



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0103613
(43) 공개일자 2023년07월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/01 (2006.01) A23K 20/147 (2016.01)

A23L 33/18 (2016.01) A61P 21/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/017 (2013.01)

A23K 20/147 (2016.05)

(21) 출원번호 10-2021-0194607

(22) 출원일자 2021년12월31일

심사청구일자 2021년12월31일

(71) 출원인

충남대학교산학협력단

대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)

주식회사 아미노랩

세종특별자치시 전의면 미래산단4로 106

(72) 발명자

정혜광

대전광역시 유성구 반석서로 98, 609동 1102호(반석동, 반석마을6단지아파트)

진순우

경상남도 진주시 가호로 26, 212동 1004호(가좌동, 진주가좌주공아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 공간

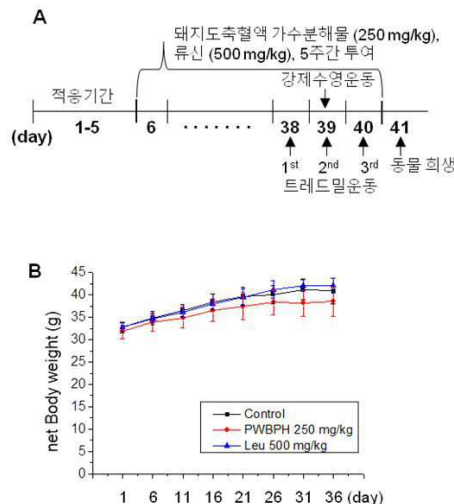
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 조성물

(57) 요약

본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 상기 가수분해물은 돼지 도축혈액에 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 운동수행능력 향상용 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 돼지 도축혈액의 가수분해 과정을 통해 분지쇄 아미노산을 강화한 조성물을 개발함으로써, 본 발명의 강화된 분지쇄 아미노산을 유효성분으로 이용하여 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 조성물을 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 33/18 (2016.08)

A61P 21/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/316 (2013.01)

(72) 발명자

이기호

경기도 부천시 소사로125번나길 33-1(소사본동)

조화정

서울특별시 서초구 매향로14길 28, 303호(양재동, 대상하우스)

한태현

경기도 광명시 안현로 15, 106동 1006호(하안동, 하안1단지고층주공아파트)

박해성

경기도 성남시 분당구 서판교로 29, 912동 204호(판교동, 판교원마을)

김기우

서울특별시 성동구 금호로 100, 206동 201호(금호동1가, 벽산아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1545024252

과제번호 120053022HD030

부처명 농림축산식품부

과제관리(전문)기관명 농림식품기술기획평가원

연구사업명 유용농생명자원산업화기술개발(R&D)

연구과제명 동물혈액 단백질 효소분해물로 제조된 최종 기능성 조성물(시제품)을 섭취한 동물의 운동수행능력 평가

기 여 율 50/100

과제수행기관명 충남대학교 산학협력단

연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1545023085

과제번호 120053022SB010

부처명 농림축산식품부

과제관리(전문)기관명 농림식품기술기획평가원

연구사업명 유용농생명자원산업화기술개발(R&D)

연구과제명 미생물배양이 적합하고, 운동수행능이 우수한 동물혈액의 단백질 효소분해 및 정제 기술 확립

기 여 율 25/100

과제수행기관명 (주)아미노랩

연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1415175806

과제번호 P0018265

부처명 산업통상자원부

과제관리(전문)기관명 한국산업기술진흥원

연구사업명 범부처연계형기술사업화이더달리기(R&D)

연구과제명 효소공정을 통한 축산혈액유래 아미노산 90% 혈장사료첨가제 개발 및 2차 폐기물 저감 청정생산기술개발

기 여 율 25/100

과제수행기관명 (주)아미노랩

연구기간 2021.04.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택된 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 것을 특징으로 하는 근육 질환 치료 또는 운동 수행능력 향상용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 가수분해물은 돼지 도축혈액에 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 가수분해효소를 선택하여 50~60℃에서 12~18시간 동안 가수분해한 것을 특징으로 하는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 근육 질환은 근육감소증(sarcopenia), 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근질환(myopathy), 근육손상(muscular injury), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증(myasthenia), 당뇨병성 근위축증(diabetic amyotrophy), 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)로 이루어지는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물.

청구항 4

세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택된 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 것을 특징으로 하는 근육 질환 개선 또는 운동 수행능력 향상용 건강기능식품 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 가수분해물은 돼지 도축혈액에 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 가수분해효소를 선택하여 50~60℃에서 12~18시간 동안 가수분해한 것을 특징으로 하는 근육 질환 개선 또는 운동수행능력 향상용 건강기능식품 조성물.

청구항 6

제4항 또는 제5항에 있어서,

상기 근육 질환은 근육감소증(sarcopenia), 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근질환(myopathy), 근육손상(muscular injury), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증(myasthenia), 당뇨병성 근위축증(diabetic amyotrophy), 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)로 이루어지는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 근육 질환 개선 또는 운동수행능력 향상용 건강기능식품 조성물.

청구항 7

세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택된 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 것을 특징으로 하는 근육 질환 개선 또는 운동 수행능력 향상용 동물사료 첨가제 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 가수분해물은 돼지 도축혈액에 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 가수분해효소를 선택하여 50~60℃에서 12~18시간 동안 가수분해한 것을 특징으로 하는 근육 질환 개선 또는 운동수행능력 향상용 동물사료 첨가제 조성물.

청구항 9

제7항 또는 제8항에 있어서,

상기 근육 질환은 근육감소증(sarcopenia), 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근질환(myopathy), 근육손상(muscular injury), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증(myasthenia), 당뇨병성 근위축증(diabetic amyotrophy), 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)로 이루어지는 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 근육 질환 개선 또는 운동수행능력 향상용 동물사료 첨가제 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 돼지 도축 시 혈액은 돼지 1마리당 약 2.5~3.0L의 혈액으로 폐수로 처리되며, 이는 연간 약 39,216톤에 해당하며 수질오염에 큰 영향을 미친다. 일반적으로 돼지 전체 체중의 약 7%를 차지하는 혈액은 수분 75~80%, 양질의 단백질 15~17%를 함유하고 있으며 단백질은 알부민, 글로불린, 헤모글로빈으로 구성되어 있다. 그러한 혈액은 사용 가치가 매우 높아 보이지만 폐기의 원인은 혈액의 산업적 이용에 대한 연구가 부족하고 혈액에 대한 혐오감, 색깔, 특유의 냄새 때문이다.

[0003] 최근 연구에 따르면 분지쇄 아미노산(BCAA: 류신, 이소류신, 발린)을 포함한 풍부한 유리 아미노산 함량은 돼지의 혈액을 효소 소화 조건에 따라 가수분해할 때 강화되는 것으로 나타났다. BCAA는 인체의 총 단백질 함량의 약 21%를 차지하는 3가지 단백질 생성 필수 아미노산이다. 골격근 조직은 식단을 통해 공급되는 BCAA의 주요 저장소이며, 특히 류신과 그 대사 산물은 펩타이드 합성 조절 및 단백질 분해 억제하는 것으로 알려져 있다.

[0004] 근력과 근지구력은 신체 활동을 향상시킬 수 있다. 근육의 기능은 근육량 및 근육 대사와 관련이 있다. 근육은 패혈증, 악액질, 외상, 화상, 근감소증과 같은 병적 상태에 노출되면 약해지고 근육 손상 후 회복이 더 어려워진다. 근육 손상 복구 및 근육 유지 시스템에는 후속 근육 단백질 합성을 포함하는 근육 재생 과정이 필요하다. 근육 재생은 myogenic factor 5 (Myf5), myogenic determination protein (MyoD) 및 myogenin을 포함하는 myogenic 조절 인자(MRF)의 발현에 의해 조절된다.

[0005] 국내 등록특허공보 등록번호 제10-1390516호에서는 돼지의 폐혈액을 이용하여 수득한 고농도 아미노산 조성물 및 그 제조방법에 대해 기재하고 있으나, 분지쇄 아미노산을 강화함으로 인해 기대할 수 있는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상효과에 대해서는 언급되고 있지 않아 본 발명과 차이가 있다.

[0006] 또한, 국내 등록특허공보 등록번호 제10-0935020호에서는 도축 동물의 폐혈액 처리 시스템 및 도축 동물의 폐혈액을 이용하여 고품질의 아미노산 용액을 생산하는 방법에 대해 기재하고 있으나, 폐혈액을 처리하는 시스템에 대한 부분만을 언급하고 있다는 점에서 본 발명과 차이가 있다.

[0007] 또한, 국내 등록특허공보 등록번호 제10-1751110호에서는 고농도 아미노산 분말 제조를 위한 동물의 전혈 활용 방법 및 그 제조방법에 대해 기재하고 있으나, 제조과정에서 사용되는 효소가 다르며, 분지쇄 아미노산을 강화함으로 인해 기대할 수 있는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상효과에 대해서는 언급되고 있지 않는 점에서 본 발명과 차이가 있다.

[0008] 이에 본 발명자들은, 돼지 도축 혈액의 가수분해를 통해 분지쇄 아미노산을 강화한 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 조성물을 개발함으로써 본 발명을 완성할 수 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0009] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제1390516호, 동물 폐혈액을 이용한 고농도 아미노산 조성물 및 그 제조방법, 2014년 4월 23일, 등록.
- (특허문헌 0002) 한국등록특허 제0935020호, 도축 동물의 폐혈액 처리 시스템 및 도축 동물의 폐혈액을 이용하여 고품질의 아미노산 용액을 생산하는 방법, 2009년 12월 23일, 등록.
- (특허문헌 0003) 한국등록특허 제1751110호, 고농도 아미노산 분말제조를 위한 동물의 전혈 활용법 및 그 제조방법, 2017년 6월 20일, 등록

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 목적은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택된 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 이용한 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택된 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 이용한 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 조성물에 관한 것이다.
- [0012] 또한, 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택된 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액의 가수분해 과정을 통해 강화된 분지쇄 아미노산을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0013] 또한, 본 발명은 돼지 도축혈액 유래 류신, 이소류신 또는 발린을 포함하는 분지쇄 아미노산을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0014] 또한, 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 근육 질환 개선, 또는 운동수행능력 향상용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.
- [0015] 또한, 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 근육 질환 개선, 또는 운동수행능력 향상용 동물사료 첨가제 조성물에 관한 것이다.
- [0016] 이하 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0017] 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0018] 상기 가수분해물은 돼지 도축혈액에 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리하여 50~60℃에서 12~18시간 동안 가수분해한 것을 특징으로 하는 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0019] 상기 근육 질환은 근육감소증(sarcopenia), 긴장감퇴증(atony), 근위축증(muscular atrophy), 근질환(myopathy), 근육손상(muscular injury), 근이영양증(muscular dystrophy), 근무력증(myasthenia), 당뇨병성 근위축증(diabetic amyotrophy), 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)로 이루어지는 군

에서 선택될 수 있다.

- [0020] 또한 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), 알칼라아제(alcalase) 및 플라보자임(flovourzyme) 중에서 1종 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액의 가수분해 과정을 통해 강화된 분지쇄 아미노산을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0021] 또한 본 발명은 돼지 도축혈액 유래 류신, 이소류신 또는 발린을 포함하는 분지쇄 아미노산을 유효성분으로 포함하는 근육 질환 예방 또는 치료, 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0022] 상기 조성물은 상기 돼지 도축혈액 가수분해물 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0023] 상기 돼지 도축혈액 가수분해물은 전체 약학 조성물 총 중량에 대하여 바람직하게는 0.001~50중량%, 더 바람직하게는 0.001~40중량%, 가장 바람직하게는 0.001~30중량%로 하여 첨가될 수 있다.
- [0024] 상기 약학적 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 액제, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 상기 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제, 감미제, 산미제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 본 발명의 가용화된 데커시놀에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스 또는 락토즈, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 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, 산미제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween)-61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0025] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 치료받을 대상의 연령, 성별, 체중과, 치료할 특정 질환 또는 병리 상태, 질환 또는 병리 상태의 심각도, 투여 경로 및 처방자의 판단에 따라 달라질 것이다. 이러한 인자에 기초한 투여량 결정은 당업자의 수준 내에 있으며, 일반적으로 투여량은 1mg/kg/일 내지 대략 5,000mg/kg/일의 범위이다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0026] 본 발명의 약학적 조성물은 쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁 내 경막 또는 뇌혈관 내 주사 및 피부 도포에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 돼지 도축혈액 가수분해물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.
- [0027] 또한 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), alcalase 및 flavourzyme 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 근육 질환 개선, 또는 운동수행능력 향상용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0028] 본 발명에 따른 건강기능식품 조성물은 상기 약학 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 상기 건강기능식품 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.
- [0029] 본 발명의 건강기능식품 조성물은 유효성분으로서 돼지 도축혈액 가수분해물뿐만 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 텍스트린, 사이클로텍스트린 등과 같은 통상적인

당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리진 등)] 및 합성 향미제(사카린, 아스파탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0030] 상기 건강기능식품 조성물은 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제 등의 형태를 포함하며, 본 발명의 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능성식품류 등이 있다. 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 돼지 도축 혈액 가수분해물의 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. 상기 첨가량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0031] 또한 본 발명은 세린 프로테아제(serine protease), alcalase 및 flouvorzyme 중에서 선택되는 것을 특징으로 하는 가수분해효소를 처리한 돼지 도축혈액 가수분해물을 포함하는 근육 질환 개선, 또는 운동수행능력 향상용 동물사료 첨가제 조성물을 제공한다.

[0032] 본 발명에 따른 동물사료 첨가제 조성물은 첨가량을 일률적으로 규정할 수 없지만, 돼지, 닭, 오리, 소, 양, 염소, 개 등의 가축의 사료 조성물의 고형분을 기준으로 0.01-10 중량%로 첨가 및 혼합하여 각종 동물에 투여하여 적용할 수 있으며, 더욱 바람직하게는 돼지 사료의 첨가제로 사용되는 것이다. 상기 첨가량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0033] 본 발명의 상기 동물사료 첨가제 조성물은 동물사료와 혼합되어 발효 사료, 배합 사료, 펠렛 형태 및 사일리지(silage) 등의 형태로 제조될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니고, 필요에 따라 변형하여 제조할 수 있다.

발명의 효과

[0034] 본 발명은 돼지 도축혈액 가수분해물을 이용한 운동수행능력 향상용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로는 돼지 도축혈액의 가수분해 과정을 통해 분지쇄 아미노산을 강화한 조성물을 개발하였다.

[0035] 이를 통해, 본 발명의 강화된 분지쇄 아미노산을 유효성분으로 이용하여 근육 질환 치료 또는 운동수행능력 향상용 조성물을 개발 할 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물을 이용한 운동수행능력 평가 동물실험 디자인 및 동물 체중변화를 보여주고 있다.

도 2는 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 비복근 및 전경골근의 무게 변화를 보여주고 있다.

도 3은 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 비복근의 부피 변화를 보여주고 있다.

도 4는 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 운동수행능력(지구력) 변화를 보여주고 있다.

도 5는 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 비복근의 근육분화 및 재생관련 단백질 변화를 보여주고 있다.

도 6은 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 마우스 근아세포 C2C12의 근육분화 및 재생관련 단백질 변화를 보여주고 있다.

도 7은 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 mTOR 기전 관련 지표 단백질의 변화를 보여주고 있다.

도 8은 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 마우스 근아세포 C2C12의 mTOR 기전 관련 지표 단백질의 변화를 보여주고 있다.

도 9는 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 비복근의 미토콘드리아 생합성 기전 관련 지표 단백질

질의 변화를 보여주고 있다.

도 10은 본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 투여에 따른 마우스 근아세포 C2C12의 미토콘드리아 생합성 기준 관련 지표 단백질의 변화를 보여주고 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

이하 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 내용이 철저하고 완전해지고, 당업자에게 본 발명의 사상을 충분히 전달하기 위해 제공하는 것이다.

<실시예 1. 돼지도축혈액 가수분해물 (Procrine whole blood protein hydrolysates, PWBPH) 제조>

도축장에서 응고 혈액(전혈)을 수거하여 아미노랩에서 개발한 응고혈 액화기를 이용하여 응고혈을 분쇄한다. food grade의 세린 프로테아제(serine protease)를 1.2% 처리하여 55℃에서 16시간 동안 가수분해한다. 가수분해 후 food grade의 활성탄 분말 5%를 처리하고 3 시간 동안 교반한다. 규조토 분말을 이용하여 필터를 제작하고 투명한 노란색 액상을 얻을 때까지 정제한다. 정제된 액상을 85℃에서 30 분 동안 살균 후, 분무건조기를 이용하여 분말화한다.

하기 표 1에 PWBPH의 생리학적 아미노산 조성을 정리하여 나타내었다. 상기 PWBPH를 구성하고 있는 아미노산 중에서도 특히 Leucine의 성분 비율이 월등히 높음을 알 수 있다.

표 1

List of amino acid	Contents (mg/100g)
Threonine	1197.01
Cysteine	70.79
Tyrosine	1111.59
Arginine	-
Alanine	2056.28
Proline	165.18
Lysine	1464.38
Histidine	984.23
Isoleucine	611.30
Leucine	6016.50
Methionine	401.51
Phenylalanine	2147.77
Tryptophan	76.33
Valine	1738.06
Glutamic Acid	1850.13
Aspartic Acid	1520.94
Serine	1226.45
Glycine	340.33

<실시예 2. 돼지도축혈액 가수분해물(PWBPH)을 섭취한 동물의 운동수행능력 평가 동물실험 디자인 및 동물 체중 변화>

2-1. 실험동물

8주령의 ICR 마우스 수컷을 일주일간 순화를 하였고 실내 온도 23℃±2℃, 습도 50%±10%를 유지하였다. 순화된 마우스는 군별로 정상군, PWBPH 250 mg/kg 투여군, 양성대조군으로서 Leu 500mg/kg 투여군으로 분류하였으며, 군당 마릿수는 7마리로 설정하였다. 시료는 액체 식이에 혼합하여(표 2) 5주 간 자유 식이를 실시하였으며, 5주 후 탈진 수영 운동과 탈진 트레드밀 운동 테스트를 수행하였다 (도 1A).

표 2

Ingredient	Group		
	Control	PWBPH 250 mg/kg	Leu 500 mg/kg
	g/mouse (30g)		
Casein	2.07	2.07	2.07
L-Cystine	0.025	0.025	0.025
DL-Methionine	0.015	0.015	0.015
Corn Oil	0.425	0.425	0.425
Olive Oil	1.42	1.42	1.42
Safflower Oil	0.135	0.135	0.135
Maltose Dextrin	5.775	5.7675	5.76
Cellulose	0.5	0.5	0.5
Mineral Mix	0.4375	0.4375	0.4375
Vitamin Mix	0.125	0.125	0.125
Choline Bitartrate	0.0265	0.0265	0.0265
Xanthan Gum	0.15	0.15	0.15
PWBPH	0	0.0075	0
L-leucine	0	0	0.015

[0045]

[0046]

2-2. 운동 수행 능력 평가

[0047]

운동 수행 능력 평가를 위한 트레드밀운동 (Treadmil test)에서는 마우스를 treadmill을 이용하여 매 3분마다 트레드밀의 속도를 5cm/sec씩 55cm/sec까지 증가시켜서 실험동물의 탈진을 유도하였다. 실험동물이 더이상 트레드밀 속도를 따라가지 못하는 것이 10초 이상 될 때, 실험동물을 트레드밀에서 분리시켜 등을 바닥에 대고 반드시 눕혀 바로 일어나지 못하면 탈진상태로 간주하였다.

[0048]

또한 운동 수행 능력 평가를 위한 강제수영운동 테스트 (Forced swimming test)에서는 강제수영운동을 위한 장치로서 지름 17cm 높이 27cm 규격의 물통을 사용하고, 물의 온도는 27℃로 유지하며, 수면의 높이는 20cm로 마우스의 꼬리가 물통 바닥에 닿지 않도록 하였다. 강제 수영의 운동 강도를 높이기 위하여 7% 무게의 추를 꼬리에 매달아 테스트를 실시하였으며, 탈진의 기준은 마우스가 수면 아래 5초 간 머무르는 시점으로 설정하였다.

[0049]

2-3. 통계학적 유의성

[0050]

실험결과를 정상군과 시료 투여군 (PWBPH 투여군, Leu 투여군)의 Dunnett Multiple Comparisons Test를 실시하여 그 유의성을 검증하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다.

[0051]

2-4. 실험결과

[0052]

5주간 생리식염수 및 시료 투여후, 집단 간의 체중 변화율을 비교해 보면 정상군은 24.9%, PWBPH 투여군은 20.6%, Leu 투여군은 28.2%로 각각 증가한 것으로 나타났으나, 집단간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (도 1B).

[0053]

<실시에 3. 폐지도축혈액 가수분해물(PWBPH)의 투여에 따른 근육의 무게 및 부피에 대한 영향 조사>

[0054]

3-1. 상대 근무게 측정

[0055]

운동 수행 능력 평가 실험 종료 후 경추 탈구법으로 희생시킨 다음 비복근(Gastrocnemius, Gas)과 전경골근(Tibialis Anterior, TA)을 절제한 후 생리식염수로 세척하고 지방조직과 결합조직을 잘라내어 전자저울을 이용하여 무게를 측정하였다. 상대 근무게는 식이섭취량이 근육의 무게에 미치는 영향을 배제하기 위해 근육 절제 전 체중에 대한 비복근 및 전경골근의 절대무게 비율(mg/g)로 산출하였다

[0056]

3-2. 근섬유의 횡단면적(cross sectional area, CSA) 측정

[0057]

동결 보관 근육조직에서 비복근의 중앙부분을 H&E 염색법을 시행하였다. 현미경 관찰 형태학적 관찰은 광학현미경을 이용하여 현미경에 장착된 CCD 카메라로 촬영한 후 근섬유의 크기변화를 관찰하였다. Image J 프로그램을 이용하여 측정하였으며 근육조직의 근섬유를 최소 10개 이상 관찰, 측정된 것을 기준으로 각 실험군의 근섬유의

평균 단면적을 평가하였다.

3-3. 근육 피로 관련 혈액학적 지표 측정

장기간 운동에 의한 근육 피로 관련 혈액학적 지표를 조사하기 위하여 실험동물을 90분 간 수영 운동을 시킨 다음 30분 휴식 후, 혈액을 채취하여 대표적인 근육 피로 관련 혈액학적 지표인 젖산(Lactic acid), 요소질소(Blood urea nitrogen, BUN), 크레아틴인산화효소 (Creatine kinase, CK)의 농도를 측정하였다.

3-4. 실험결과

마우스 하지의 근육 중 비복근과 전경골근의 무게를 채중과 비교하여, 시료의 투여에 따른 근육무게의 변화를 측정하였다. 비복근의 경우, 정상군과 비교하여 PWBPH 투여군에서 유의적인 무게 증가가 관찰되었다 (도 2A). 전경골근의 경우, 정상군과 비교하여 PWBPH 및 Leu 투여군에서 유의적인 무게가 증가가 관찰되었다 (도 2B).

마우스 근육 조직의 근섬유의 부피의 변화를 조사하기 위하여 비복근 근섬유의 횡단면적(cross sectional area, CSA)의 변화를 측정하였다. 실험 결과, 정상군과 비교하여 PWBPH 및 Leu 투여군에서 근섬유의 부피의 증가가 유의적으로 관찰되었다 (도 3).

<실시예 4. 돼지도축혈액 가수분해물(PWBPH)의 투여에 따른 운동수행능력(지구력)에 대한 영향 조사>

운동수행능력 중 지구력에 대한 영향을 평가하기 위하여 실시예 2-2의 방법의 트레드밀운동 및 강제수영운동을 통하여 탈진시까지 걸리는 시간을 측정하였다. 실험 결과, 트레드밀 운동 및 강제수영운동을 통해 탈진시까지 걸리는 시간이 정상군과 비교하여 PWBPH 및 Leu 투여군에서 유의적으로 증가하였다 (도 4).

본 발명의 돼지도축혈액 가수분해물의 우수한 운동수행향상 효과를 확인하였으나, 가수분해 하지 않은 돼지도축혈액을 시료로 사용한 경우에는 트레드밀 및 강제수영 운동시간에 변화가 없으므로 운동수행향상에는 효과가 없음을 확인하였다.

또한, 운동으로 인한 근육의 피로와 연관된 생화학적 지표로서 lactate, BUN, CK를 측정하였다. 실험결과, 운동을 통해 증가한 정상군의 lactate, BUN, CK 수치와 비교하여 PWBPH 및 Leu 투여군에서 유의적으로 감소하였다 (표 3).

표 3

Group	Lactate (mg/dL)	BUN (mg/dL)	CK (U/L)
Control	1.30 ± 0.12	22.5 ± 2.4	1186 ± 299
PWBPH 250 mg/kg	1.07 ± 0.13**	19.4 ± 1.1**	802 ± 129**
Leu 500 mg/kg	1.14 ± 0.07*	20.3 ± 0.6*	945 ± 83

<실시예 5. 돼지도축혈액 가수분해물(PWBPH)의 투여에 따른 근육분화 및 재생관련 단백질에 대한 영향 조사>

5-1. 마우스 근아세포주 C2C12 배양

마우스 유래 C2C12 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, CRL-1772; Manassas, VA, USA)으로부터 분양받아 사용하였으며, 37℃ 5% CO₂ 상태에서 배양하였다. 분화 전 세포의 증식기에는 penicillin/streptomycin 1%를 함유한 고농도 포도당 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)과 10% fetal bovine serum (FBS) 배지를 사용하였다.

5-2. 웨스턴 블롯팅 (Western blotting)

비복근 조직 파쇄액을 12,000rpm으로 15분 간 원심분리하여 획득한 단백질을 Bradford assay (Bio-rad)를 이용하여 단백질을 정량하고 10% acrylamide가 포함된 gel을 이용해 SDS-PAGE를 수행하였다. PVDF transfer membrane으로 단백질을 흡착시키고 5% skim milk가 포함된 TBS-T buffer로 2시간 동안 blocking하였다. 1차 항체와 2차 항체를 반응시킨 후 Western ECL solution (Biofact)을 사용하여 단백질의 발현 정도를 측정하였다.

5-3. 실험결과

- [0074] 근육분화는 MyoD 및 Myogenin이 속하는 근분화유도인자 (myogenic regulatory factors, MRFs)의해 조절되며, 또한 분화후기에는 myotube의 주요 구조 단백질인 myosin heavy chain (MHC)의 발현량이 증가하는 것으로 알려져 있다. Pax7는 손상된 근육의 재생을 유도하는 것으로 알려져 있다.
- [0075] 마우스 비복근에서 근육분화 및 재생관련 단백질 발현에 대한 영향을 조사한 결과, 정상군과 비교하여 PWBPH 투여군에서 MyoD, Myogenin, MHC3, Pax7의 발현이 유의적으로 증가하였으며, Leu 투여군에서는 MyoD, Myogenin에서 유의적으로 증가하였다 (도 5).
- [0076] 마우스 근아세포주인 C2C12에서 근육분화 및 재생관련 단백질 발현에 대한 영향을 조사한 결과, 정상군과 비교하여 PWBPH 및 Leu 투여군에서 MyoD, Myogenin, MHC3, Pax7의 발현이 유의적으로 증가하였다 (도 6).
- [0077] <실시예 6. 돼지도축혈액 가수분해물(PWBPH)의 투여에 따른 근육분화 관련 mTOR 신호기전에 대한 영향 조사>
- [0078] mammalian target of rapamycin (mTOR)의 활성화는 세포 내에서 다양한 성장 신호를 통합하는 중심 성장 신호전달 인자로 인정되고 있다. mTOR는 mRNA translation을 개시하는 두 인자, 4E-binding protein (4EBP1)과 phosphorylated 70-kDa ribosomal S6 kinase (p70S6K)를 활성화시킴으로써 근 단백질 합성을 유도한다.
- [0079] 마우스 비복근에서 mTOR 신호기전과 관련하여 mTOR 및 70S6K의 인산화 단백질의 발현을 조사한 결과, 정상군과 비교하여 PWBPH 및 Leu 투여군에서 mTOR 및 70S6K의 인산화 단백질의 발현이 유의적으로 증가하였다 (도 7).
- [0080] 마우스 근아세포주인 C2C12에서 mTOR 신호기전과 관련하여 mTOR 및 70S6K의 인산화 단백질의 발현을 조사한 결과, 정상군과 비교하여 PWBPH 및 Leu 투여군에서 mTOR 및 70S6K의 인산화 단백질의 발현이 유의적으로 증가하였다 (도 8).
- [0081] <실시예 7. 돼지도축혈액 가수분해물(PWBPH)의 투여에 따른 미토콘드리아 생합성 조절인자에 대한 영향 조사>
- [0082] PGC1 α 는 미토콘드리아의 생합성과 호흡에 관여하는 전사조절인자들의 활동을 촉진시키는 전사보조활성인자이며, PGC1 α 가 NRF와 Tfam 등을 활성화시키고, 미토콘드리아 생합성이 증가된다. PGC1 α 의 활성화는 AMPK와 SIRT1의 인산화 또는 탈아세틸화 작용을 받아 증가된다. 미토콘드리아는 골격근 세포의 분화에도 중요하게 작용하는데, 미토콘드리아 기능이 저하될수록 세포 분화 및 재생산이 감소되는 것으로 알려져 있으며, 근육분화가 증가할수록 PGC1 α 의 발현량이 증가하게 된다. 또한 AMPK와 SIRT1 역시 근육 분화를 증가시키는 것으로 알려져 있다.
- [0083] 마우스 비복근에서 미토콘드리아 생합성 조절인자를 조사한 결과, 정상군과 비교하여 PWBPH 투여군에서 PGC1 α , SIRT1, 인산화된 AMPK의 발현이 유의적으로 증가하였으며, Leu 투여군에서는 PGC1 α , 인산화된 AMPK의 발현이 유의적으로 증가하였다 (도 9).
- [0084] 마우스 근아세포주인 C2C12에서 미토콘드리아 생합성 조절인자를 조사한 결과, 정상군과 비교하여 PWBPH 투여군에서 PGC1 α , SIRT1, 인산화된 AMPK의 발현이 유의적으로 증가하였으며, Leu 투여군에서는 SIRT1, 인산화된 AMPK의 발현이 유의적으로 증가하였다 (도 10).
- [0085] <제제예 1. 약학적 제제>
- [0086] 제제예 1-1. 정제의 제조
- [0087] 본 발명의 돼지 도축혈액 가수분해물 200mg을 락토즈 175.9g, 감자전분 180g 및 콜로이드성 규산 32g과 혼합하였다. 이 혼합물에 10% 젤라틴 용액을 첨가시킨 후, 분쇄하여 14 메쉬체를 통과시켰다. 이것을 건조시키고 여기에 감자전분 160g, 활성 50g 및 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가해서 얻은 혼합물을 정제로 만들었다.
- [0088] 제제예 1-2. 주사액제의 제조
- [0089] 본 발명의 돼지 도축혈액 가수분해물 100mg, 염화나트륨 0.6g 및 아스코르브산 0.1g을 증류수에 용해시켜서 100 mL를 만들었다. 이 용액을 병에 넣고 20℃에서 30분간 가열하여 멸균시켰다.
- [0090] <제제예 2. 건강기능식품의 제제>
- [0091] 제제예 2-1. 건강기능식품의 제조
- [0092] 본 발명의 돼지 도축혈액 가수분해물 2g, 비타민 혼합물 적량, 비타민 A 아세테이트 70 μ g, 비타민 E 1.0mg, 비타민 B1 0.13mg, 비타민 B2 0.15mg, 비타민 B6 0.5mg, 비타민 B12 0.2 μ g, 비타민 C 10mg, 비오틴 10 μ g, 니코틴산아미드 1.7mg, 엽산 50 μ g, 판토텐산 칼슘 0.5mg, 무기질 혼합물 적량, 황산제1철 1.75mg, 산화아연 0.82mg,

탄산 마그네슘 25.3mg, 제1인산칼륨 15mg, 제2인산칼슘 55mg, 구연산칼륨 90mg, 탄산칼슘 100mg, 염화마그네슘 24.8mg을 섞어 과립으로 제조하였으나, 용도에 따라 다양한 제형으로 변형시켜 제조할 수 있다. 또한, 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하여 제조할 수 있다.

[0093] **제제예 2-2. 건강기능성 음료의 제조**

[0094] 본 발명의 돼지 도축혈액 가수분해물 1g, 구연산 0.1g, 프락토올리고당 100g, 정제수 900g을 섞어 통상의 음료 제조방법에 따라 교반, 가열, 여과, 살균, 냉장하여 음료를 제조하였다.

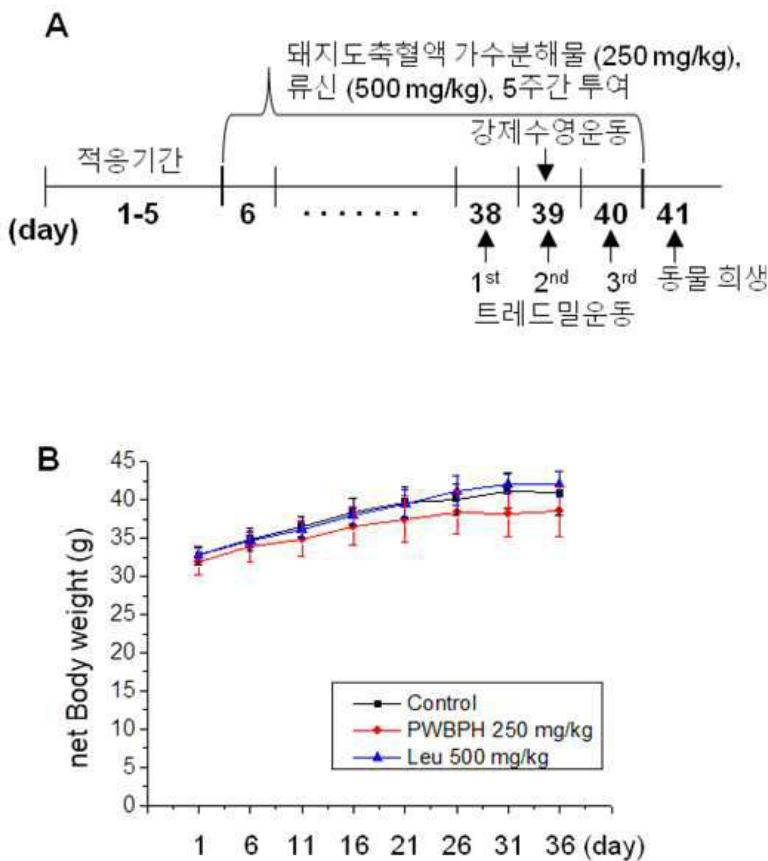
[0095] **<제제예 3. 동물사료의 제조>**

[0096] **제제예 3-1. 동물사료의 제조**

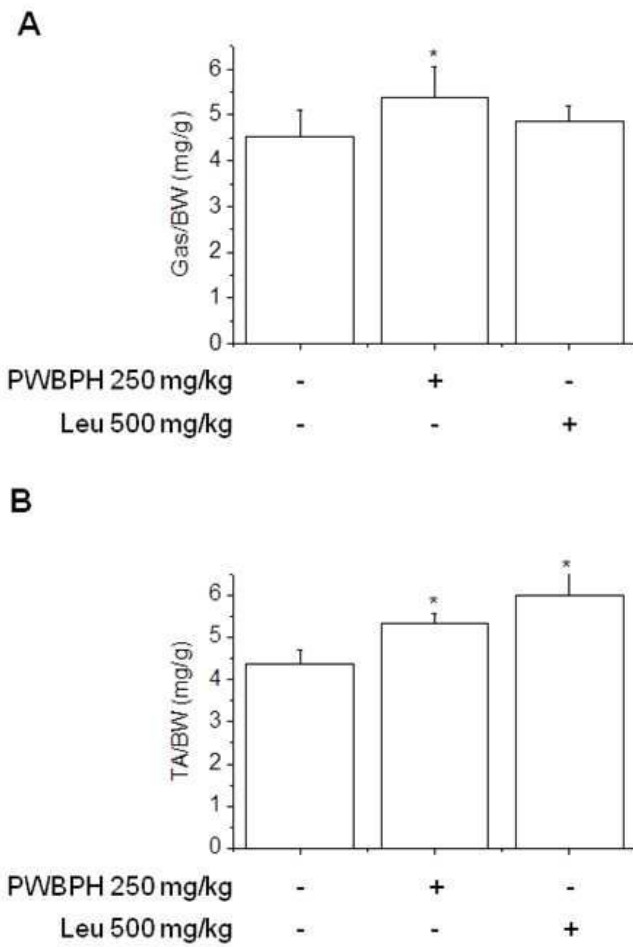
[0097] 본 발명의 돼지 도축혈액 가수분해물 5kg를 돼지사료 100kg와 혼합하고 통상의 사료 제조방법에 따라 살균, 성형 및 건조하여 동물사료를 제조하였다.

도면

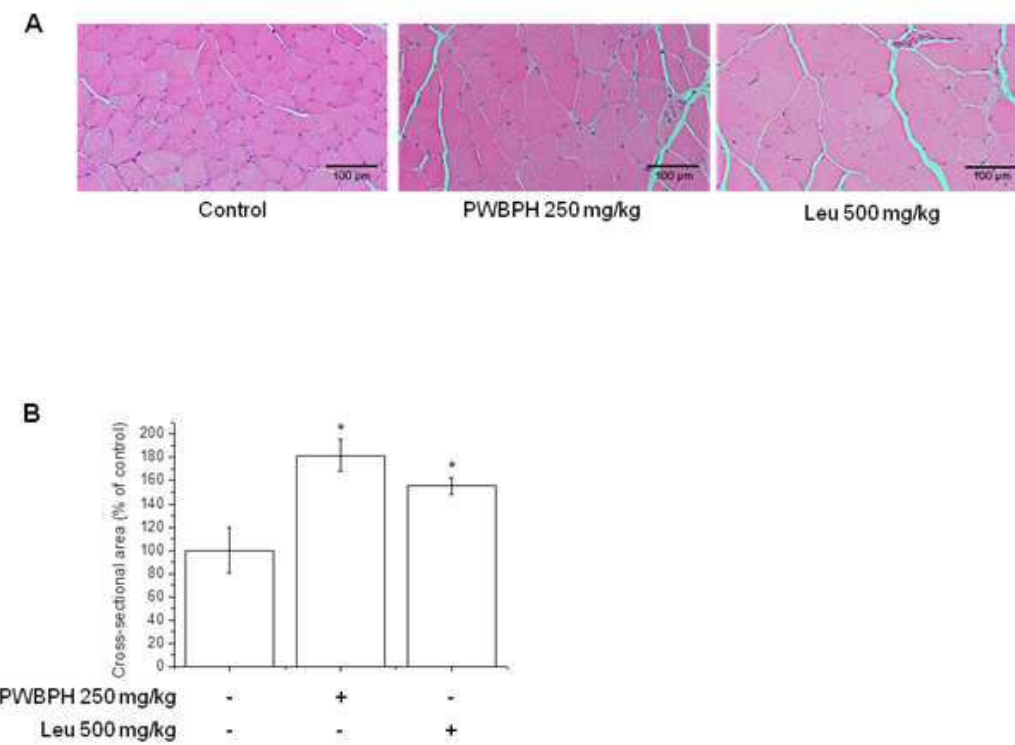
도면1



도면2

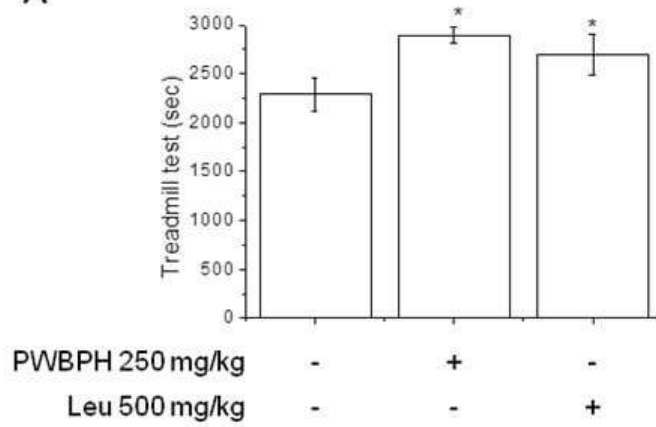


도면3

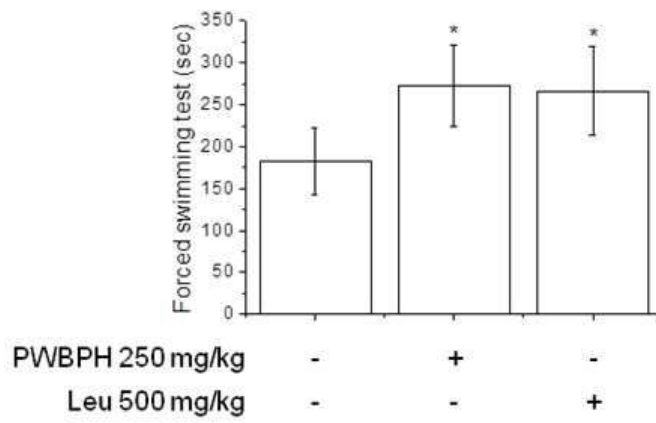


도면4

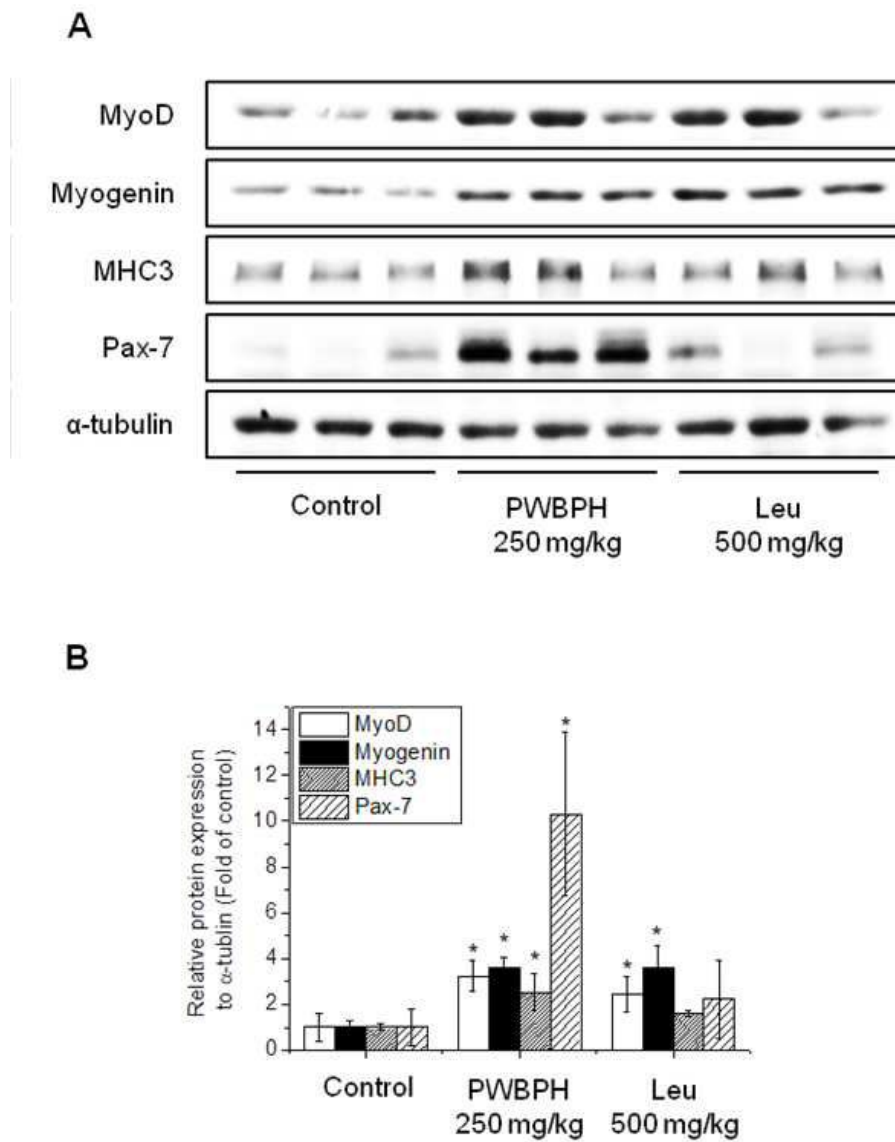
A



B

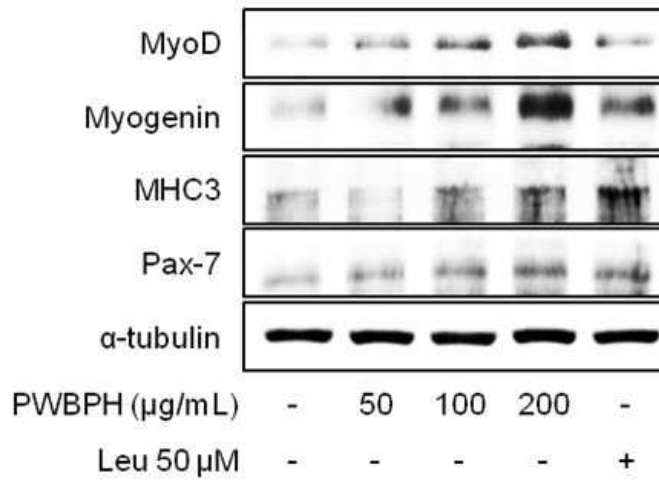


도면5

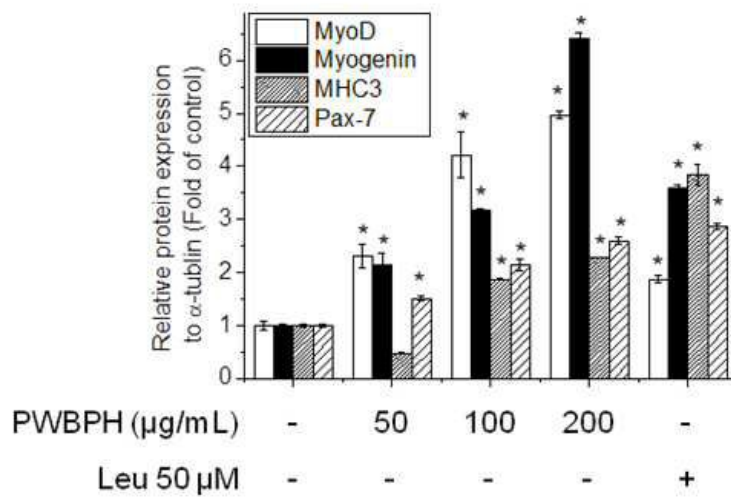


도면6

A

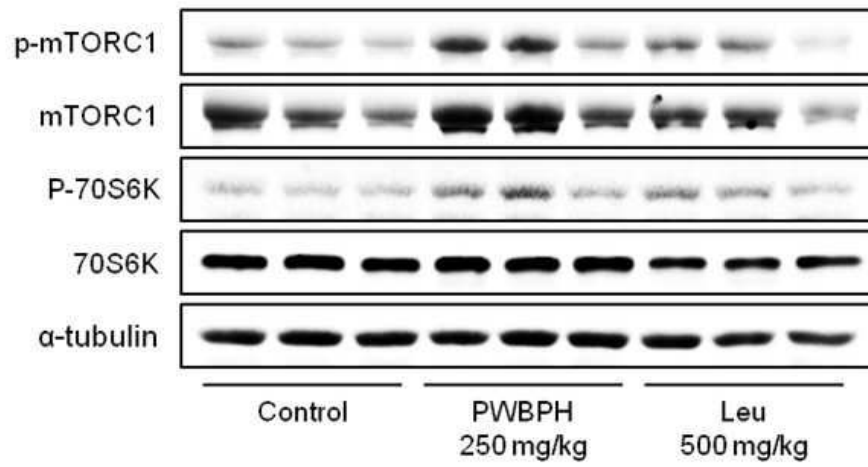


B

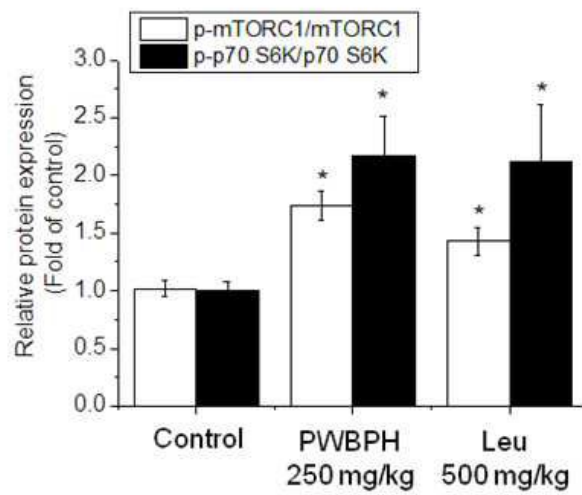


도면7

A

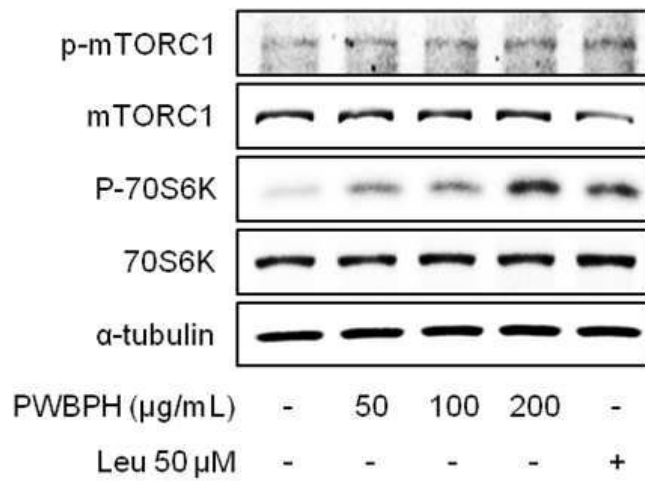


B

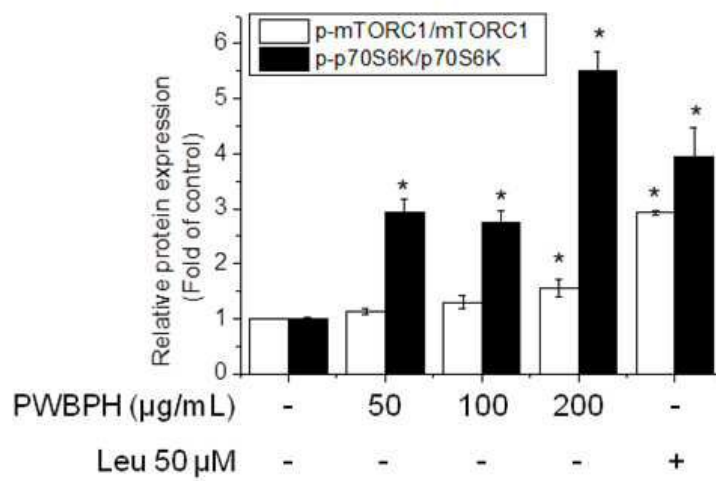


도면8

A

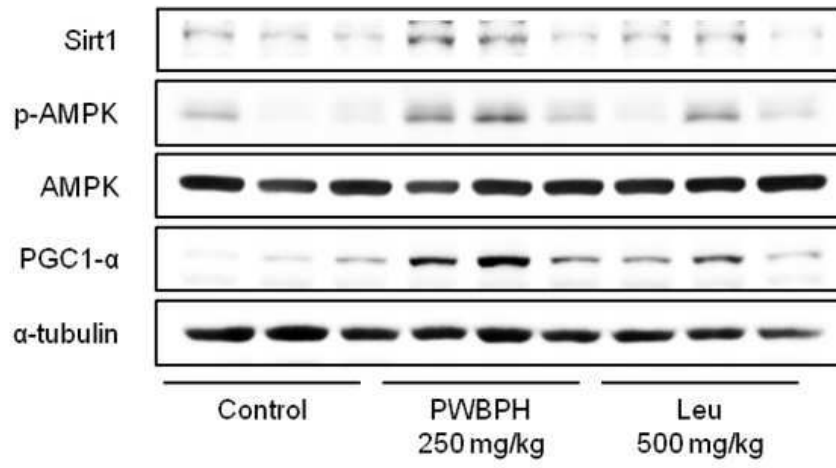


B

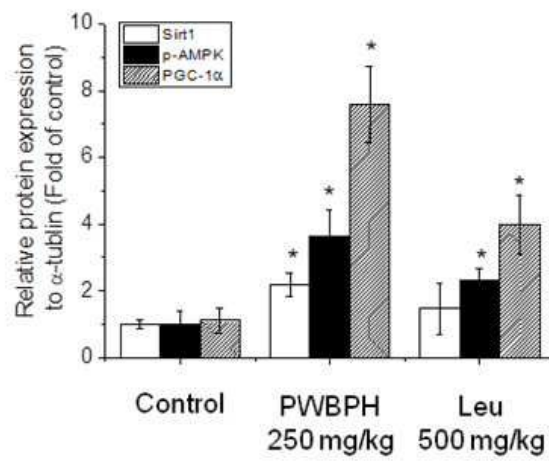


도면9

A

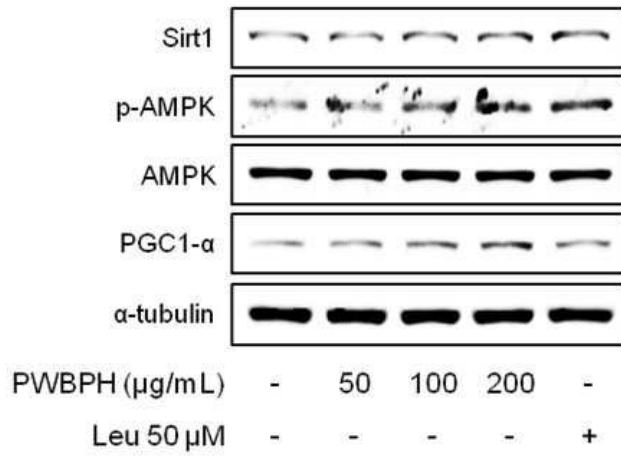


B



도면10

A



B

