



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0029559
(43) 공개일자 2020년03월18일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/9066 (2006.01) A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/718 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 36/9066 (2013.01)
A61K 31/198 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7004552
- (22) 출원일자(국제) 2018년07월17일
심사청구일자 2020년02월17일
- (85) 번역문제출일자 2020년02월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/042390
- (87) 국제공개번호 WO 2019/022991
국제공개일자 2019년01월31일
- (30) 우선권주장
201741026215 2017년07월24일 인도(IN)

- (71) 출원인
새미 랩스 리미티드
인도 카르나타카 방갈로-560058 피냐 인터스트리
얼 에리어 페이스 2 메인 1 19/1 앤드 19/2
- (72) 발명자
마지드, 무하메드
미국 뉴저지 08520 이스트 윈저 레이크 드라이브
20 사빈사 코포레이션
나가브후스하남, 칼야남
미국 뉴저지 08520 이스트 윈저 레이크 드라이브
20 사빈사 코포레이션
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인 무한

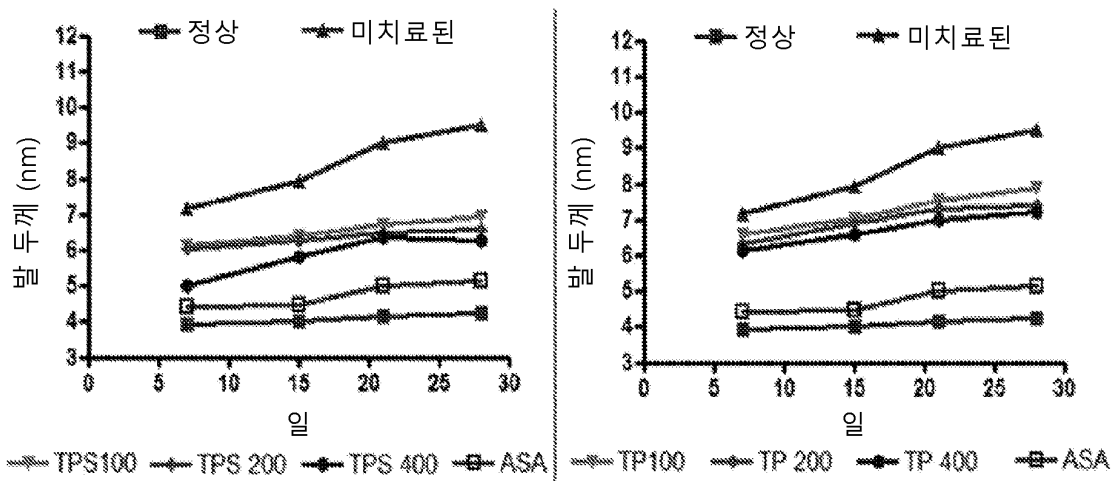
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 사용된 강황 - 이의 방법 및 조성물

(57) 요약

본 발명은 사용된 강황(spent turmeric)으로부터 생리 활성 성분 및 상기 생리 활성 성분을 포함하는 조성물의 분리 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 생리 활성 조성물의 강력한 항염증 활성 및 류마티스 관절염에 이의 치료적 적용을 설명한다.

대표도 - 도1



TPS:강황 다당류, TP:강황 단백질, ASA-아세틸 살리실산, ***p<0.001

(52) CPC특허분류

A61K 31/718 (2013.01)

A61K 38/00 (2013.01)

A61P 19/02 (2018.01)

A61P 29/00 (2018.01)

A61K 2236/331 (2013.01)

(72) 발명자

산카란, 나타라잔

인도 560058 방갈로르 피냐 인더스트리얼 에리어
II 페이스 I 메인 19/1 & 19/2 새미 램프 리미터
드

바트, 베나

인도 560058 방갈로르 피냐 인더스트리얼 에리어
II 페이스 I 메인 19/1 & 19/2 새미 램프 리미터
드

명세서

청구범위

청구항 1

사용된 강황(spent turmeric)의 물 추출(water extraction) 방법으로서,

상기 방법은,

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(total dissolved solid, TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계; 및
- d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화(powdering) 및 체질(sieving)하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질(hydrophobic protein)과 함께 발생하는 것인, 단계;

를 포함하는 것인, 사용된 강황의 물 추출 방법.

청구항 2

사용된 강황의 물 추출 방법으로서,

상기 방법은,

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린(decanting) 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적(soaking volume)의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드(curcuminoid) 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를 형성하는 단계; 및
- h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계;

를 포함하는 것인, 사용된 강황의 물 추출 방법.

청구항 3

포유류의 염증을 치료하여 염증 감소 효과를 발생시키는 방법으로서,

상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득되는 것인, 포유류의 염증을 치료하여 염증 감소 효과를 발생시키는 방법:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계; 및
- d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.

청구항 4

포유류의 염증을 치료하여 염증 감소 효과를 발생시키는 방법으로서,

상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득되는 것인, 포유류의 염증을 치료하여 염증 감소 효과를 발생시키는 방법:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를 형성하는 단계; 및
- h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.

청구항 5

포유류의 류마티스 관절염을 치료하여, 통증, 종창, 부종을 포함하는 포유류의 류마티스 관절염 증상을 감소시키고, IL-6 및 TNF- α 의 혈청 마커를 감소시키는 효과를 발생시키는 방법으로서,

상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득되는 것인, 방법:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계; 및
- d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.

청구항 6

포유류의 류마티스 관절염을 치료하여, 통증, 종창, 부종을 포함하는 포유류의 류마티스 관절염 증상을 감소시키고, IL-6 및 TNF- α 의 혈청 마커를 감소시키는 효과를 발생시키는 방법으로서,

상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득되는 것인, 방법:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를 형성하는 단계; 및
- h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.

청구항 7

사용된 강황 재료로부터 수득된 단백질 조성물로서,

상기 단백질 조성물은 하기 단계를 포함하는 사용된 강황의 물 추출에 의해 획득되는 것인, 단백질 조성물:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 획득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 획득하는 단계; 및
- c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 획득하는 단계.

청구항 8

사용된 강황 재료로부터 획득된 단백질 조성물로서,

상기 단백질 조성물은 하기 단계를 포함하는 사용된 강황의 물 추출에 의해 획득되는 것인, 단백질 조성물:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 획득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 획득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 획득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계; 및
- f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 획득하는 단계.

청구항 9

소수성 단백질을 갖는 다당류를 포함하는 다당류 조성물로서,

상기 조성물은 하기 단계를 포함하는 공정을 통해 사용된 강황으로부터 획득되는 것인, 다당류 조성물:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 획득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 획득하는 단계; 및
- c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 획득하는 단계; 및
- d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 획득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.

청구항 10

소수성 단백질을 갖는 다당류를 포함하는 다당류 조성물로서,

상기 조성물은 하기 단계를 포함하는 공정을 통해 사용된 강황으로부터 수득되는 것인, 다당류 조성물:

- a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10 내지 약 1:50이고, 가장 바람직한 비율이 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를 형성하는 단계; 및
- h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.

청구항 11

식물 단백질 조성물로서,

상기 단백질 조성물은 사용된 강황으로부터 수득되고,

상기 단백질 조성물은 속도 제한 아미노산(rate limiting aminoacid) 시스테인 및 메티오닌을 포함하는 것을 특징으로 하는 것인, 식물 단백질 조성물.

청구항 12

식물 다당류 조성물(전분)으로서,

상기 다당류 조성물은 사용된 강황으로부터 수득되고,

α , 1-4 결합(아밀로오스) 및 α , 1-6 결합(아밀로펙틴)에 의해 연결된 90%의 글루코오스 잔기를 갖는 저항성 전분(resistant starch)으로서 소수성 당단백질과 함께 발생하는 것을 특징으로 하는 것인, 식물 다당류 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] (관련 출원의 상호 참조)

[0002] 본 발명은 2017년 7월 24일에 출원된 인도 출원 제201741026215의 우선권을 주장하는 PCT 출원이다.

[0003] 본 발명은 일반적으로 울금(*Curcuma longa*)(강황)에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 사용된 강황(spent turmeric)으로부터 소수성 단백질과 함께 발생하는 다당류 및 생리 활성 당단백질의 분리 및 이의 강력한 항염증 활성 및 류마티스 관절염의 치료적 관리를 위한 적용에 관한 것이다.

배경 기술

- [0004] 사용된 강황은 강황 분말 (울금의 분말 건조 뿌리 줄기(rhizome))의 용매 추출 후 남아있는 불용성 고형분을 구성한다. 이는 산업 폐기물로 간주된다. 그럼에도 불구하고, 사용된 강황의 치료적 가능성은 당 업계에 보고되어 있다.
- [0005] Gurusiddiah Suresh Kumar et al, "Effect of spent turmeric on kidney glycoconjugates in streptozotocin-induced diabetic rats", J Diabetes Metab Disord. 2014; 13: 78은 당뇨병 동안 당단백질 및 헤파란 설페이트 (heparan sulfate) 관련 신장 합병증과 같은 당 접합체(glycoconjugate)를 제어하는데 사용된 강황의 유리한 효과를 개시한다.
- [0006] Han KH et al, "Spent turmeric reduces fat mass in rats fed a high-fat diet", Food Funct. 2016 Apr; 7(4):1814-24.
- [0007] 사용된 강황의 생리 활성 성분을 특성화하기 위해 예비 조사를 통해 유용한 기술적 통찰력을 얻었다. Smitha S 등은 Biochemie. 2009 Sep; 91 (9): 1156-1162에서 강황 폐기물 그릿(grit)으로부터 34 kDa 당단백질(베타-터메린(turmerin))을 보고했다.
- [0008] 따라서, 사용된 강황 및 이의 치료적 가능성의 본질에서 생리 활성 성분의 전체 스펙트럼을 탐색할 기술적인 필요성이 존재한다.
- [0009] 본 발명의 주요 목적은 신규한 생리 활성을 찾아 사용된 강황 물질의 치료 및 이들의 치료적 가능성의 설명을 위한 신규하고, 진보성 있고, 산업상 적용 가능한 공정 스킴을 개시하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 다른 목적은 사용된 강황의 치료를 위해 신규하고, 진보성 있고, 산업상 적용 가능한 공정 스킴에 의해 수득된 사용된 강황의 면역 자극/항염증성 당단백질 및 전분 성분을 개시하는 것이다.
- [0011] 본 발명은 상술한 목적을 달성하고 추가로 관련된 이점을 제공한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

- [0012] 사용된 강황(울금)으로부터 생리 활성 성분을 분리하는 방법 및 상기 생리 활성 성분을 포함하는 조성물이 기술된다. 또한, 본 발명은 류마티스 관절염에서 상기 생리 활성 조성물의 강력한 항염증 활성 및 이의 치료적 적용을 설명한다. 본 발명의 우수한 이점은 본 발명의 방법이 식물 단백질 공급원에서 거의 발견되지 않는 상당한 양의 속도 제한 아미노산, 시스테인 및 메티오닌을 포함하는 당단백질을 생성하는 기술적 효과이다. 따라서, 본 발명의 방법을 사용하여 분리된 당단백질은 사용된 강황 뿌리 줄기로부터 "전체 단백질(whole protein)"로 간주될 수 있다.
- [0013] 하기 용어는 본 명세서에 기재된 본 발명의 과학적 맥락을 이해하기 위해 포함되었다.
- [0014] A. 속도 제한 아미노산(Rate limiting amino acid): 식이가 임의의 필수 아미노산이 부족한 경우, 단백질 합성은 해당 아미노산을 사용할 수 있는 속도 이상으로 진행될 수 없다. 이러한 필수 아미노산을 "속도 제한 아미노산" 또는 간단히 "제한 아미노산(limiting amino acid)"이라고 한다.
- [0015] B. 총 용존 고형물(Total dissolved solid, TDS): 총 용존 고형물(TDS)은 액체에 포함된 모든 무기 및 유기 물질의 총 함량을 측정하는 것이다. 이는 분자, 이온화 또는 미세 과립(Micro-granular) (콜로이드 졸(colloidal sol))과 같은 형태로 현탁될 수 있다.
- [0016] C. 커큐미노이드(Curcuminoid): 커큐미노이드는 커큐민(curcumin), 디메톡시커큐민(demethoxycurcumin) 및 비스디메톡시커큐민(bisdemethoxycurcumin)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 강황에서 발견되는 천연 화학 화합물이다.
- [0017] 본 발명의 다른 특징 및 이점은, 예를 들어 본 발명의 원리를 예시하는 첨부된 도면과 관련하여 다음의 보다

상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0018] 도 1은 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)(쥐에서 보강제(adjuvant) 유도된 류마티스 관절염)을 함유하는 완전 보강제(Complete adjuvant)를 투여함으로써 유도된 (발 두께의 감소에 의해 측정된) 쥐의 발의 염증을 감소시키는 사용된 강황 다당류와 사용된 강황 당단백질의 유효 농도(100 mg/kg 체중, 200mg/kg 체중 및 400mg/kg 체중)의 비교적인 능력을 그래프로 도시한다.
- 도 2는 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)(쥐에서 보강제 유도된 류마티스 관절염)을 함유하는 완전 보강제를 투여함으로써 유도된 (발 두께의 감소에 의해 측정된) 쥐의 발의 염증을 감소시키는 28일 치료 후의 사용된 강황 다당류와 사용된 강황 당단백질의 유효 농도(100 mg/kg 체중, 200mg/kg 체중 및 400mg/kg 체중)의 비교적인 능력을 그래프로 도시한다.
- 도 3은 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)(쥐에서 보강제 유도된 류마티스 관절염)을 함유하는 완전 보강제를 투여함으로써 유도된 (발 부종의 감소에 의해 측정된) 쥐의 발의 염증을 감소시키는 28일 치료 후의 사용된 강황 다당류와 사용된 강황 당단백질의 유효 농도(100 mg/kg 체중, 200mg/kg 체중 및 400mg/kg 체중)의 비교적인 능력을 그래프로 도시한다.
- 도 4는 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)(쥐에서 보강제 유도된 류마티스 관절염)을 함유하는 완전 보강제를 투여함으로써 유도된 (발 두께 및 부종의 감소에 의해 측정된) 쥐의 발의 염증을 감소시키는 28일 치료 후의 사용된 강황 다당류와 사용된 강황 당단백질의 유효 농도(100 mg/kg 체중, 200mg/kg 체중 및 400mg/kg 체중)의 비교적인 능력을 그래프로 도시한다.
- 도 5는 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)(쥐에서 보강제 유도된 류마티스 관절염)을 함유하는 완전 보강제를 투여한 후 혈청 염증 마커 IL-6을 감소시키는 28일 치료 후의 사용된 강황 다당류와 사용된 강황 당단백질의 유효 농도(100 mg/kg 체중, 200mg/kg 체중 및 400mg/kg 체중)의 비교적인 능력을 그래프로 도시한다.
- 도 6은 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)(쥐에서 보강제 유도된 류마티스 관절염)을 함유하는 완전 보강제를 투여한 후 혈청 염증 마커 TNF- α 를 감소시키는 28일 치료 후의 사용된 강황 다당류와 사용된 강황 당단백질의 유효 농도(100 mg/kg 체중, 200mg/kg 체중 및 400mg/kg 체중)의 비교적인 능력을 그래프로 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 사용된 강황의 물 추출 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0020] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0021] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0022] c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(total dissolved solid, TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계; 및
- [0023] d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화(powdering) 및 체질(sieving)하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질(hydrophobic protein)과 함께 발생하는 것인, 단계.
- [0024] 바람직한 양태에서, 상기 단계 a)에서 사용된 강황과 물의 비율은 1:10 내지 1:50의 범위 내이다.
- [0025] 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 사용된 강황의 물 추출 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0026] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0027] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0028] c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는

단계;

- [0029] d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- [0030] e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린(decanting) 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- [0031] f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- [0032] g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적(soaking volume)의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드(curcuminoid) 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를 형성하는 단계; 및
- [0033] h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.
- [0034] 바람직한 양태에서, 상기 단계 a)에서 사용된 강황과 물의 비율은 1:10 내지 1:50의 범위 내이다.
- [0035] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 포유류의 염증을 치료하여 염증 감소 효과를 발생시키는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득된다:
- [0036] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0037] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0038] c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계; 및
- [0039] d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.
- [0040] 바람직한 양태에서, 상기 단계 a)에서 사용된 강황과 물의 비율은 1:10 내지 1:50의 범위 내이다.
- [0041] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 포유류의 염증을 치료하여 염증 감소 효과를 발생시키는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득된다:
- [0042] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0043] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0044] c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- [0045] d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- [0046] e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- [0047] f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- [0048] g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를

형성하는 단계; 및

- [0049] h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.
- [0050] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 포유류의 류마티스 관절염을 치료하여, 통증, 종창, 부종을 포함하는 포유류의 류마티스 관절염 증상을 감소시키고, IL-6 및 TNF- α 의 혈청 마커를 감소시키는 효과를 발생시키는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득된다:
- [0051] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0052] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0053] c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계; 및
- [0054] d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.
- [0055] 바람직한 양태에서, 상기 단계 a)에서 사용된 강황과 물의 비율은 1:10 내지 1:50의 범위 내이다.
- [0056] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 포유류의 류마티스 관절염을 치료하여, 통증, 종창, 부종을 포함하는 포유류의 류마티스 관절염 증상을 감소시키고, IL-6 및 TNF- α 의 혈청 마커를 감소시키는 효과를 발생시키는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 사용된 강황 단백질 또는 사용된 강황 전분의 유효량을 상기 포유류에 투여하는 단계를 포함하고, 상기 단백질 및 전분은 하기 단계를 포함하는 공정에 의해 수득된다:
- [0057] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0058] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0059] c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- [0060] d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- [0061] e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- [0062] f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- [0063] g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를 형성하는 단계; 및
- [0064] h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.
- [0065] 바람직한 양태에서, 상기 단계 a)에서 사용된 강황과 물의 비율은 1:10 내지 1:50의 범위 내이다.
- [0066] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 사용된 강황 재료로부터 수득된 단백질 조성물에 관한 것이고, 상기 단백질 조성물은 하기 단계를 포함하는 사용된 강황의 물 추출에 의해 수득된다:
- [0067] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0068] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계; 및

- [0069] c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계.
- [0070] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 사용된 강황 재료로부터 수득된 단백질 조성물에 관한 것이고, 상기 단백질 조성물은 하기 단계를 포함하는 사용된 강황의 물 추출에 의해 수득된다:
- [0071] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0072] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0073] c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- [0074] d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- [0075] e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계; 및
- [0076] f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계.
- [0077] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 소수성 단백질을 갖는 다당류를 포함하는 다당류 조성물에 관한 것이고, 상기 조성물은 하기 단계를 포함하는 공정을 통해 사용된 강황으로부터 수득된다:
- [0078] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0079] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계; 및
- [0080] c) 고진공 하에서 20%의 총 용존 고형물(TDS)로 단계 b)의 여과액을 농축시킨 후, 100 L/hour의 유속으로 120 °C에서 분무 건조하여 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계; 및
- [0081] d) 단계 c)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2를 24시간 동안 120 °C에서 건조시킨 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.
- [0082] 바람직한 양태에서, 상기 단계 a)에서 사용된 강황과 물의 비율은 1:10 내지 1:50의 범위 내이다.
- [0083] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 소수성 단백질을 갖는 다당류를 포함하는 다당류 조성물에 관한 것이고, 상기 조성물은 하기 단계를 포함하는 공정을 통해 사용된 강황으로부터 수득된다:
- [0084] a) 6시간 동안 온도 65 °C에서 가끔 교반하면서, 사용된 강황과 물의 비율이 약 1:10이 되도록 사용된 강황을 물로 추출하여, 사용된 강황과 사용된 강황 재료-2의 물 추출물을 수득하는 단계;
- [0085] b) 단계 a)의 물 추출물을 원심분리하여, 모래 또는 먼지 입자를 포획하여 투명한 여과액을 수득하는 단계;
- [0086] c) 고진공 하에서 60 °C에서 단계 b)의 여과액을 농축시켜 농축물을 수득하고, 상기 농축물을 추가로 냉각하는 단계;
- [0087] d) 유기 용매와 농축물, 바람직한 양태에서 아세톤과 농축물의 비율이 1:2가 되도록 단계 c)의 농축물에 유기 용매, 바람직한 양태에서 아세톤을 첨가한 후, 가끔 교반하면서 4시간 동안 실온에서 배양하여, 아세톤 침전된 단백질을 형성하고, 단백질 침전물을 그 위에 상청액이 있도록 완전히 침강시키는 단계;
- [0088] e) 상기 단백질 침전물을 파괴하지 않으면서 단계 d)의 상청액을 따라 버린 후, 여과하고, 침전물을 아세톤으로 세척하여 수분을 제거하고, 다시 여과하는 단계;
- [0089] f) 고진공 하에서 60 °C에서 즉시 단계 e)의 단백질 침전물을 건조시켜 미세한 단백질(당단백질) 분말을 수득하는 단계;
- [0090] g) 단계 f)의 단백질이 없는 단계 a)의 사용된 강황 재료-2에 각각 46 °C 및 30 °C에서 4시간 동안 담금 체적의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 미량의 커큐미노이드 및 옥살산 함량을 제거하여 세척된 사용된 강황 재료-2를

형성하는 단계; 및

[0091] h) 24시간 동안 단계 g)의 세척된 사용된 강황 재료-2를 건조시켜 잔여 용매를 제거한 후, 분말화 및 체질하여 강황 전분(다당류)을 수득하는 단계로, 상기 다당류는 소수성 단백질과 함께 발생하는 것인, 단계.

[0092] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 식물 단백질 조성물에 관한 것이고, 상기 단백질 조성물은 사용된 강황으로부터 수득되고, 상기 단백질 조성물은 속도 제한 아미노산(rate limiting aminoacid) 시스테인 및 메티오닌을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0093] 또 다른 가장 바람직한 양태에서, 본 발명은 식물 다당류 조성물(전분)에 관한 것이고, 상기 다당류 조성물은 사용된 강황으로부터 수득되고, α, 1-4 결합(아밀로오스) 및 α, 1-6 결합(아밀로펙틴)에 의해 연결된 90%의 글루코오스 잔기를 갖는 저항성 전분(resistant starch)으로서 소수성 당단백질과 함께 발생하는 것을 특징으로 한다.

[0094] 본 발명의 기술적 특징 및 기술적 효과를 포함하는 상기 가장 바람직한 양태는 본 명세서에 하기에 나타내는 실시예를 통해 설명된다.

[0095] **실시예 1**

[0096] 1kg의 사용된 강황을 65 °C에서 6시간 동안 가끔 교반하면서 물 (1:10 비율)로 추출하여 사용된 강황 및 사용된 부분-2의 물 추출물을 수득했다. 6시간 추출 후, 즉시 물 추출물을 하이플로 베드 원심 분리기(Hyflo bedded centrifuge)를 통해 여과하여, 임의의 모래 또는 먼지 입자를 포획했다. 수득된 7L의 여과액을 고진공 하에서 20%의 총 총 용존 고형물 (TDS)로 농축시켰다. 또한, 물 추출물을 100L/hr의 유속으로 120 °C에서 분무 건조시켰다. 연갈색의 분말을 4% 수율로 수득했다. 크루드(crude)한 물 추출물 샘플을 CHNS (탄소, 수소, 질소, 및 황) 분석 및 브래드포드법(Bradford method)에 의해 분석하여, 단백질의 총 퍼센트를 추정했다. 총 단백질 퍼센트는 CHNS 방법에 의해 6.73% 및 브래드포드법 (단백질 검정)에 의해 3%인 것으로 밝혀졌다. 또한, 아미노산 분석은, 사용된 강황 단백질이 높은 퍼센트의 아스파르트산 및 글루탐산 (각각 1030mg/100gm 및 985mg/100gm)을 갖는 18개의 중요한 아미노산으로 구성되었으며, 단백질의 총 퍼센트는 4.91gm/100gm의 분무 건조된 물 추출물로 밝혀지는 것을 나타냈다. 시스테인과 메티오닌은 식물의 단백질 공급원에서 거의 발견되지 않는 두 가지 속도 제한 아미노산이다. 사용된 강황으로부터의 당단백질은 50mg의 시스테인 및 110 mg의 메티오닌/100gm의 당단백질로 구성된다. 사용된 당단백질에서 이러한 아미노산의 존재로 인해 이는 "전체 단백질(whole Protein)" 이 된다. 사용된 부분-2를 24시간 동안 120 °C의 고온의 공기 오븐에서 추가 건조시키고, 미세한 분말로 만들어 눈이 80개인 메쉬 스크린(80 number mesh screen)을 통해 체질하여, 사용된 강황으로부터 전분을 수득했다. 강황 전분을 80% 수율로 생산되었으며, 전분의 총 퍼센트는 49%로 밝혀졌다. 사용된 강황 전분(다당류)은 소수성 단백질과 함께 발생된다.

[0097] **실시예 2**

[0098] **유기 용매(실시예로서 아세톤)를 사용하여 침전을 통한 단백질 농축(enrichment)**

[0099] 1kg의 사용된 강황을 65 °C에서 6시간 동안 가끔 교반하면서 물 (1:10 비율)로 추출하여 사용된 강황 및 사용된 부분-2의 물 추출물을 수득했다. 6시간 추출 후, 즉시 물 추출물을 하이플로 베드 원심 분리기를 통해 여과하여, 임의의 모래 또는 먼지 입자를 포획했다. 수득된 7L의 여과액을 고진공 하에서 60 °C에서 1리터로 농축시켰다. 냉각 후, 1:2 비율의 아세톤을 가끔 교반하면서 물 추출물에 첨가하고, 4시간 동안 실온에서 배양을 유지하여, 침전물을 완전히 침강시켰다. 침전물을 파괴하지 않으면서 상청액을 조심스럽게 따라 버리고, 와트만(Whatmann) 필터지를 통해 여과했다. 아세톤으로 세척함으로써 침전물에서 수분을 제거한 후 와트만 필터지를 통해 여과시켰다. 수득된 단백질 침전물이 미세한 크림색 단백질 분말이 될 때까지 즉시 고진공 하에서 60 °C에서 건조시켰다. 분말을 4% 수율로 수득했고, 샘플을 CHNS 분석에 의해 분석하여, 단백질의 총 퍼센트를 추정했다. 총 단백질 퍼센트는 3gm/100gm으로 밝혀졌다. CHNS 분석은 9% w/w의 단백질을 나타냈지만, 아미노산 분석은 8.595 % w/w의 단백질을 나타냈다. 아미노산 분석은 24시간 동안 110 °C에서 6N HCl을 사용하여 산 가수분해를 수행한 후, 과산화포름산(performic acid)(시스테인산 및 메티오닌 설피온과 같은 시스테인 및 메티오닌의 결정을 위한)에 의한 HCl 샘플의 산화에 의해 수행되었다. NorLeu 회색 완충액을 가수 분해된 샘플에 첨가하고, 볼텍싱하고(vortexed), 회전 속도를 늦췄다. 소듐 시트레이트(sodium citrate) 완충 시스템을 사용하여 아미노산을 분리하기 위해 이온 교환 크로마토그래피 컬럼으로 구성된 L-8800 히타치 분석기(Hitachi analyzer)에 50 μl의 가수 분해물을 적재한 후, 포스트 컬럼 닐하이드린 반응 검출 시스템(post column Ninhydrin reaction detection system) (아미노산의 분리, 검출 및 분석)을 수행했다. 아미노산 분석은, 사용

된 강황으로부터의 단백질이 많은 양(% w/w)의 아스파르트산 및 글루탐산 (각각 1170 mg/100gm 및 1044 mg/100 g)을 갖는 18개의 중요한 아미노산으로 구성되었으며, 단백질의 총 퍼센트는 8.595 gm/100gm의 건조된 단백질 분말로 밝혀지는 것을 나타냈다. 사용된 부분-2를 4시간 동안 각각 46 °C 및 30 °C에서 담금 체적(soaking volume)의 아세톤 및 메탄올로 세척하여, 커큐미노이드(curcuminoid) 및 옥살산 함량을 제거했다. 사용된 강황 전분 아세톤 모액(여과액)은 총 커큐미노이드 w/w의 16% 검정으로 0.2% 수율을 함유했다(커큐민-11.99%, 디메톡시커큐민(demethoxycurcumin) 2-.68% 및 비스디메톡시커큐민(bisdemethoxycurcumin) - 1.50%). 그 후, 전분이 풍부한 사용된 강황을 24시간 동안 고온의 공기 오븐에서 건조시키고, 잔여 용매를 제거하고, 미세한 분말로 만들고 눈이 80개인 메쉬 스크린을 통해 체질했다. 강황 전분을 75% 수율로 생산되었으며, 전분의 총 퍼센트는 60%로 밝혀졌다. 사용된 강황으로부터의 다당류(전분)은 소수성 단백질과 함께 발생된다.

[0100] **총 전분 분석:**

[0101] 사용된 강황으로부터의 전분을 4 °C에서 2M KOH와 샘플을 교반한 후, 소듐 아세테이트 완충액으로 중화시키고 α-아밀라아제로 가수 분해함으로써 미리 용해시켰다. 열 안정성 α-아밀라아제 전분을 가용성 분지형 및 미분지형 말토덱스트린으로 가수분해했다. 아밀로글루코시다아제는 말토덱스트린을 D-글루코오스로 정량적으로 가수분해했다. 과산화수소의 방출로 D-글루코오스를 D-글루코네이트로 산화시키고, 이를 과산화효소를 사용하는 비색 반응 및 퀴논이민(quinoneimine) 염료의 생성에서 정량적으로 측정했다.

[0102] **글루코오스 퍼센트 & 결합 패턴:**

[0103] 기체 크로마토그래피 및 질량 분석법을 혼합함으로써 글리코실 조성 분석 및 글리코실 결합 분석을 수행했다. 글리코실 조성 분석을 위해, 80 °C에서 17시간 동안 샘플에 메탄올성 HCl을 사용하는 산성 메탄분해(acidic methanolysis)를 수행하여 단당류 메틸 글리코사이드(monosaccharide methyl glycoside)를 생성했고, GC-MS에 의해 분석했다. 글리코실 결합 분석을 위해, 샘플을 퍼메틸화(permethylyate), 해중합(depolymerize), 환원 및 아세틸화하고, 생성된 부분적으로 메틸화된 알디톨 아세테이트를 GC-MS에 의해 분석했다. 사용된 강황으로부터의 전분은 글루코오스의 약 90%를 구성하고, 총 피크 면적의 90%를 갖는 4개의 연결된 글루코오스 잔기를 보여 주었고, 이는 샘플이 전분이 풍부하다는 것을 나타낸다.

[0104] 본 발명의 방법(용매 기반 추출, 예시적으로 아세톤)에 의해 수득되는 100gm의 사용된 강황 다당류의 영양소 프로파일을 표 A에 나타냈다.

[0105] [표 A]

S.No	영양소	gm으로의 양 (w/w)
1	단백질	9.0 - 9.5
2	저항성 전분	55-60
3	식이 섬유	30- 35
4	지방	0.12 - 0.19
5	칼로리	349.43K cal
6	비타민 C	0.005
7	칼슘	0. 27- 0.33
8	철	0.14- 0.16
9	마그네슘	0.17- 0.18
10	포타슘	0.75- 0.78
11	소듐	0.011-0.11
12	아연	0.001-0.002
13	망간	0.003-0.004
14	구리	0.0005- 0.0009
15	인	0.1- 0.2

[0106]

[0107] 본 발명의 방법(용매를 사용하지 않는 물만에서의 추출)에 의해 수득되는 100gm의 사용된 강황 다당류의 영양소 프로파일을 표 B에 나타냈다.

[0108] [표 B]

S.No	영양소	gm으로의 양 (w/w)
1	단백질	9.48
2	저항성 전분	49
3	식이 섬유	65.5
4	지방	0.1
5	칼로리	233.99K cal
7	칼슘	0.4
8	철	0.066
9	마그네슘	0.24
10	포타슘	1.65
11	소듐	0.031
12	아연	0.001
13	망간	0.003
14	구리	0.0005
15	인	0.21

[0109]

[0110] 본 발명의 방법(용매 기반 추출, 예시적으로 아세톤)에 의해 수득되는 100gms의 사용된 강황 당단백질의 영양소 프로파일을 표 C에 나타냈다.

[0111] [표 C]

S.No	영양소	gm으로의 양 (w/w)
1	단백질	9-10
2	탄수화물	53
3	식이 섬유	29
4	지방	0.17
5	칼로리	321.7 K cal
6	비타민 C	0.01
7	칼슘	0.22
8	철	0.11
9	마그네슘	1.30
10	포타슘	4.31
11	소듐	0.056
12	아연	0.006
13	망간	0.019
14	구리	0.001
15	인	0.9

[0112]

[0113] 본 발명의 방법(용매 기반 추출, 예시적으로 아세톤)에 의해 수득되는 100gms의 사용된 강황 당단백질의 아미노산 프로파일을 표 D에 나타냈다.

[0114] [표 D]

S.No	아미노산	mg (100gm)으로의 양
1	아스파르트산	1170
2	트레오닌	427
3	세린	604
4	글루탐산	1044
5	프롤린	258
6	글리신	768
7	알라닌	566
8	발린	616
9	이소류신	470
10	류신	724
11	티로신	282
12	페닐알라닌	364
13	히스티딘	158
14	리신	274
15	아르기닌	340
16	시스테인	100
17	메티오닌	220
18	트립토판	210

[0115]

[0116] 100gms의 사용된 강황 당단백질(임의의 용매 없는 수성 추출물)의 영양소 프로파일을 표 E에 나타냈다.

[0117] [표 E]

S.No	영양소	gm으로의 양 (w/w)
1	단백질	6.73
2	탄수화물	47
3	식이 섬유	52
4	지방	0.08
5	칼로리	219.34K cal
6	비타민 C	0.01
7	칼슘	0.17
8	철	0.01
9	마그네슘	1.01
10	포타슘	13.59
11	소듐	0.31
12	아연	0.02
13	망간	0.01
14	구리	0.001
15	인	1.33

[0118]

[0119] 사용된 강황(임의의 용매 없는 수성 추출물)의 수성 추출물의 아미노산 프로파일을 표 F에 나타냈다.

[0120] [표 F]

S.No	아미노산	mg (100gm)으로의 양
1	아스파르트산	1030
2	글루탐산	985
3	세린	160
4	트레오닌	160
5	프롤린	135
6	글리신	225
7	알라닌	170
8	발린	295
9	이소류신	100
10	류신	165
11	티로신	750
12	페닐알라닌	125
13	히스티딘	90
14	리신	70
15	아르기닌	210
16	시스테인	50
17	메티오닌	110
18	트립토판	80

[0121]

[0122] 실시예 III

[0123] 생체 외(In vitro) 항염증 활성

[0124] 지질다당류(lipopolysaccharide) 자극된(24시간 동안 LPS=100 ng/ml) 인간 단핵구성 세포주(Human Monocytic cell line) THP-1 또는 뮤린 대식 세포주(Murine macrophage cell line) J774에 의해 사이토킨 생산에 대한 사용된 강황 단백질(TP) 및 사용된 강황 다당류(전분)(TPS)의 항염증 활성을 표 1에 나타냈다. 사이토킨 TNF- α 을 세포 상청액에서 측정했다.

[0125] [표 1]

농도 $\mu\text{g/ml}$	% 억제
사용된 강황 다당류 (TPS)	
50.00	41.38
25.00	25.22
12.50	7.07
사용된 강황 단백질 (TP)	
50.00	50.7
25.00	54.52
커큐미노이드 (95%) 커큐민 C3 착체	
0.38	36.29
0.19	33.32

[0126]

[0127] 결과: 사용된 강황 다당류는 TNF- α 방출의 41.3%의 억제를 보였지만, 사용된 강황 단백질은 TNF- α 를 50.7% 억제했다.

[0128] 실시예 IV

[0129] 생체 내(In vivo) 생물학적(항관절염) 활성

[0130] 150-180 kg 무게의 수컷 위스타(Wistar) 쥐에 1일-28일부터 100, 200 및 400 mg/kg의 사용된 강황 다당류를 경구 투여했다. 관절염을 유발시키기 위해 연구 7, 15, 21 및 28일에 0.1 ml의 투여 수준으로 이 동물의 발에 프로인드 완전 보강제(Freund's complete adjuvant)를 피내 주사했다. 7, 15, 21 및 28일에 발 체적의 증가로서 보강제에 의해 유도된 부종을 측정했다. 연구 종료 시에, 동물을 희생시키고, 염증 파라미터를 분석하기 위해 혈액 및 조직을 수집했다. 연구된 염증 파라미터는 하기를 포함한다:

- [0131] a. 발의 염증
- [0132] b. 혈액 생화학
- [0133] c. 지질 과산화
- [0134] d. 혈청에서 감소된 글루타티온
- [0135] e. 혈청에서 수퍼옥사이드 디스무타아제(superoxide dismutase) 활성
- [0136] f. 산 및 알칼리 포스파타아제(phosphatase)의 수준
- [0137] g. TNF- α 의 수준
- [0138] h. IL6 수준

[0139] 결과:

- [0140] a. 염증의 혈청 마커인 IL-6, TNF- α 의 동시 감소와 함께 사용된 강황 당단백질 및 다당류로의 치료 시에 발 부종(염증)의 현저한 감소가 관측되었다(도 1, 2, 3, 4, 5 및 6).
- [0141] b. 또한, 사용된 강황 단백질 및 다당류로의 치료는 지질과산화, 수퍼옥사이드 디스무타아제 활성을 감소시키고, 관절염 동물의 혈청에서 감소된 글루타티온의 농도를 증가시켰다(표 2).

[0142] [표 2]

치료 그룹	지질 과산화 형성된 말론디알데히드 (nm/g 조직)	수퍼옥사이드 디스무타아제 (g 활성, 조직/min)	감소된 글루타티온 (μ g/g 조직)
정상 대조군	13.76 \pm 0.22	13.86 \pm 0.06	701.35 \pm 1.35
TPS 100	33.38 \pm 0.20	36.05 \pm 0.01	393.94 \pm 2.02
TPS 200	23.20 \pm 0.25	29.59 \pm 0.01	481.40 \pm 1.89
TPS 400	19.07 \pm 0.08	16.97 \pm 0.01	588.71 \pm 1.33
TP 100	37.96 \pm 0.09	38.66 \pm 0.01	360.42 \pm 1.61
TP 200	25.63 \pm 0.11	30.55 \pm 0.01	435.61 \pm 0.99
TP 400	20.17 \pm 0.07	17.47 \pm 0.01	543.37 \pm 0.54
ASA (아세틸 살리실산)	18.19 \pm 0.10	16.39 \pm 0.01	595.69 \pm 0.64
질병 대조군	43.95 \pm 0.21	40.43 \pm 0.01	277.86 \pm 1.86

- [0143]
- [0144] c. 사용된 강황 단백질 및 다당류는 관절염 동물에서 높은 수준의 산 포스파타아제(ACP) 및 알칼리 포스파타아제(ALP)를 감소시켰다(표 3).

[0145] [표 3]

치료 그룹	ALP (IU / ml)	ACP (IU/ml)
정상 대조군	88.23±0.88	4.42±0.05
TPS100	216.24±1.55	16.27±0.04
TPS200	142.73±0.88	10.41±0.04
TPS400	106.14±1.54	8.33±0.04
TP 100	243.24±1.11	16.27±0.09
TP 200	152.30±1.52	11.13±0.06
TP 400	113.35±1.44	9.06±0.20
ASA (아세틸 살리실산)	104.18±0.94	6.71±0.06
질병 대조군	252.77±0.32	17.43±0.13

[0146]

[0147] d. 사용된 강황 단백질 및 다당류는 관절염 동물에서 증가된 수의 혈액 세포 (RBC, WBC 및 혈소판)을 정상으로 회복시켰다(표 4).

[0148] [표 4]

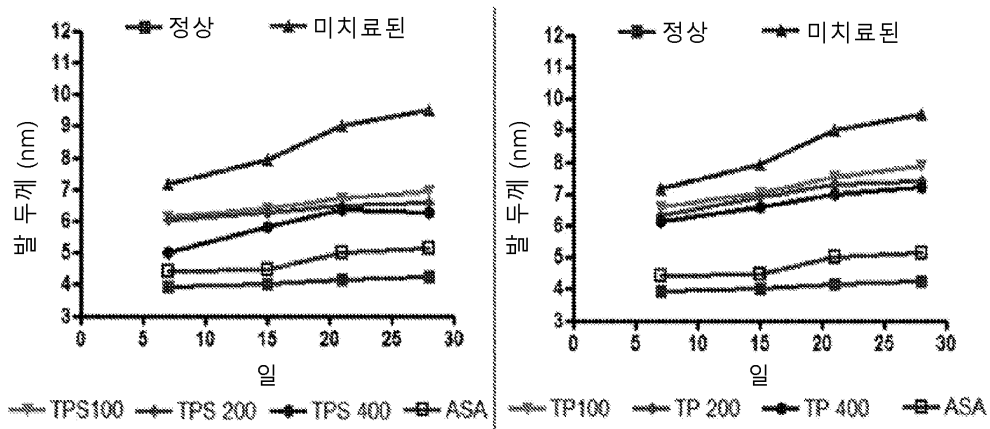
연구 그룹	백혈구-WBCs (Cells / μ l)	적혈구-RBCs (10^6 Cells / μ l)	혈소판 (10^9 / L)
정상 대조군	7550.0±84.66	4.85±0.06	165±4.28
TPS100	16275.0±198.22	4.02±0.04	260±3.65
TPS200	11650.0±76.38	4.50±0.04	231±6.30
TPS400	8050.0±243.24	4.68±0.05	208±7.83
TP100	19200.0±208.17	3.80±0.06	281±4.58
TP200	12400.0±186.19	4.28±0.06	245±4.28
TP400	19200.0±208.17	3.80±0.06	281±4.58
ASA (아세틸 살리실산)	7800.0±85.63	4.70±0.04	232±2.65
질병 대조군	23900.0±322.49	3.33±0.05	329±6.51

[0149]

[0150] 본 발명의 다른 변경 및 변형은 상술한 개시 및 교시로부터 당업자에게 명백 할 것이다. 따라서, 본 발명의 특정 양태들만 본 명세서에 구체적으로 기재되었지만, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다수의 변경이 이루어질 수 있음이 명백할 것이다.

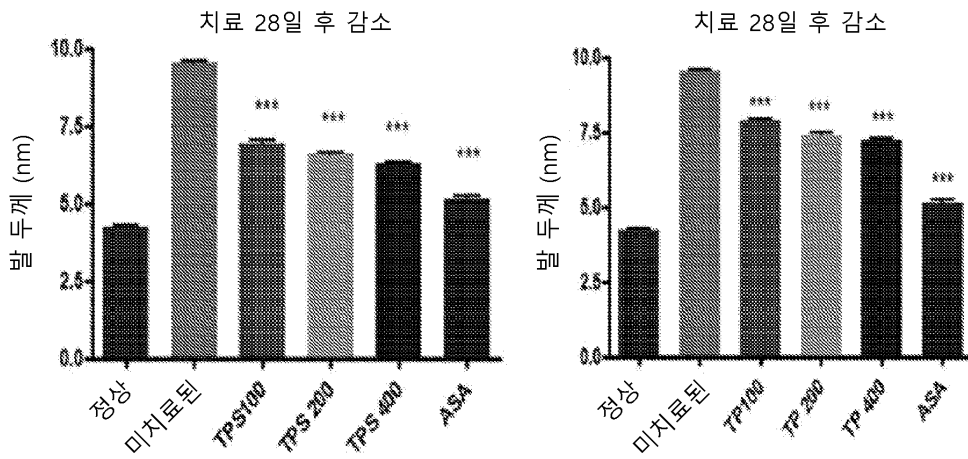
도면

도면1



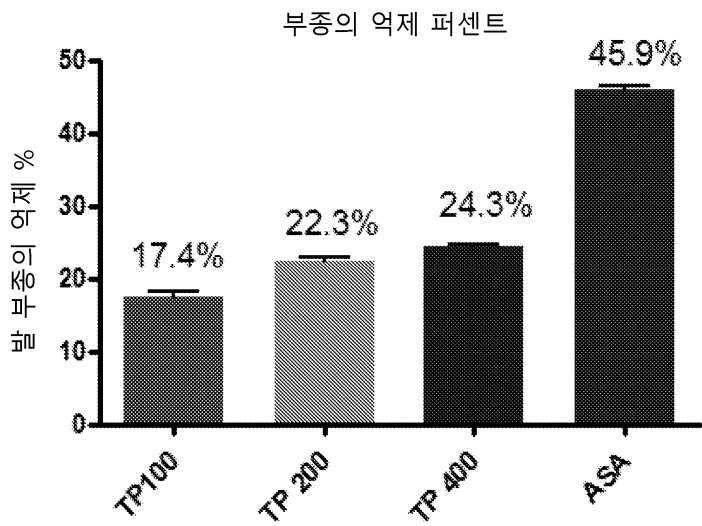
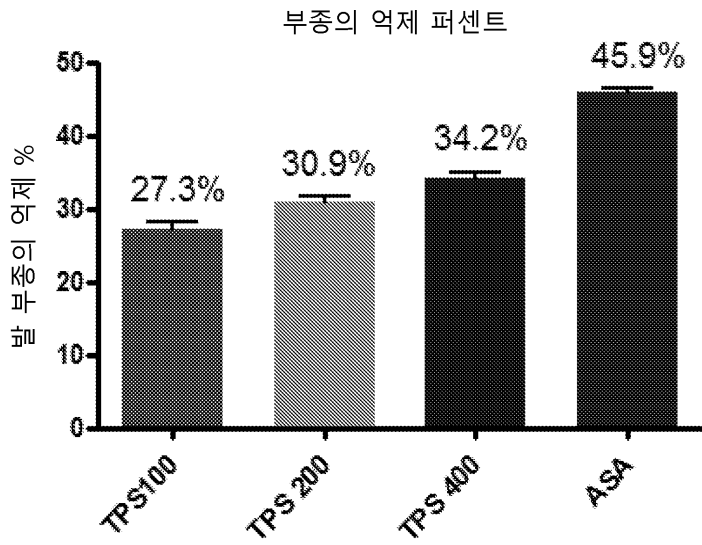
TPS:강황 다당류, TP:강황 단백질, ASA-아세틸 살리실산, ***p<0.001

도면2

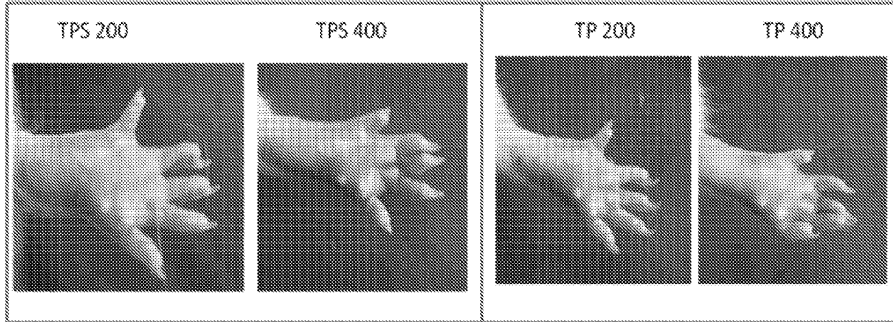


TPS:강황 다당류, TP:강황 단백질, ASA-아세틸 살리실산, ***p<0.001

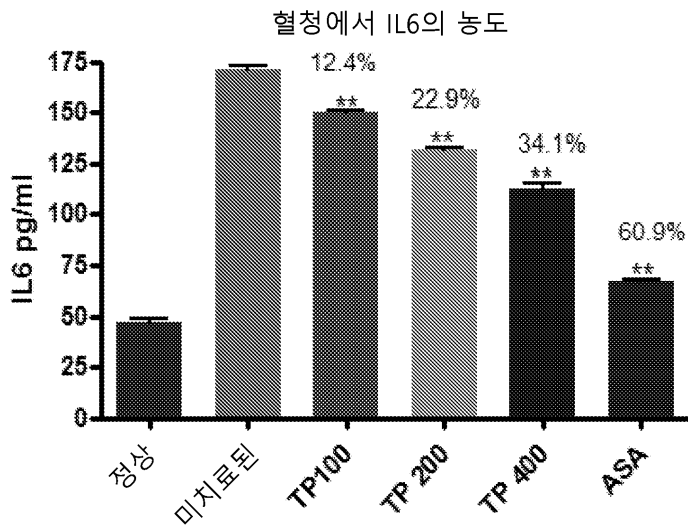
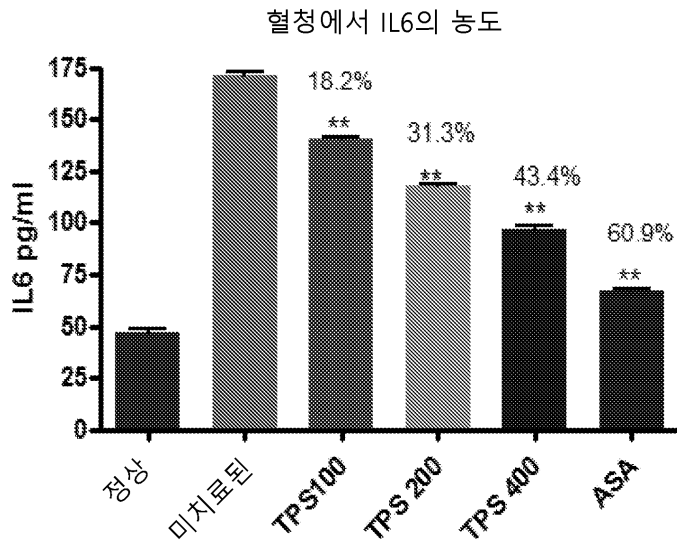
도면3



도면4



도면5



도면6

