



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0078930
(43) 공개일자 2012년07월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/60 (2006.01) *A61P 9/12* (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0000237

(22) 출원일자 2011년01월03일

심사청구일자 2011년01월03일

(71) 출원인

조선대학교산학협력단

광주광역시 동구 서석동 375 조선대학교 내

(72) 발명자

이중현

서울특별시 강남구 도곡로93길 12, 우성2차아파트 206동 903호 (대치동)

김현우

광주광역시 북구 중문로10번길 41-1 (우산동)

(74) 대리인

특허법인세신

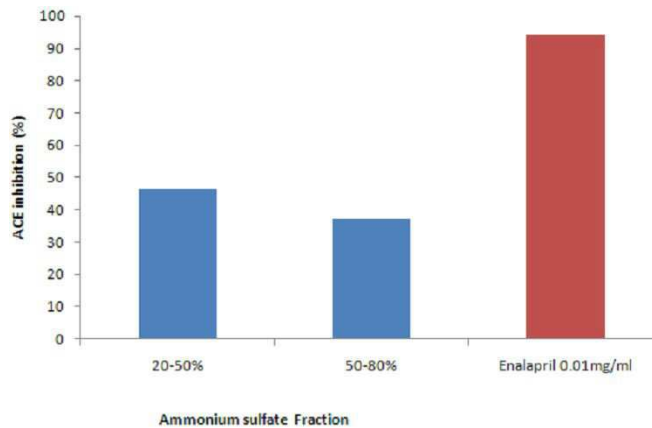
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 전복 내장 단백질 추출물, 상기 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 저해용, 항고혈압 또는 항비만 조성물

(57) 요약

본 발명은 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 저해용, 항고혈압 또는 항비만 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도3



특허청구의 범위

청구항 1

전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 저해용 조성물.

청구항 2

전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 항고혈압 조성물.

청구항 3

전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 항비만 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 가수분해물은 상기 전복 내장 단백질을 펩신(pepsin), 트립신(trypsin), 키모트립신(chymotrypsin), 판크레아틴(pancreatin), 알칼레이즈(alcalase), 플라보자임(flavourzyme), 파파인(papain) 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 단백질 가수분해 효소로 처리하여 얻은 것인, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 분획물은 상기 가수분해물을 완충 용액, 산성 수용액, 물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 용출 용매를 사용하여 액체 크로마토그래피를 수행하여 얻은 것인, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 조성물은 약학 조성물인 것인 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 조성물은 식품 조성물인 것인 조성물.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 전복 내장 단백질 추출물, 상기 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 (Angiotensin-I Converting Enzyme: ACE) 저해용, 항고혈압 또는 항비만 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전복은 복족류에 속하며, 한자어로 복(鰑) 또는 포(鮑)라고도 한다. "자산어보"에 복어(鰑魚)라 하였고, "본초강목"에는 석결명(石決明)이라 하였으며, 일명 구공라(九孔螺)라고도 쓰고 있다.

[0003] 우리나라에는 한류성인 참전복(Haliotis discus hannai)과 난류성인 까막전복(Haliotis discus), 말전복(H. gigantea), 시볼트전복(H. Sieboldii), 오분자기(H. diversicolor diversicolor), 마대오분자기(H. diversicolor supertexta) 등의 6종이 알려져 있다.

[0004] 이러한 전복은 옛날부터 식용으로 해온 주요 수산물의 하나로서, 국내의 전복 생산은 2002년까지만 해도 연간 100톤 전후에 불과하였다. 생산량의 대부분은 자연산으로서 양식이 본격화된 2000년대 초반만 하여도 양식산

은 20여 톤에 불과하였고 자연산이 60~70여 톤을 차지하였다. 양식산이 자연산을 앞서기 시작한 것은 2002년부터이며 2003년에 이르러서는 양식산이 비약적으로 증가하여 1,065톤을 기록하였으며 자연산은 73톤에 불과하였다.

[0005] 이와 같이 양식산 전복의 생산량은 매년 증가할 것으로 예상된다. 그러나 이에 따라 큰 문제점으로 대두되는 것이 바로 판로이다. 현재 수출 동향을 보면 주로 활전복으로만 판매하고 있으며 해외 수출 주요 국가는 일본에 국한되어 있다.

[0006] 우리나라에서의 전복 생산량이 날로 증가하는데 비취 수출 판로는 아직도 많이 열려 있지 않는 것이 현재 상황이다. 이러한 현황들을 여러 가지 문제를 초래하게 된다. 그중의 하나가 가격 인하이다. 가격 인하는 당분간의 수출량을 늘일 수는 있으나 장기적인 전복 산업의 발전을 위해서는 대안이 아니다. 때문에 어민들에게는 전복의 판매 경로를 넓히고 활전복 이외에도 2차 가공품이나 다른 고부가가치의 제품 등 여러 가지 새로운 수출 가능한 상품을 개발하는 것이 시급한 실정이다.

[0007] 한편, 음주, 흡연, 고도 비만, 고혈압, 암 및 고령화에 따른 면역 기능의 저하로 인해 기능성 식품에 대한 관심이 증가하고 있어, 기능성 소재 탐색 및 개발이 시급하다.

[0008] 전복의 주요 가식 부위인 육질에는 생리 활성 물질인 타우린이 다량 함유되어 있으며, 아미노산과 단백질 및 EPA(기능성 불포화지방산)등의 생리 활성 물질을 함유하고 있다. 다시마, 미역 등 해조류를 주로 섭취하는 전복은 해조류에 포함된 천연 다당류 및 단백질 등을 분해시키는 다양한 효소들을 함유하고 있다.

[0009] 그러나, 현재까지 전복 생리 기능성에 관한 연구가 거의 전무한 상태이므로 전복의 생리 기능성 및 체내 유효성을 과학적이고 체계적으로 탐색하여 전복의 상품적 가치 향상 및 기초 자료 구축이 무엇보다 시급한 실정이다.

[0010] 나아가, 전복을 기능성 식품 및 의약품 소재를 개발함으로써 전복의 부가가치를 증대시키고, 고부가가치 제품에 대한 수입 대체 효과를 기대할 수 있을 것이므로, 전복에 대한 기능성 식품, 의약품 소재로의 개발 가능성에 대한 수요가 커지고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명자들은 전복의 다양한 부위의 다양한 추출물 중 특히 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물의 안지오텐신 전환 효소 저해 효과, 항고혈압 및 항비만 효과가 우수한 것을 확인하여, 본 발명을 통하여 이들을 유효 성분으로 하는 안지오텐신 전환 효소 저해용, 항고혈압, 또는 항비만 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기한 바와 같은 본 발명의 목적은, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 저해용 조성물에 의하여 달성된다.

[0013] 또한, 본 발명의 목적은, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 항고혈압 조성물에 의하여 달성된다.

[0014] 또한, 본 발명의 목적은, 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 항비만 조성물에 의하여 달성된다.

[0015] 바람직하게는, 상기 가수분해물은 상기 전복 내장 단백질을 펩신(pepsin), 트립신(trypsin), 키모트립신(chymotrypsin), 판크레아틴(pancreatin), 알칼레이즈(alcalase), 플라보자임(flavourzyme), 파파인(papain) 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 단백질 가수분해 효소로 처리하여 얻을 수 있다.

[0016] 바람직하게는, 상기 분획물은 상기 가수분해물을 완충 용액, 산성 수용액, 물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 용출 용매를 사용하여 액체 크로마토그래피를 수행하여 얻을 수 있다.

[0017] 바람직하게는, 상기 조성물은 약학 조성물 또는 식품 조성물일 수 있다.

발명의 효과

[0018] 이러한 본 발명에 의하여 현저한 안지오텐신 전환 효소 저해 효과를 비롯하여 항고혈압 및 항비만 효과를 보이는 조성물을 제공할 수 있고, 이러한 조성물을 약학 또는 식품 조성물로 이용할 수 있어 고혈압, 동맥경화증 또는 비만증의 예방 또는 치료를 위한 약제 또는 식품을 제공할 수 있는 효과를 얻을 수 있다.

[0019] 이러한 효과를 가져오는 본 발명의 유효 성분이 전복으로부터 얻어지므로 이러한 본 발명에 의하여 전복의 고부가가치화가 달성될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0020] 도 1은 안지오텐신 전환 효소에 의한 고혈압 메커니즘을 보이는 그림이다.

도 2는 비교예 1 내지 12의 추출물의 ACE 저해 활성을 측정한 결과를 보이는 그래프이다.

도 3은 실시예 13 및 14의 추출물의 ACE 저해 활성을 측정한 결과를 보이는 그래프이다.

도 4는 실시예 1 내지 12의 추출물의 췌장 리파아제 저해 활성을 측정한 결과를 그래프이다.

도 5는 실시예 13 및 14의 추출물의 췌장 리파아제 저해 활성을 측정한 결과를 보이는 그래프이다.

도 6은 실시예 15 내지 18의 ACE 저해 활성을 측정한 결과를 보이는 그래프이다.

도 7은 실시예 19의 분획물 3개의 피크를 보이는 크로마토그램 및 ACE 저해 활성을 측정한 결과를 보이는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 본 발명은 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 것을 유효 성분으로 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 저해용, 항고혈압 또는 항비만 조성물에 관한 것이다.

[0022] 따라서, 이하에서는 우선 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물 및 상기 가수분해물의 분획물의 제조 방법과, 이에 의하여 얻은 추출물, 가수분해물 및 분획물에 관하여 설명하고, 그런 후에 이들을 유효 성분으로 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 저해용, 항고혈압 또는 항비만 조성물에 관하여 설명한다.

[0023] 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물은 다음과 같은 방법에 의하여 제조할 수 있다.

[0024] 전복으로부터 살 부위와 내장 부위를 분리하고, 각각의 부위를 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도와 압력의 조건 하에서, 통상적인 용매를 사용하여 추출하여 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물을 제조할 수 있으나, 바람직하게는 추출 용매를 이용한 용매 추출법, 환류 추출법 또는 초음파 추출법 등을 이용하여 추출하여 제조할 수 있다.

[0025] 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물은 상기한 추출법 중에서 추출 용매를 이용한 용매 추출법을 사용하여 제조할 수 있다.

[0026] 본 발명에서 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물은 다양한 추출 용매, 예를 들어, 물, 탄소수 1-4의 무수 또는 함수 저급 알코올 (예컨대, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 등), 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 글리세린, 아세톤, 디에틸에테르, 에틸 아세테이트, 부틸 아세테이트, 디클로로메탄, 클로로포름, 헥산 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 추출 용매를 사용하여 얻을 수 있으며, 추출 용매는 이에 한정되는 것은 아니다.

[0027] 바람직한 구현예에 의하면, 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물의 제조 방법은 다음과 같다.

[0028] 먼저 전복 살 및 전복 내장을 세척하고 세절한 후 각각 48 시간 이상 동결 건조하고 이를 2 내지 8℃에서 냉장 보관하면서 시료로 사용한다.

[0029] 전복 살 추출물을 제조할 때에는 전복 살의 건조 중량의 80 내지 250배의 추출 용매를 사용하고, 전복 내장 추출물을 제조할 때에는 전복 내장의 건조 중량의 40 내지 200배의 추출 용매를 사용하며, 100 내지 300rpm의

속도로 10 시간 이상 추출하고 여과지를 이용하여 여과 후 여액을 회전 증발 농축기를 이용하여 추출 용매를 모두 증발시켜 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물을 각각 얻는다.

[0030] 또한, 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물은 상술한 추출 용매에 의한 추출물뿐만 아니라, 통상적인 정제 과정을 거친 추출물도 포함한다. 예컨대, 일정한 분자량 컷-오프 값을 갖는 한외 여과막을 이용한 분리, 다양한 크로마토그래피 (크기, 전하, 소수성 또는 친화성에 따른 분리를 위해 제작된 것)에 의한 분리 등의 추가적으로 실시된 다양한 정제 방법을 통해 얻어진 활성 분획도 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물에 포함된다.

[0031] 또한, 상기 환류 추출법은 환류 추출 장치를 이용하여 환류 추출하여 추출물을 얻는 방법이다.

[0032] 환류 추출법에 사용할 수 있는 추출 용매는 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 에틸아세테이트, 헥산, 디에틸에테르 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0033] 이러한 환류 추출법에 의한 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물을 제조 방법의 일례로서, 전복 살 및 전복 내장을 각각 세척하고 세절한 후 각각 48 시간 이상 동결 건조하고 이를 2 내지 8℃에서 냉장 보관하면서 시료로 사용한다.

[0034] 시료를 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 물, 에틸아세테이트, 헥산, 디에틸에테르 및 이들의 혼합물로부터 선택된 추출 용매에 넣은 후, 환류 추출 장치를 이용하여 80 내지 120℃에서 1시간 이상 환류 추출한 다음, 열수 추출물의 경우에는 여과지를 이용하여 여액만을 모아 동결 건조시키고, 기타의 유기 용매 추출물은 여과한 여액을 모아 회전 증발기를 이용하여 추출 용매를 모두 증발시켜 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물을 각각 얻는다. 상기 추출 용매는 시료 건조 중량의 20 내지 150배의 양으로 사용한다.

[0035] 또한, 상기 초음파 추출법은 초음파 진동에 의해 발생하는 에너지를 이용하는 추출 방법으로, 초음파가 수용성 용매 속에서 시료에 포함된 불용성인 용매를 파괴시킬 수 있으며, 이때 발생하는 높은 국부 온도로 인하여 주위에 위치하는 반응물 입자들의 운동 에너지를 크게 하기 때문에 반응에 필요한 충분한 에너지를 얻게 되고, 초음파 에너지의 충격 효과로 높은 압력을 유도하여 시료에 함유된 물질과 용매의 혼합 효과를 높여주어 추출 효율을 증가시키게 된다.

[0036] 초음파 추출법에 사용할 수 있는 추출 용매는 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 물, 에틸아세테이트, 헥산, 디에틸에테르 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택된다.

[0037] 추출된 시료를 진공 여과하여 여과액을 회수한 후 추출 용매를 감압 증발기로 제거하고, 동결 건조하는 통상의 추출물 제조 방법을 통해 추출물을 얻을 수 있다.

[0038] 이러한 초음파 추출법에 의한 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물의 제조 방법의 일례로서, 전복 살 및 전복 내장을 세척하고 세절한 후 각각 48 시간 이상 동결 건조하고 이를 2 내지 8℃에서 냉장 보관하면서 시료로 사용한다.

[0039] 시료를 클로로포름, 에탄올, 메탄올, 물, 에틸아세테이트, 헥산, 디에틸에테르 및 이들의 혼합물로부터 선택된 추출 용매에 넣은 후, 초음파 추출기를 이용하여 20 내지 60 KHz의 강도로 1시간 이상 추출하는 것이며, 상기 초음파 추출 시간은 추출하고자 하는 시료의 양에 따라 달라질 수 있다. 상기 추출 용매는 시료 건조 중량의 20 내지 150배의 양으로 사용한다.

[0040] 열수 추출물의 경우에는 여과지를 이용하여 여액만을 모아 동결 건조시키고, 기타의 유기 용매 추출물은 여과한 여액을 모아 회전 증발기를 이용하여 추출 용매를 모두 증발시켜 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물을 얻는다.

[0041] 이러한 방법에 의하여 얻은 본 발명의 전복 살 추출물 및 전복 내장 추출물은 항비만 효과가 현저한데, 이러한 효과를 실험예에서 더욱 자세히 설명한다.

[0042] 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물은 다음과 같은 방법에 의하여 제조할 수 있다.

[0043] 전복 내장을 깨끗이 씻어 세절한 후 48시간 이상 동결 건조하여 분말 형태로 제조한다. 전복 내장 분말에 50mM 인산나트륨 완충 용액(pH 7.4), 50mM 인산칼륨 완충 용액(pH 7.0) 또는 50mM Tris-HCl(pH 7.5) 등의 완충 용액을 상기 전복 내장 분말의 건조 중량의 20배 내지 200배의 양으로 가하고, 2 내지 8℃에서, 100 내지 300 rpm으로 6시간 이상 추출하며, 2,000 내지 8,000 rpm으로 원심 분리하여 상층액을 얻은 후에 상기 상층액에 황산암모늄을 20~100(w/v)로 가하여 단백질을 침전시키고, 상기 단백질을 투석 튜브 (dialysis tube)를

사용하여 2 내지 8 ℃에서 24시간 이상 투석한 후 동결 건조하여 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물을 얻는다.

[0044] 이러한 방법에 의하여 얻은 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물은 안지오텐신 전환 효소 저해 효과 및 항고혈압 효과가 현저하고, 또한, 현저한 항비만 효과를 보이는데, 이러한 효과를 실험예에서 자세히 설명한다.

[0045] 또한, 이러한 안지오텐신 전환 효소 저해 효과, 항고혈압 효과 및 항비만 효과는 상기한 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물 및 상기 가수분해물의 분획물에서 더욱 현저하다.

[0046] 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물의 제조 방법은 다음과 같다.

[0047] 상기한 방법에 의하여 얻은 전복 내장 단백질 추출물에 단백질 가수분해 효소인 펩신(pepsin), 트립신(trypsin), 키모트립신(chymotrypsin), 판크레아틴(pancreatin), 알칼레이즈(alcalase), 플라보자임(flavourzyme), 파파인(papain) 또는 이들의 혼합물을 가하고, 30 내지 60℃의 온도에서, 100 내지 300 rpm으로 24 시간 이상 반응시킨다.

[0048] 상기한 전복 내장 단백질 추출물과 단백질 가수분해 효소의 혼합 비율은 중량 비율로 300:1 내지 10,000:1인 것이 바람직하다.

[0049] 상기한 단백질 가수분해 효소의 최적의 반응 온도 및 pH를 다음의 표 1에 나타낸다.

표 1

효소	온도(℃)	pH
pepsin	37	2.0
trypsin	37	7.0
α-chymotrypsin	37	7.0
pancreatin	37	8.0

[0051] 상기한 반응을 시킨 후 90 내지 120 ℃로 10분 내지 20분간 증탕시켜 상기 단백질 가수분해 효소를 불활성화시키고, 그런 후에 9,000 내지 15,000 rpm의 속도로 5분 내지 20분간 원심 분리하여 상등액을 취하고 이를 동결 건조시켜 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물을 얻는다.

[0052] 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물의 분획물의 제조 방법은 다음과 같다.

[0053] 상기한 방법에 의하여 얻은 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물을 완충 용액, 산성 수용액, 물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군 중에서 선택되는 용출 용매를 사용하여 액체 크로마토그래피를 수행하여 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물의 분획물을 얻는다.

[0054] 상기 완충 용액으로는 일반적인 완충 용액이라면 모두 사용할 수 있고, 특히 인산나트륨 완충 용액, 인산칼륨 완충 용액 또는 이들의 혼합물 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는, 상기 완충 용액으로 50mM 인산나트륨 완충 용액(pH 7.0), 50mM 인산칼륨 완충 용액(pH 7.0), 50mM 인산나트륨 완충 용액(pH 8.0) 등을 사용할 수 있다.

[0055] 상기 산성 수용액으로는 아세트산 수용액, 염산 수용액 등을 사용할 수 있고, 바람직하게는 10mM 아세트산 수용액 (pH 2.0), 10mM 염산 수용액 (pH 2.0) 등을 사용할 수 있다.

[0056] 바람직하게는 상기 가수분해물의 분획물은 물을 용출 용매로 사용하여 액체 크로마토그래피를 수행하여 얻는다.

[0057] 더욱 바람직하게는, 상기 가수분해물의 분획물은 물을 용출 용매로 사용하여 액체크로마토그래피를 수행하여 3개의 분획물을 얻고 이러한 3개의 분획물 중의 2번째 분획물일 수 있다.

[0058] 이러한 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물 및 이러한 가수분해물의 분획물의 현저한 안지오텐신 전환 효소 저해 효과, 항고혈압 효과 및 항비만 효과를 실험예에서 더욱 자세히 설명한다.

- [0059] 이와 같은 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는, 안지오텐신 전환 효소 저해용, 항고혈압 또는 항비만 조성물에 대하여 설명하면 다음과 같다.
- [0060] 본 발명의 안지오텐신 전환 효소 저해용 또는 항고혈압 조성물은 상기한 바와 같은 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로 함유한다.
- [0061] 이러한 본 발명의 조성물은 상기한 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 상기 조성물의 총 중량을 기준으로 0.00001 내지 20 중량%, 바람직하게는 0.0001 내지 10 중량%, 더욱 바람직하게는 0.001 내지 5 중량%의 함량으로 함유한다. 상기한 전복 내장 단백질 추출물 등을 조성물의 총 중량을 기준으로 0.00001 중량% 미만으로 함유하는 경우에는 전복 내장 단백질 추출물 등의 함유로 인한 안지오텐신 전환 효소 저해 효과 또는 항고혈압 효과를 거의 기대할 수 없고, 상기한 전복 내장 단백질 추출물 등을 조성물의 총 중량을 기준으로 20 중량% 초과하도록 함유하는 경우에는 함유량 증가에 따른 뚜렷한 효과의 증가가 나타나지 않는다.
- [0062] 본 발명의 항비만 조성물은 상기한 바와 같은 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로서 함유한다.
- [0063] 이러한 본 발명의 조성물은 상기한 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 상기 조성물의 총 중량을 기준으로 0.00001 내지 20 중량%, 바람직하게는 0.0001 내지 10 중량%, 더욱 바람직하게는 0.001 내지 5 중량%의 함량으로 함유한다. 상기한 전복 살 추출물 등을 조성물의 총 중량을 기준으로 0.00001 중량% 미만으로 함유하는 경우에는 전복 살 추출물 등의 함유로 인한 항비만 효과를 거의 기대할 수 없고, 상기한 전복 살 추출물 등을 조성물의 총 중량을 기준으로 20 중량% 초과하도록 함유하는 경우에는 함유량 증가에 따른 뚜렷한 효과의 증가가 나타나지 않는다.
- [0064] 이러한 본 발명의 조성물은 약학 조성물 또는 식품 조성물일 수 있다.
- [0065] 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는 안지오텐신 전환 효소 저해용 또는 항고혈압 약학 조성물, 또는 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는 항비만 약학 조성물은, 약학 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있고, 본 발명의 매생이 효소 처리 추출물, 이의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 약학 조성물의 약학적 투여 형태는 단독으로 또는 다 약리적 활성 화합물과 결합 뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.
- [0066] 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는 안지오텐신 전환 효소 저해용 또는 항고혈압 약학 조성물, 또는 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는 항비만 약학 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사 용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0067] 상기 본 발명의 약학 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알제네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유 등을 들 수 있다.
- [0068] 본 발명의 약학 조성물을 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습유제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.
- [0069] 본 발명의 약학 조성물의 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함될 수 있으며, 이러한 고형 제제는 상기 매생이 효소 처리 추출물, 이의 분획물 또는 이들의 혼합물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.

- [0070] 본 발명의 약학 조성물의 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데, 이에
는 흔히 사용되는 단순 회석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면, 습윤제, 감미제,
방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0071] 본 발명의 약학 조성물의 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결 건
조 제제, 좌제가 포함될 수 있다. 비수성 용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일
과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있고, 좌제의 기제로는 위
템솔(witepsol), 마크로골(macrogol), 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수
있다.
- [0072] 본 발명의 약학 조성물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물 형태, 투여 경로 및 기
간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의
조성물은 1일 0.0001 내지 100 mg/kg으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회
나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0073] 본 발명의 약학 조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유 동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모
든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 정맥, 근육 또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0074] 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들
의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는 안지오텐신 전환 효소 저해용 또는 항고혈압 조성물, 또는 본 발명의 전
복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분
해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 유효 성분으로 함유하는 항비만 조성물은 상기와 같은 제형으로 약학 조
성물로서 뿐 아니라, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다.
- [0075] 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물,
상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 식품 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를
들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강 기능성 식품류 등이 있다.
- [0076] 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물,
상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 조성물은 독성 및 부작용이 거의 없으므로 고혈압,
동맥경화증, 비만 등의 예방 목적으로 장기간 복용시에도 안심하고 사용할 수 있다.
- [0077] 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물,
상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 조성물은 고혈압, 동맥경화증, 비만 등의 예방을
목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있는데, 이때 식품 또는 음료 중의 상기 전복 살 추출물, 전복 내장 추
출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의
혼합물을 함유하는 조성물의 양은 전체 식품 중량의 0.00001 내지 20중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료는
100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.
- [0078] 본 발명의 식품용 조성물로서, 특히 건강 기능성 음료로 사용되는 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서
상기 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기
가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음
료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 더 포함할 수 있다.
- [0079] 이때, 상기 천연 탄수화물은 예를 들어, 포도당, 과당 등의 모노사카라이드; 말토오스, 수크로오스 등의 디사
카라이드; 및 텍스트린, 시클로텍스트린 등의 폴리사카라이드 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨,
소르비톨, 에리트리톨 등의 당알코올 등이 있다. 또한, 향미제로는 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물,
예를 들어, 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할
수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율을 본 발명의 조성물 100 ml 당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는
약 5 내지 12g이다.
- [0080] 상기 외에 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가
수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타
민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및
그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알
코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다.

[0081] 그밖에 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물을 함유하는 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있으며, 이러한 성분을 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또한, 상기 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 전복 살 추출물, 전복 내장 추출물, 전복 내장 단백질 추출물, 상기 단백질 추출물의 가수분해물, 상기 가수분해물의 분획물 또는 이들의 혼합물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0082] 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구체적으로 설명하지만, 이러한 실시예는 본 발명을 좀더 명확하게 이해하도록 제시하는 것일 뿐 본 발명의 범위를 제한하는 목적으로 제시하는 것은 아니며, 본 발명은 후술하는 특허 청구 범위의 기술적 사상의 범위 내에서 정해될 것이다.

[0083] 전복

[0084] 본 발명에서는 전라남도 완도군 신지면에서 생산된 참전복 (*Haliotis discus hannai*)을 사용하였다.

[0085] 실시예 1 내지 6 (비교예 1 내지 6): 전복 살 추출물

[0086] 전복의 살 부분을 분리하여 세척하고 세절한 후 48 시간 동결 건조하고 이를 4℃에서 냉장 보관하여 전복 살 시료로 사용하고, 추출 용매로서 각각 메탄올, 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 또는 부탄올을 사용하며, 이러한 추출 용매를 각각 40 ml를 사용하고 이에 상기한 전복 살 시료 0.3 g을 가하여 150 rpm으로 10 시간 이상 추출하고 여과지(Whatman No.1)을 이용하여 여과 후 여액을 회전 증발 농축기(EYELA, 일본)을 이용하여 추출 용매를 모두 증발시켜 전복 살 추출물을 얻었다. 추출 용매별 전복 살 추출물의 중량 등을 다음의 표 2에 나타낸다.

표 2

[0087]

추출 용매	추출물 중량(mg)	약어
메탄올	60	MM
에탄올	10	EM
헥산	10	HM
클로로포름	10	CM
에틸아세테이트	70	EAM
부탄올	20	BM

[0088] 항비만 효과의 면에서, 상기한 메탄올, 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올의 추출 용매를 각각 이용하여 얻은 전복 살 추출물은 각각 실시예 1 내지 6이고, 안지오텐신 전환 효소 저해 효과 및 항고혈압 효과의 면에서, 상기한 메탄올, 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올의 추출 용매를 각각 이용하여 얻은 전복 살 추출물은 각각 비교예 1 내지 6이다.

[0089] 이러한 실시예 1 내지 6(비교예 1 내지 6)에 대하여 하기의 실험예에서 활성을 측정할 때에는 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 10mg/ml의 농도로 용해시켜 사용하였다.

[0090] 실시예 7 내지 12 (비교예 7 내지 12): 전복 내장 추출물

[0091] 전복의 내장 부분을 분리하여 세척하고 세절한 후 48 시간 동결 건조하고 이를 4℃에서 냉장 보관하여 전복

내장 시료로 사용하고, 추출 용매로서 각각 메탄올, 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 또는 부탄올을 사용하며, 이러한 추출 용매를 각각 40 ml를 사용하고 이에 상기한 전복 내장 시료 0.5 g을 가하여 150 rpm으로 10 시간 이상 추출하고 여과지(Whatman No.1)을 이용하여 여과 후 여액을 회전 증발 농축기(EYELA, 일본)을 이용하여 추출 용매를 모두 증발시켜 전복 내장 추출물을 얻었다. 추출 용매별 전복 내장 추출물의 중량 등을 다음의 표 3에 나타낸다.

표 3

추출 용매	추출물 중량(mg)	약어
메탄올	190	MI
에탄올	140	EI
헥산	120	HI
클로로포름	80	CI
에틸아세테이트	78	EAI
부탄올	90	BI

항비만 효과의 면에서, 상기한 메탄올, 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올의 추출 용매를 각각 이용하여 얻은 전복 내장 추출물은 각각 실시예 7 내지 12이고, 안지오텐신 전환 효소 저해 효과 및 항고혈압 효과의 면에서, 상기한 메탄올, 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올의 추출 용매를 각각 이용하여 얻은 전복 내장 추출물은 각각 비교예 7 내지 12이다.

이러한 실시예 7 내지 12(비교예 7 내지 12)에 대하여 하기의 실험예에서 활성을 측정할 때에는 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 10mg/ml의 농도로 용해시켜 사용하였다.

실시예 13 및 14: 전복 내장 단백질 추출물의 제조

전복의 내장 부분을 분리하여 세척하고 세절한 후 48 시간 동결 건조하여 분말 형태로 제조하였다. 이러한 전복 내장 분말 10g에 50 mM 인산나트륨 완충 용액(sodium phosphate buffer, pH 7.4) 500 ml를 가하고, 4℃에서, 150 rpm으로 6시간 이상 추출한 후 4,000 rpm으로 원심 분리하여 상층액을 얻은 후에 상기 상층액에 황산암모늄을 농도별(20~50%, 50~80%)로 가하여 단백질을 침전시키고, 상기 단백질을 투석 튜브(dialysis tube)를 사용하여 4℃에서 24시간 투석한 후 동결 건조하여 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물을 얻었다.

상기한 황산암모늄의 농도가 20~50%인 것이 실시예 13이고, 50~80%인 것이 실시예 14이다.

이러한 실시예 13 및 14에 대하여 하기의 실험예에서 활성을 측정할 때에는 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 10mg/ml의 농도로 용해시켜 사용하였다.

실험예 1: 실시예 13, 실시예 14 및 비교예 1 내지 12의 항고혈압 활성 측정(안지오텐신 전환 효소 저해 활성 측정)

안지오텐신 전환 효소(Angiotensin converting enzyme, Kinase peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1)은 불활성 데카펩타이드(decapeptide)인 안지오텐신(Angiotensin)의 C 말단 디펩타이드(His-Leu)를 절단하여 혈관벽 평활근 수축 등의 작용에 의하여 강한 혈압 상승 작용을 나타내는 옥타펩타이드인 안지오텐신을 생성하는 한편, 강한 혈관 확장 작용을 가지는 노나펩타이드인 브라디키닌(bradykinin)을 불활성화시킴으로써 혈압을 상승시키는 역할을 한다고 알려져 있다(도 1 참조).

고혈압 발생 기작에서 상기한 도 1의 레닌-안지오텐신 시스템(renin-angiotensin system)은 혈압 조절에 매우 중요한 역할을 한다. 특히 ACE는 레닌(renin)에 의하여 생성된 데카펩타이드 안지오텐신으로부터 C 말단의 디

펩타이드를 가수분해시켜 혈관 수축 작용을 하는 옥타펩타이드인 안지오텐신을 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. 생성된 안지오텐신은 부신 피질에서 알도스테론의 분비를 촉진하여 물과 나트륨의 배설을 억제하며, 혈관 이완 작용을 갖는 노나펩타이드인 브라디키닌(bradykinin)을 억제시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다. 따라서 ACE 저해 작용은 혈관 수축을 막고 체내 수분 잔류를 막아 혈압을 낮추는 효과를 나타낸다.

[0102] 이러한 ACE 저해 활성 측정은 다음과 같은 방법에 따라 수행하였다.

[0103] 즉, 0.1M 붕산나트륨 완충 용액(pH 8.3) 50 μ l에 2.5mM HHL(Hippury-His-Leu) 150 μ l와 시료(sample), 즉 실시예 13, 실시예 14 및 비교예 1 내지 12의 추출물 50 μ l를 각각 가하여 vortex로 잘 교반한 후 37 °C에서 10분간 pre-incubation시켰다. 여기에 ACE(100mU) 50 μ l를 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 200 μ l를 가하여 반응을 중지시켰다. 대조군(control)은 상기 시료 대신 증류수를 사용하였다. 여기에 에틸아세테이트 800 μ l를 가하여 잘 교반한 후 10분간 상온에서 방치하고 상층액인 에틸아세테이트 600 μ l를 취하여 새로운 튜브에 담고, 120°C에서 1시간 완전히 건조시킨 후 1M NaCl 수용액 1ml를 가하여 용해시킨 뒤 UV-Vis spectrophotometer 기기(Ultrospec 2100 pro, GE Healthcare)를 사용하여 228 nm에서 흡광도를 측정하고 아래와 같이 ACE 저해 활성(ACE inhibitory activity)을 계산하였다.

$$ACE\ inhibitory\ activity(\%) = \frac{(Control - Sample)}{Control} \times 100$$

[0104]

[0105] ACE 저해 활성을 측정한 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다(enalapril은 기존의 안지오텐신 전환 효소 억제제이다.)

[0106] 도 2는 비교예 1 내지 12의 추출물의 ACE 저해 활성을 측정한 결과를 보이는 그래프로서, 비교예 3 내지 6(HM, CM, EAM, BM)의 전복 살 추출물이 가장 높은 ACE 저해 활성을 보이나, 그 활성이 30% 정도로 미비한 결과를 보인다.

[0107] 도 3은 실시예 13 및 14의 추출물의 ACE 저해 활성을 측정한 결과를 보이는 그래프로서, 실시예 13 (황산암모늄 농도: 20~50%)의 경우 45.6%의 ACE 저해 활성을 보이고, 실시예 14 (황산암모늄 농도: 50~80%)의 경우 37.2%의 ACE 저해 활성을 보인다.

[0108] 실험예 2: 실시예 1 내지 14의 항비만 활성 측정 (Pancreatic lipase 저해 활성 측정)

[0109] 음식물 내부의 지방은 트리글리세라이드의 형태로 존재하는데 섭취된 지방은 췌장에서 분비되는 췌장 리파아제(Pancreatic lipase)의 작용으로 트리글리세라이드의 에스테르 결합이 가수분해되며 지방산과 글리세롤이 형성된다. 분해된 지방산과 글리세롤은 소장점막 세포에서 흡수되어 에너지원으로 사용되고 사용 이후 남은 지방산과 글리세롤은 모노아실글리세롤 경로를 통해 다시 트리아실글리세롤로 합성되어 체내에 축적된다. 따라서 지방의 중요한 효소로 작용하는 췌장 리파아제의 활성을 저해하면 과잉 섭취된 지방의 소화를 제한하여 비만을 예방할 수 있다.

[0110] 항비만 활성 실험은 Bitou 방법을 이용하여 측정하였다. 즉, 트리오레인(triolein)으로부터 분리되는 올레산(oleic acid)을 분석하여 항비만 활성을 측정하였다.

[0111] 0.1M NaCl이 포함된 0.1M N-트리스(하이드록시메틸)메틸-2-아미노에탄술포산(N-tris(hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid)(pH 7.0) 9ml에 트리오레인 90 μ M, 검 아라빅(gum arabic) 45mg, 타우로콜산(taurocholic acid) 9.45 μ M를 넣고 5분간 초음파 처리(sonication)하여 반응 용액의 기질 용액으로 사용하였다. 효소 용액 췌장 리파아제 (1,500U/ml) 15 μ l, 시료(sample), 즉 실시예 1 내지 14의 추출물 각각 5 μ l, 상기 기질 용액 180 μ l를 혼합하여, 리파아제 활성 측정을 위한 반응 용액을 제조한 후 이를 pH 7.0 및 37°C에서, 30분간 반응시켰다. 대조군(control)은 상기 시료 대신 증류수를 사용하였다. 효소 반응 후 생성된 올레산의 정량하여 측정하는데, 즉 효소 반응 후 상기 반응 용액 200 μ l에 2%(v/v) 메탄올이 포함된 클로로포름/헵탄 (1:1) 용액 3ml를 첨가하고 10분 동안 원심 분리(2,000 $\times$ g)하여 물 층을 제거하고 여기에 구리 반응액 1ml를 첨가하여 다시 10분 동안 교반하며, 10분 동안 원심 분리(2,000 $\times$ g)하여 추출된 올레산과 구리염이 포함된 유기 용매층 1ml를 취한 후, 이에 0.05%(w/v) 3-tert-부틸-4-하이드록시아니솔(3-tert-butyl-4-hydroxyanisole)이 포함된 0.1%(w/v) 베토쿠프로인(bathocuproine) 용액 1ml를 첨가한 후 UV-Vis spectrophotometer 기기(Ultrospec 2100 pro, GE Healthcare)를 사용하여 480nm에서 흡광도 측정하고 아래와

같이 췌장 리파아제 저해 활성(Pancreatic lipase activity)을 계산하였다.

$$\text{Pancreatic lipase activity}(\%) = (\text{Control-Sample})/\text{Control} \times 100$$

[0112]

[0113]

췌장 리파아제 저해 활성을 측정한 결과를 도 4 및 도 5에 나타내었다(orlistat는 기존의 췌장 리파아제 억제제이다).

[0114]

도 4는 실시예 1 내지 6 및 9 내지 12의 추출물의 췌장 리파아제 저해 활성을 보이는 그래프로서, 실시예 1 내지 6의 전복 살 추출물이 실시예 9 내지 12의 전복 내장 추출물에 비하여 더 우수한 췌장 리파아제 저해 활성을 보이고, 특히 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 등의 추출 용매를 사용하여 얻은 전복 살 추출물 또는 전복 내장 추출물이 높은 췌장 리파아제 활성 저해 효과를 보인다.

[0115]

도 5는 실시예 13 및 14의 추출물의 췌장 리파아제 저해 활성을 보이는 그래프로서, 실시예 13 (황산암모늄 농도: 20~50%)의 경우 34.91%의 췌장 리파아제 저해 활성을 보이고, 실시예 14 (황산암모늄 농도: 50~80%)의 경우 41.31%의 췌장 리파아제 저해 활성을 보인다.

[0116]

실시예 15 내지 17: 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물의 제조

[0117]

상기 실시예 13의 전복 내장 단백질 추출물 100mg에 증류수 20ml를 가하고, 2M HCl를 이용하여 pH 2.0으로 조정 후 단백질 가수분해 효소인 펩신(pepsin)(1mg/ml) 함유 10mM HCl (pH 2.0) 용액 100 μ l를 첨가하고, 37℃의 온도에서, 200 rpm으로 24시간 반응시킨 후 100℃로 10분간 중탕시켜 상기 단백질 가수분해 효소를 불활성화시키고, 그런 후에 8,000 rpm의 속도로 15분간 원심 분리시키고 상등액을 취하여 이를 동결 건조시켜 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물(실시예 15)을 얻었다.

[0118]

상기 실시예 13의 전복 내장 단백질 추출물 100mg에 증류수 20ml를 가하고, 단백질 가수분해 효소인 키모트립신(chymotrypsin) (1mg/ml)함유 50mM 인산나트륨 (pH 7.0) 완충 용액 100 μ l를 첨가하고, 37℃의 온도에서, 200 rpm으로 24시간 반응시킨 후 100℃로 10분간 중탕시켜 상기 단백질 가수분해 효소를 불활성화시키고, 그런 후에 8,000 rpm의 속도로 15분간 원심 분리시키고 상등액을 취하여 이를 동결 건조시켜 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물(실시예 16)을 얻었다.

[0119]

상기 실시예 13의 전복 내장 단백질 추출물 100mg에 증류수 20ml를 가하고, 50mM 인산나트륨 완충 용액을 이용하여 pH 8.0으로 조정 후 단백질 가수분해 효소인 판크레아틴(pancreatin)(1mg/ml)함유 50mM 인산나트륨 (pH 8.0) 완충 용액 100 μ l를 첨가하고, 37℃의 온도에서, 200 rpm으로 24시간 반응시킨 후 100℃로 10분간 중탕시켜 상기 단백질 가수분해 효소를 불활성화시키고, 그런 후에 8,000 rpm의 속도로 15분간 원심 분리시키고 상등액을 취하여 이를 동결 건조시켜 본 발명의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물(실시예 17)을 얻었다.

[0120]

상기한 실시예 15 내지 17의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물 제조시 각각의 가수분해 효소들의 최적의 반응 온도 및 pH는 상기한 표 1에 나타내었다.

[0121]

이러한 실시예 15 내지 17에 대하여 하기의 실험예에서 활성을 측정할 때에는 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 10mg/ml의 농도로 용해시켜 사용하였다.

[0122]

실험예 3: 실시예 15 내지 17의 항고혈압 활성 측정(안지오텐신 전환 효소 저해 활성 측정)

[0123]

시료 용액, 즉 실시예 13 등의 추출물 대신 실시예 15 내지 17의 가수분해물을 사용하는 것을 제외하고는 상기한 실험예 1의 측정 방법과 동일한 방법으로 항고혈압 활성 (안지오텐신 전환 효소 저해 활성)을 측정하였다.

[0124]

그 결과를 도 6에 나타내었는데, 실시예 15 내지 17의 가수분해물 전반적으로 우수한 ACE 저해 활성을 보이고, 특히 펩신으로 처리한 실시예 15의 경우 매우 현저한 ACE 저해 활성을 보임을 확인할 수 있다.

[0125]

실시예 18: 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물의 분획물의 제조

[0126] 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물의 분획물을 얻기 위하여 대용량 분취용 크로마토그래피(prepare-LC, JAI, 일본)를 이용하였다. 분리 조건은 다음의 표 4에 나타난다.

표 4

[0127]

기기	JAI LC-9104
칼럼	GS-310 (20×500mm)
이동상	물
흐름 속도	3.5ml/min
검출기	UV 220nm

[0128] 상기 실시예 15의 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물을 prepare-LC system을 이용하여 GS-310 칼럼(20×500 mm)을 통해 분리하였다. 3.5 ml/min의 유속으로 용출시키고 (JAI LC-9104, JAPAN) 기기를 사용하여 220 nm에서 흡광도를 측정하여 3개의 주요 peak를 확인하였으며, 그 분획(A, B, C)을 모아 동결 건조하여 전복 내장 단백질 추출물의 가수분해물의 분획물을 얻었다 (도 7 참조).

[0129] 이러한 실시예 18에 대하여 하기의 실험예에서 활성을 측정할 때에는 DMSO(Dimethyl sulfoxide)에 10mg/ml의 농도로 용해시켜 사용하였다.

[0130] 실험예 4: 실시예 18의 항고혈압 활성 측정(안지오텐신 전환 효소 저해 활성 측정)

[0131] 시료 용액, 즉 실시예 13 등의 추출물 대신 실시예 18의 분획물을 사용하는 것을 제외하고는 상기한 실험예 1의 측정 방법과 동일한 방법으로 항고혈압 활성 (안지오텐신 전환 효소 저해 활성)을 측정하였다.

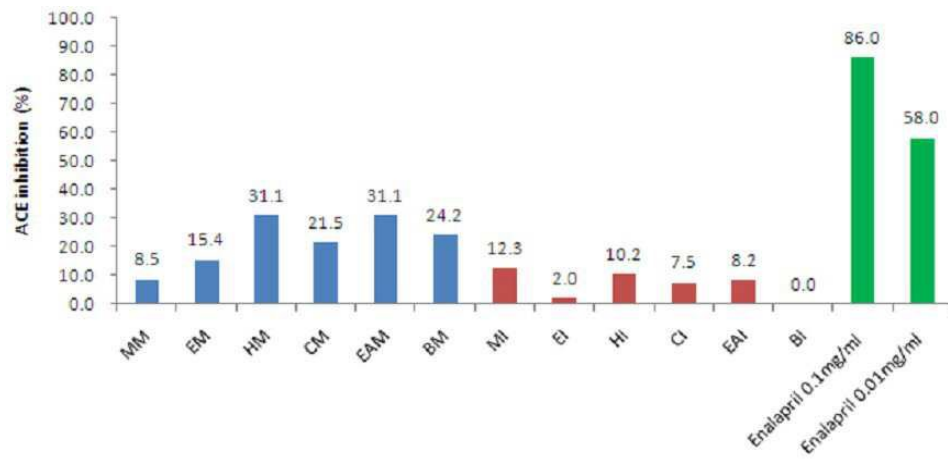
[0132] 그 결과를 도 7에 나타내었는데, 실시예 18의 분획물이 전반적으로 우수한 ACE 저해 활성을 보이고, 특히 3개의 분획물 중 2번째 분획물인 B 분획물이 매우 현저한 ACE 저해 활성을 보임을 확인할 수 있다.

도면

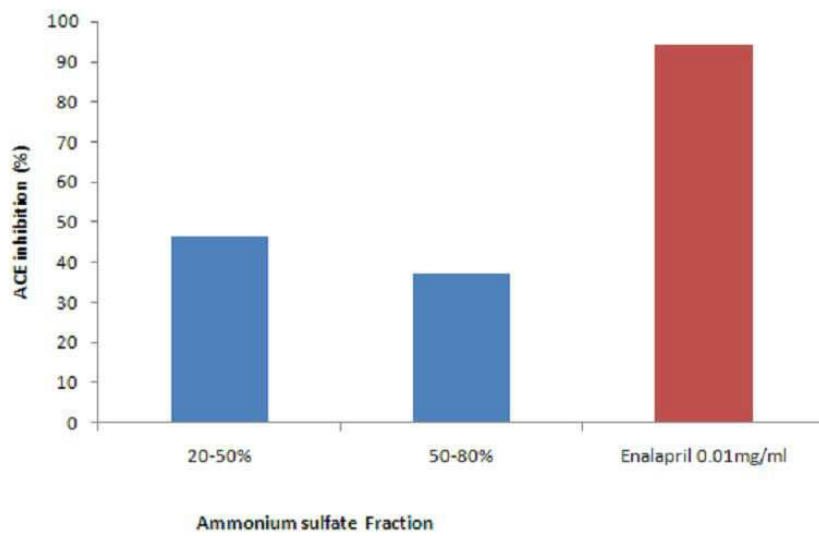
도면1



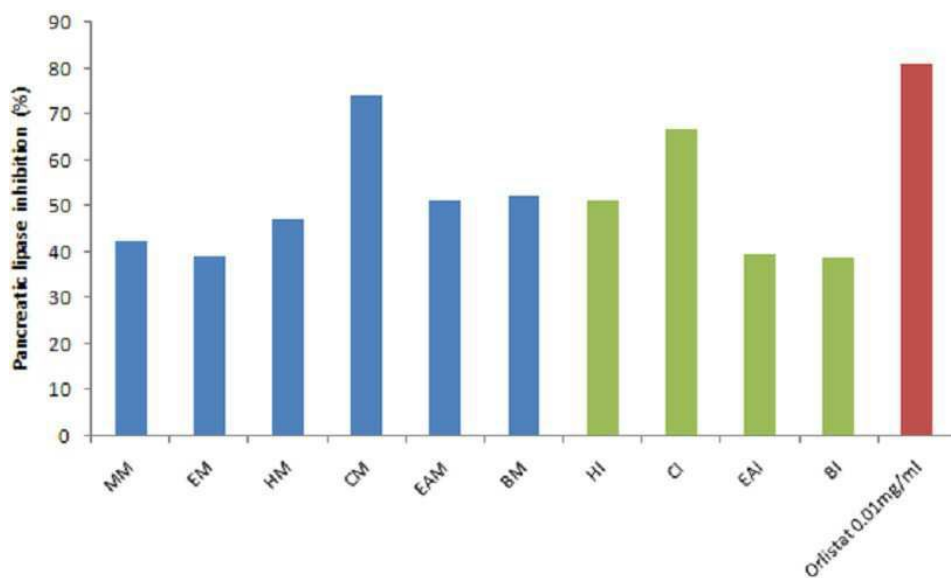
도면2



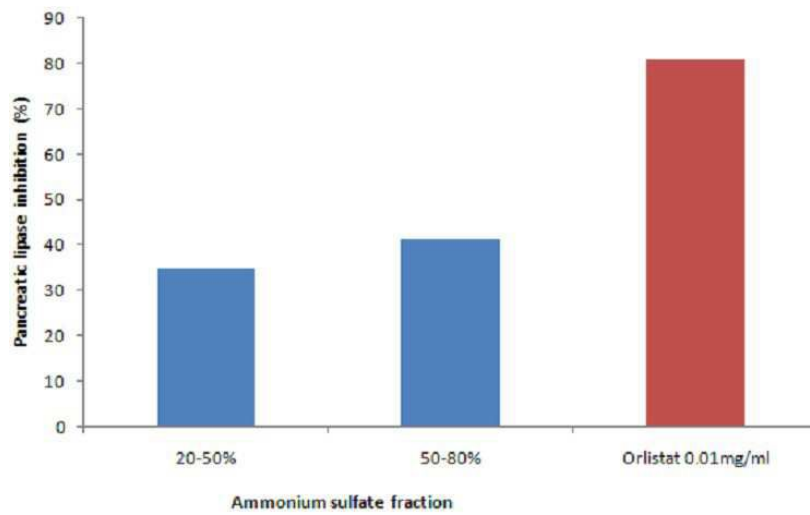
도면3



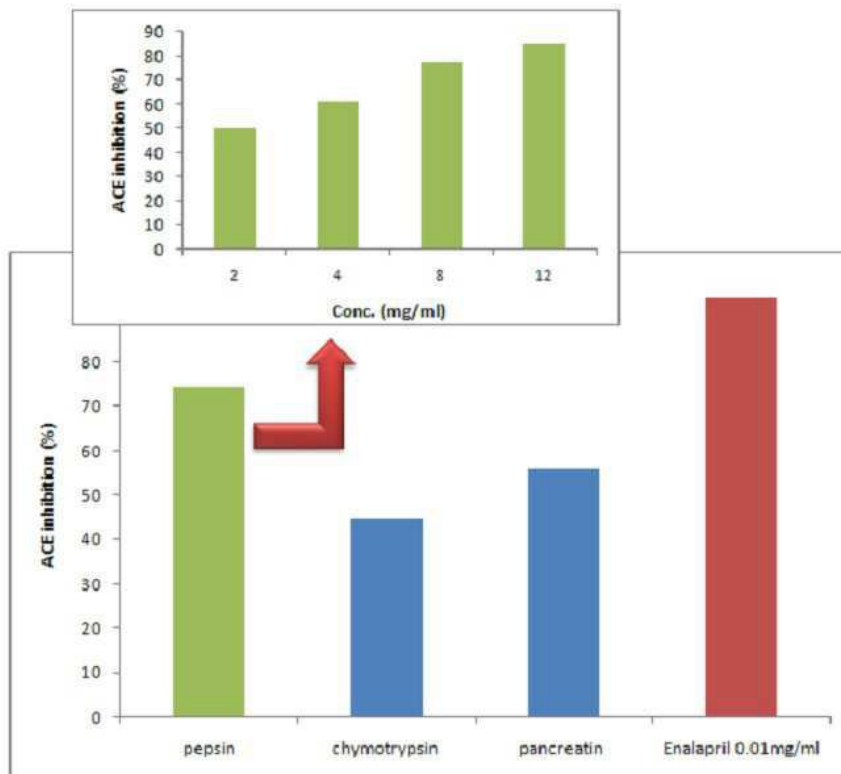
도면4



도면5



도면6



도면7

