

(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup> A61K 35/78	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2005년07월20일 10-0501831 2005년07월07일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호 (22) 출원일자	10-2003-0029742 2003년05월12일	(65) 공개번호 (43) 공개일자	10-2004-0097445 2004년11월18일
------------------------	--------------------------------	------------------------	--------------------------------

(73) 특허권자            한국생명공학연구원  
                              대전 유성구 어은동 52번지

(72) 발명자                권두한  
                              대전광역시유성구전민동엑스포아파트308동204호

                              이희구  
                              대전광역시동구용전동신동아아파트14동405호

                              최용경  
                              대전광역시동구용전동한숲아파트103동1504호

                              윤도영  
                              대전광역시유성구전민동엑스포아파트106동605호

                              임종석  
                              대전광역시유성구전민동엑스포아파트212동102호

                              최인성  
                              대전광역시유성구신성동152-1두레아파트102동1504호

                              이영희  
                              대전광역시유성구신성동한울아파트105동801호

                              김재화  
                              대전광역시유성구어은동한빛아파트132동403호

                              송은영  
                              대전광역시서구둔산동아너스빌1809호

                              김만배  
                              경상남도진주시초전동1085-1

(74) 대리인                백남훈  
                              이학수

심사관 : 여호섭

(54) 코로나바이러스에 대한 항바이러스제

요약

본 발명은 코로나바이러스에 대한 항바이러스제에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC), 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau), 누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb), 화살나무(*Euonymus alatus* Sieb), 조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam), 고삼(*Sophora flavescens* Ait), 무화과나무(*Ficus carica* Linne), 까마중(*Solanum nigrum* Linne), 창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne), 오갈피나무(*Acanthopanax*

*sessiliflorus* Seemann) 및 마황(*Ephedra sinica* Stapf) 등의 생약재 추출물이 포유동물에서 호흡기 질환, 소화기 질환, 간질환, 뇌질환 등을 일으키는 바이러스인 코로나바이러스(coronavirus)에 대해 항바이러스 활성을 가짐을 밝힘으로써 상기 추출물을 포함하는 항바이러스제에 관한 것이다.

색인어

코로나바이러스, 항바이러스제

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 코로나바이러스에 대한 항바이러스제에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC), 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau), 누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb), 화살나무(*Euonymus alatus* Sieb), 조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam), 고삼(*Sophora flavescens* Ait), 무화과나무(*Ficus carica* Linne), 까마중(*Solanum nigrum* Linne), 창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne), 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorus* Seemann) 및 마황(*Ephedra sinica* Stapf) 등의 생약재 추출물이 포유동물에서 호흡기 질환, 소화기 질환, 간질환, 뇌질환 등을 일으키는 바이러스인 코로나바이러스(coronavirus)에 대해 항바이러스 활성을 가짐을 밝힘으로써 상기 추출물을 포함하는 항바이러스제에 관한 것이다.

코로나바이러스(coronavirus)는 포유류와 조류에서 호흡기질환, 소화기 질환, 간질환, 뇌질환 등을 일으키는 RNA 바이러스이다[Thomas M. Gallagher TM, and Michael J. Buchmeier MJ (2001) Coronavirus Spike Proteins in Viral Entry and Pathogenesis. *Virology*, 279(2) : 371-374.]. 특히, 코로나바이러스에 속하는 바이러스 중에서 돼지 전염성 위장염 바이러스(TGEV, transmissible gastroenteritis virus)와 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV, porcine epidemic diarrhea virus)는 매우 전염성이 높은 바이러스성 질병으로 위장관 소화기계통에 침입하여 구토, 설사로 인한 탈수와 고열을 일으키며 치사률도 높아서 상당한 경제적 손실을 유발하는 바이러스이다[Duarte M, Laude H (1994) Sequence of the spike protein of the porcine epidemic diarrhoea virus. *J Gen Virol.*, 75 (Pt 5) : 1195-200.]. 이들 바이러스는 치사률이 매우 높음에도 불구하고 다른 바이러스감염으로 인한 질병처럼 치료제가 개발되어 있지 않다. 따라서, 바이러스 감염을 방지하기 위한 백신개발연구가 진행되고 있으나 아직 효율성이 떨어지는 실정이다[Alonso S, Sola I, Teifke JP, Reimann I, Izeta A, Balasch M, Plana-Duran J, Moormann RJ, Enjuanes L (2002) In vitro and in vivo expression of foreign genes by transmissible gastroenteritis coronavirus-derived minigenomes. *J Gen Virol.*, 83(Pt 3) : 567-79.].

식물은 오랫동안 여러 질병에 대한 치료수단의 하나로 사용되어 왔다[Seeff LB, Lindsay KL, Bacon BR, Kresina TF, Hoofnagle JH (2001) Complementary and alternative medicine in chronic liver disease. *Hepatology*, 34(3) : 595-603.; Langmead L, Rampton DS (2001) Herbal treatment in gastrointestinal and liver disease--benefits and dangers. *Aliment Pharmacol Ther.*, 15(9) : 1239-52.]. 바이러스질환 역시 여러 식물에서 항바이러스능을 가지고 있음이 보고되고 있으나[Kinghorn AD (1994) The discovery of drugs from higher plants. *Biotechnology*, 26 : 81-108.; Patrick L (1999) Hepatitis C: epidemiology and review of complementary/alternative medicine treatments. *Altern Med Rev.*, 4(4) : 220-38.], 코로나바이러스에 대한 항바이러스능을 가지는 식물에 대한 연구는 많지 않다[McCutcheon AR, Roberts TE, Gibbons E, Ellis SM, Babiuk LA, Hancock RE, Towers GH (1995) Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.*, 49(2) : 101-10.].

초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC)는 식물??향신료??한방재 등으로 다양하게 이용되고 있다. 어린 잎은 향신료나 약용재로 직접 사용된다. 열매는 기름이 많기 때문에 식용유로 사용되고 있으며, 한방에서는 방향성 건위제나 장대사 촉진제로 사용되는데 산초(산초나무가 아님) 또는 애초라는 이름으로 불리고 있다. 또한, 한방에 따르면 동맥 경화나 충치, 풍치에 초피나무의 잎을 다려먹으면 좋다고 하지만 구체적인 효과는 아직 과학적으로 밝혀지지 않고 있다.

꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau)는 옛부터 민간에서 널리 이용되어 왔으며, 활을 만드는 재료로 쓰여 활뽕나무라고도 부른다. 꾸지뽕나무 열매도 뽕나무 열매인 오디처럼 오래 먹으면 머리와 수염이 검어지고 신장의 기능이 좋아진다. 특히, 여성들의 여러 가지 질병에 좋은 약이 된다. 부인의 붕중혈결(崩中血結)을 다스리고 월경을 통하게 하며 어혈을 풀고 신장의 결석을 없앤다. 또한, 근골을 튼튼하게 하고 혈액을 맑게 하는 작용이 있다.

누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb)는 낙엽활엽소고목(소고목)과로 열매를 취동자(臭棟子), 꽃을 취동화(臭棟花), 뿌리를 취동근(臭棟根)이라고 한다. 식용, 약용으로 이용되는데, 어린 잎은 나물로 먹고, 약으로 쓸 때는 탕으로 하거나 환제, 산제로 하여 사용한다. 주로 신경계, 순환계 질환 등을 다스린다.

화살나무(*Euonymus alatus* Sieb)은 봄철 연한 새순을 삶아서 무침나물로 하면 씹히는 맛이 일품이며, 특히 삶아도 연녹색이 변하지 않아 시각적 효과가 크다. 한약으로는 열매와 날개를 이용하며, 동맥경화, 혈전증, 기침, 거담, 산후어혈, 중풍 치료제 등으로 쓰이고 있다.

조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam)는 중국 원산지이며, 꼬투리는 편평하고 길이 20 cm, 나비 3 cm이며 비틀리지 않고 쪼개면 매운 냄새가 난다. 꽃은 6월에 담황백색으로 피고 열매는 협과로 10월에 익는다. 가시를 조각자라고 하며, 소종·배농 등의 효능이 있어 각종 종기에 쓴다.

고삼(*Sophora flavescens* Ait)은 각처의 산과 들에서 자라는 여러해살이풀로 온 몸이 노랑색의 짧은 털이나 있다. 뿌리는 굵고, 줄기는 곧게 서며 키는 80 ~ 120 cm이다. 잎은 어긋나고 깃꼴겹잎으로 길이는 15 cm 정도이며 작은 잎은 긴 타원형이다. 꽃은 연한 노랑색으로 총상꽃차례를 이루며, 초여름에 가지 끝에 20 cm 정도의 꽃자루가 나와 연노랑색 나비 모양의 꽃이 핀다. 열매는 9 ~ 10월에 맺는데 원통 모양으로 종자와 종자 사이가 잘록하게 들어가 마치 염주같다. 뿌리는 대단히 쓰며 위장약으로 쓰이고 민간에서는 구더기를 죽이는 데에 이용했다.

무화과나무(*Ficus carica* Linne)는 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 낙엽성 관목으로 키는 2 ~ 6 m까지 자란다. 잎은 마치 손바닥모양으로 3 ~ 5개로 깊게 갈라져 있으며 꽃은 여름에 핀다. 무화과라는 이름은 꽃이 꽃받기(화낭)속에 숨어 있어서 보이지 않기 때문에 붙여진 이름이며 과실은 은화과(隱花果)로 가을에 황색 또는 흑자색으로 익는다. 무화과는 옛부터 종기가 나거나 부어오른 곳에 무화과 습포를 하면 효과를 볼 수 있고, 무화과 나무잎을 치질에 이용하기도 하지만 과학적으로 증명된 바는 없다.

까마중(*Solanum nigrum* Linne)은 일명 까마중이라고도 한다. 식용, 약용으로 이용되는데, 약으로 쓸 때는 온포기는 탕으로 하여 사용하고 익은 열매는 생식한다. 특히, 급만성 기관지염이나 개고기, 돼지고기, 쇠고기를 먹고 체했을 때에는 온포기를 달여서 복용하거나 열매를 한 움큼 따서 먹으면 효험이 있다. 주로 소화기, 순환계 질환 등을 다스리며 폐 기능을 보호해준다.

창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne)은 온포기를 창이(蒼耳), 뿌리를 창이근(蒼耳根)이라고 한다. 식용, 약용으로 이용되는데, 줄기나 잎을 황정(黃精: 동굴레의 뿌리)과 함께 5 ~ 6시간 쪄낸 후에 황정을 건져낸 다음 사용한다. 열매는 볶거나 술에 담갔다가 건져내어 써서 사용한다. 약으로 쓸 때는 탕으로 하거나 환제, 산제로 하여 사용하며 술을 담그기도 한다.

오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorus* Seemann)의 꽃은 8 ~ 9월에 피고 자줏빛이며 작은 꽃줄기가 짧고 꽃이 산형꽃차례에 밀생한다. 열매는 핵과(核果)로 다소 편평한 타원형이며 10월에 검게 익는다. 뿌리껍질을 오갈피라고 하며 한방에서 강장제 및 진통제로 사용하고, 수피는 오갈피술을 만드는 데 쓴다.

마황(*Ephedra sinica* Stapf)은 건조한 높은 지대나 모래땅에서 자란다. 줄기는 곧게 서며 속새 같은 가지가 많이 갈라진다. 마디가 많고 마디에 비늘 같은 막질(膜質:얇은 종이처럼 반투명한 것) 잎이 1쌍씩 달리며 밑은 합쳐져서 원줄기를 둘러싼다. 뿌리는 나무처럼 단단하며 붉은빛을 띤 갈색이다. 원줄기는 한약재로서 발한·해열·진해·이뇨제의 효능이 있고 열병과 천식치료에 사용한다.

상기와 같은 생약재들은 항바이러스제로 사용한 예는 거의 드물며, 특히 코로나바이러스에 대한 항바이러스 활성은 전혀 연구된 바 없다.

**발명이 이루고자 하는 기술적 과제**

이에, 본 발명자들은 코로나바이러스에 대한 항바이러스 활성을 갖는 생약재를 찾고자 노력한 결과, 초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC)의 줄기, 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau)의 줄기껍질, 누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb)의 잎, 화살나무(*Euonymus alatus* Sieb)의 줄기, 조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam)의 줄기, 고삼(*Sophora flavescens* Ait)의 뿌리, 무화과나무(*Ficus carica* Linne)의 열매, 까마중(*Solanum nigrum* Linne)의 줄기, 창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne)의 열매 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorus* Seemann)의 줄기 및 마황(*Ephedra sinica* Stapf)의 잎에서 얻은 수용성 추출물이 포유동물에서 호흡기 질환, 소화기 질환, 간질환, 뇌질환 등을 일으키는 코로나바이러스에 대해 항바이러스 활성을 가짐을 밝힘으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서, 본 발명은 초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC)의 줄기, 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau)의 줄기껍질, 누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb)의 잎, 화살나무(*Euonymus alatus* Sieb)의 줄기, 조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam)의 줄기, 고삼(*Sophora flavescens* Ait)의 뿌리, 무화과나무(*Ficus carica* Linne)의 열매, 까마중(*Solanum nigrum* Linne)의 줄기, 창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne)의 열매, 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorus* Seemann)의 줄기 및 마황(*Ephedra sinica* Stapf)의 잎 중에서 선택된 수용성 추출물을 포함하는 코로나바이러스(coronavirus)에 대한 항바이러스제를 제공하는데 그 목적이 있다.

**발명의 구성 및 작용**

본 발명은 초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC)의 줄기, 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau)의 줄기껍질, 누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb)의 잎, 화살나무(*Euonymus alatus* Sieb)의 줄기, 조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam)의 줄기, 고삼(*Sophora flavescens* Ait)의 뿌리, 무화과나무(*Ficus carica* Linne)의 열매, 까마중(*Solanum nigrum* Linne)의 줄기, 창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne)의 열매, 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorus* Seemann)의 줄기 및 마황(*Ephedra sinica* Stapf)의 잎 중에서 선택된 수용성 추출물을 포함하는 코로나바이러스(coronavirus)에 대한 항바이러스제를 그 특징으로 한다.

이와 같은 본 발명을 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다.

본 발명은 초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC), 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau), 누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb), 화살나무(*Euonymus alatus* Sieb), 조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam), 고삼(*Sophora flavescens* Ait), 무화과나무(*Ficus carica* Linne), 까마중(*Solanum nigrum* Linne), 창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne), 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorus* Seemann) 및 마황(*Ephedra sinica* Stapf)을 각각 물로 추출하여 수용성 추출물을 얻거나 상기 생약재를 일정비율 섞어 물로 추출하여 수용성 추출물을 얻는다. 상기 수용성 추출물이 돼지, 개, 소, 인간 등의 포유동물에서 호흡기 질환, 소화기 질환, 간질환, 뇌질환 등을 일으키는 바이러스인 코로나바이

러스(coronavirus)에 대해 항바이러스 활성을 가짐을 확인하였으며, 이중 돼지 전염성 위장염 바이러스(TGEV, transmissible gastroenteritis virus)와 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV, porcine epidemic diarrhea virus)에 대한 증식억제능을 분석한 결과, 초피나무, 누리장나무, 고삼, 창이자, 오가피나무 추출물은 투여량에 비례하여 TGEV 증식억제능을 나타내었으며, 초피나무, 꾸지뽕나무, 누리장나무, 조각자나무, 고삼, 화살나무, 무화과나무, 까마중, 마황에서는 PEDV의 증식억제능을 나타냄을 확인하였다. 특히, 상기 추출물 단독으로 처방하여도 효능이 우수하지만, 혼합처방하면 더욱 우수한 효능을 나타내었다.

따라서, 본 발명에 따른 수용성 추출물은 코로나바이러스로 인한 질환치료에 큰 도움이 될 수 있으리라 기대된다.

본 발명에 따른 수용성 추출물을 의학적으로 이용시에는 약제학적 분야에서 통상적인 담체와 함께 배합한 제제, 예를 들면 정제, 캡슐제, 트로키제, 액제, 현탁제 등의 경구투여용 제제; 주사용 용액 또는 현탁액, 또는 주사시에 주사용 증류수로 제조하여 사용할 수 있는 즉시 사용형 주사용 건조분말 등의 형태인 주사용 제제; 또는 연고제 등의 다양한 제제로 제형화할 수 있다. 통상적인 담체를 상용하여 제조된 약학적 제제는 경구적으로 투여하거나, 비경구적으로 예를 들면 정맥내, 피하, 복강내 또는 국소적용할 수 있다.

또한, 수용성 추출물의 투여량은 포유동물의 무게, 연령 상태 등에 따라 차이가 있으나, 일반적으로 1일에 50 mg/kg, 바람직하게는 20 ~ 100 mg/kg의 양이 투여되도록 하며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정시간 간격으로 1일 수회, 바람직하기로는 1회 내지는 4회 분할 투여할 수 있다.

이하, 본 발명은 다음 실시예에 의거하여 더욱 상세히 설명하겠는바, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

**참조예 1: 수용성 추출물의 제조**

초피나무의 줄기, 꾸지뽕나무의 줄기껍질, 누리장나무의 잎, 화살나무의 줄기, 조각자나무의 줄기, 고삼의 뿌리, 무화과나무의 열매, 까마중의 줄기, 창이자나무의 열매, 오가피나무의 줄기는 경남농업기술원 약초시험장 전신포에서 각각 채취하였으며, 마황의 잎은 금산 약초시장에서 구입하여 분석하였다. 각각의 재료를 건조시키고 각각의 중량에 대해 증류수 10 배량을 넣어 80 °C에서 1 시간동안 중탕하고 12000 rpm으로 20 분간 원심분리하여 불용성 물질을 제거하고 상등액을 동결건조시켜 수용성 추출물을 제조하였다.

**참조예 2: 바이러스의 배양**

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물의 항바이러스능을 측정하기 위해 사용된 바이러스는 전염성 위장염 바이러스(TGEV)와 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV)를 대상으로 하였으며, TGEV는 ST세포에서 배양하였고 PEDV는 Vero 세포에서 배양하였다. ST세포와 Vero세포는 소아태아혈청이 10% 포함된 MEM(minimal essential media) 배지를 사용하여 37 °C 배양기에서 배양하였다.

**실시예 1: 바이러스 억제능 분석**

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물의 TGEV와 PEDV에 대한 바이러스 증식억제능을 측정하기 위해서, ST세포와 Vero세포를 96 웰 플레이트(well plates)에서 배양하고 각 세포들이 90%이상 웰의 바닥에 차있을 때 기존 배양액을 제거하고 TGEV와 PEDV가 포함된 새 배양액을 각 웰에 투여하고 각 식물추출액은 농도(250, 500, 1000 µg/ml media) 별로 웰에 투여하였다. 각 추출물의 바이러스 증식 억제능 측정은 TGEV 또는 PEDV를 48시간 동안 ST 또는 Vero 세포에 감염시킨 후에 살아있는 세포를 SRB 분석법[Martin A, Martin C (1997) Comparison of 5 microplate colorimetric assay for in vitro cytotoxicity testing and cell proliferation assay. Cytotechnology, 11 : 49-54.]으로 측정하였다. 각 웰에 10% TCA(trichloroacetic acid)를 100 µl씩 첨가한 후 1시간 동안 4 °C에 방치하고 증류수로 수회 세척하였다. 실온에서 건조시킨 후 1%(v/v) 아세트산에 녹인 0.4% (w/v) SRB(sulforhodamine B) 용액 100 µl를 첨가해 30분 동안 염색시켰다. 세포와 결합하지 않은 SRB 염색액은 1%(v/v) 아세트산으로 수회 세척한 다음 다시 건조시켰다. 각 웰 바닥에 있는 세포의 형태를 현미경카메라(Zeiss 사, Model Axivert10)를 이용하여 촬영하고 10 mM 트리스 용액(pH 10.5) 100 µl를 각 웰에 가하여 세포와 결합되어 있는 염색제를 충분히 녹인 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 처리군은 바이러스를 처리하지 않은 군(A), 수용성 추출물만을 처리한 군(B), 바이러스만을 처리한 군(C), 바이러스와 수용성 추출물을 같이 처리한 군(D)으로 표기하였고 각각 식물추출물의 세포독성능(%) [수학식 1]과 식물추출물의 바이러스 증식억제능(%) [수학식 2]을 계산하였다.

**수학식 1**

$$\text{세포독성능(\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

**수학식 2**

$$\text{바이러스증식억제능(\%)} = \frac{D - C}{B - C} \times 100$$

각 생약 추출물들의 세포독성

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물에 대한 세포독성능은 1000 µg/ml의 농도에서 추출물을 가하지 않은 웰의 세포와 비교하였다. 상기 수용성 추출물들은 바이러스 배양세포로 사용되는 ST세포와 Vero세포에 대해 서로 다른 세포독성능을 나타내었다. ST세포에 대하여는 5.15 ~ 75.81%의 다양한 세포독성능을 나타내었다[표 1]. 오갈피 추출물은 ST세포에 대해 75.81 ± 5.11%의 높은 세포독성능을 나타내었으며, 까마중, 무화과, 화살나무, 조각자, 창이자, 마황의 순으로 20 ~ 50% 사이의 세포독성능을 나타내고 있으며, 초피, 구지뽕, 누리장, 고삼 추출물은 앞의 식물들에 비해 10% 이상의 낮은 세포독성능을 나타내었다. 그러나, Vero세포에 대하여는 마황 추출물(35.66 ± 5.15%) 이외의 10종의 추출물은 세포독성능을 나타내지 않았으며 오히려 수용성 추출물을 가하지 않은 웰의 세포측정치보다 약간 증가된 세포 측정치를 나타내었다.

표 1.

구분	부위	세포	세포독성능(%)
대조군 (식물추출물을 가하지 않은 웰)		ST	100
		Vero	100
초피나무	줄기	ST	9.88 ± 24.35
		Vero	-4.33 ± 0.23
꾸지뽕나무	줄기	ST	9.99 ± 6.22
		Vero	-3.75 ± 0.14
누리장나무	잎	ST	5.15 ± 3.34
		vero	-4.02 ± 0.22
조각자나무	줄기	ST	27.93 ± 5.18
		Vero	-4.47 ± 0.11
고삼	뿌리	ST	10.59 ± 16.94
		Vero	-4.58 ± 0.15
화살나무	줄기	ST	33.94 ± 4.12
		Vero	-4.98 ± 0.32
무화과나무	열매	ST	46.70 ± 2.25
		Vero	-5.11 ± 0.05
까마중	줄기	ST	48.72 ± 20.20
		Vero	-5.26 ± 0.13
마황	잎	ST	22.99 ± 6.89
		Vero	35.66 ± 5.15
창이자나무	열매	ST	25.53 ± 6.38
		Vero	-2.81 ± 0.45
오갈피나무	줄기	ST	75.81 ± 5.11
		Vero	-3.40 ± 0.02

TGEV에 대한 항바이러스능 분석

11종의 수용성 추출물 모두 TGEV에 대하여는 항바이러스능을 다음 표 2에 나타내었다. 오갈피나무, 까마중, 무화과나무, 화살나무, 조각자나무, 창이자나무, 꾸지뽕나무 추출물은 1000 µg/ml의 농도에서 비교적 높은 세포독성능을 나타내었다. 이중 가장 높은 바이러스 증식억제능을 나타낸 것은 무화과 추출물로 197.36 ± 85.41%이었다. 이들 식물추출물들은 비율로는 높은 바이러스 증식억제능을 나타내었으나 이는 세포추출물 자체의 독성능으로 세포의 성장과 바이러스의 증식이 같이 억제되기 때문으로 추정된다. 1000 µg/ml의 농도에서 10% 내외의 낮은 세포독성능을 나타낸 초피나무, 꾸지뽕나무, 누리장나무, 고삼 추출물은 동일농도에서 98.14 ± 29.25%, 93.70 ± 11.36%, 106.95 ± 2.04%, 74.81 ± 53.12%의 바이러스 증식억제능을 각각 나타내었다. 또한, 상기 추출물 각각의 활성이 우수한 바, 혼합하여 적용시에는 더욱 우수한 효과를 보였다.

표 2.

구분	TGEV에 대한 바이러스 억제능(%)			
	비감염세포	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml
초피나무	100 ± 39.35	60.81 ± 27.42	53.39 ± 22.17	98.14 ± 29.25
꾸지뽕나무	100 ± 10.07	123.23 ± 5.09	127.23 ± 21.78	93.70 ± 11.36
누리장나무	100 ± 5.01	10.93 ± 7.32	122.28 ± 7.37	106.95 ± 2.04
조각자나무	100 ± 11.81	203.67 ± 17.15	191.07 ± 10.35	144.20 ± 5.61
고삼	100 ± 27.70	-15.48 ± 9.96	64.01 ± 30.22	74.81 ± 53.12
화살나무	100 ± 10.89	182.36 ± 17.36	129.44 ± 11.83	165.37 ± 17.12
무화과나무	100 ± 8.96	194.72 ± 47.44	178.43 ± 60.18	197.36 ± 85.41
까마중	100 ± 0.23	191.18 ± 58.76	182.19 ± 62.90	166.50 ± 29.87
마황	100 ± 13.06	91.88 ± 92.53	60.22 ± 12.93	66.02 ± 13.69
창이자나무	100 ± 12.71	48.63 ± 8.71	109.04 ± 45.41	103.20 ± 14.04
오갈피나무	100 ± 21.13	64.61 ± 2.93	88.36 ± 16.49	95.16 ± 9.13

PEDV에 대한 항바이러스능 분석

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물이 PEDV에 대한 항바이러스능을 표 4에 나타내었다. 투여량에 비례하여 바이러스 증식억제능을 나타낸 것은 초피나무, 조각자나무, 고삼, 화살나무, 무화과, 마황, 까마중이었으며 1000 µg/ml의 농도에서 50% 이상의 바이러스 증식억제능을 나타내었다. 꾸지뽕나무와 누리장나무는 바이러스 감염군에 비해서는 생존세포의 수치가 높았으나 투여량에 비례하지는 않았다. 마황은 Vero세포에 대한 세포독성능이 11종 중 가장 높았으나 500 µg/ml 이상에서는 40% 이상의 바이러스 억제능을 나타내었다. PEDV에 대한 항바이러스능을 가장 강하게 나타낸 것은 까마중으로 250 µg/ml의 농도에서도 92.81 ± 3.83%을 나타내었으며 500 µg/ml, 1000 µg/ml의 농도에서 93.3 ± 2.55%, 96.35 ± 0.12%로 완만한 항바이러스능 증가율을 나타내었다.

**표 4.**

구분	PEDV에 대한 바이러스 억제능(%)			
	비감염세포	250 µg/ml	500 µg/ml	1000 µg/ml
초피나무	100 ± 0.23	65.22 ± 1.80	71.81 ± 15.28	83.80 ± 8.14
꾸지뽕나무	100 ± 0.15	29.08 ± 0.89	32.67 ± 11.02	29.75 ± 1.60
누리장나무	100 ± 0.22	73.93 ± 8.64	48.14 ± 4.41	54.68 ± 6.24
조각자나무	100 ± 0.10	35.65 ± 37.30	56.59 ± 38.77	95.98 ± 4.59
고삼	100 ± 0.15	42.77 ± 29.98	64.25 ± 27.22	71.58 ± 18.00
화살나무	100 ± 0.32	64.05 ± 10.55	65.28 ± 9.80	68.12 ± 10.53
무화과나무	100 ± 0.06	59.37 ± 16.32	57.26 ± 23.44	65.41 ± 23.52
까마중	100 ± 0.13	92.81 ± 3.83	93.30 ± 2.55	96.35 ± 0.12
마황	100 ± 8.39	-1.74 ± 1.80	43.10 ± 60.53	58.24 ± 7.02
창이자나무	100 ± 0.45	-1.53 ± 1.42	2.19 ± 1.51	-1.14 ± 1.31
오갈피나무	100 ± 0.02	5.21 ± 5.90	4.40 ± 6.44	0.31 ± 2.53

또한, 상기 추출물 각각의 활성이 우수한 바, 혼합하여 적용시에는 더욱 우수한 효과를 보였다.

**실시예 2: 독성 실험**

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물에 대하여 독성실험을 다음과 같이 수행하였다.

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물을 디메틸설폭사이드(dimethylsulfoxide, DMSO)에 용해하고 물로 희석한 후 이를 마우스(군당 10마리)에 각각 100 mg/kg을 투여한 다음 7일간 관찰하였으나 사망하는 쥐는 없었다.

**제조예 1: 분말 및 캡슐제의 제조**

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물 10 mg을 락토오스 14.8 mg, 결정성 셀룰로오스 3 mg, 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg과 함께 섞었다. 혼합물을 적당한 장치로 사용하여 No.5 젤라틴 캡셀에 채웠다.

상기 분말 및 캡슐제의 구성성분은 다음과 같다.

- 유효성분 ······ 10 mg
- 락토오스 ······ 14.8 mg
- 결정성 셀룰로오스····· 3 mg
- 마그네슘 스테아레이트 ······ 0.2 mg

**제조예 2: 주사액제의 제조**

유효성분 10 mg을 함유하는 주사액제는 다음과 같은 방법으로 제조하였다.

상기 참조예 1에서 얻은 수용성 추출물 1 g, 염화나트륨 0.6 g 및 아스코르브산 0.1 g을 증류수에 용해시켜서 100 ml을 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20 °C에서 30 분간 가열하여 멸균시켰다.

상기 주사액제의 구성성분은 다음과 같다.

- 유효성분 ······ 1 g
- 염화나트륨·····0.6 g

아스코르브산.....0.1 g

증류수.....적량

**발명의 효과**

이상에서 설명한 바와 같이, 본 발명에 따른 수용성 추출물은 포유동물에서 호흡기 질환, 소화기 질환, 간질환, 뇌질환 등을 일으키는 바이러스인 코로나바이러스에 대한 항바이러스 활성을 나타냄을 확인함으로써 코로나바이러스로 인한 질환 치료에 큰 도움이 될 수 있으리라 기대된다.

**(57) 청구의 범위**

**청구항 1.**

초피나무(*Zanthoxylum piperitum* A. P. DC)의 줄기, 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau)의 줄기껍질, 누리장나무(*Clerodendron trichotomum* Thunb)의 잎, 화살나무(*Euonymus alatus* Sieb)의 줄기, 조각자나무(*Gleditsia sinensis* Lam)의 줄기, 고삼(*Sophora flavescens* Ait)의 뿌리, 무화과나무(*Ficus carica* Linne)의 열매, 까마중(*Solanum nigrum* Linne)의 줄기, 창이자나무(*Xanthium strumarium* Linne)의 열매, 오갈피나무(*Acanthopanax sessiliflorus* Seemann)의 줄기 및 마황(*Ephedra sinica* Stapf)의 잎 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상에 물로 추출하여 얻은 수용성 추출물을 포함하는 것을 특징으로 하는 코로나바이러스(coronavirus)에 대한 항바이러스제.

**청구항 2.**

제 1 항에 있어서, 상기 코로나바이러스는 포유동물에 감염을 일으키는 바이러스인 것임을 특징으로 하는 항바이러스제.

**청구항 3.**

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 상기 코로나바이러스는 돼지 전염성 위장염 바이러스(TGEV, transmissible gastroenteritis virus) 또는 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV, porcine epidemic diarrhea virus)인 것을 특징으로 하는 항바이러스제.