

명세서

발명의 명칭: 흑삼 추출물을 포함하는 항인플루엔자 바이러스 조성물, 호흡기 질환 치료용 조성물 및 항노화 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 흑삼 추출물을 포함하는 항인플루엔자 바이러스 조성물, 호흡기 질환 치료용 조성물 및 항노화 조성물에 관한 것이다.
- 배경기술**
- [2] 인플루엔자 바이러스(Influenza virus)는 A형, B형, C형, D형 등 4가지로 구분된다. C형은 사람에서만 감염되나 전염성이 없고 D형은 사람에게 병을 일으키지 않는다. A형과 B형은 겨울에 주로 발생하며 사람의 호흡기를 통해 감염되어 전신 증상을 일으키는 강한 바이러스이다.
- [3] 그 중 A형 인플루엔자 바이러스의 혈청형은 바이러스 표면의 두 가지 단백질인 헤마글루티닌(Hemagglutinin: H), 뉴라미니다제(Neuraminidase: N)의 종류에 따라 구분되며, 헤마글루티닌은 18가지 타입과 뉴라미니다제(Neuraminidase: N) 11가지 타입이 존재한다.
- [4] 인플루엔자 바이러스는 주기적으로 변이를 일으켜 타겟 약물 치료가 어려워 바이러스 증식을 막아주는 뉴라미니다제(neuraminidase) 억제제 자나미비르(zanamivir)와 오셀타미비르(oseltamivir)가 개발되어 약으로 사용되고 있다. 하지만 최근 오셀타미비르(oseltamivir)가 자살을 유발한다는 부작용이 나타났다.
- [5] 따라서 사람의 면역력을 증가시키는 것과 동시에 안전한 천연물질의 개발은 인플루엔자 대유행시 치사율을 감소하게 하는 중요한 수단이 될 것이다.
- [6] 인삼은 오갈피나목과(Araliaceae) 인삼속(Panax)에 속하는 다년생 초본으로 한방에서 사용되는 한약재 중의 하나이다. 일반적인 인삼의 생리 활성 효능은 중추신경계에 대한 작용, 항암 작용(특허문헌 1) 등이 보고되어 있다. 특히 진세노사이드는 지금까지 약 40여 종이 발견되고 있으며 중추신경계를 비롯하여 내분비계, 대사계 등에 광범위한 영향을 미쳐 신체기능 조절, 즉 생리기능 정상화에 탁월한 효과를 나타내는 것으로 확인되고 있다. 이들 진세노사이드는 서로 비슷한 작용을 하거나 또는 서로 반대되는 작용을 나타내기도 하는데, 특정 성분이 단독으로 또는 여러 종류가 상호작용을 통해서 다양한 효능을 발휘하는 것으로 알려지고 있다.
- [7] 본 발명자들은 인삼으로부터 유래한 가공물 중에서도 인플루엔자 바이러스에 의한 질환을 개선시킬 수 있는 원료에 대하여 연구하였으며, 인삼을 가공하는 조건을 조절함으로써 인삼에는 미량으로 존재하는 진세노사이드의 함량이 증가된 흑삼을 제조하고, 이 흑삼으로부터 추출한 추출물이 홍삼 대비 인플루엔자 바이러스에 의한 감염 증상을 더 개선시키고, 호흡기 질환 치료

효능이 우수하며 항노화 활성이 매우 뛰어남을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[8] [선행기술문헌]

[9] (특허문헌 1) 한국 공개특허 제2010-0134463호

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[10] 본 출원은 항인플루엔자 바이러스 효과가 우수한 천연 물질을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[11] 본 출원은 호흡기 질환의 치료 효과가 우수한 천연 물질을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[12] 본 출원은 항노화 활성이 뛰어난 천연 물질을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

[13] 본 출원의 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 출원의 일 측면은 흑삼 추출물의 제조 방법을 제공한다.

[14] 또한, 본 출원의 다른 측면은 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[15] 상기 본 출원의 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물은 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함한다.

[16] 본 출원의 또 다른 측면은 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[17] 본 출원의 또 다른 측면은 항노화 조성물을 제공한다.

[18] 이하, 본 출원을 상세하게 설명한다.

[19] 본 출원의 일 구현예는 인삼을 증숙하여 흑삼을 제조하는 단계; 제조된 흑삼을 용매로 추출하는 단계; 및 추출된 흑삼 추출물을 숙성하는 단계;를 포함하는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5가 강화된 흑삼 추출물의 제조 방법을 제공한다.

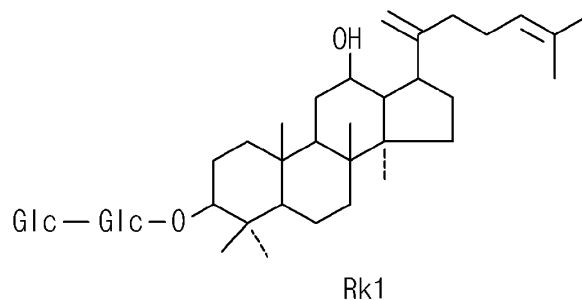
[20] 상기 흑삼 추출물은 인삼을 복수 회 증숙하여 얻은 흑삼으로부터 유래한 것이다.

[21] 상기 인삼은 고려삼(*Panax ginseng*), 회기삼(*P. quiquefolius*), 전칠삼(*P. notoginseng*), 죽절삼(*P. japonicus*), 삼엽삼(*P. trifolium*), 히말라야삼(*P. pseudoginseng*), 베트남삼(*P. vietnamensis*), 또는 미국삼(*Panax quinquefolium*) 등일 수 있다. 인삼은 일반적으로 가공 방법에 따라 백삼과 홍삼으로 구분되며, 백삼은 밭에서 채굴한 가공되지 아니한 인삼 즉, 수삼을 그대로 건조한 것을 지칭하며 홍삼은 수삼을 증숙하여 건조 가공한 것으로 제조 과정에서 사포닌 변형과 아미노산 변화 등 여러 화학적인 변화가 수반된다. 홍삼은 제조 과정에서 가해지는 열에 의해 인삼에 존재하지 않는 진세노사이드 성분이 생성되며, 홍삼 특유의 유효 성분은 암 예방 작용, 암세포 성장 억제 작용, 혈압 강하 작용, 뇌신경세포 보호, 학습 능력 개선 작용을 나타낸다.

[22] 본 출원의 흑삼은 인삼의 잎, 어린 새싹, 줄기, 줄기 껍질, 뿌리, 뿌리 껍질, 종자, 열매, 미숙과, 완숙과, 과육, 과피, 꽃, 수술군(androecium), 암술군(gynoecium), 꽃받침, 수술, 꽃잎, 꽃받침 조각, 심피 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나를 9회 증숙하여 수득할 수 있다. 상기 수술군은 하나의 꽃에 있는 수술 전체를 나타내며, 상기 암술군은 하나의 꽃에 있는 암술 전체를 나타낸다. 상기 심피는 꽃의 암술을 만드는 구성 요소로 일반적으로 화엽이라고 총칭되는 잎의 변형 형태를 나타낸다. 상기 인삼은 뿌리일 수 있으나, 이에 한정되지 아니하며, 인삼의 다른 부위를 9회 증숙한 것을 혼합하여 항인플루엔자 바이러스의 목적으로 사용할 수 있다.

[23] 상기 진세노사이드 Rk1은 하기 식으로 나타낸다:

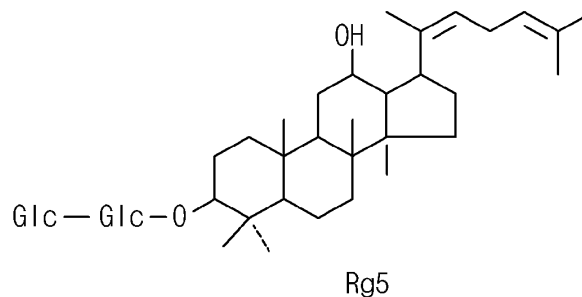
[24]



[25] (상기 식에서, Glc는 글리코실 잔기를 나타낸다.)

[26] 상기 진세노사이드 Rg5는 하기 식으로 나타낸다:

[27]



[28] (상기 식에서, Glc는 글리코실 잔기를 나타낸다.)

[29] 상기 증숙은 70°C 내지 120°C에서 3회 내지 12회 수행되는 것일 수 있다.

[30] 상기 증숙은 75°C 내지 115°C, 80°C 내지 110°C, 85°C 내지 105°C, 87°C 내지 103°C, 또는 90°C 내지 100°C에서 수행될 수 있다. 상기 온도 조건에서 증숙 수행시 유효성분인 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 높아지며, 건강에 유해한 물질이 생성되지 않으므로 품질이 최적화 될 수 있다.

[31] 상기 증숙은 3회 내지 11회, 4회 내지 10회, 5회 내지 9회, 6회 내지 9회, 7회 내지 9회, 8회, 또는 9회 수행될 수 있다. 상기 증숙 횟수 조건에서 증숙 수행시 유효성분인 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 높아지며, 건강에 유해한 물질이

생성되지 않으므로 품질이 최적화 될 수 있다. 본 출원의 증숙 조건을 적용하여 얻어진 흑삼 추출물이 인플루엔자 바이러스 감염에 대한 항인플루엔자 바이러스 활성을 나타내는 한 증숙 횟수는 다양하게 적용할 수 있다.

- [32] 증숙은 증숙 1회당 1.5시간 내지 6시간, 2시간 이상, 2시간 내지 6시간, 2시간 내지 5.5시간, 2시간 내지 5시간, 2시간 내지 4.5시간, 2시간 내지 4시간, 2시간 내지 3.5시간, 또는 2시간 내지 3시간 동안 수행할 수 있다. 상기 시간 조건에서 증숙 수행시 유효성분인 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 높아지며, 건강에 유해한 물질이 생성되지 않으므로 품질이 최적화 될 수 있다.
- [33] 상기 흑삼 추출물의 제조 방법은 증숙 완료시마다 증숙된 삼을 건조하는 단계;를 추가로 포함할 수 있다. 건조는 25°C 내지 60°C, 27°C 내지 58°C, 또는 30°C 내지 55°C에서 수행될 수 있다. 또한 건조는 10시간 내지 30시간, 12시간 내지 28시간, 12시간 내지 26시간, 또는 12시간 내지 24시간 동안 수행될 수 있다.
- [34] 본 출원에서 사용되는 용어 "추출물"은 원료로부터 임의의 방법으로 추출된 물질을 의미하며, 이렇게 추출된 추출액, 이로부터 얻을 수 있는 농축액, 상기 농축액의 건조물 및 분말을 제한 없이 모두 포함하는 의미로 사용된다.
- [35] 상기 추출물은 원료 또는 이의 건조물로부터 추출하여 얻을 수 있으며, 상기 추출물의 원료는 재배한 것 또는 시판되는 것 등 제한 없이 사용할 수 있다.
- [36] 상기 추출물을 원료로부터 추출하여 수득할 때, 추출 방법으로는 용매 추출법, 초음파 추출법, 여과법 및 환류 추출법 등 종래 알려진 통상적인 추출 방법을 모두 사용할 수 있으며, 용매 추출법이나 환류 추출법을 이용함으로써 제조할 수 있다. 상기 추출 과정은 수회 반복할 수 있으며, 이후에 농축 또는 동결건조 등의 단계를 추가적으로 거칠 수 있다. 예를 들면, 수득한 추출물을 감압 농축하여 농축액을 얻고, 상기 농축액을 동결건조시킨 후 분쇄기를 이용하여 고농도의 추출 분말을 제조할 수 있다. 추출물은 추출물을 추가적으로 분획하여 얻은 분획물도 포함한다.
- [37] 상기 추출물은 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물을 추출용매로 하여 추출될 수 있다. 상기 유기용매는 알코올, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올, 헥산(n-헥산), 에테르, 글리세롤, 프로필렌글리콜, 부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 메틸아세테이트, 디클로로메탄, 클로로포름, 에틸아세테이트, 벤젠 및 이들의 혼합용매로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [38] 물 및 유기용매의 혼합물을 추출 용매로 사용하는 경우, 물 및 유기용매의 혼합물은 물 및 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올의 혼합물일 수 있고, 물 및 에탄올의 혼합물일 수 있으며 이 경우 상기 용매는 20%(v/v) 내지 90%(v/v) 에탄올 수용액, 25%(v/v) 내지 85%(v/v) 에탄올 수용액, 30%(v/v) 내지 80%(v/v) 에탄올 수용액, 20%(v/v) 내지 40%(v/v) 에탄올 수용액, 30%(v/v) 내지 60%(v/v) 에탄올 수용액, 35%(v/v) 내지 75%(v/v) 에탄올 수용액, 40%(v/v) 내지 70%(v/v) 에탄올 수용액, 45%(v/v) 내지 65%(v/v) 에탄올 수용액, 또는 50%(v/v) 내지 80%(v/v) 에탄올 수용액일 수 있다. 상기 흑삼 추출물 제조시, 추출 용매는 추출

원료인 흑삼 대비 4배 내지 10배, 5배 내지 9배, 또는 6배 내지 8배로 투입될 수 있다. 상기 에탄올 수용액 조건으로 추출시 유효성분인 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 높아진다.

- [39] 상기 흑삼 추출물 제조시, 추출 시간은 2시간 내지 12시간, 3시간 내지 11시간, 4시간 내지 10시간, 4시간 내지 9시간, 또는 4시간 내지 8시간 동안 수행될 수 있다. 상기 시간 조건에서 추출시 유효성분인 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 높아진다.
- [40] 상기 흑삼 추출물은 하기와 같은 공정으로 제조될 수 있다. 최종 증숙이 완료되고 건조된 흑삼을 50%(v/v) 내지 80%(v/v) 에탄올 수용액으로 1차 추출하고, 1차 추출시 발생한 잔사를 동일한 농도의 에탄올 수용액으로 2차 추출하며, 2차 추출시 발생한 잔사를 30%(v/v) 내지 60%(v/v) 에탄올 수용액으로 3차 추출하며, 3차 추출시 발생한 잔사를 20%(v/v) 내지 40%(v/v) 에탄올 수용액으로 4차 추출할 수 있다. 흑삼 추출물은 각 회차에서 수득한 추출물 각각일 수 있고, 1차 추출 내지 4차 추출시에 수득한 추출물을 혼합한 혼합물일 수 있다. 각 추출 회차에 사용되는 용매는 다양한 농도로 사용될 수 있다. 즉, 유효성분인 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량을 높이기 위해서 다양한 조합으로 추출 용매가 사용될 수 있다.
- [41] 상기 흑삼 추출물은 55 Brix% 내지 85 Brix%, 57 Brix% 내지 83 Brix%, 60 Brix% 내지 80 Brix%, 62 Brix% 내지 78 Brix%, 또는 65 Brix% 내지 75 Brix%일 수 있다. 상기 Brix% 농도 범위일 때 유효성분인 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량 등 품질이 최적화 되며, 흑삼 추출물의 점도가 너무 높지 않기 때문에 원하는 제형으로 제조가 가능하다.
- [42] 상기 흑삼 추출물의 제조 방법은 추출 단계 이후 흑삼 추출물을 숙성하는 단계;를 추가로 포함할 수 있다.
- [43] 흑삼 추출물을 숙성하는 단계는 80°C 이상, 82°C 내지 95°C, 84°C 내지 93°C, 86°C 내지 91°C, 또는 88°C 내지 90°C에서 수행될 수 있다. 상기 온도 조건에서 숙성시 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 증가한다.
- [44] 흑삼 추출물을 숙성하는 단계는 3시간 이상, 3시간 내지 48시간, 3시간 내지 44시간, 3시간 내지 40시간, 3시간 내지 36시간, 3시간 내지 32시간, 3시간 내지 28시간, 또는 3시간 내지 24시간 동안 수행될 수 있다. 상기 시간 조건에서 숙성시 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 증가한다.
- [45] 상기 흑삼 추출물에 포함되는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부 내지 90 중량부, 25 중량부 내지 85 중량부, 30 중량부 내지 80 중량부, 35 중량부 내지 75 중량부, 40 중량부 내지 70 중량부, 45 중량부 내지 65 중량부, 또는 50 중량부 내지 60 중량부일 수 있다. 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계가 상기 범위일 때, 흑삼 추출물에 의한 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.

- [46] 상기 흑삼 추출물의 제조 방법에 있어서, 증숙 동안에는 압력을 가하지 않는다. 본 출원의 흑삼 추출물은 증숙시에 압력을 별도로 가하지 않음으로써 벤조피렌과 같은 위해 물질이 생성되지 않기 때문에 안정성 면에서 품질이 뛰어나다.
- [47] 상기 흑삼은 인삼을 증숙하여 제조되며, 제조된 흑삼을 추출한 후, 숙성하여 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량이 높은 흑삼 추출물을 얻을 수 있다. 예를 들면, 인삼을 70°C 내지 120°C에서 3회 내지 12회 증숙하되, 증숙 1회당 2시간 이상의 조건으로 흑삼을 제조하고, 이 흑삼에 흑삼 중량 대비 물, 탄소수 1 내지 4의 저급 알코올 또는 이들의 혼합 용매를 4배 내지 10배로 투입하고, 2시간 내지 12시간 동안 추출하여 흑삼 추출물을 수득한 후, 농축하고, 흑삼 농축액을 80°C 이상에서 3시간 이상의 조건에서 숙성하면, 수득된 흑삼 추출물에는 인삼에는 포함되지 않거나, 홍삼에는 미량으로 포함된 것으로 알려진 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계가, 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부 내지 90 중량부로 포함되며, 홍삼 추출물 대비 현저히 높았다.
- [48] 본 출원의 일 구현예는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 있어서, 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부 내지 90 중량부로 포함되는 조성물을 제공한다.
- [49] 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 25 중량부 내지 85 중량부, 30 중량부 내지 80 중량부, 35 중량부 내지 75 중량부, 40 중량부 내지 70 중량부, 45 중량부 내지 65 중량부, 또는 50 중량부 내지 60 중량부일 수 있다. 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계가 상기 범위일 때, 흑삼 추출물에 의한 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [50] 상기 흑삼 추출물에 포함되는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 9 mg/g 이상, 9 mg/g 내지 30 mg/g, 9 mg/g 내지 28 mg/g, 9 mg/g 내지 26 mg/g, 9 mg/g 내지 24 mg/g, 9 mg/g 내지 22 mg/g, 9.1 mg/g 내지 20 mg/g, 9.1 mg/g 내지 18 mg/g, 9.2 mg/g 내지 16 mg/g, 9.2 mg/g 내지 14 mg/g, 또는 9.2 mg/g 내지 12 mg/g일 수 있다. 진세노사이드 Rk1 및 Rg5 함량의 합계가 상기 범위일 때, 흑삼 추출물에 의한 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [51] 본 출원의 구체적인 실시예에서는, 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 9.29 mg/g로 포함하는 흑삼 추출물을 1일 1회 10 mg/Kg/day의 농도로 투여한 마우스에 인플루엔자 A 바이러스(H1N1)를 접종하고, 접종 후 일주일간 1일 1회 10 mg/Kg/day의 농도로 흑삼 추출물을 투여하였다. 그 결과, 흑삼 추출물이 투여된 마우스 모두 생존하여 타미플루를 투여한 양성 대조군과 동일하게 치사율이 0%로 나타났다. 반면에, 동일한 방법으로 수행하되 흑삼 추출물 대신에, 홍삼

- 추출물(진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 0.58 mg/g로 포함함)을 투여한 경우에는 바이러스 감염으로 인하여 마우스가 사망하였으며, 50%의 치사율을 보였다.
- [52] 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료 효과는 인플루엔자 바이러스 감염 후에 치사율이 낮거나, 인플루엔자 바이러스 감염에 의한 폐조직 손상을 예방 또는 개선하거나, 인플루엔자 바이러스 감염 후, 초기에는 면역 세포 증식 인자(GM-CSF), 또는 면역 활성화 인자(IFN- γ)가 높게 발현하여, 감염 초기에 면역세포 증식과 활성을 높여 바이러스를 사멸시키거나 감염 후기에 면역 억제 인자(IL-10)을 높게 발현시켜 활성화된 면역 시스템을 정상화시키는 것일 수 있다.
- [53] 상기 흑삼 추출물은 추가로 산성 다당체, 폴리페놀을 포함할 수 있다.
- [54] 상기 산성 다당체는 1 mg/g 이상, 1 mg/g 내지 20 mg/g, 1 mg/g 내지 18 mg/g, 1 mg/g 내지 16 mg/g, 1 mg/g 내지 14 mg/g, 1 mg/g 내지 12 mg/g, 1.5 mg/g 내지 10 mg/g, 1 mg/g 내지 8 mg/g, 2 mg/g 내지 6 mg/g, 1 mg/g 내지 4 mg/g, 또는 2.5 mg/g 내지 4 mg/g로 포함될 수 있다. 산성 다당체가 상기 범위로 포함될 때, 산성 다당체와 흑삼 추출물에 포함된 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 상승 효과가 높아져, 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [55] 상기 폴리페놀은 15 mg/g 이상, 15 mg/g 내지 40 mg/g, 15 mg/g 내지 38 mg/g, 15 mg/g 내지 36 mg/g, 16 mg/g 내지 34 mg/g, 17 mg/g 내지 32 mg/g, 18 mg/g 내지 30 mg/g, 19 mg/g 내지 28 mg/g, 20 mg/g 내지 26 mg/g, 또는 20 mg/g 내지 24 mg/g로 포함될 수 있다. 폴리페놀이 상기 범위로 포함될 때, 폴리페놀과 흑삼 추출물에 포함된 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 상승 효과가 높아져, 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [56] 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 A 바이러스일 수 있다. 인플루엔자 A 바이러스는 H1N1일 수 있고, 상기 H1N1은 A/California/04/2009(H1N1)일 수 있다.
- [57] 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물은 식품 또는 약학 조성물일 수 있다.
- [58] 상기 인플루엔자 바이러스에 의한 질환은 인플루엔자 바이러스 감염에 의해 유발될 수 있는 모든 질환, 병변을 제한없이 포함할 수 있다. 예를 들면, 감기, 독감, 기침, 재채기, 콧물, 근육통, 인후염, 비강 폐색, 후두염, 목의 통증, 쉼소리, 두통, 부기강에 대한 통증, 비염, 인두염, 기관지염, 천식, 발열, 호흡 곤란, 전신 무기력 및 오한으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [59] 본 출원에서 사용되는 용어 '예방'은 본 출원의 조성물이 인플루엔자 바이러스에 의한 질환의 발생을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [60] 본 출원에서 사용되는 용어 '억제'는 본 출원의 조성물이 인플루엔자 바이러스에 의한 질환의 발생을 감소하는 모든 행위를 의미한다.

- [61] 본 출원에서 사용되는 용어 '치료'는 본 출원의 조성물이 인플루엔자 바이러스에 의한 질환의 증상이 호전되도록 하거나 이롭게 되도록 하는 모든 행위를 의미한다.
- [62] 본 출원에서 사용되는 용어 '투여'는 어떠한 적절한 방법으로 개체(subject)에게 소정의 물질을 도입하는 것을 의미하며, 본 출원의 조성물이 생체 내 표적에 도달할 수 있는 어떠한 일반적인 경로를 통하여 투여될 수 있다. 본 출원의 조성물의 투여 경로는 특별히 제한되지 않으나, 경구 또는 비경구 투여할 수 있다. 본 출원의 투여는 1일 1회 내지 4회, 2회 내지 3회 또는 2회 실시할 수 있다. 또한, 본 출원의 투여는 4주 이상, 8주 이상, 4주 내지 12주 또는 8주 내지 12주의 기간 동안 실시할 수 있다.
- [63] 상기 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 함유되는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물의 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 기간에 따라 다르지만, 경우에 따라 적절하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물은 1일 0.0001 내지 1000 mg/kg, 0.001 내지 700 mg/kg, 0.01 내지 500 mg/kg, 0.1 내지 100 mg/kg, 또는 1 내지 100 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있으며, 상기 투여는 하루에 한번 또는 수회 나누어 적용할 수도 있다. 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물의 투여량은 투여 경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 또는 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 출원의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [64] 본 출원의 식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 식품 조성물은 유효성분인 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적, 예를 들면 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [65] 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물은 식품 조성물에 0.001 중량% 내지 60 중량%, 예를 들면 0.01 중량% 내지 50 중량%, 0.1 중량% 내지 45 중량%, 1 중량% 내지 40 중량%, 또는 1 중량% 내지 20 중량%의 함량으로 포함될 수 있다. 상기 화장료 조성물 내의 상기 흑삼 추출물의 함량이 0.001 중량% 미만일 경우에는 흑삼 추출물에 의한 항인플루엔자 바이러스 활성이 충분히 발현되지 않을 수 있고, 60 중량%를 초과할 경우에는 투입 농도 대비 흑삼 추출물에 의한 효과가 상대적으로 낮을 수 있으나, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.
- [66] 본 출원의 식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.

- [67] 본 출원의 약학 조성물은 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다.
- [68] 본 출원의 약학 조성물에서 사용가능한 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등을 들 수 있다.
- [69] 본 출원의 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. 인플루엔자 바이러스는 점막을 통해 감염되므로, 본 출원의 약학 조성물은 점막에 도포가 용이하도록 에어로졸, 분말, 겔, 연고, 점적제(drop) 형태로 제공될 수 있다. 상기 점막은 비강 점막, 구강 점막, 기도 점막, 눈의 점막일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.
- [70] 제제화할 경우에는 일반적으로 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 화합물은 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다.
- [71] 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 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.
- [72] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔, 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [73] 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 본 출원의 약학적 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘, 스테아이드, 탈크 같은 윤활제도 사용될 수 있다.
- [74] 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [75] 피부 투여를 위한 제제로는 더스팅 파우더, 에멀전, 현탁액, 오일, 스프레이, 연고, 크림 페이스트, 겔, 폼, 또는 용액일 수 있다. 본 출원의 약학 제제는 무수

상태의 연고일 수 있고, 국소 용도에 적합하고 체온 상태에서 액체인 파라핀, 특히 저점도 파라핀을 함유하거나, 또는 상기 천연지방 또는 부분합성 지방, 예를 들면, 코코넛 지방산 트리글리세라이드, 경화유, 예를 들면 수소화된 피넛 오일 또는 캐스터 오일, 글리세롤의 지방산 부분 에스테르, 예를 들면 글리세롤 모노스테아레이트 및 디스테아레이트, 실리콘, 예를 들면 폴리메틸실록산, 예컨대 헥사메틸디실록산 또는 옥타메틸트리실록산을 함유할 수 있으며, 예를 들어 수성 크림과 관련되어 있고 수분 흡수 용량을 증가시키는 지방알코올, 그리고 스테롤, 울 왁스, 다른 유화제 및/또는 기타 첨가제를 함유할 수 있다.

- [76] 본 출원의 약학 조성물에 함유되는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물의 투여량에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [77] 본 출원의 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여는, 예를 들면 경구, 직장내, 정맥, 근육, 피하, 기관지내 흡입, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [78] 본 출원의 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물은 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물 외에 인플루엔자 바이러스에 의한 질환의 개선, 완화, 치료 또는 예방을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [79] 본 출원의 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물은 인플루엔자 바이러스에 의한 질환의 개선, 완화, 치료 또는 예방을 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [80] 본 출원의 목적을 달성하기 위한 또 다른 하나의 양태로서, 본 출원은 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체(subject)에 투여하는 단계;를 포함하는 인플루엔자 바이러스에 의한 질환의 예방, 억제 또는 치료 방법을 제공한다.
- [81] 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물 및 투여에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [82] 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물은 유효량으로 이를 필요로 하는 개체에 투여될 수 있다.
- [83] 상기 이를 필요로 하는 개체는 인플루엔자 바이러스의 감염으로 인한 질환의 예방, 억제 또는 치료가 필요한 개체일 수 있다.
- [84] 본 명세서에서 용어 개체(subject)는 인간을 포함한 동물 또는 인간을 제외한 동물일 수 있다.
- [85] 본 출원의 다른 구현에는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 있어서, 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부

내지 90 중량부로 포함되는 조성물을 제공한다.

- [86] 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 25 중량부 내지 85 중량부, 30 중량부 내지 80 중량부, 35 중량부 내지 75 중량부, 40 중량부 내지 70 중량부, 45 중량부 내지 65 중량부, 또는 50 중량부 내지 60 중량부일 수 있다. 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계가 상기 범위일 때, 흑삼 추출물에 의한 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [87] 상기 흑삼 추출물에 포함되는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 9 mg/g 이상, 9 mg/g 내지 30 mg/g, 9 mg/g 내지 28 mg/g, 9 mg/g 내지 26 mg/g, 9 mg/g 내지 24 mg/g, 9 mg/g 내지 22 mg/g, 9.1 mg/g 내지 20 mg/g, 9.1 mg/g 내지 18 mg/g, 9.2 mg/g 내지 16 mg/g, 9.2 mg/g 내지 14 mg/g, 또는 9.2 mg/g 내지 12 mg/g일 수 있다. 진세노사이드 Rk1 및 Rg5 함량의 합계가 상기 범위일 때, 흑삼 추출물에 의한 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [88] 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료 효과는 호흡기 기관, 예컨대 기관지, 인두, 후두, 비강, 부비강, 폐 등에 미세먼지 또는 초미세먼지의 축적을 감소시키거나, 상기 호흡기 기관에서의 면역 세포의 활성을 조절 또는 감소시키는 작용에 의한 것일 수 있다.
- [89] 상기 흑삼 추출물은 추가로 산성 다당체, 폴리페놀을 포함할 수 있다.
- [90] 상기 산성 다당체는 1 mg/g 이상, 1 mg/g 내지 20 mg/g, 1 mg/g 내지 18 mg/g, 1 mg/g 내지 16 mg/g, 1 mg/g 내지 14 mg/g, 1 mg/g 내지 12 mg/g, 1.5 mg/g 내지 10 mg/g, 1 mg/g 내지 8 mg/g, 2 mg/g 내지 6 mg/g, 1 mg/g 내지 4 mg/g, 또는 2.5 mg/g 내지 4 mg/g로 포함될 수 있다. 산성 다당체가 상기 범위로 포함될 때, 산성 다당체와 흑삼 추출물에 포함된 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 상승 효과가 높아져, 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [91] 상기 폴리페놀은 15 mg/g 이상, 15 mg/g 내지 40 mg/g, 15 mg/g 내지 38 mg/g, 15 mg/g 내지 36 mg/g, 16 mg/g 내지 34 mg/g, 17 mg/g 내지 32 mg/g, 18 mg/g 내지 30 mg/g, 19 mg/g 내지 28 mg/g, 20 mg/g 내지 26 mg/g, 또는 20 mg/g 내지 24 mg/g로 포함될 수 있다. 폴리페놀이 상기 범위로 포함될 때, 폴리페놀과 흑삼 추출물에 포함된 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 상승 효과가 높아져, 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하다.
- [92] 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물은 식품 또는 약학 조성물일 수 있다.
- [93] 상기 호흡기 질환은 호흡기 기관에서 발생하는 모든 질환을 제한없이 포함할 수 있다. 예를 들어, 천식, 만성폐쇄성폐질환, 기관지염, 인후염, 후두염, 비염, 부비강염 및 폐렴으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [94] 상기 호흡기 질환은 미세먼지 또는 초미세먼지에 의해 유발되는 질환일 수 있다. 미세먼지는 대기중에 떠다니는 눈에 보이지 않을 정도의 매우 작은 크기의

입자상의 물질을 의미하며, 지름이 $50\mu\text{m}$ 이하, $45\mu\text{m}$ 이하, $30\mu\text{m}$ 이하, 또는 $10\mu\text{m}$ 이하 크기의 입자상 물질을 포함한다. 또한, 초미세먼지는 미세먼지 보다 작은 크기의 먼지를 의미하며 지름이 $2.5\mu\text{m}$ 이하 크기의 입자상 물질을 의미한다. 미세먼지 및 초미세먼지는 질산염(NO_3^-), 암모늄이온(NH_4^+), 황산염(SO_4^{2-}) 등의 이온성분과 탄소화합물, 또는 금속화합물 등으로 이루어질 수 있다.

- [95] 본 출원의 다른 구현예인 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 관련하여 본 명세서에서 설명된 내용은 상기 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 적용될 수 있으며, 이 둘 사이의 공통되는 내용은 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해 중복하여 설명되지 않는다. 예를 들면, 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 관련하여 설명된 용어 ‘예방’, ‘억제’, ‘치료’, ‘투여’의 의미, ‘흑삼 추출물의 투여량’, ‘식품 조성물’, ‘약학 조성물’, ‘약학 조성물의 투여 방법’, ‘흑삼 추출물 이외의 유효성분의 함유’, ‘조성물의 단독 사용 또는 다른 방법들과의 병용 사용’의 내용은 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 적용될 수 있다.
- [96] 본 출원의 목적을 달성하기 위한 또 다른 하나의 양태로서, 본 출원은 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계;를 포함하는 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료 방법을 제공한다.
- [97] 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물 및 투여에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [98] 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물은 유효량으로 이를 필요로 하는 개체에 투여될 수 있다.
- [99] 상기 이를 필요로 하는 개체는 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료가 필요한 개체일 수 있다.
- [100] 상기 용어 “개체”는 인간을 포함하는 동물 또는 인간을 제외한 동물일 수 있다.
- [101] 본 출원의 또 다른 구현예는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 항노화 조성물로서, 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부 내지 90 중량부로 포함되는 항노화 조성물을 제공한다.
- [102] 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 25 중량부 내지 85 중량부, 30 중량부 내지 80 중량부, 35 중량부 내지 75 중량부, 40 중량부 내지 70 중량부, 45 중량부 내지 65 중량부, 또는 50 중량부 내지 60 중량부일 수 있다. 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계가 상기 범위일 때, 흑삼 추출물에 의한 항노화 효과가 우수하다.
- [103] 상기 흑삼 추출물에 포함되는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 9 mg/g 이상, 9 mg/g 내지 30 mg/g, 9 mg/g 내지 28 mg/g, 9 mg/g 내지 26 mg/g, 9 mg/g

- 내지 24 mg/g, 9 mg/g 내지 22 mg/g, 9.1 mg/g 내지 20 mg/g, 9.1 mg/g 내지 18 mg/g, 9.2 mg/g 내지 16 mg/g, 9.2 mg/g 내지 14 mg/g, 또는 9.2 mg/g 내지 12 mg/g일 수 있다. 진세노사이드 Rk1 및 Rg5 함량의 합계가 상기 범위일 때, 흑삼 추출물에 의한 항노화 효과가 우수하다.
- [104] 본 출원에서 항노화 효과는 노화 관련 지표 인자인 p15INK4b, p16INK4a, p21, p27, p38, p53, CDK1, CDK2, mechanistic target of rapamycin (mTOR), sirtuin 1 (SIRT1), 또는 β -galactosidase (β -gal) staining의 유전자와 단백질 발현을 측정 한 결과를 통해 확인될 수 있다.
- [105] 상기 흑삼 추출물은 추가로 산성 다당체, 폴리페놀을 포함할 수 있다.
- [106] 상기 산성 다당체는 1 mg/g 이상, 1 mg/g 내지 20 mg/g, 1 mg/g 내지 18 mg/g, 1 mg/g 내지 16 mg/g, 1 mg/g 내지 14 mg/g, 1 mg/g 내지 12 mg/g, 1.5 mg/g 내지 10 mg/g, 1 mg/g 내지 8 mg/g, 2 mg/g 내지 6 mg/g, 1 mg/g 내지 4 mg/g, 또는 2.5 mg/g 내지 4 mg/g로 포함될 수 있다. 산성 다당체가 상기 범위로 포함될 때, 산성 다당체와 흑삼 추출물에 포함된 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 상승 효과가 높아져, 항노화 효과가 우수하다.
- [107] 상기 폴리페놀은 15 mg/g 이상, 15 mg/g 내지 40 mg/g, 15 mg/g 내지 38 mg/g, 15 mg/g 내지 36 mg/g, 16 mg/g 내지 34 mg/g, 17 mg/g 내지 32 mg/g, 18 mg/g 내지 30 mg/g, 19 mg/g 내지 28 mg/g, 20 mg/g 내지 26 mg/g, 또는 20 mg/g 내지 24 mg/g로 포함될 수 있다. 폴리페놀이 상기 범위로 포함될 때, 폴리페놀과 흑삼 추출물에 포함된 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 상승 효과가 높아져, 항노화 효과가 우수하다.
- [108] 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 항노화 조성물은 식품 또는 약학 조성물일 수 있다.
- [109] 본 출원의 다른 구현예인 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 관련하여 본 명세서에서 설명된 내용은 항노화 조성물에 적용될 수 있으며, 이 둘 사이의 공통되는 내용은 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위해 중복하여 설명되지 않는다. 예를 들면, 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물에 관련하여 설명된 용어 ‘예방’, ‘억제’, ‘치료’, ‘투여’의 의미, ‘흑삼 추출물의 투여량’, ‘식품 조성물’, ‘약학 조성물’, ‘약학 조성물의 투여 방법’, ‘흑삼 추출물 이외의 유효성분의 함유’, ‘조성물의 단독 사용 또는 다른 방법들과의 병용 사용’의 내용은 상기 항노화 조성물에 적용될 수 있다.
- [110] 본 출원의 목적을 달성하기 위한 또 다른 하나의 양태로서, 본 출원은 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계;를 포함하는 노화의 예방, 억제 또는 개선 방법을 제공한다.
- [111] 본 출원에서 사용되는 용어 ‘개선’은 본 출원의 조성물이 노화에 따라 발생하는 증상들을 개선하는 모든 행위를 의미한다.

- [112] 향노화 조성물 및 투여에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [113] 본 출원의 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물은 유효량으로 이를 필요로 하는 개체에 투여될 수 있다.
- [114] 상기 이를 필요로 하는 개체는 노화의 예방, 억제 또는 개선이 필요한 개체일 수 있다.
- [115] 상기 용어 “개체”는 인간을 포함하는 동물 또는 인간을 제외한 동물일 수 있다.

발명의 효과

- [116] 본 출원의 흑삼 추출물의 제조 방법에 따른 흑삼 추출물은 홍삼 대비 인플루엔자 바이러스에 감염된 개체의 치사율을 감소시키며, 폐 조직 손상을 억제하거나 개선하고, 인플루엔자 바이러스 감염 초기에 면역 세포 증식과 활성을 높이며, 감염 후기에 활성화된 면역 시스템을 정상화시키므로 인플루엔자 바이러스에 의한 감염 증상을 개선하는 효과가 뛰어나다. 따라서, 본 출원의 흑삼 추출물을 인플루엔자 바이러스에 의한 감염 증상 개선을 목적으로 다양한 형태의 식품, 약학 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용할 수 있다.
- [117] 또한, 본 출원의 흑삼 추출물은 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료 효과가 우수하므로, 호흡기 질환의 예방 또는 치료 용도의 식품, 약학적 조성물의 유효성분으로 사용될 수 있다.
- [118] 또한, 본 출원의 흑삼 추출물은 노화의 억제, 예방 또는 개선 효과가 매우 뛰어나므로, 항노화 식품, 약학적 조성물의 유효성분으로 유용하게 이용될 수 있다.
- [119] 다만, 본 출원의 효과는 상기에서 언급한 효과로 제한되지 아니하며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 하기의 기재로부터 본 기술 분야의 통상의 기술자에게 명확히 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [120] 도 1a 내지 도 1c는 흑삼 제조시 증숙 시간에 따른 진세노사이드 변화량을 나타낸다.
- [121] 도 2a 내지 도 2c는 흑삼 농축액의 숙성 온도, 및 숙성 시간에 따른 진세노사이드 변화량을 나타낸다.
- [122] 도 3은 표준화 흑삼 농축액 처리군의 바이러스 감염 후 치사율을 나타내는 그래프이다.
- [123] 도 4는 표준화 흑삼 농축액 처리군의 바이러스 감염 후 폐조직 손상 정도를 나타낸다.
- [124] 도 5a 내지 도 5c는 표준화 흑삼 농축액 처리군의 바이러스 감염 후 면역활성인자 생성 정도를 나타내는 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [125] 이하, 본 발명을 제조에 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.
- [126] 단, 하기 제조예, 실험예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 출원의 내용이

하기 제조에 및 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[127] **제조예 1. 흑삼의 제조**

[128] **1-1. 홍삼(흑삼 1증포)의 제조**

[129] 4년근 수삼 뿌리를 스크류 세척기(삼각fmc, 한국)에 넣고, 흙 또는 이물질을 제거하기 위해 3분간 1회 세척하였다. 세척된 수삼 뿌리를 증숙기에 넣은 후, 예열시간을 제외하고 98°C에서 수증기를 이용하여, 2시간 1차 증숙하였다. 증숙기의 온도를 55°C로 냉각시킨 후, 증숙된 수삼 뿌리를 증숙기에서 꺼냈다. 열풍 건조기의 내부온도를 55°C로 유지시킨 후 증숙된 수삼 뿌리를 넣고 약 18시간 건조시켰다. 건조시킨 홍삼은 일건장(자연광에 의한 건조시설)으로 옮겨 한달 이상 건조시켰다. 이상의 과정을 통해, 홍삼(1증포) 930kg을 제조하였다.

[130] **1-2. 구증구포 흑삼의 제조**

[131] 상기 제조예 1-1에서 제조된 홍삼 930kg을 제조예 1-1과 동일한 증숙, 건조 조건에서 증숙하였다. 상술한 증숙 및 건조 공정을 반복 수행하였으며, 반복이 수행되는 횟수에 따라서 2증포 내지 9증포로 지칭하였다. 증숙 및 건조를 반복할수록 색이 점점 검은색에 가까워졌다. 위 공정을 통하여 구증구포 흑삼 853.8kg을 제조하였다. 하기의 제조예 2의 흑삼 추출물 또는 제조예 3의 흑삼 농축액 제조시에는 구증구포 흑삼을 원료로 사용하였다.

[132] **제조예 2. 흑삼 추출물의 제조**

[133] 제조예 1-1에서 제조된 홍삼, 제조예 1-2에서 제조된 흑삼 284.6kg을 각각 취하여 분쇄한 후, 분쇄물 중량 대비 6배로 70%(v/v) 에탄올 수용액을 투입하고, 82°C에서 6시간 동안 1차 추출하였다. 1차 추출시 발생한 추출 잔사물을 1차 추출과 동일한 조건으로 2차 추출하였다. 2차 추출시 발생한 추출 잔사물 중량 대비 6배로 50%(v/v) 에탄올 수용액을 투입하고, 85°C에서 6시간 동안 3차 추출하였다. 3차 추출시 발생한 추출 잔사물 중량 대비 6배로 30%(v/v) 에탄올 수용액을 투입하고, 90°C에서 6시간 동안 4차 추출하였다. 4차 추출시 발생한 추출 잔사물 중량 대비 6배의 정제수를 투입하고, 95°C에서 6시간 동안 5차 추출하였다.

[134] **제조예 3. 흑삼 농축액의 제조**

[135] 제조예 2에서 수득한 1차~4차 홍삼 추출물, 1차~4차 흑삼 추출물을 각각 여과하여 추출물과 추출 잔사를 분리하였다. 각 원료에 대해서 분리된 추출물만을 농축기에 넣고 55°C에서 감압농축기로 4시간 동안 농축하였다. 70 Brix%인 홍삼 농축액 231kg을 수득하였고, 70 Brix%인 흑삼 농축액 212kg을 수득하였다. 수득한 홍삼 농축액, 흑삼 농축액을 하기 성분 분석 및 A형 인플루엔자 바이러스 실험의 시료로 사용하였다.

[136] **실험예 1. 증숙 시간별 흑삼 농축액의 진세노사이드 함량 변화 확인**

[137] 증숙 시간을 1시간, 2시간, 3시간으로 변경한 것 외에는 제조예 1-1의 증숙 조건과 동일하게 하여 9증포하였다. 제조된 홍삼은 제조예 2 및 제조예 3에 따라 추출하고 농축하였다. 진세노사이드 함량은 하기 실험예 3의 방법과 동일하게

측정하였다.

- [138] 증숙 시간을 1시간으로 하면, 도 1a에 나타내는 바와 같이 9중포하여도 진세노사이드 Rk1, Rg5가 존재하지 않는 것으로 확인되었다. 반면에, 증숙 시간을 2시간으로 하면 증숙 시간을 1시간으로 하여 제조된 흑삼 농축액 대비 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 현저히 높아졌다(도 1b). 아울러, 증숙 시간을 3시간으로 하면 증숙을 2시간 조건으로 하는 경우에 비해서 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 증가하였다(도 1c).
- [139] **실험예 2. 숙성 온도 또는 숙성 시간별 흑삼 농축액의 진세노사이드 함량 변화 확인**
- [140] 제조예 3에서 수득한 흑삼 농축액을 2ml 바이알에 넣고 워터 베스에서 70°C, 80°C, 90°C에서 각각 8시간 동안 숙성하였으며, 시간에 따른 진세노사이드 함량 변화를 측정하였다. 진세노사이드 함량은 실험예 3의 방법과 동일하게 측정하였다.
- [141] 그 결과, 70°C에서 숙성하면 8시간 동안 숙성하여도 진세노사이드 함량이 증가되지 않았다(도 2a). 반면에, 80°C에서 숙성하면 시간이 경과함에 따라, 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 증가하였고, 90°C에서도 80°C에서 숙성한 경우와 마찬가지로 시간이 경과함에 따라 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 증가하였다.
- [142] 또한, 도 2b 내지 도 2c에서 알 수 있듯이 숙성 시간에 따라 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 변화하였다. 숙성을 80°C 이상의 조건에서 3시간 이상 수행한 흑삼 농축액의 경우 진세노사이드 Rk1, Rg5의 함량이 증가하였다.
- [143] **실험예 3. 흑삼 농축액의 진세노사이드 성분 분석**
- [144] 제조예 3에서 수득한 흑삼 농축액 또는 흑삼 농축액에 존재하는 진세노사이드 성분의 분석은 HPLC를 이용하여 실시하였다. 시료는 상기 제조예 3에서 얻은 흑삼 농축액을 메탄올에 1/30 비율로 희석 후, 0.45 μ m 필터로 여과한 용액을 사용하였다. HPLC는 HPLC 1260 (DAD) (Agilent, USA)를 사용하였다. 컬럼은 VENUSIL XBP C18 (4.6MM $\times$ 250MM, 5.0 μ m)을 사용하였고, 이동상은 LC급 물을 A용매로, 아세토니트릴을 B용매로 사용하였다. 컬럼 온도는 35°C로 유지하였다. 구배 조건은 0~3.8분 동안 1ml/분 유속으로 B용매를 30%로 유지하고, 3.81분에서 4.5분 동안 0.5ml/분 유속으로 B용매를 30%로 유지하고, 4.51분에서 6분 동안 1.2ml/분 유속으로 B용매를 30%에서 42%로 증가시키고, 7.5분에서 13분 동안 0.5ml/분 유속으로 B용매를 42%로 유지하고, 18분까지 0.5ml/분 유속으로 B용매를 47.4%로 증가시키고, 18.1분에서 25분 동안 1ml/분 유속으로 B용매를 55%로 증가시키고, 30분에서 32분까지 1ml/분 유속으로 B용매를 60%로 증가시키고, 42분에서 50분까지 1ml/분 유속으로 B용매를 60%에서 90%로 증가시키고, 50.1분에서 53분까지 1ml/분 유속으로 B용매를 30%로 유지하였다. 성분 분석 결과를 하기에 나타낸다(단위 mg/g).

[145] [표1]

	진세노사이드 함량									
	Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rg1	Rg3(S)	Rk1	Rg5	Rh1(S)
홍삼	4.91	2.21	3.23	1.75	3.74	1.29	0.42	0.12	0.46	0.43
흑삼	0.83	0.00	0.00	0.00	1.34	0.00	4.12	4.75	4.54	0.94

[146] 흑삼 농축액의 진세노사이드를 분석한 결과, Rb1 0.832 mg/g, Rf 1.157 mg/g, Rg2(S) 1.008 mg/g, Rg2(R) 0.265 mg/g, Rh1(S) 0.941 mg/g, Rh1(R) 0.416 mg/g, Rg6 0.274mg/g, F4 0.777 mg/g, Rk3 0.862 mg/g, Rh4 1.714 mg/g, Rg3(S) 4.122 mg/g, Rg3(R) 1.184 mg/g, Rk1 4.747 mg/g, Rg5 4.539 mg/g 이 존재함을 확인하였다.

[147] 흑삼 농축액과 홍삼 농축액에 포함된 진세노사이드 함량을 비교하였을 때, Rk1, Rg5의 경우 홍삼 농축액 대비 각각 약 40배, 약 10배 증가하였다.

[148] 실험예 4. 흑삼 농축액의 산성 다당체 성분 분석

[149] 제조예 3에서 수득한 홍삼 농축액, 흑삼 농축액에 존재하는 산성다당체 성분의 분석은 카바줄황산 비색법을 통해 측정하였다. 시료는 상기 제조예 3에서 얻은 각 농축액 300mg씩 10ml 증류수에 희석하여 사용하였다. 희석액을 90℃에서 3시간 중탕 후 냉각하여 원심분리(3000rpm, 10분)하여 상등액에서 1ml를 취하였고 여기에 4ml 에탄올을 첨가하여 흰색 침전물을 형성하였다. 흰색 침전물을 얻기 위해 원심분리(3000rpm, 10분)한 후 상등액을 제거하고 4ml 증류수를 첨가하여 흰색 침전물을 용해시킨 후 n-부탄올과 CHCl₃를 1:4로 혼합한 용액 1ml를 넣어 교반 후 다시 원심분리(3000rpm, 10분)하였다. 여기에 상등액인 물추출액 4ml를 취하고 소니케이션을 진행하였다.

[150] 소니케이션이 완료된 용액 20 μ l와 증류수 80 μ l, 0.1% 카바줄 에탄올 시약 50 μ l(카바줄 0.125g/무수에탄올 100ml로 제조), 황산 600 μ l를 2ml 튜브에 넣고 교반 후 96 웰 플레이트에 200 μ l씩 넣어 530nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 이용해 함량을 계산하였다.

[151] 표준품의 경우 갈락투론산을 증류수에 용해시켜 1000, 500, 250, 125mg/L의 농도로 조제하여 표준용액 20 μ l, 증류수 80 μ l, 0.1% 카바줄 에탄올 시약 50 μ l(카바줄 0.125g/무수에탄올 100ml로 제조), 황산 600 μ l를 2ml 튜브에 넣고 교반 후 96 웰 플레이트에 200 μ l씩 넣어 530nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 만들어 농도를 측정하였다. 하기에 산성 다당체 함량을 나타낸다(단위 mg/g).

[152] [표2]

	산성 다당체
홍삼	0.37
흑삼	2.63

- [153] 표 2에 나타난 바와 같이, 흑삼 농축액은 홍삼 농축액에 비해서 산성 다당체를 다량으로 포함하였다.
- [154] **실험예 5. 흑삼 농축액의 폴리페놀 성분 분석**
- [155] 제조예 3에서 수득한 홍삼 농축액, 흑삼 농축액에 존재하는 폴리페놀 함량을 Microplate Reader(Powerwave XS, BioTek, USA)를 이용하여 측정하였다. 탄산나트륨(Sigma223484, CAS No. 497-19-8) 2 g을 100 ml 정용 플라스크에 취한 후, 증류수로 100 ml 정용하여 2% 탄산나트륨 시약을 제조한다. 폴린-시오칼토(Folin-Ciocalteu's) 페놀 시약(SigmaF9252-1L)과 증류수를 1:1 비율로 혼합하여 50% 폴린-시오칼토 페놀 시약을 제조하여 빛이 투과되지 않도록 알루미늄 호일로 감싸주었다.
- [156] 시험용액은 제조예 3에서 수득한 홍삼 농축액, 흑삼 농축액을 각각 1:1 비율로 증류수로 희석하여 0.1 ml씩 취하고 0.1 ml의 50% 폴린-시오칼토 페놀 시약을, 2 ml의 2% 탄산나트륨을 혼합하여 30분 암소 방치하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액은 갈릭산(Gallic acid, SigmaG7384, CAS No. 149-91-7) 0.4 g을 100 ml 정용 플라스크에 취한 후, 증류수로 100 ml 정용하여 31.25 ppm, 62.5 ppm, 125 ppm, 250 ppm 및 500 ppm 농도별로 희석하여 표준용액으로 하였다. 표준용액은 시험용액과 같은 방법으로 시약을 혼합하여 30분 암소 방치 후 750nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [157] 흡광도 측정 후, 표준용액의 흡광도를 횡축으로, 표준용액의 농도를 종축으로 하여 검량선을 작성하고, 하기 식 1을 사용하여 제조예 3에서 수득한 홍삼 농축액, 흑삼 농축액에 대해 각각의 총 폴리페놀 함량을 구하였다.
- [158] [식 1]
- [159] 총 폴리페놀 함량(mg/ml) = (A × B × C) / D
- [160] * A: 시험용액 전량(ml), B: 희석배수, C: 시험용액 중 총 폴리페놀 농도(mg/ml), D: 시료 채취량(ml)
- [161] 하기에 폴리페놀 함량을 나타낸다(단위 mg/g).
- [162] [표3]

	폴리페놀
홍삼	10.4
흑삼	20.8

- [163] 표 3에 나타난 바와 같이, 흑삼 농축액은 홍삼 농축액에 비해서 폴리페놀을 다량으로 포함하였다.
- [164] **실험예 3 내지 5의 정리**
- [165] 제조예 3에서 제조된 흑삼 농축액은 진세노사이드 Rk1, Rg5, 산성다당체, 폴리페놀 함량이 제조예 3에서 제조된 홍삼 농축액 대비 높았으며, 이에 따라 제조예 3의 흑삼 농축액을 표준화 흑삼 농축액으로 명명하였다. 위 표준화 흑삼

농축액을 항바이러스 활성 측정에 사용하였다.

- [166] 실험예 6. 흑삼 농축액의 항바이러스 활성 측정
- [167] 상기 제조예에서 제조된 표준화 흑삼 농축액의 신종플루 인플루엔자 바이러스 억제 효과를 측정하기 위하여 아래와 같이 실험을 수행하였다. 각 실험군은 동일하게 (주)샘타코에서 구입한 6 주령의 BALB/c마우스(암컷) 6 마리를 한 군으로 하여 실험에 사용하였다.
- [168] 홍삼 농축액 또는 표준화 흑삼 농축액을 마우스에 매일 10 mg/Kg/day의 농도로 14일 동안 투여하였다. 위 홍삼 농축액 또는 표준화 흑삼 농축액을 투여한 마우스를 비롯하여, 음성대조군, 양성대조군으로 사용할 마우스에 각각 30 μ l 신종플루 인플루엔자 바이러스 (A/California/04/2009(H1N1))를 코로 접종하였다. 홍삼 농축액 또는 표준화 흑삼 농축액을 투여한 마우스의 경우 인플루엔자 바이러스 접종 후 일주일간 더 홍삼 농축액 및 표준화 흑삼 농축액을 투여하였다. 인플루엔자 바이러스를 접종하지 않은 그룹을 정상군으로 하였다. 인플루엔자 바이러스로 감염된 마우스 중 치료 무처리 그룹을 음성대조군으로 하고, 인플루엔자 바이러스로 감염된 마우스 중 신종플루 인플루엔자 바이러스 약물인 타미플루를 처리한 그룹을 양성대조군으로 설정하였다. 모든 그룹은 감염 후 14일 동안 마우스의 생존율/치사율을 관찰하였다. 흑삼의 항바이러스 면역 효능 기작 규명을 위해 감염 5일 후에 폐조직 손상 여부를 확인하고, 감염 1일 후, 3일 후, 5일 후, 7일 후에 면역 지표 인자 (GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, IFN- γ : Interferon-gamma, IL-10: Interleukin-10)를 측정하였다.
- [169] 6-1. 바이러스 감염 후 치사율 평가
- [170] 바이러스 감염 후 치사율은 도 3과, 표 4에 나타낸다.
- [171] [표4]

치료	투여량 (mg/kg/day)	치사율 (%)
음성대조군	-	100
양성대조군 (Tamiflu)	2	0
홍삼 농축액	10	50
흑삼 농축액	10	0

- [172] 도 3 및 표 4에 나타낸 바와 같이, 음성대조군은 바이러스 감염 후 100% 치사율을 보였다. 반면 항바이러스 약물인 타미플루를 처리한 양성대조군은 치사율이 0% 이었다. 홍삼 농축액 투여군은 실험에 사용된 6마리 마우스 중 총 3마리가 바이러스 감염으로부터 사망하여 50%의 치사율을 보였다. 하지만 표준화 흑삼 농축액이 투여된 그룹의 총 6마리의 마우스는 모두 생존하여 양성대조군과 동일하게 치사율 0%이었다. 따라서 홍삼 농축액 대비 표준화 흑삼 농축액의 신종플루 인플루엔자 바이러스에 대한 보호 효과가 현저히

우수하였다.

[173] **6-2. 바이러스 감염 후 폐조직 손상 정도 평가**

[174] 신종플루 인플루엔자 바이러스에 감염된 마우스의 사망 원인은 도 4에 나타난 음성 대조군 또는 홍삼 농축액 투여군의 폐조직과 같이, 감염 5일 후 폐조직에 면역세포 축적으로 인한 조직 손상으로 호흡기 기능이 상실함을 의미하는 것이다. 표준화 홍삼 농축액 투여군은 홍삼 농축액 투여군 대비 폐조직 손상 정도가 상대적으로 낮으며, 신종플루 바이러스 감염에 의한 폐조직 손상을 억제 또는 개선하는 효과가 홍삼 농축액 대비 표준화 홍삼 농축액이 더 뛰어난 것으로 나타났다.

[175] **6-3. 바이러스 감염 후 면역활성인자 생성 정도 평가**

[176] 효과적인 신종플루 인플루엔자 바이러스 치료 단계는 감염 초기에 면역세포가 증식을 하고 면역활성 인자를 대량 생성해서 바이러스를 효과적으로 제거하고 감염 후에 면역세포가 면역억제 인자를 생성하여 호스트를 정상적인 상태로 복귀하는 것이다.

[177] 본 실험 결과, 정상군은 그래프 내에 점선으로 나타난 바와 같이 면역활성인자의 생성에 변화가 없었다. 반면에, 표준화 홍삼 농축액 투여군은 감염 1일차에 면역 세포 증식 인자(GM-CSF)가 높게 발현되고, 감염 3일차에 면역 활성 인자(IFN- γ)가 높게 발현되며, 감염 7일차에 면역 억제 인자(IL-10)가 높게 발현되었다. 따라서 표준화 홍삼 농축액은 감염 초기에 면역세포 증식과 활성을 높여 바이러스를 사멸시킨 후, 감염 후기에 올라간 면역 시스템을 정상화시켜 항바이러스 효과를 발휘하는 것으로 규명되었다(도 5a 내지 도 5c 참조). 또한 이러한 면역활성인자들이 대부분 홍삼 농축액 투여군 대비 높은 활성을 보여주어 신종플루 바이러스 감염에 대한 치료 및 예방 효과가 표준화 홍삼 농축액이 홍삼 농축액 대비 높다는 것을 알 수 있었다.

[178] 이는 표준화 홍삼농축액이 홍삼 농축액에 비해 진세노사이드 Rk1, Rg5 및 산성다당체 성분, 폴리페놀 함량이 높는데 기인한 것으로 판단된다.

[179] **실험예 7. 홍삼 농축액의 호흡기 건강에 미치는 영향 측정**

[180] 상기 제조예에서 제조된 표준화 홍삼 농축액의 호흡기 건강에 대한 효과를 측정하기 위하여 아래와 같이 실험을 수행하였다. 각 실험군은 동일하게 6-8 주령의 C57BL/6마우스(수컷) 6 마리를 한 군으로 하여 실험에 사용하였다.

[181] 홍삼 농축액 또는 표준화 홍삼 농축액을 마우스에 매일 10 또는 250 mg/Kg/day의 농도로 14일 동안 투여하였다. 위 홍삼 농축액 또는 표준화 홍삼 농축 액을 투여한 마우스를 비롯하여, 음성대조군으로 사용할 마우스에 각각 50 μ l 초미세먼지(SRM2975 10mg/ml)를 매일 3일 동안 기도내에 투여하였다. 홍삼 농축액 또는 표준화 홍삼 농축액을 투여한 마우스의 경우 초미세먼지 투여일부터 일주일간 더 홍삼 농축액 및 표준화 홍삼 농축액을 투여하였다. 초미세먼지를 투여하지 않은 그룹을 정상군으로 하였다. 모든 그룹은 초미세먼지 처음 투입후 후 4일부터 6일에 안락사시킨 후 홍삼의 염증

억제효과를 확인하기 위해 폐의 무게와 면역 (염증)세포의 수를 측정하였다. 흑삼이 호흡기 폐에 초미세먼지의 축적을 감소하는 효과를 보기 위해 폐의 조직병리학적 검사를 하였다. 또한 흑삼의 초미세먼지에 대한 호흡기 건강 기능 기작 규명을 위해 면역 지표인자 (GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, TNF: tumor necrosis factor, IL-1beta: Interleukin-1beta, IL-6, IL-2, & IL-10)를 측정하였다.

- [182] **실험예 8. 흑삼 농축액의 항노화 기능 측정**
- [183] 상기 제조예에서 제조된 표준화 흑삼 농축액의 항노화 기능에 대한 효과를 측정하기 위하여 아래와 같이 실험을 수행하였다. 각 실험군은 동일하게 18개월 C57BL/6마우스(수컷) 3 마리를 한 군으로 하여 실험에 사용하였다.
- [184] 홍삼 농축액 또는 표준화 흑삼 농축액을 마우스에 매일 300 mg/Kg의 농도로 투여하였다. 모든 그룹은 매일 28일 동안 투입한 후 안락사 시켰다. 흑삼의 항노화 효과를 확인하기 위해 간조직과 간조직에서 분리한 간세포에서 노화 관련 지표 인자 p15INK4b, p16INK4a, p21, p27, p38, p53, CDK1, CDK2, mechanistic target of rapamycin (mTOR), sirtuin 1 (SIRT1), 및 β -galactosidase (β -gal) staining의 유전자와 단백질 발현을 측정하였다.
- [185] **제조예 4. 식품의 제조**
- [186] **4-1. 밀가루 식품의 제조**
- [187] 본 발명의 흑삼 추출물 0.5 ~ 5.0 중량부를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을 이용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하였다.
- [188] **4-2. 스프 및 육즙(gravies)의 제조**
- [189] 본 발명의 흑삼 추출물 0.2 ~ 5.0 중량부를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증진용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.
- [190] **4-3. 그라운드 비프(ground beef)의 제조**
- [191] 본 발명의 흑삼 추출물 10 중량부를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.
- [192] **4-4. 유제품(dairy products)의 제조**
- [193] 본 발명의 흑삼 추출물 5~10 중량부를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하여 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.
- [194] **4-5. 선식의 제조**
- [195] 현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [196] 검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기로 입도 60 메쉬의 분말로 제조하였다.
- [197] 본 발명의 흑삼 추출물을 진공 농축기에서 감압농축하고, 분무, 열풍건조기로 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60 메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.
- [198] 상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 본 발명의 흑삼 추출물을 다음의 비율로 배합하여 제조하였다.

- [199] 곡물류(현미 30 중량부, 율무 15 중량부, 보리 20 중량부), 종실류(들깨 7 중량부, 검정콩 8 중량부, 검정깨 7 중량부), 본 발명의 흑삼 추출물(3 중량부), 영지(0.5 중량부), 지황(0.5 중량부)
- [200] **4-6. 건강음료의 제조**
- [201] 액상과당(0.5%), 올리고당(2%), 설탕(2%), 식염(0.5%), 물(75%)과 같은 부재료와 본 발명의 흑삼 추출물 5 g을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이를 유리병, 패트병 등 소포장 용기에 포장하여 제조하였다.
- [202] **4-7. 야채 주스의 제조**
- [203] 본 발명의 흑삼 추출물 5 g을 토마토 또는 당근 주스 1,000 ml에 가하여 야채 주스를 제조하였다.
- [204] **4-8. 과일 주스의 제조**
- [205] 본 발명의 흑삼 추출물 1 g을 사과 또는 포도 주스 1,000 ml에 가하여 과일 주스를 제조하였다.
- [206] **제조예 5. 약학적 조성물의 제조**
- [207] **5-1. 산제의 제조**
- [208] 본 발명의 흑삼 추출물 2 g
- [209] 유당 1 g
- [210] 상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.
- [211] **5-2. 정제의 제조**
- [212] 본 발명의 흑삼 추출물 100 mg
- [213] 옥수수전분 100 mg
- [214] 유당 100 mg
- [215] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [216] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 정제의 제조 방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.
- [217] **5-3. 캡슐제의 제조**
- [218] 본 발명의 흑삼 추출물 100 mg
- [219] 옥수수전분 100 mg
- [220] 유당 100 mg
- [221] 스테아린산 마그네슘 2 mg
- [222] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.
- [223] **5-4. 환의 제조**
- [224] 본 발명의 흑삼 추출물 1 g
- [225] 유당 1.5 g
- [226] 글리세린 1 g
- [227] 자일리톨 0.5 g
- [228] 상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 방법에 따라 1환 당 4g이 되도록 제조하였다.

[229] **5-5. 과립의 제조**

[230] 본 발명의 흑삼 추출물 150 mg

[231] 대두추출물 50 mg

[232] 포도당 200 mg

[233] 전분 600 mg

[234] 상기의 성분을 혼합한 후, 30% 에탄올 100 mg을 첨가하여 섞씨 60°C에서 건조하여 과립을 형성한 후 포에 충전하였다.

청구범위

- [청구항 1] 인삼을 증숙하여 흑삼을 제조하는 단계;
제조된 흑삼을 용매로 추출하는 단계; 및
추출된 흑삼 추출물을 숙성하는 단계;를 포함하는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5가 강화된 흑삼 추출물의 제조 방법.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서,
증숙은 70°C 내지 120°C에서 3회 내지 12회 수행되는 것인 흑삼 추출물의 제조 방법.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서,
증숙은 증숙 1회당 2시간 이상의 조건으로 수행되는 것인 흑삼 추출물의 제조 방법.
- [청구항 4] 청구항 1에 있어서,
흑삼 추출물을 숙성하는 단계는 80°C 이상에서 수행되는 것인 흑삼 추출물의 제조 방법.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서,
흑삼 추출물을 숙성하는 단계는 3시간 이상 수행되는 것인 흑삼 추출물의 제조 방법.
- [청구항 6] 청구항 1에 있어서,
상기 흑삼 추출물에 포함되는 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부 내지 90 중량부로 포함되는 것인 흑삼 추출물의 제조 방법.
- [청구항 7] 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로 포함하는 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물로서, 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부 내지 90 중량부로 포함되는 것인 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 8] 청구항 7에 있어서,
상기 흑삼 추출물은 추가로 산성 다당체, 폴리페놀을 포함하는 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 9] 청구항 7에 있어서,
인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 A 바이러스인 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 10] 청구항 9에 있어서,
인플루엔자 A 바이러스는 H1N1인 인플루엔자 바이러스에 의한 질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물.

- [청구항 11] 청구항 7에 있어서,
상기 조성물은 식품, 또는 약학 조성물인 인플루엔자 바이러스에 의한
질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 12] 청구항 7에 있어서,
상기 질환은 감기, 독감, 기침, 재채기, 콧물, 근육통, 인후염, 비강폐색,
후두염, 목의 통증, 천소리, 두통, 부기강에 대한 통증, 비염, 인두염,
기관지염, 천식, 발열, 호흡곤란, 전신무기력 및 오한으로 이루어진
군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 인플루엔자 바이러스에 의한
질환 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 13] 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로
포함하는 호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물로서, 상기
진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의 합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc,
Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및 Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20
중량부 내지 90 중량부로 포함되는 것인 호흡기 질환의 예방, 억제 또는
치료용 조성물.
- [청구항 14] 청구항 13에 있어서,
상기 흑삼 추출물은 추가로 산성 다당체, 폴리페놀을 포함하는 호흡기
질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 15] 청구항 13에 있어서,
상기 호흡기 질환은 천식, 만성폐쇄성폐질환, 기관지염, 인후염, 후두염,
비염, 부비강염 및 폐렴으로 이루어진 군에서 선택되는 것인, 호흡기
질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 16] 청구항 15에 있어서,
상기 호흡기 질환은 미세먼지 또는 초미세먼지에 의해 유발되는 것인,
호흡기 질환의 예방, 억제 또는 치료용 조성물.
- [청구항 17] 진세노사이드 Rk1 및 Rg5를 포함하는 흑삼 추출물을 유효성분으로
포함하는 항노화 조성물로서, 상기 진세노사이드 Rk1 및 Rg5의 함량의
합계는 진세노사이드 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, Rg3(s), Rk1, Rg5 및
Rh1(s)의 함량의 합계 100 중량부 대비 20 중량부 내지 90 중량부로
포함되는 것인 항노화 조성물.
- [청구항 18] 청구항 17에 있어서,
상기 흑삼 추출물은 추가로 산성 다당체, 폴리페놀을 포함하는 항노화
조성물.