(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년11월06일
(11) 등록번호 10-1915715
(24) 등록일자 2018년10월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/23 (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)
A61P 29/00 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/23 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0040319
(22) 출원일자 2018년04월06일
심사청구일자 2018년04월06일
(56) 선행기술조사문헌
US09260535 B2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
주식회사 비케이바이오
제주특별자치도 제주시 구좌읍 일주동로 2706-38(한동리)
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
최혁준
경기도 성남시 분당구 동판교로 123, 104동 1301호
한복경
경기도 광주시 남종면 분원길 21, C동 202호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

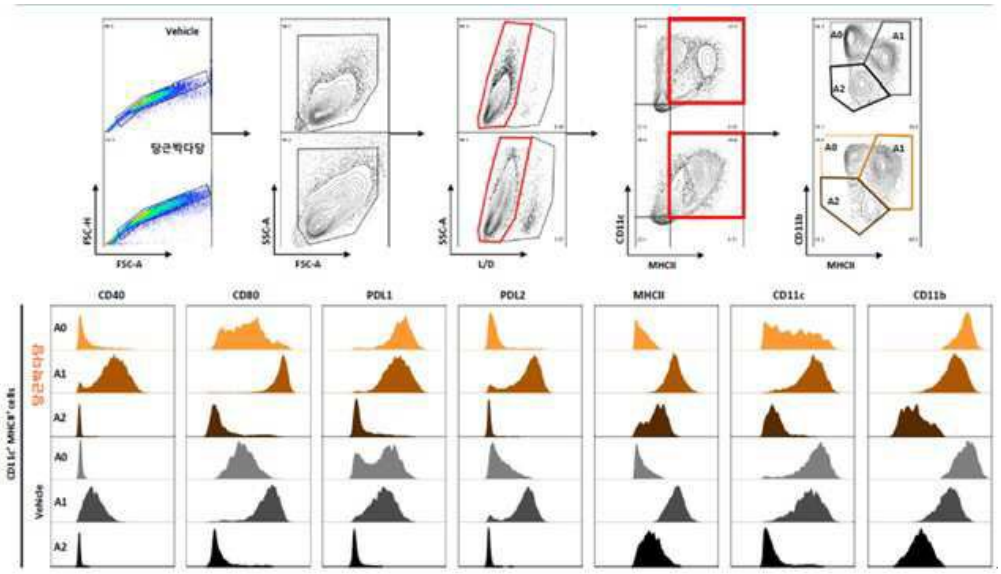
전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 민경난

(54) 발명의 명칭 **면역기능 증진 활성이 있는 당근박 유래 다당 분획물 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명의 면역기능 증진 활성이 있는 당근박 유래 다당 분획물 및 이의 제조방법에 관한 것으로 (A) 당근박 건조분말을 효소로 처리하는 단계; (B) 효소 처리된 당근박 효소처리물을 여과하여 잔사를 제거하는 단계; (C) 잔사가 제거된 당근박 효소처리 여과물과 다공성 물질을 혼합하여 교반시키는 단계; 및 (D) 다공성 물질로 처리된 당근박 효소처리 여과물과 알코올 수용액을 혼합하여 다당을 침전시켜 다당 분획물을 수득하는 단계;를 포함함으로써, 면역기능이 우수하게 향상되며 독성이 없으므로 식품의 형태로 섭취할 수 있어 장기적으로 일상생활의 식이 및 생활습관을 통하여 면역기능을 향상시킬 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 29/00 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/324 (2013.01)
A61K 2236/19 (2013.01)

(72) 발명자
박용운
서울특별시 동작구 장승배기로 134-1
권재열
대전광역시 중구 문화로 266, 충남대학교 의과대학 감염생물학교실 123호
김예은
대전광역시 중구 문화로 266, 충남대학교 의과대학 감염생물학교실 123호
선푸름
대전광역시 중구 문화로 266, 충남대학교 의과대학 감염생물학교실 123호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	315064-3
부처명	농림축산식품부
연구관리전문기관	농림식품기술기획평가원
연구사업명	고부가가치식품기술개발
연구과제명	면역 식품(소재)의 면역능 검증을 위한 표준설정 연구 및 민간 보급 프로세스 구축
기 여 율	1/1
주관기관	충남대학교 산학협력단
연구기간	2015.10.12 ~ 2018.10.11

명 세 서

청구범위

청구항 1

(A) 당근박을 펙티나아제, 셀룰라아제 및 헤미셀룰라아제가 복합적으로 함유된 라피다제(Rapidase: Aspergillus niger 유래 복합물) 효소로 처리하는 단계;

(B) 상기 효소 처리된 당근박 효소처리물을 여과하여 잔사를 제거하는 단계;

(C) 상기 잔사가 제거된 당근박 효소처리 여과물과 다공성 물질을 혼합하여 교반시키는 단계; 및

(D) 상기 다공성 물질로 처리된 당근박 효소처리 여과물과 알코올 수용액을 혼합하여 다당을 침전시켜 다당 분획물을 수득하는 단계;를 포함하되,

상기 (C)단계에서 다공성 물질은 당근박 건조분말 100 중량부에 대하여 0.5 내지 10 중량부로 첨가되며, 상기 다공성 물질은 규조토, 게르마늄, 맥반석, 패각 및 활성탄으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 면역기능 증진 활성용 당근박 유래 다당 분획물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 (A)단계에서는 효소를 첨가하여 40 내지 60 ℃ 및 pH 4-5에서 10 내지 20시간 동안 반응시키는 것을 특징으로 하는 면역기능 증진 활성용 당근박 유래 다당 분획물의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 (A)단계에서 효소는 당근박 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부로 사용되는 것을 특징으로 하는 면역기능 증진 활성용 당근박 유래 다당 분획물의 제조방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 (D)단계에서 알코올 수용액은 에탄올 수용액, 메탄올 수용액, 프로판 수용액, 부탄 수용액으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 면역기능 증진 활성용 당근박 유래 다당 분획물의 제조방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 면역기능이 우수하게 향상되며 독성이 없으므로 식품의 형태로 섭취할 수 있는 면역기능 증진 활성이 있는 당근박 유래 다당 분획물, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 생활수준이 높아지고 식생활이 서구화되면서 영양과잉, 운동부족 등으로 인한 비만, 당뇨, 고혈압 및 심장병 등과 같은 생활 습관병(성인병) 발병이 높아지고 있다. 또한, 평균수명 연장으로 인한 노령화 사회로의 진입 속도가 빨라지면서 건강증진에 대한 관심이 높아지고 있다.

[0003] 건강증진(health promotion)이란 질병, 특히 만성 퇴행성질환이나 감염증, 계속되는 스트레스에 대한 저항력의 증가 그리고 일상의 활동력의 증대를 꾀하는 것으로 그 방책으로는 영양의 개선, 면역기능 강화, 적절한 운동과 휴식, 정신적 활동의 지속 등 생활양식 전반에 미치는 관리가 필요하다.

[0004] 특히, 면역력이 높으면 평소에 질병이 잘 걸리지 않으며, 설혹 질병에 걸리더라도 회복이 빠르다. 이러한 건강한 상태를 지속적으로 유지하면서 나이를 먹으면 수명이 연장되는 것은 자명한 일이다. 따라서 면역력은 인간의 건강과 수명에 직결되어 있으며, 건강을 유지하고 수명을 연장하기 위해서는 면역력을 관리하는 것이 필수적이라고 할 수 있겠다.

[0005] 면역(Immune)이란, 인간 및 동물의 체내에서 외래성 및 내인성 이물질을 생리적으로 인식하여 배제하고, 항상성을 유지시키기 위한 기작을 일컫는다. 여기에서 이물질을 항원(antigen)이라고 하며, 이를 제거하는 과정에 수많은 종류의 백혈구 세포와 단백질이 관여한다. 면역은 크게 태어날 때부터 지니고 있는 선천면역과 후천적으로 생활 등에 적응되어 얻어지는 획득면역으로 구분된다.

[0006] 선천면역(innate immunity)은 자연면역, 자연저항이라고도 한다. 항원에 대해 비특이적으로 반응하며 특별한 기억작용은 없다. 선천적인 면역체계로는 항원의 침입을 차단하는 피부·점액조직, 상산성의 위산, 혈액에 존재하는 보체(complement) 등이 있다. 세포로는 식균작용을 담당하는 대식세포(macrophage)와 다형핵 백혈구(polymorphonuclear leukocyte), 감염세포를 죽일 수 있는 K세포 등이 있다. 또한, 대식세포에 의해 생산되는 사이토카인(cytokine)이 있다. 실제로 대부분의 감염은 상기 선천면역에 의해 방어된다.

[0007] 획득면역(acquired immunity)은 선천면역을 보강하는 역할을 하며 후천면역, 적응면역(adaptive immunuty)이라고도 한다. 항원이 체내에 침입하면 림프구에 의한 면역반응이 일어나 항원에 대한 강한 저항성이 기억되어 다시 항원이 침입할 때 특이적으로 반응하여 효과적으로 항원을 제거할 수 있다. 여기에서 림프구 (lymphocytes)는 척추동물 및 포유류에서 면역 반응을 맡고 있는 백혈구 가운데 하나로 전체 백열구 중 약 25% 정도를 차지하고 있으며, 흉선(thymus)에서 성숙되고 변형되어 면역항체를 보유하고 있어서 항원이 체내에 침입하면 그 항원이 몸 안에서 해로운 반응을 하지 못하도록 인체의 면역반응에 일차적으로 반응하는 세포이다.

[0008] 한편, 다양한 면역세포들의 특이적 기능들과 소통인자인 싸이토카인, 염증성 매개물질 등의 매개인자들에 의한 소통들로 이루어진 인체의 면역체계는 면역식품(소재)으로부터 영향을 받아 그 면역기능이 변화될 수 있어 면역기능 증진 및 과민반응 완화에 면역식품(소재)을 발굴해야 할 필요성이 있으며, 현재 학계에서 면역기능 향상에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있고 국내 식품시장에서 면역력 향상에 대한 기능성 식품의 수요가 증가함에 따라 객관적으로 면역기능 식품의 기준을 설정해야 할 필요성이 대두된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제10-1176435호

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 제10-1561648호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 면역기능이 우수하게 향상되며 독성이 없으므로 식품의 형태로 섭취할 수 있는 면역기능 증진 활성이 있는 당근박 유래 다당 분획물의 제조방법을 제공하는데 있다.

[0011] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 제조방법에 따라 제조된 면역기능 증진 활성용 당근박 유래 다당 분획물을 제공하는데 있다.

[0012] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 포함하는 면역력 저하로 인한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는데 있다.

[0013] 또한, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 포함하는 면역기능 증진을 위한 건강식품 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 면역기능 증진 활성용 당근박 유래 다당 분획물을 제조하는 방법은 (A) 당근박을 효소로 처리하는 단계; (B) 상기 효소 처리된 당근박 효소처리물을 여과하여 잔사를 제거하는 단계; (C) 상기 잔사가 제거된 당근박 효소처리 여과물과 다공성 물질을 혼합하여 교반시키는 단계; 및 (D) 상기 다공성 물질로 처리된 당근박 효소처리 여과물과 알코올 수용액을 혼합하여 다당을 침전시켜 다당 분획물을 수득하는 단계;를 포함할 수 있다.

[0015] 상기 (A)단계에서는 효소를 첨가하여 40 내지 60 ℃ 및 pH 4-5에서 10 내지 20시간 동안 반응시킬 수 있다.

[0016] 상기 (A)단계에서 효소는 당근박 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부로 사용될 수 있다.

[0017] 상기 (A)단계에서 효소는 필트라제(Filtrase: Tricoderma reesei 유래 복합물), 라피다제(Rapidase: Aspergillus niger 유래 복합물) 및 스미자임(Sumizyme: Aspergillus niger 유래 펙티나아제)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0018] 상기 (C)단계에서 다공성 물질은 당근박 건조분말 100 중량부에 대하여 0.5 내지 10 중량부로 첨가될 수 있다.

[0019] 상기 (C)단계에서 다공성 물질은 규조토, 게르마늄, 맥반석, 패각 및 활성탄으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0020] 상기 (D)단계에서 알코올 수용액은 에탄올 수용액, 메탄올 수용액, 프로판 수용액, 부탄 수용액으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0021] 또한, 상기한 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 면역기능 증진 활성용 당근박 유래 다당 분획물은 상기 제조방법에 따라 제조될 수 있다.

[0022] 또한, 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 면역력 저하로 인한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 상기 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 포함할 수 있다.

[0023] 상기 면역기능 저하로 기인되는 질환은 감염성 질환, 염증성 질환, 알러지 질환 또는 만성피로로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0024] 또한, 상기한 또 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 면역기능 증진을 위한 건강식품 조성물은 상기 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명의 당근박 유래 다당 분획물은 면역 기능을 증진시키는 효능이 매우 뛰어나며, 독성이 없으므로 장기적으로 일상생활의 식이 및 생활습관을 통하여 면역기능을 향상시킬 수 있다.

[0026] 또한, 본 발명의 당근박 유래 다당 분획물은 경쟁력있는 면역 증강용 식품 및 면역 증강용 의약품 제조에 효과적이다.

[0027] 또한, 본 발명은 면역에 대한 효능을 측정할 수 있는 표준화된 검사법의 필요성이 절실하므로, 종래 면역 관련된 효능이 증명된 다당체를 대조군으로 하여 면역지수를 정의하고 이를 측정하여 면역지수의 값을 산출함으로써 면역기능 증진 활성을 증명하였다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리한 수지상 세포의 CD11c+, MHCII+ 발현을 나타낸 도면이다.

도 2는 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리한 수지상 세포의 MHCII대비 CD11b의 발현양태를 나타내고 이를 Immunogenic Index I의 식으로 나타낸 도면이다.

도 3은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리한 수지상 세포의 CD40 MHCII대비 CD40의 발현양태를 나타내고 이를 Immunogenic Index II의 식으로 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 본 발명은 면역기능이 우수하게 향상되며 독성이 없으므로 식품의 형태로 섭취할 수 있는 면역기능 증진 활성이 있는 당근박 유래 다당 분획물, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0030] 상기 당근박은 당근 착즙액 가공 시 발생되는 부산물(고형물)을 의미한다.

[0031] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0032] 본 발명의 면역기능 증진 활성이 있는 당근박 유래 다당 분획물을 제조하는 방법은 (A) 당근박 건조분말을 효소로 처리하는 단계; (B) 상기 효소 처리된 당근박 효소처리물을 여과하여 잔사를 제거하는 단계; (C) 상기 잔사가 제거된 당근박 효소처리 여과물과 다공성 물질을 혼합하여 교반시키는 단계; 및 (D) 상기 다공성 물질로 처리된 당근박 효소처리 여과물과 알코올 수용액을 혼합하여 다당을 침전시켜 다당 분획물을 수득하는 단계;를 포함한다.

[0033] 먼저, 상기 (A)단계에서는 당근박 건조분말 현탁액을 효소로 처리한다. 본 발명의 당근박 대신 당근을 이용하는 경우에는 수율이 떨어지지만, 당근박과 유사한 면역기능 증진 활성을 보인다.

[0034] 상기 당근박은 당근을 착즙하고 남은 부산물로서, 상기 당근박에는 면역기능 증진 활성이 있는 기능성 다당체가 포함되어있는 고분자 다당체 펙틴이 포함되어 있다. 본 발명은 당근박 다당체를 분해하여 면역기능 증진 활성이 있는 다당 분획물을 얻는 과정으로서, 본 발명과 달리 단순 추출 시에는 활성이 없거나 낮은 상태가 된다.

[0035] 상기 당근박을 건조하여 분쇄한 건조분말과 물을 1 : 5-15의 중량비로 혼합하여 현탁액을 제조한 후 효소를 첨가하여 40 내지 60 ℃, 바람직하게는 45 내지 50 ℃ 및 pH 4-5에서 10 내지 20시간, 바람직하게는 13 내지 16시간 동안 효소 반응을 수행한 다음 80 내지 100 ℃로 온도를 올려 1 내지 2 시간 동안 가열함으로써 효소 반응을 정지시킨다.

[0036] 효소 반응을 수행 시 온도, pH 및 시간이 상기 하한치 미만 또는 상한치 초과인 경우에는 당근박의 효소 활성화가 낮아져 면역기능 증진 다당체 생성이 없거나 낮아질 수 있으며, 면역기능 증진 활성이 향상되지 않는다.

[0037] 상기 효소는 당근박을 처리하여 면역기능 증진 활성을 높이는 것으로서, 구체적으로 필트라제(Filtrase: Tricoderma reesei 유래 복합물), 라피다제(Rapidase: Aspergillus niger 유래 복합물) 및 스미자임(Sumizyme: Aspergillus niger 유래 펙티나아제)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 들 수 있으며, 바람직하게는 펙티나아제, 셀룰라아제 및 헤미셀룰라아제가 복합적으로 함유된 라피다제(rapidase)일 수 있다.

[0038] 상기 효소의 함량은 당근박 건조분말 100 중량부에 대하여 1 내지 10 중량부, 바람직하게는 2 내지 5 중량부이다. 효소의 함량이 상기 하한치 미만인 경우에는 효소 처리가 수행되지 않아 면역기능 다당이 생성되지 않으며, 상기 상한치 초과인 경우에는 면역기능 다당의 생성 효율이 증가되지 않는다.

[0039] 다음으로, 상기 (B)단계에서는 상기 효소 처리된 당근박 효소처리물을 여과하여 잔사를 제거하고 상기 잔사가

제거된 여과물을 농축시킨다.

[0040] 상기 여과는 여과지를 이용하며, 상기 농축은 감압농축기를 이용하여 40 내지 50 ℃의 조건에서 수행한다.

[0041] 다음으로, 상기 (C)단계에서는 상기 잔사가 제거된 당근박 효소처리 여과물과 다공성 물질을 혼합하여 교반시킨다.

[0042] 상기 다공성 물질은 상기 효소 반응이 종료 후 다당이 추출되고 남은 과피 원료 분말에서 유래된 불용성 성분과 전분질의 제거하기 위하여 사용하는 것으로서, 이후 알코올 수용액에서 다당을 침전 시 순수한 다당이 높은 수율로 침전될 수 있도록 한다.

[0043] 상기 다공성 물질의 함량은 당근박 건조분말 100 중량부에 대하여 0.5 내지 10 중량부, 바람직하게는 1 내지 5 중량부이다. 다공성 물질의 함량이 상기 하한치 미만인 경우에는 남은 과피 원료 분말에서 유래된 불용성 성분과 전분질이 제거가 되지 않을 수 있으며, 상기 상한치 초과인 경우에는 다당의 수율이 급격히 낮아질 수 있다.

[0044] 또한, 상기 다공성 물질로는 규조토, 게르마늄, 맥반석, 패각 및 활성탄으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 들 수 있으며, 바람직하게는 규조토를 사용할 수 있다.

[0045] 다음으로, 상기 (D)단계에서는 상기 다공성 물질로 처리된 당근박 효소처리 여과물과 알코올 수용액을 혼합하여 다당을 침전시켜 다당 분획물을 수득한다.

[0046] 상기 다공성 물질로 처리된 당근박 효소처리 여과물을 알코올 수용액에 침전시켜 분획하는 방법은 상기 당근박 효소처리 여과물에 최종 농도가 70 내지 80%인 알코올 수용액을 첨가한 후 -10 내지 -30 ℃에서 10 내지 30시간 동안 정치하면서 다당을 침전시킨 다음 상기 다당 침전물을 3 내지 7 ℃에서 500 내지 800 rpm으로 20 내지 40분 동안 원심분리하여 회수하는 과정을 포함한다.

[0047] 상기 알코올 수용액은 에탄올 수용액, 메탄올 수용액, 프로판 수용액, 부탄 수용액으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 들 수 있다.

[0048] 또한, 경우에 따라 상기 (D)단계에서 제조된 당근박 유래 다당 분획물을 젤투과크로마토그래피(gel permeation chromatography)에 의해 분자량에 따라 분리하여 정제 다당을 수득할 수 있다.

[0049] 상기와 같은 방법으로 제조된 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 함유하는 조성물로는 면역력 저하로 인한 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물 또는 면역 증진용 건강식품 조성물일 수 있다.

[0050] 본 명세서에서 당근박을 언급하면서 사용되는 용어 '분획물'은 추출용매를 처리하여 얻은 분획물뿐만 아니라 당근박 유래 다당 분획물의 가공물도 포함한다. 예를 들어, 당근박 유래 다당 분획물은 감압 증류 및 동결 건조 또는 분무 건조 등과 같은 추가적인 과정에 의해 분말 상태로 제조될 수 있다.

[0051] 또한, 본 발명의 당근박 유래 다당 분획물은 광의로는 당근박을 동물에게 투여할 수 있도록 제형화된 당근박의 가공물, 예컨대, 당근박 분말도 포함하는 의미를 갖는다. 비록 본 발명에서 당근박 유래 다당 분획물로 실험을 진행하긴 하였으나, 당근박의 가공물과 같은 형태로도 목적하는 효과를 달성할 수 있음은 당업자라면 예상 가능할 것이다.

[0052] 한편, 본 명세서에서 용어 '유효성분으로 함유하는'이란 당근박 유래 다당 분획물의 효능 또는 활성을 달성하는데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 일예로, 상기 당근박 유래 다당 분획물은 10 내지 1500 ㎍/㎖, 바람직하게는 100 내지 1000 ㎍/㎖의 농도로 사용된다. 당근박 유래 다당 분획물은 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 당근박 유래 다당 분획물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0053] 본 발명의 약학 조성물은 상기 유효 성분 이외에 약학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.

[0054] 상기 약학 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0055] 상기 약학 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피부 외용제, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유

제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태(경구제)로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다.

[0056] 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.

[0057] 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0058] 본 발명의 약학 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있고, 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 경피 투여 등으로 투여할 수 있으며, 바람직하게는 경구 투여이다.

[0059] 본 발명의 약학 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하며, 보통으로 숙련된 의사는 소망하는 치료 또는 예방에 효과적인 투여량을 용이하게 결정 및 처방할 수 있다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 약제학적 조성물의 1일 투여량은 0.001-10 g/kg이다.

[0060] 본 발명의 약학 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캅셀제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0061] 또한, 본 발명은 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 함유하는 면역기능 증진을 위한 식품 조성물을 제공한다.

[0062] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약학 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.

[0063] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 당근박 유래 다당 분획물뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등]) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 당근박 유래 다당 분획물 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0064] 본 발명은 상기 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 포함하는 식품 조성물이 함유된 건강기능식품을 제공한다. 건강기능식품이란, 당근박 유래 다당 분획물을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품에 있어서의 당근박 유래 다당 분획물의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80

중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.

[0065] 또한, 본 발명은 인체 면역기능 향상을 위한 의약 또는 식품의 제조를 위한 당근박 유래 다당 분획물의 용도를 제공한다. 상기한 바와 같이 당근박 유래 다당 분획물은 면역기능 향상을 위한 용도로 이용될 수 있다.

[0066] 또한, 본 발명은 포유동물에게 유효량의 당근박 유래 다당 분획물을 투여하는 것을 포함하는 면역기능 향상방법을 제공한다.

[0067] 여기에서 사용된 용어 "포유동물"은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.

[0068] 여기에서 사용된 용어 "유효량"은 연구자, 수의사, 의사 또는 기타 임상의에 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 해당 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 유효량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 수 있다. 그러므로, 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 예방, 치료 또는 개선 방법에 있어서, 성인의 경우, 대파의 엽초부, 엽신부 또는 이들 혼합물의 추출물을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.001 g/kg 내지 10 g/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.

[0069] 본 발명의 치료방법에서 당근박 유래 다당 분획물을 유효성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.

[0070] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시하나, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범주 및 기술사상 범위 내에서 다양한 변경 및 수정이 가능함은 당업자에게 있어서 명백한 것이며, 이러한 변형 및 수정이 첨부된 특허청구범위에 속하는 것도 당연한 것이다.

[0071] **실시예 1. 당근박 유래 다당 분획물의 제조**

[0072] 당근박 건조분말 100 g과 물 500 g을 혼합하여 현탁액을 제조한 후 라피다제(rapidase, 식품용 시판 상업용 효소) 3 g을 첨가하여 50 ℃, pH 4 하에서 15시간 동안 교반하여 효소반응을 수행한 다음 80 ℃로 온도를 올려 1시간 동안 교반함으로써 효소반응을 정지시켰다. 상기 제조된 당근박 효소처리물을 여과지(NO.5_2.5 ㎛)로 여과하여 잔사를 제거한 후 잔사가 제거된 여과물을 45 ℃의 조건에서 감압농축기로 농축시켰다. 상기 농축된 농축물에 규조토 1 중량부를 첨가하여 상온에서 30분 동안 교반한 후 여기에 80% 에탄올 수용액을 첨가하여 10시간 동안 정치시킨 후 600 rpm에서 30분 동안 교반하여 다당 침전물을 분리한 다음 소량의 증류수에 재용해하여 동결건조기에서 건조시켜 당근박 유래 다당 분획물을 수득하였다.

[0073] **비교예 1. 홍삼농축액**

[0074] 4년근 홍삼을 주정으로 90 ℃에서 10시간 동안 추출하여 홍삼농축액을 제조하였다.

[0075] **비교예 2. 다래추출물**

[0076] 다래를 추출물((주) 서흥, 제품명: 알렉스 아이)을 사용하였다.

[0077] **비교예 3. PSK**

[0078] 운지버섯을 열수추출하여 PSK(크레스틴, Krestin)을 제조하였다.

[0079] **비교예 4. 후코이단**

[0080] 후코이단 추출물(해원바이오텍, 제품명: 후코인단-100)을 사용하였다.

[0081] **비교예 5. 과채유래유산균**

[0082] 과채유래유산균((주)씨제이, 제품명: BYO 피부 유산균)을 사용하였다.

[0083] **비교예 6. 청귤다당**

[0084] 상기 실시예 1과 동일하게 실시하되, 당근박 대신 청귤과피를 사용하여 다당 분획물을 제조하였다.

[0085] **<시험예>**

[0086] 수지상 세포의 분화

[0087] 마우스 골수세포 유래 수지상 세포의 분화를 위해 마우스 경골 및 대퇴골에서 얻은 골수세포를 100 mm petri dish에 2 X 10^5 cells씩 분주하고 싸이토카인(GM-CSF)이 포함된 배양액 조건에서 수지상 세포로의 분화를 유도하였다. 3일째에 같은 농도의 싸이토카인이 포함된 새로운 배지를 동량으로 채워주고, 배양 6일째에 배지 내 Floating cell을 수집하여 24-well 배양판에 옮긴 후(3 X 10^5 cells), 각각의 소재를 농도별로 24시간 처리하였다. 배양 7일째에 Floationg cell을 수집한 뒤 수지상 세포의 표면항원을 측정하기 위해 세포표면을 염색하고 유세포 계측기(Flow cytometry)를 사용하여 측정하였다.

[0088] **시험예 1. 수지상 세포의 생존률 측정**

[0089] 회수한 수지상 세포의 live cell과 dead cell을 구별하기 위해 Live/Dead dye stock을 PBS에 1:1000으로 희석하여 실온에서 30분 동안 염색하였으며, 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)의 처리가 수지상 세포에 대한 세포독성에 미치는 영향에 관하여 알아보기 위하여 6일째의 분화된 수지상 세포를 48-well culture plate에 3 X 10^5개씩 분주, cell에 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)을 농도별로 처리하여 24시간 배양한 후 유세포 분석에 이용하였다.

표 1

[0090]

구분	살아있는 세포(%)					
	처리농도(㎍/㎖)					
	100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	98.85	98.48	97.84	96.92	94.2	93.56
홍삼농축액	97.53	98.43	98.53	96.92	96.48	96.12
다래추출물	97.53	98.43	98.53	-	-	-
PSK(Krestin)	94.72	93.12	89.16	-	-	-
후코이단	97.58	96.26	94.30	-	-	-
과채유래유산균	96.47	97.07	95.70	-	-	-
청귤 유래 다당 분획물	73.77	62.67	-	-	-	-

[0091] 살아있는 세포의 비율이 70% 이상인 경우에는 세포독성을 일으키지 않는 것으로 보는데, 위 표 1에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물은 93% 이상이므로 모두 세포독성이 나타나지 않은 것을 확인하였다.

[0092] **시험예 2. 당근박 유래 다당 분획물의 처리에 따른 수지상 세포의 보조자극인자(CD40, CD80), 억제인자(PD-L1, PD-L2) 등의 발현 패턴 분석을 통한 면역능 평가**

[0093] 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)을 이용하여 수지상 세포에 미치는 영향에 따른 수지상세포 표면에 발현되는 MHC, 공동자극분자들(CD40, CD80, PD-L1, PD-L2), 접착분자들(CD11c, CD11b)의 양상에 일정한 패턴이 발견되는 것을 확인하였다. 이러한 패턴들은 수지상 세포들에 적어도 두 가지 기능, 즉 면역

성(Immunogenic) 또는 면역관용성(tolerogenic)을 야기할 수 있는 면역기능을 갖도록 유도할 수 있음을 발견하고 이를 토대로 다양한 면역지수들을 정의하고, 상기 분획물(또는 추출물)을 대상으로 그 수치를 얻고 면역지수들의 유효성을 확인하였다.

[0094] 수지상 세포의 세포표면 활성인자 및 억제인자의 발현 정도를 측정하기 위하여 실시하였으며, 수지상 세포의 positive marker인 MHCII와 CD11c, 수지상 세포 표면에 발현하는 공동활성인자(CD40, CD80) 및 억제인자(PD-L1, PD-L2)의 안티바디를 사용하여 세포를 염색한 후 flow cytometer 분석을 하였다.

[0095] BD CantoII Flow cytometry를 이용하여 분석을 하였으며, 안티바디 패널은 하기 [표 2]와 같다.

표 2

[0096]

Immuno/Tolerogenic DC(mouse)	Blue laser (488nm)				Red laser (640 nm)		Violet Laser(405nm)	
	530/30	588/42	670LP	780/60	660 / 668	785 / 785	450/50	510/50
	FITC	PE	PerCP-Cy5.5	PE-Cy7	APC	APC-H7	BV421/V450	BV510/V500
Surface(Total volume : 200ul)	PD-L2	PD-L1	MHCII	CD80	CD11c	CD11b	CD40	L/D
vendor	eBio	BD	BD	eBio	TONBO	Biolegend	BD	Life technologies
Clone	122	MIH5	M5/114.15.2	16-10A1	N418	M1/70	3/23	
cat#	11-9972-85	558091	562363	25-0801-82	20-0114-U100	101226	562846	L34966
Vol. per test(μl)	0.3	0.3	0.02	0.3	0.25	0.35	0.3	1:1000

[0097] **2-1. 수지상 세포의 CD11c 발현 측정**

[0098] 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)의 처리가 수지상 세포의 positive marker인 CD11c의 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 6일째의 분화된 수지상 세포에 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)을 농도별로 처리하여 24시간 배양 후 유세포 분석에 이용하였다. 살아있는 세포의 비율(%)이 70% 이상인 세포에서 CD11c+의 발현 정도(%)를 확인하였다.

표 3

[0099]

구분	CD11c+의 발현 정도(%)					
	처리농도(㎍/㎖)					
	100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	47.36	48.04	49.04	57.72	59.3	60.6
홍삼농축액	41.93	42.50	41.56	44.26	43	44.62
다래추출물	40.67	41.03	40.00	-	-	-
PSK(Krestin)	54.52	55.78	58.12	-	-	-
후코이단	53.76	58.48	60.37	-	-	-
과채유래유산균	49.70	52.63	57.17	-	-	-
청귤 유래 다당 분획물	54.80	-	-	-	-	-

[0100] 위 표 3에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리된 마우스 골수세포 유래 수지상 세포에서 CD11c 발현은 기존 알려진 면역소재(PSK, 후코이단, 과채유래유산균, 청귤유래다당분획물)와는 유사하고 홍삼농축액, 다래추출물에 비해서는 우수한 것을 확인하였다.

[0101] 이를 통해 실시예 1의 당근박 유래 다당 분획물이 면역기능 증진 활성을 갖는다는 것을 알 수 있다.

[0102] **2-2. 수지상 세포의 보조자극인자(CD40, CD80) 및 억제인자(PD-L1, PD-L2) 발현 측정**

[0103] 유세포 계측기를 이용하여 분석하였으며, 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)을 처리한 수지상 세포(CD11c+)에서 수지상 세포의 세포표면인자(CD40, CD80, PD-L1, PD-L2, MHCⅡ)의 상대적 발현 정도를 측정하였다.

[0104] 상기 세포표면인자들의 geometric mean값을 이용하여 대조군 1(예, 당근박 유래 다당 분획물 대신 물 처리)에 대한 실험군(예, 당근박 유래 다당 분획물 처리)의 표면인자 발현정도를 상대적으로 비교하였다. 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)의 면역증진(항감염) 또는 면역관용(항염증) 가능성을 평가하기 위하여, 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물) 처리 후 수지상 세포의 보조자극인자 및

억제인자의 발현 정도를 유세포 분석법을 이용하여 측정하였다.

표 4

[0105]

구분		공동자극인자발현 (CD11c+)					
		처리농도(㎍/㎖)					
		100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	CD40	118.12	212.54	276.04	316.08	403.05	401.42
	CD80	77.39	126.60	158.54	218.38	303.02	291.97
	PD-L1	60.43	100.16	121.93	180.03	209.51	216.68
	PD-L2	55.51	78.28	91.42	80.54	104.50	95.56
	MHCII	66.52	102.58	142.58	164.95	230.20	226.26

표 5

[0106]

구분	Relative change of CD40 expression (%) (CD11c+)					
	처리농도(㎍/㎖)					
	100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	118.12	212.54	276.04	316.08	403.05	401.42
홍삼농축액	59.29	125.45	202.34	254.97	312.87	343.00
다래추출물	7.01	-6.69	-1.45	-	-	-
PSK(Krestin)	263.16	237.57	304.43	-	-	-
후코이단	303.09	366.34	374.24	-	-	-
과채유래유산균	211.54	269.89	399.90	-	-	-
청귤 유래 다당 분획물	375.02	-	-	-	-	-

표 6

[0107]

구분	Relative change of CD80 expression (%) (CD11c+)					
	처리농도(㎍/㎖)					
	100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	77.39	126.60	158.54	218.38	303.02	291.97
홍삼농축액	39.84	68.14	108.24	166.64	202.23	237.86
다래추출물	10.67	5.72	-4.18	-	-	-
PSK(Krestin)	185.24	219.94	260.64	-	-	-
후코이단	262.99	269.35	219.76	-	-	-
과채유래유산균	115.93	150.62	244.32	-	-	-
청귤 유래 다당 분획물	229.24	-	-	-	-	-

표 7

[0108]

구분	Relative change of PD-L1 expression (%) (CD11c+)					
	처리농도(㎍/㎖)					
	100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	60.43	100.16	121.93	180.03	209.51	216.68
홍삼농축액	35.33	62.53	87.14	105.69	133.00	157.72
다래추출물	0.78	-2.97	-2.69	-	-	-
PSK(Krestin)	139.24	136.89	150.17	-	-	-
후코이단	146.08	214.33	244.54	-	-	-
과채유래유산균	60.03	81.18	134.87	-	-	-
청귤 유래 다당 분획물	137.96	-	-	-	-	-

표 8

[0109]

구분	Relative change of PD-L2 expression (%) (CD11c+)					
	처리농도(㎍/㎖)					
	100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	55.51	78.28	91.42	80.54	104.50	95.56
홍삼농축액	41.93	42.50	41.56	44.26	43.00	44.62
다래추출물	8.99	3.70	-0.41	-	-	-
PSK(Krestin)	133.41	137.82	149.80	-	-	-
후코이단	147.89	152.56	124.22	-	-	-
과채유래유산균	71.04	92.69	137.85	-	-	-
청귤 유래 다당 분획물	150.52	-	-	-	-	-

표 9

[0110]

구분	Relative change of MHCII expression (%) (CD11c+)					
	처리농도(㎍/㎖)					
	100	200	400	600	800	1000
당근박 유래 다당 분획물	66.52	102.58	142.58	164.95	230.20	226.26
홍삼농축액	58.73	87.52	152.68	234.28	299.69	352.55
다래추출물	18.80	7.14	8.81	-	-	-
PSK(Krestin)	246.89	269.84	327.33	-	-	-
후코이단	318.66	356.88	366.28	-	-	-
과채유래유산균	49.70	52.63	57.17	-	-	-
청귤 유래 다당 분획물	54.80	-	-	-	-	-

[0111] 위 표 4 내지 표 9에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리된 수지상 세포의 세포표면인자(CD40, CD80, PD-L1, PD-L2, MHCⅡ)는 기존 알려진 면역소재와는 유사하거나 더 우수한 것을 확인하였다.

[0112] 특히, 실시예 1의 당근박 유래 다당 분획물로 처리된 수지상 세포의 세포표면인자 중에서 보조자극인자(CD40, CD80)들이 높게 발현하였으며, 면역기능 증진 활성을 보이는 기존 알려진 면역소재와 유사하므로, 이를 통해 실시예 1의 당근박 유래 다당 분획물이 immunogenic DC 분화를 유도하는 것으로 판단할 수 있다.

[0113] 2-3. Immunogenic index I($CD11c^+$, $MHCII^+$) 측정

[0114] 도 1은 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리한 수지상 세포의 발현을 나타낸 도면이다. 수지상세포에 면역식품소재를 처리한 후 Flow cytometry를 이용한 세포표현형 분석을 시도하였다.

[0115] 도 1에 도시된 바와 같이, CD11c+, MHCII+ 세포들은 CD11b와 MHCII 평면에 다시 펼쳐보면 아주 특징적인 A0, A1, A2 그룹으로 나누어짐을 알 수 있다. 각 그룹의 분자표현형을 보기 위해 세포표면분자들의 발현정도를 프로파일링하면 도 1과 같이 각 그룹에 특징적인 패턴을 보인다. A1은 강한 CD40, CD80, PD-L1, MHCII의 발현양상을 보이고 있어 성숙수지상세포에 포함시킬 수 있다. A0에는 CD40, CD80, PD-L2, MHCII등이 발현이 미미하고 면역억제효과가 큰 PD-L1과 CD11b가 강하게 발현되어 있어 면역억제 반응효과가 있는 분자들만 발현되어 있음을 볼 수 있다. A2에는 모든 측정 분자들의 발현양이 낮다. 기 개발소재의 기능성과 A0, A1 분포양상에 일정한 패턴이 있음을 발견하고, 도 2와 같이 면역지수가운데 첫 지수로 면역항원성의 척도로 Immunogenic Index I 을 정의하였다.

[0116] 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)의 기능성과 A0, A1 분포양상에 일정한 패턴이 있음을 발견하고, 도 2와 같이 면역지수가운데 첫 지수로 면역항원성의 척도로 Immunogenic Index I 을 정의하였다. Immunogenic Index I의 옆에 도시된 도면은 일예를 나타낸 것이다.

[0117] 상기 도 2에 기재된 Immunogenic Index I을 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)의 면역원성(Immunogenicity)으로 수치화하였다. 구체적으로, 세포 생존율 70% 이상 살아있는 수지상 세포에서 실시예

1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물) 처리에 따라 수지상 세포의 성숙 지표인 MHCII 및 세포표면 분자인 CD11b의 발현 정도에 차이를 나타내고 그것에 기포하여 분획하였을 때, 공동자극인자인 CD40이 높게 발현하는 부분(A1)의 값을 억제인자인 PD-L1이 높게 발현하는 부분(A0)의 값에 대조군 1(예, 당근박 유래 다당 분획물 대신 물 처리)과 실험군 둘 다 각각 나누어 주었다.

표 10

[0118]

구분	The Immunogenic Index I (CD11c+MHCII+)							
	처리농도(㎍/㎖)							
	100	200	400	600	800	1000	최대값	최대값농도
당근박 유래 다당 분획물	3.09	3.71	3.66	3.91	4.00	3.91	4.00	800
홍삼농축액	1.87	2.66	3.30	2.49	3.27	3.96	3.96	1000
다래추출물	1.51	1.36	1.27	-	-	-	1.51	100
PSK(Krestin)	5.77	7.03	7.33	-	-	-	7.33	400
후코이단	3.67	5.56	7.76	-	-	-	7.76	400
과채유래유산균	4.46	5.83	5.57	-	-	-	5.83	200
청귤 유래 다당 분획물	6.97	-	-	-	-	-	6.97	100

[0119] 위 표 10에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리된 수지상 세포의 Immunogenic Index I의 수량화를 측정한 결과, 기존 알려진 면역소재에 비하여 매우 높은 값을 나타내는 것을 확인하였다.

[0120] 이에 따라 실시예 1의 당근박 유래 다당 분획물이 immunogenic DC 분화를 유도하는 것으로 판단할 수 있다.

[0121] 2-4. Immunogenic index II 측정

[0122] 수지상 세포로 CD11c+ 세포를 잡고 이들의 CD40과 MHCII의 발현양태에 기초하여 수지상 세포를 여러 그룹으로 나누었다. 항원 특이적인 수지상 세포의 기능을 수행하기 위해서는 MHCII의 발현이 있어야 하는데, 미성숙 수지상 세포의 경우에는 상기 발현이 낮고 성숙세포의 경우에는 그 발현이 증가한다. MHCII 발현은 있으나 T cell activation 촉진 신호로 작용하는 CD40분자의 발현이 없는 그룹(예, 도 3의 2+3 그룹)과 MHCII가 강하게 발현되어 있으면서 CD40의 발현도 강한 그룹(예, 도 3의 6+9 그룹)을 나누어 각각 미성숙 수지상 세포와 성숙 수지상 세포군으로 구분하고 그들 간의 비율을 Immunogenic Index II로 정의하였다. Flow cytometry를 통한 수지상 세포로 CD11c+ 세포를 잡고 이들의 CD40과 MHCII의 발현양태에 기초하여 수지상 세포를 여러 그룹으로 나누었고 발현도에 따라 구획을 나누었다.

[0123] 도 3에 도시된 Immunogenic Index II를 이용하여 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)의 면역원성(Immunogenicity)을 수치화하였다. 구체적으로, 6일째의 분화된 수지상 세포에 실시예 1 및 비교예 1-6에 따라 제조된 분획물(또는 추출물)을 농도 별로 처리하여 24시간 배양한 후, 유세포 분석을 통해 살아있는 세포에서 MHCII/CD40의 발현 정도에 따라 9구획으로 나누었다. $MHCII^{+}$ $CD40^{-}$세포군(2+3)에 대한 MHCII hi CD40 hi 세포군(6+9)의 비율을 구하여 Inmmunogenic index II($CD11c^{+}$)로 설정하였다.

표 11

[0124]

구분	The Immunogenic Index II (Live)							
	처리농도(㎍/㎖)							
	100	200	400	600	800	1000	최대값	최대값농도
당근박 유래 다당 분획물	4.03	4.61	8.37	8.30	10.30	9.99	10.30	800
홍삼농축액	1.52	2.60	3.22	5.39	7.30	6.90	7.30	800
다래추출물	1.19	1.03	1.10	-	-	-	1.19	100
PSK(Krestin)	2.99	3.09	2.58	-	-	-	3.09	200
후코이단	3.81	5.28	6.99	-	-	-	6.99	400

과채유래유산균	3.05	3.42	3.37	-	-	-	3.42	200
청귤 유래 다당 분획물	3.53	-	-	-	-	-	3.53	100

[0125] 위 표 11에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예 1에 따라 제조된 당근박 유래 다당 분획물로 처리된 수지상 세포의 Immunogenic Index II(CD11c+)의 수량화를 측정한 결과 기존 알려진 면역소재에 비하여 매우 높은 값을 나타내는 것을 확인하였다.

[0126] 이와 같이, 실시예 1의 당근박 유래 다당 분획물은 면역기능 증진 활성을 높이는 물질인 홍삼농축액과 Immunogenic Index I 및 Immunogenic Index II의 값이 유사하거나 보다 높으므로 당근박 유래 다당 분획물 역시 면역기능 증진 활성을 높이는 물질인 것을 알 수 있다.

[0127] 하기에 본 발명의 분말을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0128] 제제예 1. 산제의 제조

[0129] 실시예 1에서 얻은 당근박 유래 조다당 분획물 500 mg

[0130] 유당 100 mg

[0131] 탈크 10 mg

[0132] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

[0133] 제제예 2. 정제의 제조

[0134] 실시예 1에서 얻은 당근박 유래 조다당 분획물 300 mg

[0135] 옥수수전분 100 mg

[0136] 유당 100 mg

[0137] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0138] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0139] 제제예 3. 캅셀제의 제조

[0140] 실시예 1에서 얻은 당근박 유래 조다당 분획물 200 mg

[0141] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0142] 락토오스 14.8 mg

[0143] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0144] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0145] 제제예 4. 주사제의 제조

[0146] 실시예 1에서 얻은 당근박 유래 조다당 분획물 600 mg

[0147] 만니톨 180 mg

[0148] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0149] $Na_2HPO_4,12H_2O$ 26 mg

[0150] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플 당 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0151] 제제예 5. 액제의 제조

[0152]	실시예 1에서 얻은 당근박 유래 조다당 분획물	4 g
[0153]	이성화당	10 g
[0154]	만니톨	5 g
[0155]	정제수	적량

[0156] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100g으로 조절한 후 갈색병에 충진하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0157] 제제예 6. 과립제의 제조

[0158]	실시예 1에서 얻은 당근박 유래 조다당 분획물	1,000 mg
[0159]	비타민 혼합물	적량
[0160]	비타민 A 아세테이트	70 ㎍
[0161]	비타민 E	1.0 mg
[0162]	비타민 B1	0.13 mg
[0163]	비타민 B2	0.15 mg
[0164]	비타민 B6	0.5 mg
[0165]	비타민 B12	0.2 ㎍
[0166]	비타민 C	10 mg
[0167]	비오틴	10 ㎍
[0168]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0169]	엽산	50 ㎍
[0170]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0171]	무기질 혼합물	적량
[0172]	황산제1철	1.75 mg
[0173]	산화아연	0.82 mg
[0174]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0175]	제1인산칼륨	15 mg
[0176]	제2인산칼슘	55 mg
[0177]	구연산칼륨	90 mg
[0178]	탄산칼슘	100 mg
[0179]	염화마그네슘	24.8 mg

[0180] 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 과립제에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 과립제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

[0181] 제제예 7. 기능성 음료의 제조

[0182] 실시예 1에서 얻은 당근박 유래 조다당 분획물 1,000 mg

[0183] 구연산 1,000 mg

[0184] 올리고당 100 g

[0185] 매실농축액 2 g

[0186] 타우린 1 g

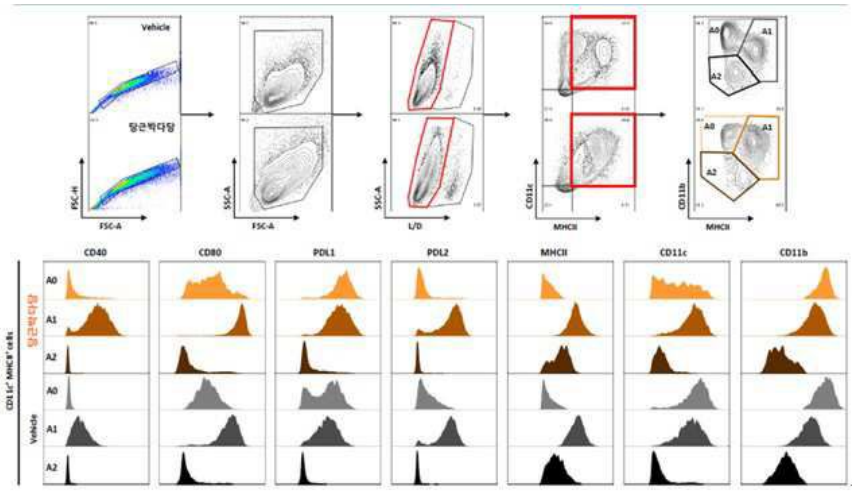
[0187] 정제수를 가하여 전체 900 mL

[0188] 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 기능성 음료 조성물 제조에 사용한다.

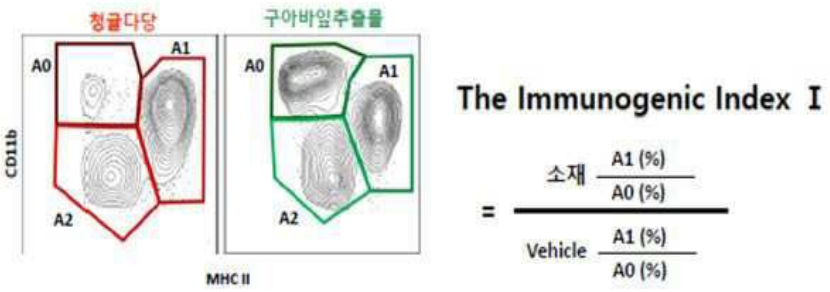
[0189] 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

도면

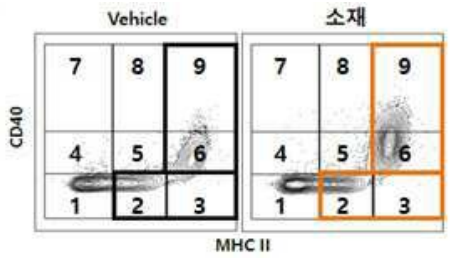
도면1



도면2



도면3



The Immunogenic Index II

$$= \frac{\text{소재}\ \frac{(6+9)}{(2+3)}}{\text{Vehicle}\ \frac{(6+9)}{(2+3)}}$$