



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2018년11월13일  
 (11) 등록번호 10-1918249  
 (24) 등록일자 2018년11월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 36/899* (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)  
*A61K 36/07* (2006.01)  
 (52) CPC특허분류  
*A61K 36/899* (2013.01)  
*A23L 33/105* (2016.08)  
 (21) 출원번호 10-2017-0133753  
 (22) 출원일자 2017년10월16일  
 심사청구일자 2017년10월16일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP2000355547 A  
 (뒷면에 계속)

(73) 특허권자  
**강원대학교 산학협력단**  
 강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)  
**농업회사법인 주식회사 우창**  
 강원도 철원군 갈말읍 호국로 5062 ()  
 (72) 발명자  
**임기택**  
 강원도 춘천시 강원대학길 1 강원대학교 농업생명  
 과학대학 바이오시스템공학과 307동 207호  
**이옥환**  
 강원도 춘천시 서부대성로 33 이편한세상 103동  
 304호  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**구현서**

전체 청구항 수 : 총 12 항

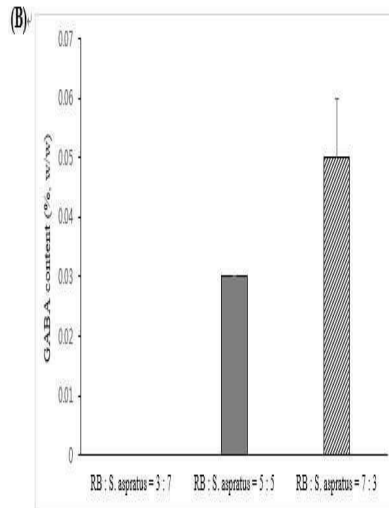
심사관 : 최원철

**(54) 발명의 명칭 미강 및 능이버섯 추출물을 포함하는 수면 유도용 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 미강 및 능이버섯을 유효성분으로 포함하는 수면 유도, 세라토닌 및 멜라토닌 분비 유도용 조성물에 관한 것이다. 본 발명을 통하여 알 수 있는 바와 같이 본 발명의 미강과 능이버섯 혼합물은 세라토닌 및 멜라토닌 분비 등에 효과가 있고, 수면유도에 개선에 효과가 있어서 기능성 식품 또는 약학적 용도로 사용될 수 있는 효과가 있다.

**대표도** - 도1b



(52) CPC특허분류

**A61K 36/07** (2013.01)  
A23V 2002/00 (2013.01)  
A23V 2200/31 (2013.01)  
A23V 2250/208 (2013.01)  
Y10S 514/923 (2013.01)

(72) 발명자

**서유리**

경기도 남양주시 호평로 94, 금강아파트 2102동  
2002호

**심완섭**

경기도 포천시 소흘읍 호국로 492번길 미래홈타운  
205호

**김혜빈**

강원도 춘천시 후만로126번길 31, 대우아파트 12동  
301호

(56) 선행기술조사문헌

KR1020120132653 A  
KR1020140056654 A  
KR1020150089188 A  
KR1020150121331 A  
KR1020160108771 A  
KR1020160120637 A

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

미강 및 능이버섯을 유효성분으로 포함하는 수면 유도용 조성물.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯은 추출물 형태로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 상기 미강 및 능이버섯은 추출물은 열수 추출물인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 4**

제1항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯의 중량비는 3:7 내지 7:3인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯의 중량비는 7:3인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 6**

미강 및 능이버섯을 유효성분으로 포함하는 세레토닌 분비 유도용 조성물.

**청구항 7**

제6항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯은 추출물 형태로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 8**

제6항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯의 중량비는 3:7 내지 7:3인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 9**

제6항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯의 중량비는 7:3인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 10**

미강 및 능이버섯을 유효성분으로 포함하는 멜라토닌 분비 유도용 조성물.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯은 추출물 형태로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 12**

제10항에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯의 중량비는 3:7 내지 7:3인 것을 특징으로 하는 조성물.

**발명의 설명**

**기술분야**

본 발명은 미강 및 능이 버섯 추출물을 포함하는 수면 유도용 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0001]

[0002] 인체의 중요한 생리작용 중 하나인 수면은 인간의 기본적인 기능을 유지하는데 필수적이며, 뇌 또는 신체의 손상을 회복시키는 과정이다. 수면은 삶의 질과 기능에 커다란 영향을 미치고 있으며, 전체 환자의 약 30%는 수면 장애를 앓고 있다고 보고 되었다. 특히 수면은 면역 시스템과 밀접한 관계가 있다. 중추 신경계 (CNS)는 자율 신경계 및 신경내분비 경로를 통해 면역 체계의 표적 세포에 신호를 보내 면역 기능을 조절한다. 이러한 경로에 의해 생성되고 방출되는 신경전달물질과 호르몬은 면역 세포와 상호 작용하여 싸이토카인(Cytokine) 생성이 되는데, 생성된 싸이토카인은 수면을 조절한다. 뿐만 아니라 수면장애는 의욕저하 및 정신적 피로를 유발하며, 집중장애 등의 사회심리적인 현상과 신경 생리학적 현상까지 건강상의 문제를 야기시키고 전체적인 질병 회복에 악 영향을 끼친다.

[0003] 이러한 수면장애를 치료하기 위해서 환자들은 다양한 수면제를 복용을 하고 있다. 수면제는 트리아졸람(triazolam), 로라제팜(Lorazepam), 디아제팜(diazepam) 등의 성분을 포함하고 있는 벤조디아제핀(benzodiazepine)계열과 졸피렘 성분이 대표적인 비벤조디아제핀 계열(non-benzodiazepine)과 독세핀(Doxepin), 트라조돈(Trazodone) 등의 성분을 포함하는 항우울제 계열로 나뉜다.

[0004] 그러나 이러한 수면제 복용은 중독이 될 수 있으며, 장기 복용 시에 두통, 어지러움 등 부작용이 있어 규제가 요구되고 있다. 따라서 수면을 개선하고 부작용이 없는 천연물 소재의 수면 유도제를 개발하는 것이 중요하다고 판단되었다.

[0005] [선행 특허 문헌]

[0006] 대한민국 특허공개특허 10-2008-0106514

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0007] 본 발명은 상기의 문제점을 해결하고, 상기의 필요성에 의하여 안출된 것으로서 본 발명의 목적은 수면 유도용 조성물을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 세라토닌 분비 증가용 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은 멜라토닌 분비 증가용 조성물을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0010] 상기의 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 미강 및 능이버섯을 유효성분으로 포함하는 수면 유도용 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯은 추출물 형태로 포함하는 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0012] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 미강 및 능이버섯은 추출물은 열수 추출물인 것이 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯의 중량비는 3:7 내지 7:3인 것이 바람직하고, 상기 조성물에서 미강 및 능이버섯의 중량비는 7:3인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 아니한다.

[0014] 또 본 발명은 미강 및 능이버섯을 유효성분으로 포함하는 세라토닌 분비 유도용 조성물을 제공한다.

[0015] 또한 본 발명은 미강 및 능이버섯을 유효성분으로 포함하는 멜라토닌 분비 유도용 조성물을 제공한다.

[0016] 상기 조성물은 약학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 상기 조성물에 포함되는 약학적으로 허용되는 담체는 제제시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로오스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유효제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0017] 상기 약학적 조성물은 경구 또는 비경구로 투여할 수 있다. 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근

육 주입, 복강 주입, 내피 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여 및 직장내 투여 등으로 투여할 수 있다.

[0018] 경구 투여시, 경구용 조성물은 활성 약제를 코팅하거나 위에서의 분해로부터 보호되도록 제형화될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 활성 물질이 표적 세포로 이동할 수 있는 임의의 장치에 의해 투여될 수 있다.

[0019] 상기 약학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 상기 조성물의 바람직한 투여량은 성인 기준으로 0.001-1000 mg/kg 범위 내이다. 용어 "약학적 유효량"은 수면장애를 예방 또는 치료하는데 충분한 양을 의미한다.

[0020] 상기 조성물은 당해 당업자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 엑스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가적으로 포함할 수 있다. 또한, 상기 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고, 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있다.

[0021] 또한, 본 발명의 일 양상은 상기 추출물을 유효성분으로 포함하는, 수면 유도를 위한 식품조성물을 제공한다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1g의 비율로 가할 수 있으나, 이는 당업자에 의해 제품에 맞게 용이하게 결정될 수 있다.

[0022] 상기 식품 조성물은 상기 추출물 이외에도 식품학적으로 허용 가능한 식품보조 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 정제, 캡슐제, 환제, 액제 등의 형태로 제조될 수 있다.

[0023] 본 발명의 식품조성물은 필수 성분으로서 상기 두 추출물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.

[0024] 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100ml당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

[0025] 본 발명의 식품 조성물은 상기 성분 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물 (전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제 (치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 본 발명의 화합물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

[0026] 이하 본 발명을 설명한다.

[0027] 본 발명에서는 미강과 능이버섯 혼합물을 활용하여 수면유도 기능성 식품 개발 및 수면유도 평가를 진행하였다. 이를 위하여 미강과 능이버섯의 최적 혼합비를 제시하고 이에 대한 수면유도 기능성 식품으로서 활용하기 위한 기초자료를 확보하고자 하며, 유용성분 분석 및 동물실험을 이용하여 *in vivo* 상에서 수면유도 효과에 대해 확인하였다.

**발명의 효과**

[0028] 본 발명을 통하여 알 수 있는 바와 같이 본 발명의 미강과 능이버섯 혼합물은 세라토닌 및 멜라토닌 분비 등에 효과가 있고, 수면유도에 개선에 효과가 있어서 기능성 식품 또는 약학적 용도로 사용될 수 있는 효과가 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0029] 도 1은 세 종류의 미강 및 *Sarcodon aspratus* 추출물에서 활성 성분의 양. (A) 추출물의  $\beta$ -glucan 양. (B) 추출물의 GABA 양. RB, rice bran; S. aspratus, *Sarcodon aspratus*.

도 2는 마우스 체중에 대한 미강 및 *Sarcodon aspratus* 추출물의 영향. RB, rice bran; S. aspratus, *Sarcodon aspratus* (\*p > 0.05).

도 3은 마우스의 혈청에서 Serotonin 농도. RB, rice bran; S. aspratus, *Sarcodon aspratus* (\*p < 0.05).

도 4는 대조군과 비교한 Serotonin 농도의 증가. RB, rice bran; S. aspratus, *Sarcodon aspratus*.

도 5는 마우스 혈청에서 Melatonin 농도. RB, rice bran; S. aspratus, *Sarcodon aspratus* (\*p < 0.05)

도 6은 대조군과 비교한 Melatonin 농도의 증가. RB, rice bran; S. aspratus, *Sarcodon aspratus*.

도 7은 미강의 양에 따른 미강 및 *Sarcodon aspratus* 추출물에 대한 WST-1 세포독성의 결과. RB, rice bran; S. aspratus, *Sarcodon aspratus*. 대조군, 미강 및 *Sarcodon aspratus* 5:5 및 7:3에서 평균 흡광도(OD) 값은 각각 2.0921, 2.0782, 2.0747(\*p > 0.05).

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0030] 이하 비한정적인 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 단 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 의도로 기재한 것으로서 본 발명의 범위는 하기 실시예에 의하여 제한되는 것으로 해석되지 아니한다.

[0031] 실시예 1: 샘플 제조 및 추출 과정

[0032] 미강(Cheorwon, Republic of Korea)과 능이버섯(Tibet, China)의 최적의 유용성분비를 찾기 위하여 총 3종류의 중량비로 혼합비(7:3, 5:5, 3:7)를 설정하였다. 혼합한 샘플은 모두 열수로 95℃에서 1시간 동안 추출하여 여과한 다음 2회 반복하였다 (Lin S-D, Mau J-L, Hsu C-A (2012) LWT-Food Science and Technology 46:64-70). 추출물을 회전식 감압농축기(EYELA Rotary evaporator, Japan)로 45℃에서 농축한 후 동결건조(-55℃, 72h)하여 분말형태로 제조하였다.

[0033] 실시예 2: GABA 분석

[0034] GABA의 정량은 Zhang 등의 방법을 참조하여 측정하였다 (Zhang G, Bown AW (1997) Phytochemistry 44:1007-1009). 먼저 표준곡선을 구하기 위해 GABA(99%, Sigma-Aldrich, USA)를 이용하였다. 각 샘플 0.1g에 Methanol 400 μL를 첨가하여 75℃ Water bath에서 30분간 건고 시켰다. 그 후 70mM LaCl 1mL를 첨가하여 반응시킨 후 원심분리(15000g, 15min) 하였다. 상등액 700 μL를 취하여 0.1M KOH 160mL와 혼합하여 교반한 후, 원심분리 (15000g, 10min) 하였다. 상등액 550 μL를 0.5M K<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 200 μL, 4mM NADP 150 μL, GABase(2 U/mL) 50 μL를 각각 첨가한 후 340nm에서 흡광도를 측정하였고, 이 값을 20mM α-ketoglutaric acid sodium salt 50 μL를 첨가한 후 같은 과정에서 측정된 흡광도의 차이를 구하여 GABA의 정량을 측정하였다.

[0036] 실시예 3: β-glucan 분석

[0037] β-glucan의 정량은 Mixed-linkage beta-glucan kit (Megazyme Inc., Chicago)를 이용하여 측정하였다 (Mcclear BV, Glennie-Holmes M (1985) Journal of the Institute of Brewing 91:285-295). 샘플 50mg에 50% ethanol 0.1mL과 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.5) 2mL를 첨가한 후 100℃에서 3분간 교반을 한다. 그 후 50℃에서 5분간 교반하고 lichenase(5 U)를 첨가하여 1시간 동안 50℃에서 반응시킨다. 200mM Sodium acetate(pH 4.5) 2.5mL를 첨가한 후 원심분리 (12000g, 10min)하여 상등액 50 μL와 동량의 β-glucosidase(0.1 U)를 혼합하여 10분간 50℃에서 반응시킨다. 그 후, GOPOD(glucose oxidase/peroxidase) reagent 1.5 mL를 첨가하고 20분 동안 50℃에서 반응시킨 후 510 nm에서 흡광도를 측정한다. β-glucan의 정량은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

[0039] 
$$\beta - glucan = \Delta A \times F \times \frac{FV}{0.05} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} \times D$$

[0040] 여기서,

[0041] ΔA : 시료의 흡광도-공시료(Blank)의 흡광도

[0042] F : 흡광도를 D-glucose의 μg으로 환산하기 위한 계수

**W**  
[0043] : 시료의 무게(mg)

$\frac{162}{180}$   
[0044] : 유리상태 glucose 분자량으로부터  $\beta$ -glucan 분자와 같이 무수상태의

[0045] glucose 분자량으로 전환하기 위한 계수

[0047] 실시예 4: 세포독성 테스트

[0048] Bone cells (Korean Cell Line Bank, Seoul National University College of Medicine, Republic of Korea)를 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, WELGENE, Republic of Korea) 배지에서 37 °C, CO<sub>2</sub> 5 % 의 조건으로 배양하였다. 배지는 1% Antibiotics와 10% Fetal bovine serum (FBS, WELGENE)로 보충하였다. 세포 독성은 WST-1 assay((EZ-Cytox Cell Viability Assay Kit, Daeillab Service Co., Ltd)로 분석하였다. 세포를 96-well plate에 분주하고 24시간에 배양한 후, 준비된 샘플 (RB : *S.aspratus* = 3 : 7, 5 : 5, 7 : 3)을 각 well에 10  $\mu$ L씩 첨가하여 반응시켰다. EZ-Cytox 10  $\mu$ L를 각 well에 첨가하여 4시간 반응 시켰다. 샘플 처리하지 않은 배지를 대조군으로 설정하였다. ELISA reader (INFINITE M NANO, TECAN, Schweiz) 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0049]  
[0050] 실시예 5: 동물 및 처리

[0051] 본 발명에서 사용된 동물은 체중 34-35g의 7주령 ICR 수컷 흰쥐를 사용하였다 (ORIENTBIO Inc, Republic of Korea). 사용된 동물은 7일간의 사육환경에서 적응 기간을 거쳤다. 사육환경은 온도 21  $\pm$  2°C, 습도 35-65 %, 환기횟수 10-15회/hr, 조명시간 12시간 (lights on from 8:00 am to 8:00 pm), 조도 150-300 Lux으로 설정하였다. 실험동물은 총 4개의 군(n=5)으로 분리하였다: 대조군, 3:7 (미강: 능이버섯) 200 mg/kg, 5:5 200 mg/kg, 7:3 200 mg/kg. 샘플은 매일 경구투여하였고, 투여 종료한 후에 혈청 내 멜라토닌과 세로토닌 농도를 측정하였다. 멜라토닌은 Mouse MT ELISA kit (elabscience, E-EL-M0788)와 세로토닌은 Serotonin ELISA kit (abcam, ab133053)를 이용하여 측정하였다. 실험 기간동안 실험동물의 체중은 첫째 날과 5일째 날과 마지막 날의 동일 시간에 측정하였다. 실험동물 사육의 전 과정은 강원대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받고 시행되었다.

[0053] 본 발명의 실험에서 얻어진 모든 실험 결과는 평균치  $\pm$  표준편차 (Mean  $\pm$  SD)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석 SAS for Windows v8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하였다. 대조군과 실험군 간의 통계적 유의성을 Two-way analysis of variance (ANOVA)로 비교하였다. 통계적 유의성은 \**p* < 0.05로 판정하였다.

[0055] 상기 실시예의 결과는 하기와 같다.

[0056] 샘플의 GABA 및  $\beta$ -glucan 양의 정량화

[0057] 미강과 능이버섯의 혼합비율에 따른 GABA와  $\beta$ -glucan 함량의 분석 결과는 도 1과 같다. GABA는 미강에만 함유되어 있으므로, 미강이 높을수록 함량이 높게 나타났다. 즉, GABA 미강과 능이버섯이 7:3인 중량 비율이 0.05  $\pm$  0.01 (% w/w)으로 가장 높게 나왔다. 또한,  $\beta$ -glucan의 함량도 미강이 높을수록 높게 나타났다. 미강과 능이버섯이 7:3인 비율이 1.73  $\pm$  0.01 (% w/w)으로 가장 높게 나왔다. 실제로 미강에도  $\beta$ -glucan이 다량 함유되어 있으며 (Kahlon et al., 1993), 미강과 능이버섯의 혼합으로  $\beta$ -glucan함량이 증가되었음을 확인하였다. 모든 Sample의 GABA와  $\beta$ -glucan 함량은 표 1과 같다.

[0059] 혈청에서 Serotonin 양

[0060] 본 발명에 사용된 쥐의 체중은 전체 평균이 34.545  $\pm$  0.08 g이었으며, 각 그룹간 체중에 유의한 차이는 없었다 (도 2). GABA와  $\beta$ -glucan의 수면 유도 효과를 확인하기 위해 Control군으로 물을 투여하여 Serotonin의 농도를 측정하였다 (도 3). 이 결과 물만 투여한 쥐의 혈청 내 Serotonin 양은 2.62  $\pm$  0.42  $\mu$ g/mL 이었다. 미강과 능이버섯이 3:7인 비율이 3.40  $\pm$  0.17  $\mu$ g/mL, 미강과 능이버섯이 5:5인 비율은 4.53  $\pm$  0.39  $\mu$ g/mL, 미강과 능이버섯이 7:3인 비율은 5.26  $\pm$  0.34  $\mu$ g/mL으로 생성되었다 (표 2).

[0061] 이와 같은 결과로 대조군과 비교하여 세로토닌 농도의 증가율을 확인하였다. 미강과 능이버섯이 3:7인 비율이 29.77 %, 5:5인 비율이 72.9 %, 7:3인 비율이 100.76% 상승하였다 (도 4).



[0063] 혈청에서 Melatonin 양

[0064] 혼합 추출물과 물을 쥐에게 투여한 후에 혈청 내 Melatonin의 농도를 측정된 결과 (도 5), 물만 투여한 쥐의 Melatonin양은  $38.76 \pm 4.66$  pg/mL 이었다. 또한, 미강과 능이버섯이 3:7인 비율에서는  $41.5 \pm 0.34$  pg/mL, 5:5인 비율에서  $45.89 \pm 2.36$  pg/mL, 7:3인 비율에서  $46.81 \pm 6.87$  pg/mL 이었다 (표 3). 이와 같은 결과로 대조군과 비교하여 멜라토닌 농도의 증가율을 확인하였다. 미강과 능이버섯이 3:7인 비율이 7.07%, 5:5인 비율이 18.4%, 7:3인 비율이 20.77% 상승하였다 (도 6).

[0065] 세포독성 측정

[0066] 세포 (Bone cell)를 24시간 동안 배양한 후 혼합 추출물을 사용하여 세포 독성 평가를 수행했다. 세포 독성 평가를 위해, WST-1 분석은 각각 추출물을 100  $\mu$ g /ml 농도로 설정하였다. 혼합 추출물에 대한 WST-1 세포 독성 시험 결과는 도 7 에 나타내었다. 미강과 능이버섯이 7:3, 5:5, 3:7인 추출물의 OD 평균 값은 각각 2.0306, 2.0782, 2.0747 이었다. 이 값은 대조군의 OD 평균 값인 2.0921와 유의하게 다르지 않았다 (\* $p > 0.05$ ). 이러한 결과는 혼합 추출물이 세포 독성이 없음을 나타낸다.

**표 1**

	$\beta$ -glucan Content (% w/w) <sup>1)</sup>	GABA Content (% w/w) <sup>2)</sup>
RB <sup>1)</sup> : <i>S. aspratus</i> <sup>2)</sup> = 3 : 7 <sup>3)</sup>	$1.46 \pm 0.07$ <sup>4)</sup>	ND <sup>3)</sup> <sup>5)</sup>
RB : <i>S. aspratus</i> = 5 : 5 <sup>6)</sup>	$1.53 \pm 0.07$ <sup>4)</sup>	$0.03 \pm 0.00$ <sup>4)</sup>
RB : <i>S. aspratus</i> = 7 : 3 <sup>6)</sup>	$1.73 \pm 0.11$ <sup>4)</sup>	$0.05 \pm 0.01$ <sup>4)</sup>

[0067]

[0068] 표 1은 세종류의 미강 및 *Sarcodon aspratus* 추출물에서  $\beta$ -glucan 및 GABA 양. 모든 값들은 평균  $\pm$  SD로 표시함

**표 2**

Sample	Serotonin ( $\mu$ g/mL)	RSD
Control	$2.62 \pm 0.42$	16.03
RB : <i>S. aspratus</i> = 3 : 7	$3.4 \pm 0.17$	5.00
RB : <i>S. aspratus</i> = 5 : 5	$4.53 \pm 0.39$	8.61
RB : <i>S. aspratus</i> = 7 : 3	$5.26 \pm 0.34$	6.46

[0071] 표 2는 마우스 혈청에서 혼합 추출물의 serotonin에 대한 효과. RB, rice bran; *S. aspratus*, *Sarcodon aspratus*. RSD, 상대적 표준 편차.

**표 3**

Sample	Melatonin (pg/mL)	RSD
Control	$38.76 \pm 4.66$	12.02
RB : <i>S. aspratus</i> = 3 : 7	$41.5 \pm 0.34$	0.82
RB : <i>S. aspratus</i> = 5 : 5	$45.89 \pm 2.36$	5.14
RB : <i>S. aspratus</i> = 7 : 3	$46.81 \pm 6.87$	14.68

[0073]

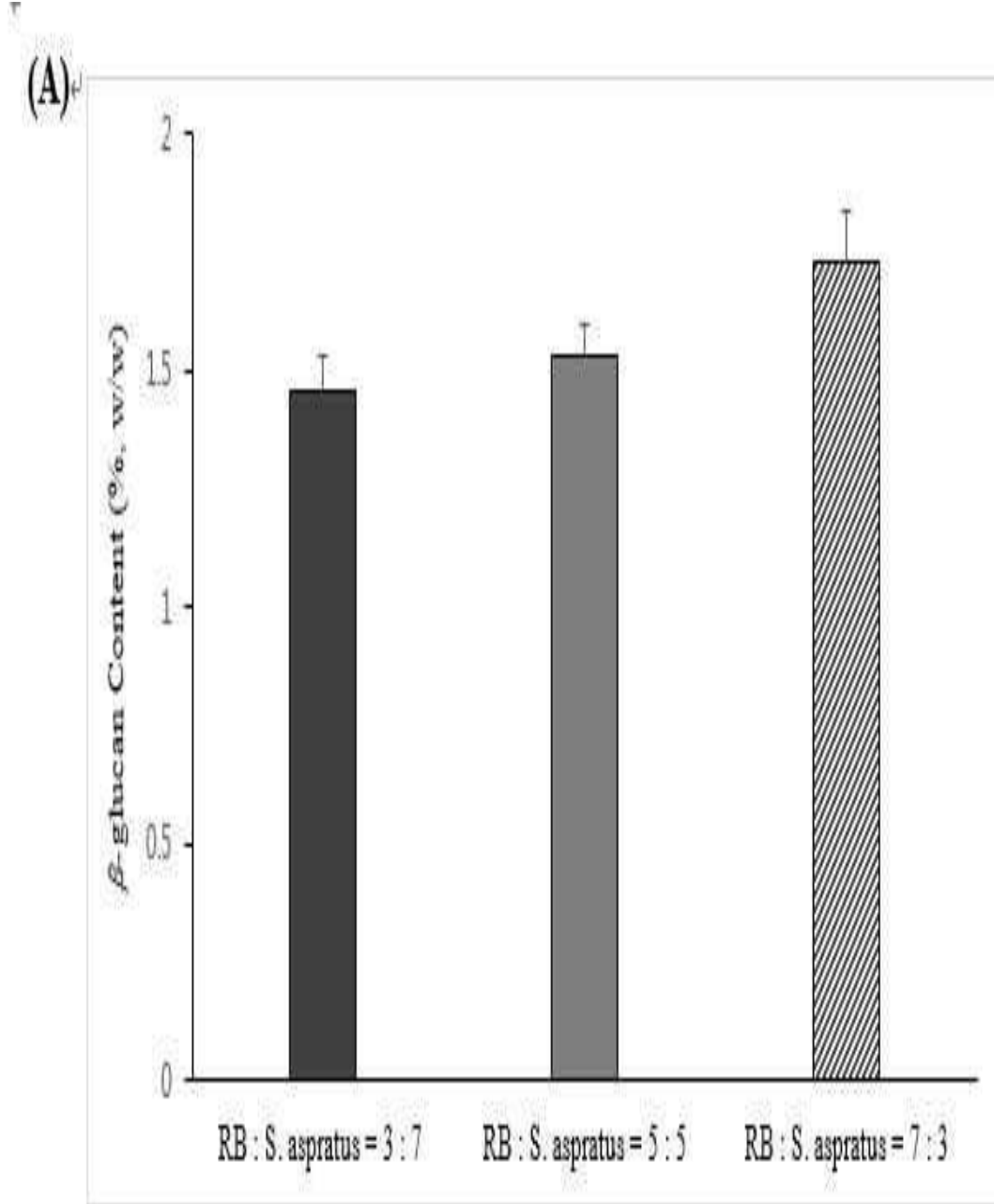


[0074]

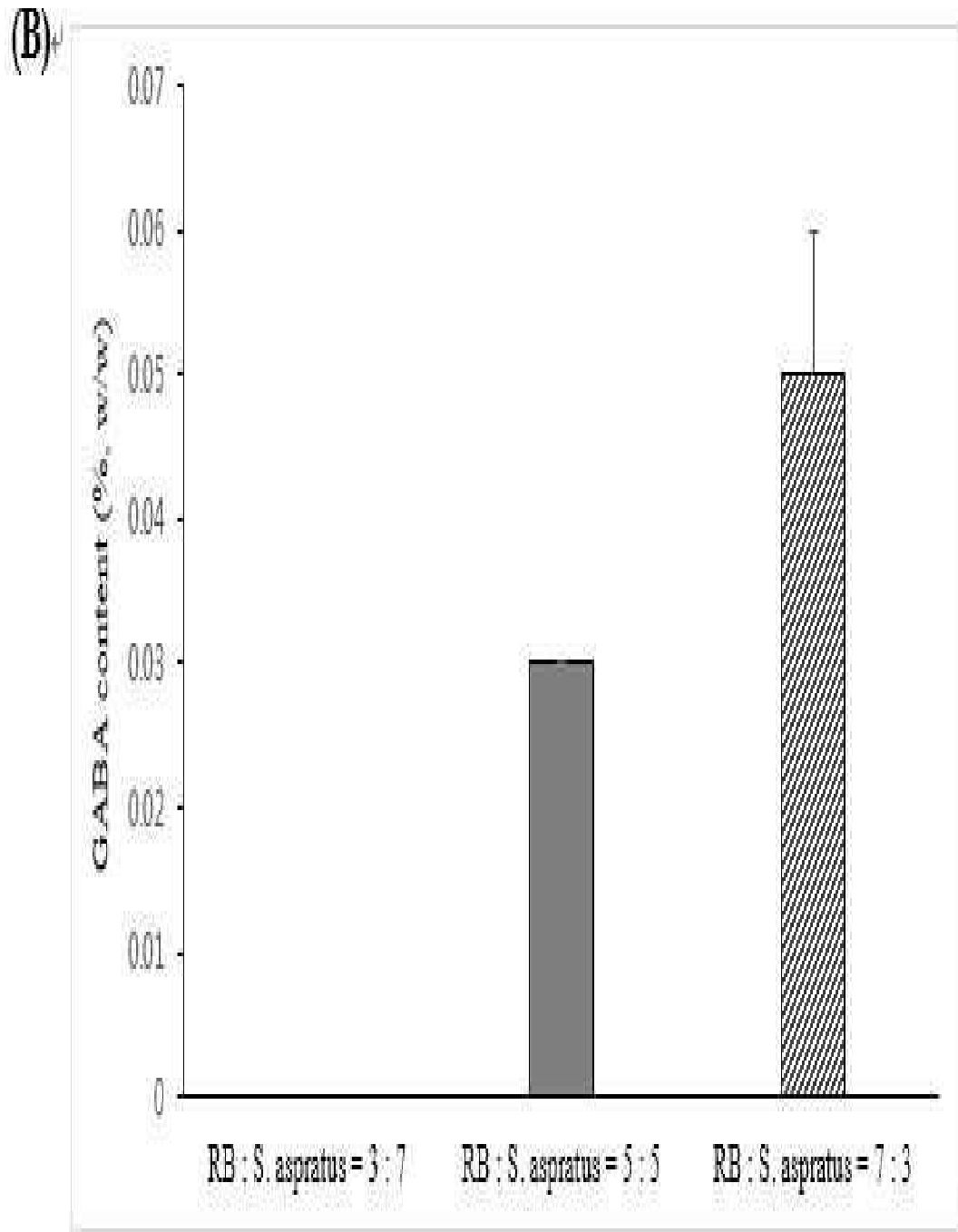
표 3은 마우스 혈청에서 혼합 추출물의 melatonin에 대한 효과. RB, rice bran; *S. aspratus*, *Sarcodon aspratus*. RSD, 상대적인 표준 편차.

도면

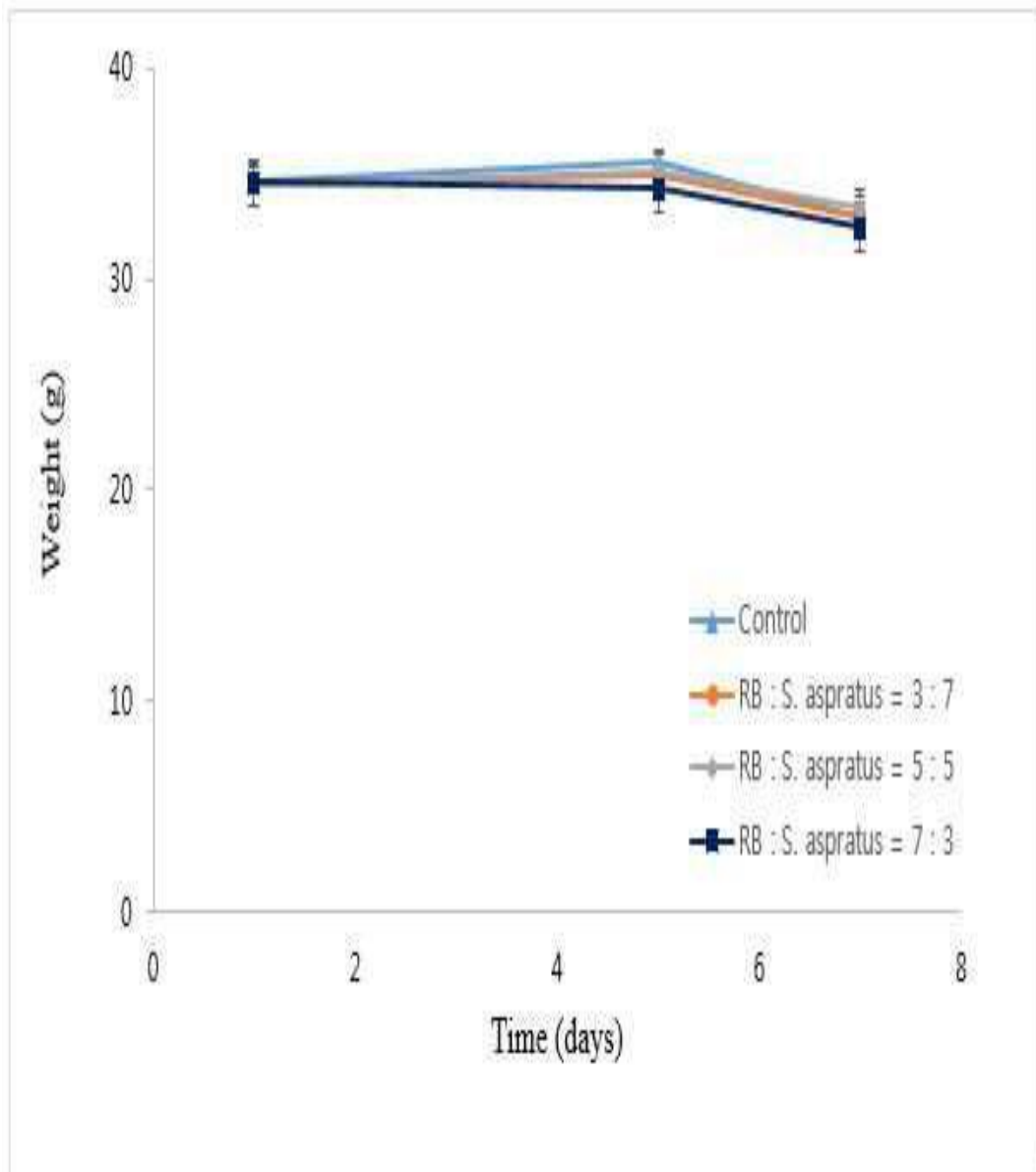
도면1a



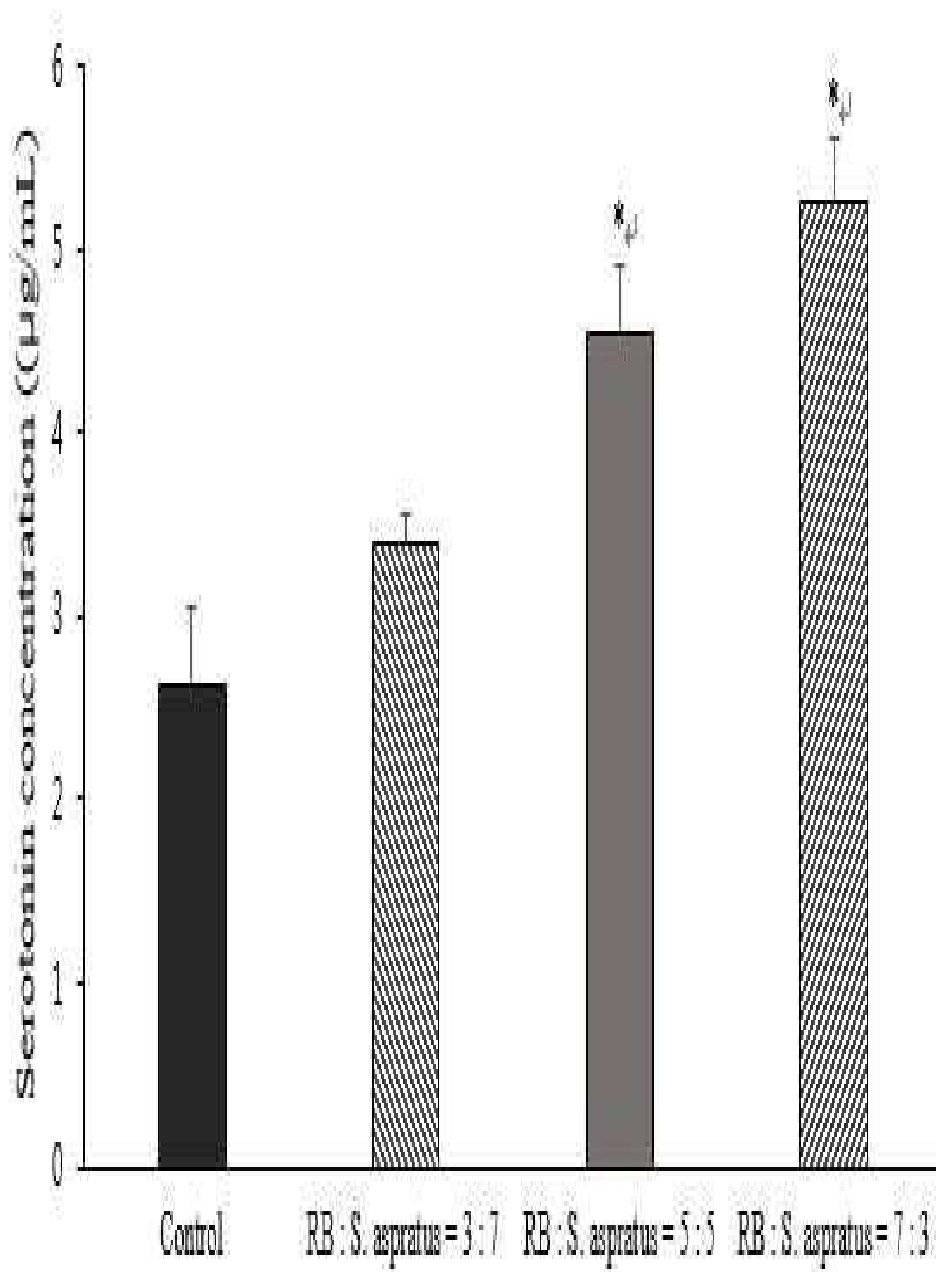
도면1b



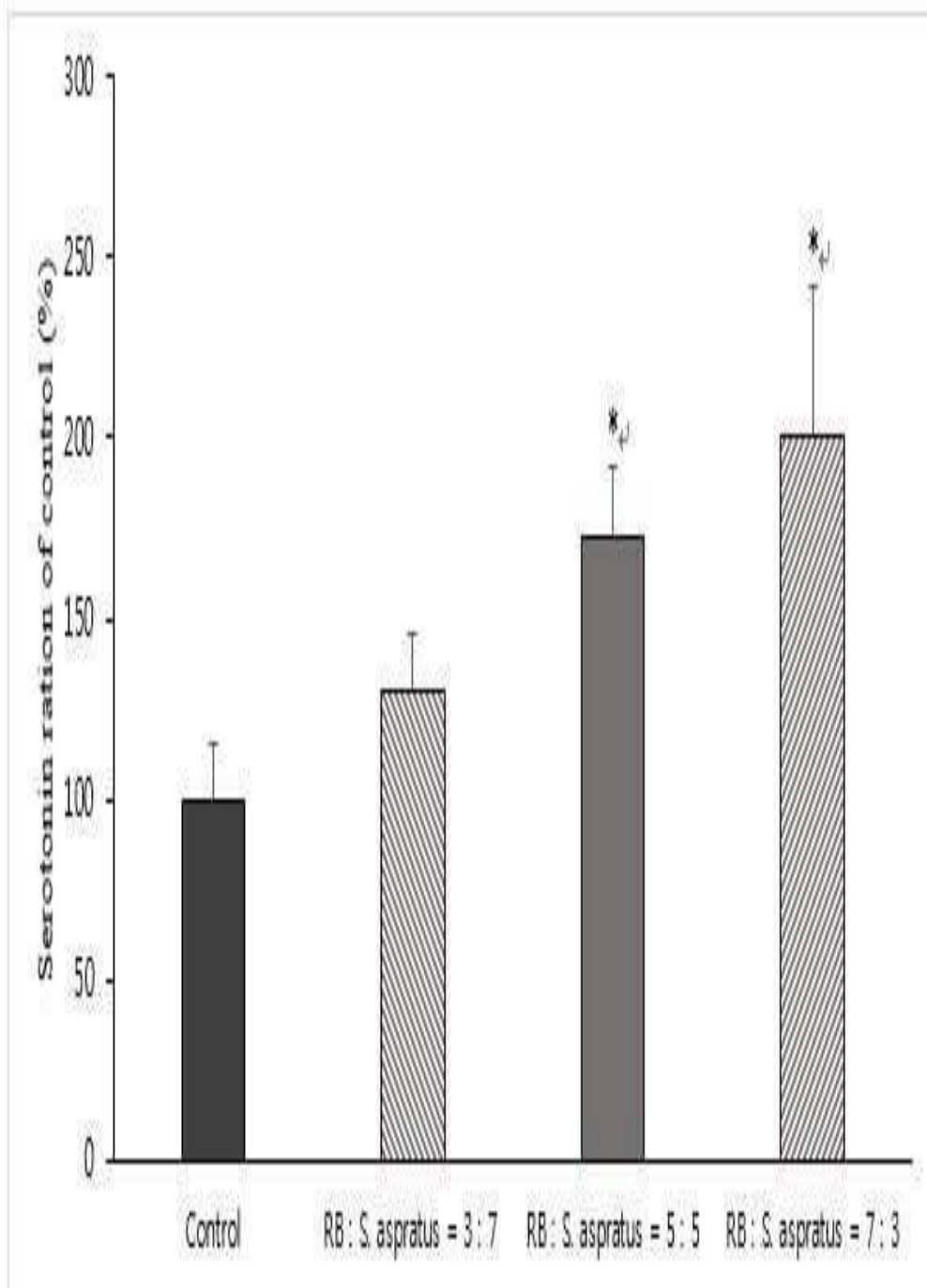
도면2



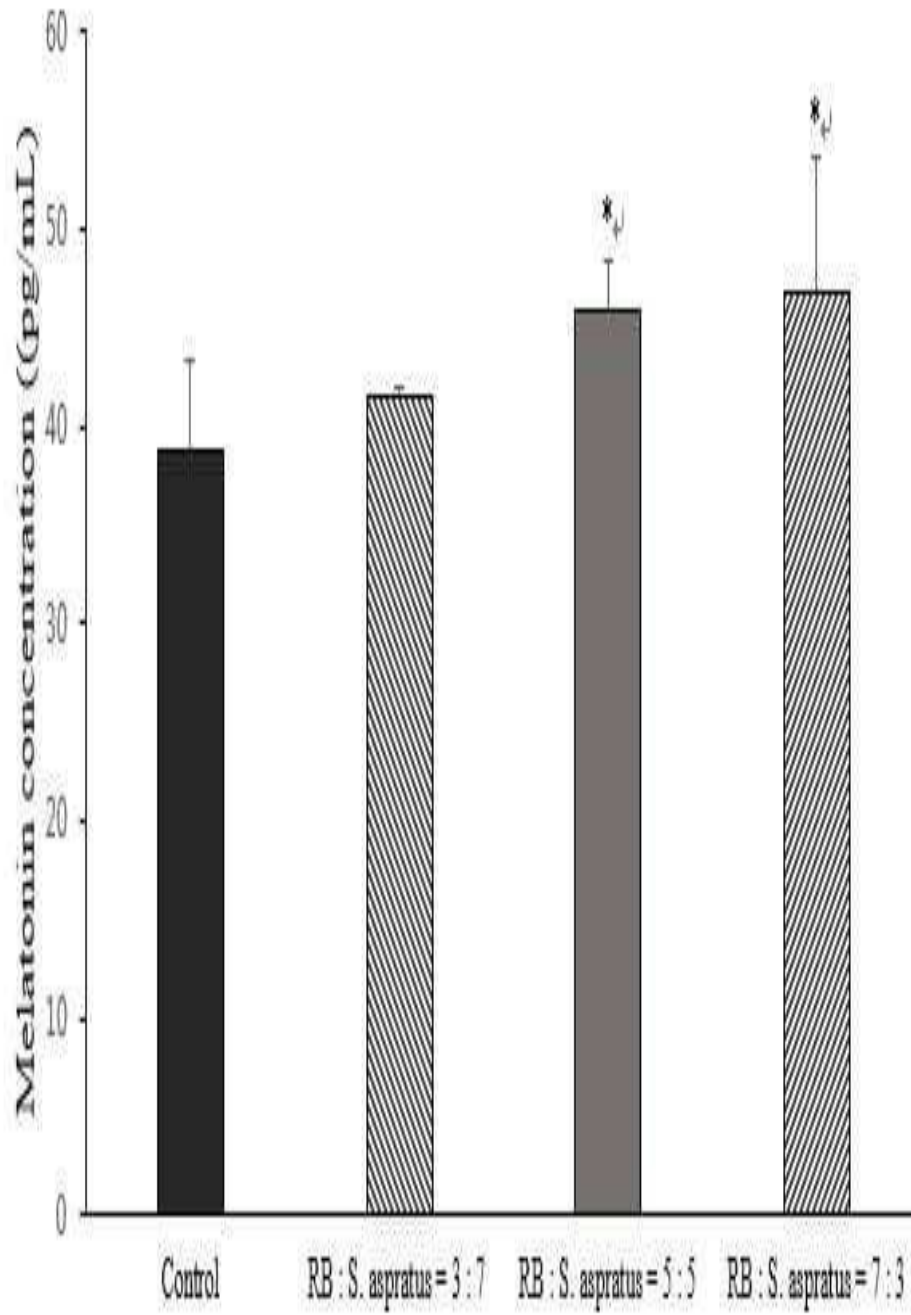
도면3



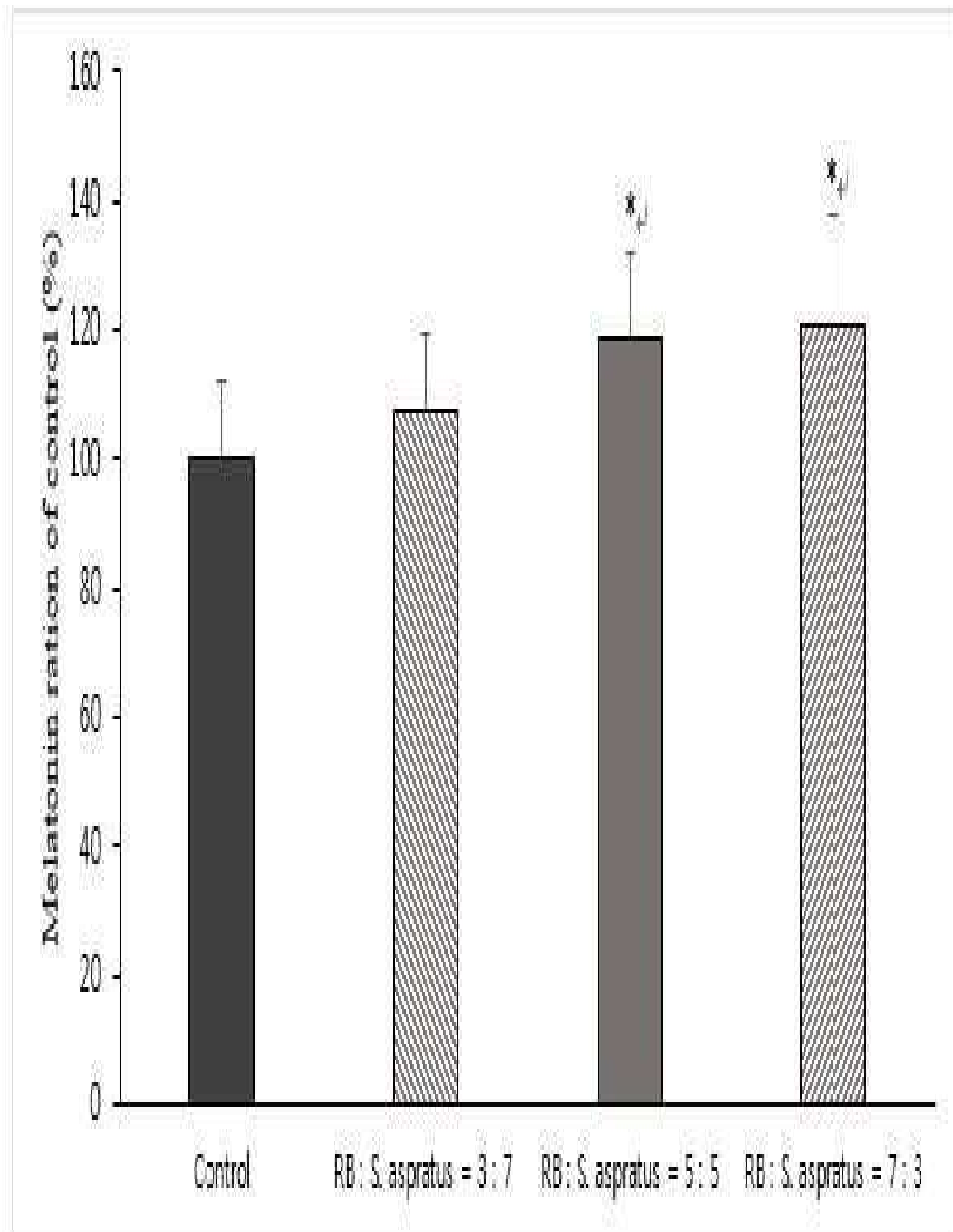
도면4



도면5



도면6





도면7

