



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0142396
(43) 공개일자 2014년12월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/29 (2006.01) A23L 1/20 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0063247
(22) 출원일자 2013년06월03일
심사청구일자 2013년06월03일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
조흥연
서울 성북구 정릉로 388, 103동 1002호 (돈암동, 동부센트레빌아파트)
김태완
부산광역시 중구 남포동6가 13번지 신천시아파트 816호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 7 항

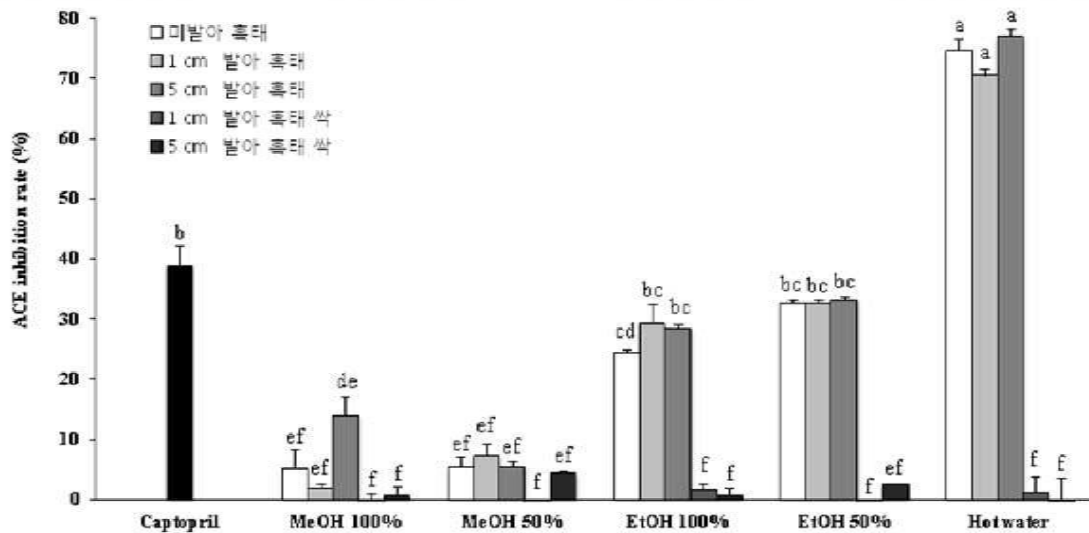
(54) 발명의 명칭 발아 검은콩 추출물을 유효성분으로 포함하는 항고혈압 조성물

(57) 요약

본 출원은 발아 검은콩 추출물을 유효성분으로 포함하는 고혈압의 개선, 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

본 출원에 따른 발아 검은콩 추출물은 우수한 ACE 저해 활성을 보이며, 고혈압의 개선, 예방 또는 치료에 효과적일 뿐만 아니라, 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높아 활용가치가 매우 높다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

임원철

경기 평택시 원평로 24, 2층 (평택동)

박재현

서울 양천구 목동중앙북로8길 111, 102동 301호 (목동, 목동금호베스트빌)

안수희

광주 북구 삼정로 112, 102동 1609호 (두암동, 라인동산아파트)

특허청구의 범위

청구항 1

발아 검은콩(black bean) 추출물을 유효성분으로 포함하는 고혈압 개선용 식품 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 검은콩(black bean)은 서리태, 서목태, 흑태인 고혈압 개선용 식품 조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 발아 검은콩(black bean) 추출물은 전체 식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 50 중량부로 포함하는 것을 특징으로 하는 고혈압 개선용 식품 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 고혈압은 안지오텐신 전환 효소 저해 활성을 특징으로 하는 고혈압 개선용 식품 조성물.

청구항 5

발아 검은콩(black bean) 추출물을 유효성분으로 포함하는 고혈압의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 발아 검은콩(black bean) 추출물은 전체 의약 조성물 100 중량부에 대하여, 0.0001 내지 10 중량부로 포함하는 것을 특징으로 하는 고혈압의 예방 및 치료용 의약 조성물.

청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 고혈압은 안지오텐신 전환효소 저해 활성을 특징으로 하는 고혈압의 예방 및 치료용 의약 조성물.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 발아 검은콩(black bean) 추출물을 유효성분으로 포함하는 고혈압의 개선, 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 고혈압은 현대 성인병의 대표적 질환 중의 하나이며, 고혈압의 대부분을 차지하는 본태성 고혈압의 유발원인에 대해서는 아직까지 정확히 규명되고 있지 않으나, 다음의 2가지 기작들에 의해 주로 발병되는 것으로 추측되고 있다. 첫 번째 기작은 교감신경계가 활성화되어 압-Na이뇨 관계(pressure-diuresis)에 변화를 초래함으로써 혈압이 상승하는 기작으로, 여기에는 레닌-안지오텐신 시스템(renin-angiotensin system)의 활성이 관여하는 것으로 알려져 있다(Genest, J.E. and Koiw, O.K., Physiopathology and Treatment, McGraw-Hill, 1977; Goidste D.S., Hypertension, 5:83, 1983). 두 번째 기작은 Na 방출호르몬 및 Na 운반기전에 이상이 발생하여 Na의 방출이 원활하지 못하고, 그로 인하여 카테콜아민(catecholamine)이나 안지오텐신 II의 농도가 증가하여 신장의 원심세동맥이 수축되기 때문에 발생하는 것으로 보고되고 있다(Kurtz, T.W. et al., N. Engl. J. Med., 317:1043(1987);Ljungman, 5.,Hypertension, 3:318, 1981). 이들 이외에도 세포막의 이상으로 Na와 Ca 농도가 증가하게 되어 동맥압이 상승되는 기작에 의해 고혈압 증상이 나타나는 것으로 알려져 있다.
- [0003] 한편, 안지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme, Kininase II, peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1, 이하 편의상 'ACE'이라 함)는 불활성인 안지오텐신 I의 C-말단 디펩타이드(His-Leu)를 가수분해하여, 혈관벽 평활근 수축등의 작용을 가지는 안지오텐신 II로 전환시키기도 하고, 부신피질(adrenal cortex)에서의 알도스테론(alosterone) 분비를 촉진함으로써 물과 Na의 방출을 억제하기도 한다. 또한 혈관 이완작용을 갖는 브라디키닌(bradykinin)을 분해하여 불활성화시키기도 한다(Manjusri, D. and Richard, L.S., J.Biol. Chem., 250:6162, 1975); Davis, J.O., Fed. Proc., 36:1753, 1977); Hall, J.E. et al., J. Hypertens., 4:387, 1986)). 이러한 ACE의 활성은 고혈압의 원인이 되고 있다.
- [0004] 상기 이유로 ACE의 특이적 저해제는 인체에서 혈압을 조절하는데 유용하며 ACE 활성은 고혈압 발생과 밀접하게 관련되기 때문에, ACE 의 시험관 내 저해는 항고혈압 치료제를 스크리닝하는데 이용되어 왔다. 치료적 혈관 감압제, 예를 들면 captopril, enalapril, ramipril 등의 ACE 저해제로서 합성되었으나 이러한 약제의 사용으로 인한 부작용으로 미각 이상, 백혈구 감소, 혈관 부종, 간 기능 이상 등이 보고되고 있어 천연물질을 이용한 항고혈압 효과를 가지는 물질 탐색에 대한 요구가 계속되고 있는 상황이다(Handbook of hypertension: clinical pharmacology of antihypertensive drug. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. Vol5, pp 246-271, 1984).
- [0005] 이와 같이 약물요법에 따른 부작용으로 인하여 식품소재를 이용한 항고혈압 천연물질에 대한 관심이 증가하는 추세이다. 우유, 달걀, 닭, 돼지고기, 소고기, 어류, 콩, 옥수수 및 미세조류 등의 가수분해물이 항고혈압 효능을 갖는 것으로 보고 연구가 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 이에, 본 발명은 고혈압에 약리·생리 활성을 띠고, 인체에도 부작용이 없는 천연식물 소재를 발굴하고, 이를 포함하는 고혈압의 개선, 예방 또는 치료용 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 상기 과제를 해결하기 위한 수단으로서, 본 발명은 발아 검은콩(black bean) 추출물을 유효성분으로 포함하는 고혈압의 개선, 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.
- [0008] 본 출원에서 용어 「검은콩」이란, 특정한 한 종류의 콩을 의미하는 것이 아니라, 낱알껍질의 빛깔이 검은빛을 띠는 콩을 통칭하는 것이다. 검정콩 또는 흑대두(黑大豆)라고도 하며, 종류로는 예를 들어, 서리태, 서목태, 흑태 등이 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0009] 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. 콩의 생리·약리 활성으로는 노화방지, 골다공증, 유방암, 자궁암 예방, 심혈관 질환, 고혈압 등의 개선이 보고되고 있다.

[0010] 특히, 검은콩의 검은색을 나타내는 성분인 안토시아닌은 고혈압을 예방하고 간 기능을 향상시켜주며, 눈의 피로 회복을 돕고 백내장을 예방해주어 눈 건강에 상당히 이로운 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 활성산소를 억제하는 등의 효능이 있으며, 이러한 항산화 작용에 의한 노화억제 및 항암능력이 일반 콩에 비해서 4배 이상 강한 것으로 보고되어 있다(Wang H, Cao G, Prior RL. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. J. Agr. Food Chem. 45: 304-309, 1997).

[0011] 또한 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.

[0012] 한편, 본 발명자들은 천연물로부터 고혈압의 약리·생리 활성을 띠는 물질을 발굴하는 과정에서 발아 검은콩(black bean) 추출물이 우수한 ACE 저해활성을 나타내는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다. 하기 실시예에서 알 수 있는 바와 같이, 발아균이 미발아균보다 ACE 저해능이 우수하며, 발아가 증진됨에 따라 ACE 저해능이 더 우수하였다. 또한, 발아균의 경우, 일반적인 에탄올, 메탄올 추출물보다 열수 추출물에서 보다 더 ACE 저해능이 우수하였으며, 검정콩 중에서는 흑태가 가장 우수한 ACE 저해능을 나타내었다.

[0013] 본 출원에 있어서, 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 72시간 침지하며, 온도는 20 내지 35℃, 상대습도는 50 내지 100%로 유지되는 압 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.

[0014] 본 출원에 있어서, 상기 발아 검은콩(black bean) 추출물은 통상의 식물 추출물의 제조방법에 따라 제조된 것일 수 있다.

[0015] 발아 검은콩(black bean) 추출물 제조를 위해 사용되는 추출용매는 이에 제한되는 것은 아니나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 용매일 수 있다. 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 5의 알코올, 에틸아세테이트, 아세톤 등의 극성용매와 에테르, 클로로포름, 벤젠, 헥산, 디클로로메탄 등의 비극성 용매 또는 이들의 혼합용매일 수 있다. 예를 들어, 상기 탄소수 1 내지 5의 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올, 이소프로판올 등으로부터 선택될 수 있다.

[0016] 본 출원에 있어서, 발아 검은콩(black bean) 추출물은 상기 추출용매를 이용하여 추출된 1차 추출물을 극성이 다른 추출용매를 이용하여 다시 분획한 분획물을 포함한다. 예를 들어, 발아 검은콩(black bean) 추출물은 탄소수 1 내지 5의 알코올로 추출한 후, 에테르, 벤젠, 헥산 등의 극성이 다른 용매로 다시 분획한 분획물 일 수 있다.

[0017] 상기 분획 시 용매는 2종 이상 사용할 수 있으며, 용매의 극성에 따라 순차적으로 사용하거나 혼합하여 사용하여, 각 용매 추출물을 제조할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

[0018] 상기 제조된 추출물 또는 상기 분획과정을 수행하여 수득한 분획물은 이후 여과하거나 농축 또는 건조과정을 수행하여 용매를 제거할 수 있으며, 여과, 농축 및 건조를 모두 수행할 수 있다. 구체적으로 상기 여과는 여과지를 이용하거나 감압여과기를 이용할 수 있으며, 상기 농축은 감압 농축기, 일 예로 회전 증발기를 이용하여 감압 농축할 수 있으며, 상기 건조는 일 예로 동결건조법으로 수행할 수 있다.

[0019] 본 출원에서의 용어 「고혈압」이란, 본태성 고혈압으로서, 유발원인에 대해서는 아직까지 정확히 규명된 것은

없다. 현재까지 고혈압의 생리화학적 기전으로 알려진 것은 혈관수축 및 신장에서의 나트륨의 재흡수, 체액 조절 등의 생리작용을 야기시키는 안지오텐신 전환 효소(ACE, angiotension converting enzyme)이다.

[0020] 본 출원에 따른 발아 검은콩(black bean) 추출물은 소장에서의 안지오텐신 전환 효소(ACE, angiotension converting enzyme)의 작용을 억제함으로써, 고혈압에 크게 효과적이다.

[0021] 본 출원의 한 구체예로서, 발아 검은콩(black bean) 추출물을 유효성분으로 포함하는 고혈압 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0022] 본 출원에서 용어 「식품 조성물」이란, 발아 검은콩(black bean) 추출물을 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.

[0023] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 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.

[0024] 이와 같이 하여 얻어지는 본 출원에 따른 식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 높은 항고혈압 효과를 기대할 수 있어 매우 유용하다.

[0025] 발아 검은콩(black bean) 추출물을 식품첨가물로 사용하는 경우, 발아 검은콩(black bean) 추출물을 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, 바람직하게는 0.1 내지 20 중량부의 범위이다. 또한 과립, 정제 또는 캡슐형태의 식품의 경우에는 통상 0.1 내지 100 중량부이며, 바람직하게는 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.

[0026] 또한 본 출원에 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, 텍스트린, 사이클로텍스트린과 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 출원에 따른 식품 조성물은 여러가지 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 출원의 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 출원의 식품 조성물 100 중량부에 대하여, 0.01 내지 0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0027] 본 출원에 따른 또 다른 구체예로, 본 출원은 발아 검은콩(black bean) 추출물을 유효성분으로 포함하는 고혈압 개선용 의약 조성물을 제공한다.

[0028] 본 출원에 따른 발아 검은콩(black bean) 추출물은 약제학적으로 허용 가능한 염의 형태일 수 있다.

[0029] 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.

- [0030] 위와는 별도로 추가적으로 염이 가능한 형태는 가바염, 가바펜틴염, 프레가발린염, 니코틴산염, 아디페이트염, 헤미말론산염, 시스테인염, 아세틸시스테인염, 메티오닌염, 아르기닌염, 라이신염, 오르니틴염 및 아스파르트산염 등이 있다.
- [0031] 또한 본 출원에 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.
- [0032] 상기 조성물 내의 상기 발아 검은콩(black bean) 추출물의 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.
- [0033] 본 출원에 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 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 봉해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0034] 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 출원의 의약 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트(Calcium carbonate), 슈크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다.
- [0035] 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.
- [0036] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 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 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0037] 이하, 본 출원을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 출원을 예시하는 것일 뿐, 본 출원의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0038] 본 출원에 따른 발아 검은콩(black bean) 추출물은 우수한 ACE 저해 활성을 보이며, 고혈압의 개선, 예방 또는 치료에 효과적일 뿐만 아니라, 천연소재로서 인체 안전성 또한 매우 높아 활용가치가 매우 높다.

도면의 간단한 설명

- [0039] 도 1은 발아 서리태 추출물의 ACE 저해활성을 나타내는 도표이다.
 도 2는 발아 서목태 추출물의 ACE 저해활성을 나타내는 도표이다.
 도 3은 발아 흑태 추출물의 ACE 저해활성을 나타내는 도표이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] 본 출원의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 출원은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 출원의 개시가 완전하도록 하고, 본 출원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 출원의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 출원은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

- [0041] [제조예 1]
- [0042] 발아 검은콩 또는 미발아 검은콩 추출물의 제조 공정
- [0043] 검은콩으로는 서리태, 서목태, 흑태를 사용하였다.
- [0044] 발아 검은콩 추출물의 제조과정은 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 때까지의 발아와 5 cm 이상 자랄 때까지로 구분하였으며, 탈피하여 싹을 분리하였다.
- [0045] 상기 검은콩 추출물과 발아 검은콩 추출물의 제조는 하기와 같이 이루어진다. 검은콩과 발아 검은콩을 각각 물에 4시간 침지한 후 탈피하였다. 이후 탈피된 콩 중량의 10배 정도의 메탄올 100%, 메탄올 50%, 에탄올 100%, 메탄올 50%, 물을 사용하여 가열환류방법으로 추출하였다. 발아 검은콩 싹 추출물의 제조는 상기 제조방법과 동일하게 시행하였다.
- [0046] 이후, 상기 추출물을 감압농축하여 동결건조 후 파우더 형태로 제조하였다.
- [0047] [실시예 1]
- [0048] Cushman 등의 방법(참조: Cheung, H.S. and Cushman, D.W., Biochem. Pharmacol., 20:1637(1971))에 따라 발아 검은콩 추출물의 ACE 저해활성을 측정하였다.
- [0049] ACE 효소용액은 Lung acetone powder from rabbit(L-0756, Sigma-Aldrich Chemical Co., MO, USA) 1g을 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M 소듐 보레이트 완충액(sodium borate buffer, pH 8.3) 10 ml로 추출하였다. 12,000 rpm에서 30분간 원심분리 후 상등액을 취하여, 4℃에 보관하여 사용하였다.
- [0050] 상기의 0.1 M 소듐 보레이트 완충액(sodium borate buffer, pH 8.3) 50 ul 에 ACE를 60 mU 넣고, 미발아, 발아 검은콩 추출물을 각각 4 mg/ml 농도로 50 ul씩 넣는다. 대조군에는 증류수를 50 ul 넣고, 양성 대조군에는 50 nM 농도의 캅토프릴(captopril)을 50 ul 넣었다. 이후 37℃에서 5분간 전보온(pre-incubation)한 후 10 mM 농도의 히프릴-히스티딘-루이신 (huppuryl-His-Leu, HHL, H-1635, Sigma Chemical Co., MO, USA)을 100 ul 넣고 37℃에서 60분간 반응시켰다. 이후, 1 N HCl을 200 ul 넣어 반응을 정지시키고 에틸아세테이트 1.2 ml를 첨가한 후 30초간 충분히 섞어준 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 상기 상층액을 120℃ heating 에서 30분간 가열 건조시킨 다음 증류수를 1 ml 첨가하여, 용해시킨 후, 228 nm에서 흡광도를 측정하고 아래의 환산식 1 에 따라 저해능을 계산하였다.
- [0051] <환산식 1>
- [0052] 저해능 (Inhibitory effect, %) = $[(E_D - E_S) / (E_D - E_B)] \times 100$
- [0053] E_D : 시료대신 증류수를 처리한 실험구의 흡광도
- [0054] E_S : 시료를 처리한 실험구의 흡광도
- [0055] E_B : 반응 정지후 시료를 처리한 실험구의 흡광도
- [0056] 하기 서리태 추출물의 ACE 저해활성을 나타낸 도 1을 보면, 무처리 대조군(Control)의 ACE 저해활성을 100%으로 하여 비교하였을 때, 양성 대조군인 캅토프릴은 41%이며, 서리태 미발아, 1 cm 발아, 5 cm 발아, 1 cm 발아 싹, 5 cm 발아 싹의 메탄올 100% 추출물은 각각 3%, 2%, 6%, 2%, 9%이고, 메탄올 50% 추출물은 각각 13%, 16%, 22%, 8%, 8%이며, 에탄올 100% 추출물은 각각 6%, 0%, 0%, 3%, 16%이며, 에탄올 50% 추출물은 각각 14%, 16%, 21%, 15%, 14%이며, 열수 추출물은 각각 17%, 25%, 28%, 20%, 19%의 활성을 나타내었다.
- [0057] 상기의 결과로부터 발아군이 미발아군보다 ACE 저해능이 우수하고, 발아가 증가됨에 따라 ACE 저해능이 보다 더

좋아짐을 알 수 있다. 또한, 추출용매에 있어서 유기용매 추출물보다 열수 추출물에서 보다 우수한 ACE저해능을 나타내었고, 발아 싹에서도 ACE 저해능이 나타남을 확인할 수 있었다.

[0058] 하기 서목태 추출물의 ACE 저해활성을 나타낸 도 2를 보면, 무처리 대조군(Control)의 ACE 저해활성을 100%으로 하여 비교하였을 때, 양성 대조군인 캅토프릴은 41%이며, 서목태 미발아, 1 cm 발아, 5 cm 발아, 1 cm 발아 싹, 5 cm 발아 싹의 메탄올 100% 추출물은 각각 10%, 10%, 3%, 0%, 6%이고, 메탄올 50% 추출물은 각각 6%, 10%, 10%, 0%, 0%이며, 에탄올 100% 추출물은 각각 8%, 9%, 6%, 0%, 0%이며, 에탄올 50% 추출물은 각각 18%, 22%, 34%, 6%, 8%이며, 열수 추출물은 각각 19%, 21%, 29%, 2%, 7%의 활성을 나타내었다.

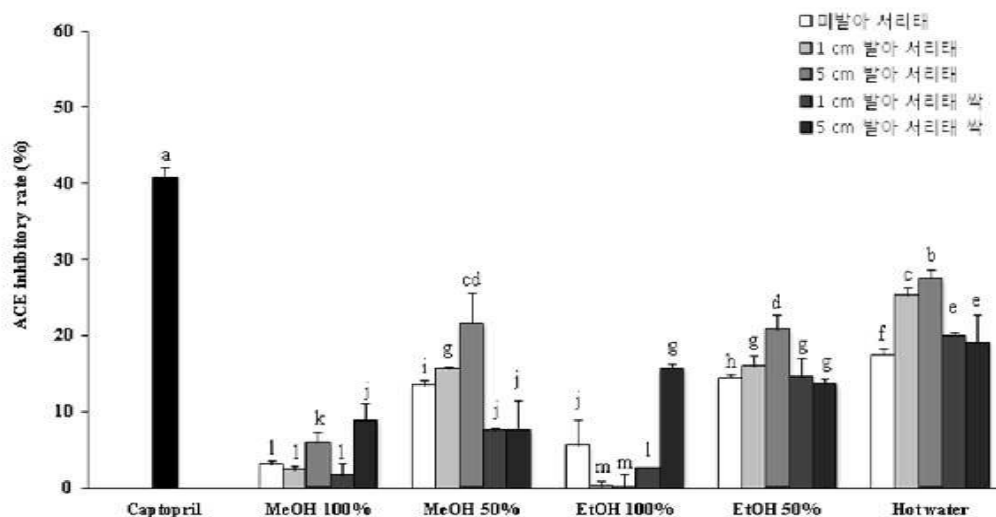
[0059] 상기의 결과로부터, 메탄올 100% 추출물을 제외하고 발아군이 미발아군보다 ACE 저해능이 우수하고, 발아가 증가됨에 따라 ACE 저해능이 보다 더 좋아짐을 알 수 있다. 또한 추출용매에 있어서, 유기용매 추출물보다 열수 추출물에서 보다 우수한 ACE 저해능을 나타냄을 확인할 수 있다.

[0060] 하기 흑태 추출물의 ACE 저해활성을 나타낸 도 3을 보면, 무처리 대조군(Control)의 ACE 저해활성을 100%으로 하여 비교하였을 때, 양성 대조군인 캅토프릴은 39%이며, 흑태 미발아, 1 cm 발아, 5 cm 발아, 1 cm 발아 싹, 5 cm 발아 싹의 메탄올 100% 추출물은 각각 5%, 2%, 14%, 0%, 1%이고, 메탄올 50% 추출물은 각각 5%, 7%, 6%, 0%, 5%이며, 에탄올 100% 추출물은 각각 25%, 29%, 29%, 2%, 1%이며, 에탄올 50% 추출물은 각각 33%, 33%, 33%, 0%, 3%이며, 열수 추출물은 각각 75%, 71%, 77%, 1%, 0%의 활성을 나타내었다.

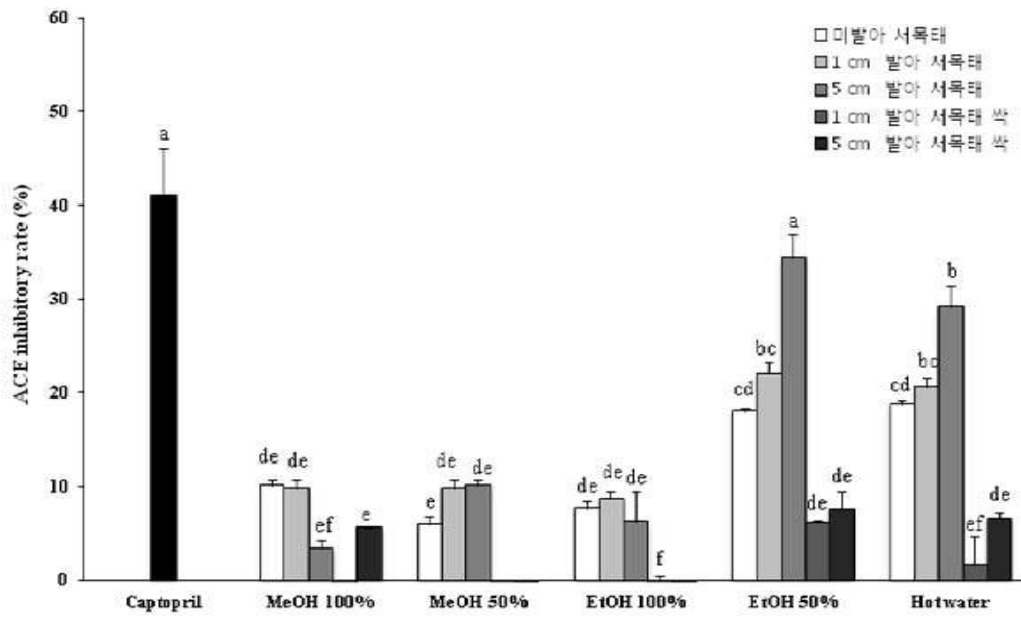
[0061] 상기의 결과로부터 발아군이 미발아군보다 ACE 저해능이 우수하고, 발아가 증가됨에 따라 ACE 저해능이 보다 더 좋아짐을 알 수 있다. 또한 추출용매에 있어서, 유기용매 추출물보다 열수 추출물에서 보다 우수한 ACE 저해능을 나타냄을 확인할 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

