



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0111342
(43) 공개일자 2018년10월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/03 (2006.01) A23K 20/195 (2016.01)

A23L 33/10 (2016.01)

(52) CPC특허분류

A61K 36/03 (2013.01)

A23K 20/195 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2017-0042178

(22) 출원일자 2017년03월31일

심사청구일자 2017년03월31일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 필문대로 309 (서석동)

(72) 발명자

조태오

광주광역시 광산구 왕버들로132번길 35, 605동 1403호(수완동, 광주 수완6차 대방 노블랜드)

오원근

서울특별시 관악구 행운10길 21, 102동 902호(봉천동, 관악파크푸르지오아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 공간

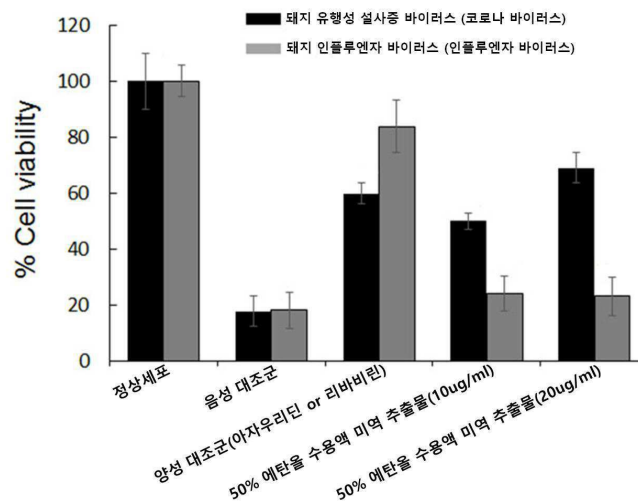
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 미역 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 코로나 바이러스 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 상기 미역 추출물은 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 우수하며, 식재료로 사용되어 왔던 미역으로부터 추출 및 분획한 것이므로, 세포 독성이 적어 의약품, 건강식품, 동물약품, 동물사료 첨가제, 천연 소독제 등에 유용하게 적용될 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23L 33/10 (2016.08)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

A23V 2250/202 (2013.01)

(72) 발명자

이준식

광주광역시 서구 풍암1로 53, 제105동 206호(풍암동, 현대·삼환아파트)

조광원

광주광역시 남구 회재로1186번길 20, 104동 1004호(주월동)

초효문

서울특별시 관악구 관악로 1(신림동) 서울대학교 약학대학 21동 319호

정소영

광주광역시 남구 독립로 102, 103동 1703호(백운휴먼시아)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1525006134

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 해양수산생명자원확보및활용기반구축

연구과제명 해양바이오 지역특화 선도기술 개발(해조류 유래 식/의약 소재 개발)

기 여 율 1/2

주관기관 조선대학교

연구기간 2016.08.01 ~ 2017.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1525005558

부처명 해양수산부

연구관리전문기관 한국해양과학기술진흥원

연구사업명 해양수산생명자원확보및활용기반구축

연구과제명 해양갈조식물자원 기탁등록보존기관

기 여 율 1/2

주관기관 조선대학교

연구기간 2016.03.01 ~ 2017.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올, 아세톤(acetone), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 또는 헥산(hexane)으로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올로 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피에 가하여 물, 30%[v/v] 에탄올 수용액, 50%[v/v] 에탄올 수용액, 80%[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤으로 분획한 분획물 중 50%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 80%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물.

청구항 4

미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트 또는 헥산으로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올로 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피에 가하여 물, 30%[v/v] 에탄올 수용액, 50%[v/v] 에탄올 수용액, 80%[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤으로 분획한 분획물 중 50%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 80%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 7

미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 동물약품.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트 또는 헥산으로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 동물 약품.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올로 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피에 가하여 물, 30%[v/v] 에탄올 수용액, 50%[v/v] 에탄올 수용액, 80%[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤으로 분획한 분획물 중 50%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 80%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 동물 약품.

청구항 10

미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 개선용 동물 사료 첨가제.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트 또는 헥산으로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 개선용 동물 사료 첨가제.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올로 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피에 가하여 물, 30%[v/v] 에탄올 수용액, 50%[v/v] 에탄올 수용액, 80%[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤으로 분획한 분획물 중 50%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 80%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 개선용 동물 사료 첨가제.

청구항 13

미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방용 천연소독제.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트 또는 헥산으로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방용 천연소독제.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 미역 추출물은, 미역을 50~100%[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올로 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피에 가하여 물, 30%[v/v] 에탄올 수용액, 50%[v/v] 에탄올 수용액, 80%[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤으로 분획한 분획물 중 50%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 80%[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물인 것을 특징으로 하는 코로나 바이러스의 예방용 천연소독제.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 코로나 바이러스(corona virus)는 외피가 있는 단일가닥의 양성 RNA 바이러스이며, 게놈 크기는 25-32kb로, 지금까지 알려진 RNA 바이러스 중에서는 비교적 큰 바이러스에 속한다. 외피에 곤봉 모양의 돌기인 스파이크(spike) 단백질이 박혀 있어 화염 또는 왕관 모양의 특이적 구조를 가진다.

[0003] 코로나 바이러스는 개기일식(solar eclipse) 때 태양의 광구가 달에 가려졌을 때, 그 둘레에서 하얗게 빛나는 현상인 코로나 현상과 생김새가 비슷하여 붙여진 이름으로, 1937년 닭에서 처음 발견된 뒤 개, 돼지, 조류 등의 동물을 거쳐 1965년에는 사람에게서 발견되었다. 지금까지 밝혀진 코로나 바이러스는 α -, β -, γ - 및 δ -와 같이 4개의 그룹으로 나누어지며, α -와 β -코로나 바이러스 그룹은 포유류에 주로 감염되고, γ -와 δ -코로나 바이러스 그룹은 조류에서 찾을 수 있다.

[0004] 코로나 바이러스는 사람에게 감염될 경우, 감기, 상기도감염, 호흡기 질환, 어린이의 설사, 기타 장질환 등을 일으키지만, 위험성이 높지 않은 것으로 알려져 있었으며, 주로 개, 돼지, 소 등의 동물에 감염되는 바이러스로 인식되어 왔다.

[0005] 그러나, 중증급성호흡기증후군(severe acute respiratory syndrome, SARS)의 원인균이 신종(변종) 코로나 바이러스인 것으로 알려지면서 주목받기 시작하였다. 중증급성호흡기증후군은 2002년 11월에서 2003년 6월 사이에 중국에서 크게 유행하여 8,096명의 감염자가 발생하고 774명이 사망한 바 있다(Cinatl, J., et al., 2003; Rota., P.A., et al., 2003).

[0006] 코로나 바이러스는 전염성이 강하고 다른 병원균과 결합하는 능력이 뛰어나 증상을 더욱 악화시키는 바이러스로 알려져 있는데, 이러한 결합 능력을 이용해 중증급성호흡기증후군을 유발하는 신종 코로나 바이러스 역시, 동물의 몸속에 있던 코로나 바이러스가 변형되어 사람의 몸속으로 들어와 질병을 일으킨 것으로 전문가들은 추정하고 있다.

[0007] 또 다른, 코로나 바이러스 관련 질환인, 중동호흡기증후군(middle east respiratory syndrome, MERS)은 2012년 사우디에서 처음 발견되었고, 요르단, 카타르, 아랍에미레이트연합 및 쿠웨이트에도 감염자가 확인되었고, 세계보건기구에 따르면 2014년 5월 15일 기준, 572명의 사람이 감염되었으며, 그중 173명이 사망한 것으로 보고되었다.

[0008] 신종 질환인 중동호흡기증후군은 아직까지 백신이나 치료제가 없으며, 치사율은 30.7%로 중증급성호흡기증후군의 9%에 비하여 매우 높은 수준으로 알려져 있다. 중동호흡기증후군의 잠복기는 1~2주 정도이고, 중증급성호흡기증후군과 증상이 비슷한 것으로 알려져 있다. 그러나, 중동호흡기증후군은 다행스럽게도 공기를 통해 감염되는 않으며, 지속적으로 바이러스에 과다하게 노출된 경우에 감염되는 것으로 보고되고 있다(Enserink, M., 2014).

[0009] 우리나라는 2015년에 중동호흡기증후군이 발병하였으며, 2015년 4월 24일부터 중동호흡기증후군 사태 종결을 선언한 7월 22일까지 국내총생산(GDP) 추정 손실액이 10조원에 달할 정도로 사회적, 경제적으로 엄청난 영향을 주었다. 2015년에 발생한 중동호흡기증후군 사태는 186명의 확진환자가 발생하였고, 사망자 수는 38명으로 치사율이 20.4%임이 보고되었다(Choi, W.S., et al., 2016). 중동에서의 중동호흡기증후군이 한국에서 발병한 이유는 국제간 통행의 자유로 인한 것으로, 이러한 감염병의 세계화에 항상 대비해야 한다는 점을 확인시켜 주었다.

[0010] 일반적인 감기는 상기도(upper airway)에서 시작되는 바이러스 감염에 의한 호흡기 질환을 총괄하여 지칭하기도 하는데, 통상적인 인플루엔자 바이러스(influenza virus) A형, B형 및 C형 외에, 아데노바이러스(adenovirus), 코로나 바이러스(corona virus), 리노바이러스(rhinovirus), RS바이러스(respiratory syncytial virus) 등의 다양한 원인에 의해 발생하므로 치료나 예방, 백신 제조 등이 쉽지 않은 질병에 속한다. 중동호흡기증후군의 경우에는 보통 감기와 다르게 고열, 기침, 호흡곤란 및 급성신부전이 일어난다는 점에 있어서 의료진의 주의 깊은 관찰을 필요로 한다.

[0011] 감기를 시작으로 독감으로 진행되는 과정에서 초기에는 전염력이 높은 리노바이러스가 관찰되며, 병이 진행되면서 코로나 바이러스, RS바이러스 및 아데노바이러스 등이 나타나며, 최종적으로 독감 바이러스인 인플루엔자 바

이러스가 나타난다는 점에 있어서, 감기의 예방과 치료에 있어 코로나 바이러스의 저해제 개발이 시급한 상황이다(Pavia, A.T., 2011).

- [0012] 일반적으로 새로운 성분의 약제를 개발하기 위해 기존 약제를 실험적으로 변형시키는 것보다는 전통 의학에서 사용되고 있는 천연물 약제들로부터 새로운 활성성분을 찾는 것이 여러 가지 면에서 장점이 많다. 특히나, 천연물에 있는 활성 성분들은 오랫동안 사용되어 왔기 때문에 독성에 대한 염려가 적으며, 천연물 자체를 바이러스 치료제로 사용할 수 있는 경우에는 수집 및 분리과정을 거치지 않으므로 시료의 대량 확보가 쉬우며, 비교적 적은 비용으로 치료제를 개발할 수 있다.
- [0013] 미역(*Undaria pinnatifida*)은 갈조류에 속하는 해조류로, 우리나라 전 연안에 분포하고 있으며, 동해 남부 연안과 완도를 중심으로 양식이 성행하고 있다. 미역에는 칼슘의 함량이 많을 뿐 아니라 흡수율이 높아서 칼슘이 많이 요구되는 산모에게 좋고, 갑상선 호르몬의 주성분인 요오드의 함량도 높다. 또한, 혈압 강하작용을 하는 라미닌(laminine)이라는 아미노산이 함유되어 있으며, 혈액 내의 콜레스테롤의 양을 감소시키는 효과도 알려져 있다. 이외에도, 섬유질 함량이 많아서 장운동을 촉진시킴으로써 변비 예방에도 좋고, 자극성 또한 적은 음식이다. 현재까지 보고된 미역의 생리 활성으로는 항혈액응고 활성과 항염증, 항산화, 항세균 작용 등이 있다(Grasa-Lopez, A., et al., 2016; Synytsya, A., et al., 2010; Stao, M., et al., 2002; Quitain, A.T., et al., 2013; Khan, M.N.A., et al., 2007).
- [0014] 이에, 본 발명자들은 미역 추출물을 이용한 항바이러스 활성을 연구하는 과정에서, 본 발명의 미역 추출물이 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 우수함을 확인함으로써 본 발명을 완성할 수 있었다.
- [0015] 종래 선행기술로서 한국공개특허 제2012-0109155호에는 미역귀에 함유되어 있는 푸코이단이라는 성분이 헤르페스 심플렉스 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 있음이 기재되어 있으며, 한국공개특허 제1990-0007498호에는 미역으로부터 분리한 단백질-결합 다당류의 HIV와 같은 레트로바이러스에 대한 항바이러스 활성이 기재되어 있으나, 본원발명의 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성은 기재되어 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0016] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제2012-0109155호, 효소분해로 제조된 미역귀 유래 저분자 푸코 올리고당을 유효 성분으로 포함하는 헤르페스 심플렉스 바이러스에 대한 항바이러스 조성물, 2012. 10. 08. 공개.
- (특허문헌 0002) 한국공개특허 제1990-0007498호, 다당류 및 그것을 활성성분으로 함유하는 항바이러스 약제, 1990. 10. 11. 공고.

비특허문헌

- [0017] (비특허문헌 0001) Choi, W.S., et al., Clinical presentation and outcomes of middle east respiratory syndrome in the Republic of Korea, Infect. Chemother., 48(2), 118-126, 2016.
- (비특허문헌 0002) Cinatl, J., et al., Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus, Lancet, 361(9374), 2045-2046, 2003.
- (비특허문헌 0003) Enserink M., Mission to MERS, Science, 344(6189), 1218-1220, 2014.
- (비특허문헌 0004) Grasa-Lopez, A., et al., Undaria pinnatifida and fucoxanthin ameliorate lipogenesis and marker of both inflammation and cardiovascular dysfunction in an animal model of diet-induced obesity, Mar. Drugs, 14(8), 148-168, 2016.
- (비특허문헌 0005) Khan, M.N.A., et al., Isolation of two anti-inflammatory and one pro-inflammatory polyunsaturated fatty acids from the brown seaweed Undaria pinnatifida, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(17), 6984-6988, 2007.
- (비특허문헌 0006) Pavia, A.T., Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis, Clin. Infect. Dis., 52(Suppl. 4), S284-S289, 2011.
- (비특허문헌 0007) Quitain, A.T., et al., Supercritical carbon dioxide extraction of fucoxanthin from

Undaria pinnatifida, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(24), 5792-5797, 2013.

(비특허문헌 0008) Sato, M., et al., Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from wakame (*Undaria pinnatifida*) and their antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(21), 6245-6252, 2002.

(비특허문헌 0009) Synytsya, A., et al., Structure and antitumour activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed *Undaria pinnatifida*, Carbohydrate Polymers, 81(1), 41-48, 2010.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 본 발명의 목적은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0019] 본 발명은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0020] 상기 미역 추출물은, 미역을 50~100[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올, 아세톤(acetone), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 또는 헥산(hexane)으로 추출한 추출물일 수 있다.

[0021] 상기 미역 추출물은, 미역을 50~100[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올로 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피에 가하여 물, 30[v/v] 에탄올 수용액, 50[v/v] 에탄올 수용액, 80[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤으로 분획한 분획물 중 50[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 80[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물일 수 있다.

[0022] 또 다른 일면에 있어서, 본 발명은 상기 미역 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 개선용 건강기능 식품에 관한 것이다.

[0023] 본 발명은 또한, 상기 미역 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 동물 약품에 관한 것이다.

[0024] 또한, 본원발명은 상기 미역 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 개선용 동물 사료 첨가제에 관한 것이다.

[0025] 또 다른 일면에 있어서, 본 발명은 상기 미역 추출물을 함유하는 코로나 바이러스 예방용 천연소독제에 관한 것이다.

[0026] 이하 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0027] 본 발명은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

[0028] 상기 미역 추출물은, 미역을 물, C1 내지 C4의 저급 알코올, 아세톤(acetone), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 및 헥산(hexane)으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 용매로 추출한 추출물일 수 있다. 바람직하게는 미역을 50~100[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올, 아세톤(acetone), 에틸아세테이트(ethyl acetate) 또는 헥산(hexane)으로 추출한 추출물이다.

[0029] 상기 C1 내지 C4의 저급 알코올은 메탄올(methanol), 에탄올(ethanol), 프로판올(propanol), 이소프로판올(isopropanol), 부탄올(butanol), 이소부탄올(isobutanol) 등일 수 있으며, 바람직하게는 메탄올, 에탄올 및 부탄올 일 수 있으며, 상기 용매는 미역 중량의 5배 내지 50배의 중량을 가할 수 있다.

[0030] 또한, 상기 미역 추출물은, 미역을 50~100[v/v] C1 내지 C4의 저급 알코올 수용액 또는 저급 알코올을 용매로 하여 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피(ion exchange column chromatography)에 가하고, 증류수를 흘려주어 불필요한 물질을 제거한 후, 30[v/v] 에탄올 수용액, 50[v/v] 에탄올 수용액, 80[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤으로 분획한 분획물 중 50[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 80[v/v] 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물일 수 있다.

- [0031] 상기 이온교환 컬럼 크로마토그래피는 이온교환수지가 충전 되어 있는 컬럼 크로마토그래피로, 상기 이온교환수지는 디아이온 HP-20(diaion HP-20), SP825, AXT204, XAD1600T, MN200, SP70, SP710 등에서 선택하여 사용할 수 있다. 바람직하게는 디아이온 HP-20이다.
- [0032] 상기 코로나 바이러스는 중증급성호흡기증후군(severe acute respiratory syndrome, SARS), 중동호흡기증후군(middle east respiratory syndrome, MERS), 코로나 바이러스 감염에 의한 감기(common cold), 개 코로나 바이러스 감염증(canine coronavirus infection), 소 코로나 바이러스 감염증(bovine coronavirus infection), 돼지 호흡기 코로나 바이러스 감염증(porcine respiratory coronavirus disease), 돼지 유행성 설사증(porcine epidemic diarrhea), 돼지 혈구응집성 뇌척수염 바이러스 감염증(haemagglutinating encephalitis virus infection), 조류의 감염성 기관지 바이러스(infectious bronchitis virus), 고양이 코로나 바이러스 감염증(feline coronavirus) 및 기타 다양한 가축의 코로나 바이러스 감염증 등의 질환들을 일으킬 수 있다.
- [0033] 또한, 본 발명은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다. 상기 약학 조성물에는 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물이 0.001중량% 내지 100중량%로 함유될 수 있다.
- [0034] 상기 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁액, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로콜, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0035] 상기 약학 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 0.01mg/kg/일 내지 대략 2000mg/kg/일의 범위이다. 더 바람직한 투여량은 1mg/kg/일 내지 500mg/kg/일이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0036] 상기 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, 자궁 내 경막 또는 뇌척수액 내 주사에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 미역 추출물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.
- [0037] 또한, 본 발명은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물 및 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 포함하는 코로나 바이러스의 개선용 건강기능식품을 제공한다. 상기 미역 추출물은 본 발명의 건강기능식품에 0.001중량% 내지 100중량%로 하여 첨가될 수 있다.
- [0038] 상기 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 미역 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제 등이 있다.
- [0039] 상기 동물사료첨가제는 동물용 사료의 첨가제로 이용될 수 있으며, 본 발명의 미역 추출물이 동물용 사료에 0.001중량% 내지 30중량%, 바람직하게는 0.001중량% 내지 10중량%, 가장 바람직하게는 0.001중량% 내지 5중량%로 첨가될 수 있다.
- [0040] 상기 천연소독제는 코로나 바이러스의 소독용 조성물로, 액제, 정제, 과립제, 산제 등의 다양한 형태의 제제

로 제조가 가능하다.

발명의 효과

[0041] 본 발명은 미역(*Undaria pinnatifida*) 추출물을 함유하는 코로나 바이러스의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 상기 미역 추출물은 코로나 바이러스에 대한 저해 효과가 우수하며, 식재료로 사용되어 왔던 미역으로부터 추출 및 분획한 것이므로, 세포 독성이 적어 의약품, 건강식품, 동물약품, 동물사료 첨가제, 천연 소독제 등에 유용하게 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 본 발명의 미역 추출물의 돼지 유행성 설사증 바이러스(코로나 바이러스)에 대한 항바이러스 활성을 확인한 결과를 보여주고 있다.

도 2는 본 발명의 미역 분획물의 처리 농도에 따른 돼지 유행성 설사증 바이러스(코로나 바이러스)에 대한 항바이러스 활성을 확인한 결과를 보여주고 있다.

도 3은 본 발명의 미역 추출물 처리에 의한 돼지 유행성 설사증 바이러스(코로나 바이러스)의 뉴클레오펙시드 단백질 발현 억제 정도를 형광 염색을 통해 확인한 결과를 보여주고 있다.

도 4는 본 발명의 미역 추출물 처리에 의한 돼지 유행성 설사증 바이러스(코로나 바이러스)의 뉴클레오펙시드 단백질 및 스파이크 단백질 발현 억제 정도를 웨스턴 블랏을 통해 확인한 결과를 보여주고 있다.

도 5는 본 발명의 미역 추출물의 코로나 바이러스 및 인플루엔자 바이러스에 대한 항바이러스 활성을 비교한 결과를 보여주고 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 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.

<실시예 1. 미역 추출물의 제조 및 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성 측정>

실시예 1-1. 미역 추출물의 제조

본 발명에서 사용된 미역은 광주광역시 소재하는 조선대학교 해양갈조식물자원 은행에서 분양받았다.

[0047] 미역 1g에 증류수, 30%[v/v] 에탄올 수용액, 50%[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올, 30%[v/v] 메탄올 수용액, 50%[v/v] 메탄올 수용액, 100% 메탄올, 부탄올(butanol), 아세톤(acetone), 헥산(hexane) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate)를 각각 20ml씩을 가한 후 초음파 추출기로 2시간씩 총 2회 걸쳐 추출물을 추출하였다. 이후, 고형분을 제거한 추출액을 감압 농축하여 각 추출물 당 2.1~190.2mg의 추출물을 얻었으며, 그 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1

추출 용매	미역 추출물	
	추출량(mg)	추출함량(%)
증류수	61.4	6.14
30% 에탄올 수용액	138.1	13.81
50% 에탄올 수용액	190.2	19.02
100% 에탄올	27.3	2.73
30% 메탄올 수용액	126.2	12.62
50% 메탄올 수용액	101.1	10.11
100% 메탄올	49.3	4.93
부탄올	2.1	0.21
아세톤	3.5	0.35
헥산	4.5	0.45
에틸아세테이트	6.6	0.66

[0049] 실시예 1-2. 미역 추출물의 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성 확인

[0050] 상기 실시예 1-1에서 추출한 미역 추출물의 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성을 확인하기 위해 중앙백신 연구소로부터 제공받은 코로나 바이러스에 속하는 돼지 유행성 설사증 바이러스(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV)를 이용하였고, 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성은 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 어세이를 통해 세포변성 효과(cytopathic effect, CPE)에 의한 세포 사멸 정도를 분석함으로써 확인하였다.

[0051] 96웰 플레이트(96 well plate)에 웰 당 1×10^5 개의 베로(VERO) 세포를 분주한 후 10% FBS(fetal bovine serum), 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin) 및 0.4% L-글루타민(L-glutamine)이 포함된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지를 넣고 하루 동안 배양한 후, 배양액을 버리고 PBS(phosphate buffer saline) 용액으로 세척하였다. 이후 세포에 50TCID₅₀/100 μ l/웰의 농도가 되도록 돼지 유행성 설사증 바이러스가 포함된 감염배지(infection media: DMEM+0.5%[w/v] BSA(bovine serum albumin)+1 μ g/ml trypsin) 100 μ l를 처리하고 2시간 동안 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고, PBS로 세포를 세척하고, 하기 표 2의 처리 농도에 따라 본 발명의 미역 추출물을 처리한 후 3일 동안 배양하였다. 이때, 세포에 아무것도 처리하지 않은 것을 정상 대조군으로, 바이러스만을 처리한 것을 음성 대조군으로, 항바이러스제인 아자우리딘(azauridine)을 2 μ g/ml이 되도록 처리한 것을 양성 대조군으로 이용하였다.

[0052] 3일 동안 배양한 세포를 이용하여 MTT 어세이를 수행하였다. 배양한 세포에 MTT 용액을 넣고 37℃에서 반응시킨 후 배양액을 제거하고 DMSO(dimethyl sulfoxide) 200 μ l를 넣었다. 피펫팅으로 잘 섞어 준 다음 10분 동안 방치한 후 550nm에서 흡광도를 측정하여 세포의 생존율을 확인하였다. 이때, 정상 대조군의 세포생존율을 100%로 하고, 이를 기준으로 각 용매에 따른 추출물에 의한 세포생존율을 계산하였고, 그 결과를 도 1 및 표 2에 나타내었다. 표 2의 경우 각 용매에 따른 추출물의 항바이러스 활성으로 인해 돼지 유행성 설사증 바이러스에 의한 세포사멸이 억제되었으므로, 추출물에 의한 세포생존율을 항바이러스 활성과 동일한 개념으로 사용하였다.

표 2

[0053]

추출물	처리 농도 (μ g/ml)	돼지 유행성 설사증 바이러스에 대한 항바이러스 활성(%)
증류수	10	19.9
30% 에탄올 수용액	10	28
50% 에탄올 수용액	10	47.2
100% 에탄올	10	80.6
30% 메탄올 수용액	10	27.7
50% 메탄올 수용액	10	41.6
100% 메탄올	10	87.0
부탄올	10	83.3
아세톤	10	73.5
헥산	5	59.5
에틸아세테이트	5	58.6
아자우리딘	2	52.4

[0054] 도 1 및 상기 표 2에서 보여주듯이, 돼지 유행성 설사증 바이러스만을 처리한 음성 대조군의 경우 바이러스에 의해 세포사멸이 이루어지는 반면에, 항바이러스제인 아자우리딘을 처리한 양성 대조군의 경우에는 바이러스에 의한 세포사멸이 억제되는 것을 알 수 있다. 또한, 본 발명의 미역 추출물을 처리한 경우에는 100% 에탄올, 100% 메탄올, 부탄올 및 아세톤 추출물이 바이러스에 의한 세포 사멸 억제 활성, 즉 항바이러스 활성이 가장 좋은 것으로 확인되었으며, 50% 에탄올 수용액, 50% 메탄올 수용액, 에틸아세테이트 및 헥산 추출물의 경우에도 항바이러스 활성이 있는 것으로 확인되었다.

[0055] 이에 따라, 50% 이상의 에탄올 수용액 또는 에탄올 추출물, 50% 이상의 메탄올 수용액 또는 메탄올, 부탄올, 아세톤, 헥산, 에틸아세테이트를 용매로 하여 추출한 미역 추출물이 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 우수함을 알 수 있었다.

[0056] 나아가, 각각의 용매에 따른 추출량, 돼지 유행성 설사증 바이러스에 대한 항바이러스 활성 및 식품에 사용 가능한 용매를 고려하여, 50% 이상의 에탄올을 용매로 하여 추출하는 것을 최적의 추출 조건으로 결정하였다.

<실시예 2. 미역 분획물의 제조 및 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성 측정>

실시예 2-1. 미역 분획물의 제조

상기 실시예 1-1에서 추출한 추출물을 이온교환 컬럼 크로마토그래피(ion exchange column chromatography) 종류 중 하나인 디아이온 HP-20 컬럼 크로마토그래피(diaion HP-20 column chromatography)에 적용하여 분획물을 제조하였다.

상기 실시예 1-1에서 추출한 추출물 중 50%[v/v] 에탄올 수용액을 용매로 사용하여 추출한 미역 추출물 30g을 물에 현탁하고 HP-20 컬럼 크로마토그래피에 가하여 HP-20 수지(resin)에 흡착시킨 후, 증류수를 흘려주어 불필요한 극성물질, 염류 및 후코이단(fucoidan)과 같은 다당류를 제거하였다(증류수 분획물). 이후 30%[v/v] 에탄올 수용액, 50%[v/v] 에탄올 수용액, 80%[v/v] 에탄올 수용액, 100% 에탄올 또는 아세톤을 가하여 HP-20 수지에 흡착된 물질을 용출시켜 30% 에탄올 수용액 분획물, 50% 에탄올 수용액 분획물, 80% 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물을 확보하였다.

실시예 2-2. 미역 분획물의 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성 확인

상기 실시예 2-1의 미역 분획물의 항바이러스 활성을 상기 실시예 1-2와 동일한 방법으로 확인하였다.

각 분획물은 최종 처리 농도가 1 μ g/ml, 2 μ g/ml, 5 μ g/ml 및 10 μ g/ml이 되도록 처리하고, 양성 대조군인 아자우리딘은 5 μ M이 되도록 처리하였고, 바이러스만을 처리한 것을 음성 대조군으로 이용하였으며, 그 결과를 도 2 및 표 3에 나타내었다.

표 3

분획물	처리 농도	돼지 유행성 설사증 바이러스에 대한 항바이러스 활성(%)
증류수	10 μ g/ml	18
30% 에탄올 수용액	10 μ g/ml	22
50% 에탄올 수용액	10 μ g/ml	65
80% 에탄올 수용액	10 μ g/ml	63
100% 에탄올	5 μ g/ml	54
아세톤	10 μ g/ml	74
아자우리딘	5 μ M	54
음성대조군	-	13

도 2의 각 분획물의 처리 농도에 따른 항바이러스 활성을 확인한 결과를 살펴보면, 50% 에탄올 수용액 분획물, 80% 에탄올 수용액 분획물 및 아세톤 분획물의 경우에는, 각각의 분획물 처리 농도 의존적으로 항바이러스 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 반면에, 100% 에탄올 분획물의 경우에는 처리 농도가 2 μ g/ml일 때 가장 높은 항바이러스 활성을 나타내고, 10 μ g/ml일 때는 세포 독성을 일으키는 것으로 확인되었다. 따라서, 100% 에탄올 분획물의 경우에는 낮은 농도(최대 5 μ g/ml)를 이용하는 것이 바람직하다.

또한, 상기 표 3에서 보여주듯이, 미역 추출물을 디아이온 HP-20 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 분획한 분획물 중 50% 에탄올 수용액 분획물, 80% 에탄올 수용액 분획물, 100% 에탄올 분획물 및 아세톤 분획물에서 돼지 유행성 설사증 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 높은 것을 확인한 반면, 30% 에탄올 수용액 분획물의 경우에는 돼지 유행성 설사증 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 낮은 것을 알 수 있었다.

한편, 상기 표 3의 증류수 분획물은 항바이러스 활성이 있다고 알려진 후코이단과 같은 미역의 다당류 성분이 포함되어 있는 분획물임에도 불구하고, 돼지 유행성 설사증 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 낮은 것을 확인하였다.

이를 통해, 본 발명의 미역 분획물의 유행성 설사증 바이러스와 같은 코로나 바이러스에 대한 항바이러스 활성이 미역의 후코이단 성분과는 관계가 없다는 것을 알 수 있었다.

따라서, 미역 추출물을 디아이온 HP-20 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 분획물을 제조할 경우, 30% 에탄올 수용액으로 컬럼을 세척한 후, 50% 이상의 에탄올 수용액 및 100% 에탄올을 이용하여 분획하는 방법을 확립하였다.

[0070] <실시예 3. 미역 추출물의 코로나 바이러스 표면 단백질 발현 억제 효과 확인>

[0071] 실시예 3-1. 형광 현미경 측정법 이용

[0072] 상기 실시예 1-1에서 추출한 미역 추출물이 코로나 바이러스인 돼지 유행성 설사증 바이러스의 단백질 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해, 바이러스의 복제과정에서 중요한 뉴클레오캡시드(nucleocapsid) 단백질을 형광현미경을 이용하여 관찰하였다.

[0073] 멸균 처리된 유리 커버슬라이드가 들어 있는 6웰 플레이트에 배로 세포를 분주한 후, 커버슬라이드에 단층으로 세포가 성장하도록 배양하였다. 배양한 세포에 돼지 유행성 설사증 바이러스를 0.01MOI(multiplicity of infection)로 처리하여 2시간 동안 감염시켰다. 이후, 신선한 DMEM 배지로 교체시킨 후, 상기 실시예 1-1의 미역 추출물을 처리하고 37℃, 5% CO₂ 상태에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 한 세포를 PBS로 3회 세척하고, 4% 파라포름알데히드(paraformaldehyde) 용액을 넣고 상온에서 30분 동안 처리하여 세포를 고정시키고, 1% BSA를 1시간 동안 처리한 후, PBS에 1:50 비율로 희석한 돼지 유행성 설사증 바이러스의 뉴클레오캡시드 단백질에 대한 단일 클론 항체를 하룻밤 동안 처리하였다. 항체 처리된 세포를 PBS로 세척한 후 형광물질인 FITC(fluorescein isothiocyanate)가 표지되어 있는 2차 항체를 1시간 동안 처리하였다. 이후, 세포에 500nm DAPI(4',6-diamidion-2-phenylindol)를 10분 동안 처리하여 세포의 핵을 염색시키고, PBS로 세척한 후, 형광현미경을 이용하여 세포를 관찰하였고, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0074] 도 3에서 보여주듯이, 돼지 유행성 설사증 바이러스만을 처리한 음성 대조군(without treatment)의 경우에는 FITC 형광이 강하게 나타나는 반면, 본 발명의 미역 추출물인 100% 에탄올 추출물(EtOH), 100% 메탄올 추출물(MeOH), 부탄올 추출물(BuOH), 아세톤 추출물(Acetone), 헥산 추출물(Hexane) 및 에틸아세테이트(EtOAc) 추출물을 처리한 경우에는 FITC 형광이 음성 대조군과 대비하여 현저하게 감소된 것을 확인하였다.

[0075] 이를 통해, 본 발명의 미역 추출물이 코로나 바이러스의 뉴클레오캡시드 단백질의 발현을 억제시킴으로써 항바이러스 활성을 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

[0076] 실시예 3-2. 웨스턴 블롯(Western blot) 이용

[0077] 상기 실시예 1-1에서 추출한 미역 추출물이 코로나 바이러스의 표면 단백질 발현에 미치는 영향을 확인하기 위해, 바이러스의 복제 과정에서 중요한 스파이크(spike) 및 뉴클레오캡시드 단백질의 발현을 웨스턴 블롯을 이용하여 확인하였다.

[0078] 6웰 플레이트에 배로 세포가 90% 정도 차도록 배양한 후, 돼지 유행성 설사증 바이러스 0.01 MOI를 2시간 처리하여 감염시켰다. 이후, PBS로 세포를 세척한 후 -80℃에 보관하여 얼리고, 얼어있는 세포에 100μl의 세포 용해 버퍼(cell lysis buffer, 50mM NaF, 0.5%[v/v] NP-40, 1mM EDTA, 120mM NaCl, 50mM Tris-HCl, pH 7.6)를 넣고 세포를 용해시킨 후 4℃, 12,000rpm으로 20분 동안 원심 분리하여 상층액을 확보하였다. 확보한 상층액의 농도를 단백질 정량 키트(protein assay kit)를 이용하여 확인한 후, 동일한 양의 단백질을 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate poly acrylamide gel electrophoresis)를 이용하여 전기 영동하였다. 전기영동을 통해 분자량 별로 분리된 단백질을 PVDF(polyvinylidene fluoride) 멤브레인(membrane)으로 이동시킨(transfer) 후에, 멤브레인을 5% 탈지유(skim milk)에 넣고 상온에서 1시간 처리한 후, 바이러스의 스파이크 및 뉴클레오캡시드에 대항하는 항체(AbFrontier Co., Ltd., 서울, 한국)를 각각 처리하였다. 처리한 항체를 제거하고 멤브레인을 세척한 후, 각각의 항체에 대항하는 2차 항체를 처리한 후, ECL(enhance chemiluminescence) 용액을 이용하여 단백질 밴드를 확인하였고, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0079] 도 4(A)는 웨스턴 블랏의 단백질 밴드를 보여주고 있고, 도 4(B)는 이러한 단백질 밴드를 정량하여 그래프로 나타낸 것으로, 도 4에서 보여주듯이, 본 발명의 미역 추출물을 처리한 경우에, 바이러스의 뉴클레오캡시드 및 스파이크 단백질의 발현이 바이러스만 처리한 음성 대조군에 비해 감소되는 것을 확인하였다.

[0080] 이를 통해, 본 발명의 미역 추출물이 돼지 유행성 설사증 바이러스와 같은 코로나 바이러스의 복제에 관련되어 있는 뉴클레오캡시드 단백질 및 스파이크 단백질의 발현을 억제함으로써 항바이러스 활성을 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

[0081] <실시예 4. 미역 추출물의 코로나 바이러스 특이적 항바이러스 활성 확인>

[0082] 미역 추출물로부터 분리한 후코이단과 같은 다당류 성분이 인플루엔자 바이러스(influenza virus), 헤르페스 심플렉스 바이러스(herpes simplex virus) 등에 항바이러스 활성이 있음이 보고되었다. 따라서, 본 발명의 미역

추출물이 코로나 바이러스 특이적 항바이러스 활성을 나타내는지 확인하기 위해, 코로나 바이러스인 돼지 유행성 설사증 바이러스와 인플루엔자 바이러스인 돼지 인플루엔자 바이러스(swine influenza virus, H1N1형)를 이용하여 항바이러스 활성을 비교하였다.

[0083] 미역 추출물의 항바이러스 활성을 확인하기 위해서, 상기 실시예 1-2의 방법과 동일하게 진행하였으며, 돼지 인플루엔자 바이러스를 감염시키기 위한 세포로는 배로 세포 대신 MDCK 세포를 이용하였다. 미역 추출물의 경우에는 50% 에탄올 수용액 미역 추출물을 10 μ g/ml 및 20 μ g/ml이 되도록 처리하였고, 코로나 바이러스에 대한 양성 대조군으로는 아자우리딘 5 μ g/ml을, 인플루엔자 바이러스에 대한 양성 대조군으로는 리바비린(ribavirin) 10 μ g/ml을 처리하였다.

[0084] 도 5에서 보여주듯이, 50% 에탄올 수용액 미역 추출물의 항바이러스 활성이 돼지 인플루엔자 바이러스 대비, 돼지 유행성 설사증 바이러스에서 더 높게 나타나는 것을 확인하였다. 특히나, 돼지 유행성 설사증 바이러스에 대한 본 발명의 미역 추출물의 항바이러스 활성이 양성 대조군인 아자우리딘을 처리한 것과 비슷한 수준으로 나타났다.

[0085] 이를 통해, 본 발명의 미역 추출물은 코로나 바이러스에 의한 세포 사멸을 저해함으로써, 우수한 항코로나 바이러스 활성을 나타냄을 알 수 있다.

[0086] <실시예 5. 독성실험>

[0087] 실시예 5-1. 급성독성

[0088] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물을 단기간에 과량을 섭취하였을 때의 급성적(24시간 이내)으로 동물 체내에 미치는 독성을 조사하고, 치사율을 결정하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 일반적인 마우스인 ICR 마우스 계통 20마리를 준비하였고, 각 군별로 10마리씩 배정하였다. 대조군에는 30% PEG-400만을 투여하고, 실험군은 상기 50% 에탄올 미역 추출물을 1.0g/kg의 농도로 각각 경구 투여하였다. 투여 24시간 후에 각각의 치사율을 조사한 결과, 대조군과 1.0g/kg 농도의 상기 50% 에탄올 미역 추출물을 투여한 실험 군에서는 모두 생존하였다.

[0089] 실시예 5-2. 실험군 및 대조군의 장기 및 조직 독성 실험

[0090] 장기 독성 실험은 C57BL/6J 생쥐를 대상으로 동물의 각 장기(조직)에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물을 1.0g/kg의 농도로 투여한 실험군과 용매만을 투여한 대조군의 동물들로부터 8주 후 혈액을 채취하여 GPT(glutamate-pyruvate transferase) 및 BUN(blood urea nitrogen)의 혈액 내 농도를 Select E(Vital Scientific NV, Netherland) 기기를 이용하여 측정하였다. 그 결과, 간독성과 관계있는 것으로 알려진 GPT와 신장독성과 관계있는 것으로 알려진 BUN의 경우, 대조군과 비교하여 실험군은 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한, 각 동물로부터 간과 신장을 절취하여 통상적인 조직절편 제작과정을 거쳐 광학현미경으로 조직학적 관찰을 시행하였으며 특이한 이상이 관찰되지 않았다.

[0091] <제제예 1. 약학적 제제>

[0092] 제제예 1-1. 정제의 제조

[0093] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물 20g을 락토오스 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄해서 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활석 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.

[0094] 제제예 1-2. 주사제의 제조

[0095] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물 1g, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100ml을 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.

[0096] <제제예 2. 식품 제조>

[0097] 제제예 2-1. 조리용 양념의 제조

[0098] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물을 0.2~10중량%로 조리용 양념에 첨가하여 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였다.

[0099] 제제예 2-2. 밀가루 식품의 제조

[0100] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물을 0.1~5.0중량%로 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하였다.

[0101] 제제예 2-3. 스프 및 육즙(gravies)의 제조

[0102] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물을 0.1~1.0중량%로 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 스프 및 육즙을 제조하였다.

[0103] 제제예 2-4. 유제품(dairy products)의 제조

[0104] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물을 0.1~1.0중량%로 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

[0105] 제제예 2-5. 야채주스 제조

[0106] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물 0.5g을 토마토 또는 당근 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 야채주스를 제조하였다.

[0107] 제제예 2-6. 과일주스 제조

[0108] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물을 사과 또는 포도 주스 1,000ml에 가하여 건강 증진용 과일주스를 제조하였다.

[0109] <제제예 3. 사료첨가제 제조>

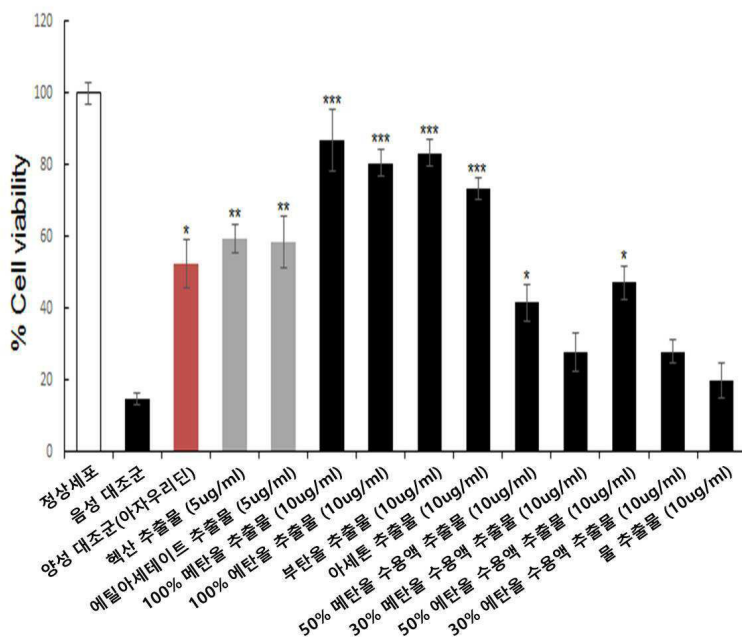
[0110] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물 10.0g을 사료용 부형제 50.0g과 섞어 사료첨가제를 제조하였다. 그러나, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 사료조성물 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 제조에 사용할 수 있다.

[0111] <제제예 4. 소독물의 제조>

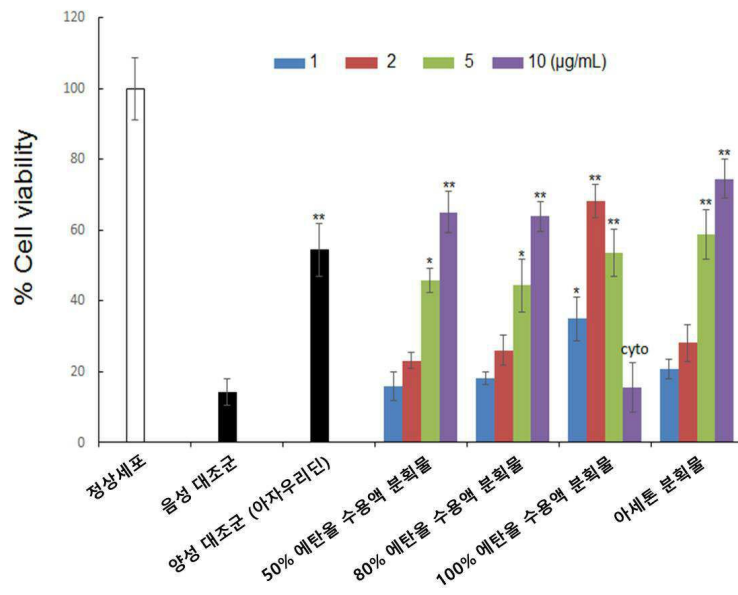
[0112] 본 발명의 50% 에탄올 수용액으로 추출한 미역 추출물 3.0g을 첨가한 후 정제수를 1,000ml에 가하여 무방부제용 천연소독제를 제조하였다.

도면

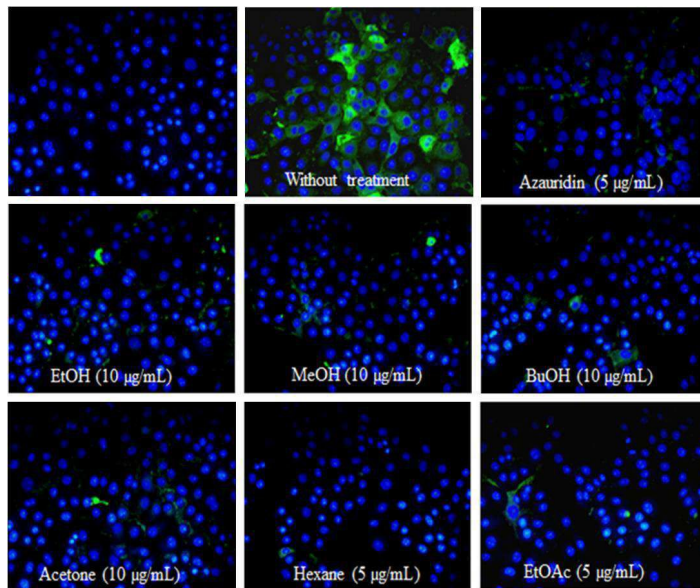
도면1



도면2

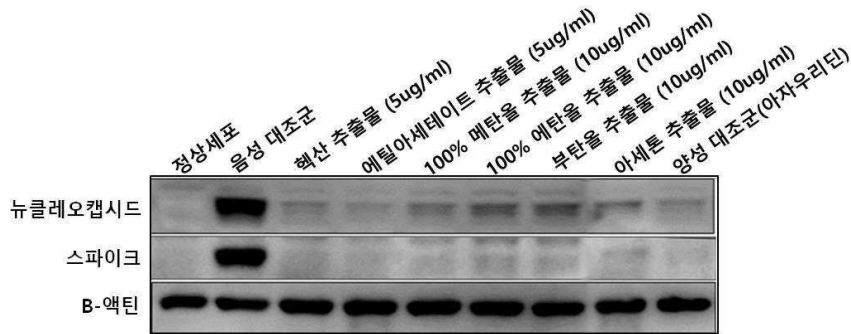


도면3

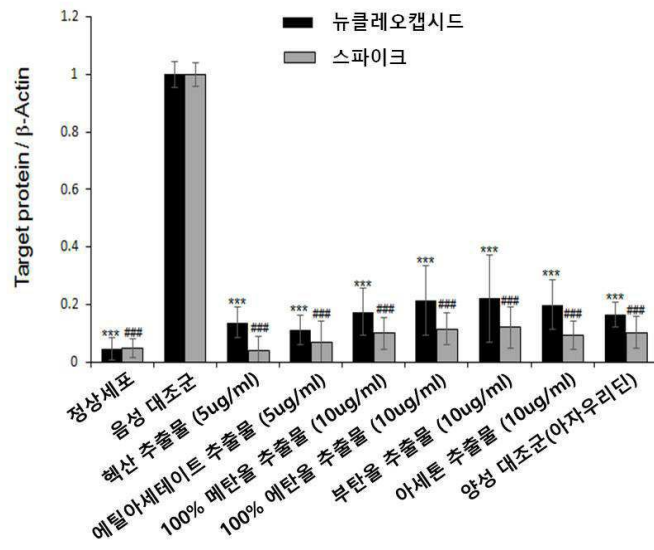


도면4

(A)



(B)



도면5

