

해양생물대상 코엔자임 Q10(Coenzyme Q10)의 스크린 및 활용을 위한 기획연구

Screening and application of coenzyme Q10 from
marine organisms

2007. 1.

한국해양연구원

제 출 문

한국해양연구원장 귀하

본 보고서를 “해양생물대상 코엔자임 Q10(Coenzyme Q10)의 스크린 및 활용을 위한 기획연구”의 보고서로 제출합니다.

2007년 1월 31일

연구책임자 : 장민철

참여연구원(내부) : 장 만

김영옥

차용환

김아름

(외부) : 진언선

정경서

신누리

보고서 초록

과제관리번호		해당단계 연구기간	2006.10.1~2007.1.31	단계 구분	(해당단계) / (총단계)
연구사업명	연구정책·지원사업				
연구과제명	해양생물대상 코엔자임 Q10(Coenzyme Q10)의 스크린 및 활용을 위한 기획연구				
연구책임자	장 민 철(張民哲)	해당단계 참여연구원수	총 : 8 명 내부 : 5 명 외부 : 3 명	해당단계 연구비	정부: 50,000 천원 기업: 천원 계: 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국해양연구원 남해특성연구본부		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위 탁 연 구	연구기관명 :		연구책임자 :		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	70
<p>· 스크리닝 시료 본 실험에 이용된 시료는 해양동물은 남해연구소에서 제공받았으며, 미세조류는 본 연구실에서 보유한 종을 이용하였고, 해조류는 수산시장에서 신선한 시료를 구입하여 사용함.</p> <p>· 코엔자임 Q10 추출 방법 연구 총 7가지의 추출방법의 시도를 통해 가장 많은 양의 코엔자임 Q10이 추출되는 방법을 구함. 그 방법은 0.2% SDS 3 ml, 100% Et-OH 3ml, n-Hexane 8ml 을 이용한 추출 방법임.</p> <p>· 코엔자임 Q10&코엔자임 Q9의 정량적 분석 코엔자임 Q10의 양이 가장 많은 시료는 <i>Asterias amurensis</i> A로, 그 양은 20.240 mg/g·dw. 코엔자임 Q9의 양이 가장 많은 시료는 <i>Green laver</i>로, 그 양은 261.750 mg/g·dw.</p> <p>· 코엔자임 Q10&코엔자임 Q9의 채산성 분석 <i>Asterias amurensis</i> A 1톤의 코엔자임 Q10 양은 2g 으로 이것은 708,000원의 가치를 지님. <i>Green laver</i> 1톤의 코엔자임 Q9 양은 26.2g 으로 이것은 3,963,200,000원의 가치를 지님.</p>					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	코엔자임 Q10, 코엔자임 Q9, 해양생물, HPLC 분석, 생태계교란자			
	영 어	Coenzyme Q10, Coenzyme Q9, marine organism, HPLC analysis, ecosystem breaker			

요 약 문

I. 제 목

해양생물대상 코엔자임 Q10(Coenzyme Q10)의 스크린 및 활용을 위한 기획연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 다양한 해양생물 대상 코엔자임 Q10과 코엔자임 Q9의 정량 분석
- 코엔자임 Q10 함량이 높고 우수한 품질이 가능한 해양 생물 선정
- 현재 시판중인 코엔자임 Q10과 채산성 비교

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 시료 확보

- 코엔자임 Q10 분리용 시료는 해양연구원의 남해연구소에서 공급받음
- 미세조류 : 본 연구실에서 보유하고 있는 시료 이용
- 해조류 : 수산시장에서 판매되고 있는 시료를 신선한 상태로 구입

2. 코엔자임 Q10의 추출 방법 연구

- 시료에서 효과적인 코엔자임 Q10 추출법을 위한 시도
- 동결마쇄 또는 일반 마쇄법을 이용 최적의 코엔자임 Q10 추출을 위한 조건을 확립

3. 코엔자임 Q10 정량 실험

- HPLC를 이용하여 코엔자임 Q10을 정량 분석
- HPLC 이용 분리방법은 Xue-Li et al., (2006) 방법을 변형하여 사용
- 대조군으로 사용될 코엔자임 Q10은 시그마에서 구입

- C18 column (150*4.6mm particle size 5um)을 이용
- mobile phase는 ethyl acetate, methanol, acetonitrile, tris-HCl(pH 8.0) 을 이용
- 코엔자임 Q10의 정량 실험과 동일하게 코엔자임 Q9의 정량도 동시에 실험하였음

4. Yield가 가장 높은 시료를 선정하여 코엔자임 Q10의 채산성 계산

IV. 연구개발결과

1. 스크리닝 시료

시료는 총 8종의 해양생물이 이용 되었다. *Undaria pinnatifida*, *Green laver*, *Capsosiphon fulvescens*, *Dunaliella Salina* CCAP 1918, CW15 (*Chlamydomonas* mutant), *Chaetoceros neogracile*, *Asterias amurensis*, Jellyfish.

2. 해양생물에서의 코엔자임 Q10 추출 방법 연구

총 7가지의 추출 방법을 통해 코엔자임 Q10의 추출량을 비교하였다. 그 결과 0.2% SDS 3ml, 100% Et-OH 3ml, n-Hexane 8ml 을 이용한 방법의 효율이 가장 높았다.

3. 코엔자임 Q10 정량 분석

HPLC를 이용한 분석 결과 코엔자임 Q10의 함량이 가장 높은 시료는 *Asterias amurensis* A (아무르 불가사리)로 20240 ng/g-dw, 코엔자임 Q9의 함량이 가장 높은 시료는 *Green laver*(파래)로 261750 ng/g-dw 의 함유량을 보이고 있다.

4. Yield가 가장 높은 시료를 선정하여 코엔자임 Q10의 채산성 계산

Asterias amurensis A (아무르 불가사리) 코엔자임 Q10의 가격은 1톤당 708,000원이다. 그리고 *Green laver*(파래) 코엔자임 Q9의 가격은 1톤당 3,963,200,000원이다.

V. 연구개발결과의 활용계획

- 해양생물대상 천연 생리활성물질 개발 연구 기반 구축
- 생태계 환경을 위협하는 생태계교란자들을 이용한 유용 물질 생산
- 코엔자임 Q10과 코엔자임 Q9의 상관관계를 통하여 진화적 유연관계 도출

Summary

I. Title

Screening and application of coenzyme Q10 from marine organisms

II. Necessity and objective of the study

- Establishment of quantitative analysis of Coenzyme Q10 & Coenzyme Q9 from marine organisms
- Selection of species which contain high amount of Coenzyme Q10
- Comparison of price between the commercial product and natural product of Coenzyme Q10 and Coenzyme Q9

III. General scope of the study

1. Acquisition of samples

- Marine animal samples are provided by Korea ocean research and development Institute at Jangmok
- Microalgae : cultivation from Plant biotechnology lab in Hanyang University
- Macroalgae : fishery market

2. Development of Coenzyme Q10 extraction and isolation protocol

- Trial for the efficient homogenation and extraction of Coenzyme from samples
- Establishment of extraction method by freeze- grinding or normal grinding

3. Quantitative analysis of Coenzyme Q10

- Quantitative analysis of Coenzyme Q10 by using HPLC
 - HPLC separation method is modified by Li et al., (2006)
 - Coenzyme Q10 & Coenzyme Q9 Standard were purchased from Sigma
 - Using C18 column (150*4.6mm particle size 5um), mobile phases are used by ethyl acetate, methanol, acetonitrile and tris-HCl (pH 8.0)
4. The yields and commercial value of Coenzyme Q9 and Coenzyme Q10 were calculated based on the results

IV. Results of this research

1. Acquisition of samples

Undaria pinnatifida, *Green laver*, *Capsosiphon fulvescens*, *Dunaliella Salina* CCAP 1918, CW15 (*Chlamydomonas* mutant), *Chaetoceros neogracile*, *Asterias amurensis*, Jellyfish were investigated in this research.

2. Coenzyme Q10 extraction protocol

We tried 7 methods and compared each methods. High efficiency protocol is using 0.2% SDS 3ml, 100% Et-OH 3ml, n-Hexane 8ml. We chose the high efficiency method.

3. Quantitative analysis of Coenzyme Q10

The highest amount of Coenzyme Q10 was recorded from *Asterias amurensis A* and the content is 20,240 mg/g·dw. Also the highest amount of Coenzyme Q9 is measured from *Green laver* and the content is 261,750 mg/g·dw.

4. Possible value which is compared with commercial standard of Coenzyme Q10 and Q9

The value of Coenzyme Q10 from *Asterias amurensis A* is calculated about 708,000 won/ton. The value of Coenzyme Q9 of *Green laver* is calculated as 3,963,200,000 won/ton.

V. Application for the research outputs

- Establishment of natural physical activity material research base from marine organism
- Possible utilization of production for valuable compound from ecosystem breaker
- Analysis of Coenzyme Q10 & Coenzyme Q9 from marine organism appears to show the correlation between Coenzyme Q10 & Coenzyme Q9 and hierarchy of marine organism, indicating the importance of functional role of these compound during evolution of marine organism

Contents

Summery	2
Contents	10
List of Figures	12
List of Table	14
Chapter I .Introduction	15
Chapter II. Research status	28
1. Domestic research status	28
2. Abroad research status	28
Chapter III. Contents and results of the study	30
1. Environmental parameters	30
A. Macroalgae	30
B. Microalgae	30
C. Marine animal	30
2. Coenzyme Q10 extraction method research	34
A. Coenzyme Q10 extraction method search	34
B. Result	34
3. Quantitative analysis of Coenzyme Q10	37
A. Materal and method	37
a. Screening Samples	37
(1) Macroalgae	37
(2) Microalgae	37
(3) Marine animal	23
b. Quantitative analysis of Coenzyme Q10 by using HPLC	37
c. Coenzyme Q10 & Coenzyme Q9 Standards	38
d. Coenzyme Q10 & Coenzyme Q9 extraction and comparison	38
B. Result	39
4. Payability of Coenzyme Q10 from marine organism	50

Chapter	IV.	Achievement	of	the	study	goal.....	51		
Chapter	V.	Application	and	utilization	plan	of	the	results.....	54
Chapter	VI.	Reference.....	55						

목 차

요약문						2
목		차				10
그림		목차				12
표		목차				14
제	1	장		서론		15
제	2	장	국내외	기술개발	현황	28
제	1	절		국내		28
제	2	절		국외		28
제	3	장	연구개발	수행	내용 및 결과	30
제	1	절		시료	확보	30
	1.			해조류		30
	2.			미세조류		30
	3.			해양동물		30
제	2	절	코엔자임	Q10의	추출 방법 연구	34
	1.	코엔자임	Q10	추출	방법의 탐구	34
	2.			결과		34
제	3	절	코엔자임	Q10	정량 분석	37
	1.	재료		및	방법	37
	가.			스크린	시료	37
	(1)			해조류		37
	(2)				미세조류	37
	(3)				해양동물	23
	나.	HPLC를		이용한	정량 분석	37
	다.	코엔자임	Q10	&	코엔자임 Q9 Standard	38
	라.	코엔자임	Q10	추출	및 비교	38

2.			결과	39
제	4	절	코엔자임 Q10의	채산성 분석.....	50
제	4	장	연구개발 목표	달성도 및 대외기여도 51
제	5	장	연구개발	결과의 활용계획 54
제	6	장		참고문헌 55

List of Figures

Fig. 1.	Structure of coenzyme Q10.....	23
Fig. 2.	Chemical synthesis of Coenzyme Q 10.....	23
Fig 3.	Proposed pathway for CoQ10 production.....	24
Fig. 4.	Life extending effect of CoQ10 on CF1 female mice.....	25
Fig. 5.	CoQ10 resulted in a 20 percent increase in the lifespan of mice, in experiments conducted at UCLA.....	25
Fig. 6.	CoQ10 extends the lifespan of rats (0.7 mg/kg/day).....	26
Fig. 7.	Example of Coenzyme Q10 Products.....	27
Fig. 8.	<i>Dunaliella Salina</i> CCAP 1918.....	31
Fig. 9.	CW15 (Chlamydomonas mutant).....	31
Fig. 10.	<i>Chaetoceros neogracile</i>	32
Fig. 11.	<i>Asterias amurensis</i>	32
Fig. 12.	Jellyfish.....	33
Fig. 13.	HPLC profile of sample(<i>Asterias amurensis A</i>).....	36
Fig. 14.	HPLC profile of sample(<i>Asterias amurensis A</i>) added Coenzyme Q10 standard.....	36

Fig. 15. HPLC profile of Coenzyme Q10 standard (1000mg/L).....	40
Fig. 16. HPLC profile of Coenzyme Q9 standard (1000mg/L).....	40
Fig. 17. HPLC Solvent graph.....	41
Fig. 18. HPLC profile of <i>Undaria pinnatifida</i> sample.....	41
Fig. 19. HPLC profile of <i>Capsosiphon fulvescens</i> sample.....	42
Fig. 20. HPLC profile of <i>Green laver</i> sample.....	42
Fig. 21. HPLC profile of CW15 sample.....	43
Fig. 22. HPLC profile of <i>Dunaliella Salina</i> CCAP 1918 sample.....	43
Fig. 23. HPLC profile of <i>Chaetoceros neogracile</i> sample.....	44
Fig. 24. HPLC profile of Jellyfish B sample.....	44
Fig. 25. HPLC profile of Jellyfish C sample.....	45
Fig. 26. HPLC profile of Jellyfish A sample.....	45
Fig. 27. HPLC profile of <i>Asterias amurensis</i> A sample.....	46
Fig. 28. HPLC profile of <i>Asterias amurensis</i> B sample.....	46
Fig. 29. HPLC profile of <i>Asterias amurensis</i> C sample.....	47
Fig. 30. Amount of Coenzyme Q10 and Coenzyme Q9 in marine organism	48

List of Table

Table 1. Function of Coenzyme Q10.....	22
Table 2. Relative Coenzyme Q10 remained at the basis of age of 20's interval	22
Table 3. Coenzyme content(mg) for 100g of food	22
Table. 4. Various extraction methods for Coenzyme Q10.....	35

제 1 장 서 론

코엔자임 Q10은 세포막에 결합된 전자전달계의 필수적인 지질계 화합물로 ATP생성을 돕는 역할을 하는 조효소일 뿐만 아니라 항산화기능으로 산업적인 주목을 받는 유용성이 높은 물질이다. 우리나라에서는 최근까지도 생소한 화학물질이었지만 이 성분은 MerckIndex, Matindale, PDR 등 여러 외국 의학 자료집에 소개되고 있으며 특히 FDA에서 의사가 statin 계 고지혈증 약물을 처방할 경우 환자에게 코엔자임Q10을 복용할 것을 권장하고 있는 성분이다. 북미 지역을 비롯하여 세계 각국에서 의약품 및 건강식품으로 폭넓게 이용되고 있으며 특히 미국이나 일본에서는 최고의 일반의약품과 건강기능식품으로 판매 순위가 항상 상위에 들어갈 정도로 인기상승중목이다.

역사적으로는 1950년대 초 영국의 모튼 박사 등이 그 존재를 처음으로 인정하였고 1957년(USA, Wisconsin University, 미국의 크레인 박사) 소의 심근에서 코엔자임Q10을 분리하였다. 일본에서는 1960년 제약회사 에자이(株)에서 의약품인 <노이퀴논>을 승인받은 이래 울혈성 심부전 치료의 일환으로 응용하였고, 1991년부터는 일반의약품으로 처방전 없이 약국판매가 가능해 졌으며 2001년부터는 건강식품으로 생산 판매되고 있다. 현재는 의약품 화장품분야에 많이 사용되고 있으며 일본의 경우 2004년에 약 2조6000천억원의 시장을 형성하고 있다. 우리나라의 경우 2005년 이후 건강기능물질로 허용이 되어 응용가능성이 확대되고 있다.

인공합성물질의 오용과 남용으로 생기는 부작용 등으로 선진국의 천연물 시장 수요가 증가하면서 세계적으로 천연의 생리활성물질의 개발 연구가 활발하게 진행 중이다. 따라서 현재 주로 인공합성으로만 생산되고 있는 코엔자임 Q10을 천연물질에서 추출하여 이용한다면 천연물 수요에 대한 시장성이 높을 것이라 기대된다.

I. 코엔자임의 어원과 구조

코엔자임 Q10의 다른 명칭은 유비데카레논 또는 유비퀴논이며, 그 어원은 라틴어의 'Ubiquitous(보편적으로 존재한다)'이다. 또한 코엔자임Q10은 "비타민 유사 작용인자"라고 불리기도 한다. 비타민의 정의인 "미량의 영양소로 생체 내에서 생합성 되지 않는 것"에는 해당되지 않지만, 비타민과 같은 기능을 하기 때문이다. 이러한 이유로 코엔자임Q10은 "비타민Q"라는 별명을 가지고 있다. 코엔자임 Q10은 황색 또는 오렌지색의 결정상 퀴논 화합물

(quinone)이며, 냄새나 맛은 없고 지용성 비타민 E, K와 비슷한 화학구조를 가진 지용성 물질로서 물에 거의 녹지 않는다. 코엔자임 Q6 ~10 등이 있으며 사람, 동물, 식물 등에 존재하는데 사람의 경우 대부분이 코엔자임Q10이다. 코엔자임 Q10의 화학 구조에는 '퀴논'과 '이소프렌'이라고 하는 사슬이 공통으로 존재하며 코엔자임 Q10의 뒤의 숫자는 이소프렌 단위의 개수를 의미한다.

II. 코엔자임 Q10의 분포

어원대로 코엔자임 Q10은 많은 동식물에 보편적으로 존재하고 있다. 동물에서는 세포 내 미토콘드리아에 존재하며, 식물은 엽록체 안에 존재하는 필수적인 물질이다. 물론 우리의 체내에도 존재하며 체중 60 kg의 남성인 경우 약 700 mg 코엔자임Q10을 함유하고 있다. 코엔자임Q10은 체내의 모든 세포에 존재하지만 그 농도는 조직에 따라 다르다. 특히 심장, 간, 신장, 췌장 및 잇몸에서 많이 발견된다. 코엔자임 Q10 은 인간의 경우 20세를 정점으로 조금씩 감소하여, 40세 무렵에는 심장의 세포내에서는 1/2로 줄어든다고 한다.(Table 2) 나이가 들에 따라 감소하므로, 건강 유지를 위해서 음식 등과 같은 방법으로 적극적으로 보충하는 것이 중요하다. 하루에 필요한 코엔자임 Q10의 양은 약 30mg으로 추정되고 있으며 음식으로 섭취하려고 한다면, 정어리로 약 6마리, 삶은 달걀로는 260개, 대두에서는 1.6kg이다. 따라서 충분히 다 섭취할 수 있는 양이 아니다. 따라서 순도 높은 코엔자임 Q10의 지속적 보충이 필요한 실정이다. (Table 3)

III. 코엔자임의 기능

우리 몸의 세포들은 각각의 고유한 기능을 수행하기 위해 에너지원인 ATP를 필요로 한다. ATP는 세포내 미토콘드리아에서 음식물로 섭취한 영양소를 산소가 연소시켜 생성되는데, 코엔자임 Q10은 미토콘드리아의 세포막에 존재하여 ATP생성을 돕는 역할을 하는 조효소이다 (Linnane AW, 2002).

코엔자임 Q10은 미토콘드리아가 유산소 상태에서 ATP를 만드는 과정에서 발생시키는 활성산소들을 효과적으로 처리 제어하는 작용을 하며, 노화와 동반되는 동맥경화성 질환들의 개선에도 도움을 주는 것으로 알려져 있다. 문제는 노화가 진행될수록 미토콘드리아의 기능저하와 더불어 코엔자임 Q10의 농도가 현저하게 감소한다는 사실이다. 출생 후 코엔자임 Q10 수치가 증가하기 시작하여 20~30대에 정점을 이루다 이후 감소하여 80대 때에는 출

생 시의 수치와 비슷해지는 것으로 알려져 있다 (Dallner G. et al., 2000).

또한 코엔자임 Q10은 지용성 비타민과 비슷한 화학구조를 가진 지용성물질 (Fatty Substance)로 제 2 비타민으로 평가받고 있다(Arroyo A., 2000). 또한 비타민E의 항산화 능력에 약 50배의 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 그 활용방법이 기대되는 물질이다. 이러한 항산화 능력(Hoppe U., 1999)은 강력한 노화지연 효과(Jonassen T., 2007)를 지니는데, 지구촌 최대의 건강 관심사인 노화예방과 에너지 생성 작용으로, 해외에서는 뇌혈관 질환(Dhanasekaran et al., 2005), 퇴행성 신경질환(Fliny M., 1999) 심장 질환, 피부미용, 청량음료 등 광범위한 제품에 사용되고 있다.

코엔자임 Q10의 에너지 대사를 향상시키는 능력과 산화 방지제로서의 역할은 심장 혈관 질환과 암의 예방과 치료에 가장 큰 도움이 된다. 코엔자임 Q10의 산화 방지제의 역할은 지질 과산화를 예방하는 것에 한정되어 있다. 이는 비타민E에 좋은 영향을 미치며 비타민 E와 함께 지방질막과 혈장 지질에 대한 손상을 예방하는 작용을 한다.

또한 코엔자임 Q10은 지질 과산화물 형성과 HDL 콜레스테롤의 산화를 억제함으로써 죽상동맥경화증 예방에 매우 도움이 된다. 코엔자임 Q10은 주로 울혈성 심부전, 고혈압, 심근병, 승모판 탈출, 관상 동맥 대체 혈관수술 그리고 협심증 같은 관상동맥질환들에 사용하며 당뇨병, 치근막 질환, 면역 결핍, 암, 근육 이영양증에도 사용한다. 이용되며, 코엔자임 Q10은 체중 감소와 피부 노화에도 효과적이다(Table 1).

고혈압

고혈압 환자들의 39%는 코엔자임 Q10 결핍을 나타낸다. 코엔자임 Q10는 항고혈압제와 달리 대사 이상을 치유해서 결과적으로 혈압에 좋은 영향을 미친다. 고혈압 환자들에 대한 코엔자임 Q10 치료효과는 수축기와 이완기의 혈압 감소는 대개 10%이내이다. 코엔자임 Q10은 항산화제 작용을 콜레스테롤 수치를 저하시키고 혈관 막을 안정화시키는 것이다. 결과적으로 혈행에 대한 말초의 저항성도 감소하는 것이다.

협심증

협심증은 죽상경화증에 의해 대부분 발생한다. 죽상경화증은 콜레스테롤을 함유하고 있는 플라크가 형성되는 것이다. 이 플라크는 심장과 관상동맥에 혈액을 공급해주는 혈관을 좁히다가 결국에는 혈관을 봉쇄해 버린다.

이러한 혈관 봉쇄로 인해 심장조직으로의 혈액과 산소 공급량이 감소한다. 심장 근육으로의 산소 공급이 충분히 감소했을 때나 심장의 산소 요구량이 증가했을 때 협심증이 발생

한다. 코엔자임 Q10를 복용하면 협심증 발생 빈도가 53% 감소하고 니트로글리세린 필요량도 줄인다고 한다.

울혈성 심부전

울혈성 심부전은 심장이 혈액을 효과적으로 박출하지 못하는 질환으로 고혈압 합병증, 심장 판막 이상 또는 심근병에 의해 흔히 발생한다. 울혈성 심부전은 심장 근육 내의 ATP와 보조효소 Q10의 수치가 낮아지면서 나타나며 항상 에너지 결핍 상태를 가진다. 코엔자임 Q10은 경증 울혈성 심장마비에 좋은 치료제가 될 수 있고 중등도에서 중증의 울혈성 심부전의 경우 약물 치료와 코엔자임 Q10을 병용하면 매우 효과적이다.

고지혈증

고지혈증 환자는 심장, 뇌 등에 여러 가지 합병증을 유발하는 동맥경화가 생기기 쉽다. 동맥경화 과정 중에는 활성산소가 지질을 산화시키는 반응이 일어나는데, 코엔자임 Q10은 이러한 활성산소를 제거하는 항산화 작용이 있다. 즉, 코엔자임 Q10은 고지혈증 환자가 동맥경화가 되는 것을 예방하는 효과가 있다.

근육 이영양증

근육 이영양증은 근육 내 미토콘드리아의 코엔자임 Q10 결핍되어 에너지 생성이 부족하여 나타난다. 모든 형태의 근육 이영양증은 심근병 같은 심장 질환의 발병과 관련이 있다.

화장품

코엔자임 Q10은 이미 화장품으로써는 유럽과 구미에서 각광을 받고 실증이 증명된 성분으로 피부 세포에서 에너지의 전환과 저장 역할을 수행하는 유기체로 100% 인간에 가까운 자연 성분이라 알려져 있다. 또한 오존에 의한 산화작용으로 최상층피부 파괴를 감소시켜 주름방지, 노화방지 및 피부보습에 탁월한 효과가 있으며 항산화제의 대명사로 노화를 일으키는 산화작용 (환경공해, 스트레스, 흡연, 자외선 등)과 유해산소를 중화시켜 피부노화를 막아주고 보습효과와 피부영양공급이 우수한 항산화제이다. 안정화된 코엔자임 Q10 성분으로 99.9% 피부 흡수력이 높아져 끈적임 없고 가벼운 느낌의 화장을 할 수 있다는 특징이 있다.

코엔자임 Q10은 피부의 색소 조절기능이 있어 인체 정상 색소세포에 처리하였을 때 멜라닌의 생합성을 약 50% 저해하여 미백제로 알려진 kojic acid나 비타민 C와 유사한 수준을

보인다. 또한, 인체 정상 생세포에서 자외선이나 세포내 cAMP 증가 유도물질에 의한 멜라닌 생성을 억제하였으나 tyrosinase 저해제인 kojic acid와는 달리, in vitro tyrosine hydroxylase의 억제효과는 보이지 않았다. 코엔자임 Q10을 자외선으로 tanning을 유도시킨 brown guinea pig에 4주간 도포하고 미백효과를 측정한 결과, vehicle 처리군에 비해 미백효과가 있었으며 이상의 결과에서 코엔자임 Q10은 in vitro 및 in vivo에서 미백효과를 지닌 물질임을 확인할 수 있었다.

우리 몸 안의 코엔자임 Q10은 나이가 들수록 그 양이 줄어들어 외부로부터의 섭취가 필수적이므로 노령화가 진행되고 있는 현재의 사회에서 그 수요가 더욱 증가할 것이다. 강력한 노화지연 성분으로 알려진 코엔자임 Q10의 생산물량은 전 세계적으로 연간 250톤 수준으로 추정되지만, 연간 수요량은 이보다 많은 300톤에 달해 공급이 수요를 따라가지 못하고 있는 상황이다.

코엔자임Q10 관련 연구들을 보면 울혈성 심부전, 협심증, 고혈압 등의 심혈관계 질환에 코엔자임Q10이 도움을 줄 수 있고, 스타틴계 약물의 독성을 예방하며, 파킨슨병과 같은 퇴행성 신경계 질환의 진행을 억제하는 것으로 나타나있다. 당뇨나 유방암, 치은염, 남성불임에도 긍정적인 기대를 갖게 하는 보고들이 나오고 있다. 코엔자임 Q10이 실제로 수명을 직접적으로 연장시킬 수 있는지에 관한 실험은 아직까지 사람에서 행해진 연구는 없지만 의미 있는 동물실험들 몇 가지 소개를 하면 다음과 같다.

1. 1980년 닥터 에밀 블리즈나코프는 16-18개월 된 흰생쥐를 두 그룹으로 나누어 한 쪽에는 코엔자임Q10, 다른 한쪽에는 생리식염수를 매주 50 마이크로그램씩 주사했는데 코엔자임Q10을 주사받은 쪽이 대조군보다 평균 56%의 수명연장을 보였다.

2. 1994년 UCLA의 닥터 해리스와 콜즈는 암컷 생쥐를 대상으로 연구를 하였는데 한쪽 그룹에는 비만이 발생하지 않을 정도로 약간의 칼로리 제한 식이를 제공하였고 다른 한 그룹에는 사람으로 치면 750mg에 해당되는 양의 코엔자임Q10을 식사와 함께 제공하였다. 그 결과 최대수명이 42개월인 이들 생쥐의 39개월 때의 생존률은 코엔자임Q10군에서의 50%, 대조군에서 25%로 나타났다. 비록 최대수명에는 별 차이가 없었지만 코엔자임Q10군에서 더 건강한 상태를 보였고 평균수명은 약 20% 증가하였다.

3. 2004년 스페인에서 행해진 의미있는 쥐실험도 있다. 이 연구는 8%의 지방식을 양쪽

그룹에 제공하면서 한쪽에만 코엔자임Q10을 하루 0.7 mg/kg씩 더 제공하였다. 그랬더니 코엔자임Q10을 섭취한 쥐그룹에서 상대적으로 평균수명과 최대수명이 각각 11.7%, 24%씩 증가하는 것으로 나타났다.

IV. 코엔자임 Q10의 생산

화학적 방법 : 짧은 합성경로를 거쳐 코엔자임 Q10을 고효율로 합성할 수 있는 방법이 Lipshutz에 의해 개발되었다. (Lipshutz B.H. et al., 2002) 아주 저렴한 원료와 촉매를 사용해서 간단한 합성경로를 통해 무려 49개의 탄소로 이루어진 곁가지 구조를 성공적으로 합성했다. (Figure 2.) 연구진이 사용한 원료로는 2-alkoxy-3,4-dimethoxy-6-methylbenzyl chloride 라는 benzyl chloride 유도체와 1-TMS-propyne 그리고 담배 생산과정에서 부생성물로 얻어지는 solanesol 이라는 물질로 모두 가격이 저렴하고 쉽게 구할 수 있는 물질이며 팔라듐이나 백금대신 매우 저렴한 활성탄 고체 지지체에 니켈 금속을 실은 형태의 비균질촉매를 이용해서 곁가지 구조 합성에 성공했다. 저렴한 가격과 재사용이 가능하기 때문에 경제적이고 환경친화적인 합성법이 가능하다. 재래식 방법에 의해 제조할 때 흔히 나타나는 불순물은 전혀 발견되지 않았다. 반면 전통적으로 미생물을 이용한 발효공정에서는 제조과정에서 코엔자임 Q9과 cis-이성질체가 함께 만들어지기도 한다. 현재 국내에서는 최초로, 세계 두 번째로 대응제약이 유기합성에 성공하여 판매중에 있다.

생물공학적 방법 : 동·식물 조직으로부터 대용량으로 추출, 생산하는 것은 매우 고가의 비효율적인 일이고, 또한 다단계 유기합성에 의한 방법은 낮은 수율과 불순물의 함유로 인해 상업적 생산에 적용되기에는 불충분하고 환경오염을 유발시킬 수 있다. 그러나 미생물 세포로부터의 직접 추출법은 미생물 세포 및 코엔자임 Q10의 수율에 따라 고수율, 저비용의 생산이 가능하여 경제적으로 적용 될 수 있는 충분한 가능성을 지니고 있으며 환경 친화적 청정기술이다.

현재 일본의 kyowha Nisshin Flour Milling Co. Ltd, Kaneka, Ajinomoto, 독일의 Merck 사 등이 생산하고 있으며, 이들은 대부분 미생물을 배양한 후 미생물 세포로부터 추출하는 방법을 사용하고 있으나 그 수율이 매우 낮아 고가에 판매되고 있는 실정이다. (Meganathan R., 2000, Catherine FC., 2002) 이에 따라 저효율, 저생산성의 기존 생산법을 대체할 저비용, 고효율, 고생산성의 생산 방법의 개발이 절실히 요구되고 있다. (Figure 3) 현재 국내의 경우 바이오엔진(주)에서 고역가 생산균주선별과 코엔자임의 생합성 저해제를 이용하여 변이

주를 선별하고 아울러 전자전달계 저해제를 이용한 변이주 선별 방법으로 350mg/l(실험실 수준)까지 생물 공학적인 방법으로 생산하는 기술을 확보하여 국내는 물론 해외 기술 수출을 앞두고 있다.

일본에서는 70년대 중반 이후, 미국에서는 80년대부터 이미 대중들에게까지 잘 알려진 코엔자임 Q10이 국내에서는 일반인은 물론이고 아직까지 전문가 집단에서도 낯선 제제로 받아들여지고 있다. 게다가 코엔자임 Q10이 약물로, 그것도 제형당 10mg까지만 제조될 수 있도록 규제한 현행법은 국제적인 연구결과와 사용현실, 안전성에 비추어 매우 미흡한 수준이다. 건강하게 나이들을 지향하는 지금이야말로 건강기능식품법의 제도적 개선과 더불어 코엔자임 Q10에 대한 전문 의료인들의 적극적인 관심과 연구가 필요한 시점이다.

이러한 시대 상황에 부합하여 천연물질의 코엔자임 Q10의 추출 및 이용은 앞으로 각광받는 사업으로 예측된다. 이러한 상황의 해양 생물을 대상으로 한 코엔자임 Q10의 생산은 큰 의미를 가진다. 현재 해양 생물을 대상으로 코엔자임 Q10 생산을 위한 연구는 전 세계적으로 전무한 연구 개발로 개발된 코엔자임 Q10 이용분야는 의약품 및 기능성 물질로서 산업화로 발전하게 되면 수입 대체로 인한 외화 절감 및 식품, 보고식품, 의약품 수출로 이어지는 경제적인 효과를 가져 올 수 있다. 또한 해양 생물 중 많은 개체수에 비해 이용량이 적은 생물이나 생태계를 위협하고 있는 생물을 이용하여 코엔자임 Q10을 생산한다면 생산으로 인한 소득에 더불어 생태계 보호 차원에서 큰 의미를 지니게 된다.

한국해양연구원의 해양 생물대상 코엔자임 Q10의 생산개발의 성공은 코엔자임 Q10의 시장을 통해 해양천연물자원의 발굴 및 활용을 선도하는 중요한 사업 분야가 될 것이다.

Table 1. Function of Coenzyme Q10

기능성	역 할
항산화제	유리 라디칼 제거, 항암제 Adriamycin 복용시 나타나는 독성제거능
치료적 가치	울혈성 심부전(울혈성 심장마비), 심근증, 심장병, 고혈압, 치주염, 동맥경화, Hunting's disease
보조제로서 가치	AIDS, 협심증, 암, 당뇨, 남성불임, 근육 영양실조, 비만, 파킨스씨병

Table 2. Relative Coenzyme Q10 remained at the basis of age of 20's interval

년령 \ 기관	간	심장	폐	심장
20대	100%	100%	100%	100%
40대	95.3%	72.6%	100%	68.2%
60대	89.1%	67.0%	80.0%	52.0%
80대	83.0%	65.3%	51.7%	42.9%
조직중의 CoQ10 농도 (ug/g weight)	61.2	98.0	6.0	110.0

Table 3. Coenzyme content(mg) for 100g of food

돼지심장	12.6	소심장	11.3
순록	15.8	대두유	9.2
채종유	6.3~7.3	정어리	6.4
고등어	4.3	돼지고기	4.1
쇠고기	3.1	참기름	3.2
땅콩	2.7	건조대두	2.3
호두	1.9	면실유	1.7
닭고기	1.4	아몬드	1.3
심금치	1.0	브로컬리	0.86~1.0
버터	0.7	치즈	0.4
쌀겨	0.5		

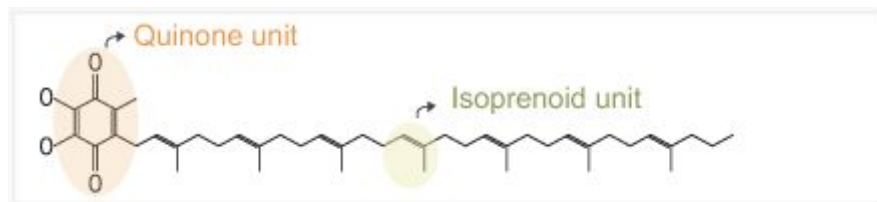


Fig. 1. Structure of coenzyme Q10

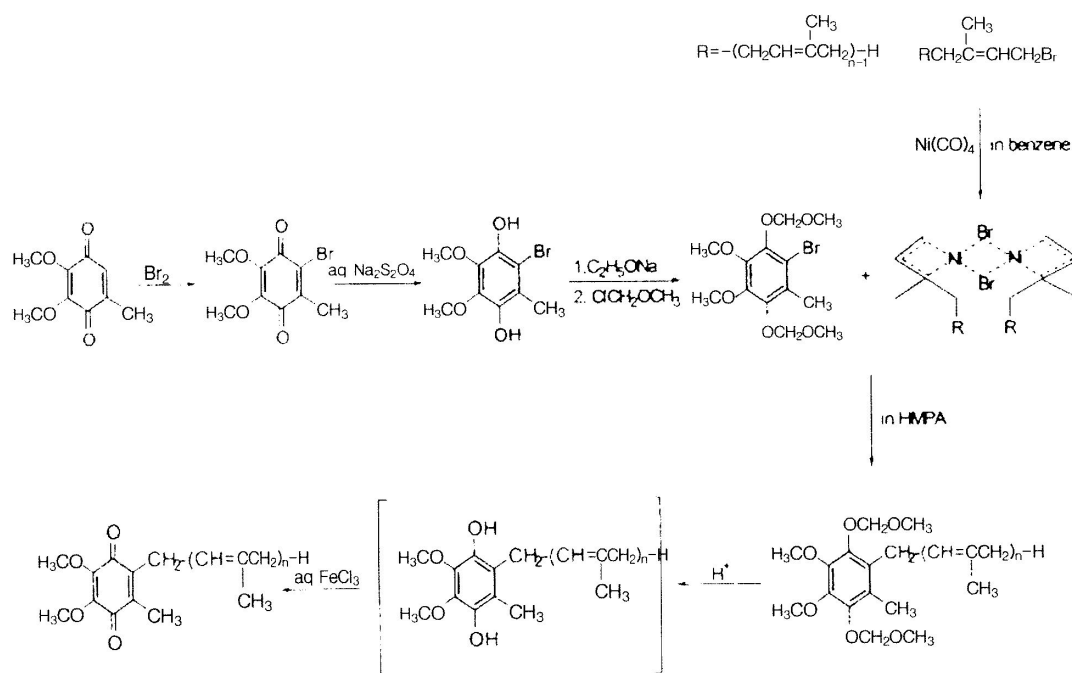


Fig. 2. Chemical synthesis of Coenzyme Q 10

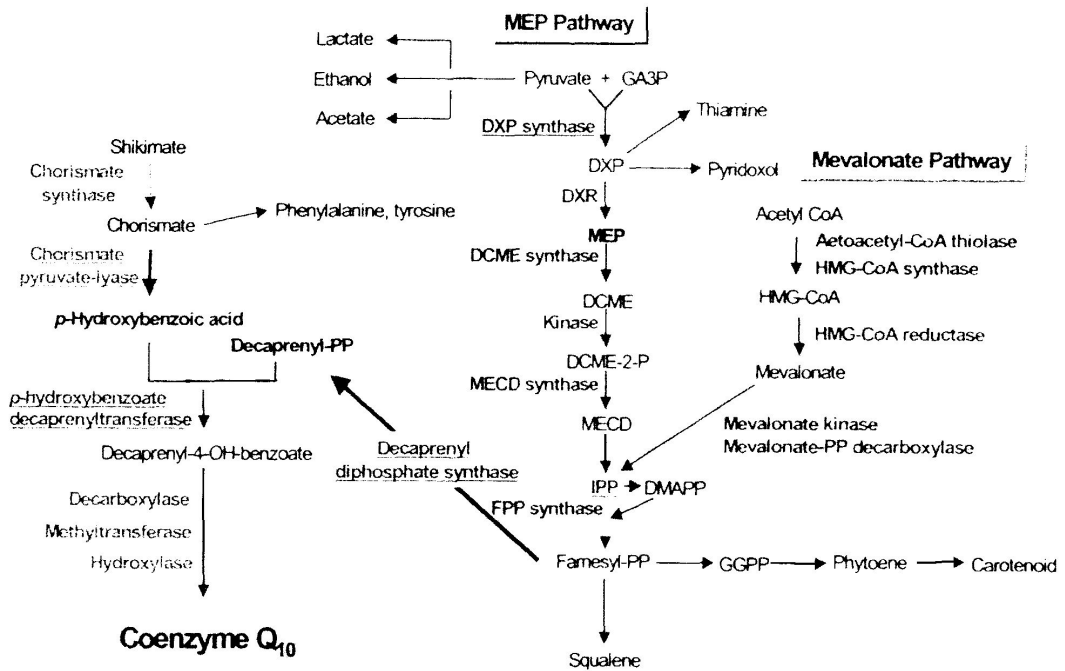


Fig 3. Proposed pathway for CoQ₁₀ production

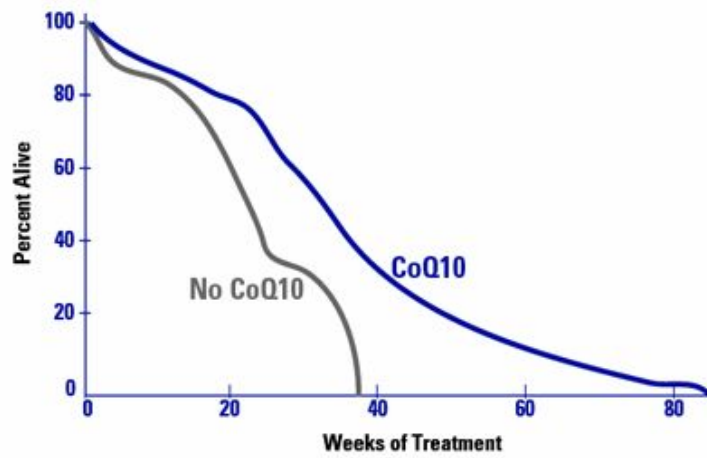


Fig. 4. Life extending effect of CoQ10 on CF1 female mice. The study was started when the mice were 17 months old, and each mouse was given 50 mcg of CoQ10 per week by injection (Fahy, 1983., Bilznakov, 1981.)

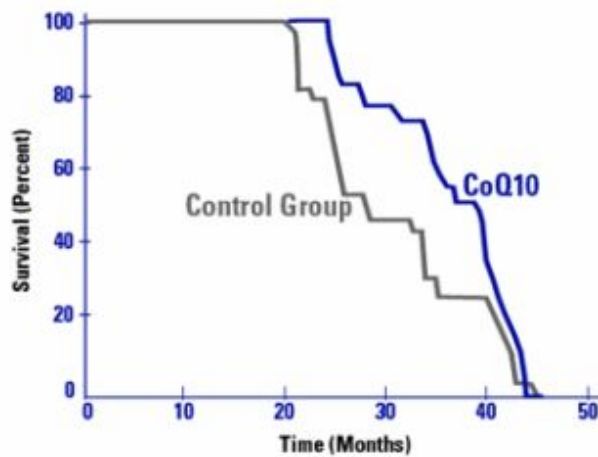


Fig. 5. CoQ10 resulted in a 20 percent increase in the lifespan of mice, in experiments conducted at UCLA. (Coles and Harris, 1996.)

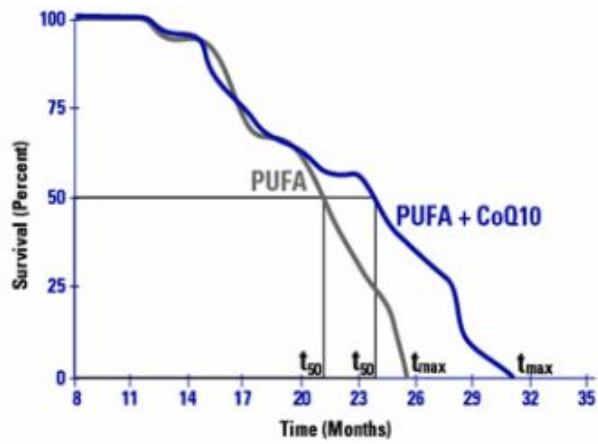


Fig. 6. CoQ10 extends the lifespan of rats (0.7 mg/kg/day). Survivorship study was performed using 43 rats per group (Quiles, et al., 2004.). PUFAs are polyunsaturated fatty acids



Fig. 7. Example of Coenzyme Q10 Products

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내

- 현재 우리나라는 코엔자임 Q10이 의약품 원료, 치약, 화장품용으로 사용되고 있으며, 2005년 9월에 건강기능식품 원료로 1차 심의를 통과하였고 2005년 12월에 심의를 통과함으로써 앞으로의 건강기능식품으로서의 높은 수요가 예상되고 있다.
 - 코엔자임 Q10이 건강기능식품 원료로 고시됨에 따라 시장은 급팽창하고 있고, 자양강장 드링크 시장과 비타민 드링크 시장에 이어 코엔자임 Q10 드링크 시장의 새로운 바람이 전망되고 있다.
 - 일본에 이어 세계에서 두 번째로 대웅제약이 원료합성 기술을 보유하여 미국, 일본 등 900만 달러(4톤 규모) 수출을 달성한데 이어 현재는 동남아, 이탈리아, 독일, 러시아 등에 진출하면서 세계 각국에 탄탄한 거래망을 확보한 상태며, 올해 총 4,000만 달러(15톤) 가량의 해외 수출을 예상하고 있다.
- 영진약품에서는 2006년 완주에 세계3대 규모의 코엔자임 Q10의 생산시설을 완공하여 50톤의 생산을 공정을 이룩하여 일본보다는 후발주자이면서 연간 3060만불(300억 원)규모의 수출계약이 완료된 상태이다.

제 2 절 국외

- 코엔자임 Q10에 대하여는 1990년대부터 알려져 있었으나 강력한 항산화 활성 및 노화방지에 관한 연구는 2000년 이후에 급격히 증가하였다.
- 코엔자임 Q10은 현재 미국과 일본, 유럽 등에서 인기를 모으고 있는 항산화 성분으로 미국에서는 오래 전부터 건강기능식품 소재로 사용되어 왔으며, 심혈관 치료 약물로도 사용이 증가하고 있다.

- 일본에는 코엔자임 Q10을 12위(건강기능식품 부문 1위)로 선정할 만큼 작년 한 해 일본에서는 코엔자임 Q10 성분이 인기를 모으기도 하였다.
- 또한 일본에서는 심장혈관계 질환의 치료로서 널리 사용되어 250여 코엔자임 Q10 관련 제품들이 화장품 시장과 다이어트 시장에서 폭발적인 인기를 얻고 있다.
- 미국에서는 대부분 일본에서 코엔자임 Q10을 제공받고 있으며, 심장질환 치료용 식품이 개발되어 있고, 샴푸, 치약, 입술 보호제 등으로 개발 판매되고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 시료 확보

1. 해조류 (Macroalgae) (3종)

- *Undaria pinnatifida* (미역)
- *Green laver* (파래),
- *Capsosiphon fulvescens* (매생이)

수산시장에서 신선한 상태로 구입하여 시료로 이용하였다.

2. 미세조류 (Microalgae) (3종)

- *Dunaliella Salina* CCAP 1918
- CW15 (*Chlamydomonas* mutant)
- *Chaetoceros neogracile* (극지 diatom)

녹조 미세조류 (2종)과 Diatom은 실험실 내에서 배양하였다.

3. 해양 동물 (Marine animal) (2종)

- *Asterias amurensis* (아무르 불가사리) - A, B, C
- Jellyfish (해파리) - A, B, C

남해연구소에서 포획하여 본 연구실로 당일 배송하였다. 해양 동물은 한 개체의 크기가 크기 때문에 부위별로 세 부위(A, B, C)로 나눠 저장 및 분석에 이용하였다.



Fig. 8. *Dunaliella Salina* CCAP 1918

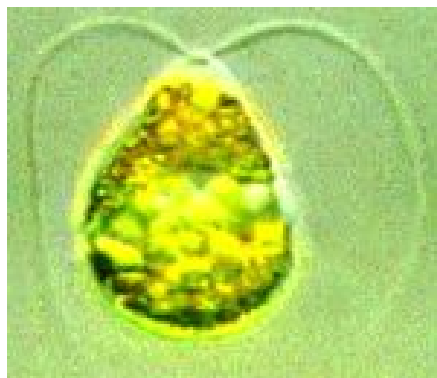


Fig. 9. CW15 (*Chlamydomonas* mutant)

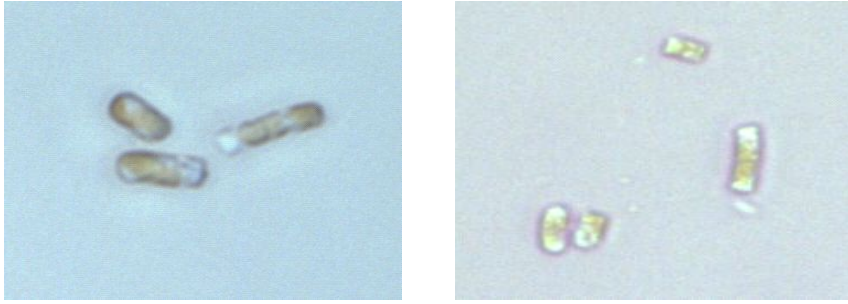


Fig. 10. *Chaetoceros neogratile*

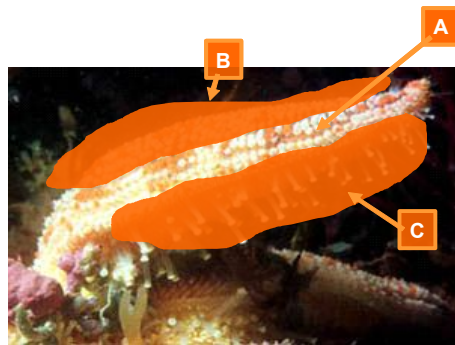


Fig. 11. *Asterias amurensis*

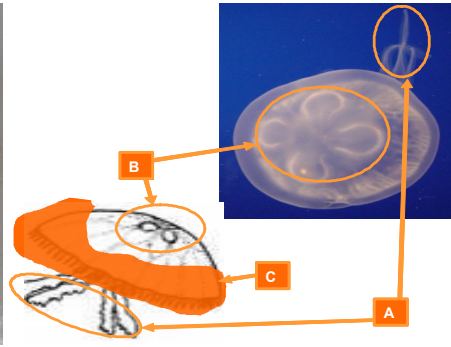
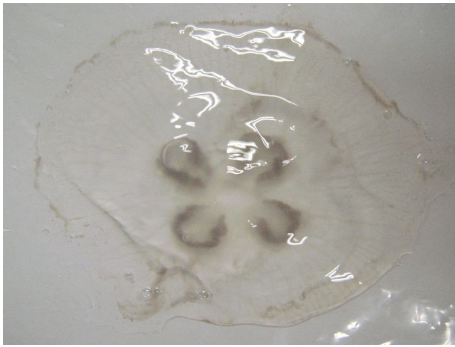


Fig. 5.

Fig. 12. Jellyfish

제 2 절 코엔자임 Q10의 추출 방법 연구

1. 코엔자임 Q10 추출 방법의 탐구

코엔자임 Q10의 추출을 위해 여러 가지 방법이 모색 되었다. (Maurizio P. et al., 1996) 이용된 시료는 추출 방법의 효율 비교가 용이하게 한 가지 시료인 Jellyfish B가 이용 되었다. 기본적으로 세포막의 파괴를 위해 건조되지 않은 시료는 동결 마쇄법을 이용하였고, 건조된 시료는 일반 마쇄법을 이용하여 가루의 형태로 만들었다. 세포막이 파괴된 시료에서 코엔자임 Q10을 추출하기 위하여 7가지의 방법이 시도되었다. 시도된 방법은 Table 4에 명시되어 있다. 시도된 시료들은 HPLC (LC-20A Prominence, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다. 먼저 코엔자임 Q10이 추출된 시료를 먼저 HPLC 분석을 한 후에, 이 시료에 코엔자임 Q10 Standard를 3ul 첨가한 후 다시 HPLC를 시행하여 정확한 코엔자임 Q10의 peak를 확인하였다.

2. 결과

총 7가지의 추출 방법을 통해 코엔자임 Q10의 추출량을 비교해본 결과 0.2% SDS 3ml + 100% Et-OH 3ml + n-Hexane 8ml 을 이용한 추출 방법의 효율이 가장 높아 앞으로의 시료의 분석 시 위의 방법을 이용하였다.

Table. 4. Various extraction methods for Coenzyme Q10

Extraction methods	Coenzyme Q10
n-Hexane 1.5ml + 2-Propanol 0.9ml	X
0.2% SDS 1ml + n-Hexane 1.5ml + 2-Propanol 0.9ml	X
0.2% SDS 1ml + n-Hexane 3ml	X
0.2% SDS 1ml + Et-OH 1ml + 2-Propanol 2ml	X
0.2% SDS 1ml + Et-OH 1ml + n-Hexane 3ml + 2-Propanol 1.8ml	X
0.2% SDS 1ml + Et-OH 1ml + n-Hexane 2ml	O
0.2% SDS 3ml + Et-OH 3ml + n-Hexane 8ml	O

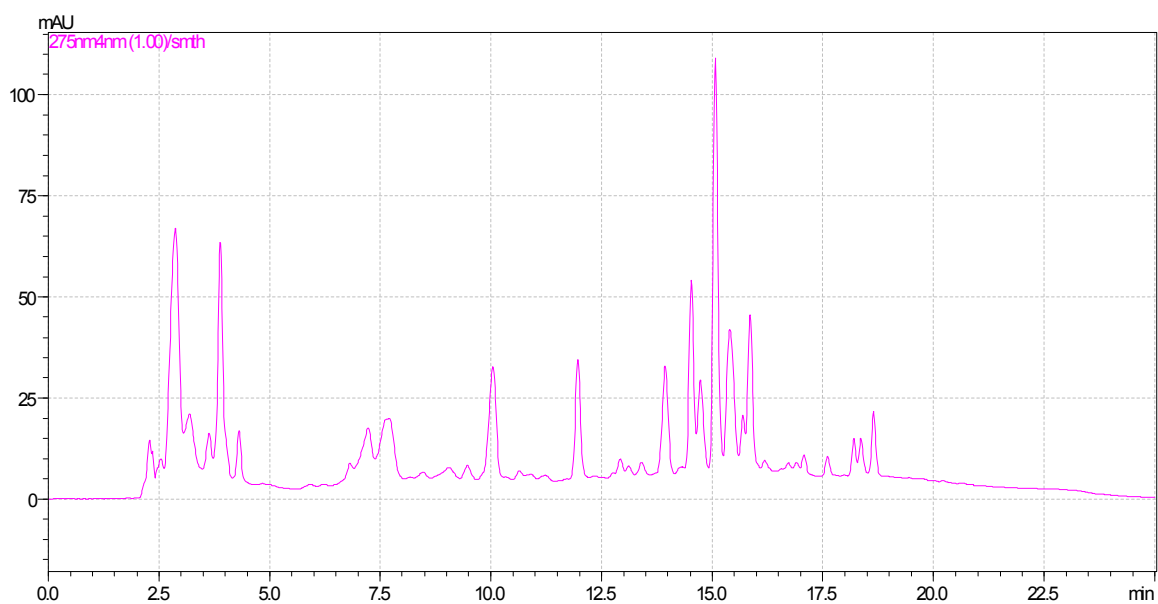


Fig. 13. HPLC profile of sample(*Asterias amurensis A*)

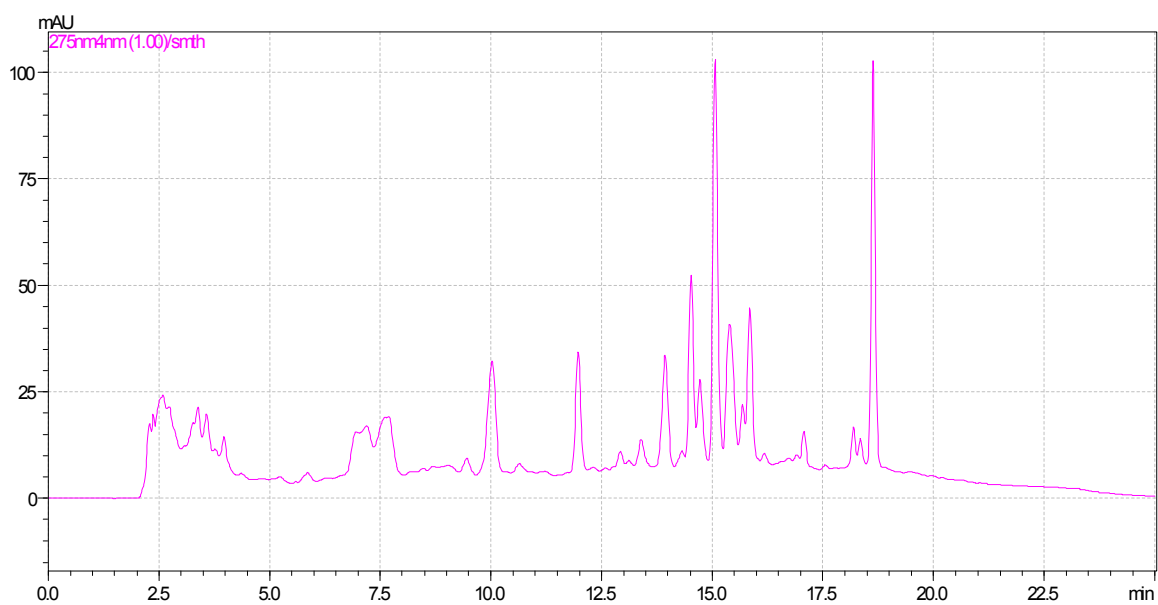


Fig. 14. HPLC profile of sample(*Asterias amurensis A*) added Coenzyme Q10 standard

제 3 절 코엔자임 Q10 정량 분석

1. 재료 및 방법

가. 스크린 시료

시료는 제1절에서 설명되었던 시료를 이용하였고 총 12가지의 시료가 이용되었다.

1. 해조류 (3종)

- *Undaria pinnatifida* (미역)
- *Green laver* (파래),
- *Capsosiphon fulvescens* (매생이)

2. 미세조류 (3종)

- *Dunaliella Salina* CCAP 1918
- CW15 (*Chlamydomonas* mutant)
- *Chaetoceros neogracile* (극지 diatom)

3. 해양 동물 (2종)

- *Asterias amurensis* (아무르 불가사리) - A, B, C
- Jellyfish (해파리) - A, B, C

나. HPLC를 이용한 정량 분석

HPLC는 본 연구실에 구비되어있는 일본 Shimadzu 사의 LC-20A Prominence를 이용하였다. 유속은 1.2 ml/min 으로 하였고 한 시료당 총 25 min 간 분석하였다. Column은 Waters Spherisorb ODS1 (4.6*250mm, 5um)을 사용하였고 Column의 온도는 40°C로 하였다. 측정 파장은 275nm에서 측정하였다. Mobile phase는 A: Ethyl acetate - 10%, B: Methanol - 2%, C: Acetonitrile - 84%, D: Tris-HCl (pH 8.0) - 14% 를 이용하였다. 모든 용매는 HPLC grade 용매를 사용하였다.

다. 코엔자임 Q10 & 코엔자임 Q9 Standard

대조군으로 사용될 코엔자임 Q10, 코엔자임 Q9 Standard는 시그마에서 구입하였다. 코엔자임 Q10, 코엔자임 Q9 Standard의 Standard 그래프를 구하기 위해 Standard 용액을 총 네 가지 농도(0.1 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 3 mg/L)로 희석하여 측정하였다. (Peter H., 2001)

라. 코엔자임 Q10 추출 및 비교

코엔자임 Q10의 추출 방법은 제2절에서 시행되었던 추출 방법 중 효율이 가장 높았던 방법을 이용하였다. 추출 방법은 다음과 같다.

- ① 동결 마쇄법을 이용해 시료를 막자사발로 간다.
- ② 0.2% SDS 3ml을 넣고 1 min 간 갈아준다.
- ③ 100% Et-OH 3ml을 첨가하고 1 min 간 갈아준다.
- ④ n-hexane 5ml을 넣고 1min 간 더 갈아 준다
- ⑤ 시료를 15ml tube로 옮겨준다.
- ⑥ 막자사발에 다시 n-hexane 3ml을 넣고 헝구어서 좀 전의 시료가 담겨있는 tube에 담는다.
- ⑦ 시료가 담긴 튜브를 4000rpm에서 5min 간 원심분리 한다.
- ⑧ 원심분리 된 시료의 최상층 부분을 채취 한다
 - 최상층 부분이 지용성 물질들이 녹아있는 n-hexane 부분
- ⑨ 질소가스로 말린다.
- ⑩ 다 마른 시료는 500 ul의 100% Et-OH로 10min간 녹여준다
- ⑪ 시료를 0.2 um pore size 필터로 걸러준다
- ⑫ HPLC에 주사하여 분석한다.

코엔자임 Q10과 코엔자임 Q9의 HPLC peak의 출현 시간대가 다르므로 이를 이용해 코엔자임 Q9의 정량 분석도 같이 시행되었다.

2. 결과

총 12가지의 시료를 비교해보면, 가장 많은 코엔자임 Q10이 추출된 시료는 *Asterias amurensis* A (아무르 불가사리) 부분으로, fresh weight을 기준으로 하면 5,000 ng/g·fw, Dry weight을 기준으로 하면 20,240 ng/g·dw의 코엔자임 Q10을 함유하고 있다. 가장 많은 코엔자임 Q9이 추출된 시료는 *Green laver* (과래)로, fresh weight을 기준으로 하면 16,805 ng/g·fw, Dry weight을 기준으로 하면 261,750 ng/g·dw의 코엔자임 Q9을 함유하고 있다. 그래프는 각각 해조류, 미세조류, 해양 동물로 구분하여 나타내었다.

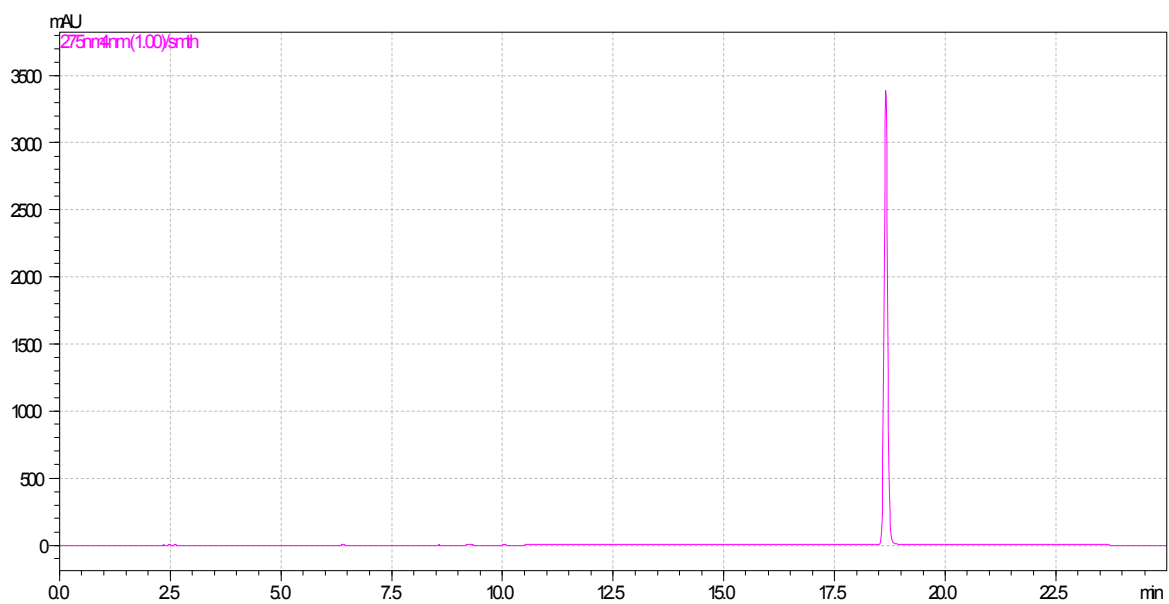


Fig. 15. HPLC profile of Coenzyme Q10 standard (1,000mg/L)

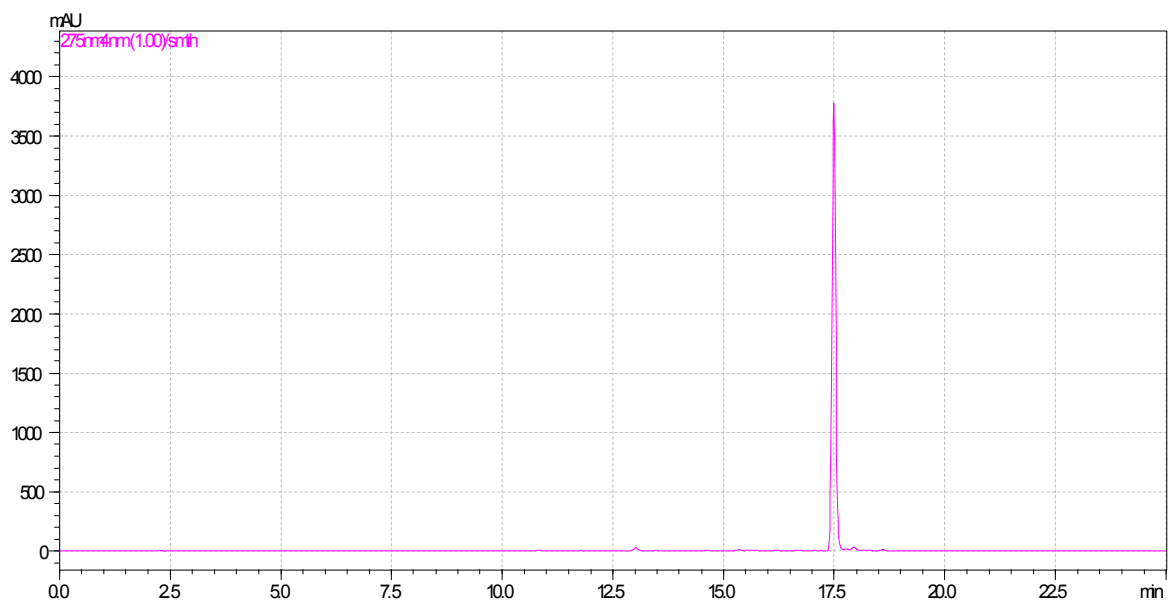


Fig. 16. HPLC profile of Coenzyme Q9 standard (1,000mg/L)

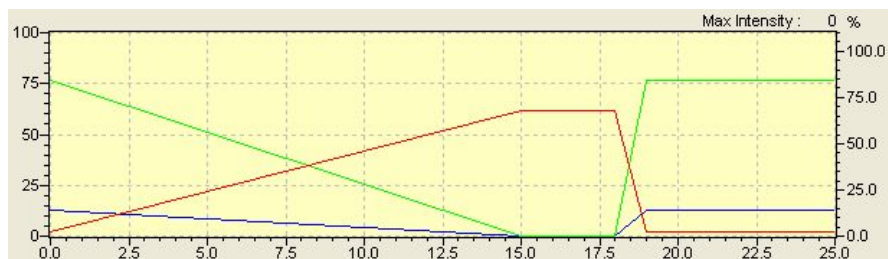


Fig. 17. HPLC Solvent graph (Red : Methanol, Green : Acetonitrile, Blue : Tris-HCl)

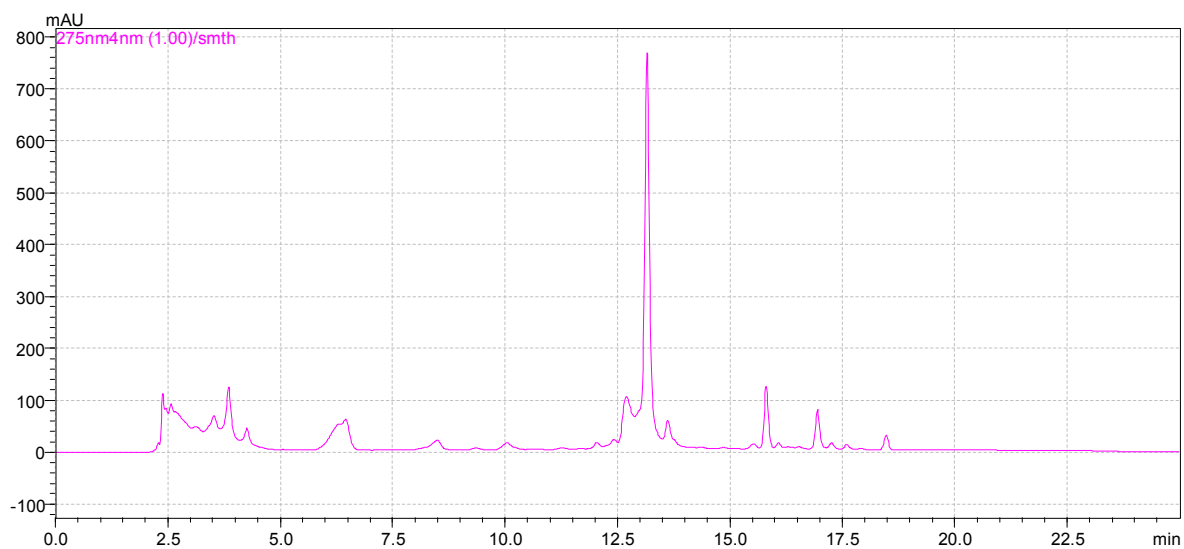


Fig. 18. HPLC profile of *Undaria pinnatifida* sample

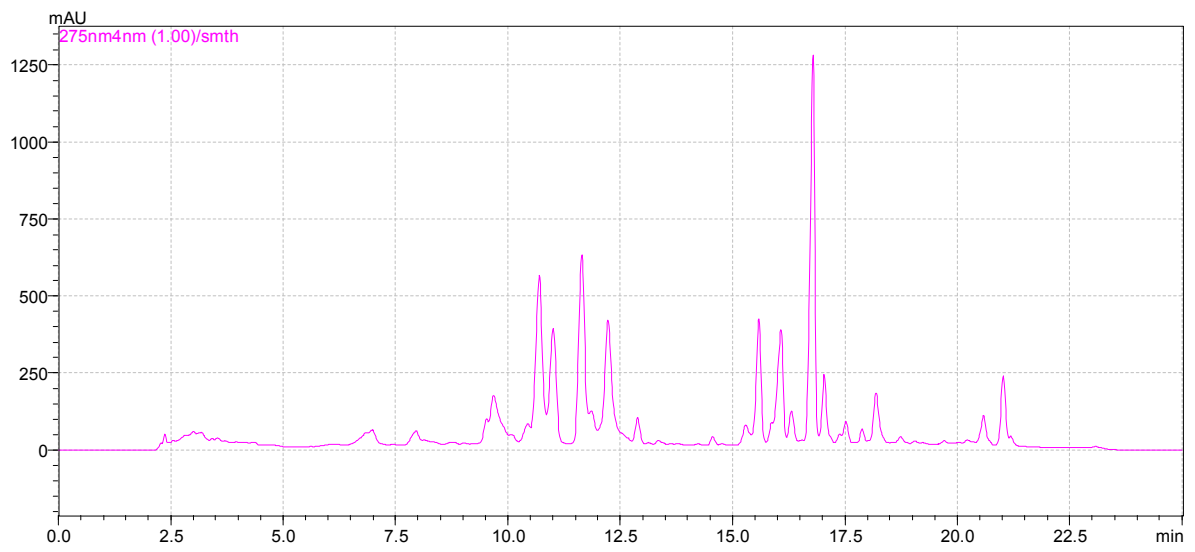


Fig. 19. HPLC profile of *Capsosiphon fulvescens* sample

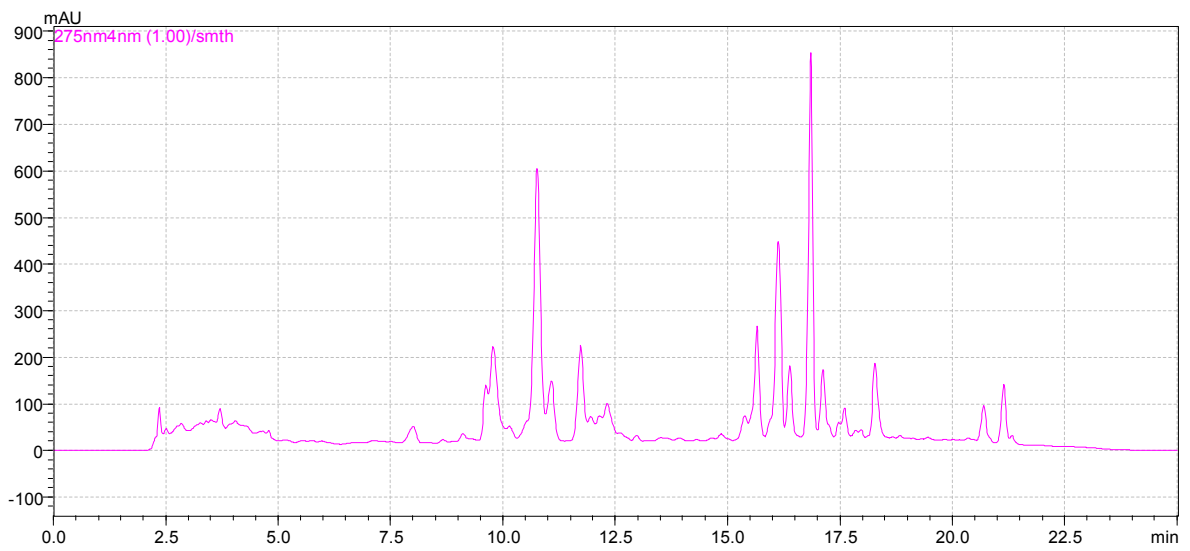


Fig. 20. HPLC profile of *Green laver* sample

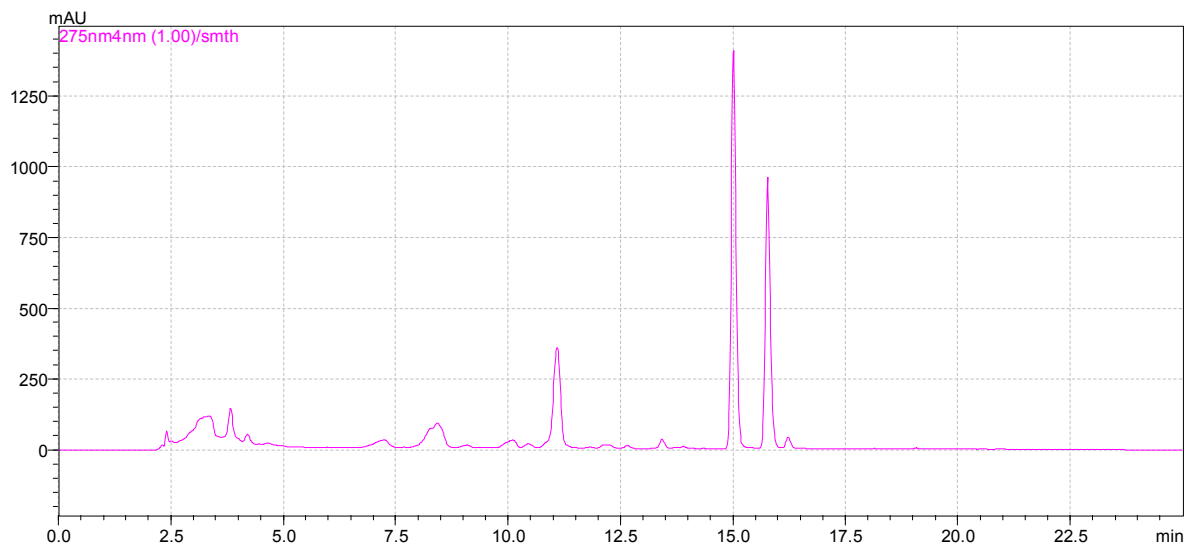


Fig. 21. HPLC profile of CW15 sample

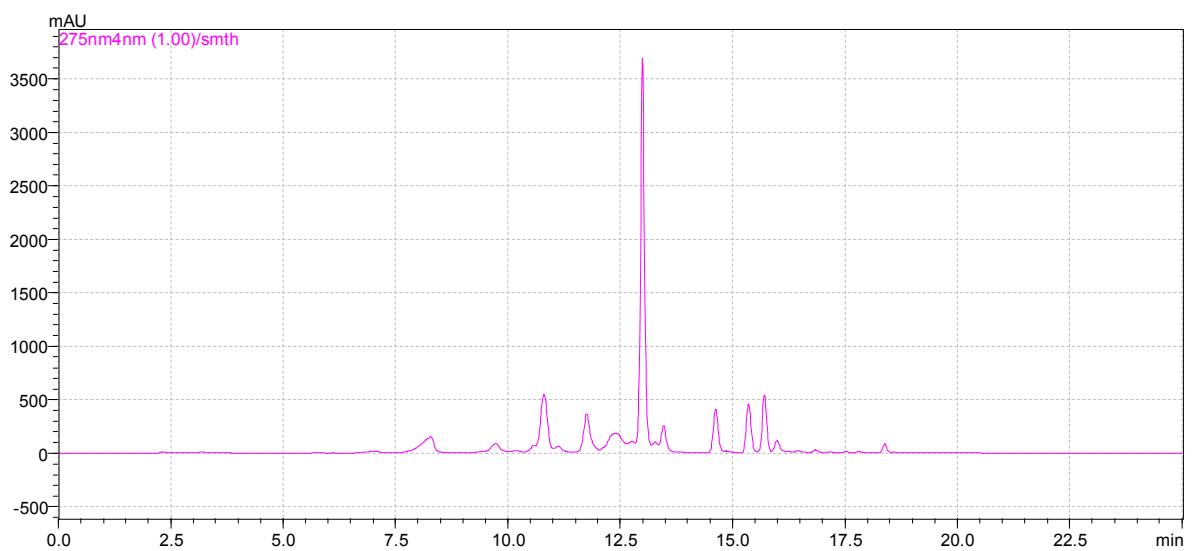


Fig. 22. HPLC profile of *Dunaliella Salina* CCAP 1918 sample

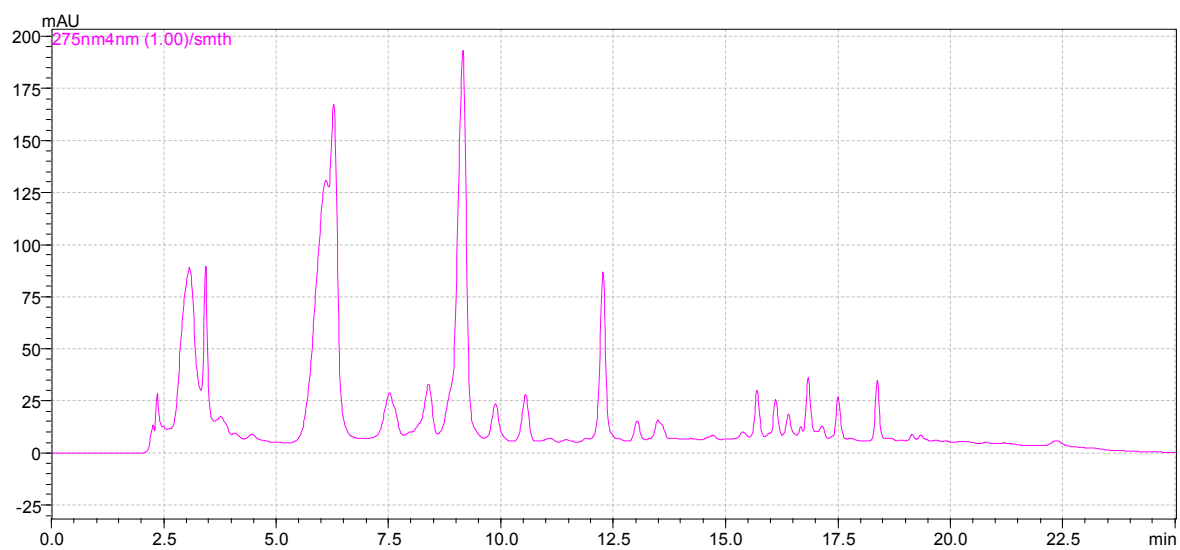


Fig. 23. HPLC profile of *Chaetoceros neogracile* sample

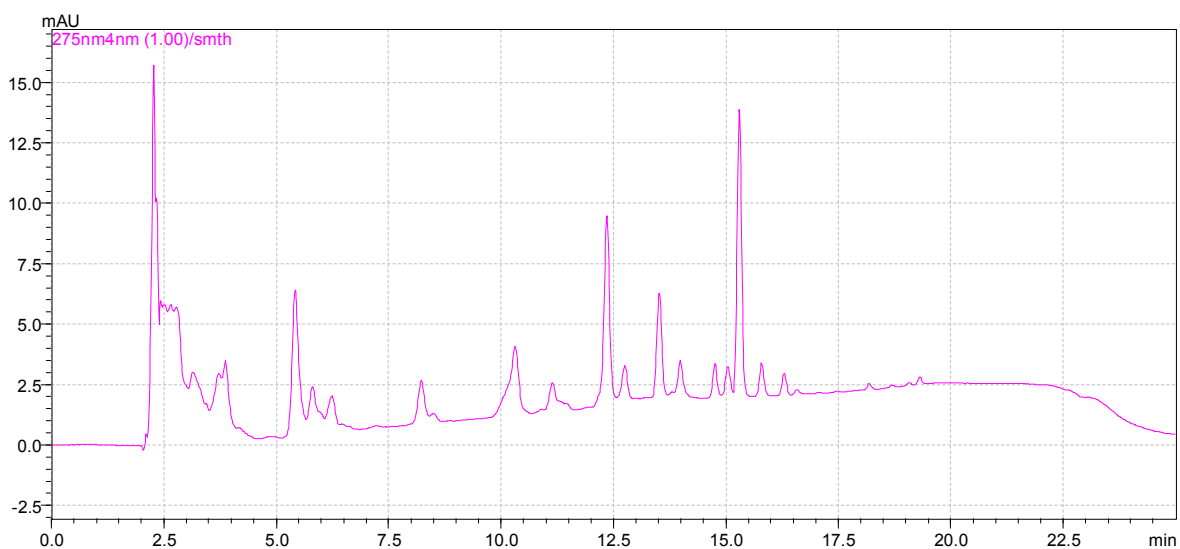


Fig. 24. HPLC profile of Jellyfish B sample

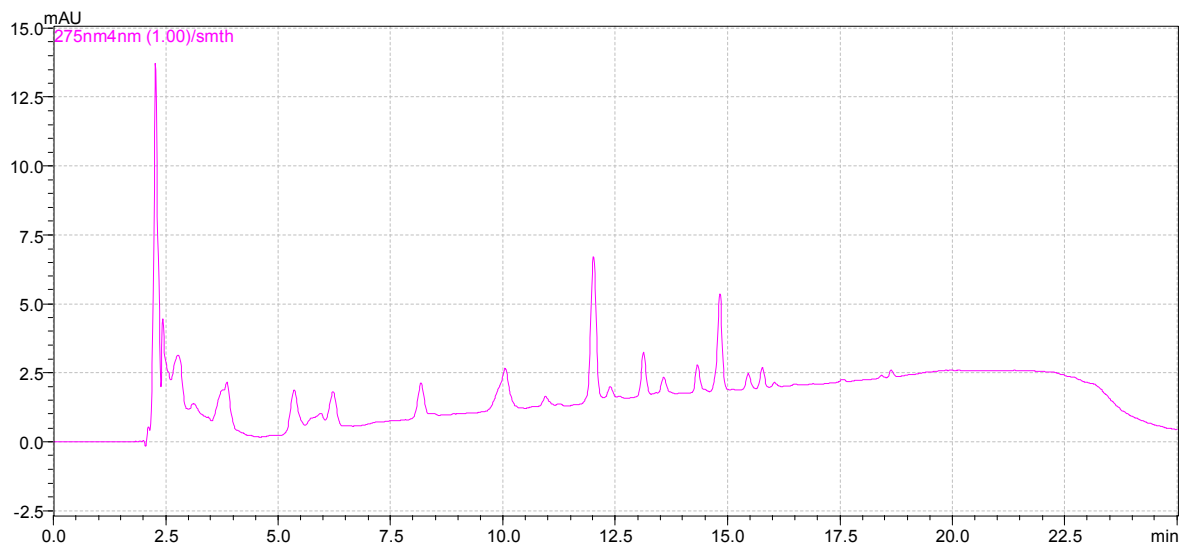


Fig. 25. HPLC profile of Jellyfish C sample

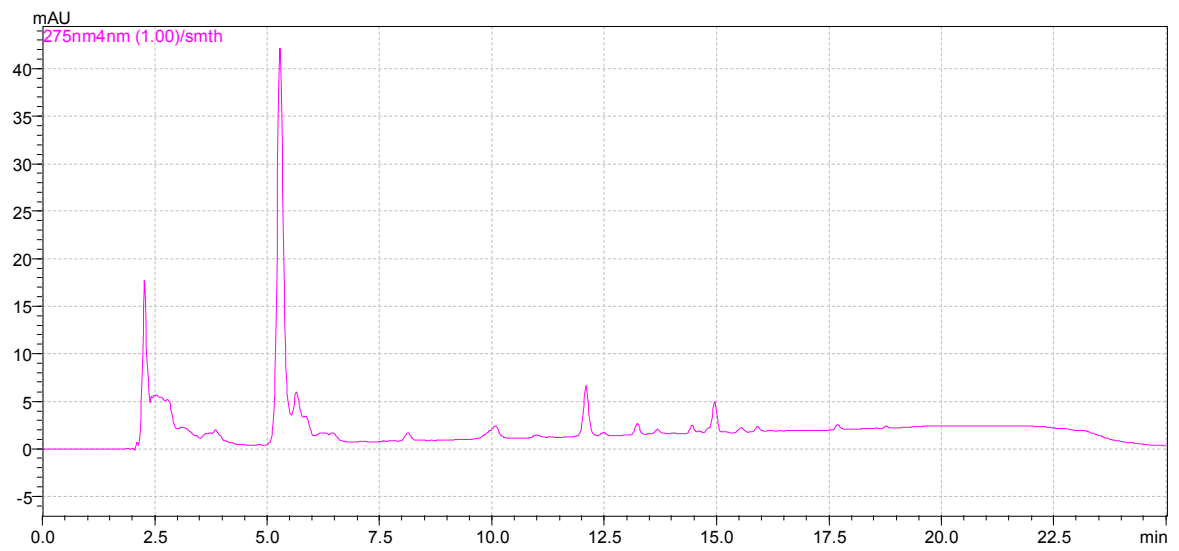


Fig. 26. HPLC profile of Jellyfish A sample

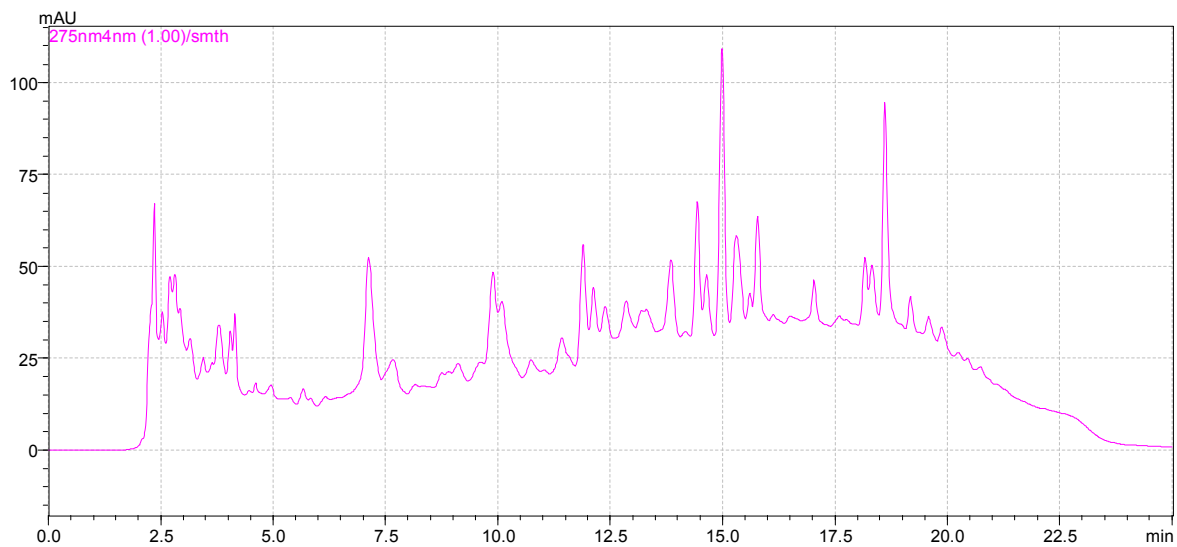


Fig. 27. HPLC profile of *Asterias amurensis* A sample

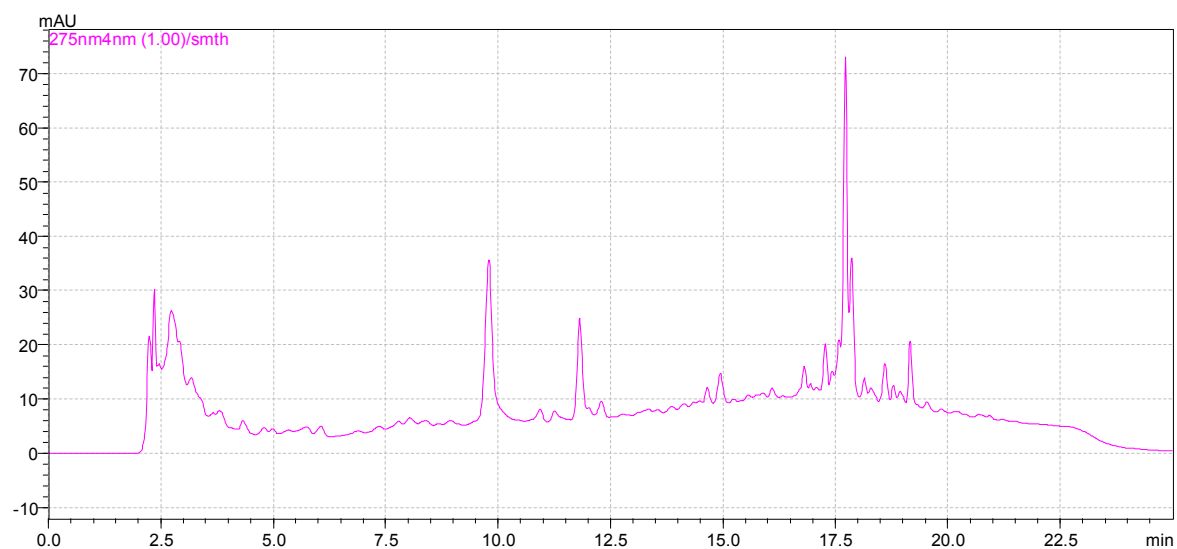


Fig. 28. HPLC profile of *Asterias amurensis* B sample

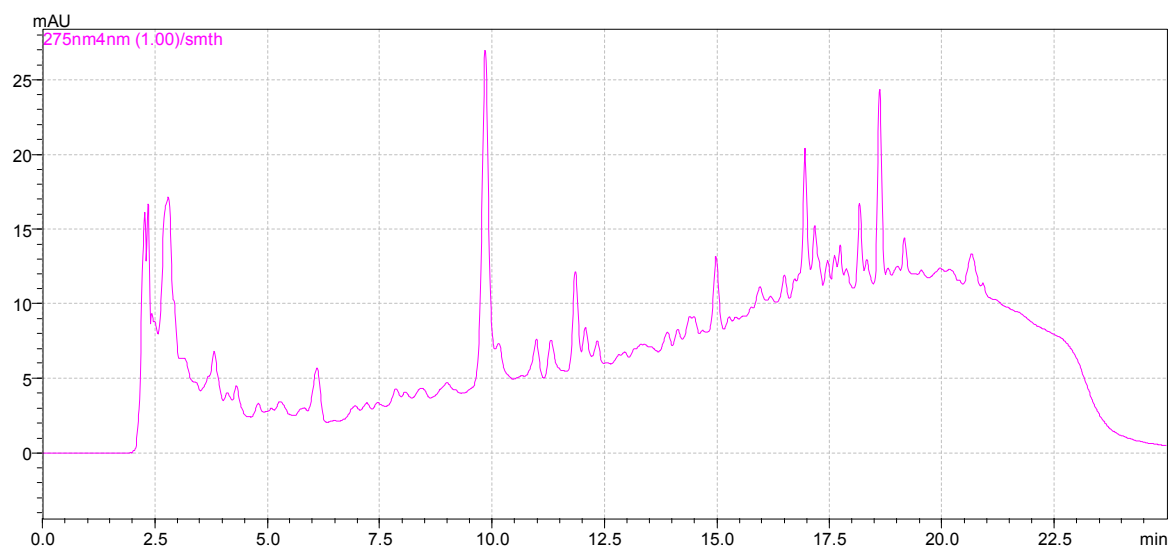
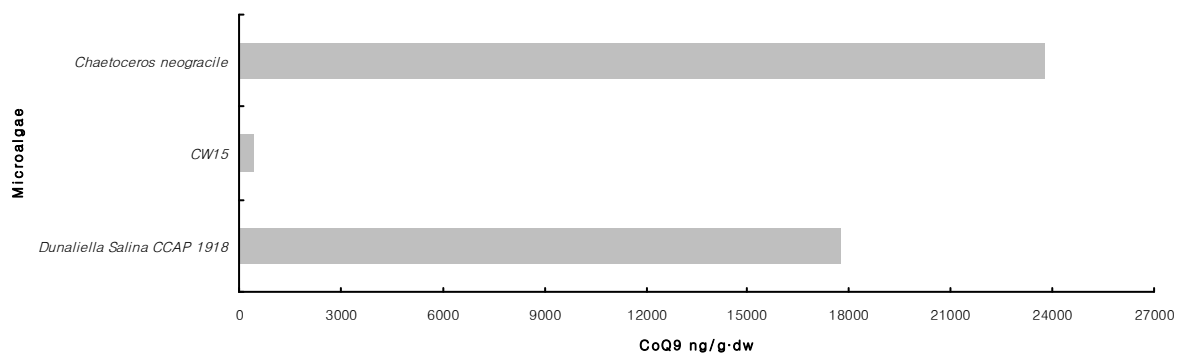
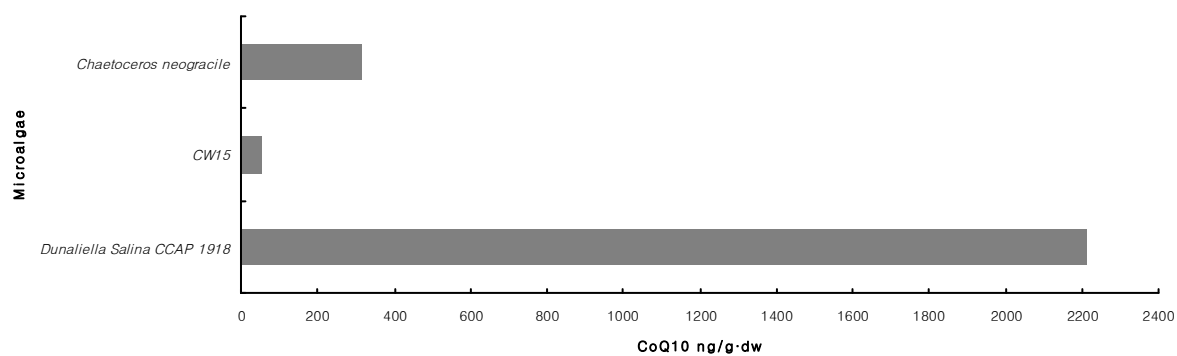
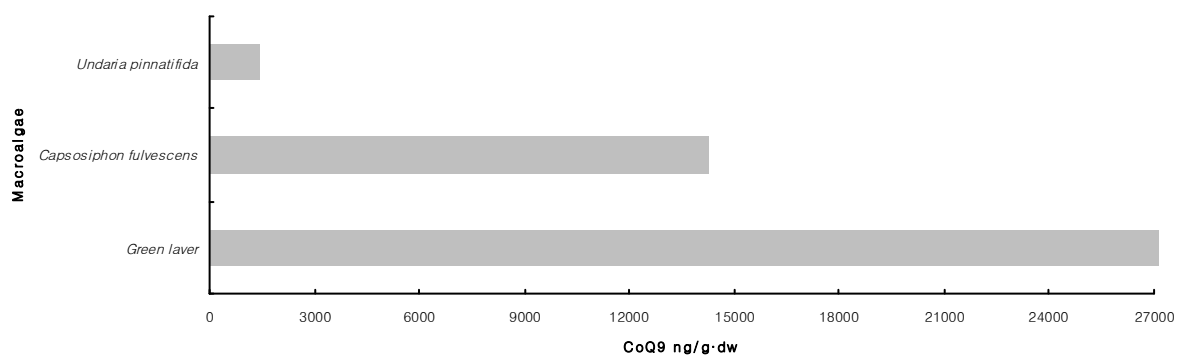
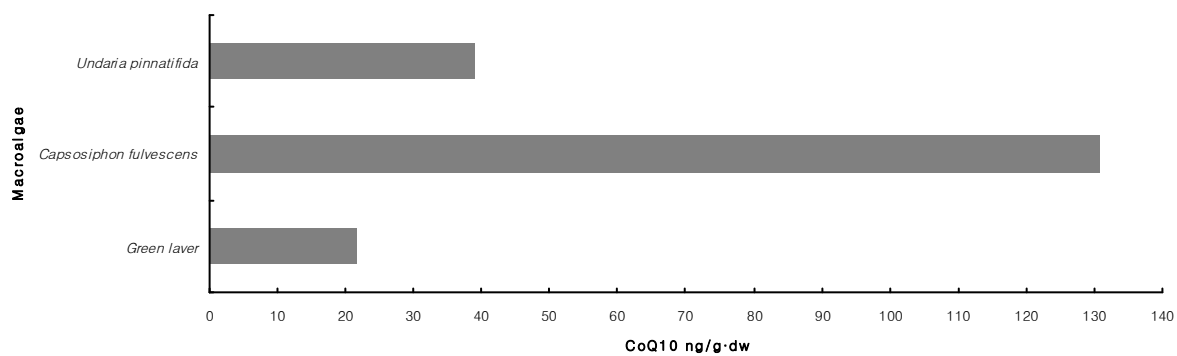


Fig. 29. HPLC profile of *Asterias amurensis* C sample



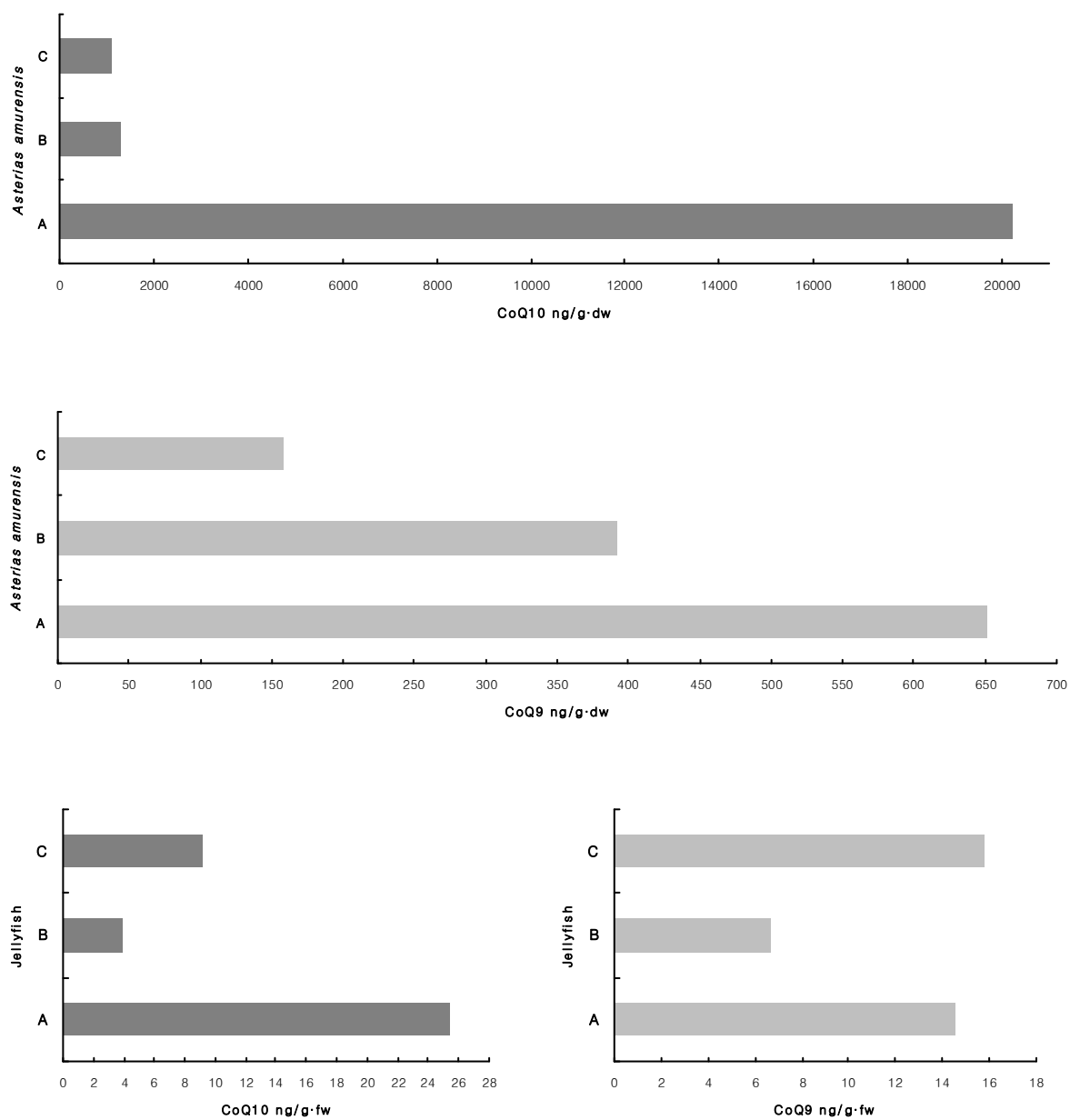


Fig. 30. Amount of Coenzyme Q10 and Coenzyme Q9 in marine organism

제 4 절 코엔자임 Q10의 채산성 분석

코엔자임 Q10의 함유량이 가장 높은 시료는 *Asterias amurensis* A (아무르 불가사리) 시료로 1g 당 약 20ug의 코엔자임 Q10이 존재하고 있다. 이 시료 1톤에서 코엔자임 Q10을 추출한다면 2g의 코엔자임 Q10을 얻을 수 있다. 현재 시그마에서 판매하고 있는 코엔자임 Q10 Standard 1g의 가격이 354,000원인 것을 고려해 볼 때 2g의 코엔자임 Q10의 가격은 708,000원으로 추정할 수 있다. 즉 1톤의 시료가격을 약 708,000원이라고 추정해 볼 수 있다.

코엔자임 Q9의 함유량이 가장 높은 시료는 *Green laver* (파래) 시료로 1g 당 약 262ug의 코엔자임 Q9이 존재하고 있다. 이 시료 1톤에서 코엔자임 Q9을 추출한다면 26.2g의 코엔자임 Q9을 얻을 수 있다. 현재 시그마에서 판매하고 있는 코엔자임 Q9 Standard 5mg의 가격이 680,000원인 것을 고려해 볼 때 26.2g의 코엔자임 Q9의 가격은 35억 6320만원으로 추정할 수 있다. 즉 1톤의 시료가격을 약 35억 6320만원이라고 추정해 볼 수 있다.

물론 코엔자임 Q9은 코엔자임 Q10에 비해 가격 면에서 보면 월등히 높다. 하지만 코엔자임 Q9은 현재 합성방법이 존재하지 않을 뿐만 아니라 이용분야가 적어 그 가격이 높다고 예상할 수 있다. 또한 코엔자임 Q9의 경우는 아직까지 연구된바가 거의 전무한 상태이며 그 효능도 알려지지 않은 상태이다. 만약에 코엔자임 Q9의 효능이 알려지고 코엔자임 Q10과 같이 건강 보조 식품으로 적합하다는 사실이 알려진다면 *Green laver* (파래)를 이용한 코엔자임 Q9의 추출이 상당한 채산성을 지니고 있음을 알 수 있다.

코엔자임 Q10의 경우는 현재 화학 합성법이 밝혀져 일본의 한 기업과 우리나라의 한 기업에서 대량으로 합성되고 있는 실정이다. 대량 합성에 비해 생물학적으로 추출하는 방법은 당연히 채산성이 떨어진다고 볼 수 있다. 하지만 요즘 웰빙 시대의 추세를 이용한다면 해양 생물을 이용한 코엔자임 Q10의 추출 및 이용이 유용할 것이라 추측된다.

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1 절 연구개발 목표 달성도

목 표	달성도	내 용
○ 코엔자임 Q10 추출 방법 모색	100	<ul style="list-style-type: none"> • 문헌조사 및 기초 자료 수집 • 추출 방법의 비교를 통해 추출 효율이 가장 높은 방법 선택
○ 다양한 해양생물의 코엔자임 Q10의 정성 및 정량 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> • 확보된 해양생물을 이용해 크로마토그래피(HPLC) 이용한 코엔자임 Q10의 추출 및 비교
○ 코엔자임 Q10,코엔자임 Q9 함량이 높고 우수한 품질이 가능한 해양 생물 선정	100	<ul style="list-style-type: none"> • 분석된 시료 중 코엔자임 Q10의 함량이 가장 높은 시료 선정 • 분석된 시료 중 코엔자임 Q9의 함량이 가장 높은 시료 선정
○ 현재 시판 중인 코엔자임 Q10과 채산성 비교	100	<ul style="list-style-type: none"> • 현재 시판 중인 코엔자임 Q10과 채산성 비교 및 경제성 평가

제 2 절 대외 기여도

이번 기획 연구는 크게 두 가지의 의미를 담고 있다.

첫 번째로 해양생물을 이용한 천연의 생리활성물질 개발 연구는 전 세계적으로 전무한 연구로 선진 해양국 연구 개발 동향과 연계해 비교 우위 기술 확보 가능성이 높다는 점이다. 해양생물은 개체수가 많아 시료 채취가 용이할 뿐만 아니라 해양생물을 이용한 연구가 많이 진행되어있지 않은 점에서 발전 가능성이 높은 연구라 할 수 있겠다.

두 번째로는 생태계 환경의 보호차원에서 중요한 의미를 갖고 있다. 이번 연구 결과에 이용된 시료를 보면 Jellyfish(해파리)와 *Asterias amurensis* (아무르 불가사리)가 있는데 이 두 생물들은 현재 생태계를 교란시키는 생태계교란자로서 환경에 위협이 되는 생물로 지목되어 있다. *Asterias amurensis* (아무르 불가사리)같은 경우는 포식력이 월등해 하루에 바지락 같은 패류를 2~3개체를 먹어치우고 있어 생태계에 큰 위협이 되고 있다. 게다가 연구 결과를 보면 이용된 시료 중에서 코엔자임 Q10의 함량이 가장 많은 생물은 *Asterias amurensis* (아무르 불가사리)임을 알 수 있다. 이러한 생태계교란자에서 천연의 생리활성물질을 추출해 이용한다면 환경보호 측면에서 중요한 의미를 지닐 수 있다. 예로 들어 전라남도 해남 앞바다에서는 불과 3~4년 전만해도 발견되지 않았던 *Asterias amurensis* (아무르 불가사리)가 최근 무성하게 번식하고 있다. 어민들이 이를 막기 위해 아무르 불가사리를 잡아들이고 있는데 세 시간 동안 바다 밑에서 굽어 잡은 불가사리가 4톤가량 된다고 한다. 이러한 점은 시료의 획득에 있어서 용이한 이점이 있어 연구와 효용의 가치가 높다. 또한 생태계교란자들은 이용 분야가 없어서 시료의 단가가 낮는데, 이는 높은 상업적인 효과도 거둘 수도 있다는 이점도 지니고 있다.

이렇듯 이번 연구는 해양생물에서 천연의 생리활성물질을 추출 및 이용할 수 있다는 가능성을 열어주고, 생태계교란자를 이용한다는 측면에서는 환경보호의 한 방법으로 기여 하였다.

또한 코엔자임 Q10과 더불어 시행된 코엔자임 Q9의 결과를 종합해보면, 덜 진화된 생물일수록 코엔자임 Q9의 함량이 높다는 것이다. 크게 식물 플랑크톤과 해양 동물과 비교해 본다면, 식물 플랑크톤은 코엔자임 Q9의 양이 코엔자임 Q10에 비해 월등히 많이 존재한다. 반대로 해양 동물은 코엔자임 Q10의 양이 코엔자임 Q9에 비해 월등히 많이 존재한다. 이를 분석해 보면 진화적으로 우위를 차지하고 있는 해양 동물이 코엔자임 Q10을 더 많이 이용하고 있음을 알 수 있다. 이런 결과를 토대로 코엔자임 Q10과 코엔자임 Q9의 연관관계를

통한 진화학적 분석이 더 이루어진다면 생물의 진화와 코엔자임 Q의 이용관계에 관한 의미 있는 결과를 도출할 수 있겠다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 해양생물대상 천연 생리활성물질 개발 연구 기반 구축
- 생태계 환경을 위협하는 생태계교란자들을 이용한 유용 물질 생산
- 코엔자임 Q10과 코엔자임 Q9의 상관관계를 통하여 진화적 유연관계 도출

제 6 장 참고문헌

- Arroyo A, Kagan VE, Tyurin VA, Burgess JR, de Cabo R, Navas P, and Villalba JM., 2000. NADH and NADPH dependent reduction of coenzyme Q at the plasma membrane. *Antioxid Redox Signal* **2**:251-262
- Beal M.F., 1999. Coenzyme Q10 administration and its potential for treatment of neurodegenerative diseases. *IOS Press* **9**:261-266
- Catherine FC., 2000. New advances in coenzyme Q biosynthesis. *Protoplasma* **213**:134-147
- Dallner G, Sindelar PJ., 2000. Regulation of ubiquinone metabolism. *Free Radical Biology & Medicine*, **29**:285-294
- Dhanasekaran, Muralikrishnan, Ren, Jun., 2005. The Emerging role of Coenzyme Q-10 in aging, Neurodegeneration, Cardiovascular Disease, Cancer and Diabetes Mellitus. **13**:447-459
- Hoppe U., Bergemann J. Diembeck W., Ennen J., Gohla S., Harris I., Jacob J., Kielholz J., Mei W., Pollet D., Schachtschabel D., Sauermann G., Schreiner V., Stab F., and Steckel F., 1999. Coenzyme Q10, a cutaneous antioxidant and energizer. *IOS Press* **9**:371-378
- Jonassen T., Pamela L., and Catherine F., 2001. A dietary source of Coenzyme Q is essential for growth of long-lived *Caenorhabditis elegans* clk-1 mutants. *PNAS* **98**:421-426
- Lipshutz BH., Mollard P., Pfeiffer SS., Chrisman W., 2002. A short, highly efficient synthesis coenzyme Q10. *J. Am. Chem. Soc* **124(48)**:14282-14283
- Meganathan R., 2001. Ubiquinone biosynthesis in microorganisms. *FEMS Microbiology Letter* **203**:131-139
- Peter H., Michael V., Antonius DG., Andrew H., and Amadeo P., 2001. HPLC analysis of reduced and oxidized Coenzyme Q10 in human plasma. *Clinical Chemistry* **47:2** 256-265
- Podda M., Christine W., Maret G., and Lester P., 1996. Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinols, and ubiquinones. *J. Lipid Res.* **37**:893-901

Xue-Li C., Ya-Tao X., Guang-ming Z., Sheng-meng X., Ying-Mao D., and Yoichiro I., 2006. Purification of Coenzyme Q10 from fermentation extract: High-speed counter-current chromatography versus silica gel column chromatography. *J. Chromatogr. A* 1127 92-96

해양생물을 이용한 코엔자임 Q10의 스크린 및 활용연구

해양연구원 남해연구소
장민철

한양대학교 생명과학과
진언선

연구결과보고

- 해양연구원 연구정책 지원사업
- 해양생물대상 코엔자임 Q10 의 스크린 및 활용을 위한 기획연구
- 연구책임: 장민철
- 연구기간 : 2006.10.1-2007.1.31 (4개월)

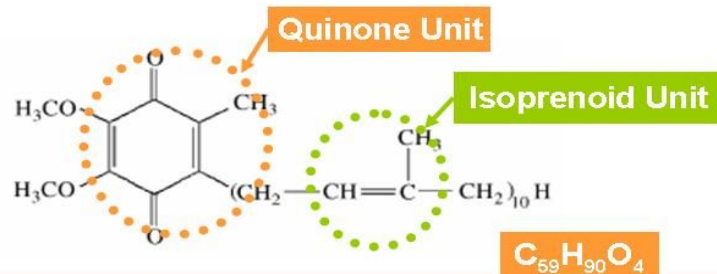
연구목적 및 내용

- 해양생물 대상 코엔자임Q10의 함량을 스크린하여 해양생물자원으로 발굴 및 활용가능성 타진
- 해양생물대상 코엔자임 Q10 추출및 분석 방법 구축
- 해양생물대상 코엔자임 Q10 스크린
- 코엔자임 Q10 생산가능 우수 해양생물자원탐색

Coenzyme Q10 ?

- **Coenzyme Q10 is a fat-soluble quinone with a structure similar to vitamin K**
- **CoQ10 is found in cell membranes, especially in the mitochondrial membranes (abundant in the heart, lungs, liver, kidneys, spleen, pancreas and adrenal glands)**
- **The total body content of CoQ10 is only about 500-1500 mg and decreases with age**

Structure and variety of Coenzyme Q10



CoQ10: 2,3 dimethoxy-5 methyl-6 decaprenyl benzoquinone

- **Ubiquinone in the mitochondria of animals, plastoquinone in the chloroplast of plants, menaquinone in bacteria**

Function

- **Production of adenosine triphosphate (ATP, molecules for energy)**
- **Maintenance of cellular and mitochondrial membrane fluidity**
- **This is its free radical quenching ability (50 times greater than vitamin E), that prevents irreversible oxidative damage**

History

- **In 1957, CoQ10 was first isolated by Dr. Frederick Crane in USA. Professor Morton introduced the name ubiquinone, meaning the ubiquitous quinone.**
- **In 1958, Dr. Folkers at Merck, Inc. determined the structure of CoQ10: synthesized it, were to produce it.**
- **In the mid-1960's, Professor Yamamura of Japan used coenzyme Q7 in the treatment of human heart failure.**
- **In the early 1980's, there were large number and size of clinical trials. Pure CoQ10 is available from pharmaceutical companies in Japan.**
- **Recently, coenzyme Q10 has been used as a medicine and as food supplements and cosmetic use.**

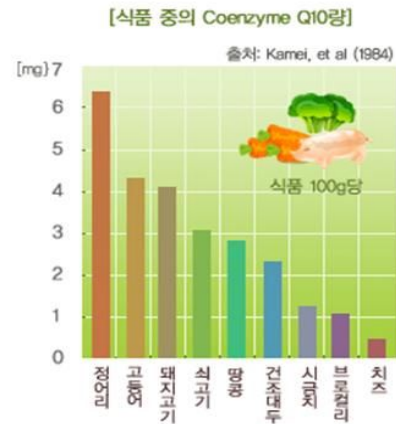
Application

- **Coenzyme Q10 has variety of physiological activities indicated for hypertension, brain vascular injury, anemia, muscle dystrophy**
- **Recent medical functions of coenzyme Q10 such as insulin-like functions and suppressive effect in diabetes**
- **Antioxidant properties of CoQ10 slow of aging and age related degenerative diseases**

Distribution

- They are present in foods and sometimes are also synthesized in the body

인체의 부분별 Coenzyme Q10량 (Coenzyme Q10의 조직중의 농도)					
*단위: $\mu\text{g/g}$ wet weight (19~21세가 가장 높음)					
뇌	13.4	심장	110.0 ± 9.4	폐	6.0 ± 0.4
간	61.2 ± 7.3	췌장	21.0 ± 3.0	신장	98.0 ± 10.4



연구 및 기술개발 동향 (국외)

- **일본:** 심장혈관계 질환의 치료로서 널리 사용되어 250여 Coenzyme Q10 관련 제품들이, 화장품 시장과 다이어트 시장에서 폭발적인 인기
- **미국:** Coenzyme Q10 은 일본 에서 대부분 제공 심장질환 치료용 식품이 개발 되어 있으며 샴푸, 치약, 입술 보호제 등으로 개발 판매

연구 및 기술 개발 동향 (국내)

- 현재 의약품 원료, 치약, 화장품용으로 사용하고 있으나 2005년 12월에 건강기능식품 원료로 심의를 통과
- 국내 전문 의약품엔 Coenzyme Q10 을 최고 30mg(드링크제 등 일반약은 최고 10mg)까지 넣을 수 있도록 규정
- 대응제약이 원료합성 기술을 보유 하여 미국, 일본 등 900만 달러(4톤 규모) 수출을 달성
- 현재는 그밖의 지역에 올해 총 4,000만 달러(15톤) 가량의 수출을 예상

연구 방법

• 시료

해조류(3종)

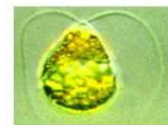
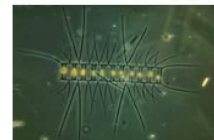
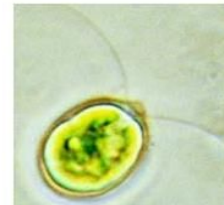
Undaria pinnatifida (미역), green laver (파래),
Capsosiphon fulvescens (매생이)
 →수산시장에서 신선한 상태로 구입

해양 동물 (2종)

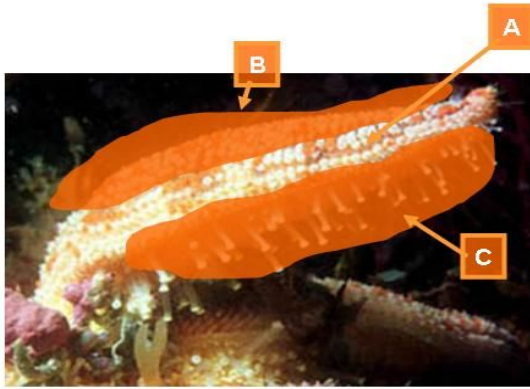
Asterias amurensis (아무르 불가사리), Jellyfish (해파리)
 →남해연구소 에서 포획 당일배송, 부위별 분석 및 저장

미세조류 (3종)

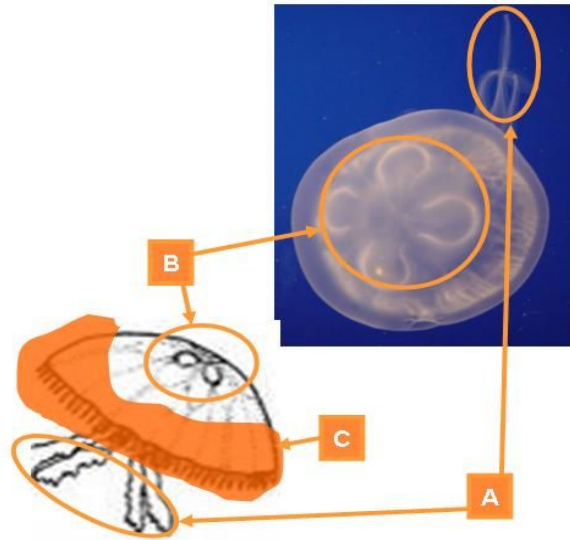
Dunaliella Salina CCAP 1918, CW15 (*Chlamydomonas* mutant)
Chaetoceros neogracile (극지 diatom)
 →Diatom 과 녹조 미세조류 (2종)는 실험실내 배양



Asterias amurensis (아무르)



Jellyfish

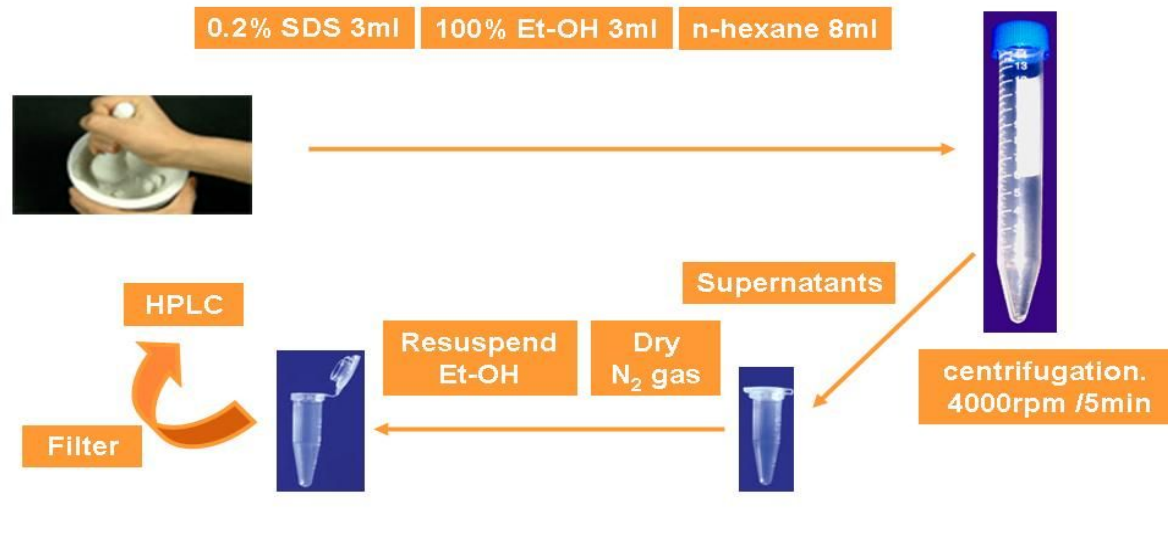


Jellyfish



Asterias amurensis (아무르)

연구방법 (추출및 분석)



연구방법 (추출및 분석)

n-hexane 1.5ml + 2-Propanol 0.9ml

0.2% SDS 1ml + n-hexane 1.5ml + 2-Propanol 0.9ml

0.2% SDS 1ml + n-Hexane 3ml

0.2% SDS 1ml + Et-OH 1ml + 2-Propanol 2ml

0.2% SDS 1ml + Et-OH 1ml + n-Hexane 3ml + 2-Propanol 1.8ml

0.2% SDS 1ml + Et-OH 1ml + n-Hexane 2ml

0.2% SDS 3ml + Et-OH 3ml + n-Hexane 8ml

연구방법 (추출및 분석)



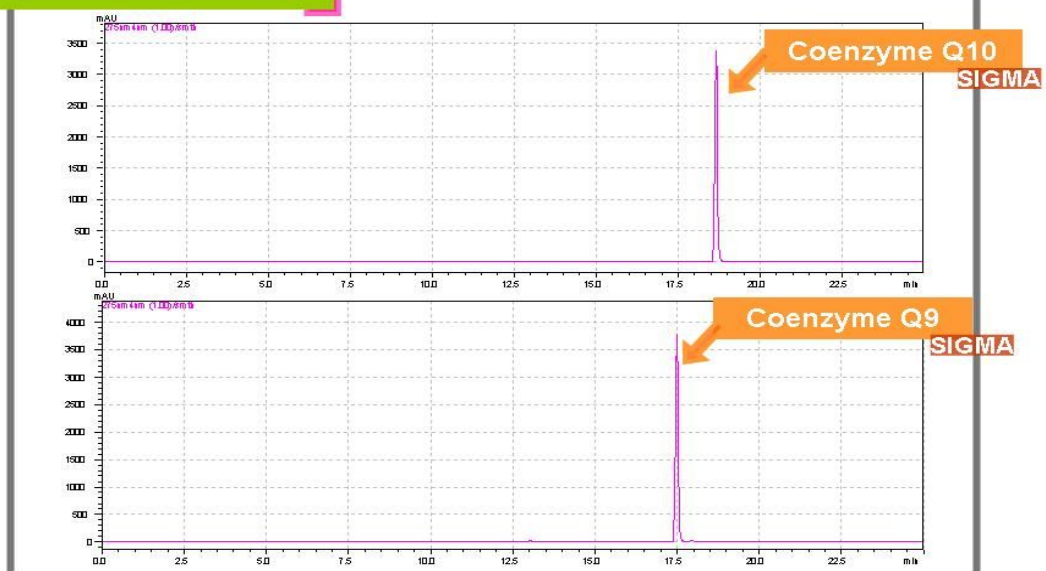
SHIMADZU LC-20A Prominence

용매	공급량
Ethyl acetate	10 %
Methanol	2 %
Acetonitrile	84 %
0.1M Tris-HCl	14 %
유속	1.2 ml / min

HPLC Grade 용매 사용

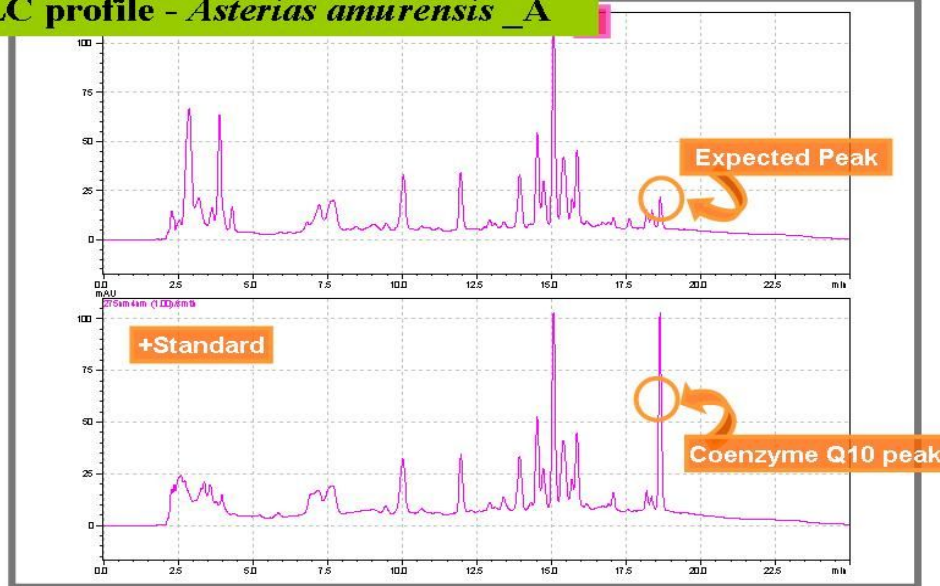
Coenzyme Q9 and Q10 standard

Standard Peak

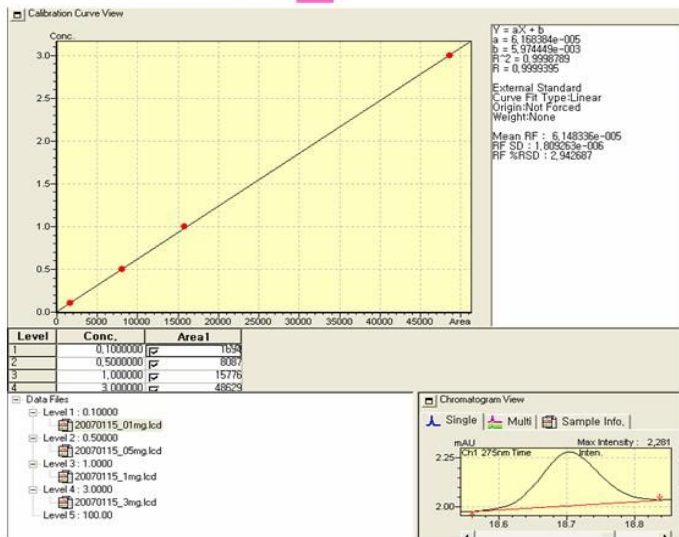


연구결과

HPLC profile - *Asterias amurensis* _A



Standard Curve



0.1mg/L

0.5mg/L

1mg/L

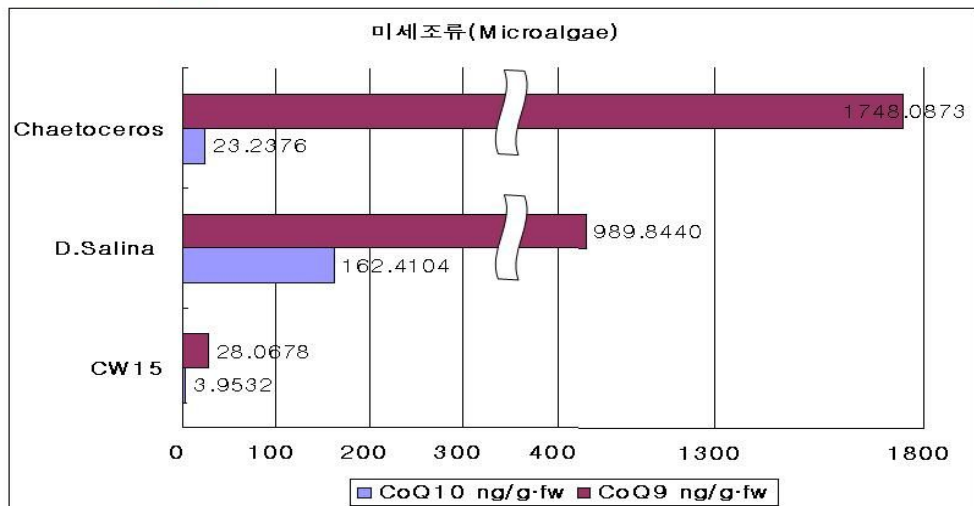
3mg/L

R = 0.9999

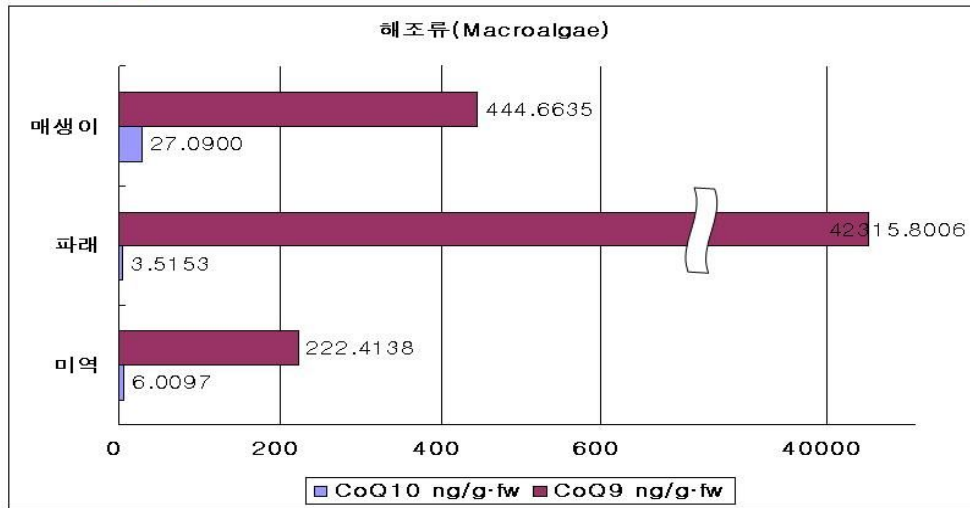
CoQ Table

		FW weight (g)	CoQ10(ng)/gFW	CoQ9(ng)/gFW
Asterias amurensis	A	3.7400	646.6021	178.8208
	B	4.6400	115.9172	2.9180
	C	8.9100	117.8442	2.7166
Jellyfish	A	4.3250	25.4324	14.5558
	B	5.7880	3.8853	6.6201
	C	5.5700	9.1384	15.7333
해조류	미역	5.7790	6.0097	222.4138
	파래	4.5800	3.5153	42315.8006
	매생이	3.0000	27.0900	444.6635
미세조류(Microalge)	CW15	0.8980	3.9532	28.0678
	<i>D. CCAP 1918</i>	1.5140	162.4104	989.8440
	Chaetoceros	1.8980	23.2376	1748.0873

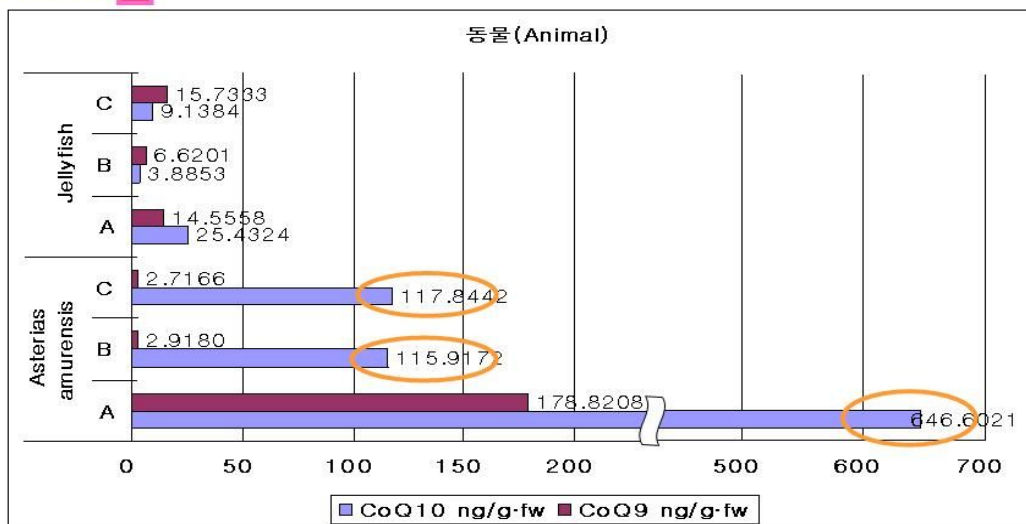
미세조류



해조류



해양동물



아무르 불가사리



- 엄청난 번식력과 포식력으로 바다의 무법자
- 연안에는 대략 4천 930만 마리의 불가사리가 서식하며, 연간 패류 생산량의 6.6%인 약 2만 톤을 먹어치우고 있음
 - >연안 해역 생태계를 심각히 위협
- 아무르 불가사리는 한번에 2천 만개의 알을 낳음, 이미 UN으로부터 유해동물로 지정됨
- 아무르 불가사리는 20℃가 넘으면 활동력과 포식력이 급격히 떨어지고 5~10월까지 평균 수온이 20℃가 넘는 남해에서는 없어야 할



아무르 불가사리

→ 온난화의 영향

남해안의 양식장에서선 아무르 불가사리가 양식장의 풍부한 먹이와 유기물질이 가득한 퇴적층 환경이 에서 번성

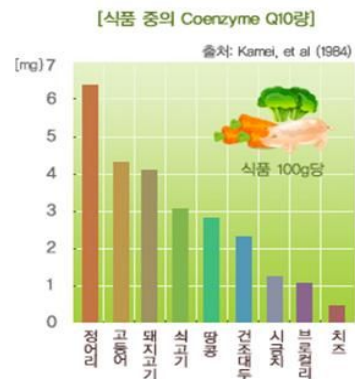
아무르 불가사리의 활용?

- 현재 잡아들인 불가사리의 일부는 비료, 인산칼슘 생산의 원료로 쓰임
- 아무르 불가사리 Coenzyme Q10 함유량 (10 mg/kg DW)

불가사리 10 $\mu\text{g/g}$

고등어 42 $\mu\text{g/g}$

치즈 5 $\mu\text{g/g}$



Summary

- **해양생물대상 coenzyme Q9,10을 추출 및 분석방법구축**
- **Coenzyme Q10 함유량이 비교적 높은 해양동물은 불가사리 (10 μ g/g.dw)로 부위별 함유량의 차이를 보임**
- **Coenzyme Q9의 양은 해조류와 미세조류에서 다량으로 존재 하는 것을 확인 (10-42 μ g/g.dw)**

Future direction

- **강장, 극피동물, 연체동물, 어류, 갑각류, 포유류에 이르는 해양생물의 체계적인 스크린을 통해 Coenzyme Q10 와 계통학적인 연관성을 찾아 볼 수 있음**
- **Coenzyme Q9의 임상보고가 전무, 기능이 Coenzyme Q10과 유사할 것으로 사료 따라서 Coenzyme Q9의 임상적 기능연구필요**