

특집 : 수산자원의 건강기능성 연구 및 산업화

**수산가공부산물로부터 새로운 생리기능성
소재 탐색 및 개발**

김 세 권

부경대학교 화학과

Development of Novel Bioactive Substances from Fishery Byproducts

Se-Kwon Kim

Department of Chemistry, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

최근 급속한 경제성장과 의학분야의 발달로 사람의 평균 수명은 증가하고 있는 반면, 식생활의 서구화, 각종 스트레스, 음주, 흡연 등으로 인하여 암, 치매, 뇌졸중, 심근경색, 골다공증, 당뇨병 등과 같은 각종 성인병 및 난치병으로 인한 사망이 크게 증가하고 있다. 이러한 질병의 치료에 사용되는 의약품 및 생리 기능성물질들은 주로 화학적 합성에 의해 생산되고 있기 때문에 인체에 부작용을 유발할 뿐만 아니라 외국으로부터 수입에 의존하고 있다. 또한 현재까지 신약개발이나 선도물질의 탐색은 육상생물을 대상으로 진행되어 왔으나 그 한계에 이르러 이제는 해양생물로 관심이 집중되고 있다.

해양생물은 지구전체 생물 종의 약 80% 이상을 차지하고 있으며, 그 종의 수는 50만종 이상으로 알려져 있다. 해양생물은 종의 다양성과 더불어 진화과정의 독자성 및 서식환경의 특이성이라는 요인에 의하여 기존의 육상생물이 보유·생산할 수 없는 화학물질 및 생체분자들을 함유하고 있으며, 이들의 생합성·분해에 관여하는 특이한 신중효소(novel enzyme)와 보조인자(cofactor)들도 존재하고 있어서 신약개발과 생리 기능성 소재에 대한 연구에 관심이 집중되고 있다. 이러한 해양생물이 보유한 대사산물은 그 양이 매우 적어 그들의 생리활성 및 구조를 밝히기가 매우 어려웠지만 이들 물질을 인체에 투여하면 강력한 생리활성을 나타내는 물질들이 상당히 많이 존재한다(1-14).

또한 미국을 비롯한 구미 선진국에서는 이미 오래전부터 해양생물을 이용한 생리기능성 물질의 탐색에 많은 연구를 거듭하여 현재는 그 이용법이 개발되었거나 임상적 이용을 위한 검토가 진행되고 있어 가까운 미래에 의약품으로의 활용이 기대되고 있다(14-21). 이렇듯 해양에 살고

있는 3만종 이상의 어류를 포함한 해양자원은 육상 생물 자원의 부족량을 보완할 수 있는 생물자원으로 인간의 3대 영양소인 단백질, 지방 및 탄수화물의 공급원으로서 식품산업뿐만 아니라 건강기능성 식품 및 의약산업분야에서의 원료로서도 그 중요성이 점점 높아지고 있다.

우리 나라 수산물의 총 생산량(2001년도)은 335만톤이고, 여기에 수입량(42만톤)을 합친 총공급량은 376만톤이다. 이 중 가공원료로 사용되는 것은 총공급량의 83.8%이며, 선어(鮮魚)로 이용된 것은 16.2%로 가공율이 매년 현저하게 높아지고 있다(22). 총어획량에서 가공원료로 사용되는 양은 169만톤으로 61%만이 체중화되고 있다. 또한 국민들의 식생활의 변화로 수산가공부산물이 매년 증가하고 있는 실정이다. 수산가공 부산물인 어두, 어피, 어뼈, 내장 그리고 어체의 자숙액, 폐류와 갑각류의 폐각 및 껍질은 극히 일부만이 사료로 이용되고 있을 뿐 대부분이 폐기되어 환경문제를 야기시키고 있어 자원의 효율적인 활용이 이루어지지 않고 있다. 이들 수산가공 부산물 및 미이용 해양생물자원들은 다양한 생리기능성 물질들을 함유하고 있어 이를 보다 고부가가치 상품으로 활용할 수 있는 연구가 필요하다.

한 예로서 게껍질에 대량 함유되어 있는 키틴, 키틴의 유도체인 키토산과 키토산올리고당을 대상으로 항종양성(면역능 증강 및 부활작용), 항균성, 항산화성, 항곰팡이성, 콜레스테롤 개선 효과 및 고혈압 억제작용 등 여러가지 생리활성이 있는 것으로 밝혀졌으며, 또한 이들의 체내 안전성도 독성실험을 통하여 검토되었다(23-34).

한편, 수산가공 부산물 중의 어뼈는 그 조성분과 특성이 인체의 뼈와 유사하여 칼슘보충제로서의 이용에 관한 연

구가 다수 진행되고 있지만 체내 흡수율이 높지 않아 산업화에 어려움이 있었다. 이러한 문제를 해결하고자 어뼈를 이용하여 생체내 흡수율을 높이기 위한 새로운 형태의 칼슘흡수촉진제가 개발되었으며(41,42), 어뼈에 포함되어있는 hydroxyapatite성분을 이용하여 인체친화성 인공뼈도 개발되었다(43). 또한 수산가공 부산물이 어피로부터 젤라틴을 추출한 다음 이를 이용하여 고혈압 치료제 및 항산화제 개발에 관한 연구가 이루어졌다(35-40). 따라서 본 논문에서는 상기에서 서술한 수산가공부산물 유래의 생리기능성 물질에 관한 연구결과를 중심으로 소개하고자 한다.

탈아세틸화도가 다른 키토산 및 그 올리고당의 생리기능성

해양동물 중에서 갑각류인 게와 새우 등의 껍질에는 최근에 주목을 받고 있는 생물소재로서 키틴이 다량 함유되어 있어 이를 활용하기 위한 연구가 이루어져 왔다. 키틴은 연간 1,000억톤 정도로 지구상에서 셀룰로오스 다음으로 미이용 자원으로서 현존하는 최후의 생물질(biomass)이라고 할 수 있다. 키틴은 N-아세틸-글루코사민이 β -1,4-글리코시드 결합한 뮤코다당류의 일종으로서 셀룰로오스의 글루코오스잔기 중 C-2의 수산기가 아세틸아미노기로 치환된 화학구조식을 가지고 있으며, 키토산은 키틴에 존재하는 아세틸기가 제거된 구조식을 갖고 있다(Fig. 1).

키틴은 보통 용매에 불용성이기 때문에 그 용도가 매우 제한되어, 대부분 키토산의 원료로 사용되고 있다. 키토산은 키틴을 강알칼리로 탈아세틸화함으로써 제조되며, 아세트산, 젯산 및 포름산 등과 같은 유기산 그리고 약한 염산 및 질산 등과 같은 무기산에 용해된다. 탈아세틸화도가 다른 세 종류의 키토산(50%, 75% 및 90%)은 계겹질로부터 추출된 키틴을 부분적으로 탈아세틸화시켜 제조하였으며, 키토산 올리고당은 막 반응기에서 연속적으로 효소분해하여 분자량별(1 kDa 이하, 1-5 kDa, 5-10 kDa)로 분획하였다. 즉, 키토산 1%(w/v) 용액 500 mL를 막반응

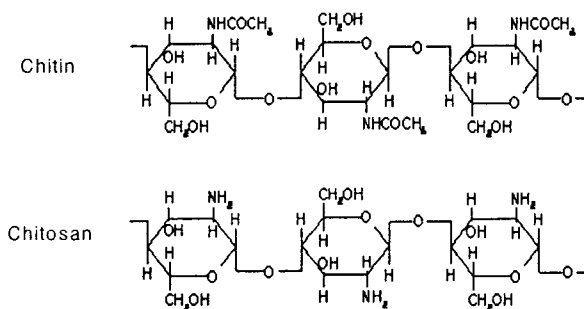


Fig. 1. Structure of chitin and chitosan

기에 넣고 *Bacillus pumilus* BN-262 유래 키토산 가수분해효소를 25 unit 되도록 첨가하여 3시간 동안 반응시켜 연속적으로 막 반응기를 통하여 키토산 올리고당을 생산하였다(Fig. 2).

이렇게 생산된 분자량별 키토산 올리고당에 대한 체내 독성을 살펴본 결과, 2,000 mg/kg의 올리고당을 쥐에 경구투여 때까지도 현저히 낮은 독성을 유지하는 것을 알 수 있었다(23). 또한 분자량별 올리고당의 생리활성도 항균성, 자유라디칼 소거활성, 항암활성 및 알츠하이머성 치매질환 유발효소인 β -secretase 저해 효과에 대하여 다음과 같이 검토되었다(24-34).

항암 활성

키틴·키토산의 생리활성 중 면역능을 증강시켜 항암 활성을 검토하려는 연구는 초기에 다당류를 그대로 마우스 복강내 투여하여 그 효과를 관찰하였지만, 키틴 및 키토산은 모두 물에 불용성이기 때문에 재현성이 있는 결과를 얻기 힘들어서 그 효과를 확인하는데 많은 어려움이 있다. 따라서 수용성 키틴·키토산 올리고당을 제조하여 그 활성을 검토하게 되었다(24,33).

일반적으로 항암성 다당류는 산분해 등에 의해서 분자량이 감소될 경우, 예외 없이 활성을 잃어버리기 때문에 이들 키틴·키토산 올리고당도 다른 대부분의 다당류와 같은 현상이 일어날 것으로 예상되어 면역활성의 발현을 기대하지 못하였으나, 90% 탈아세틸화된 키토산을 가수분해시켜서 제조한 분자량 범위가 1~5 kDa인 키토산 올리고당의 경우 매우 높은 항암 활성을 나타내었다(Table 1).

항균 및 항곰팡이 활성

키토산의 항균 활성의 메카니즘은 양전하를 가진 키토산의 아미노기가 세균 세포벽의 음전하와 이온결합을 형성하여 세포분열을 저해함으로써 세균의 성장을 억제하

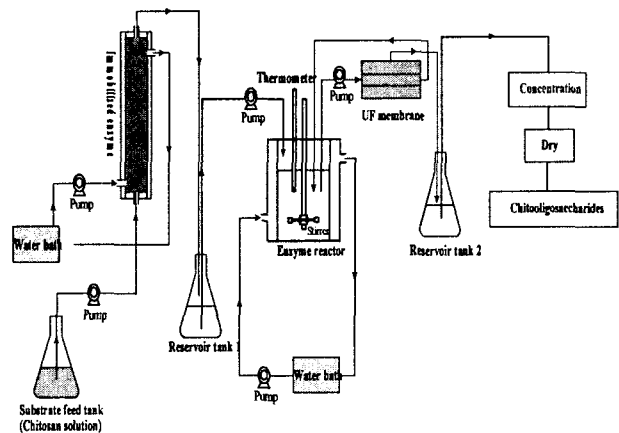


Fig. 2. Continuous production of chitosan oligosaccharides in ultrafiltration membrane enzyme reactor.

Table 1. Effect of COSs on tumor growth in BALB/c mice implanted with sarcoma 180 (S 180) tumor cells

sample	Dose (mg/kg/day)	Body weight (g)		Tumor weight (mg)	Inhibition rate (%)
		Initial	Final		
Control		20.1±1.30	21.5±3.08	1032.5±839.5	
COS I ^a	50	20.2±0.92	17.1±1.97**	1147.0±933.9	-
	20	20.3±1.10	22.8±2.66	901.0±741.7	12.7
	10	20.3±1.27	22.8±3.43	395.5±284.8*	61.7
COS II ^b	50	2.05±1.18	23.6±2.37	345.2±218.6*	66.6
	20	20.5±1.04	23.7±2.69	665.6±340.1	35.5
	10	20.0±1.34	21.1±3.67	739.5±351.8	28.4
COS III ^c	50	20.1±1.45	21.7±3.98	904.0±510.3	12.4
	20	20.1±1.14	21.0±3.16	874.8±516.6	15.3
	10	20.0±1.26	23.3±2.20	973.5±417.1	5.7

^aCOS I: 10,000~5,000 Da, ^bCOS II: 5,000~1,000 Da, ^cCOS III: below 1,000 Da.

*p<0.05, **p<0.01.

는 것으로 추정된다. 이에 대한 간접적인 증거로서 키토산의 탈아세틸화도에 따른 항균활성을 검토하였다(25,29,30). 탈아세틸화도가 다른 세 종류의 키토산(50%, 75% 및 90%)을 계집질로부터 추출된 키토산을 부분적으로 탈아세틸화시켜 제조하였으며, 키토산 올리고당은 막반응기에서 연속적으로 효소분해하여 분자량별(1 kDa 이하, 1~5 kDa, 5~10 kDa)로 분획하였다. 탈아세틸화도가 서로 다른 키토산의 항균 및 항곰팡이 활성에 대하여 검토한 결과, 항균활성은 90% 탈아세틸화된 키토산이 가장 높은 항균활성을 나타내었으며, 키토산 올리고당의 항균활성은 분자량 크기에 따라 크게 의존하였다(Table 2).

이들의 항균활성은 시험된 박테리아의 종에 따라서도 다르게 나타났다. 항균 및 항곰팡이 활성은 탈아세틸화도가 높을수록 즉, 유리 아미노기가 많을수록 이들 활성이 강한 것으로 보아 이것은 양전하를 가진 키토산의 아미노기가 곰팡이 세포벽의 음전하와 결합하여 생육을 저해시키는 것으로 판단된다(Fig. 3).

자유라디칼 소거 활성

항산화제(antioxidant)란 산화를 억제하거나 지연시키는 물질을 말하며, 이에 대한 것은 1940년대 자동산화에 대한 연구가 이루어진 이래로 자동산화 방지와 인간의 노화억제라는 측면으로 연구가 진행되어 왔다. 이는 기능상

Table 2. Antimicrobial activities of chitosan and COSs (DA: 90%) against gram (+) bacteria

Gram (+) bacterium ¹	Bactericidal activity (%)			
	Chitosan	COS I	COS II	COS III
<i>Streptococcus mutans</i>	100	100	99	99
<i>Micrococcus luteus</i>	>99	70	67	63
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	97	95	93
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	>99	82	57	23
<i>Bacillus subtilis</i>	98	63	60	63

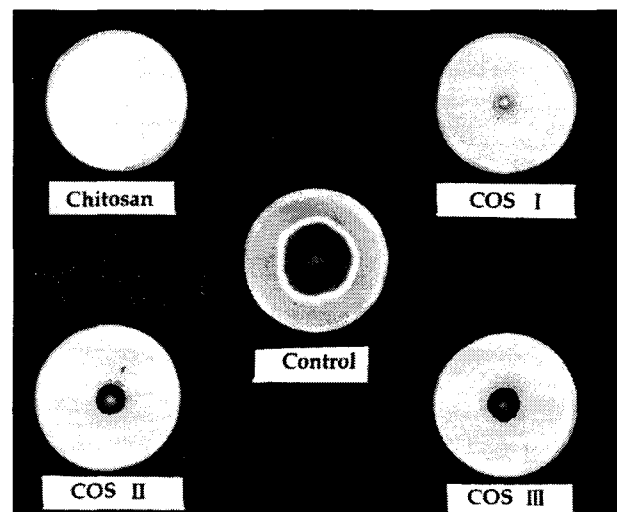


Fig. 3. Antifungal activity of COSs against *Alteraria mali* (COS I: 10,000~5,000 Da, COS II: 5,000~1,000 Da, COS III: below 1,000 Da).

자동산화의 연쇄반응을 억제하는 자유라디칼 소거제, 과산화물을 비라디칼로 분해하여 불활성화하는 과산화물 분해제, 미량금속의 산화 촉진작용을 억제하기 위한 금속 제거제, 자동산화에 있어서 라디칼 저해제와 공존시 항산화 작용을 증가시키는 상승제 및 singlet oxygen quencher 등으로 분류된다.

한편 자유라디칼과 활성산소종은 매우 불안정하여 생체내의 다른 그룹 또는 물질과 즉시 반응하는데, 이것들은 암, 동맥경화, 위궤양 및 AIDS와 다른 많은 질병들에 있어서 중요한 역할을 한다. 또한 자유라디칼은 노화와도 밀접한 관련이 있어, 이러한 자유라디칼 종을 소거함으로써 노화뿐만 아니라 다양한 질병을 예방할 수 있다. 키토산 및 키토산 올리고당의 자유라디칼 소거 활성은 안전한 자유라디칼인 DPPH 라디칼, 반응성이 가장 큰 hydroxyl 라디칼, superoxide 라디칼에 대하여 측정하였다(27,28).

분자량별로 분획된 키토산 올리고당의 DPPH 라디칼 소거능은 분자량이 1~5 kDa의 분획물이 가장 우수하였는데 0.1%의 농도에서 천연 항산화제인 토코페롤과 같은 소거능을 나타내었다. 또한 hydroxyl 라디칼 및 superoxide 라디칼에 대한 소거능도 분자량이 1~5 kDa의 분획물이 가장 우수한 소거 활성을 나타내었다 (Fig. 4).

알츠하이머성 치매질환 예방 및 치료소재 개발

노인성 치매는 알츠하이머성 및 혈관성 질환으로 크게 대별되며, 현재 치매질환자의 절반이 알츠하이머성 치매 질환으로 밝혀져 있다. 알츠하이머성 치매 질환자들에 공통적으로 나타나는 노인반점(senile plaques)의 주요 요소인 베타아밀로이드(β -amyloid, A β) 펩티드는 그 전구대사단백질인 amyloid precursor protein(APP)으로부터 유래한다(Fig. 5).

이 APP는 대부분의 경우, α -secretase와 γ -secretase

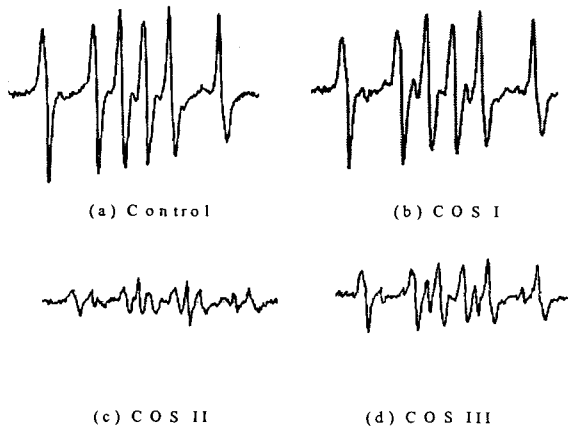


Fig. 4. Electron spin resonance (ESR) spectrum of COSs on superoxide radical (COS I: 10,000~5,000 Da, COS II: 5,000~1,000 Da, COS III: below 1,000 Da).

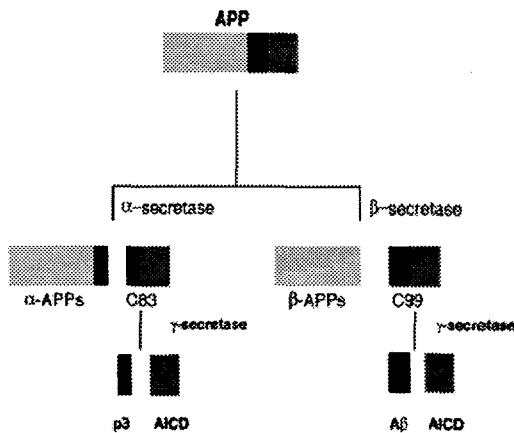


Fig. 5. Schematic of the amyloid precursor protein (APP) and its metabolites relevant to Alzheimer's disease.

라고 불리우는 proteases에 의하여 절단되어 P3 펩티드와 세포의 바깥쪽으로 sAPP α 라는 수용성 단백질을 방출하게 된다. 특이적으로 알츠하이머성 치매 질환자에서는 β -secretase와 γ -secretase가 활성화되어 A β 펩티드와 sAPP β 라는 단백질이 세포밖으로 방출이 된다. A β 펩티드는 42개의 아미노산 잔기로 이루어진 녹지 않는 성질을 가지며, 기억 및 인식과 관련된 뇌 영역에 침착되어 뇌세포의 아포토시스를 유발하는 것으로 알려져 있다. 따라서 알츠하이머성 치매질환을 유발시키는 관련 효소들 중에서 A β 펩티드의 생성에 가장 중요한 역할을 하고 있는 β -secretase에 대한 저해물질은 알츠하이머성 치매질환을 예방 및 치료할 수 있는 생리기능성 소재로 사용될 수 있다.

키토산으로부터 키토산의 제조 시 탈아세틸화도가 50%, 75%, 90%인 키토산의 β -secretase에 대한 저해활성은 합성기질에 대한 β -secretase의 초기 반응속도를 대조구로 하였을 때 0.9708 UF/sec로 나타났으며, 50%, 75% 및 90% 탈아세틸화된 키토산의 초기 반응속도는 각각 0.3609 UF/sec, 0.3108 UF/sec 및 0.1899 UF/sec로 나타났다. 이들 초기반응속도를 기준으로 β -secretase에 대한 저해활성은 각각 61.8%, 67.9% 및 80.3%로 나타났는데, 이것은 탈아세틸화도가 높은 키토산이 β -secretase에 대해 높은 저해활성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 키토산으로부터 키토산의 제조 시, 키토산의 피란(pyran)환에서 2위치의 2차아민으로부터 아세틸기(CH₃CO-)가 제거되어 1차아민이 외부로 노출된 키토산이 얻어진다. 탈아세틸화도의 증가에 의한 키토산의 β -secretase에 대한 저해활성은 외부로 노출된 키토산의 1차아민이 β -secretase의 활성부위 또는 보조부위에 작용하는 것으로 판단되었다.

탈아세틸화도가 각각 50%, 75% 및 90%인 키토산을 효소로 분해시킨 후, 분자량별(1 kDa이하, 1~5 kDa 및 5~10 kDa)로 분획된 키토산올리고당의 β -secretase에 대한 저해활성은 탈아세틸화도가 50%인 키토산을 분해하여 얻어진 분자량별 키토산올리고당은 분자량에 관계없이 β -secretase에 대해 모두 10%이하의 낮은 저해활성을 나타내었으며, 75% 키토산의 경우도 거의 10% 내외로 나타났다. 그러나 탈아세틸화도가 90%인 키토산을 분해하여 얻어진 분자량별 키토산올리고당의 경우, 1 kDa이하, 1~5 kDa 및 5~10 kDa범위의 키토산올리고당의 β -secretase에 대한 저해활성은 각각 46.5%, 50.4% 및 34.1%로 나타났다. 90% 탈아세틸화된 키토산올리고당을 분자량별(1 kDa이하, 1~3 kDa, 3~5 kDa, 5~10 kDa)로 더욱 세분하여 β -secretase에 대한 저해활성을 측정된 결과, 1 kDa이하, 1~3 kDa, 3~5 kDa 및 5~10 kDa범위의 키토산올리고당의 β -secretase에 대한 저해활성은 각각 46.5%, 60.6%, 74.8% 및 34.1%로 분자량 3~5 kDa 키토산올리고당이 가

장 높은 저해활성을 나타내었다. 그리고 키틴 및 키토산의 monomer인 N-acetylglucosamine과 glucosamine의 21.0%와 28.0%보다도 높게 나타났다. 따라서 분자량 3~5 kDa 범위의 키토산올리고당이 β -secretase의 활성을 50% 저해시킬 때의 농도(IC_{50} 값)로 나타낸 결과, IC_{50} 값은 0.126 mg/mL였다.

한편, 합성기질에 대한 β -secretase의 반응속도상수 Km 및 V_{max} 값은 각각 3.44 μ M 및 1.767 UF/sec였다. 그리고 분자량 3~5 kDa 범위의 키토산올리고당의 β -secretase에 대한 저해 방식은 Lineweaver-Burk plot에서와 같이 저해제의 농도에 관계없이 1/S축의 절편(-1/Km)이 동일한 값을 나타내어 비경쟁적 저해반응 양식을 나타내는 것을 알 수 있었다. 따라서 분자량 3~5 kDa 범위의 키토산올리고당의 2위치의 1차 아민은 β -secretase의 활성부위에 결합하여 저해하는 것이 아니라 보조부위에 결합하여 활성부위의 촉매작용을 저해한다는 사실을 알 수 있었다.

생선껍질로부터 항고혈압 치료제 및 항산화제 개발

생선껍질로부터 항고혈압 치료제 개발

고혈압은 발병과 혈압의 유지에 많은 인자가 관여하기 때문에 지금까지의 수많은 연구에도 불구하고 아직 그 기전이 완전하게 밝혀져 있지 않은 인체에서 혈압을 조절하는 기구인 renin-angiotensin system과 kallikrein-kinin system의 항상성이 유지되지 않을 때 혈압조절에 문제가 생기는 것으로 알려져 있다. 혈압조절에 관여하고 있는 인자 중의 하나인 angiotensin converting enzyme (ACE)은 angiotensin I을 angiotensin II로 전환하는 역할을 하는데 이 angiotensin II는 강력한 혈관수축작용을 갖고, 부신피질에서 알도스테론의 분비를 촉진함으로써 물과 Na^+ 의 배설을 억제한다. 또한 혈관확장 작용을 갖는 bradykinin을 불활성화 시킴으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다. 따라서 고혈압의 원인 중의 하나인 ACE의 활성을 저해하는 저해제의 개발이 고혈압 치료제 개발 가능성으로 제시되었다.

따라서 고혈압 치료제 개발의 목적으로 수산가공 부산물인 어피로부터 젤라틴을 추출한 후 이 젤라틴을 3단계 막효소반응기에서 연속적으로 가수분해시킨 가수분해물로부터 ACE 저해 펩티드를 분리·정제하여 구조를 밝혔으며, 아울러 이들과 유사한 서열을 갖는 펩티드를 합성하여 혈압강화 효과를 검토하였다(35-37). 분리·정제된 펩티드의 서열은 Gly-Pro-Leu (IC_{50} =2.65 μ M)과 Gly-Pro-Met (IC_{50} =17.13 μ M)이었으며, 또한 이들 펩티드 서열과 유사한 펩티드를 합성하여 ACE 저해 효과를 검토한 결과

Leu-Gly-Pro의 서열을 갖는 펩티드가 가장 우수한 ACE 저해활성을 나타내었다(IC_{50} =0.72 μ M).

생선껍질로부터 항산화제 개발

항산화제는 산화를 방지하는 물질을 통칭하는 것으로써 화학적 합성으로 제조된 BHT 등이 대부분 상업적으로 이용되고 있어 안전성이 뛰어난 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있다.

따라서 생선껍질유래 젤라틴으로부터 효소적 가수분해물들에 대한 항산화활성을 검토하였다(38-40). 수산가공장에서 대량으로 처리되어 폐기되는 명태껍질의 젤라틴을 이용하여 다양한 효소로 가수분해시킨 후, 이들 가수분해물에 대하여 지질 과산화 억제능력을 측정하였다. 그 결과, 천연항산화제인 토코페롤과 유사한 항산화활성이 나타났으며(Fig. 6), 이는 식품의 산화방지를 위한 펩타이드 첨가제로써 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

생선뼈로부터 수용성 칼슘 제조 및 인공뼈 개발

생선뼈로부터 수용성 칼슘 제조

수산가공 부산물인 생선뼈와 내장을 각각 가공공장에서부터 수거하여 내장으로부터 복합효소를 추출한 후 이를 이용하여 생선뼈에 붙어있는 생선육을 완전히 제거하여 생선뼈만을 얻었다(41,42). 이렇게 얻어진 생선뼈를 마쇄하여 다시 어류복합효소로 최적조건하에서 반응시킴으로써 생선뼈 수용성 칼슘을 제조하였다(Fig. 7). 또한 개와 새우 등의 갑각류 껍질의 키틴을 키토산으로 제조한 다음 키토산 분해효소를 이용한 막효소 반응기에서 저분자 키토산 올리고당(1,000 Da)을 분리하였다. 저분자 키토산 올리고당에 인산기를 부착시킨 저분자 인산화 키토산 올리고당을 칼슘흡수촉진물질(칼슘흡수강화제)로써 이용하였다.

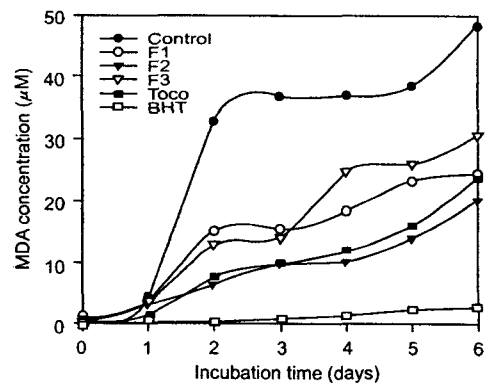


Fig. 6. Antioxidative activity of gelatin hydrolysates from Alaska pollack skin.

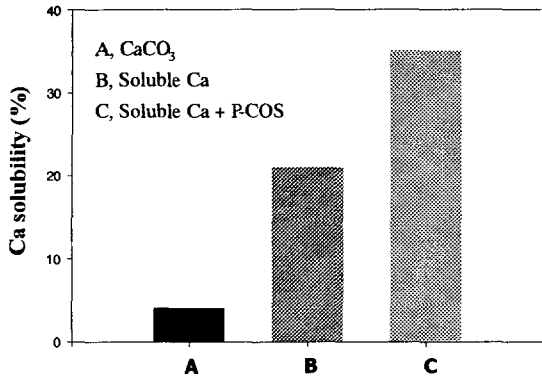
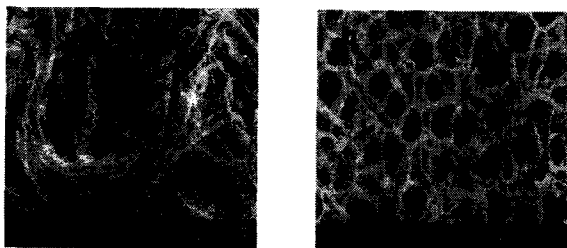


Fig. 7. Solubility of calcium extracted from hoki bone.

생선뼈 수용성 칼슘과 저분자 인산화 키토산 올리고당의 골다공증 치료효과를 확인하기 위해 4주 동안 칼슘 결핍시킨 쥐와 시판용 탄산칼슘 섭취군, 수용성 칼슘식이군, 그리고 수용성 칼슘 및 칼슘흡수촉진물질인 저분자 인산화 키토산 병용 섭취군에 대한 연구결과, 쥐의 혈중 칼슘 농도는 수용성 칼슘 식이군과 수용성칼슘 및 저분자 인산화 키토산 병용 섭취군이 칼슘결핍군의 것보다 상당히 증가한 것을 알 수 있으며, 시판용 탄산칼슘보다도 유의적으로 높았다.

쥐가 배설하는 분을 통한 1일 칼슘 배설량을 측정된 결과, 생선뼈 수용성 칼슘 식이군과 생선뼈 수용성 칼슘 및 저분자 인산화 키토산 올리고당을 병용 섭취시킨 식이군에서 분으로 배출되는 칼슘의 양은 칼슘 결핍군에 비해 약 15배 감소하였으며, 이는 장을 통해 많은 양의 칼슘이 체내로 흡수되는 것을 의미한다.

쥐 대퇴골의 칼슘함량은 칼슘 결핍군에 비해 칼슘식이 섭취군들에서 약 1.7배 정도 증가하였고, 칼슘식이군에서도 생선뼈 수용성 칼슘과 저분자 인산화 키토산 올리고당을 병용 섭취시킨 군에서 가장 높은 칼슘함량이 나타났다. 이 결과는 쥐 대퇴골의 밀도를 주사전자현미경(SEM)으로 측정된 미세구조에서도 시판칼슘보급제인 탄산칼슘군보다 생선뼈 수용성 칼슘과 저분자 인산화 키토산 올리고당을 병용 섭취시킨 군에서 조밀한 다공성을 확인할 수 있었다 (Fig. 8).



(a) CaCO₃ (b) Soluble fish bone Ca

Fig. 8. SEM images of femur after 4 week diets.

생선뼈로부터 인공뼈 개발

최근 바이오 세라믹에 관한 연구와 개발이 활발하게 진행되어 세라믹의 일종인 인산칼슘에 폴리유산 공중합체와 같은 고분자 유기물을 결합시켜 실제 뼈와 거의 같은 탄성을 갖는 복합 재료를 개발했으며, 임상응용을 위해 시도되고 있다. 특히 합성품으로 시판되고 있는 인산칼슘계 세라믹의 하이드록시아파타이트(hydroxyapatite)는 복잡한 과정을 거쳐 제조된다. 일반적으로 아파타이트계 세라믹은 생체친화성이 우수하여 골아세포 등을 이용한 복합형(hybrid) 인공뼈 소재 개발에 많이 응용되고 있으며, 일부는 인공 장기의 개발에도 이용되고 있다. 이와 같이 천연뼈의 성분인 하이드록시아파타이트는 의료용 재료분야에서 가장 중요한 성분으로 각광받고 있다. 치과·구강외과 영역에서는 각종 합성 하이드록시아파타이트를 이용하여 안정한 기능적 인공치아를 만들거나 턱뼈 내의 병변 적출 후 결손부를 보충하는데 사용되고 있으며, 치아 이식후 그 주위에 유발되는 치주질환의 치료, 인공치근, 턱 결손부의 모양을 수정하는데도 사용되기도 한다(43). 인간의 뼈와 마찬가지로 어뼈의 주요 무기성분도 Ca 및 P로 구성된 하이드록시아파타이트 결정형태로 저장되어 있다. 특히 어뼈의 Ca과 P의 비율이 인간과 유사한 1.67(molar percent)으로 밝혀져 생체친화성이 우수한 천연 하이드록시아파타이트로써 이용될 가능성이 매우 높은 것으로 나타났다. 따라서 참치뼈를 인공뼈, 인공관절, 인공치아, 인공치근, 골충진제 등에 주로 사용되는 생체용 세라믹의 재료로써의 가능성에 대하여 검토하였다. Bioglass 및 glass-ceramicsce 성형체를 만들어 소결온도에 따른 강도를 측정된 결과, 1,200℃에서 3시간 소결시켰을 91MPa로 사람의 대퇴골의 강도와 유사한 강도를 나타내었으며(Fig. 9), 대퇴골 대체용 인공뼈로써 활용 가능할 것으로 검토되었다(43,45).

또한 복합체와 glass-ceramic을 인공체액 중에서 결합

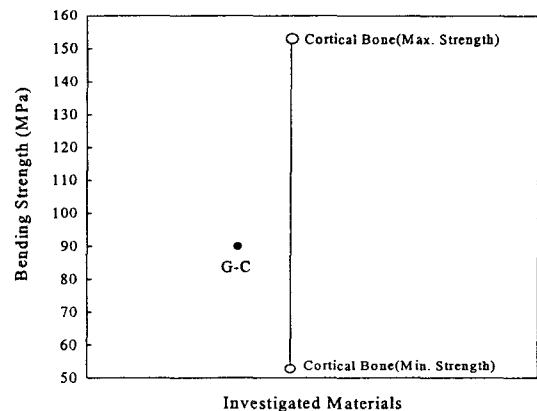


Fig. 9. Comparison of bending strength between glass-ceramics, G-C and cortical bone.

실험을 한 결과, 시편계면 사이에 인공체액중의 Ca^{2+} 와 PO_4^{3-} 이온들이 형성된 핵들의 표면으로 이동하여 석출되어 입자들이 성장함으로써 표면이 치밀하게 형성되었다(44). 어뼈 유래의 hydroxyapatite 분말의 쥐에 대한 급성 피하독성을 조사한 결과, 모든 투여용량군에서 일반적인 임상증상과 아무런 이상이 발견되지 않아 어떤 독성도 유발하지 않는 안전한 제제로 생각된다. 일반적으로 화학시약으로 합성한 hydroxyapatite는 인간의 치아와 뼈의 상과 유사하나 어뼈와 같은 생물체로부터 추출한 hydroxyapatite는 Ca와 P의 주요 성분 외에도 Mg, K, Zn, Na, Fe 등과 같은 미량의 미네랄을 함유하고 있어 화학시약으로 합성한 hydroxyapatite 보다는 생체친화성이 우수한 것으로 판단되었다(46,47).

참 고 문 헌

- Faulkner DJ. 2002. Marine natural products, 19. *Nat Prod Rep* 19: 1-48.
- McIntosh JM, Jones RM. 2001. Cone venom - from accidental stings to deliberate injection. *Toxicon* 39: 1447-1451.
- Meijer L, et al. 2000. Inhibition of cyclin-dependent kinases, GSK-3 β and CK1 by hymenialdisine, a marine sponge constituent. *Chem Biol* 7: 51-63.
- Tasdemir D, et al. 2002. Aldisine alkaloids from the Philippine sponge *Stylissa massa* are potent inhibitors of mitogen-activated protein kinase kinase-1 (MEK-1). *J Med Chem* 45: 529-532.
- Edler MC, et al. 2002. Inhibition of tubulin polymerisation by vitilevuamide, a bicyclic marine peptide, at a site distinct from colchicine, the vinca alkaloids, and dolastatin-10. *Biochem Pharmacol* 63: 707-715.
- Byun HG, Zhang H, Mochizuki M, Adachi K, Shizuri Y, Lee WJ, Kim SK. 2003. Novel antifungal diketopiperazine from marine Fungus. *J Antibiotics* 56: 102-106.
- Jung WK, Park PJ, Kim SK. 2003. Purification and characterization of a lectin from the hard roe of skipjack tuna. *Inter J Biochem Cell Biol* 35: 255-265.
- Jung WK, Je JY, Kim HJ, Kim SK. 2002. A novel anticoagulant protein from *Scapharca broughtonii*. *J Biochem Mol Biol* 35: 199-205.
- Choi JH, Park PJ, Kim SK. 2002. Purification and characterization of trypsin inhibitor from egg of skipjack tuna. *Fisheries Sci* 68: 1367-1373.
- Byun HG, Park PJ, Sung NJ, Kim SK. 2002. Purification and characterization of serine proteinase from the tuna pyloric caeca. *J Food Biochemistry* 26: 479-494.
- Byun HG, Kim SK. 2002. Fungicidal activity against *Pyricularia oryzae* of substance purified from marine fungus metabolites. *J Fish Sci Technol* 5: 97-102.
- Byun HG, Jeong SY, Park YT, Lee WJ, Kim SK. 2002. Algicidal activity against *Cochlodinium polykrikoides* of substance purified from marine bacteria metabolites. *J Fish Sci Technol* 5: 150-155.
- Park PJ, Lee SH, Byun HG, Kim SH, Kim SK. 2002. Purification and characterization of a collagenolytic enzyme from mackerel intestines. *J Biochem Mol Biol* 35: 576-582.
- Mayer AMS, Lehmann VKB. 2000. Marine pharmacology. *The Pharmacologist* 42: 62-69.
- Rinehart KL. 1988. Screening to detect biological activity. Fautin DG, ed. In *Biomedical importance of marine organism*. California Academy of Science, San Francisco. p 13-22.
- Chu KC, Cutler HG. 1991. *Natural products as antiviral agents*. Plenum press, New York & London. p 279.
- Proksch P. et al. 2002. Drugs from the sea - current status and microbiological implications. *Appl Microbio Biotechnol* 59: 125-134.
- Jones RM, Bulaj G. 2000. Conotoxins - new vistas for peptide therapeutics. *Curr Pharm Des* 6: 1249-1285.
- Jain KK. 2000. An evaluation of intrathecal Ziconotide for the treatment of chronic pain. *Expert Opin Investig Drugs* 9: 2403-2410.
- Hale KJ. et al. 2002. The chemistry and biology of the bryostatin antitumour macrolides. *Nat Prod Rep* 19: 413-453.
- Clamp A, Jayson GC. 2002. The clinical development of the bryostatins. *Anticancer Drugs* 13: 673-683.
- Kim SK, Park PJ, Moon SH, Byun HG, Je JY. 2003. Recovery of fish bone from hoki frame by the proteolytic enzyme partially purified from mackerel intestine. *J Food Biochem* 27: 255-266.
- Kim SK, Park PJ, Yang HP, Han SS. 2001. Subacute oral toxicity of chitosan oligosaccharide on spargue-dawley rats. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research* 51: 769-774.
- Jeon YJ, Kim SK. 2002. Antitumor activity of chitosan oligosaccharides produced in an ultrafiltration membrane reactor system. *J Microbiol Biotechnol* 12: 503-507.
- Jeon YJ, Park PJ, Kim SK. 2001. Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers* 44: 71-76.
- Park PJ, Je JY, Kim SK. 2003. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity of hetero-chitooligosaccharides prepared from partially different deacetylated chitosans. *J Agric Food Chem* 51: 4930-4934.
- Park PJ, Je JY, Kim SK. 2003. Free radical scavenging activity of chitooligosaccharides by electron spin resonance spectrometry. *J Agric Food Chem* 51: 4624-4627.
- Park PJ, Je JY, Kim SK. Free radical scavenging of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydr Poly (in press)*.
- Jeon YJ, Kim SK. 2001. Effect of antimicrobial activity by chitosan oligosaccharide N-conjugated with asparagine. *J Microbiol Biotechnol* 11: 281-286.

30. Kim SK, Jeon YJ, Zan HC. 2000. Antibacterial effect of chitooligosaccharides with different molecular weights prepared using membrane bioreactor. *J Chitin Chitosan* 5(2): 1-8.
31. Nam MY, Shon YH, Kim SK, Kim C.H, Jeong TR, Nam KS. 2000. Effect of chitosan oligosaccharides on polyamine metabolism for chemopreventive activity. *J Chitin Chitosan* 5: 15-18.
32. Jeon YJ, F Shahidi, Kim SK. 2000. Preparation of chitin and chitosan oligomers and their applications in physiological functional foods. *Food Review International* 16: 157-176.
33. Jeon YJ, Kim SK. 2001. Potential immuno-stimulating effect of antitumoral fraction of chitosan oligosaccharides. *J Chitin Chitosan* 6: 163-167.
34. Jeon YJ, Kim SK. 1999. Effects of chitooligosaccharides on acute oral toxicity. *J Chitin Chitosan* 4: 115-120.
35. Byun HG, Kim SK. 2001. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from Alaska pollack skin. *Process Biochemistry* 36: 1155-1162.
36. Byun HG, Kim SK. 2002. Structure and activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from Alaska Pollack skin. *J Biochem Mol Biol* 35: 239-243.
37. Choi YR, Park PJ, Choi JH, Byun HG, Jeong IC, Moon SH, Kim SK. 2000. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from enzymatic hydrolysate of cod liver protein. *Korean J Life Sci* 10: 140-149.
38. Kim SK, Kim YT, Byun HG, Nam KS, Joo DS, Shahidi F. 2001. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska Pollack skin. *J Agric Food Chem* 49: 1984-1989.
39. Kim SK, Park PJ, Song BK, Kim JB. 2000. Comparison of antioxidative activity on fish and bovine skin gelatin hydrolysates produced in a three-step membrane enzyme reactor. *Korean J Biotechnol Bioeng* 15: 635-643.
40. Kim SK, Choi YR, Park PJ, Choi JH, Moon SH. 2000. Purification and characterization of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysate of cod teiset protein. *Korean Fisher Sci* 33: 198-204.
41. Kim SK, Jeon YJ, Byun HG, Park PJ. 1999. Calcium absorption acceleration effect on phosphorylated and nonphosphorylated peptides from hoki (*Johnius Belengeri*) frame. *J Korean Fish Soc* 32: 713-717.
42. Jeon YJ, Kim GH, Park PJ, Kim SK. 1999. Calcium absorption accelerating effect of chitosan oligosaccharides prepared by ultrafiltration membrane enzymatic reactor. *J Korean Fish Soc* 32: 247-251.
43. Kim SK, Choi JS, Lee CK, Byun HG, Jeon YJ, Lee EH. 1997. Synthesis and biocompatibility of the hydroxyapatite ceramic composites from tuna bone(II)-The sintering properties of hydroxyapatite treated with wet milling process. *J Korean Ind & Eng Chemistry* 8: 1000-1005.
44. Kim SK, Choi JS, Byun HG, Jeon YJ, Lee EH, Park JY. 1998. Synthesis and biocompatibility of the hydroxyapatite ceramic composites from tuna bone(III)-SEM photographs of bonding properties between hydroxyapatite ceramics composites in the simulated body fluid. *J Korean Ind & Eng Chemistry* 9: 322-329.
45. Choi JS, Lee CK, Jeon YJ, Byun HG, Kim SK. 1999. Properties of the ceramic composites and glass-ceramics prepared by using the natural hydroxyapatite derived from tuna bone. *J Korean Ind & Eng Chemistry* 10: 394-399.
46. Kim SK, Park PJ. 2000. Evaluation of mucous membrane irritation by hydroxyapatite sinter produced from tuna bone in syrin hamsters. *Korean J Life Sci* 10: 605-609.
47. Kim SK, Park PJ, Kim YT. 2001. Study on acute subcutaneous toxicity of hydroxyapaptite sinter produced from tuna bone in Sprague-dawley rats. *Korean J Life Sci* 11: 97-102.