



(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년01월30일
A23L 2/38 (2006.01)	(11) 등록번호	10-0675311
A23L 1/29 (2006.01)	(24) 등록일자	2007년01월22일

(21) 출원번호	10-2005-0062511	(65) 공개번호	10-2007-0008761
(22) 출원일자	2005년07월12일	(43) 공개일자	2007년01월18일
심사청구일자	2005년07월12일		

(73) 특허권자                    강원생물영농조합법인  
                                     강원도 춘천시 동면 만천리 306

(72) 발명자                        최면  
                                     강원도 춘천시 후평동 87번지 현대아파트 3차 305동 401호

(74) 대리인                        진천웅  
                                     정중옥  
                                     조현동

(56) 선행기술조사문헌  
1019980020507                    1020030090395  
1020040079285                    1020050001254  
\* 심사관에 의하여 인용된 문헌

심사관 : 정기현

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 혈당강하용 건강기능식품의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피의 소재로부터 유효성분을 추출하는 방법과 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피를 주성분으로 포함하는 기능성식품의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명은 세포내 포도당 대사에 관련한 효소들을 활성화함으로써 혈당을 강하시켜주는 기능성식품을 제조함으로써 당뇨병 환자의 증상을 개선하는데 유용하게 사용될 수 있다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

### 청구항 1.

동충하초가 포함되고 메밀쌀, 인진쑥 및 계피 중 어느 하나를 선택하여 추출하는 추출물 준비 단계; 및

상기 추출물을 여과·혼합하는 단계를 포함하고,

상기 추출물 준비 단계는 상온의 증류수로 5회 세척하고 40℃에서 건조시킨후 300~400 $\mu$ m로 분쇄하는 전처리단계를 포함하여 이루어지는 특징으로 하는 혈당강하용 기능성음료 제조방법.

### 청구항 2.

제 1 항에 있어서, 상기 추출물을 여과·혼합단계를 거친 혼합물을 살균하고 냉각하는 단계를 더 포함하여 이루어지는 혈당강하용 기능성음료 제조방법

### 청구항 3.

(삭제)

### 청구항 4.

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 상기 추출물은 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피를 포함하고, 상기 여과·혼합하는 단계는 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피의 중량비를 4 ~ 8 : 0.5 ~ 1.7 : 0.8 ~ 2.1 : 1 ~ 2.2 하여 혼합하는 것을 특징으로 하는 혈당강하용 기능성음료를 제조하는 방법

### 청구항 5.

제 1 항에 또는 제 2 항에 있어서, 상기 여과·혼합하는 단계는 첨가물, 부형제 또는 향미제 등을 추가 성분으로서 함유하여 함께 혼합함을 특징으로 하는 혈당강하용 기능성음료를 제조하는 방법

### 청구항 6.

동충하초가 포함되고 메밀쌀, 인진쑥 및 계피 중 어느 하나를 선택하여 분쇄하는 단계; 및

상기 분쇄에 의해 얻어진 분쇄물을 혼합하는 단계를 포함하고,

상기 분쇄물은 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피를 포함하며, 상기 분쇄물을 혼합하는 단계는 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피의 중량비를 4 ~ 8 : 0.5 ~ 1.7 : 0.8 ~ 2.1 : 1 ~ 2.2 하여 혼합하는 것을 특징으로 하는 혈당강하용 기능성과립제를 제조하는 방법.

### 청구항 7.

제 6 항에 있어서, 상기 분쇄물을 혼합하는 단계를 거친 혼합물을 유동상 조립기를 사용하여 수분 함량을 5%로 조절하는 단계를 더 포함하여 이루어지는 혈당강하용 기능성과립제 제조방법

### 청구항 8.

(삭제)

## 청구항 9.

제 6 항 또는 제 7 항에 있어서, 상기 분쇄물을 혼합하는 단계는 티아민 플로라이드, 스테아린산 마그네슘 또는 호모분말을 추가 성분으로서 함유하여 함께 혼합함을 특징으로 하는 혈당강하용 기능성과립제를 제조하는 방법

## 청구항 10.

(삭제)

명세서

### 발명의 상세한 설명

#### 발명의 목적

##### 발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 당뇨병 환자를 위한 기능성식품의 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피를 함유하는 기능성식품의 제조방법에 관한 것이다.

당뇨병은 혈중 포도당 농도의 상승, 인슐린 부족 또는 인슐린 작용의 감소, 포도당, 지방과 단백질 대사의 이상과 이로 인한 급·만성 합병증의 발생으로 특징지어지는 질환이다. 당뇨병은 보통 기존의 인슐린이나 경구 혈당 강하제의 투여로 치료가 이루어지고 있는데, 이로써 근원적으로 치료하는데 한계가 있고, 경제적 부담과 더불어 부작용의 위험도 수반하고 있어, 근래에 와서는 식이요법 및 자연요법에 근거하여 대부분의 환자들이 쉽게 접근할 수 있는 여러 종류의 민간요법이 시도되고 있는 실정으로 천연식품 등의 약리물질을 탐색하는 연구가 이루어지고 있다. 그러나 상당수는 과학적 근거가 희박하고 치료효과나 부작용에 대한 이론이 정립되지 않아 심각한 문제를 유발할 수 있다. 그러므로 항당뇨 관련 기전상의 과학적 근거를 가지고 부작용 없이 당뇨병을 개선하거나 치유할 수 있는 물질을 건강 기능성 소재로 활용한다면 문제가 개선될 수 있을 것이다.

대한민국 특허공개 제 2002-0087570 호에는 누에 기주의 동충하초가 당뇨병 치료 효과를 갖는다고 제시되어 있는 바, 이에 본 발명자들은 당뇨병 치료 효과로 이미 공지된 동충하초를 그대로 포함시키면서 보다 효과적으로 혈당을 낮출 수 있도록 또 다른 생약성분을 포함하는 건강기능식품을 개발하고자 거듭 노력하였다. 특히 동충하초는 당뇨병 치료 뿐만 아니라, 항암작용이나 항균작용 등의 여러 가지 약리기전을 가지고 있는 것이므로 한약 재료로서도 상당히 고가에 판매되고 있는 실정이므로 동충하초만을 주성분으로 하여 당뇨병 치료 효과를 만족시키기에는 재료비의 부담이 상당하다 할 것이다. 그러므로, 동충하초 뿐만 아니라 그 외에 혈당강하 작용이 있는 다른 생약 소재들인 메밀쌀, 인진쑥 및 계피를 포함하는 기능성식품을 제조할 수 있게 된다면 당뇨병 증상을 생약으로 개선시킬 수 있을 뿐만 아니라 경제적인 면에서도 상당한 잇점이 있기에 본 발명자들은 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피의 유효성분을 추출해내는 방법과 이러한 성분을 포함하는 기능성식품을 제조하는 방법을 제공하기에 이르렀다.

##### 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 세포내 포도당 대사에 관련한 효소들을 활성화시키는 작용이 있는 천연생약 소재들의 유효 성분을 추출하는 방법 및 그 추출물을 주성분으로 함유하는 당뇨병 환자를 위한 기능성식품 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

또한 본 발명은 혈당강하제 투여 등의 약물치료가 근원적인 당뇨병 치료로써는 부족한 문제점 및 부작용 등을 극복할 수 있을 것으로 기대되는 혈당강하 기능에 유용한 건강기능식품 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

#### 발명의 구성

상기의 목적을 달성하기 위해 본 발명은 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피의 유효성분을 추출해내는 방법을 제공한다.

또한 본 발명은 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피를 주성분으로 하여 당뇨병 개선에 유용한 기능성식품 제조방법을 제공한다.

본 발명의 혈당강하 효과를 갖는 건강기능식품을 제조하기 위해서는 생약소재로부터 각각의 유효성분을 추출하여 추출물을 준비하는 단계와 그 추출물로 건강기능식품을 제조하는 단계로 이루어지며 다음의 기술구성을 갖는다.

먼저, 건강기능식품의 소재인 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피의 유효성분을 추출하기 위하여 다양한 시도를 통해 세척, 건조, 분쇄 공정에 관련된 최적 온도 및 시간 등을 결정하였다. 세척조건을 40℃의 열수와 상온의 증류수로 비교하여 여러 회 실시하였을 때의 최적조건과 건조조건의 온도를 여러 조건으로 시도하여 최적조건을 확인하였으며, 분쇄조건에 따른 추출 수율 변화도 확인하였는바, 그 결과는 다음 표와 같다.

[표 1] 세척 및 건조 조건에 따른 소재의 성상 변화

			이물질 함유여부	이취 함유여부	색상 변화여부
세척 조건	열수(40℃)	3회	있음	약간	없음
		5회	없음	약간	없음
		7회	없음	약간	약간
	증류수(상온)	3회	있음	없음	없음
		5회	없음	없음	없음
		7회	없음	없음	없음
건조 조건	열풍건조기	40℃	없음	없음	없음
		60℃	없음	없음	약간
		80℃	없음	있음	약간

[표 2] 분쇄 조건에 따른 추출 수율의 변화

분쇄 입자크기	추출수율(고형물 기준, %)
300 ~ 400 $\mu$ m	7.3
400 ~ 500 $\mu$ m	7.1
500 ~ 600 $\mu$ m	6.5
600 $\mu$ m 이상	5.8

상기 결과에 따르면 세척 조건은 상온에서 증류수로 5회 세척 시에 이물질 및 이취 함유도 없고 색상 변화도 없어서 최적이었으며, 건조조건은 40℃에서 열풍 건조기로 완전건조 시에(수분 12% 이하를 유지할 때까지) 최적이었으며, 분쇄 조건은 400 $\mu$ m 이상일 경우 7% 이상으로 수율이 높았으며 분쇄 입자에 따른 경제성을 고려하였을때 300~400 $\mu$ m 로 조분쇄 시에 가장 적당한 조건임을 확인하였다.

이러한 세척, 건조 및 분쇄과정의 전처리과정을 거친 뒤에는 에탄올 등의 알콜이나 증류수를 용매로 하여 인큐베이터에서 원심분리하여 유효성분을 추출해낸다.

본 발명의 유효성분 추출방법에 있어서, 동충하초(*Cordyceps militaris*)에의 경우에는 함유되어 있는 각각의 유효성분의 비율 변화에 따라 혈당강하 효과의 차이가 있으므로 그에 대응하여 1차 분획물과 2차 분획물을 구분할 수 있는 추출방법을 확인하였다. 동충하초를 더운 물로 열수추출하고 원심분리하여 상청액(분획물 A)을 얻고 남은 잔여물은 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 수용액으로 상온에서 추출하고, 원심분리한 뒤 다시 그 잔여물에 NaBH<sub>4</sub>를 포함한 NaOH수용액으로 상온에서 24시간 추출하고 원심분리하여 상청액(분획물 B)를 얻었다. 동충하초(*Cordyceps militaris*)에 함유된 분획물 A 와 분획물 B의 비율은 1:2로 존재한다.

본 발명은 동충하초, 메밀쌀, 인진쑥 및 계피의 추출물들을 함유하거나 이 소재들을 배합하여 혈당강하 효과를 통해 당뇨병을 개선시키는 기능성식품을 제조하는 것으로 과립제, 음료, 경질캡슐제, 연질캡슐제, 환제 및 정제 등으로 제조될 수 있다.

본 발명의 당뇨병 환자를 위한 기능성 생식식품은 동충하초를 상온에서 세척한뒤, 차아염소산소다로 침적 후 건조하여 살균하고 절단하여 예비동결과정을 거치고 동결건조한뒤 분쇄하여 제조할 수 있다.

본 발명의 당뇨병 환자를 위한 기능성 음료는 상기한 세척, 건조 및 분쇄과정의 전처리 과정을 거친 동충하초, 메밀쌀, 인진썩 및 계피를 혼합한 중량에 대하여 20배의 정제수를 가한 다음, 100 ~ 150℃에서 2 ~ 4시간 열수 추출하는 추출단계를 거친뒤, 150~250메쉬 필터로 여과하여 혼합하고 70~100℃에서 가열하여 살균단계를 거친 다음 병에 충전하여 30℃ 이하로 냉각시켜 제조한다.

본 발명의 기능성음료는 동충하초, 메밀쌀, 인진썩 및 계피를 주성분으로 하므로 그 외에 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 식품학적으로 허용되는 첨가물, 부형제 또는 향미제 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 이때 식품학적으로 허용되는 첨가물, 부형제 또는 향미제로는 비타민 B1, 비타민 B2, 비타민 C, 비타민 B6, 니코틴산아미드, 구연산, 액상과당, 스테비오사이드, 말토덱스트린, 마누카벌꿀, 사과농축액, 락투로오스분말, 실리코알루미늄산나트륨, 자당 지방산에스테르, 히드록시프로필메칠셀룰로오스, 글리세린지방산에스테르, 산화아연, 베타-시클로덱스트린 등이 있다. 추가 성분은 주성분인 동충하초, 메밀쌀, 인진썩 및 계피의 혼합액 100ml당 일반적으로 약 1 ~ 20g, 바람직하게는 약 5 ~ 12g이다.

본 발명의 당뇨병 환자를 위한 기능성 과립제는 동충하초를 원적외선 건조기로 건조한 후 기류식 분쇄기로 150~250 메쉬 필터로 100% 통과시켜 분말을 얻고 인진썩은 정제수 90~100%의 비율로 하여 1.2kg/cm<sup>3</sup>으로 10~15시간 열수 추출한 후 그 농축액을 진공동결건조하고 이것을 건식 분쇄기로 분쇄한 후 80~120메쉬 필터에 100% 통과시켜 분말을 얻는다. 계피는 물로 세척한 뒤 건조하고 기류식 분쇄기에서 150~250 메쉬로 분쇄하여 분말을 얻고 메밀쌀은 메밀쌀 10%, 에틸 알콜 60~70%, 정제수 20~30%의 비율로 섞은 뒤 10~20℃에서 45~50시간 추출한 후 진공 동결건조한 것을 건식 분쇄기로 분쇄한 후 150~200 메쉬필터로 100% 통과하여 분말을 얻는다. 이렇게 건조 분쇄 과정을 통해 얻은 동충하초 분말, 인진썩 분말, 메밀쌀 분말 및 계피 분말을 충분히 혼합한 뒤 유동상으로 조립하기 위하여 유동층 조립기를 사용하여 혼합하고 스프레이 및 건조를 수회 반복한 뒤 수분 함량을 5% ~ 8% 로 조절하여 건조시켜 제조한다. 이경우 혼합 단계에서 인진썩은 분말상태로 분쇄하기 전인 농축액 자체를 사용하여도 좋다.

본 발명의 기능성 과립제의 제조시 유동층 조립기를 사용하여 혼합하고 스프레이 및 건조를 통하여 섭취하였을 경우 입안에서 즉석 용해가 가능하게 된다.

본 발명의 기능성 과립제는 동충하초 분말, 인진썩 분말, 메밀쌀 분말 및 계피 분말을 혼합할 시에 혼합물 90~100g 당 보조인자인 TTP의 공급을 위하여 티아민 플로라이드 0.01g를 첨가하고 Mg<sup>2+</sup>의 공급을 위하여 스테아린산 마그네슘 5g을 첨가하고 Cr<sup>3+</sup>의 공급을 위하여 호모분말 0.05g을 함께 섞이도록 혼합하여 제조할 수 있다.

본 발명의 기능성 생식식품은 동충하초를 세척하고 차아염소산소다에 침적 후 건조하여 살균한뒤 다시 수도수를 유유행태로 하여 세척하고 잘게 절단한다. 그뒤 예비동결시킨 뒤 진공 동결 및 건조시키고 건식 분쇄기로 분쇄하여 제조한다.

본 발명은 동충하초, 메밀쌀, 인진썩 및 계피의 4가지 소재를 여러가지 중량비로 혼합할 경우에 바람직한 중량비를 다음의 실험에 의하여 확인하였다. 즉 당분해 효소의 활성이 높을수록 당뇨병 증세가 개선되므로 분해효소인 글루코키나아제와 피브루산 디하이드로게나아제 및 아세틸-코에이 카르복시라제의 활성 정도가 높은 중량비가 어느 경우인지 확인하였다. 실험에 1 내지 3의 방법으로 각 효소별 활성을 측정한 값은 다음과 같다.

[표 3] 선택소재와 배합별 글루코키나아제의 활성치 측정결과

(대조군의 분당 NADPH의 생성량을 100%로 보고 그에 대한 백분율로 표시)

	조성물 배합비율 (중량비)				혈당강하효과 (%)
	동충하초	메밀쌀	인진썩	계피	
실시예 1	10	0	0	0	361
실시예 2	0	10	0	0	146
실시예 3	0	0	10	0	167
실시예 4	0	0	0	10	305
실시예 5	9	0.5	0.2	0.3	353

실시예 6	8	0.5	0.8	0.7	365
실시예 7	7	0.7	1.3	1.0	374
실시예 8	6	1.0	1.5	1.5	370
실시예 9	5	1.3	1.8	1.9	379
실시예 10	4	1.7	2.1	2.2	335
실시예 11	3	2.2	2.5	2.5	282
실시예 12	2	2.5	2.8	2.8	241
실시예 13	1	2.8	3.0	3.2	287

[표 4] 선택소재와 배합별 피루베이트 디하이드로게나제 활성치 측정결과

(대조군의 분당 p-Nitroaniline의 반응량을 100%로 보고 그에 대한 백분율로 표시)

	조성물 배합비율 (중량비)				혈당강하효과 (%)
	동충하초	메밀쌀	인진쑥	계피	
실시예 1	10	0	0	0	203
실시예 2	0	10	0	0	244
실시예 3	0	0	10	0	137
실시예 4	0	0	0	10	229
실시예 5	9	0.5	0.2	0.3	199
실시예 6	8	0.5	0.8	0.7	211
실시예 7	7	0.7	1.3	1.0	252
실시예 8	6	1.0	1.5	1.5	279
실시예 9	5	1.3	1.8	1.9	283
실시예 10	4	1.7	2.1	2.2	257
실시예 11	3	2.2	2.5	2.5	203
실시예 12	2	2.5	2.8	2.8	205
실시예 13	1	2.8	3.0	3.2	185

[표 5] 선택소재와 배합별 아세틸-코에이 카르복시라제 활성치 측정결과

(대조군의 분당 NADP의 반응량을 100%로 보고 그에 대한 백분율로 표시)

	조성물 배합비율 (중량비)				혈당강하효과 (%)
	동충하초	메밀쌀	인진쑥	계피	
실시예 1	10	0	0	0	204
실시예 2	0	10	0	0	113
실시예 3	0	0	10	0	477
실시예 4	0	0	0	10	365
실시예 5	9	0.5	0.2	0.3	330
실시예 6	8	0.5	0.8	0.7	491
실시예 7	7	0.7	1.3	1.0	539
실시예 8	6	1.0	1.5	1.5	590
실시예 9	5	1.3	1.8	1.9	686
실시예 10	4	1.7	2.1	2.2	565
실시예 11	3	2.2	2.5	2.5	453
실시예 12	2	2.5	2.8	2.8	487
실시예 13	1	2.8	3.0	3.2	427

상기 [표 3]에 따르면 글루코키나아제의 활성은 4가지 선택 재료 중에서 동충하초만으로 이루어진 실시예 1의 경우가 가장 높았으나 실시예 6, 실시예 7, 실시예 8, 실시예 9, 실시예 10의 경우에 있어서는 동충하초만 선택하였을때인 실시예 1의 효과와 비슷하거나 보다 더 높게 나타났다. 그 뿐만 아니라 동충하초는 가격의 면에서 구입하기가 어렵기에 다른 성분을 함유하지 않고 동충하초 추출물만의 경우에는 비경제적이라고도 할 수 있다. 그러므로 메밀쌀, 인진쑥 및 계피를 적절한 중량비로 배합함으로써 동충하초만의 혈당강하 효능보다 좀 더 높은 효능을 지니면서도 경제성을 고려한 혼합비를 확인할 수 있게 되었다.

상기 [표 4] 및 [표 5]에 따르면 4가지 선택 재료 중에서 피루베이트 디하이드로게나아제의 활성은 메밀쌀만 선택한 실시예 2의 경우에 가장 높고, 아세틸-코에이하이드록시라제의 활성은 인진쑥만 선택한 실시예 3의 경우에 가장 높지만 실시예 6, 실시예 7, 실시예 8, 실시예 9, 실시예 10의 경우에 각 효소의 활성이 훨씬 더 높게 측정되었다.

즉 동충하초 추출물, 메밀쌀 추출물, 인진쑥 추출물 및 계피 추출물을 4 ~ 8 : 0.5 ~ 1.7 : 0.8 ~ 2.1 : 1 ~ 2.2 범위의 중량비 이외의 비율에 있어서는 피루베이트 디하이드로게나제와 아세틸코에이-하이드로시라제의 활성이 떨어진다.

본 발명에 따른 혼합조성물 중의 각 성분의 중량비 그들의 종류에 따라서 다양하게 설정될 수 있지만, 예를 들면 다음과 같은 중량비가 바람직하다.

본 발명의 혼합조성물 중 동충하초 추출물, 메밀쌀 추출물, 인진쑥 추출물 및 계피 추출물을 4 ~ 8 : 0.5 ~ 1.7 : 0.8 ~ 2.1 : 1 ~ 2.2의 중량비로 배합하는 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 5 ~ 6 : 1 : 1.1 ~ 2.1 : 1.8이다.

이하 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다. 단, 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것이지만 이들만으로 한정하는 것은 아니다.

[실시예 14] 동충하초(*Cordyceps militaris*)로부터 유효 성분의 추출방법

동충하초 중에서 *Cordyceps militaris* 종의 건조 분말 24g을 80℃의 200ml 더운 물로 100시간 동안 열수 추출하였고 원심분리하여 상청액(분획물 A)을 얻었다. 열수 추출 후 남은 잔여물에 28g의 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 상온에서 24시간 동안 추출하고, 원심분리한 뒤 다시 그 잔여물에 NaBH<sub>4</sub>를 포함한 5% NaOH로 상온에서 24시간 추출하여 추출물을 원심분리하여 상청액(분획물 B)을 얻었다. 동충하초(*Cordyceps militaris*)에 함유된 분획물 A와 분획물 B의 비율은 1:2로 존재한다.

[실시예 15] 메밀쌀, 메밀피 또는 메밀썩으로부터의 유효 성분의 추출방법

메밀쌀, 메밀피 또는 메밀썩 각각을 5배의 상온의 증류수로 씻은 다음, 40℃의 드라이 오븐에서 완전히 건조시키고, 500~840μm의 분말상태로 간 다음, 분말 상태의 24g을 40℃의 50% 에탄올 256ml을 용매로 하여 12시간동안 150rpm으로 인큐베이터에서 잘 흔들고 원심 분리하여 추출하였다.

[실시예 16] 인진쑥, 계피, 민들레, 차가버섯, 당귀, 피부백삼, 오가목, 황기 또는 녹색입홍합으로부터 유효 성분의 추출방법

인진쑥, 또는 계피, 민들레, 차가버섯, 당귀, 피부백삼, 오가목, 황기 또는 녹색입홍합 각각을 5배의 상온의 증류수로 씻은 다음, 40℃의 드라이 오븐에서 완전히 건조시키고, 840~500μm의 분말상태로 간 다음, 분말 상태의 24g을 40℃의 증류수 256ml을 용매로 하여 12시간동안 150rpm으로 인큐베이터에서 잘 흔들고 원심 분리하여 추출하였다.

[실시예 17] 메밀피와 메밀썩의 비율을 1:3, 2:2, 3:1로 하여 혼합한 것으로부터의 유효 성분의 추출

메밀피와 메밀썩을 1:3, 2:2, 3:1의 비율로 혼합한 것의 각각을 5배의 상온의 증류수로 씻은 다음, 40℃의 드라이 오븐에서 완전히 건조시키고, 840~500μm의 분말상태로 간 다음, 분말 상태의 24g을 40℃의 50% 에탄올 256ml을 용매로 하여 12시간동안 150rpm으로 인큐베이터에서 잘 흔들고 원심 분리하여 추출하였다.

[실시예 18] 기능성 과립제 제조

동충하초를 원적외선 건조기로 건조한 후 기류식 분쇄기로 200 메쉬필터로 100% 통과시켜 분말을 얻고 인진쑥은 정제수 96%의 비율로 하여 1.2kg/cm<sup>3</sup>으로 12시간 열수 추출한 후 그 농축액을 -45℃ 트랩에서 진공동결건조하고 이것을 건식 분쇄기로 분쇄한 후 100메쉬 필터에 100% 통과시켜 분말을 얻는다. 계피는 물로 3회 세척한 뒤 원적외선 건조기로 건조하고 기류식 분쇄기에서 150~250 메쉬로 분쇄하여 분말을 얻고 메밀쌀은 메밀쌀 10%, 에틸 알콜 63%, 정제수 27%의 비율로 섞은 뒤 15℃에서 48시간 추출한 후 -45℃ 트랩에서 진공 동결건조한 것을 건식 분쇄기로 분쇄한 후 100 메쉬필터로 100% 통과하여 분말을 얻는다. 이렇게 얻은 동충하초 분말, 인진쑥 분말, 메밀쌀 분말 및 계피 분말 혼합물 90~100g 당 보조인자인 TTP의 공급을 위하여 티아민 플로라이드 0.01g를 첨가하고 Mg<sup>2+</sup>의 공급을 위하여 스테아린산 마그네슘 5g

을 첨가하고  $Cr^{3+}$ 의 공급을 위하여 호모분말 0.05g을 충분히 혼합한 뒤 유동상으로 조립하기 위하여 유동층 조립기를 사용하여 혼합하고 스프레이 및 건조를 5회 반복한 뒤 수분 함량을 5%로 조절하여 건조시켜 제조한다. 또한, 이 경우 혼합 단계에서 인진썩은 분말상태가 아닌 농축액을 혼합하여 제조할 수도 있다.

#### [실시예 19] 기능성음료 제조

동충하초, 메밀쌀, 인진썩 및 계피를 혼합한 중량에 대하여 20배의 정제수를 가한 다음, 120℃에서 3시간 열수 추출한 다음, 200메쉬 필터로 여과한 다음 여과액에 대해 0.2% 중량의 비타민 C와 1% 중량의 감초 농축액을 혼합한 것을 89℃에서 10분간 가열하고 병에 충전한 다음 30℃ 이하로 냉각시켜 제조한다.

#### [실시예 20] 기능성 생식식품 제조

동충하초, 메밀쌀, 인진썩, 계피, 호박, 케일, 신선초, 당근, 시금치, 부추, 양파, 마늘, 돌미나리 및 무우를 25℃의 수도수로 3회 세척하고 차아염소산소다 25ppm에 25초간 침적 후 건져내어 살균한 뒤 다시 잔류염소제거를 목적으로 25℃ 수도수를 유유형태로 하여 세척하여 1mm 단위로 자른다. 24시간동안 -30℃에서 예비동결시킨 뒤 -45℃ 트랩, 진공도  $1 \times 10^{-1}$  Torr로 40시간 진공 동결 및 건조시키고 건식 분쇄기로 80메쉬 필터에 100% 통과시켜 제조한다.

#### 실험예 1. 글루코키나아제 활성 측정

[도 1]에 도시된 것처럼, 글루코스가 6-포스포글루네이트로 분해되는 과정에서 NADPH가 생성되므로 NADPH의 생성량은 글루코키나아제의 활성에 비례할 것이다. 그러므로, 본 발명에 따른 샘플(즉, 상기한 실시예 1 내지 13에 따라 동충하초, 메밀쌀, 인진썩 및 계피가 소정의 비율로 혼합된 조성물)과 반응 완충제(44mM Gly-Gly, 7.5mM  $MgCl_2$ , 3mM ATP, 0.4U G6P-DH, 0.75mM  $NADP^+$ ), 그리고 100mM 글루코스를 시험관에 넣고 28℃에서 15분간 반응시키고 간의 싸이토솔(cytosol)을 첨가한 후 즉시 cuvette에 옮겨 340nm의 스펙트로포토메타에서 초기 흡광도를 측정하고 생성된 NADPH의 양을 1분 간격으로 3분 동안 측정하였다. 또한 0.5mM 글루코스로 헥소키나아제(hexokinase)에 의한 NADPH 생성량에 대한 보정을 하였고, NADPH의 몰흡광 계수인  $\epsilon_{340nm} = 6.22cm^2/\mu mol$ 를 이용하여 생성된 양을 계산하였다. 글루코키나아제의 활성도는 분당 NADPH의 생성량을 대조군에 대한 백분율로서 표시하였으며, 모든 실험은 2회 3반복 실시하여 그 평균값을 사용하였다.

글루코키나아제의 cofactor로서  $Cr^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$  및 TPP 을 첨가하였으며, 다양한 시도를 통해 최종적으로는 TPP는 1mM,  $Mg^{2+}$ 은 7.5mM,  $Cr^{3+}$ 는 1mM이 최적임을 확인하였다. 또한 보조인자의 효능 비교를 위해 세가지 보조인자를 다 첨가한 경우와  $Cr^{3+}$ 을 제외하였을때, 그리고 세가지 보조인자를 다 첨가하지 않은 경우를 비교 확인하였다.

#### 실험예 2. 피루베이트 디하이드로게나아제 활성

[도2]에서 피루베이트 디하이드로게나아제에 의해서 피루베이트가 아세틸-코에이로 분해되며 이 아세틸-코에이가 p-니트로아닐린과 반응하여 아세틸-니트로아닐린으로 분해되므로 p-니트로아닐린의 반응량은 피루베이트 디하이드로게나아제의 활성에 비례할 것이다. 그러므로 본 발명에 따른 샘플(즉, 상기한 실시예 1 내지 13에 따라 동충하초, 메밀쌀, 인진썩 및 계피가 소정의 비율로 혼합된 조성물)과 반응 완충액(25mM  $KH_2PO_4$ , 1mM p-니트로아닐린, 1mM  $MgCl_2$ , 2mM 2-멀캡토에탄올, 10mU 아릴아민 아세틸트랜스퍼라아제, 1mM TPP, 0.5mM  $NAD^+$ , 0.1mM CoA, 2.5 $\mu g/ml$  락테이트 디하이드로게나아제), 그리고 20mM 피루베이트를 시험관에 넣고 25℃에서 5분간 반응시키고 심장의 미토콘드리아를 첨가한 후 즉시 큐벳에 옮겨 410nm의 스펙트로포토메타에서 초기 흡광도를 측정하고 반응한 p-니트로아닐린의 양을 1분 간격으로 3분 동안 측정하였고, p-니트로아닐린의 몰흡광 계수인  $\epsilon_{410nm} = 8.8cm^2/\mu mol$ 를 이용하여 반응한 양을 계산하였다. 피루베이트 디하이드로게나아제의 활성도는 분당 p-니트로아닐린의 반응량을 대조군에 대한 백분율로서 표시하였으며, 모든 실험은 2회 3반복 실시하여 그 평균값을 사용하였다. 피루베이트 디하이드로게나아제의 보조인자로서  $Cr^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$  및 TPP 을 첨가하였으며, 다양한 시도를 통해 최종적으로는 TPP는 1mM,  $Mg^{2+}$ 은 7.5mM,  $Cr^{3+}$ 는 1mM이 최적임을 확인하였다. 또한 보조인자의 효능 비교를 위해 세가지 보조인자를 다 첨가한 경우와  $Cr^{3+}$ 을 제외하였을때, 그리고 세가지 보조인자를 다 첨가하지 않은 경우를 비교 확인하였다.



**실험예 3. 아세틸-코에이 카르복실라제 활성**

[도3]에 따라 NADH의 반응량을 측정하여 아세틸-코에이의 활성치를 측정한 바, 본 발명에 따른 샘플(즉, 상기한 실시예 1 내지 13에 따라 동충하초, 메밀짚, 인진쑥 및 계피가 소정의 비율로 혼합된 조성물)과 반응 완충제(50mM Tris·HCl, 10mM 구연산칼륨, 3.75mM 글루타티온 0.0125mM NADH, 0.2mg BSA, 0.125mM 아세틸-코에이, 10mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5mM 칼륨 Phosphoenopyruvate, 0.009mg 피루베이트 키나아제, 0.002mg 락테이트 디하이드로게나아제), 그리고 간의 사이토졸을 시험관에 넣고 37°C에서 12분간 반응시키고, 3.75mM ATP 첨가한 후 다시 37°C에서 1분간 더 반응시킨 후에 25mM KHCO<sub>3</sub>을 첨가하고 즉시 큐벳에 옮겨 340nm의 스펙트로포토메타에서 초기 흡광도를 측정하고 반응한 NADH의 양을 1분 간격으로 3분 동안 측정하였고, NADH의 몰흡광 계수인  $\epsilon_{340nm} = 6.22\text{cm}^2/\mu\text{mol}$ 를 이용하여 반응한 양을 계산하였다. 아세틸-코에이 카르복실라제의 활성도는 분당 NADH의 반응량을 대조군에 대한 백분율로서 표시하였으며, 모든 실험은 2회 3반복 실시하여 그 평균값을 사용하였다. 아세틸-코에이 카르복실라제의 Cofactor로서 Cr<sup>3+</sup>, Mg<sup>2+</sup>을 첨가하였으며, 다양한 시도를 통해 최종적으로는 Mg<sup>2+</sup>은 7.5mM, Cr<sup>3+</sup>는 1mM이 최적임을 확인하였다. 또한 보조인자의 효능 비교를 위해 세가지 보조인자를 다 첨가한 경우와 Cr<sup>3+</sup>을 제외하였을때, 그리고 세가지 보조인자를 다 첨가하지 않은 경우를 비교 확인하였다.

**발명의 효과**

이상에서 설명한 바와 같이 본 발명은 포도당 대사 과정에 있어서 관련된 효소들을 활성화시키는 작용이 있는 천연생약으로부터 유효성분을 추출해내는 방법 및추출물을 주성분으로 함유하는 당뇨병 환자를 위한 혈당강하용 기능성식품을 제조하는 방법을 제공한다.

이로써 본 발명은 기존의 인슐린이나 경구 혈당 강하제의 투여의 한계를 개선시기기에 유용한 기능성식품을 제공하여 약 물치료에 따른 부작용 없이 당뇨병 증상을 개선시킬 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

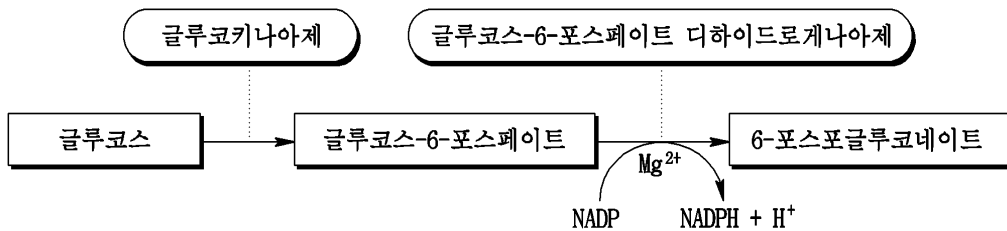
도 1는 글루코키나아제의 활성을 도시한 도표이다.

도 2는 피루베이트 디하이드로게나아제의 활성을 도시한 도표이다.

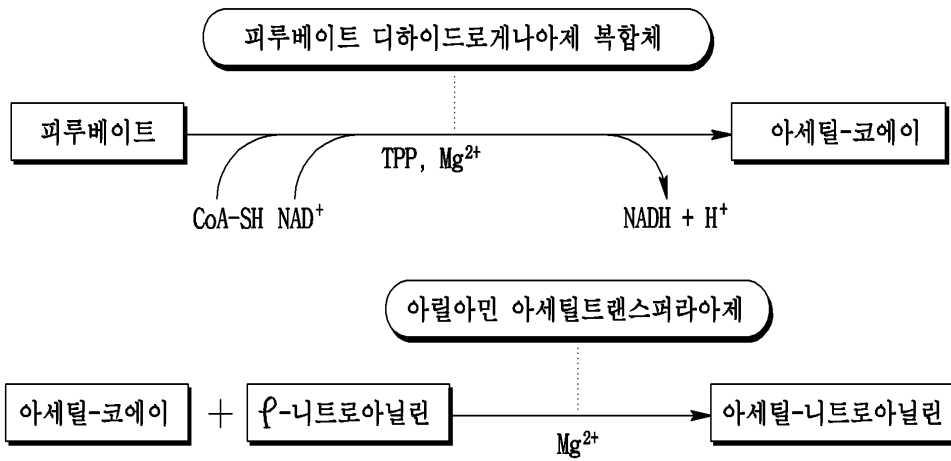
도 3은 아세틸-코에이 카르복실라제의 활성을 도시한 도표이다.

**도면**

**도면1**



도면2



도면3

