



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년03월13일
(11) 등록번호 10-1115560
(24) 등록일자 2012년02월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 5/06 (2006.01) C07K 5/062 (2006.01)
A61K 38/05 (2006.01) A61P 9/12 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7005091(분할)
(22) 출원일자(국제) 2004년07월30일
심사청구일자 2011년03월03일
(85) 번역문제출일자 2011년03월03일
(65) 공개번호 10-2011-0039379
(43) 공개일자 2011년04월15일
(62) 원출원 특허 10-2006-7000144
원출원일자(국제) 2004년07월30일
심사청구일자 2009년04월23일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2004/010929
(87) 국제공개번호 WO 2005/012334
국제공개일자 2005년02월10일
(30) 우선권주장
JP-P-2003-285007 2003년08월01일 일본(JP)
(56) 선행기술조사문헌
Biochimica et Biophysica Acta, 제785권,
제30-35면 (1984년)

(73) 특허권자
칼피스가부시키가이샤
일본 도쿄도 시부야구 에비스미나미 2초메 4반 1
고
(72) 발명자
야마모토 나오유키
일본 229-0006 가나가와켄 사가미하라시 후치노베
5-11-10 칼피스가부시키가이샤 기반 기쥬쓰 겐큐
쇼 내
미즈노 세이이치
일본 229-0006 가나가와켄 사가미하라시 후치노베
5-11-10 칼피스가부시키가이샤 기반 기쥬쓰 겐큐
쇼 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
송봉식, 정삼영

전체 청구항 수 : 총 3 항

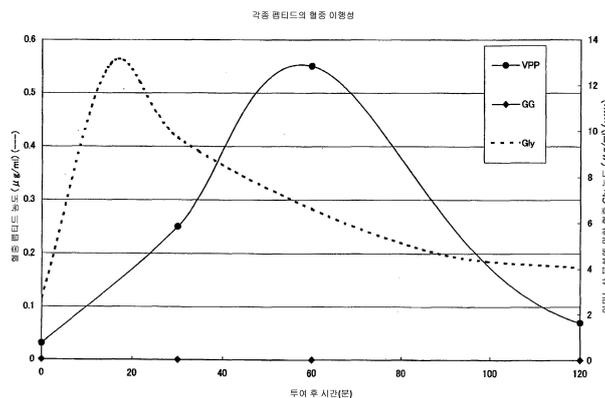
심사관 : 이효진

(54) 발명의 명칭 생체내 비분해성 펩티드, 안지오텐신 변환효소 저해제, 의약 및 기능성 식품

(57) 요약

본 발명은, 경구 투여 등에 의해 투여했을 때에 생체내에서 흡수되기 쉽고, 또한 분해되기 어렵고, 생체내에서 혈압강하 작용 등의 기능을 유효하게 발현하는 것을 기대할 수 있는 신규한 생체내 비분해성 펩티드, 이 펩티드를 사용한 ACE 저해제 및 생체내에서 유효하게 혈압강하 작용을 기대할 수 있는 의약 또는 기능성 식품을 제공한다. 이 생체내 비분해성 펩티드는, Ile Pro, Glu Pro, Arg Pro, Gln Pro, Met Pro 및 Ser Pro Pro로 이루어지는 군으로부터 선택되는 카르복시 말단에 Pro를 갖는 디펩티드 또는 트리펩티드이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

니시무라 신고

사망

고토우 다카노부

일본 229-0006 가나가와켄 사가미하라시 후치노베
5-11-10 칼피스가부시키가이샤 기반 기쥬쯔 겐큐쇼
내

마츠우라 게이이치

일본 229-0006 가나가와켄 사가미하라시 후치노베
5-11-10 칼피스가부시키가이샤 기반 기쥬쯔 겐큐쇼
내

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

Gln Pro로 이루어지는 생체내 비분해성 펩티드 또는 그 염을 유효성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 안지오텐신 변환효소 저해제.

청구항 3

제 2 항에 기재된 안지오텐신 변환효소 저해제를 포함하고, 혈압강하 작용을 나타내는 것을 특징으로 하는 의약.

청구항 4

제 2 항에 기재된 안지오텐신 변환효소 저해제를 포함하고, 혈압강하 작용을 나타내는 것을 특징으로 하는 기능성 식품.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은, 경구투여 등에 의해 투여했을 때에 생체내에서 흡수되기 쉽고, 또한 분해되기 어려운 신규한 생체내 비분해성 펩티드, 이 펩티드를 유효성분으로 하는 안지오텐신 변환효소 저해제, 이 저해제를 포함하는 혈압강하 작용을 나타내는 의약 및 특정 보건용 식품 등의 기능성 식품에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 종래부터, 안지오텐신 변환효소(이하, ACE라고 약칭함) 저해활성, 혈압강하 작용, 항균활성, 칼슘 가용화 작용, 면역조절 작용 등의 여러 기능을 갖는 펩티드가 다수 보고되어, 식품 및 의약 등에 이용되고 있다.

[0003] 상기 ACE는 생체내에서 전구체인 안지오텐신I로부터 혈관수축 활성을 갖는 안지오텐신II로 변환하여 혈압을 상승시킨다. 이 때문에, ACE 저해활성을 갖는 펩티드는, ACE를 저해함으로써 생체내에서 안지오텐신II의 생산을 억제하므로 강하작용을 발휘하는 것이 기대되고 있다. 이러한 ACE 저해활성을 갖는 펩티드에 대해서도, 예를 들면 특허문헌 1~3등에 도시되는 바와 같이 다수 보고가 되어 있다.

[0004] 그런데, 일반적으로 소화관으로부터 혈중에 흡수되어, 생체내 조직에서 기능을 발현하는 타입의 펩티드는, 생체내에서의 흡수 효율이 높고, 생체내에서의 각종 분해효소군에 의한 분해저항성이 높은 생체내 비분해성 펩티드가 유효한 것으로 추정된다. 예를 들면, 특허문헌 4에는, 디펩티드 및 트리펩티드를 주성분으로 하는 평균 쇄길이 3 이하의 저분자 펩티드가 장관 흡수성이 우수한 것이 기재되어 있다. 그러나, 어떤 펩티드 등을 포함하는 경우에 생체내에서의 분해저항성이 높아지는 지에 대한 상세는 관명되지 않았다.

[0005] 그래서, 생체내에서의 흡수효율 및 분해저항성이 높고, ACE 저해활성 등의 유용한 기능을 생체내에서 유효하게 발현할 수 있는 펩티드의 개발이 요망되고 있다.

[0006] 특허문헌 1: 일본 특개평 2-62828호 공보

[0007] 특허문헌 2: 일본 특개평 3-120225호 공보

[0008] 특허문헌 3: 일본 특개평 6-40944호 공보

[0009] 특허문헌 4: 일본 특개평 5-252979호 공보

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 본 발명의 과제는, 경구투여 등에 의해 투여했을 때에 생체내에서 흡수되기 쉽고, 또한 분해되기 어렵고, 생체내에서 혈압강하 작용 등의 기능을 유효하게 발현하는 것을 기대할 수 있는 신규한 생체내 비분해성 펩티드를 제공하는 것에 있다.
- [0011] 본 발명의 다른 과제는, 생체내에서 흡수되기 쉽고, 또한 분해되기 어려운 생체내 비분해성 펩티드를 유효성분으로서 포함하고, 생체내에서 유효하게 안지오텐신I 변환효소 저해활성을 나타내는 안지오텐신 변환효소 저해제를 제공하는 것에 있다.
- [0012] 본 발명의 다른 과제는, 생체내에서 흡수되기 쉽고, 또한 분해되기 어려운 생체내 비분해성 펩티드를 유효성분으로서 포함하고, 생체내에서 유효하게 혈압강하 작용을 기대할 수 있는 의약 또는 기능성 식품을 제공하는 것에 있다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명자들은 예의 연구를 행한 결과, 생체흡수성이 우수한 디펩티드 및 트리펩티드에 있어서, 카르복시 말단이 Pro인 디펩티드 Xaa Pro 또는 트리펩티드 Xaa Pro Pro 배열(Xaa는 임의의 아미노산을 나타냄)을 갖는 펩티드가 생체내에서 분해되기 어렵고, 그 기능을 생체내에서 유효하게 발현하는 것을 기대할 수 있는 것을 발견했다. 그리고, 이러한 배열을 갖는 디펩티드 및 트리펩티드 중 특정한 배열을 갖는 것이, ACE 저해활성 등이 우수한 것을 발견하고 본 발명을 완성했다.
- [0014] 본 발명에 의하면, Ile Pro, Glu Pro, Arg Pro, Gln Pro, Met Pro 및 Ser Pro Pro로 이루어지는 군으로부터 선택되는 카르복시 말단에 Pro를 갖는 생체내 비분해성 펩티드가 제공된다.
- [0015] 또 본 발명에 의하면, Ile Pro, Glu Pro, Arg Pro, Gln Pro, Met Pro 및 Ser Pro Pro중 적어도 1종으로 이루어지는 카르복시 말단에 Pro를 갖는 생체내 비분해성 펩티드 또는 그 염을 유효성분으로 포함하는 ACE 저해제가 제공된다.
- [0016] 또한 본 발명에 의하면, 상기 ACE 저해제를 포함하고, 혈압강하 작용을 나타내는 의약 또는 기능성 식품이 제공된다.
- [0017] 더욱이 또 본 발명에 의하면, 혈압강하 작용을 갖는 기능성 식품 또는 의약을 제조하기 위한, 상기 ACE 저해제의 사용이 제공된다.
- [0018] (발명을 실시하기 위한 최량의 형태)
- [0019] 이하, 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다.
- [0020] 본 발명의 생체내 비분해성 펩티드는, Ile Pro, Glu Pro, Arg Pro, Gln Pro, Met Pro 및 Ser Pro Pro중 적어도 1종으로 이루어지는 카르복시 말단에 Pro를 갖는 디펩티드 또는 트리펩티드이다.
- [0021] 여기에서, 생체내 비분해성 펩티드란 생체의 장관으로부터 흡수되었을 때에, 생체내 펩티다제군에 대해 분해저항성이 높다, 카르복시 말단에 Pro를 갖는 디펩티드 Xaa Pro 또는 트리펩티드 Xaa Pro Pro를 의미한다.
- [0022] 본 발명의 생체내 비분해성 펩티드는, 예를 들면 해당하는 아미노산을 기초로 일반적인 유기합성법 등에 의해 조제할 수 있다. 또, 예를 들면 짐승젖 카세인 등의 식품 단백질을 유산균 등을 사용하여 발효법에 의해 분해한 후, 정제하는 방법, 게다가, 식품 단백질을 적당한 프로티나제 및 펩티다제를 조합시켜서 효소법에 의해 가수분해한 후, 정제하는 방법 등에 따라 얻을 수 있다.
- [0023] 상기 정제는, 반드시 디펩티드 또는 트리펩티드를 단리 할 때까지 행할 필요는 없고, 그 농도가 높아지도록 공지의 정제법을 적당하게 조합시켜서 농축(정제하면 좋다. 상기 짐승젖 카세인으로서, 예를 들면, 우유, 마유, 염소유, 양유 등의 카세인을 들 수 있고, 특히 우유 카세인을 바람직하게 사용할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 ACE 저해제는, Ile Pro, Glu Pro, Arg Pro, Gln Pro, Met Pro 및 Ser Pro Pro중 적어도 1종으로 이루어지는 카르복시 말단에 Pro를 갖는 생체내 비분해성 펩티드, 즉 상기 본 발명의 생체내 비분해성 펩티드 또는 그 염을 유효성분으로서 포함한다.
- [0025] 상기 펩티드의 염으로서, 약학적으로 허용할 수 있는 염 등이 바람직하고, 예를 들면, 염산염, 황산염, 인산염 등의 무기산염, 아세트산염, 트리플루오로 아세트산염, 시트르산염, 말레산염, 푸마르산염, 락트산염, 타르

타르산염 등의 유기산염을 들 수 있다.

- [0026] 본 발명의 ACE 저해제에는, 영양적 밸런스나 풍미 등을 개선하기 위해서, 각종 보조첨가제를 함유시킬 수도 있다. 예를 들면 각종 탄수화물, 지방질, 비타민류, 미네랄류, 감미료, 향료, 색소, 텍스처 개선제 등을 함유시킬 수 있다.
- [0027] 본 발명의 ACE 저해제의 사용량은, 유효성분으로서 함유되는 펩티드 및 그 염의 종류에 따라 적당하게 선택할 수 있고, 특별히 한정되지 않는다. 예를 들면, 기능성 식품 등에 첨가하여 인간이 상용하는 경우에는, 펩티드량으로서 1회당 0.01~100mg/kg 정도가 바람직하지만, 그 상한은 특별히 한정되지 않는다.
- [0028] 본 발명의 ACE 저해제를 혈압강하 작용을 나타내는 의약에 함유시켜서 사용하는 경우에는, 상법에 따라서 약학적으로 허용되는 담체와 함께 여러 제형으로 할 수 있다. 예를 들면, 경구용 고형제제로 하는 경우에는, 부형제, 필요에 따라서 결합제, 붕괴제, 활택제, 착색제, 교미제, 교취제 등을 가한 후, 상법에 따라 정제, 피복 정제, 과립제, 산제, 캡슐제 등으로 할 수 있다.
- [0029] 이러한 의약에는, 본 발명의 ACE 저해제의 유효성분 이외의 ACE 저해활성 또는 혈압강하 작용을 나타내는 펩티드 등의 성분을 함유시킬 수도 있다.
- [0030] 본 발명의 ACE 저해제는, 혈압강하 작용을 소구(訴求)하는 특정 보충용 식품 등의 기능성 식품에 함유시켜서 사용할 수 있다. 이 식품으로서는, 예를 들면, 음료, 요구르트, 유동식, 젤리, 캔디, 레토르트 식품, 정과(錠菓: 정제 모양의 과자), 쿠키, 카스텔라, 빵, 비스킷, 초콜릿 등을 들 수 있다.
- [0031] 또한, 캡슐 또는 정제 등의 형태로 해서 서플리먼트로 만들어도 된다.

발명의 효과

- [0032] 본 발명의 생체내 비분해성 펩티드는, 카르복시 말단에 Pro를 갖는 특정 배열의 디펩티드 또는 트리펩티드이므로, 생체내에서 흡수되기 쉽고, 또한 분해되기 어렵고, 생체내에서 혈압강하 작용 등의 기능을 유효하게 발현하는 것을 기대할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 ACE 저해제는, 상기 생체내 비분해성 펩티드를 유효성분으로서 포함하므로, 생체내에서 유효하게 ACE 저해활성을 발현할 수 있는 것을 기대할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 의약 및 기능성 식품은, 상기 ACE 저해제를 포함하므로, 생체내에서, 유효하게 혈압강하 작용이 얻어지는 것을 기대할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1은 참고예 1에서 행한 Xaa Pro, Xaa Pro Pro의 생체내 소화흡수성 및 분해저항성 평가결과를 도시하는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 더욱 상세하게 설명하지만, 본 발명의 범위는 이것들에 한정되지 않는다.
- [0037] 실시예 1
- [0038] 우유 유래 카세인중에 존재하는 Xaa Pro 및 Xaa Pro Pro와 동일한 배열을 갖는 펩티드 중, Ile Pro, Glu Pro, Arg Pro, Gln Pro, Met Pro 및 Ser Pro Pro의 각 펩티드를 화학적으로 합성한((주)토레 리서치 센터제, 순도 95% 이상). 이들 펩티드를 여러 농도로 용해한 용액에 대해 이하에 나타내는 방법에 따라서 ACE 저해활성을 측정했다. 그리고, ACE 저해율이 50%로 되는 펩티드 농도(μM)를 구하고 IC50값으로 했다. 결과를 표 1에 나타낸다.
- [0039] <ACE 저해활성의 측정>
- [0040] 소 페 유래의 ACE(와코준야쿠 가부시기가이사제)를 0.1U가 되도록 pH8.3의 0.1M 붕산 완충액에 용해하고, ACE 용액을 조제했다. 표 1에 나타내는 각 펩티드 5mg/ml액을 각 펩티드의 IC50값에 따라 적절하게 증류수로 희석한 희석 용액 80 μl 와, 300mM의 NaCl을 포함하는 5mM 히푸릴히스티딜로이신(sigma사제) 200 μl 의 용액과, 상기에서 조제한 ACE 용액 20 μl 를 시험관에 첨가하고, 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 반응시켰다. 그 후 1N염산(와코준야쿠사제) 250 μl 를 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 아세트산 에틸(와코준야쿠사제) 1.7ml를 가하고, 교반후, 아세트산

에틸층 1.4ml를 시험관에 채취하고, 120℃에서 약 60분간 증발 건조시켰다. 건조물에 1ml의 증류수를 가하고, 아세트산 에틸층에 추출된 히푸르산의 228nm에서의 흡광도를 측정했다. 또, 대조로서, 희석 용액을 첨가하지 않은 것, 및 희석 용액 및 ACE 용액을 첨가하지 않은 것에 대해서도 흡광도를 측정했다. 이들 흡광도로부터 ACE 저해활성을 이하의 식으로 산출했다.

[0041] ACE 저해활성(%)=[(A-B)/A]×100

[0042] A:(희석 용액을 첨가하지 않고 ACE 용액을 첨가한 것에 있어서의 흡광도)-(희석 용액 및 ACE 용액을 첨가하지 않은 것에 있어서의 흡광도)

[0043] B:(희석 용액 및 ACE 용액을 첨가한 것에 있어서의 흡광도)-(희석 용액을 첨가하고, ACE 용액을 첨가하지 않은 것에 있어서의 흡광도)

표 1

펩티드 배열	IC50값(μM)
Ile Pro	443.9
Glu Pro	174.7
Arg Pro	275.2
Gln Pro	65.8
Met Pro	135.3
Ser Pro Pro	44.5

[0045] 참고예 1

[0046] <Xaa Pro, Xaa Pro Pro의 생체내 소화흡수성 및 분해저항성 평가>

[0047] 카세인중에 존재하는 Xaa Pro 및 Xaa Pro Pro 배열을 갖는 펩티드의 생체내에서의 소화흡수성 및 분해저항성을 확인하기 위해서 래트에 있어서의 경구투여후의 혈중 이행성을 이하와 같이 시험했다.

[0048] 우선, 6주령의 SD 래트 2마리에, Xaa Pro Pro의 예로서 Val Pro Pro를, 또 Pro를 갖지 않는 디펩티드로서 Gly Gly를 각각 500mg/마리로 경구투여 하고, 문맥으로부터의 경시적 채혈에 있어서의 각종 펩티드의 혈중 이행성을 측정했다. 결과를 도 1에 나타낸다.

[0049] 도 1로부터, Gly Gly는 용이하게 생체내에서 분해를 받아 Gly가 검출되었지만, Val Pro Pro는 비교적 안정하게 혈액중에 흡수되는 것이 확인되었다. 이 결과보다, Xaa Pro 및 Xaa Pro Pro 배열의 디펩티드 및 트리펩티드는 생체내에서의 소화흡수성 및 분해저항성이 높은 것 것으로 추정할 수 있다. 따라서, 분발명에 따른 Ile Pro, Glu Pro, Arg Pro, Gln Pro, Met Pro 및 Ser Pro Pro도 생체내에서의 소화흡수성 및 분해저항성이 높은 것으로 추정할 수 있다.

도면

도면1

