



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년01월18일
 (11) 등록번호 10-1819026
 (24) 등록일자 2018년01월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/30 (2006.01) *A23L 29/00* (2016.01)
 (52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A23L 29/065 (2016.08)
 (21) 출원번호 10-2016-0102958
 (22) 출원일자 2016년08월12일
 심사청구일자 2016년08월12일
 (56) 선행기술조사문헌
 Yukinobu Goso 외 3명, 'Protective Effects of the Whisky Congeners on Ethanol-Induced Gastric Mucosal Damage', ALCOHOLISM:CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESEARCH 제31권제3호, 390-394쪽, 2007년 3월.*
 이유현 외 4명, '만성 알코올 급여 흰쥐에서 보리 추출물 섭취가 Cytochrome P450 효소 조절 및 항산화계에 미치는 영향', 한국식품영양과학회지 제38권제10호, 1347-1352쪽, 2009년 10월.*
 KR101045368 B1*
 KR1020040100010 A*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
농업회사법인 제주바이오팜 주식회사
 제주특별자치도 서귀포시 대정읍 일주서로 2652
영남대학교 산학협력단
 경상북도 경산시 대학로 280 (대동)
 (72) 발명자
최운국
 제주특별자치도 서귀포시 대정읍 송악관광로411번길 59 (상모리)
한기동
 대구광역시 수성구 청호로 466, 101동 701호(범어동, 효성백년가약 궁)
송효진
 대구광역시 수성구 무열로 47 103동 1303호 (만촌동, 태왕리더스아파트)
 (74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 4 항

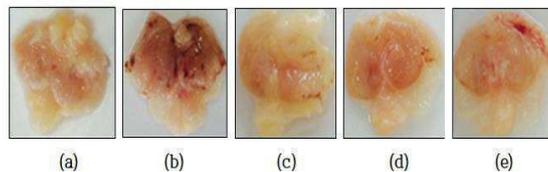
심사관 : 염금희

(54) 발명의 명칭 **제주도 자생식물 발효물을 유효성분으로 함유하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 보리 및 보리등겨 발효물(FBE)을 유효성분으로 함유하며, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물을 이용하여 알코올 투여 전 선투여 하였을 때, 위 내막 출혈, 혈중 알코올 농도 및 염증성 사이토카인인 IL-1 β 의 발현을 감소시키는 것을 확인하였다. 따라서, 상기 조성물은 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/334 (2013.01)

A23V 2250/76 (2013.01)

A23V 2300/24 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A011300978

부처명 산업통상자원부

연구관리전문기관 한국산업기술진흥원

연구사업명 지역주력산업 육성사업 창의융합 R&D

연구과제명 제주지역물과 식물자원을 이용한 숙취해소제의 개발

기 여 율 1/1

주관기관 농업회사법인 제주바이오팜 주식회사

연구기간 2015.07.01 ~ 2016.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

보리 및 보리등겨에 정제수를 혼합한 후 칸디다 크루세이(Issatchenkia orientalis MFST) 효모로 발효한 발효물 및 호박산을 포함하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 발효는 100 내지 130℃에서 10 내지 30분 동안 멸균 후 수행된 것을 특징으로 하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 위 내막 출혈, 혈중 알코올 농도 및 IL-1β의 발현을 감소시키는 것을 특징으로 하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 조성물은 알코올 데하이드로게나제(alcohol dehydrogenase, ADH) 및 아세트알데하이드 데하이드로게나제(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)의 활성을 증가시키는 것을 특징으로 하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물.

청구항 7

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 제주도 자생식물 발효물을 유효성분으로 함유하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 조성물에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 보리 및 보리등겨 발효물을 유효성분으로 함유하며, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로부터 선택된 하나 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 알코올은 일반적으로 에틸알코올을 말하며 대부분이 술로 사용된다. 이러한 알코올은 현재 약물보다는 기호성 음료로써 사회적 또는 독성학적인 면에서 그 중요성이 대두 되고 있다. 알코올은 전 세계적으로 많이 소비되고 있으며 특히 한국은 가장 많은 알코올 소비 국가 중 하나이다. 와인이나 맥주의 경우 적당한 섭취가 건강에 긍정적인 역할을 한다고도 알려져 있으나 많은 양의 알코올 섭취는 급성 위장 질환, 간 질환, 심혈관 질환 등 인체에 심각한 위해를 가하게 된다. 과한 알코올의 섭취는 세계 사망률의 3.8%를 차지하고 평균수명의 4.6%를 감소시킨다는 보고도 있다.

[0003] 알코올은 위장관에서 빨리 흡수되는 수용성의 작은 분자이다. 공복상태에서는 30분 이내에 최고 혈중농도에 도달하나 흡수율은 위 내의 음식량에 따라 달라진다. 섭취한 알코올은 위 및 장에서 일부는 분해되고 혈중으로 이동되어 90-98%가 간에서 산화되고 나머지 2-10%가 폐와 소변으로 배설된다. 정상 성인에서 알코올이 대사되는

속도는 시간당 약 10~15gm이다.

- [0004] 알코올은 체내에 저장되지 못하기 때문에 대사가 되어야 하는데, 이 과정은 대부분 간에서 이루어지며, 이러한 대사는 간에 존재하는 알코올 분해 효소들에 의해 이루어진다. 알코올 분해 효소에 의해 생성되는 아세트알데하이드는 독성이 있어 간세포에 손상을 주게 된다. 또한, 알코올 대사 산물로 지방산이 만들어져 간에 지방이 축적되는데 이를 알코올성 지방간이라고 한다. 이 알코올성 지방간은 특히 만성간질환으로 진행되는 경우가 많은데, 알코올성 간염이 10-35%에서, 간경변증이 8-20%에서 발생한다고 알려져 있다.
- [0005] 알코올의 대사에 관여하는 주 효소는 알코올 데하이드로게나제(alcohol dehydrogenase, ADH)이며 조효소인 NAD⁺에 의해 알코올은 숙취 원인물질로 알려진 아세트알데하이드로 산화되고, 아세트알데하이드 데하이드로게나제(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)와 NAD⁺에 의하여 아세트산으로 분해된다.
- [0006] 또한, 사이토크롬 P-450 type 2E1(CYP2E1)과 카탈라아제(catalase)에 의해서도 아세트알데하이드로 산화되는데, 아세트알데하이드와 아세트산은 지질 과산화반응 등을 통해 세포독성, 두통이나 복통, 삼투압 변화에 따른 탈수 현상 등을 일으킨다. 또한, 현대인의 주요 질환 중 하나인 소화성 위궤양(peptic ulcers)은 점막이 위산(gastric HCl)과 펩신에 잠겨 있는 부위의 손상을 의미하는 것으로, 이 부위는 정상적으로 점막 세포가 분비하는 뮤신(mucin)에 의해 덮여있다. 따라서 위산 분비 촉진, 펩신의 침습에 대항하는 뮤신 층의 약화 혹은 고갈, 국소 혈액순환 장애, 세포손상 및 염증반응 등 다양한 원인에 의해 위 점막 미란(erosions)과 궤양이 유발된다.
- [0007] 급성 알코올 섭취는 숙취나 여러 장기의 손상을 일으키는데 숙취는 술 마신 다음 날 두통, 오한, 구강 건조, 구토, 설사, 근육통의 증상을 수반하여 일상생활의 어려움을 가져온다. 또한, 알코올을 섭취하게 되면 종양괴사인자인 TNF- α 및 IL-1 β 와 같은 염증반응을 일으키는 인자들의 분비를 활발하게 하여 간이나 위장에서 염증을 일으킨다.
- [0008] 한편, 숙취는 알코올 섭취로 인해 나타나는 증상 및 알코올을 마시고 수면에서 깬 후에 느끼는 불쾌감이나 두통, 또는 심신의 작업능력 감퇴현상 등이 지속되는 현상이다. 원인은 알코올이 아세트알데하이드로 분해되어 체내에 축적되어 지속적으로 간 및 신경, 위장, 근골격근을 자극하기 때문이다. 숙취의 증상에는 급성반응으로 혈관확장, 홍조, 가슴 두근거림, 피부 온감 등 심혈관 순환기계 증상과, 매스거림, 떨림, 구토, 위장장애, 설사, 소화불량, 식욕부진 등 위장관 증상, 흥분감, 도취감, 공격적, 행동 조절력 상실, 두통, 손떨림, 기억상실, 두뇌 기능 상실, 섬세한 판단 저하, 기억력저하, 집중력저하, 보행장애, 말 많아짐, 정서장애(울거나 웃거나) 등 신경계 증상, 혼미, 마취상태, 혼수, 호흡억제 등 마취증상, 기력감퇴, 육체피로 등 근골격증상, 당뇨, 이뇨, 갈증, 탈수 등의 증상이 있다. 또한, 만성반응으로는 지방간, 간경화, 성기능장애, 신경 근육의 장애 등이 있다.
- [0009] 따라서 위에서 알코올 흡수를 억제하는 효과와 더불어 알코올로부터 위를 보호함으로써 속쓰림 등 숙취 및 위궤양 증상을 완화할 수 있는 물질에 관심이 집중되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0010] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제 10-0903690호 (2009. 06. 11 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명의 목적은 보리 및 보리등겨에 정제수를 혼합한 후 발효한 발효물을 유효성분으로 함유하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 조성물을 제공하는 데에 있다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 목적은 보리 및 보리등겨에 정제수를 혼합한 후 발효한 발효물을 유효성분으로 함유하며, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로부터 선택된 하나 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 보리 및 보리등겨에 정제수를 혼합한 후 발효한 발효물을 유효성분으로 함유하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 조성물을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 보리 및 보리등겨에 정제수를 혼합한 후 발효한 발효물을 유효성분으로 함유하며, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로부터 선택된 하나 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명은 보리 및 보리등겨 발효물을 유효성분으로 함유하며, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물에 관한 것으로, 상기 조성물을 알코올 투여 전 선투여 하였을 때, 위 내막 출혈, 혈중 알코올 농도 및 염증성 사이토카인인 IL-1 β 의 발현을 감소시키는 것을 확인하였다. 따라서, 상기 조성물은 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물로 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 보리 및 보리등겨 발효물의 제조 공정도를 나타낸 것이다.
 도 2는 상기 보리 및 보리등겨 발효물에 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산을 포함하는 혼합 조성물을 제조하고, ICR 마우스를 이용한 알코올성 위 내막 출혈에 있어서 상기 혼합 조성물의 효과를 정상군 및 대조군과 비교한 것이다.
 도 3은 ICR 마우스를 이용한 혈중 알코올 농도에 있어서 상기 혼합 조성물의 효과를 정상군 및 대조군과 비교한 것이다.
 도 4는 ICR 마우스 혈청의 ALDH 활성에 있어서 상기 혼합 조성물의 효과를 정상군 및 대조군과 비교한 것이다.
 도 5는 ICR 마우스 혈청의 IL-1 β 와 ADH 발현에 있어서 상기 혼합 조성물의 효과를 정상군 및 대조군과 비교한 것이다.
 도 6은 ICR 마우스를 이용한 알코올성 위 내부 및 용모 손상에 있어서 상기 혼합 조성물의 효과를 조직학적 분석을 이용하여 정상군 및 대조군과 비교한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 본 발명은 보리 및 보리등겨 발효물을 유효성분으로 함유하며, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로부터 선택된 하나 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물을 제공한다.

[0018] 보리는 외떡잎식물 벼목 화본과의 두해살이풀로, 칼슘, 마그네슘, 칼륨 등의 무기성분 함량이 높을 뿐 아니라 비타민 B1 및 비타민 C의 함량이 뛰어나 영양학적으로도 우수한 식품원으로 알려져 있고 또한 항산화, 항염증, 항암기능을 가지는 사포나린(saponarin), 루토나린(lutonarin) 및 아이소비텍신(isovitexin) 등의 기능성 이차 대사물질이 함유되어 있으며 고혈압, 당뇨, 지질대사이상 등의 대사증후군에 효과적인 폴리코사놀 물질이 포함되어 있어 건강기능성 식품 및 의약품 소재로 그 산업적 이용 가능성이 커지고 있다.

[0019] 보리등겨는 보리의 도정과정(제분, 정백과정) 중에 발생하는 부산물로 동맥경화를 비롯한 심장질환, 고혈압, 당뇨병 등의 원인이 되는 콜레스테롤을 낮추는 수용성 식이섬유인 베타글루칸이 다량 함유되어 있다.

[0020] 브로콜리는 지중해연안이 원산지로서, 꽃잎양배추라고 불리는 컬리플라워(cauliflower)의 일종이며 어린 싹과 줄기를 식용으로 한다. 브로콜리는 녹색채소 가운데 가장 영양가가 높은 작물로 브로콜리 100g당 비타민 C 114mg, 카로틴 1.9mg, 칼륨 164mg, 칼슘 150mg을 함유하고 있다. 또한, 철분 및 비타민 C의 함유량이 다른 채소에 비해 두 배 이상 더 많으며, 그 밖에도 비타민 A를 비롯하여 비타민 B1, B2와 칼륨, 인, 칼슘 등의 미네랄을 함유하고 있다. 한편, 브로콜리에 풍부하게 함유되어 있는 글루코시놀레이트(glucosinolate)는 항암작용을 가지는 것이 최근 연구결과에 보고되었으며, 특히, 브로콜리의 글루코시놀레이트의 효소적 가수분해 산물 중의 하나인 살포라판(sulforaphane)이 체내 글루타티온 에스-트랜스퍼라아제(glutathione S-transferase) 등의 활성을 선택적으로 유도하여 발암에 대해서 방어 작용을 나타내는 것으로 보고되었다.

[0021] 비트는 쌍떡잎식물 중심자목 명아주과의 두해살이풀로 근공채, 홍채두, 화염채라고도 한다. 다당류인 갈락탄(galactans), 펙틴(pectin) 및 아스파라긴(asparagine), 글루타민(glutamine) 등의 아미노산, 그 외에 유기산,

올리고당 등 여러 가지 성분을 함유하고 있다. 비트 뿌리의 당분 함량은 15~16%로 수크로오스(sucrose)가 주성분이며, 빨간 색소의 주요 공급원으로서, 주요색소는 베타레인(betalain) 성분으로 빨간색과 자주색을 띠는 베타시아닌(beta-cyanin)과 노란색을 띠는 베타크산틴(beta-xanthin)을 함유한다. 주요 효능으로는 혈당 강하 및 당뇨병에서 합병증의 예방 또는 완화효과, 통증과 염증 치료효과, 인플루엔자 감염에 대한 보호효과, 항암효과, 헤르페스 바이러스에 대한 효능이 있는 것으로 보고되어 건강식품 개발에 좋은 식품재료로 이용가능성이 커지고 있다.

- [0022] 백년초는 일명 손바닥 선인장이라고 하며, 아메리카 남부가 원산지인 선인장목에 속하는 다년초이다. 현재 제주도에서 특용작물로 다량 경작되고 있으며, 화상, 부종, 소화불량, 종기 및 기관지 천식 등에 사용된다. 열매 및 줄기의 에탄올 추출물은 진통 및 소염작용에 의한 위점막 보호효과, 혈당강화효과, 면역증강효과 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 라디칼 소거 활성, 티로시나제 억제활성, 항알레르기 활성도 있으며, 열매의 70% 메탄올 추출물은 신경손상억제효과가 있다고 알려져 있다.
- [0023] 호박산은 숙신산(succinic acid)으로도 불리며, 천연으로는 호박 속에 그 유도체가 함유되어 있으며, 이 밖에 테레빈유, 지의류, 균류 등에도 분포하고 알코올 발효시에도 소량 생성되며 청주 속에도 함유되어 있다. 무색무취이며 특이한 신맛을 지닌다. 열수(熱水), 알코올, 아세톤에 녹으나 에테르, 냉수에는 녹지 않는다. 끓는점까지 가열하면 한 분자의 물을 잃고 호박산 무수물이 된다. 생체 내에서는 시트르산회로 등 여러 가지 대사과정의 중간물질로서 중요한 역할을 하고 있다. 호박산은 NADH-데하이드로게나제와는 독립적으로 아세트알데하이드에 작용하여 아세트알데하이드가 저산소증(hypoxia)을 일으키지 못하도록 하는 역할을 한다.
- [0024] 본 발명에서 사용된 용어 “유효성분”이란 내재된 약리작용에 의해 그 의약품의 효능 및/또는 효과를 직접 또는 간접적으로 발현한다고 기대되는 물질 또는 물질군(약리학적 활성성분 등이 밝혀지지 않은 생약 등을 포함한다)으로서 주성분으로 포함하는 것을 의미한다.
- [0026] 본 발명은 보리 및 보리등겨에 정제수를 혼합한 후 발효한 발효물을 유효성분으로 함유하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 조성물을 제공한다.
- [0027] 바람직하게는, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상을 더 포함할 수 있다.
- [0028] 바람직하게는, 상기 발효는 100 내지 130℃에서 10 내지 30분 동안 멸균 후 수행된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다. 상기 멸균은 통상적인 멸균 방법을 사용하며 본 발명에서는 고압 멸균기를 사용하였다.
- [0029] 바람직하게는, 상기 발효물은 칸디다 쿠루세이(Issatchenkia orientalis MFST) 효모를 이용하여 추출한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아님을 명시한다.
- [0030] 바람직하게는, 상기 조성물은 알코올 데하이드로게나제(alcohol dehydrogenase, ADH) 및 아세트알데하이드 데하이드로게나제(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)의 활성을 증가시킬 수 있다.
- [0032] 본 발명은 보리 및 보리등겨에 정제수를 혼합한 후 발효한 발효물을 유효성분으로 함유하며, 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산으로부터 선택된 하나 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 알코올성 위 손상 억제, 알코올 흡수 억제 또는 숙취 해소용 건강식품 조성물을 제공한다.
- [0033] 상기 건강식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강식품 조성물은 상기 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0034] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 캔디류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 음료수, 차, 드링크제 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.
- [0035] 상기 건강식품 조성물이 음료인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 0.01~0.04g, 바람직하게는 약 0.02~0.03g 이다.

[0036] 상기 외에 본 발명의 유효성분은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 유효성분은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 혼합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 유효성분 100 중량부당 0.01~0.1 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0038] 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0040] **실시예 1 : 보리 및 보리등겨 발효물의 제조**

[0041] 보리와 보리등겨의 기능성을 더욱 높이기 위해 제주 보리와 보리등겨에 정제수를 혼합한 후, 121℃에서 20분 동안 멸균 후 발효시켰다. 발효를 용이하게 하기 위해 사용한 효모 칸디다 쿠루세이(*Issatchenkia orientalis* MFST)는 도정기 주변의 낙하균을 포집하여 발효시킨 쌀겨로부터 분리하였으며, 분리한 미생물은 영양 배지 (nutrient agar, Difco, USA)에서 배양한 후, PDB 배지(potato dextrose broth, PDB, Difco, USA)에 증균하여 보리와 보리등겨 발효에 사용되었다. 발효 후 실온에서 24시간 추출 및 여과 과정을 거친 후 동결 건조하여, 보리 및 보리등겨 발효물(FBE)을 제조하였다. 보리 및 보리등겨 발효물의 제조 공정도는 도 1에 나타내었다.

[0043] **실시예 2 : 원료 배합 및 혼합물 제조**

[0044] 브로콜리, 비트 및 백년초는 이든타운에프앤비에서, 호박산은 이에스 식품원료에서 분말 상태로 구입하여 실험에 사용하였다. 보리 및 보리등겨 발효물(FBE), 브로콜리, 비트, 백년초 및 호박산을 하기 표 1과 같은 중량 비율로 FBE 및 호박산의 비율을 달리하여 A, B, C 혼합물을 제조하였다.

표 1

	A(중량%)	B(중량%)	C(중량%)
호박산	1	2	3
FBE	50	49	48
브로콜리	25	25	25
비트	16	16	16
백년초	8	8	8

[0048] **실시예 3 : 동물모델 및 시료 투여**

[0049] 본 실험에 사용한 마우스는 6주된 수컷 ICR 마우스로 오리엔트바이오에서 구매하였으며, 마우스는 실험 일주일 전 온도(22±2℃), 사료 등 실험조건에 적응시켰고, 실험 12시간 전부터 금식시켰다. 마우스는 임의로 그룹을 나누어 실험에 사용되었고, 비처리한 정상군(normal), 알코올을 처리한 대조군(control), FBE 및 호박산 추출물의 농도를 달리한 시료 A, B, C를 알코올 투여 1시간 전에 각각 경구 투여한 A군, B군, C군으로 총 5개 그룹으로 진행되었다. 알코올 투여 1시간 전, A군, B군, C군의 각 A, B, C 시료 투여 농도는 500mg/kg으로 동일하게 투여되었고, 정상군과 대조군은 시료와 동일한 양의 물을 경구 투여하였다. 알코올 투여 1시간 후 채혈과 조직을 적출하여 실험에 사용하였다.

[0051] **실시예 4 : 위 출혈 부위 측정**

[0052] 알코올에 의한 위 내막의 손상 정도를 알아보기 위해 동물을 희생시킨 후, 위 조직을 적출하여 인산완충식염수(phosphate buffered saline, PBS)에 세척하고 위 내부의 출혈 부위를 관찰하였다.

[0053] 그 결과, 도 2를 참조하여 보면, 알코올을 단독으로 투여한 대조군(b)에서 심한 위 내막 출혈이 관찰되었으나 알코올 투여 전 시료 A, B, C를 각각 선투여한 A군(c), B군(d), C군(e)에서 알코올을 단독 투여한 대조군(b) 보다 위 출혈 부위가 현저하게 감소된 것을 관찰할 수 있었다. 그 중 시료 A를 투여한 A군(c)에서 출혈 부위가 가장 적어 향후 실험은 시료 A로 진행하였다.

[0055] **실시예 5 : 혈중 알코올 농도 측정**

[0056] 마우스 심장으로부터 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후, 에탄올 분석 키트(quantitative ethanol assay kit,

Roche)를 이용하여 혈중 알코올 농도를 측정하였다. 혈청 60 μ l에 알코올 반응 혼합액 1ml을 가한 후, 3분 반응시킨 뒤 분광광도법(spectrophotometer)을 이용하여 340nm에서 흡광도(A1)를 측정하였다. 그 다음, ADH 현탁액 17 μ l를 넣고 실온에서 10분 반응시킨 뒤 340nm에서 흡광도(A2)를 측정하여 하기 계산식 1을 이용하여 혈중 알코올 농도를 산출하였다.

[0057] [계산식 1] 혈중 알코올 농도 = (A2-A1)-Blank(A2-A1)

[0059] 그 결과, 도 3을 참조하여 보면, 알코올 단독 투여한 대조군에서 혈중 알코올 농도가 증가하였고, 시료 A를 선투여 후 알코올을 투여한 A군에서 대조군에 비해 혈중 알코올 농도가 감소하는 것을 확인하였다.

[0061] **실시예 6 : ALDH(aldehyde dehydrogenase) 활성 측정**

[0062] ALDH는 아세트알데하이드를 아세트산으로 분해하는 효소로 NAD가 NADH를 생성하는 원리를 이용하여 ALDH 활성을 측정하였다(Koivula and Koivusalo, 1975). 증류수 840 μ l, 1M Tris-HCl 버퍼(pH 8.0) 120 μ l, 20mM NAD⁺ 40 μ l, 0.1M 아세트알데하이드 40 μ l, 3M KCl 40 μ l, 0.33M 2-머캅토에탄올(2-mercaptoethanol) 40 μ l, 혈청 40 μ l를 혼합한 후 25 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 반응시키고 ALDH(1unit/ml) 40 μ l를 첨가한 후, 반응 용액이 40 μ l가 되도록 조절하여 큐벳(cuvette)에 넣고 25 $^{\circ}$ C에서 5분간 예비 배양한 후, 5분 동안 340nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 이때 대조군은 시료 대신 증류수를 사용하였다. ALDH 활성 계산식은 하기 계산식 2를 사용하였다.

[0063] [계산식 2] ALDH 활성 = (실험군의 최대 흡광도/대조군의 최대 흡광도) \times 100

[0065] 그 결과, 보통 알코올이 체내에 들어오면 ADH에 의해 물과 아세트알데하이드로 분해되고, 아세트알데하이드는 ALDH에 의해 아세트산으로 분해된다. ALDH 활성은 아세트알데하이드에서 아세트산을 생성하는 효소로 NAD에서 NADH를 생성하는 원리를 이용하였다. 그 결과, 도 4를 참조하여 보면, 알코올 단독 투여한 대조군 보다, 시료 A를 선투여 후 알코올 투여한 A군에서 ALDH 활성이 증가한 것을 확인하였다.

[0067] **실시예 7. IL-1 β 및 ADH의 mRNA 발현 측정**

[0068] 마우스로부터 적출한 간 조직에서 대표적인 염증 관련 인자들인 IL-1 β 와 ADH의 mRNA 발현정도를 역전사 증합효소 연쇄반응(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)을 이용하여 간 손상 보호 효과를 확인하였다.

[0069] 적출한 간 조직에 트리졸(trizol) 시약을 1ml 넣고 파이펫팅(pipetting)을 수행 실시하여 용해시킨 다음, 지질은 제거하고 RNA를 농축시켜 총 RNA를 추출하였다. 총 RNA는 DEPC-water를 가하여 용해시키고, 260nm에서 농도를 측정 후 50 μ g/ μ l로 희석하여 -70 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

[0070] 추출된 총 RNA에 10mM dNTP 혼합물, oligo dT를 넣고, PCR 기계(Thermocycler)를 이용하여 65 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 반응시킨다. 그 후, 10X RT 버퍼, 20mM MgCl₂, 0.1M DTT, RNaseout이 첨가된 반응 혼합물을 첨가하여 42 $^{\circ}$ C에서 2분 동안 반응시켰다. 그 후, superscript III를 첨가하여 42 $^{\circ}$ C에서 50분, 70 $^{\circ}$ C에서 15분 동안 반응시켜 cDNA를 합성하였다. RNase H를 superscript III와 동량으로 첨가하여 남아있는 RNA를 제거하고 합성된 cDNA는 1.5 μ l씩 분주하여 -20 $^{\circ}$ C에 보관하면서 PCR 실험에 사용하였다.

[0071] PCR 반응을 위한 반응 혼합물은 MQ-water, 15mM MgCl₂를 포함하는 10X PCR 버퍼, 센스-프라이머(sense-primer), 안티센스-프라이머(antisense-primer), 2.5mM dNTP 혼합물, Taq 폴리머레이즈(polymerase)를 첨가하여 제조하였다. cDNA에 반응 혼합물을 첨가하여 혼합한 후 PCR 기계를 이용하여 증폭시켰다. PCR 생산물은 (agarose gel) 상에서 전기영동하고 GelDoc-It 이미지 시스템과 이미지 분석 프로그램(image acquisition & analysis software)을 이용해 비교 분석하였다.

[0072] 간 조직에서 대표적인 염증인자인 IL-1 β 와 ADH의 발현정도를 RT-PCR로 분석한 결과, 도 5를 참조하여 보면, 알코올을 단독 투여한 대조군에 비해 시료 A를 선투여 후 알코올을 투여한 A군에서 알코올에 의해 증가된 IL-1 β 의 발현이 감소되는 것을 확인하였고 거의 정상군과 유사한 발현을 보이는 것을 확인하였다(a). 또한, 시료 A를 선투여 후 알코올을 투여한 A군에서 알코올을 단독 투여한 대조군에 비해 ADH가 증가한 것을 확인하였다. (b)는 PCR 결과를 이미지 분석 프로그램을 이용하여 그래프로 나타낸 것이다.

[0074] **실시예 8 : 헤마톡실린 & 에오신 염색(hematoxylin & eosin staining)**

[0075] 희생시킨 동물의 위를 적출하고, 위 안쪽 단면을 잘라 염색하여 위장장애 보호 효과를 조직학적으로 분석하였다. ICR 마우스의 위 조직을 인산완충식염수에 세척하고 10% 포르말린에 고정하고 탈수, 치환 과정을

거친 후 파라핀 블록을 제작하였다. 파라핀 블록은 3 μ m 두께로 절편으로 섹션(section)하여 슬라이드를 제작하였다. 슬라이드는 헤마톡실린으로 8분 동안 염색한 후 세척하고, 1% 산성 알코올(acid alcohol) 30초, 0.2% 암모니아수(ammonia water) 30초, 에오신 30초 반응시킨 후, 탈수 및 봉입하였다. 현미경으로 촬영하여 조직학적인 변화를 관찰하였다.

[0076] 그 결과, 도 6을 참조하여 보면, 알코올을 단독 투여한 대조군(b)에서 용모와 위벽이 손상된 것을 관찰할 수 있었고, 시료 A를 선투여 후 알코올을 투여한 A군(c)에서는 위 내부와 용모가 손상 없이 거의 정상군(a)과 유사한 형태를 보였다. 따라서 시료 A는 알코올에 의한 위 손상 보호 효과를 가지는 것을 조직학적으로 확인하였다.

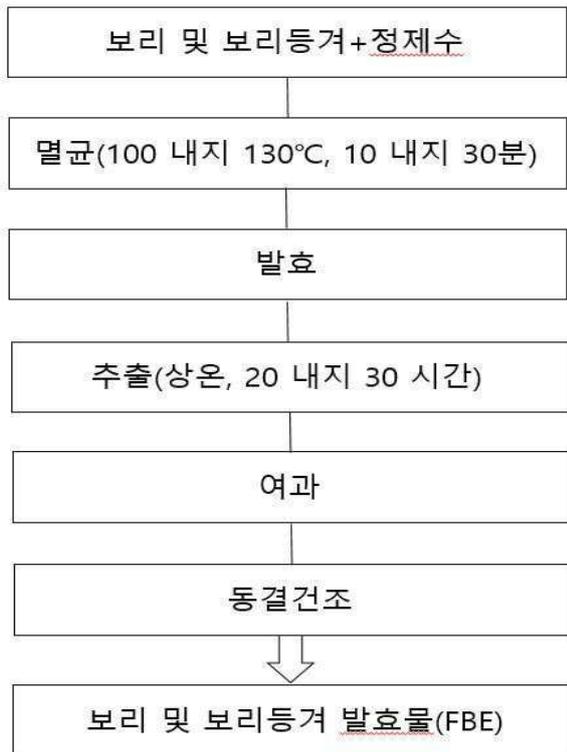
[0078] 이상의 동물실험 결과로부터, 급성 알코올 섭취 시 나타나는 위 내막 출혈과 위 염증 반응은 제주도에서 자생하는 식물자원인 보리 및 보리등겨 발효 추출물(FBE), 브로콜리 추출물, 비트 추출물, 백년초 추출물과 러시아산 호박산 추출물로 이루어진 혼합물 투여로 인해 그 증상이 완화 되는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구에서 개발한 제주도 식물자원과 러시아산 호박산을 이용한 환, 알약 형태의 숙취 해소제를 제품에 적용할 시 알콜성 위 손상에 대한 보호 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

[0080] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술한 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

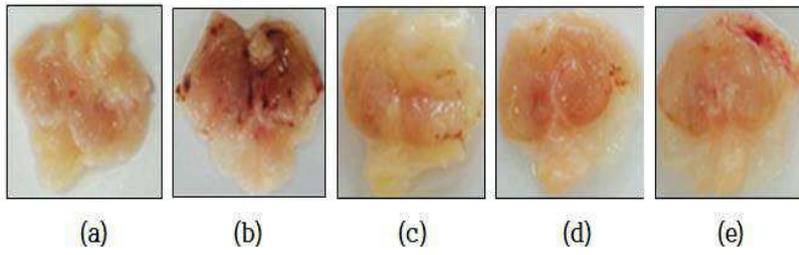
[0081] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

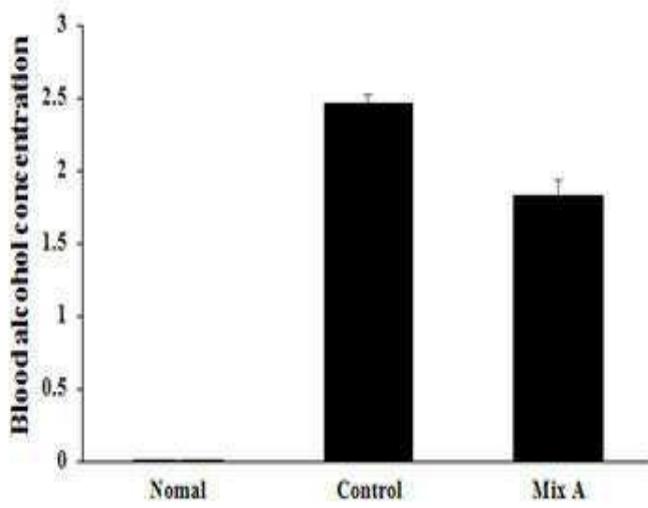
도면1



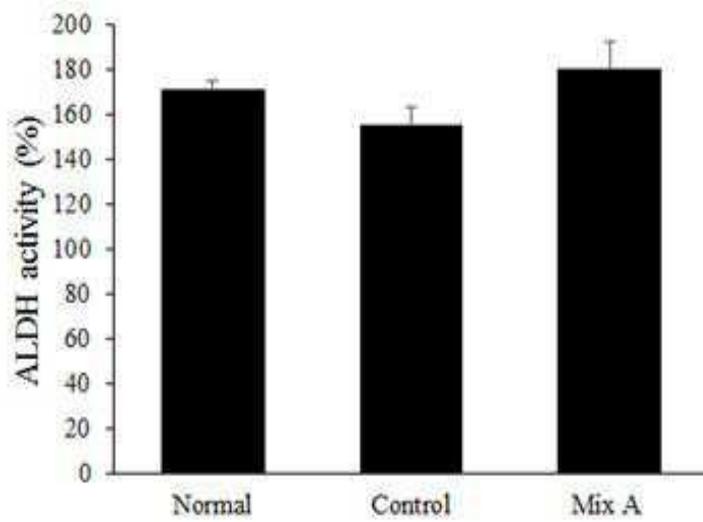
도면2



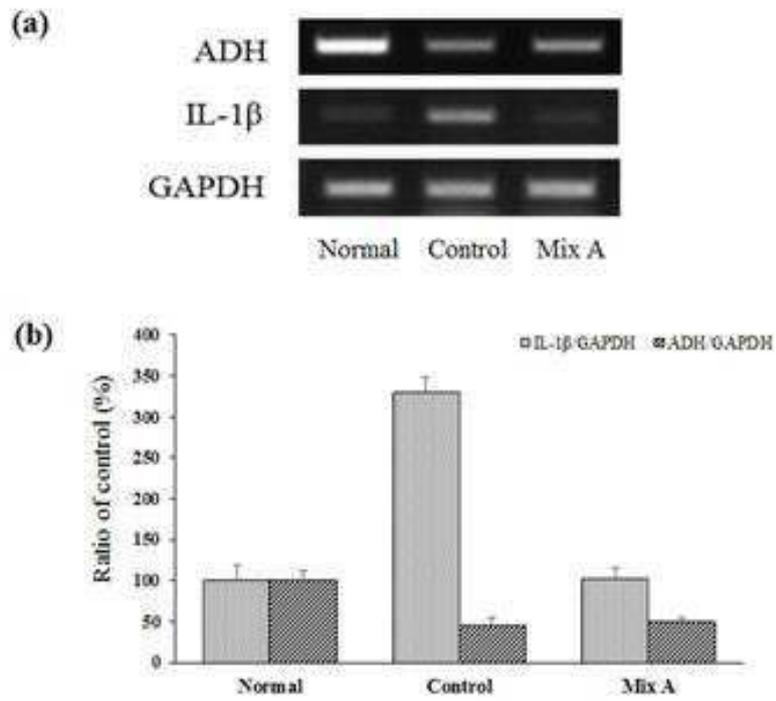
도면3



도면4



도면5



도면6

