



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0054880
(43) 공개일자 2011년05월25일

(51) Int. Cl.

A61K 31/722 (2006.01) A61P 25/32 (2006.01)
A61K 35/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0111675

(22) 출원일자 2009년11월18일

심사청구일자 2009년11월18일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산 남구 용당동 산 100번지 부경대학교내

(72) 발명자

손윤희

대구 수성구 수성동1가 613번지 신세계타운 2동 1202호

남경수

대구 남구 봉덕2동 1071번지 효성타운 106동 1107호

(74) 대리인

이덕록

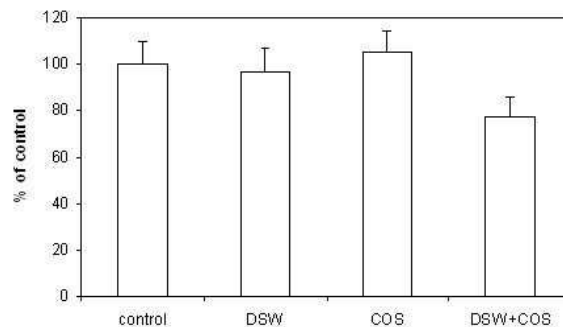
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 알콜해독 및 숙취해소용 해양심층수 함유 키토산올리고당

(57) 요약

본 발명은 해양심층수가 함유된 키토산올리고당에 관한것으로, 알콜 탈수소효소(ADH)와 알데히드 탈수소효소(ALDH) 활성을 증가시킬 뿐 아니라, MEOS활성을 증가시키고 혈중 알콜농도를 감소시키는 뛰어난 효과가 있으므로 알콜해독 및 숙취해소제로 사용할 수 있다.

대표도 - 도1



[보기] Data shown are mean values with bars indicating the SD of the mean (n=3). DSW, deep sea water; COS, chitosan oligosaccharide

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 없음

부처명 국토해양부

연구관리전문기관

연구사업명 해양생명공학사업

연구과제명 미용해양자원의 과도활용기술개발 및 산업화(해양동물유래 신규생리활성물질 및 생산공
정 개발)

기여율

주관기관 부경대학교

연구기간 2009년 1월 1일 ~ 2009년 12월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

해양심층수 함유 키토산올리고당을 유효성분으로 하는 것을 특징으로 하는 알콜해독 및 숙취해소용 조성물.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 알콜해독 및 숙취해소용 해양심층수가 함유된 키토산올리고당에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 오늘날 알코올의 소비량이 날로 증가되고 있으며, 알코올의 만성적인 섭취나 다량 섭취는 숙취 및 알코올성 간질환을 유발한다. 알코올은 생체내에서 30분 내에 위에서 25%가 흡수되고, 소장으로 운반되어 90% 이상 흡수된다. 이처럼 소장에서 흡수되어진 알코올은 주로 간에서 대사되고, 흡수되지 않은 일부는 폐 또는 소변 및 땀으로 배출된다. 섭취된 알코올(alcohol)은 알코올 탈수소효소(alcohol dehydrogenase, ADH)에 의해 아세트알데히드(acetaldehyde)가 되고 다시 알데히드 탈수소효소(aldehyde dehydrogenase, ALDH)에 의해 산화되어 아세트산(acetic acid)으로 되어 일부는 요나 CO₂로 배설된다. 또한 알코올을 과량 혹은 만성으로 섭취할 경우에는 1/2~2/3이상이 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)에 의해서 대사된다. 알코올은 섭취량에 따라 간 대사에 여러 가지 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데 알코올 그 자체보다도 산화과정에서 생성된 아세트알데히드가 간세포에 손상을 가져오게 된다. 체내에 과량의 알코올이 섭취된 경우 알코올 분해산물로 생성된 아세트알데히드는 뇌로 전해져 많은 유해화합물로 바뀌어 맥박의 증가나 발한, 홍조, 오심, 구토 등의 증상을 초래할 수 있다. 간에서 알코올의 대사율은 알코올 탈수소효소, 알데히드 탈수소효소, MEOS의 활성에 영향을 주는 여러 가지 요인들에 의해서 조절되어질 수 있다.

[0003] 키틴·키토산은 다양한 생리기능성을 가지고 있어 의약, 식품, 재료 분야 등 여러 산업 분야에서 응용되고 있으나 고분자 물질이고 비수용성이므로 섭취시 인체내에서 거의 대부분이 흡수되지 못하여 생체내에서의 이용에 제약을 받아왔다. 이에 키틴·키토산보다 체내 흡수가 용이한 수용성 키토산 올리고당을 분리하여 생리활성 연구가 활발히 진행되고 있으며 식품 첨가물, 진단시약, 감염억제제, 항암제 등 다양한 분야에서 신기능성 소재로 개발이 기대된다. 해양심층수는 태양광이 도달하지 않는 수심 200 m 이상에 있는 저온수로서 해양식물의 생장에 필수적인 영양염류가 풍부하고 장기간 숙성된 해수자원으로 그 응용 폭이 점차 증가되고 있다.

[0004] 그러나, 키토산올리고당이나 해양심층수를 알콜성 간질환과 관련하여 알콜해독 및 숙취해소에 연구하여 보고하거나 특허문헌으로 개시된 바는 전무한 실정이다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 해양심층수 함유 키토산올리고당의 알콜분해 및 대사에 미치는 효과를 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

[0006] 본 발명의 상기 목적은 키토산올리고당(3 kDa<MW<5 kDa)과 해양심층수(경도 4,000)을 희석 조합하는 단계와; 상기 해양심층수 함유 키토산올리고당을 ICR mouse에 경구투여하는 단계와; 상기 실험쥐로부터 채혈한 후 얻은 혈청을 사용하여 혈중 알콜을 정량하고 평가하는 단계와; 상기 실험쥐로부터 간을 적출하여 mitochondria fraction, cytosol과 microsome을 분리하여 ADH, ALDH 효소 및 MEOS 등의 활성을 측정하는 단계와; 단백질을

정량하는 단계를 통하여 달성하였다.

효 과

[0007] 본 발명 해양심층수 함유 키토산올리고당은 실험동물의 임상실험결과 알콜 탈수소효소 활성, 알데히드 탈수소효소 활성을 증가시킬 뿐만 아니라, MEOS활성을 현저히 증가시키고 혈중알콜농도도 현저히 감소시키므로 알콜해독 및 숙취해소에 뛰어난 효과가 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0008] 실험재료

[0009] 본 실험에 사용된 냉동건조한 시료 키토산 올리고당 (3 kDa<MW<5 kDa)은 (주)키토라이프 (Seoul, Korea)로부터 제공받아 실험에 사용하였다. 해양심층수는 동해의 해저 1,100 m에서 취수하여 역삼투압 시스템으로 탈염과 농축을 하였으며, 탈염된 해양심층수(경도 0)와 미네랄을 첨가하여 경도 4,000으로 조절된 해양심층수를 (주)위터비스(Seoul, Korea)로부터 제공받아 희석하여 실험에 사용하였다. 탈염된 해양심층수(경도 0)와 경도 4,000의 해양심층수에 대한 미네랄의 함량은 [표 1]에 나타내었다.

[표 1] Mineral ingredient content of deep sea water

Mineral ingredient	Desalinated water (mg/l)	Hardness ^{a)} 4,000 (mg/l)
Ca	0.9	322.0
Mg	2.8	773.2
K	1.0	219.0
Na	4.3	165.1
Cl	17.9	2147.0
SO ₄	3.6	1466.0

a) Hardness: Ca (mg/l) × 2.5 + Mg (mg/l) × 4.1

[0010]

[0011] 실험동물 사육 및 식이

[0012] 본 발명에서 사용된 동물은 체중 23~24g의 4주령 수컷 ICR mouse를 (주)오리엔트 (Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일간 환경에 적응시킨 후 실험을 실시하였고 실험기간 중 사육실 온도는 20~ 22℃, 습도는 40~50%, 그리고 명암은 12시간 주기로 전환하였다. 실험군은 대조군[알코올 (25% EtOH) 투여군], 알코올+해양심층수(경도1,500) 투여군, 알코올+키토산올리고당(2.5mg/day)투여군, 알코올+해양심층수(경도1,500)+키토산올리고당(2.5mg/day) 투여군으로 각각 7마리씩 4그룹으로 나누었으며 시료를 경구투여하고 30분 뒤 25% 알코올을 경구투여하였다. 총 3주의 실험기간동안 동물의 상태를 관찰하면서 사료 섭취량을 매일 일정한 시간에 측정하였고 체중은 1주일 간격으로 측정하였다.

[0013] 혈액, 간 채취 및 효소원 분리

[0014] 실험동물을 24시간 절식시킨 뒤 심장채혈법으로 혈액을 채취하고, 혈액은 4℃, 1,000 g에서 15분간 원심분리한 후 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 혈중 알코올농도 분석에 이용하였다. 혈액을 채취한 후 실험동물은 간을 적출한 다음 간문맥에 0.15 M KCl을 주사하여 간을 perfusion한 후 적출하여 0.15M KCl에 씻은 다음 순수 간 조직 1g당 9ml의 비로 0.25M sucrose를 가하여 조직파쇄기를 이용하여 파쇄하였다. 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 debris를 제거하고 상층액을 다시 10,000×g에서 20분간 원심분리한 후 pellet에 0.1M CaCl₂를 함유한 0.25M sucrose 용액을 1 ml당 0.2 ml(1/5)를 첨가하여 ALDH활성 측정의 효소원으로 사용할 mitochondria fraction을 얻고, supernatant은 다시 105,000×g에 1시간 초원심분리하여 microsomal fraction과 cytosolic fraction을 분리해냈다. microsomal fraction은 0.1M CaCl₂를 함유한 0.25M sucrose 용액을 재현

탁하여 MEOS활성 측정에 사용하였고, cytosolic fraction은 ADH활성 측정 효소원으로 사용하였다.

[0015] **알코올 탈수소효소 (alcohol dehydrogenase)**

[0016] 알코올 탈수소효소 활성은 NADH 생성에 따른 흡광도의 변화를 340nm에서 측정하였다. 반응액의 조성은 0.05M Glycine-NAOH buffer(pH 9.6), 0.58% ethanol, 13.3mM NAD sol'의 혼합액과 효소원인 1mg protein의 cytosol 을 넣고 37℃에서 5분간 안정시킨 후 그에 따른 흡광도 측정하여 그 변화량으로 활성을 구하였다.

[0017] **알데히드 탈수소효소 (aldehyde dehydrogenase)**

[0018] 알데히드 탈수소효소 활성은 NADH 생성에 따른 흡광도의 변화를 340nm에서 측정하였다. Propionaldehyde를 기질로 하여 반응을 개시하였으며, ALDH 반응액의 조성은 70mM Na₄ P₂ O₇ · 10 H₂ O 2, 16.7mM pyrazole, 60mM propionaldehyde, 13.3mM NAD의 혼합액과 효소원인 1mg protein의 mitochondria를 넣고 37℃에서 5분간 안정시킨 후 그에 따른 흡광도를 측정하여 그 변화량으로 활성도를 나타내었다.

[0019] **MEOS 활성도 측정**

[0020] MEOS 활성 측정은 Erlenmeyer flask형 반응 용기의 out well에 반응액으로 3uM NADP, 5uM MgCl₂ , 20uM nicotinamide, 8uM glucose-6-phosphate, 50uM ethanol, 80uM K.P buffer(PH 7.4)와 1:1의 비율로 한 microsome과 cytosol분획을 첨가하고, center well에는 0.015M semicarbazide HCl이 함유된 0.16M potassium phosphate buffer를 넣고 37℃에서 30분 동안 반응시킨 후 70%의 TCA를 out well에 넣어 반응을 정지시키고 실 온에 24시간 방치하여 생성되는 acetaldehyde-semicarbazone의 흡광도를 224nm에서 측정하였다.

[0021] **혈중 알콜농도**

[0022] 혈중 알콜은 Kit (enzyme ethanol assay kit, BioChain Institute, Inc)를 이용하여 분석하였다.

[0023] **단백질 정량**

[0024] 단백질 정량은 Lowry 등의 방법에 준하여 bovine serum albumin (Sigma)을 표준품으로 하여 측정하였다.

[0025] 실험동물의 간에서 알코올 탈수소효소 (alcohol dehydrogenase), 알데히드 탈수소효소 (aldehyde dehydrogenase) 및 MEOS 활성을 측정한 결과, 해양심층수 투여군, 키토산올리고당 투여군, 해양심층수와 키토산 올리고당 혼합투여군에서 대조군과 비교하여, 알코올 탈수소효소 활성은 키토산올리고당 투여군에서 5% 증가를 관찰할 수 있었으며(도1) 알데히드 탈수소효소의 활성은 해양심층수와 키토산올리고당 혼합투여군에서 10% 증가가 있었으며(도2) MEOS 활성은 해양심층수 투여군에서 대조군보다 45% 증가가 관찰되었다(도3). 그리고 혈중 알코올의 농도는 해양심층수 투여군에서 20% 감소(p<0.05)와 해양심층수와 키토산올리고당 혼합투여군에서 47% 감소(p<0.01)에 의한 통계적으로 유의성있는 감소현상을 관찰할 수 있었다 (도 4). 본 발명에 따르면, 해양심층수 함유 키토산올리고당 투여에 의하여 혈중 알콜농도의 감소에 의하여 숙취해소와 간질환을 예방 및 치료할 수 있을 것으로 판단되었다.

산업이용 가능성

[0026] 본 발명 해양심층수 함유 키토산올리고당은 알콜을 투여한 실험동물에서 알콜분해 및 대사에 뛰어난 효과가 있으므로 인체의 알콜성 간질환예방 및 치료용 물질로 사용할 수 있으므로 생물의약품산업상 매우 유용한 발명인 것이다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도1은 본 발명 실험동물 쥐(ICR mouse)의 간의 ADH 활성에 미치는 해양심층수 함유 키토산올리고당의 효과를 보인 그래프이다.

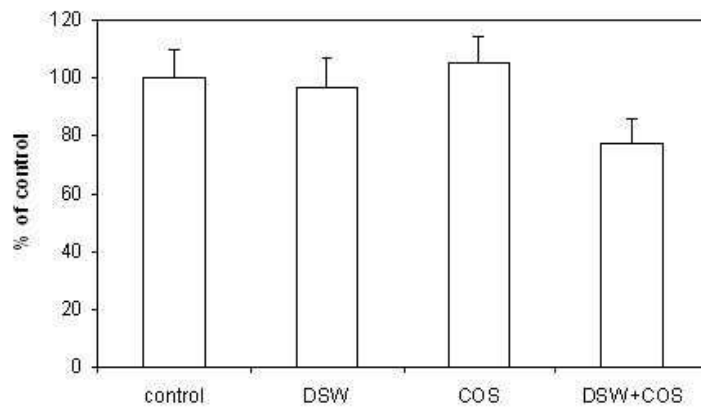
[0028] 도2는 본 발명 실험동물 쥐(ICR mouse)의 간의 ALDH 활성에 미치는 해양심층수 함유 키토산올리고당의 효과를 보인 그래프이다.

[0029] 도3은 본 발명 실험동물 쥐(ICR mouse)의 간의 MEOS 활성에 미치는 해양심층수 함유 키토산올리고당의 효과를 보인 그래프이다.

[0030] 도4는 본 발명 실험동물 쥐(ICR mouse)의 혈중 알콜농도에 미치는 해양심층수 함유 키토산올리고당의 효과를 보인 그래프이다.

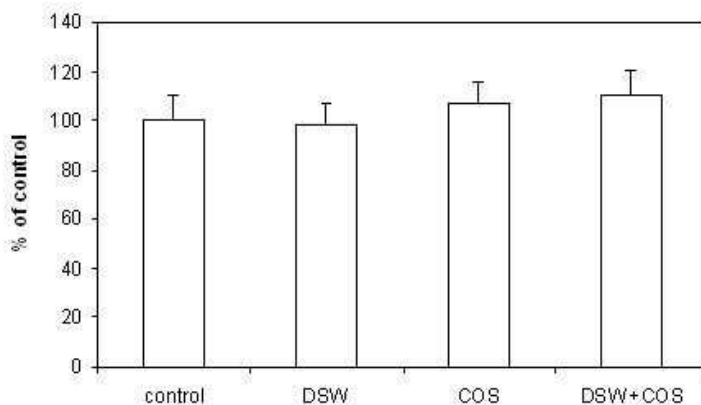
도면

도면1



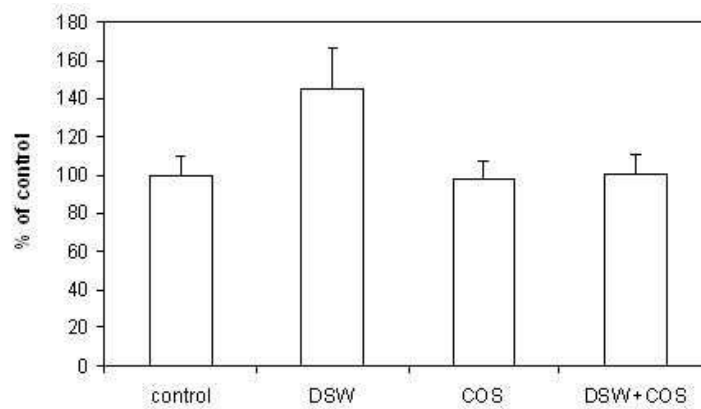
[보기] Data shown are mean values with bars indicating the SD of the mean (n=3). DSW, deep sea water; COS, chitosan oligosaccharide

도면2



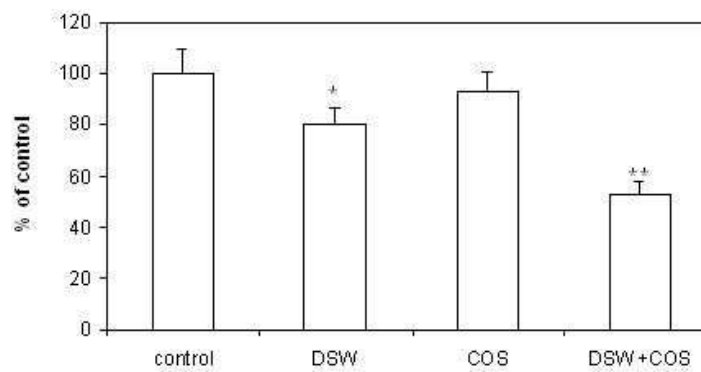
[보기] Data shown are mean values with bars indicating the SD of the mean (n=3). DSW, deep sea water; COS, chitosan oligosaccharide

도면3



[보기] Data shown are mean values with bars indicating the SD of the mean (n=3). DSW, deep sea water; COS, chitosan oligosaccharide

도면4



[보기] Data shown are mean values with bars indicating the SD of the mean (n=3). *p<0.05, **p<0.01 compared with the control. DSW, deep sea water; COS, chitosan oligosaccharide