(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0141871
(43) 공개일자 2014년12월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/29 (2006.01) *A23L 1/20* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0063034
(22) 출원일자 2013년05월31일
심사청구일자 2013년05월31일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
손동욱
경기 부천시 원미구 중3동 169-11
(72) 발명자
조홍연
서울 성북구 정릉로 388, 103동 1002호 (돈암동, 동부센트레빌아파트)
황한준
서울 광진구 자양로28길 65, (구의동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 6 항

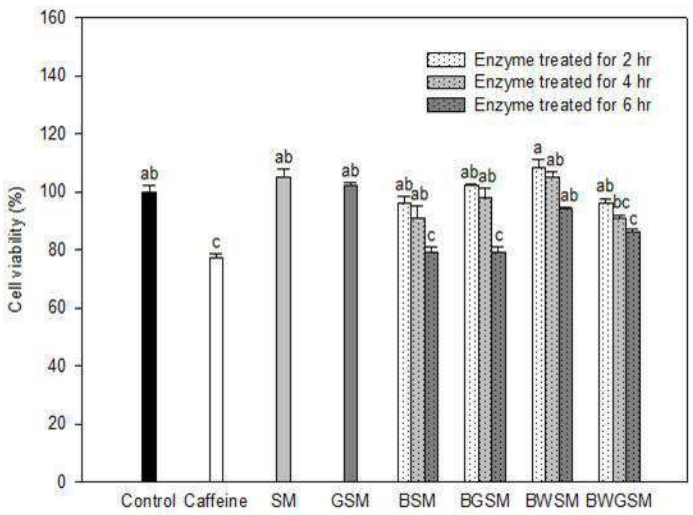
(54) 발명의 명칭 **발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 항비만 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 및 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 발아 콩 펩타이드는 3T3-L1 지방전구세포주의 세포분화 억제 및 성숙지방세포 내에서의 지방 축적 억제에 우수한 효과를 보여줌으로써, 비만의 예방, 개선 또는 치료에 효과적일 뿐만 아니라, 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높아 활용가치가 매우 높다.

대 표 도 - 도2



(72) 발명자

임원철

경기 평택시 원평로 24, 2층 (평택동)

김태완

부산광역시 중구 남포동6가 13번지 신천지아파트 816호

손동욱

세종 조치원읍 섭골길 87, 101동 708호 (도화아파트)

정규호

세종 조치원읍 이화1로 15, 110동 1202호 (e-편한세상아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R1111511
부처명 세종산학협력실
연구관리전문기관 세종전통장류명품화사업단
연구사업명 연구용역
연구과제명 세종전통장류명품화사업 연구개발사업
기 여 율 1/2
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2011.10.07 ~ 2011.12.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 R1205581
부처명 세종산학협력실
연구관리전문기관 세종전통장류명품화사업단
연구사업명 연구용역
연구과제명 세종전통장류명품화사업 연구개발사업
기 여 율 1/2
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2012.05.31 ~ 2012.11.30

특허청구의 범위

청구항 1

발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 발아 콩 펩타이드는 전체 식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 50 중량부로 포함하는 것을 특징으로 하는 비만 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 비만은 지방축적형 비만인 비만 개선용 식품 조성물.

청구항 4

발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 발아 콩 펩타이드는 전체 의약 조성물 100 중량부에 대하여, 0.0001 내지 10 중량부로 포함하는 것을 특징으로 하는 비만의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 6

제 4항에 있어서,

상기 비만은 지방축적형 비만인 비만의 예방 및 치료용 의약 조성물.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방 및 개선 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 비만은 에너지의 축적과 소비의 불균형으로 인하여 신체에 지방이 과도하게 축적되어 발생하는 만성 대사성 질환으로서 당뇨병, 고혈압, 심근경색, 암, 관절염 및 뇌졸중 등 다양한 합병증을 유발할 가능성이 높다고 알려져 있다. 국민건강영양조사에 따르면 비만율이 2001년도에는 32.7%에서 2005년도에는 34.9%로, 지방에너지 섭취 비중이 2001년도에는 19.5%에서 2005년도에는 20.3%로, 이는 현대인들의 서구화된 식생활에 따른 육류 등의 고칼

로리 음식의 섭취량이 증가함에 따라, 비만인구가 점점 증가하고 있는 추세이다.

[0003] 비만을 해소하기 위한 방법으로 식이요법, 운동요법, 행동수정요법, 그리고 약물 및 수술요법 등 다양한 방법들이 개발·시도되고 있다. 그 중 대표적인 약물요법으로 미국 FDA에서 승인을 받고 국내외에서 판매되고 있는 비만치료제로는 제니칼(한국로슈)과 리덕틸(일성신약)이 있으며, 그 외에도 프랑스에서 개발된 비처방 의약품으로 녹차 카테콜 성분을 주원료로 하는 엑소리제(구주제약) 등이 있다. 그러나 제니칼의 경우 지방변, 가스생성, 지용성비타민 흡수저하 등의 위장계 부작용을 일으키며, 리덕틸의 경우에는 교감신경계의 세로토닌과 노르아드레날린 농도를 증가 시킴으로써 두통, 식욕부진, 불면증 또는 변비 등의 부작용을 일으키는 문제점이 있어, 부작용 없는 비만 치료제로서는 한계가 있다. 그 외, 지방분해 효과가 알려진 아미노필린은 신경계, 순환기계, 소화기계에 걸친 폭넓은 부작용이 나타나는 것으로 알려져 있으며, 펜프루라민, 덱스펜플루라민, 토피라메이, 에페드린 및 이소프로테레놀 등도 비만치료에 부적합 약물로 판정되어 식품의약품안전청에 의해 현재 판매가 금지된 상태이다.

[0004] 상기와 같은 약물요법에 따른 부작용으로 인하여 식품소재를 이용한 항비만 천연물질에 대한 관심이 증가되고 있는 추세이다. 예를 들어, 지방 및 당류의 흡수율을 낮추는 뽕잎, 췌장 리파제 활성을 억제하는 발효 붉은 고추 그리고 지방 대사 및 지방 연소율을 증강시키는 식품 등이 다이어트 건강식품으로 출시되고 있다. 그 외에도 현미와 같은 곡류, 허브 및 다류 등의 식품들이 비만 억제 효능을 갖는 것으로 보고된 바 있다(Jin-Nyoung Ho, Mi-Eun Son, Won-chul Lim, Seung-Taik Lim, Hong-Yon Cho, antiobesity effects of germinated brown rice extract through down-regulation of lipogenic genes in high fat diet-induced obese mice, Biosci. Biotechnol. Biochem., 76(6), 1068-1074, 2012; Kristel Diepvens, Klaas R. Westerterp, and Margriet S. Westerterp-Plantenga, Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea, Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 292: 77-85, 2007).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이에, 본 발명은 비만에 약리·생리 활성을 띠고, 인체에도 부작용이 없는 천연식물 소재를 발굴하고, 이를 포함하는 비만의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은 발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만의 예방, 개선 및 치료용 조성물을 제공한다.

[0007] 상기 콩(soybean)은 단백질 35~40%, 유지 15~20%, 탄수화물 35%, 기타 5%로 구성되어 있으며, 이소플라본(isoflavone), 올리고당(oligosaccharide), 사포닌(saponin), 레시틴(lecithin), 루테인(lutein)과 같은 생리활성 물질과 불포화지방산, 섬유소, 비타민 및 무기질이 함유되어 있다. 특히, 불포화 지방산은 리놀레인산(linoleic acid) 52%, 리놀레닌산(linolenic acid) 11%로 다량 함유되어 있어 필수 지방산의 공급원으로도 매우 우수한 식물로 알려져 있다. 콩은 발아 과정에서 저장 단백질의 질적 변화, 미량 영양소의 증가, 구성 탄수화물의 인체 내 소화율의 증가 및 반영양적 요소의 감소 등 영양학적인 변화가 이루어지며, 발아 과정에서 세포벽 분해효소의 작용에 의해 콩 외피가 분해되어 수분흡수가 용이하게 됨에 따라 취반성이 개선되는 점이 알려지며, 이를 이용한 다양한 기능성 식품소재로의 활용 연구가 활발히 이루어지고 있다. 그러나 현재까지 발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 이용된 적은 없었다.

[0008] 한편, 본 발명자들은 천연물로부터 비만의 약리·생리 활성을 띠는 물질을 발굴하는 과정에서 발아 콩 펩타이드가 지방전구세포의 증식 저해 활성 및 성숙지방세포 내 지방축적 저해 활성을 나타내는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다. 하기 실시예에서 알 수 있는 바와 같이, 발아군이 미발아군보다 지방전구세포의 증식 저해능 및 성숙지방세포 내 지방축적 저해능이 우수하며, 일반적인 발아(미발아) 콩 추출물보다 발아(미발아) 콩 펩타이드가 지방전구세포의 증식 저해능 및 성숙지방세포 내 지방축적 저해능이 더 우수함을 알 수 있다.

[0009] 본 발명에 있어서, 상기 발아 콩 펩타이드는 (a) 콩을 발아시키는 단계; (b) 상기 발아된 콩에서 발아 콩 추출물을 얻는 단계; 및 (c) 상기 발아 콩 추출물로부터 발아 콩 펩타이드를 분리하는 단계를 통해 제조될 수 있다

(도 1 참조).

[0010] 단계 (a)의 콩을 발아시키는 방법은 통상의 방법에 따른 것일 수 있다. 이에 제한되지 않으나, 상온다습이 유지되는 상태에서 콩을 물에 침지하여 이루어진다. 바람직하게는, 침지는 18 내지 35℃ 상온의 물에서 24 내지 72 시간 침지하며, 온도는 20 내지 35℃, 상대습도는 50 내지 100%로 유지되는 암 상태에서 간헐 살수하여 발아시킨다. 상기 간헐 살수는 4 내지 6 시간 간격으로 1 내지 10 분간 살수하여 이루어질 수 있으며, 타이머가 장착된 장치를 사용할 경우 재배가 편리하다. 상기 발아는 콩의 싹이 1 내지 3cm로 자랄 때까지 발아시키는 것이 좋다. 상기 콩은 콩과에 속하는 식물의 종자이면 모두 적용 가능하다.

[0011] 단계 (b)의 발아 콩 추출물을 얻는 방법은 통상의 방법에 따른 것일 수 있다. 이에 제한되지 않으나, 발아된 콩을 건조 및 가열처리 후 분쇄하여, 물 또는 유기용제에 침지하여 얻을 수 있다. 바람직하게는 상기 발아 콩 추출물은 열수 추출물일 수 있다.

[0012] 단계 (c)의 발아 콩 펩타이드를 얻는 방법은 통상의 방법에 따른 것일 수 있다. 이에 제한되는 것은 아니나, 통상의 단백분해효소를 처리하여 얻을 수 있다. 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 상기 단계 (b)의 발아 콩 추출물을 원심분리하여 얻은 상등액에 단백분해효소를 처리하여 얻은 발아 콩 펩타이드는 단백분해효소를 처리 후 원심분리하여 얻은 발아 콩 펩타이드보다 지방전구세포의 증식 저해능 및 성숙지방세포 내 지방축적 저해능이 더 우수하였다. 따라서 원심분리 후 단백분해효소를 처리하고, 열풍건조 및 분쇄하여 제조하는 것이 바람직하다.

[0013] 본 발명에서의 용어 '비만'이란, 일반적으로 살이 찐 상태를 말하며, 체내 지방이 과다하게 축적된 상태를 의미하는 것으로, 특히, 과도한 에너지 흡수 결과 중성지방의 형태로 저장하는 역할을 하는 백색 지방조직 내 지방축적형 비만을 말한다.

[0014] 비만의 종류는 원인, 지방세포의 수와 크기 및 부위에 따라 분류될 수 있다. 특히 지방세포의 수와 크기에 따라, 지방증식형 비만과 지방축적형 비만으로 나뉠 수 있는데, 지방증식형 비만은 선천성 요인에 의해 지방세포 수가 증가하는 비만으로 주로 소아비만에 많으며, 지방축적형 비만은 후천적 요인에 의해 지방세포 속에 지방이 꽉 차서 지방세포의 크기가 커지는 형태로 주로 성인비만에 많다.

[0015] 상기 지방세포는 중성지방(triglyceride, TG)의 형태로 에너지의 합성, 저장 및 분해하는데 중심적인 역할을 한다. 즉, 과잉 열량 시 중성지방의 형태로 저장해 두었던 열량을 열량소모가 많을 때 이를 분해하여 에너지로 사용하도록 하는 것이다. 이렇게 지방세포가 에너지 밸런스를 유지하는 데는 지방 합성(lipogenesis) 및 지방 분해(lipolysis)에 관여하는 많은 다양한 효소 및 조절인자들이 필요하다. 즉, 비만은 상기와 같은 효소들에 의한 체내 밸런스 유지의 실패에 의해 일어나게 되며, 이는 지방조직의 과도한 체내 축적을 야기하게 된다.

[0016] 상기 지방조직은 해부학적 위치, 형태학적 구조, 기능 및 조절에 따라 크게 백색지방(white adipose tissue, WAT)과 갈색지방(brown adipose tissue, BAT)으로 분류할 수 있다. 이들 두 지방조직은 주로 중성지방(triglycerides) 상태로 에너지를 저장하는 공통점이 있으나 백색지방의 경우에는, 필요에 따라 이 에너지를 배출하고, 갈색지방의 경우에는 이 에너지원을 열로 전환 시킨다. 갈색지방은 백색지방에 비해 많은 혈관이 분포되어 있고 사이토크롬 색소로 인하여 갈색을 띠며, 특히 동면동물이 동면할 때나 새로 태어난 포유동물의 체온조절에 중요한 역할을 담당한다. 이에 반해 백색지방은 체내 에너지 항상성 유지에 중추적 역할을 담당하는데, 구체적으로는 에너지 흡수량이 소비량에 비해 많은 경우 이를 중성지방의 형태로 저장하고, 에너지가 부족한 경우 에너지원을 이용할 수 있도록 조절하는 역할을 담당한다. 이와 같이 상기 두 지방세포의 분포 및 기능이 상이하며 특히, 통상적으로 지방세포라고 부르는 백색지방세포는 주로 피하와 장기 주위에 고루 퍼져 있으며 연료의 저장고와 같은 역할을 하므로 비만과 더 밀접한 연관성이 있다.

[0017] 본 발명에서의 용어, "성숙 지방세포"란, 지방세포의 분화 과정에서 생성된 완전한 지방세포의 형태를 의미하며, 구체적으로는 줄기세포가 지방전구세포(pre-adipocytes)로 된 다음, 상기 지방전구세포가 완전한 지방세포(adipocytes)로 성숙하게 되는 과정을 거쳐 생성된다.

[0018] 본 발명에서의 용어, "지방전구세포"란, 지방세포의 분화단계 중 줄기세포로부터 가장 먼저 생성되는 지방세포로의 분화능을 갖는 세포를 의미하며, 지방전구 세포는 성장이 진행되어 100% confluency가 되면 성장이 정지되고 지방세포로의 분화가 서서히 진행된다. 지방전구 세포가 지방세포로 분화되는 과정은 배양액에 첨가한 혈청 중의 분화유도인자들에 의해 일어나는 현상이다. 그러므로 배양액 중에 분화촉진인자들 (인슐린, 덱사메타손(dexamethasone), 3-isobutyl-1-methylxanthine)을 첨가함으로써 세포분화를 더욱 촉진시킬 수 있으며, 반대로 분화억제인자들 (actinomycin D, tumor necrosis factor α, bromo deoxyuridine 등)을 첨가함으로써 분화를

억제할 수도 있다. 최종적으로 분화된 지방전구 세포는 세포 내 지방이 축적되는 등의 성숙 지방세포로서의 형태를 나타내게 되며, 지방세포 특유의 유전자 발현 및 지방축적을 유도하는 효소의 활성화가 일어나게 된다. 지금까지 알려진 대표적인 지방세포 분화촉진인자들로는 인슐린과 인슐린-유사 성장인자-I(insulin-like growth factor-I, IGF-I)등이 있다(황혜정 등, 알긴산이 3T3-L1 세포의 분화에 미치는 영향, 한국수산학회지 33(6), 541-545. 2000).

[0019] 본 발명의 한 구체예로서, 본 발명은 발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0020] 본 발명에서 용어 '식품조성물'이란 상기 발아 콩 펩타이드를 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 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다.

[0021] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0022] 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명에 따른 식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 항비만 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.

[0023] 상기 발아 콩 펩타이드를 식품첨가물로 사용하는 경우, 상기 발아 콩 펩타이드를 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 다른 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합양은 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 전체 조성물 100 중량부에 대하여, 통상 0.01 내지 50 중량부, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량부의 범위이다. 또한 과립, 정제 또는 캡슐형태의 식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량부 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량부의 범위에서 첨가하면 된다. 그러나 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0024] 또한 본 발명에 따른 식품 조성물은 추가로 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토오스, 슈크로오스와 같은 이당류, 덱스트린, 사이클로덱스트린과 같은 다당류 또는 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제, 사카린 또는 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 외에 본 발명에 따른 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0025] 본 발명에 따른 또 다른 구체예로, 본 발명은 발아 콩 펩타이드를 유효성분으로 포함하는 비만 개선용 의약 조성물을 제공한다.

[0026] 본 발명에 따른 발아 콩 펩타이드는 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태일 수 있다.

[0027] 상기 염은 유기산 또는 무기산을 이용하여 형성된 산 부가염일 수 있으며, 상기 유기산은 예를 들면 포름산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 부티르산, 이소부티르산, 트리플루오로아세트산, 말산, 말레산, 말론산, 푸마르산, 숙신산, 숙신산 모노아미드, 글루탐산, 타르타르산, 옥살산, 시트르산, 글리콜산, 글루쿠론산, 아스코르브산, 벤조산, 프탈산, 살리실산, 안트라닐산, 디클로로아세트산, 아미노옥시 아세트산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 및 메탄술폰산계 염을 포함하며 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 및 붕산계 염을 포함한다. 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있으며, 보다 바람직하게는 염산염 형태일 수 있다.

[0028] 위와는 별도로 추가적으로 염이 가능한 형태는 가바염, 가바펜틴염, 프레가발린염, 니코틴산염, 아디페이트염, 헤미말론산염, 시스테인염, 아세틸시스테인염, 메티오닌염, 아르기닌염, 라이신염, 오르니틴염 및 아스파르트산

염 등이 있다.

[0029] 또한 본 발명에 따른 의약 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수 또는 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티딘, 염 및 폴리솔베이트 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.

[0030] 상기 조성물 내의 상기 발아 콩 펩타이드의 함량은 질환의 증상, 증상의 진행 정도, 환자의 상태, 투여 방법 및 제제의 형태 등에 따라서 적절히 조절 가능하며, 예컨대, 전체 조성물 100 중량부에 대하여, 0.0001 내지 10 중량부, 바람직하게는 0.001 내지 1 중량부인 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 함량비는 용매를 제거한 건조량을 기준으로 한 값이다.

[0031] 본 발명에 따른 의약 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있으며, 일반 의약품 제제의 형태, 예를 들어, 임상 투여 시 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0032] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 의약 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.

[0033] 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 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.

[0034] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌 글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[0035] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0036] 본 발명에 따른 발아 콩 펩타이드는 3T3-L1 지방전구세포주의 세포분화 억제 및 성숙지방세포 내에서의 지방 축적 억제에 우수한 효과를 보여줌으로써, 비만의 예방, 개선 또는 치료에 효과적일 뿐만 아니라, 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높아 활용가치가 매우 높다.

도면의 간단한 설명

[0037] 도 1은 미발아 콩 펩타이드의 제조공정을 나타내는 도표이다.

도 2는 발아 콩 펩타이드의 지방전구세포 증식 저해활성을 나타내는 도표이다.

도 3은 발아 콩 펩타이드의 성숙지방세포 내 지방축적 저해활성을 나타내는 도표이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0039] [제조예 1]

[0040] 발아 콩 펩타이드 또는 미발아 콩 펩타이드의 제조 공정

[0041] 발아 콩 펩타이드의 제조과정은 콩의 발아 과정이 추가된다. 상기의 발아는 25℃의 온도와 빛을 차단한 환경에서 25℃ 상온의 물에 4시간 침지한 후, 약 1시간 간격으로 간헐 살수 할 수 있는 발아기 안에서 이루어졌다. 상기 발아는 콩의 싹이 1 cm 이상 자랄 때까지 발아시켰으며, 약 2~3일 정도 소요된다.

[0042] 상기 미발아 콩 펩타이드와 발아 콩 펩타이드의 제조는 하기와 같이 이루어진다. 미발아 콩과 발아 콩을 각각 물에 4시간 침지한 후, 탈아, 탈피하였다. 이후, 탈아, 탈피된 콩 중량의 10배 정도의 물을 넣고, 15분간 100℃로 가열하였다. 이후 Turrex를 이용하여 7,000 rpm에서 3분간 분쇄하고, 다시 15분간 100℃로 가열하여, 미발아 콩 추출물(SM)과 발아 콩 추출물(GSM)을 얻었다.

[0043] 상기의 발아(미발아) 콩 추출물에서 펩타이드를 얻는 단계에서는 상기 발아(미발아) 콩 추출물을 각각 원심분리 후 단백분해효소로 처리한 것(각각 BSM, BGSM)과 상기 발아(미발아) 콩 추출물을 각각 단백분해효소로 처리한 후, 원심분리한 것(각각 BWSM, BWGSM)을 구분하였다. 상기 단백분해효소의 처리는 단백분해효소 0.2%(w/v)를 처리하여, 2, 4, 6시간 가수분해하고, 상기 원심분리는 10,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 상등액을 취하여 이루어진다. 상기의 발아(미발아) 콩 추출물(각각 SM, GSM)을 단백분해효소 처리 후 원심분리하여 상등액을 취한 것과 발아(미발아) 콩 추출물(각각 SM, GSM)을 원심분리 후 취한 상등액에 단백분해효소를 처리한 것을 10분간 100℃ 상태에 놓아 단백분해효소를 불활성화시켰다. 이후 10,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 취하여, 70℃에서 열풍건조한 후 분쇄하여 미발아 콩 펩타이드(각각 BSM, BGSM)와 발아 콩 펩타이드(각각 BWSM, BWGSM)를 제조하였다.

[0044] [실시예 1]

[0045] 발아 콩 펩타이드의 지방전구세포 증식 저해능

[0046] 지방전구세포주인 3T3-L1 (mouse embryo fibroblast cell line)을 $1x10^4$ cells/well의 농도로 96 well-plate에 24시간 배양한 다음, 원배지를 제거하고, 10% 송아지 혈청(calf serum, CS)이 첨가된 DMEM 배지에 미발아 콩 펩타이드와 발아 콩 펩타이드를 각각 1 mg/ml, 100 ul 씩 첨가하였다. 대조군에는 증류수 100 ul, 양성 대조군에는 카페인을 1 mg/ml, 100 ul 를 첨가한 후, 37℃, CO_2 배양기에서 48시간 배양시켰다. 48시간째 원배지를 제거하고 DMEM 배지에 MTT 용액 (5 mg/ml)을 10%의 농도로 100 ul 첨가하여 37℃, CO_2 배양기에서 4시간 반응시킨 후 595 nm에서 분광광도계를 사용하여 지방전구세포 증식능을 측정하였다. 지방전구세포 증식 저해능은 다음의 식에 의해 구하였다.

[0047] $$\text{Cell viability (\%)} = \{(\text{Sample O.D} - \text{Blank O.D}) / (\text{Control O.D} - \text{Blank O.D})\} \times 100$$

[0048] 도 2에 나타난 바와 같이, 대조군(control)의 지방전구세포 증식능을 100%로 하여 비교하였을 때, 양성대조군(positive control)인 카페인은 77%, 미발아 콩 추출물(SM)은 105%, 발아 콩 추출물(GSM)은 102%, 원심분리 후 단백분해효소를 처리한 미발아 콩 펩타이드(BSM)는 각각 96%, 91%, 79%, 발아 콩 펩타이드(BGSM)는 각각 102%, 98%, 79%, 단백분해효소를 처리한 후 원심분리한 미발아 콩 펩타이드(BWSM)는 각각 108%, 105%, 94%, 발아 콩 펩타이드(BWGSM)는 각각 96%, 91%, 86%이었다.

[0049] 상기의 결과로부터 원심분리 후 단백분해효소를 처리할 때가 보다 우수한 지방전구세포 증식 저해능을 나타냄을 확인할 수 있다(BSM, BGSM). 또한 단백분해효소 처리시간이 증가됨에 따라 지방전구세포 증식 저해능이 좋아지며, 6시간 동안 단백분해효소를 처리한 것은 양성 대조군인 카페인과 유사한 지방전구세포 증식 저해능을 나타냄을 확인할 수 있었다.

[0050] 단백분해효소를 처리하는 시간이 증가됨에 따라, 지방전구세포 증식 저해능이 높아졌다는 것은 펩타이드의 함량이 높아졌다는 의미이며, 이는 일반 발아(미발아) 콩 추출물보다 발아(미발아) 콩 펩타이드의 지방전구세포 증식 저해능이 우수하다는 것을 의미한다.

[0051] [실시예 2]

[0052] 발아 콩 펩타이드의 성숙지방세포 지방축적 저해능

[0053] 지방전구세포주인 3T3-L1(mouse embryo fibroblast cell line)을 $2x10^5$ cells/well의 농도로 6 well-plate에 배양, 100% confluency 도달 후 2일간 추가로 배양한 다음, 성숙지방세포로 분화시키기 위해 원배지를 제거하고, 0.5 mM 3-이소부틸-1-메틸잔틴(3-isobutyl- 1-methylxanthine, IBMX), 0.1 uM 덱사메타손(dexamethasone, DEX), 1 ug/ml 인슐린 및 10% 태아 소 혈청(fetal bovine serum, FBS)이 첨가된 DMEM 배지에 미발아 콩 펩타이드와 발아 콩 펩타이드를 각각 1 mg/ml, 100 ul 씩 첨가하고, 대조군에는 증류수 100 ul, 양성 대조군에는 카페인을 1 mg/ml, 100 ul를 첨가한 후, 37℃, CO_2 배양기에서 48시간 배양시켰다. 48시간째 다시 원배지를 제거한 후, 10% 태아 소 혈청(fetal bovine serum, FBS)이 첨가된 DMEM 배지를 37℃, CO_2 배양기에서 48시간 배양시키는 과정을 총 2번 반복하였다. 상기 배양액을 완전히 제거한 후, 인산 완충액(phosphate buffer, PBS)으로 2회 세척하고 10% 포르말린(formalin) 용액을 400 ul/well로 첨가하여 1시간 동안 방치하여 세포를 고정시켰다. 이후 인산 완충액(phosphate buffer, PBS)으로 세척하고, Oil red O 작업용액을 400 ul/well 당 첨가하여 2시간 동안 분화된 지방세포내의 지방을 염색시켰다. 상기 Oil red O 작업용액을 제거하고 2차 증류수를 사용하여 well의 기벽에 묻어있는 Oil red O 작업용액을 완전히 세척한 후, 건조기에 넣고 5분간 건조시키고, well에 이소프로필 알코올 500 ul을 첨가하였다. micro plate reader (Model 680 microplate reader, Bio-Rad, USA)를 사용하여 490 nm에서 흡광도로 지방축적능을 측정하였다. 지방축적능은 다음의 식에 의해 구하였다.

[0054] Lipid accumulation (%) = {(Sample O.D - Blank O.D)/(Control O.D - Blank O.D)} × 100

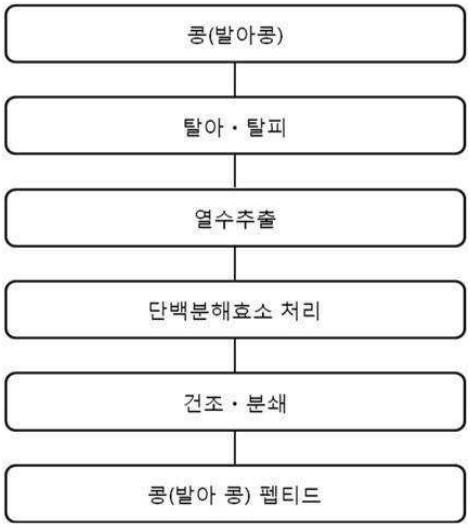
[0055] 도 3에 나타난 바와 같이, 대조군(control)의 지방축적능을 100%로 하여 비교하였을 때, 양성 대조군(positive control)인 카페인의 지방축적능은 68%, 미발아 콩 추출물(SM)은 98%, 발아 콩 추출물(GSM)은 92%, 원심분리 후 단백분해효소를 처리한 미발아 콩 펩타이드(BSM)는 각각 95%, 92%, 86%, 발아 콩 펩타이드(BGSM)는 각각 99%, 92%, 83%, 단백분해효소를 처리한 후 원심분리한 미발아 콩 펩타이드(BWSM)는 각각 98%, 94, 87%, 발아 콩 펩타이드(BWGSM)는 각각 95%, 89%, 76%이었다.

[0056] 상기의 결과로부터 원심분리 후 단백분해효소를 처리한 것이 가장 우수한 성숙지방세포 지방축적 저해능을 나타냄을 확인할 수 있다. 또한, 단백분해효소 처리시간이 증가됨에 따라 성숙지방세포 지방축적 저해능이 높아지며, 6시간 동안 단백분해효소를 처리한 것은 양성 대조군인 카페인과 유사한 성숙지방세포 지방축적 저해능을 나타냄을 확인할 수 있었다.

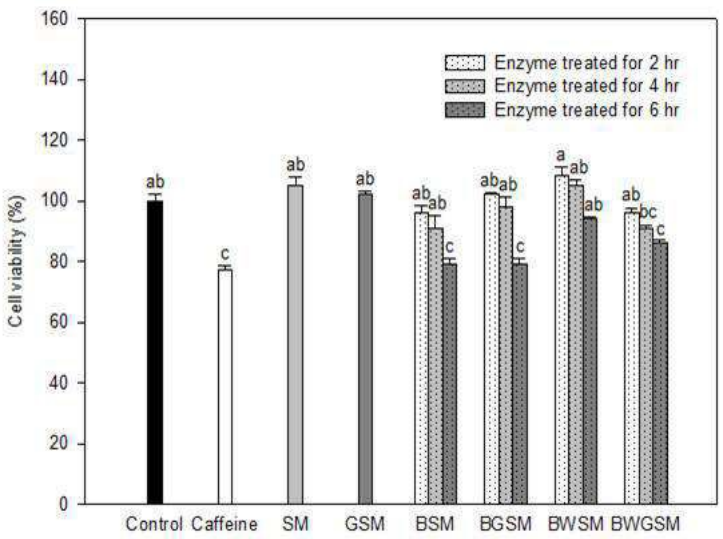
[0057] 단백분해효소를 처리하는 시간이 증가됨에 따라, 성숙지방세포 지방축적 저해능이 높아졌다는 것은 펩타이드의 함량이 높아졌다는 의미이며, 이는 일반 발아(미발아) 콩 추출물보다 발아(미발아) 콩 펩타이드의 성숙지방세포 지방축적 저해능이 우수하다는 것을 의미한다.

도면

도면1


콩(발아콩)
탈아·탈피
열수추출
단백분해효소 처리
건조·분쇄
콩(발아 콩) 펩티드

도면2


Enzyme treated for 2 hr
Enzyme treated for 4 hr
Enzyme treated for 6 hr
Cell viability (%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
Control
Caffeine
SM
GSM
BSM
BGSM
BWSM
BWGSM