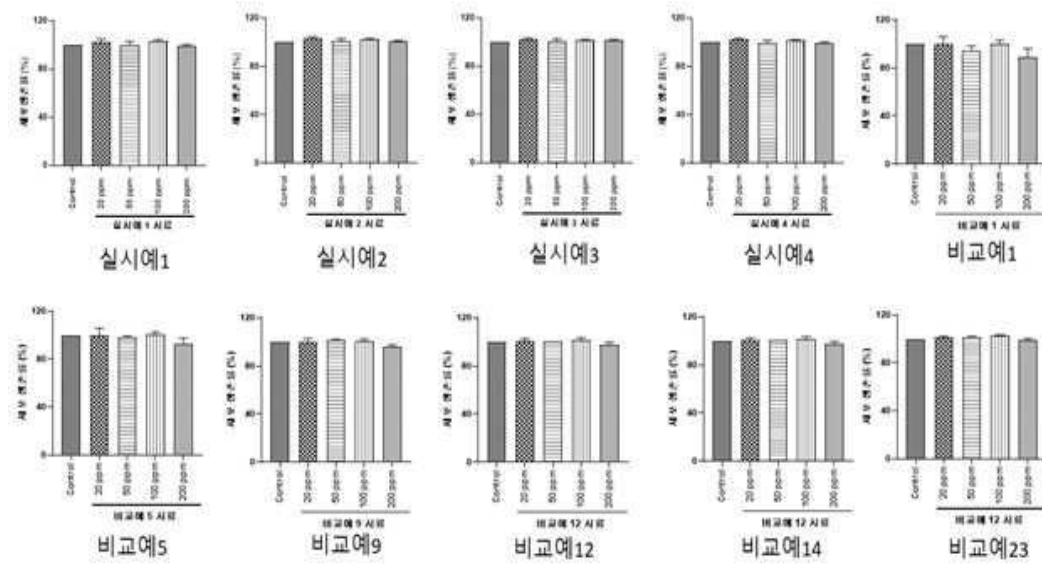
도 2에서 대표적으로 실시예 1과 비교예 1 그리고 비교예 23에 대해 면역반응과 관계되는 마우스대식세포에서 생성되는 종양괴사인자- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )에 의해 유도되는 사이토카인 함량을 대표적으로 비교한 결과를 나타낸 것으로서, 스피루리나 단일 추출물인 비교예 23보다 혼합 한약재 조성물인 비교예 1과 실시예 1이 보다 면역활성이 높음을 보여주고 있다.

[0058]

또한, 스피루리나가 첨가된 실시예 1이 스피루리나가 첨가되지 않은 비교예 1보다 상대적으로 높은 면역활성을 보임을 알 수 있다. 이는 스피루리나가 첨가된 새로운 혼합 한약재 조성물(실시예 1 내지 4)이 코로나바이러스 등 외부 병원체에 의한 감염병 및 암 등에 의한 면역력 저하에 대해 우수하게 면역력을 활성화시키는 등의 보조적인 예방 및 치료 등에 유용하게 사용될 수 있다.

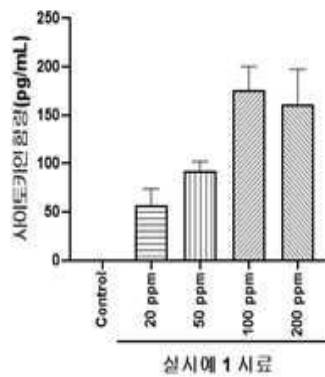
## 도면

### 도면1

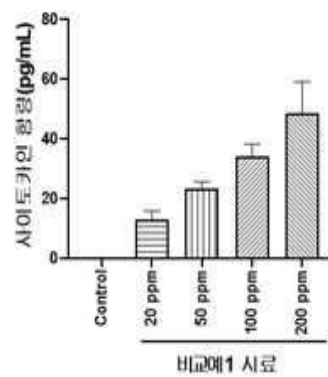


### 도면2

(가) 실시예 1



(나) 비교예 1



(다) 비교예 23

