

[별지 19]

발간등록번호
11-1543000-000764-01

최 종 보 고 서

섬오가피 등 국내 자생소재를 이용한 우울 및 불면 개선용
건강기능 소재 및 제품 개발

최 종 보 고 서

섬오가피 등 국내 자생소재를 이용한 우울 및 불면 개선용
건강기능 소재 및 제품 개발

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성 및 범위

1. 국내·외 현황 및 문제점
2. 연구개발의 사회·문화적 필요성
3. 연구개발의 산업적 필요성

제 2 절 연구개발의 목표 및 범위

1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용
2. 연구범위 및 연구수행 방법

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황

제 2 절 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구내용 및 방법

1. 우울/불안 및 불면 개선 소재탐색
2. 원물 규격화
3. 지표성분 및 최적추출조건 설정
4. 대량생산공정확립
5. 기능성평가(in vitro & in vivo)
 - 가. 우울/불안 기능성평가
 - 나. 불면 기능성평가
6. 안전성평가
 - 가. 단회경구투여
 - 나. 유전독성
7. 인체적용시험
8. 제품개발(품질기준설정 및 유통안정성평가)

제 2 절 연구결과

1. 우울/불안개선 소재 및 제품 개발
 - 가. 후보소재탐색
 - 나. 원물의 규격화
 - 다. 지표성분 및 최적추출조건 설정

- 라. 대량생산공정구축
- 마. 기능성평가(in vitro, in vivo, Human)
- 바. 안전성평가
- 사. 인체적용시험
- 아. 섬오가피추출물을 활용한 시제품개발
- 2. 불면개선용 소재 및 제품 개발
 - 가. 후보소재탐색
 - 나. 원물의 규격화
 - 다. 지표성분 및 최적추출조건 설정
 - 라. 대량생산공정구축
 - 마. 기능성평가(in vitro, in vivo, Human)
 - 바. 안전성평가
 - 사. 인체적용시험
 - 아. 불면개선 추출소재의 품질평가 및 불면시장 분석

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구개발목표의 달성도 평가

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

1. 실용화·산업화 계획
2. 논문게재성과
3. 지식재산권 확보

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 연구시설·장비 현황

제 8 장 참고문헌

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 국내·외 현황 및 문제점

- 현대 생활의 소모적이고 바쁜 일상, 비만 유병률의 증가, 스트레스 등으로 인하여 정신질환으로 진단 및 치료받는 환자의 숫자는 최근 수년간 급격히 증가하였으며, 향후에도 지속적으로 증가할 것으로 예상됨.
- 불안, 수면장애 등 정신질환 치료제의 연구개발은 대부분은 GABA 신경계, serotonin 신경계, noradrenaline 신경계 및 neuropeptide 계에 초점이 맞추어져 왔음. 이러한 정신병 등의 신경 화학적 지식은 새로운 치료약물의 개발에 커다란 도움을 주고 있으나, 지금까지 개발된 많은 치료 약물들은 그 부작용 등으로 인해 사용에 많은 제한을 받고 있음¹⁾.
- Serotonin 신경계는 최근 들어 GABA 계열 약물들 보다 부작용이 상대적으로 적다고 알려져 각광 받기 시작하였으며, 여러 수용체 subtype 중 불안과 가장 관계가 깊은 수용체로 5-HT_{1A} subtype이 알려져 있음²⁻⁴⁾.
- 그러나 현재 여전히 많이 쓰이고 있는 약물은 GABA 수용체와 관련한 benzodiazepine 계열의 약물인데 이것은 상대적으로 안전하나 장기 연용에 의하여 내성과 의존성이 생기며, 기억 감퇴(memory loss), 감각기능의 마비, 호흡기능의 억제와 같은 부작용을 동반하는 것으로 알려져 있음.
- 한편, 현재 우울증 치료제의 주종을 이루고 있는 것은 serotonin 재흡수 억제제(SSRI) 계열의 약물이며, 이보다 한 단계 발전한 것이 serotonin 뿐만 아니라 norepinephrine 및 dopamine의 고갈을 억제하는 serotonin-norepinephrine 재흡수 억제제(SNRI; Serotonin noradrenergic reuptake inhibitors)임.
- 최근 항우울제 개발에 있어서 커다란 과제 중 하나는 모노아민계 신경전달계가 아닌 새로운 작용기전에 의한 강력한 항우울제의 개발이며, 그 중 세포단계에서 치료할 수 있는 항산화제 또는 신경생성(neurogenesis)에 대하여 많은 연구가 진행 중임.

- 산화적 스트레스는 세포 수준에서의 손상을 야기할 뿐 만 아니라, 실제 심혈관계 질환이나, 암, 당뇨, 신경관련 질환 및 심리 질환에 관여하는 것으로 알려져 있음. 특히 뇌 조직의 경우는 산소 소비량이 매우 많고, 이에 따라 산화적 스트레스로 인한 손상을 받기 쉬운 조직임.
- 항산화 방어 시스템이 적절하지 못하다면 뇌 조직에서의 산화적 스트레스가 지속되면서 치매, 파킨슨, 우울증, 인지기능 장애 등의 neurodegenerative disease로 발전하게 됨.
- 대부분의 항우울제와 항불안제 등은 기본적인 항산화 활성을 가지고 있음. Valproate와 lithium은 주로 양극성 장애에 사용되는 약물로서, GSH 수준을 증가시켜서 항산화능을 강화하게 되는 약물이며, N-acetyl cystein (NAC)은 free radical scavenger로 작용하여 우울증상을 감소시킨다고 보고되어 있음. 또한 statin 계열의 약물들은 항산화능을 통한 항염증 특성을 보이면서 기분 장애의 위험도를 낮춘다고 보고되어 있으며, 항우울제의 대표적인 약물인 fluoxetine의 경우 산화적 스트레스 지표들의 수치를 현저히 낮춘다고 보고되어 있음.
- Neuropsychiatric disorder에 사용되는 불안 완화제, β -아드레날린성 차단제, 항우울제 혹은 항정신성 약물들은 상대적으로 안전하나 장기 연용에 의해 내성과 의존성을 유발하는 단점이 알려지면서 최근에는 뛰어난 항산화능을 가진 천연물에 대한 관심이 집중되고 있음.
- 그럼에도 불구하고, 천연물에 대해서는 기본적으로 항산화능 정도에 대해서만 연구하고 있고, 실제로 뇌신경 질환과의 연관성이 있는지에 대한 연구는 거의 없는 실정임. 또한, 한국에서 5위권 안의 주요 질병으로 부상한 정신 질환에 대해 별다른 치료약이 없는 실정에서 부작용 발현율이 낮고 효과가 우수한 천연물 소재의 정신건강 개선 물질의 개발이 시급한 실정임.
- 따라서 부작용이 없는 천연물 유래의 정신건강 개선 물질이 개발된다면 국민보건 증진에 유용하게 사용될 수 있으며, 전통적으로 진정, 불면, 우울증 등에 사용되어 오던 천연물로부터 과학적 효능과 부작용을 체계적으로 검색, 연구하여 천연물 유래 제품으로 개발하는 것이 매우 바람직한 방향으로 판단됨.

2. 연구개발의 사회·문화적 필요성

- 정신질환은 직접적인 치료비용뿐만 아니라 간접비용 또한 매우 크기 때문에 사회, 문화적으로 큰 부담이 되고 있음. 미국 국립정신보건원(NIMH)에 따르면 자살을 포함한 정신질환은 전체 질병 부담률의 15% 이상을 차지하고 있고 액수로는 매년 2,050억 달러에 이르고 있는데, 이는 전체 암환자 치료를 위한 사회 비용보다도 많은 액수임(표 1).

표 1. 미국의 정신질환 환자 수 및 사회·경제적 부담 비용 현황(출처; PhRMA, 2002-2006)

질환	환자수 (백만명)	직·간접 비용 (b\$)
우울증	21	44
정신분열증	2.4	62
불안증	19	47
치매	6.8	100
약물/알콜 중독	22.5	400
수면장애	60	100
관절염	43	86
천식	14	16
암	8	190
당뇨병	16	132
고혈압	65	60
골다공증	44	18
뇌졸중	5	57

- 불안, 수면장애, 기분 저하 및 우울증은 현대인의 정신질환 중 대부분을 차지하고 있으며, 불안은 인간의 일상생활에서 매우 익숙한 것이기도 하지만 모든 정신과 영역에서 가장 일반적인 질환으로서, 전체 인구의 약 3-8% 정도가 불안 증세로 고통 받고 있다고 알려져 있음.
- 또한, 우울증은 현대인의 생활이 복잡 다각화되면서 선진사회를 중심으로 발생률이 계속 증가하고 있으며 보통 우울감, 흥미상실이나 체중감소, 수면 장애, 죄책감 등의 증상을 나타내고 어떤 경우에는 만성적 피로감이나 요통 등이 증상으로 나타나는 경우도 있음.
- 우리나라에서는 우울증을 정신적인 질환보다는 일시적 감정문제이나 성격 정도로 쉽게 생각하는 경향이 있으나, 우울증은 본인뿐만 아니라 주위 가족들의 삶까지 커다란 영향을 주고, 심할 경우 자살 등의 결과를 초래하는 심각한 정신질환임.
- 미국에서는 연간 약 1800 만명 이상이 우울증으로 고생하고 있으며, 우리나라에서도 우울증의 평생 유병율은 전체인구의 15% 정도라고 알려져 있지만, 국내 많은 환자들이 인식 부족 또는 정신 질환에 대한 사회적 편견으로 인하여 항우울제 복용을 주저하고

있는 실정임.

- 특히, 다른 연령에 비해 노년기의 경우, 약 15-25%에서는 특정 우울 질환의 진단 기준에 맞지는 않지만, 일상생활에 지장을 받는 우울증 증상을 가지고 있다고 알려짐. 이러한 노년기에서의 우울증은 식욕, 수면, 활력, 피로, 대인관계, 흥미, 취미, 사회적 활동 등에 모든 면에서 영향을 주고 있지만, 건강염려적인 호소(불안장애), 수면장애, 초조 등의 증세를 더 많이 호소하고 있음.

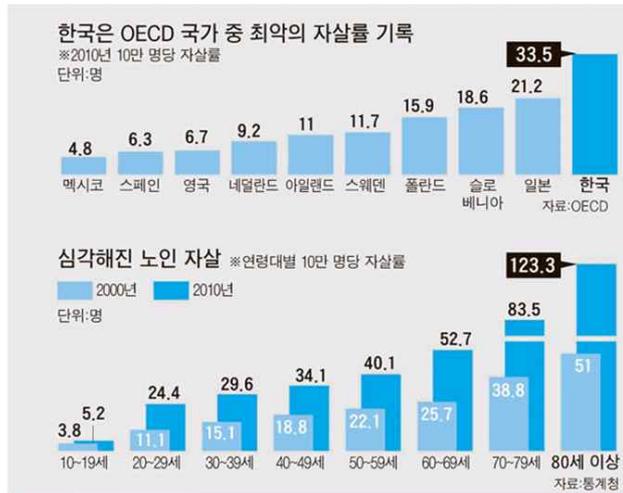


그림 1. 우리나라의 증가하고 있는 자살률 추세(출처; 중앙일보, 2012)

- 중앙일보의 2012년 기사에 따르면 한국이 OECD국가 중 자살률 1위로 보고 되었으며 (그림. 1 위), 그 중 특히 노인 인구의 자살률이 높은 것으로 알려져 있음(그림. 1 아래).
- 미국에서 자살 원인 1위는 치료받지 않는 우울증 및 기분장애로서, 노인에게서의 그 위험도는 2배가 되며, 65세 이상의 남자 노인에서는 5배까지 올라감. 따라서 고령인구가 증가함에 따라 노인성 기분 장애 증세를 개선시킬 수 있는 방향이 모색되어야 함.
- 한편, 정상적인 수면은 건강한 삶에 필수 불가결한 요소이나, 현대인들은 업무과다, 스트레스, 노화, 생활환경 및 질환 등의 다양한 원인으로 인해 성인 중 10% 이상이 수면장애를 호소하고 있고, 성인의 1/3 정도는 평생동안 어떤 형태로든 수면장애를 경험한다고 하며, 수면장애는 흔히 정신질환의 초기증상으로 나타나며 일부 정신질환은 수면생리의 특징적인 변화를 동반함.
- 미국 수면 협회(National Sleep Foundation)의 통계에 따르면, 미국인의 60%가 때때로 수면장애를 겪으며, 이러한 원인으로는 스트레스, 비만률의 증가가 주된 요인으로 보고되었음. 미국 교통안전 위원회에서는 이러한 수면장애로 인해 연간 약 10,000 건의

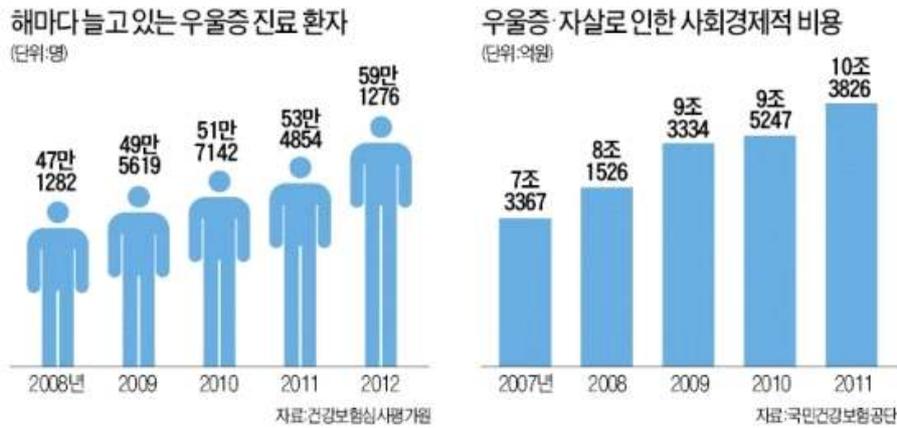
교통사고가 발생하고, 이로 인해 약 1,500명 이상이 사망하는 등 심각한 사회 문제로 인식하고 있음.

- 수면장애를 경험하는 상당수의 환자들은 현대 의학적 치료뿐만 아니라, 민간요법 및 건강보조(기능성)식품 복용 등 객관적으로 검증되지 않은 방법 및 수단을 이용, 수면장애를 해소하고자 시도하고 있음. 이들 중 건강기능식품은 인체에 유의성 있는 영향을 미치는 품목임에도 불구하고 그 효능 검증의 기준이 적절하게 마련되어 있지 않아, 객관적 기능성(효능)의 평가 자체가 어려워 식품 제조업자들의 일방적 주장에 근거하여 소비가 이루어지고 있는 실정임.
- 따라서 정신불안, 우울, 불면 등과 관련된 증상을 개선시켜 정상적인 사회생활을 영위할 수 있도록 과학적이고 체계적인 방법을 모색하는 것이 매우 시급하나 전문의약품은 제외하고 일반 국민이 부작용이 낮으면서 쉽게 접근할 수 있는 일반의약품 내지 건강기능식품 또는 식품은 아직 미흡한 실정임.
- 특히, 고령화 사회로 접어들면서 만병의 근원이라고 할 수 있는 스트레스에 대처할 수 있는 스트레스 완화제나 정신건강 개선 관련 시장이 급속히 증가할 것으로 판단되나, 아직 국내에서는 이 분야의 시장이 형성되어 있다고 보기 어려워 본 연구의 필요성이 있음.

3. 연구개발의 산업적 필요성

- 전세계적으로 약 4억 5,000만 명이 정신질환을 가지고 있으며(WHO, 세계질병부담보고서, 2004), 정신질환이 전체 YLD (장애로 잃은 건강 년수, Years Lived with Disability)의 1/3을 차지할 정도로 정신건강의 문제는 세계 사회의 주요 도전과제가 되고 있음.
- 대표적인 정신질환 중 하나인 우울증은 전 세계 1억 5,000만 명이 고통 받고 있으며, WHO에서는 우울증을 2020년 인류를 괴롭힐 3대 질병의 하나로 선정한 바 있으며, 우리나라의 경우도 우울증 환자의 수가 2001년 37만 명에서 2005년 55만 명으로 4년간 무려 50%나 증가하는 등 이미 심각한 사회 병리적 문제로 자리 잡고 있음을 알 수 있음(건강보험심사평가원, 2008).
- 정신질환의 유병률은 바로 사회적 의료 비용의 증가로 이어지는데, 우리나라의 우울증 및 자살로 인한 사회적 비용이 연간 약 10조원 규모로 추정되고 있음(표 2).

표 2. 우울증 및 자살로 인한 국내 사회적 비용 현황 (통계청, 2012)



- 그 동안 정신건강 분야 R&D는 신체 건강에 비해 상대적으로 등한시 되어 왔으나, 근래에 들어 식품이 뇌기능 및 정신건강에 영향을 미친다는 과학적인 연구 결과가 많이 보고됨에 따라 최근 식품 R&D 분야에서 정신건강 증진 기능성식품에 대한 연구개발이 활성화되고 있음.
- 사회가 복잡해지고 누구나 다양한 스트레스의 영향 아래 생활하게 되기 때문에, 이러한 스트레스가 불면이나 우울증 등 여러 가지 질병을 야기하는 것으로 보고되어 있어서 스트레스, 우울, 수면 부족의 만연으로 인한 정신건강 기능성 식품 분야가 향후 건강기능식품 카테고리에서 유망 분야로 자리매김할 것으로 예측됨(Datamonitor 2009).
- 전 세계적인 건강기능식품의 제품 출시율에 따라 건강기능식품 트렌드를 살펴보았을 때, 건강기능식품 트렌드는 3가지 주요 sector로 나누어지며, Mood/Mental Health management (정신건강 개선에 관한 기능성 식품)가 한 축으로 성장하고 있음을 알 수 있음(그림 2, Datamonitor 2009).



그림 2. 세계 건강기능식품 출시의 3대 트렌드

(출처; Datamonitor Analysis, dietary supplement market trend & opportunities, April 29, 2009)

- 그러나, 현재 제품화가 되어 있기는 하지만 정확한 biomarker 또는 mechanism을 연구한 과학적·체계적인 제품보다는 소비자 및 대상자 설문 연구를 통한 자각 효능 평가를 통해 주로 제품을 출시하고 있어, 경쟁력 있는 대형 제품을 개발하기 위해서는 기능성 메커니즘이 명확히 규명된 과학적인 제품을 개발해야 함.
- 국내 대부분의 업체는 정신건강과 관련된 biomarker의 정립과 평가기술이 미비하여 관련 기술의 확립이 요구되고 있음.
- 국내 건강기능식품 시장이 성장기를 거쳐 성숙기로 전환되는 시점에 도달했다고 전문가들이 예측하고 있고, 고령화가 진행되면서 정신건강으로의 잠재 수요층이 두터워지고 있기 때문에 국내에서도 정신건강 증진식품 시장이 크게 성장할 것으로 전망되고 있으며, 약물의 부작용 사례들로 인해 부작용이 없는 식품 섭취를 통해 정신건강을 증진시키고자 하는 소비자 니즈가 확대되고 있음.

제 2 절 연구개발의 목표 및 범위

1. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

총 목표	국내 천연물 유래 수면 및 숙면 유도 / 항우울에 관한 기능성 원료 개발 및 제품 생산			
주관사	경희대학교	CJ 제일제당 식품연구소		
학자보원	수면 및 숙면 유도/ 항우울에 관한 behavior test set-up		공급처확보/후보소재 5종/표준화 진행	
1 차년도	동물모델	동물모델	제형테스트	개별인정진행
	<ul style="list-style-type: none"> Mild stress 로 인한 항우울 기능성 검증 작용기작 규명 	<ul style="list-style-type: none"> 숙면 및 수면 유도에 관한 기능성 검증 작용기작 규명 	<ul style="list-style-type: none"> 소재표준화 지표 물질 제형 안정화 가공적성 테스트 	<ul style="list-style-type: none"> 대량생산을 위한 지표물질 최적공정 셋업 경제성 확보
	인체적용	인체적용	제형테스트	개별인정진행
2 차년도	<ul style="list-style-type: none"> 피험자 모집 및 최종 대상자 선정 인체적용시험시행 (수면/항우울) 	<ul style="list-style-type: none"> 최적 일일 섭취량 설정 (수면 및 항우울) 테스트시험물확보 	<ul style="list-style-type: none"> 건강기능식품 제형 테스트 유통기한 설정 	<ul style="list-style-type: none"> 독성 평가 추출물 대량생산 방법 연구
	인체적용	인체적용	완제품 생산	개별인정진행
3 차년도	<ul style="list-style-type: none"> 항우울에 관한 인체적용시험 종료 및 생화학적 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 숙면 및 수면 유도에 관한 인체적용시험 종료 및 생화학적 분석 	<ul style="list-style-type: none"> 일반식품제형 테스트 (차류, 음료류 등) 및 생산 소비자 조사 	<ul style="list-style-type: none"> 개별인정 진행 사업 전략 계획서 작성

1) 최종목표

- 국내 자생 소재 6종을 활용한 수면 및 숙면 유도, 항우울 소재 각 1종 이상 개발하여 개별 인정신청
- 수면 및 우울증 개선 소재에 대한 과학적 근거 제시를 통한 국내 정신건강 시장의 확대
- Global 소재 사업으로의 진출 및 제형 다형화 테스트를 통한 일반식품 유형의 제품 개발
- 완제품의 소비자 수용도 조사를 실시하여, 매출로 이어지는 제품의 마케팅 포인트 획득

2) 주요 내용

- 제 1 세부과제: 동물실험 및 인체적용시험을 통한 정신건강 개선 건강기능 소재의 유효성 평가 및 작용기작 검정
- 제 2 세부과제: 건강기능식품 제형 및 일반식품 제형의 가공적정기술 개발 및 **제품 생산 / 생산 제품의 매출 증대 방안 모색**

2. 연구범위 및 연구수행 방법

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
○ 동물모델을 활용한 behavior test로 우울증 개선에 관한 효능 시험 진행	○ Electric shock 및 restraint 등의 mild stress 유도 모델 확립 ○ 강제수영시험, 상승된 십자미로 시험, 일반운동활성시험을 통하여 우울증 개선능 확인	○ 실험동물에게 단회 및 장기 스트레스 유도 후 불안 또는 우울감을 나타내는지 확인 ○ 섬오가피 및 산사를 정상동물 또는 단·장기 스트레스 유도 동물에게 투여하여 항불안·항우울 효능을 갖는지 확인
○ 항우울 메카니즘 규명	○ 생화학적, 면역학적 연구 방법을 통하여 천연물의 작용기전 확인 ○ 면역조직염색을 통하여 천연물이 신경재생성에 미친 영향을 확인	○ 섬오가피 및 산사를 정상동물 또는 단·장기 스트레스 유도 동물에게 투여한 뒤, 뇌에서 항불안·항우울 관련 마커 확인
○ 동물모델을 활용한 behavior test로 수면 및 숙면 유도에 관한 효능시험 진행	○ Electric shock 등의 수면장애 모델 확립 ○ 표준화된 기능성 소재에 대한 숙면 및 수면 유도에 관한 효능시험	○ 실험동물에게 단회 및 장기 스트레스 유도 후 수면장애를 나타내는지 확인 ○ 섬오가피 및 산사를 정상동물 또는 단·장기 스트레스 유도 동물에게 투여하여 수면장애 개선효과가 있는지 확인
○ 표준화기술 기반 pilot scale 생산 여부	○ 선정된 섬오가피추출물의 표준화 연구를 위한 지표물질 탐색 및 분석법 확립 ○ 원물 규격 설정을 위한 연구	○ 섬오가피에 함유되어 있는 major compound를 문헌고찰을 통해 탐색하고, 품질관리성분(1%이상 함유한 성분)으로 활용가능 지표물질 선정 ○ 표준화된 소재를 생산하기 위한 원물자체의 규격화(부위별,

	<ul style="list-style-type: none"> ○Lab-scale에서의 추출물제조 최적화 조건설정 연구수행 	<p>년생 등) 연구</p> <ul style="list-style-type: none"> ○추출물 제조를 위한 조건(추출시간, 온도, 용매조성별)의 최적화를 위한 추출물제조 및 지표성분 분석
<ul style="list-style-type: none"> ○최적의 지표성분이 함유된 대량생산 공정 구축 	<ul style="list-style-type: none"> ○Lab-scale에서 구축된 제조조건을 대량생산 공정 적용 및 지표성분 함량 범위 설정 ○구축된 대량생산 조건에 따라 반복생산을 통한 생산재현성 확인 	<ul style="list-style-type: none"> ○최적의 GMP제조시설을 탐색 및 제조단계별 공정 및 재현성 확인을 위한 시험생산 진행 ○GMP제조시설의 이원화 가능성을 확인하고자 2곳에서 시생산 진행 ○대량생산제조공정으로 반복생산을 통한 재현성을 확인하고, 표준화된 원료생산 기술 구축
<ul style="list-style-type: none"> ○지표 물질 안정화에 대한 가공적정 테스트 진행 	<ul style="list-style-type: none"> ○생산된 섬오가피추출물 제형 특성 확인 ○ 적용가능 제형 탐색 	<ul style="list-style-type: none"> ○섬오가피추출물의 품질관리지표 설정 및 적합여부 확인 ○분말화, 용해도 측정등을 통한 가공적정 연구 수행
<ul style="list-style-type: none"> ○항우울 표준화 소재의 안전성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> ○단회투여독성 평가 ○유전독성3종(복귀돌연변이, 염색체이상, 소핵시험)평가 	<ul style="list-style-type: none"> ○GLP기관에서 건강기능식품 안전성평가를 위한 기준가이드에 따라 평가를 진행함 ○단회투여독성은 섬오가피추출물 5,000 mg/kg 기준으로 평가 ○유전자돌연변이 유발성을 히스티딘 요구성인 살모넬라균과 트리토판 요구성인 대장균을 이용하여 검토 ○ 염색체 이상 유발성을 포유류 배양세포주를 사용하여 검토 ○마우스 골수세포에 대한 소핵유발유무를 평가하기 위하여 마우스를 이용한 검토

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내외 연구현황

1. 국내외 관련분야 연구 환경변화

- 세계보건기구(WHO)가 각 질병으로 야기되는 장애에 대한 연구한 결과에 의하면, 전 세계적으로 정신건강(Mental Health)으로 야기되는 부담이 세 번째로 큰 것으로 확인되면서 이에 대한 문제는 가장 중요한 화두 중 하나가 되었음(표 3). 또한 2030년에는 정신질환 중 우울증이 질병부담이 가장 큰 질환으로써, 1위를 차지할 것으로 전망하였음(표 4)(WHO, 2008).
- 국내에서는, 정신건강 문제로 인한 사회경제적 비용은 연간 1조 1740억 원으로 추정된 바가 있으며(보건사회연구원, 2003), 전체 정신건강문제로 인한 사회경제적 비용이 2001년에는 연간 1조 4913억 원에서 2005년에는 2조 1156억 원으로 거의 2배 가까이 증가한 것으로 추산됨(보건사회연구원, 2009).
- 정신건강 문제로 인해 직접 소요되는 치료비 등의 직접비 뿐 아니라, 간접비용까지 계산했을 때, 2005년 우울증으로 인한 사회경제적 비용은 4조 이상으로 추산되어 주요 우울증의 질병부담은 암보다 큰 것으로 추산되기도 하였음.

표 3. Leading causes of burden of disease(DALYs)(WHO,2008)

	Disease or injury	DALYs (millions)	Per cent of total DALYs
1	Lower respiratory infections	94.5	6.2
2	Diarrhoeal diseases	72.8	4.8
3	Unipolar depressive disorders	65.5	4.3
4	Ischaemic heart disease	62.6	4.1
5	HIV/AIDS	58.5	3.8
6	Cerebrovascular disease	46.6	3.1
7	Prematurity and low birth weight	44.3	2.9
8	Birth asphyxia and birth trauma	41.7	2.7
9	Road traffic accidents	41.2	2.7
10	Neonatal infections and other ^a	40.4	2.7
11	Tuberculosis	34.2	2.2
12	Malaria	34.0	2.2
13	COPD	30.2	2.0
14	Refractive errors	27.7	1.8
15	Hearing loss, adult onset	27.4	1.8
16	Congenital anomalies	25.3	1.7
17	Alcohol use disorders	23.7	1.6
18	Violence	21.7	1.4
19	Diabetes mellitus	19.7	1.3
20	Self-inflicted injuries	19.6	1.3

표 4. Changes in the leading causes of DALYs globally from 2004 to 2030(WHO, 2008)

2004 Disease or injury	As % of total DALYs	Rank	Rank	As % of total DALYs	2030 Disease or injury
Lower respiratory infections	6.2	1	1	6.2	Unipolar depressive disorders
Diarrhoeal diseases	4.8	2	2	5.5	Ischaemic heart disease
Unipolar depressive disorders	4.3	3	3	4.9	Road traffic accidents
Ischaemic heart disease	4.1	4	4	4.3	Cerebrovascular disease
HIV/AIDS	3.8	5	5	3.8	COPD
Cerebrovascular disease	3.1	6	6	3.2	Lower respiratory infections
Prematurity and low birth weight	2.9	7	7	2.9	Hearing loss, adult onset
Birth asphyxia and birth trauma	2.7	8	8	2.7	Refractive errors
Road traffic accidents	2.7	9	9	2.5	HIV/AIDS
Neonatal infections and other ^a	2.7	10	10	2.3	Diabetes mellitus
COPD	2.0	13	11	1.9	Neonatal infections and other ^a
Refractive errors	1.8	14	12	1.9	Prematurity and low birth weight
Hearing loss, adult onset	1.8	15	15	1.9	Birth asphyxia and birth trauma
Diabetes mellitus	1.3	19	18	1.6	Diarrhoeal diseases

- 또한, 최근 한국 정신건강 실태에 대해 OECD의 조사결과에 따르면, 한국의 자살률은 인구 10만 명 당 31명으로 OECD 회원국 중 1위를 기록하고 있음(그림 3, 4), 대다수 OECD 회원국들이 1995년 이후 자살률이 감소추세를 보이는 데 비해 우리나라는 1999년에 비하면 107.5% 증가한 수치라고 밝히고 있음.
- 10대, 20대, 30대에서는 자살이 주요 사망원인 중 1위, 40, 50대에서는 2위를 차지하여 자살이 주요 사회문제로 대두되고 있음(통계청, 2011). 모든 자살을 정신질환으로 설명할 수는 없으나 자살 문제가 정신건강과 밀접한 관련이 있다는 점은 분명하다고 할 수 있음.



그림 3. 한국의 자살률의 변화(통계청, 2011)

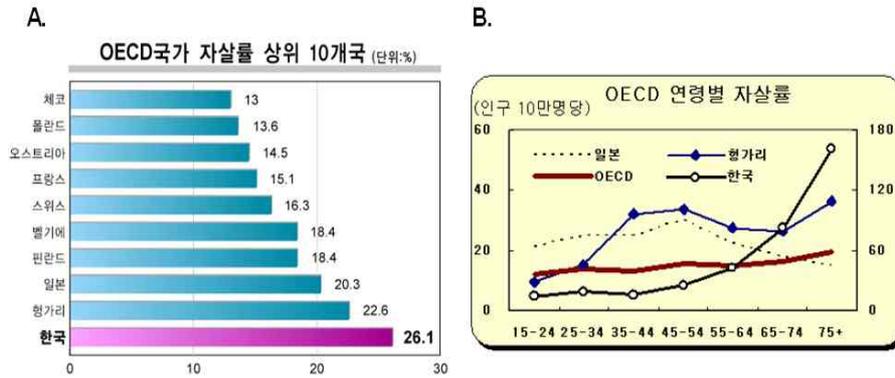


그림 4. OECD국가 자살률 추세, (A) OECD국가 자살률 상위10개국, (B) OECD 연령별 자살률(WHO, 2008)

- 우리나라의 경우 전체인구의 27.6%는 평생 중 한번 이상, 16.0%는 최근 1년 내에 하나 이상의 정신건강의 문제를 경험하는 것으로 확인되었음. 최근 1년 기분장애 경험자는 일반인구의 3.6%, 불안장애 경험자는 6.8%이었음. 기분장애, 불안장애는 2006년에 비해 증가하였음(보건복지부, 2011). 특히 기분장애 중 가장 많은 주요우울장애는 남녀 모두에서 증가하였음.
- 일반적으로 서구 선진국에서는 우울증의 유병률이 개발도상국에 비해 높는데, 이는 급속한 산업화, 도시화가 진행될수록, 서구권의 정신질환 양상과 유사한 모습으로 되어 갈 것으로 생각되어짐.
- 사회변화 정도 및 속도가 증가함에 따라 기분장애 및 불안장애는 더 증가할 가능성이 매우 높으며, ‘멘붕’(멘탈붕괴; 정신이 무너질 정도로 충격을 받는 상태)과 같은 신조어가 생기고 ‘힐링(healing)’의 필요성이 강조되는 등 다양한 사회현상들에서 이를 확인 할 수 있음
- 또한, 정신질환이라고 하면 흔히 우울증이나 정신분열증과 같은 질병만이 그 대상이라 생각하기 쉬운데 행동장애, 수면장애, 기억장애, 인지장애 등도 정신건강문제의 범주에 포함됨. 또한, 경쟁하고 승자만이 인정받는 ‘오디션문화’가 과열되고, 점차 복잡해지는 현대를 살아가는 우리는 일상생활에서 쉽게 스트레스에 노출되고 이로 인한 문제로 많은 정신건강 문제에 직면하게 됨.
- 국민건강보험공단의 자료에 따르면 2012년 정신장애 치료를 받은 265만명 중 60% 이상이 스트레스성 정신질환으로 밝혀져 (통계청, 2012) 스트레스가 정신건강문제의 가장 큰 요인임을 알 수 있음. 정신건강은 직·간접적으로 신체건강에 영향을 미치는데, 스트레스는 면역력 약화, 소화력 감소, 대사 장애, 심혈관 장애 등을 유발하는 만병의 근원으로 잘 알려져 있으며, 전통적 한의학에서는 스트레스로 인한 질병을 이른바 ‘화병’으로 불리고, 우울감, 무기력감, 불안감, 조급함 등의 다양한 신경증상과 함께 소화기 장애, 불면증, 각종 통증 등이 동반되는 질환으로 여겨져 왔음.

- 스트레스로 인한 건강보험 진료환자를 살펴보면 여성이 남자보다 많고(표 5), 특히 50대 여성의 스트레스가 가장 심한 것으로 확인되었음(그림 5)(국민건강보험공단, 2011). 이러한 통계 결과들을 분석해 보면, 스트레스로 인한 환자의 숫자는 향후도 계속 증가될 것으로 생각되며, 이로 인한 막대한 경제적, 사회적 손실이 일어날 것으로 예상됨

표 5. 스트레스로 진료 받은 연도별 건강보험 진료환자 수(단위:명)

성별	2007년	2008년	2009년	2010년	2011년
전체	98,083	101,024	109,027	114,817	115,942
남성	36,626	38,041	41,434	44,194	45,568
여성	61,457	62,983	67,593	70,623	70,374

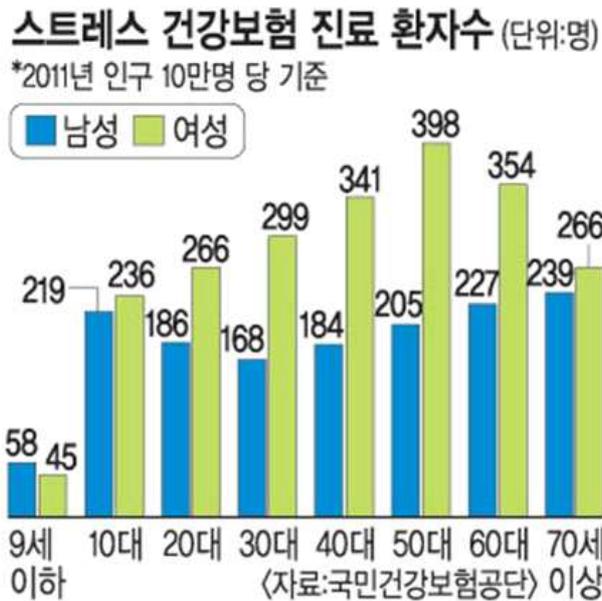


그림 5. 인구 10만명당 스트레스로 인한 건강보험 진료환자 수 (2011년)

- 이와 같은 이러한 사회적 문제를 해소하고 우리 국민의 정신건강 증진을 위해 국가 차원의 관심과 해결책 마련이라는 측면에서 2013년부터 정부가 전 국민을 대상으로 ‘생애주기별 정신건강검진’ 의무화를 추진하고 있음(표 6).
- 정신건강도 신체건강과 함께 온전한 건강을 구성하는 매우 중요한 요소라는 인식의 전환이 일어나고 있으며, 국민소득이 증가하면서 스트레스를 적극 해결하려는 방향으로 변화하고 있어 스트레스 관리에 대한 높은 수요가 예상됨.
- 최근 정신과 전문의 수요가 증가하고 있는데 이는 과거보다 정신건강 관리에 대해 갖고 있던 거부감이 줄어들고 있다는 증거이기도 함. 또한, 정신건강 분야 R&D는 신체건강에 비해 상대적으로 등한시 되어 왔으나, 근래에 들어 식품이 뇌기능 및 정신건강에 영향을 미친다는 과학적인 결과가 많이 보고됨에 따라 최근 식품 R&D 분야에서도 정신건강 증진 기능성 식품에 대한 연구개발이 활발히 진행되고 있음

표 6. 생애주기별 정신건강검진 실시 계획(보건복지부, 2013)

	연령대별 횟수	주요 정신건강 문제
소아, 청소년	취학 전 2회, 초등학교 시기 2회, 중고등학교 시기 각1회	주의력결핍, 과잉행동장애, 우울증, 인터넷 중독 등
청장년	20대 3회, 30·40·50대 각2회	스트레스, 우울증, 자살생각, 불안장애, 알코올 사용장애 등
노년	60대 이후 각 연령대별 2회	스트레스, 우울증, 자살생각등

- 만병의 근원이라고 할 수 있는 스트레스와 이로 인해 발생하는 우울, 불안, 불면 및 기억력 감퇴 등의 정신건강문제는 평생관리 대상이기 때문에, 약물과 같은 부작용은 없으면서 정신건강에 도움을 줄 수 있는 정신건강 기능성식품의 소비자 니즈는 점차 확대되고 있으며, 향후 건강기능식품 카테고리에서 유망 분야로 자리매김할 것으로 예측됨

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구내용 및 방법

1. 우울/불안 및 불면 개선 소재탐색

- 스트레스, 우울/불안 및 불면 등 정신건강에 도움이 되는 국내 식용자원을 선정하기 위해 전통의약서 및 구전으로 전해오는 민간요법 등 다양한 경로를 통하여 후보소재를 검색하였으며, 이중 선행연구결과(in vitro, in vivo) 및 국내재배지역, 생산량, 대량구매원가 등 산업화를 위한 원물경쟁력 확보에 가능성이 있는 소재를 우선적으로 선정하여 평가함.

2. 원물 규격화

- 산업화를 위한 후보소재로 선정된 소재는 원물의 규격화를 위하여 재배기간, 부위별, 건조방법 및 보관방법 등의 실태조사 후 대량구매 시 동일한 품질의 원료를 확보하기 위한 기준규격을 설정함.
- 특히 수확 후 세척-절단-건조-포장 등 단계별 처리시설 및 보관상태 등을 확인하기 위해 해당후보업체 Audit를 진행하였으며, 원물의 수분함량, 잔류농약 및 미생물 검출 등을 평가하여 최종 원물구매처를 선정함.

3. 지표성분 및 최적추출조건 설정

- 유효성분의 함량을 극대화하기 위한 최적추출조건 확립을 위한 Lab 표준화 연구를 수행하였으며, 추출조건에서 가장 중요한 요소인 추출용매(0~100%), 추출온도(25~70℃), 추출시간(1~6시간) 등을 제조현장 적용성을 고려하여 설정함.
- 제품화시 간접현상에 영향을 받지 않으며, 주요성분 중 0.5% 이상 함유한 성분을 지표성분으로 선정하고 우울/불안 및 불면 추출소재의 기준규격 및 품질관리(유통기한)를 위한 최적분석조건을 설정하여 관리하고자 함.

4. 대량생산 제조공정 확립

- 대량생산공정 확립을 위해 우수건강기능식품제조기준(GMP; Good Manufacturing Practice) 적용업체를 탐색하고 제조단계별 시료채취 및 분석을 통한 공정단계별 성분변화 여부를 확인하고 lab-scale에서 제조된 추출물과의 재현성을 검증함.
- 생산설비에 따른 생산성 검증을 위해 생산기지를 이원화하여 테스트를 진행하고, 연속적으로 생산을 진행하여 Lot별 재현성을 확인하여 표준화된 원료생산 기술을 구축함.

5. 기능성평가(in vitro & in vivo)

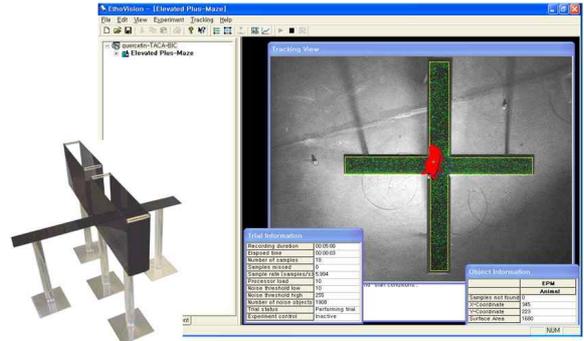
가. 우울/불안 기능성평가

- 일반 운동 활성(Open-field test)
실험동물에게 시험 물질 투여 30분 또는 1시간 후 시험 박스(40 x 40 x 30 cm 의 아크릴 박스) 중앙에 흰 생쥐를 놓고 20분간, EthoVision system (Noldus, The Netherlands)을 활용하여 total movement distance, total movement duration 및 rearing frequency, distance moved in center zone 등을 측정함으로써 약물로 인한 정신·운동 기능의 항진과 저하, 진정, 흥분, 불안, 우울, 회피 정도를 검색함.
- 억압 스트레스(restraint stress) 유도
실험동물을 보통 공기가 잘 통하는 플라스틱 튜브(지름 4 cm, 길이 5 cm)에 하루에 2시간 씩 가두어 억압(restraint) 스트레스를 유도하며, 억압(restraint)되는 동안에는 물과 사료를 공급하지 않음.
- 전기충격 스트레스(electronic footshock stress) 유도

실험동물을 전기가 흐르는 봉 위에 넣고, 10초 간격으로 전기충격(0.5 mA, 1초)을 12회 동안 가함.

○ 상승된 십자 미로시험(Elevated plus maze test)

검정색의 아크릴로 제작된 상승된 십자미로 (elevated plus-maze)를 이용하여 실험동물의 불안 정도를 측정하는 실험방법임. 마우스는 미로의 중앙에서 열린 공간 쪽으로 머리를 향하게 하여 살며시 내려놓은 다음 미로를 자유롭게 탐색하도록 함. 행동은 5분간 관찰하며, 마우스가 열려 있는 공간과 닫혀 있는 공간에 머문 시간, 각 공간의 출입 횟수 및 총 이동거리 등을 EthoVision 프로그램(Noldus Information Technology, Wageningen, Netherlands)으로 각각 측정하여 항불안 효과를 확인함.



○ 강제수영실험(Forced swimming test, FST)

강제수영실험(FST)은 실험동물의 운동 활성 및 우울 정도를 검사하는 동물모델임. 30 cm 길이의 투명한 아크릴로 된 관에 약 25 cm 정도의 물(약 24℃)을 채우고 6분간 동물의 행동을 EthoVision 프로그램을 이용하여 관찰함. 실험동물의 전혀 움직이지 않은 상태(immobility time), 오르는 상태(climbing time)가 증가하게 되면 삶에 대한 의지가 약한 것으로 판단하고, 감소할수록 삶의 의지가 매우 강한 것으로 판단함.

○ 면역염색법(immunohistochemistry method)

뇌 내의 특정 단백질의 발현 양 및 부위 등을 확인하기 위한 방법임. 기본적으로 항원 항체 반응을 이용한 염색법으로 뇌 조직 절편을 이용해 관찰하고자 하는 특정 단백질에 대한 항체와 이를 감지하는 발색제를 이용해 뇌의 조직학적 변화를 관찰할 수 있음.

○ Western blot analysis

뇌 내 특정 단백질의 발현의 변화를 정량적으로 확인하기 위한 방법으로 1차로 사용한 항체에 대한 항원 단백질이 그 추출물 내에 얼마나 존재하는 지를 알아볼 수 있음.

○ Real-Time Polymerase Chain reaction (PCR)

PCR은 유전자를 증폭하는 방법으로 이미 알고 있는 일부의 염기서열 중 특정 mRNA 부위를 반복 합성하여 원하는 mRNA 분자를 증폭시키는 방법임. 본 연구에서는 정신건강 개선제 투여 후 뇌 내의 특정 부위의 mRNA 발현양의 변화를 확인할 것임.

나. 불면 기능성평가

- 불면개선 소재개발을 위하여 후보소재를 에탄올로 추출하여 실험동물에게 투여 후 다양한 시험방법으로 불면개선 정도를 평가하여 기능성 탐색을 수행하고, 가장 우수한 소재를 선정하고 심화연구 및 제품개발에 적용하고자 함.

- General locomotor activity 측정

시험 박스에 10분간 적응시킨 후, 중앙에 흰쥐 또는 생쥐를 놓고 20분간 total movement distance, total turn angle 및 total movement duration을 EthoVision system(Noldus, Netherlands)을 활용하여 측정함으로써 정신·운동 기능의 항진과 저하, 진정, 흥분, 불안, 우울, 회피 정도를 검색함

- Rota-rod test

균형유지 능력, 운동 유지 능력, 근이완 작용 및 진정 효능 등의 검색에 활용함. RPM 조절이 가능한 쳃바퀴 실험 장치를 활용하여 생쥐 또는 흰쥐에게 시험 물질 투여하고 30분 또는 1시간 후에 기구에 동물을 올려놓은 후 떨어지기까지 걸리는 시간과 횡수를 측정함. 효능 평가를 위한 분석 항목은 rota-rod에 올려놓은 후 처음 떨어질 때까지 걸리는 시간과 20분간 떨어진 횡수임



- Horizontal Wire Test 측정

Horizontal wire test는 신경안정 효능을 가지는 천연물이 가질 수 있는 부작용인 근이완 작용을 측정하는 장치로서 흰쥐가 wire를 30초 동안 매달려 있는 것으로 판정함(이는 숙련된 실험자 및 숙련된 제3자가 동시에 측정하여 이를 평균하도록 함)

- Pentobarbital 유도 수면시험

실험동물에게 불면개선 소재 추출물을 경구투여하고, 1시간 후 pentobarbital (50 또는 60 mg/kg)을 복강투여한 후 정좌반사(righting reflex)를 기준으로 수면 유도시간(sleep onset time)과 수면 지속시간(sleep duration time)을 측정 함. 효능 평가를 위한 분석 항목으로는 눈을 감고 있는 시간, 정좌반사(Righting reflex)를 기준으로 수면 유도시간 및 정좌반사(Righting reflex)를 기준으로 수면 지속 시간 등임

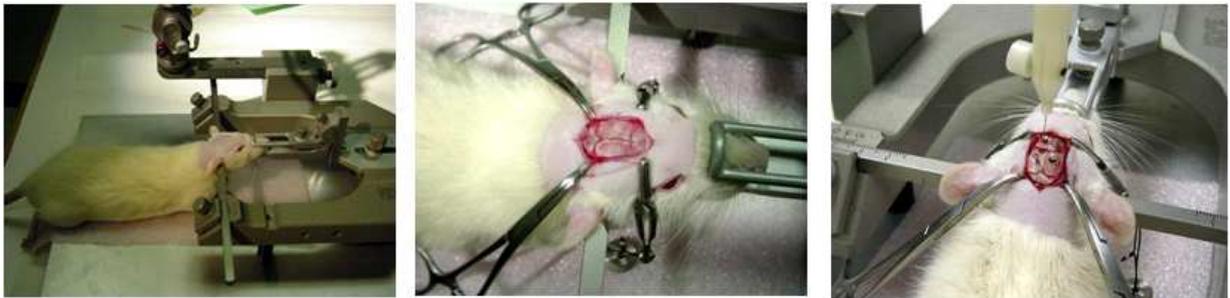
* 정좌반사(righting reflex): 실험동물을 뒤집었을 때 자세를 바르게 하는 행동

- 불면개선 in vivo mechanism (뇌파측정)

최종 선정된 불면개선 소재를 실험동물에게 투여 후 뇌파(electroencephalography,

EEG)를 측정하여 그 기전을 확인 함

실험동물을 안정화 시킨 후 동물의 두정부의 뇌경막층과 접할 수 있도록 wireless transmitter (TA11CTA-F40; Data Sciences International, St. Paul, MN, USA)를 설치한 뒤, EEG 신호를 $-0.5/+0.5$ volts per/units, 0.5 - 20.0 Hz 범위 내에서 Data Sciences analog converter와 AD converter (Eagle PC30, Data Sciences International, St. Paul, MN, USA)를 통해 컴퓨터로 수집하여 REM 및 NREM 수면 비와 파장 조성비를 계산함



* 뇌파의 종류

- 델타(δ)파: 주파수 : 0.2 - 3.99 Hz, "수면파"라고도 함. 수면 시 발생
- 세타(θ)파: 주파수 : 4 - 7.99 Hz, "졸음파" 또는 "서파수면파(徐波睡眠波)"라고 불림. 잠에 빠져들 때 통과하는 뇌파
- 알파(α)파: 주파수 : 8 - 12.99 Hz, 심신이 안정을 취하고 있을 때의 뇌파. 안정파, 특징: 사람 뇌파의 대표적인 성분으로, 뇌의 발달과 밀접한 관계가 있음
- 베타(β)파: 주파수 : 13 - 30 Hz, "스트레스파"라고도 함. 불안, 긴장 등의 활동파
- 감마(γ)파: 주파수 : 30Hz 이상, 극도의 각성과 흥분시, 전두엽과 두정(중심)엽에서 비교적 많이 발생함 - 2 ~ 20 μ V

6. 안전성평가

- GLP(Good Laboratory Practices)기관에서 건강기능식품 안전성평가를 위한 시험기준(식품의약품안전청 고시 제2009-116호)에 따라 우울/불안 및 평가를 진행함.

가. 단회경구투여

- 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험: 우울/불안 및 불면 소재로 선정된 추출물을 Sprague-Dawley계 암수 6주령 랫드에 단회 경구투여시 나타나는 독성을 평가하고, 개략의 치사량을 구하기 위하여 실시. 군구성은 시험물질 5,000 mg/kg의 용량 및 대조군(주사용수)의 2군으로 하고, 암수 각각 5 마리씩 단회 경구투여 하였음. 투여 후 14일 동안, 일반증상의 관찰 및 체중측정을 실시하였고, 관찰기간 종료 시에는 안락사시켜 부검함.

나. 유전독성

- 세균을 이용한 복귀돌연변이시험
유전자돌연변이 유발성을 히스티딘 요구성 살모넬라균(TA98, TA100, TA1535 및 TA1537) 및 트리토판 요구성 대장균(WP2uvrA(pKM101))을 이용하여 대사활성화 비존재 하 및 존재 하 각각의 경우에 대해 검토함.
- 포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험
염색체 이상 유발성을 포유류 배양 세포주(Chinese Hamster Lung(CHL/IU) cell line)을 사용하여 검토함. 본시험의 최고용량은 50% 세포증식억제용량으로 하고, 이하 공비 2로 3용량의 시험물질군을 설정함.
- 마우스를 이용한 소핵시험
마우스 골수세포에 대한 소핵유발 유무를 평가하기 위하여 ICR 마우스를 이용하여 단회경구투여하여 검토함. 음성대조군에는 주사용수를 양성대조군에는 Mitomycin C를 설정함. 검체제작설정시험에서는 용량설정시험에서 설정된 최고용량(5,000mg/kg)을 투여한 후 투여후 24, 48, 72시간에 골수를 채취하여 소핵출혈빈도를 관찰한 결과, 모든 관찰 시간대에서 증가되지 않았기 때문에 일반적으로 사용되는 투여 후 24시간을 본시험의 골수채취시간으로 설정함.

7. 인체적용시험

- 인체적용시험 기관선정: 건강기능식품으로 스트레스로 인한 불안/우울증상 및 불면 개선 기능성에 대한 인체적용시험 진행은 기존에는 없었던 신규 카테고리 이에 대한 연구수행경험을 가지고 있는 연구기관이 매우 부족한 상황임. 따라서 서울시 정신보건센터에서 전문가를 1차적으로 추천받고 CJ제일제당 헬스케어 임상센터의 자문을 거쳐 최종 3곳의 연구기관을 선정하고, 그 중 건강기능식품 개발을 위한 인체적용시험 경험 및 이해도가 가장 높은 경희대학교병원을 연구기관으로 선정함.
- 인체적용 시험설계 및 시험물질 섭취용량 설정: 불안/우울 및 불면 전임상시험 결과를 바탕으로 피시험자 선정을 고려하여 각각의 기능성을 검증하고자 설계함. 또한 기능성이 나타난 농도를 인체로 환산한 뒤 원가를 고려하여 섭취용량을 설정함.
- 시험물질생산: 추출농축분말의 입자크기 및 흐름성 테스트를 진행하였으며, 정제제품을 생산하기 위하여 다양한 부형제를 혼합하여 타정공정을 진행함.

○ 인체적용시험계획서, 증례기록서, 인체적용시험자 자료집 작성

- 인체적용시험계획서(Clinical Study Protocol)

: 인체적용시험의 목적, 배경, 시험설계, 시험물질 및 섭취방법, 대상자, 피험자수, 선정기준 및 제외기준, 시험기간, 관찰항목, 인체적용시험 검사항목, 방문별 관찰 검사 방법, 예측 이상반응 및 사용상의 주의사항, 중지/탈락 기준, 기능성 평가기준, 평가방법 및 해석(통계분석방법), 모니터링 등의 시험 진행에 관련된 모든 내용을 작성함

- 증례기록서(Case Record Form)

: 증례기록지의 지침에 따라 방문 1차, 방문 2차, 전화문진, 방문 3차, 추가 방문/추적 조사, 이상반응보고, 시험종료보고 양식을 작성함.

- 인체적용시험자 자료집(Investigator's Brochure)

: 제조방법, 원료 및 지표성분, 안전성, 기능성내용, 시험식품섭취량 및 섭취방법에 대한 정보 제공을 위해 작성함.

○ 인체적용시험심사위원회(Institutional Review Board) 심의/승인

IRB 심사절차에 따라 해당 서류를 제출하고 시정승인 후 보완내용을 추가하여 승인 완료 후 인체적용시험을 진행함. 시험기간 중 정기적인 모니터링을 진행하여 이상반응 보고 및 오기 발생을 최소화 하였으며 시험 종료 후 데이터를 분석하여 결과보고서를 확보함.

인체 적용 시험(안)		
공 통 사 항	대상자	- 정신건강 개선이 필요한 반 건강인 - 중재에 자발적으로 동의하고 2~3개월 동안 인체 적용 시험에 참여 가능한 자 - DSM-IV에 따라 선별
	섭취기간	4주~6주
	Baseline check	신체계측, 채혈, 채뇨, 기능성식품 섭취 여부와 병력, 가족력 등 건강상태 체크
	Study design	불안장애 및 불면개선 평가 (단일기관, 단일군, 공개 인체적용시험)
	통계처리	SPSS or SAS를 활용한 섭취전후 비교
	Audit	이상반응 보고 및 임상시험 기관 모니터링
	불면증상 개선평가 인체시험	불안증상 개선평가 인체시험
평가기준	- PSQI 개선율 - ISI 개선율 - ESS 개선율 - 수면일지	- BAI 개선율 - STAI 개선율 - PSWQ 개선율 - HAM-A 개선율

8. 제품개발(품질기준설정 및 유통안정성평가)

- 우울/불안 및 불면개선 추출소재의 품질관리지표 설정(성상, 이물, 수분함량, 고형분, pH, 일반세균, 대장균군) 및 적합여부를 확인함.
- 수분(건조감량법): 검체를 물의 비점보다 높은 온도 130℃에서 상압건조시켜 그 감소되는 양을 수분량으로 함. * 수분함량(%)=100-(건조 후 무게/최초무게*100)
- 고형분: 수분함량 측정방법에 따라 시험하고 100에서 결과 값을 뺀 값을 고형분으로 함.
- 일반세균: 채취한 액상검체는 그 외부를 물로 씻고 자연 건조시킨 다음 마개 및 그 하부 5~10cm의 부근까지 70 % 알코올탈지면으로 닦고, 화염멸균한 후 냉각하고 멸균한 기구로 개봉, 또는 개관하여 2차 오염을 방지함. 그 후 액상검체를 강하게 진탕하여 혼합하고 멸균생리식염수를 이용하여 필요에 따라 10배, 100배, 1,000배 등 단계별 희석용액을 만들어 사용함. 위의 시험용액 1 mL와 각 10배 단계 희석액 1 mL를 세균수 건조필름배지에 접종한 후 35~37℃에서 24~48시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 함.
- 대장균군: 대장균군 건조필름배지에 일반 세균의 시험조작과 같은 방법으로 수행함.
- 품질지표 및 한계설정: 제품 특성에 따라 관능평가, 미생물학적, 화학적 및 물리학적 실험을 위한 품질지표를 선정, 품질 지표의 측정 방법 및 하한치(허용한계치) 설정, 샘플링 간격은 유통기한 15일 이상의 경우, 저장기간 동안 적어도 6번 or 유통기한의 20% 해당 간격 설정함. Table 1에서 제품의 특성에 따라 자가 규격을 설정함
 - 수분(건조감량법): 검체를 물의 비점보다 높은 온도 130℃에서 상압건조한 뒤 감소되는 양을 수분량으로 함 * 수분함량(%)=100-(건조 후 무게/최초무게*100)
 - 일반세균: 채취한 액상검체는 그 외부를 물로 씻고 자연 건조시킨 다음 마개 및 그 하부 5~10cm의 부근까지 70% 알코올탈지면으로 닦고, 화염멸균한 후 냉각하고 멸균한 기구로 개봉, 또는 개관하여 2차 오염을 방지함. 그 후 액상검체를 강하게 진탕하여 혼합하고 멸균생리식염수를 이용하여 필요에 따라 10배, 100배, 1,000배 등 단계별 희석용액을 만들어 사용함. 위의 시험용액 1 mL와 각 10배 단계 희석액 1 mL를 세균수 건조필름배지에 접종한 후 35~37 ℃에서 24~48시간 배양한 후 생성된 붉은 집락수를 계산하고 그 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 일반세균수로 함

- 진균: 일반세균수 시험법에 준하여 시험하되, 배지는 Potato Dextrose Agar를 사용하여 25 °C에서 5~7일간 배양한 뒤 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 진균수를 산출함

표 7. 유통기한 설정시험을 위한 품질지표 요인

이화학 실험	비타민류, <u>수분(선정)</u> , 수분활성도, pH, 산가, 과산화물가, TBA가, 휘발성염기 질소(VBN), 산도, 당도, 알코올, 페오포르바이드, 히드록시메틸푸르푸랄(HMF), 히스타민, <u>영양성분(선정)</u> 등
물리적 실험	점도, 비중, 색, 탁도, 용해성, 강도, 경도, <u>덩어리짐(선정)</u> , 유화분리, 침전물 생성, 입체의 체적변화 등
미생물 실험	<u>일반세균수(선정)</u> , 대장균군수, 저온세균수, 내열성세균수, 세균발육, <u>진균수(진균)</u> 식중독균 등
관능검사	<u>시각</u> (색, 광택, <u>외관</u> , <u>성상</u> , 진균), 미각(맛, 풍미, 산미), 후각(향, 냄새) 등

- 가속실험 및 유통기한 설정: 제품은 냉동식품, 건조/중간수분 식품, 가열살균식품 3가지로 분류되며, 구분되는 식품 종류에 따라 가속실험 저장온도가 다름. 섬오가피추출물의 경우 건조/중간수분 식품이므로 0°C(대조군), 20-45°C 범위 내에서 5°C이상의 간격을 최소 3조건을 설정한다는 자사기준에 따라 25, 35, 45°C 3가지 조건으로 설정하고, 저장기간 동안 하한값에 가장 먼저 도달하는 시간을 저장기간으로 설정하여, 저장기간을 1.3으로 나눈 기한을 최종 유통기한을 설정하고자 함

- Step(I) 시간에 따른 품질특성 변화량을 Kinetic Plot으로 설정
- Step(II) 반응속도상수(K) 산출

품질 저하속도가 반응물의 농도에 관계없이 일정한(n=0) 반응을 나타내는 경우

$$-\frac{dA}{dt} = KA(n=0); \text{ (적분)} \rightarrow Ae = Ao - Kt$$

* 식품의 품질변화에 대한 기초 화학반응식은 시간과 속도상수로서 표현되는 다음 식으로 표현되며(Labuza, 1982), 저장시험에서 얻은 결과는 저장기간(t)에 따른 품질특성(A)의 변화량으로서 이 결과를 Kinetic Plot으로 변형시키면 품질손상의 반응속도상수(K)를 얻게 됨

- Step(III) 아레니우스 방정식을 사용하여 온도 품질지표의 활성화 에너지(Ea)를 산출

▶ 물질변화에 대한 온도의존성을 설명하는 화학반응식 중 현재까지는 아레니우스방정식을 가장 널리 사용함.(Labuza, 1982)

$$K = Ae^{-Ea/RT} \text{ (자연로그값(Ln값)으로 전환)} \rightarrow \ln K = -(Ea/R)(1/T) + \ln A$$

- 우울/불안 및 불면 개발소재의 제형테스트 및 제품개발
 - 농축액: 추출물 제조 후 최종단계를 농축액 타입으로 설정하고, 주정을 제거한 후 최적 Brix 설정을 통한 제품적용, 저장 및 운송의 용이성을 확보하고자 함
 - 추출분말: 추출분말의 입자크기, 균일한 흐름성 확보를 위한 테스트를 진행함
 - 정제: 정제생산을 위한 부형제 혼합 및 코팅작업 테스트를 통한 제형연구를 수행함
 - 시제품제작: 불안증상 개선소재를 활용한 음료타입 제품개발 및 소비자조사

제 2 절 연구결과

1. 우울/불안개선 소재 및 제품 개발

가. 후보소재탐색

- 우울/불안증상 개선 개발을 위해 CJ제일제당은 국내 자생소재 150여종을 검토하였으며, 이 중 40여종의 후보소재에 대한 기능성 탐색연구(in vivo 및 in vitro)를 수행한 결과, 최종 6종을 선정하였음. 또한 사업적 관점에서 개발 가능성이 높은 소재인 섬오가피를 검토하여 본 연구를 수행함.

* 섬오가피(*Eleutherococcus gracilistylus* / *Acanthopanax koreanum* Nakai(이명))

한국 특산종으로 제주에서 자람. 낙엽활엽관목으로서 초고는 1~2 m 에 이르고, 한 뿌리에서 여러 개의 가지를 내며 발육함. 뿌리는 5년생 이상, 줄기는 2년생 이상이 사용 가능하며 번식은 꺾꽂이로 80 ~ 90% 발근시킴. 꽃이 피는 시기는 5월이며, 열매가 익는 시기는 9월임. 가시는 갈고리 모양으로 억세며 큰 편임



식품의약품안전처
SEARCH ENGINE 2004

관련사이트 | 문의사항

• 식품 원재료명 검색

동 자료는 구축중인 자료로 완성된 자료가 아니므로 **식품가능여부** 판단을 위해서는 반드시 **식품의약품안전처**로 질의하여 주시기 부탁드립니다.

○ 상세내역

원재료명	섬오갈피나무
이명	-
학명	<i>Eleutherococcus gracilistylus</i> (W. W. Sm.) S. Y. Hu <i>Acanthopanax koreanum</i> Nakai(이명)
생약명	오가피(五加皮, <i>Acanthopanax</i> Root Bark)
원재료 분류	식물
식품가능 여부	가능 어린순 / 잎 / 열매 / 뿌리 / 줄기
	제한적
	불가능

※ 해당부위를 클릭하시면 부위별 상세정보를 확인 할 수 있습니다.

검색초기화면 | 프린트



이미지 출처 : 식품의약품안전청

1
클릭하시면 원래 크기로 보실 수 있습니다.

나. 원물의 규격화

- 섬오가피 원물의 기준규격설정은 대량생산 및 표준화를 위해서 반드시 수반되어야 하는 연구로 재배기간, 부위별, 건조정도 등에 대한 기준을 확립함.
- 섬오가피 재배농가 현장지도를 통해 수확 후 뿌리에 묻은 흙을 흔들어 털고, 세척기를 이용하여 씻을 다음 직각절단리를 이용하여 최대한 짧게(2cm 이하) 절단한 다음 건조(수분함량 10%이하)한 후 밀봉하여 직사광선이 없는 서늘한 곳에 보관하도록 함.

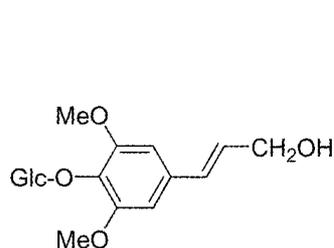
원료 기준 규격	원료	제주산, 줄기 2년생 이상, 뿌리 7년생
	원료구입형태	2cm 정도로 절단된 건조 섬오가피(줄기, 뿌리)
	원료분쇄	조분쇄(약간의 미분쇄 포함)
	원료시험 (이물,수분)	1) 이물: 적합여부 확인 2) 수분: 10% 이하
	원료투입조건	줄기+뿌리 혼합형태



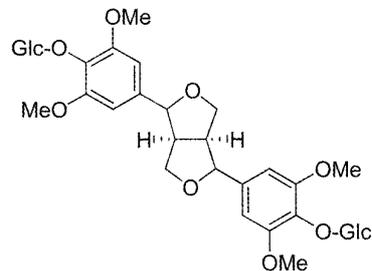
그림 6. 섬오가피 줄기 및 뿌리

다. 지표성분 및 최적추출조건 설정

- 섬오가피의 주요성분을 탐색한 결과, 줄기부위에 Eleutheroside B 와 Eleutheroside E가 뿌리부위에는 acanthoside D가 주요 성분임을 확인하였으며, 본 연구에서는 원료의 확보가능성과 가격경쟁력을 고려하여 줄기와 뿌리의 혼합하여 사용하기로 함. 또한, 지표성분은 추출물에 1%이상 함유 된 성분으로 설정하는 것이 산업적 제품의 품질관리를 위해서도 중요하기 때문에 섬오가피추출물의 지표성분은 Eleutheroside B와 Eleutheroside E의 합으로 설정하고자 하였음.



Eleutheroside B /M.W372.37
(syringin, C₁₇H₂₄O₉)



Eleutheroside E /M.W742.72
(liriodendrin, acanthoside D, C₃₄H₄₆O₁₈)

- 참고문헌을 바탕으로 Eleutheroside B와 Eleutheroside E의 분석을 진행하였으며, 추후 생산현장에서의 품질관리를 위한 적용할 수 있는 효율적인 분석조건 설정을 위하여 분석조건 최적화 연구를 수행하였음. 참고논문을 바탕으로 초기설정된 분석조건인 분석시간을 70분에서 40분으로 단축하고, 용매제조의 간편화하면서도 지표성분 peak의 분리도 및 대칭성은 개선되는 조건을 확보함. 또한 지표성분의 validation 진행을 위해서도 가장 간단한 분석조건을 확보하는 것이 매우 중요함.

표 8. HPLC condition for eleutheroside B and eleutheroside E of *Acanthopanax koreanum*

Parameters	Conditions (A) - 초기조건	Conditions (B) - 분석조건최적화
* Column	Sunfire C18(4.6x250, 5 μ m)	Zorbax Elipse XDB-C18(4.6x250, 5 μ m)
* Mobile phase (Gradient)	[A] 0.1% phosphoric acid in water [B] MeOH	[A] Water [B] Acetonitrile
	min [A]% [B]%	min [A]% [B]%
	0 75 25	0 90 10
	30 75 25	5 90 10
	50 50 50	30 60 40
	55 50 50	35 20 50
	60 75 25	40 90 10
	70 75 25	
Detector	220nm	220nm
Flow rate	0.8mL/min	0.6mL/min
Injection volume	10 μ L	10 μ L
Column temperature	Ambient	Ambient

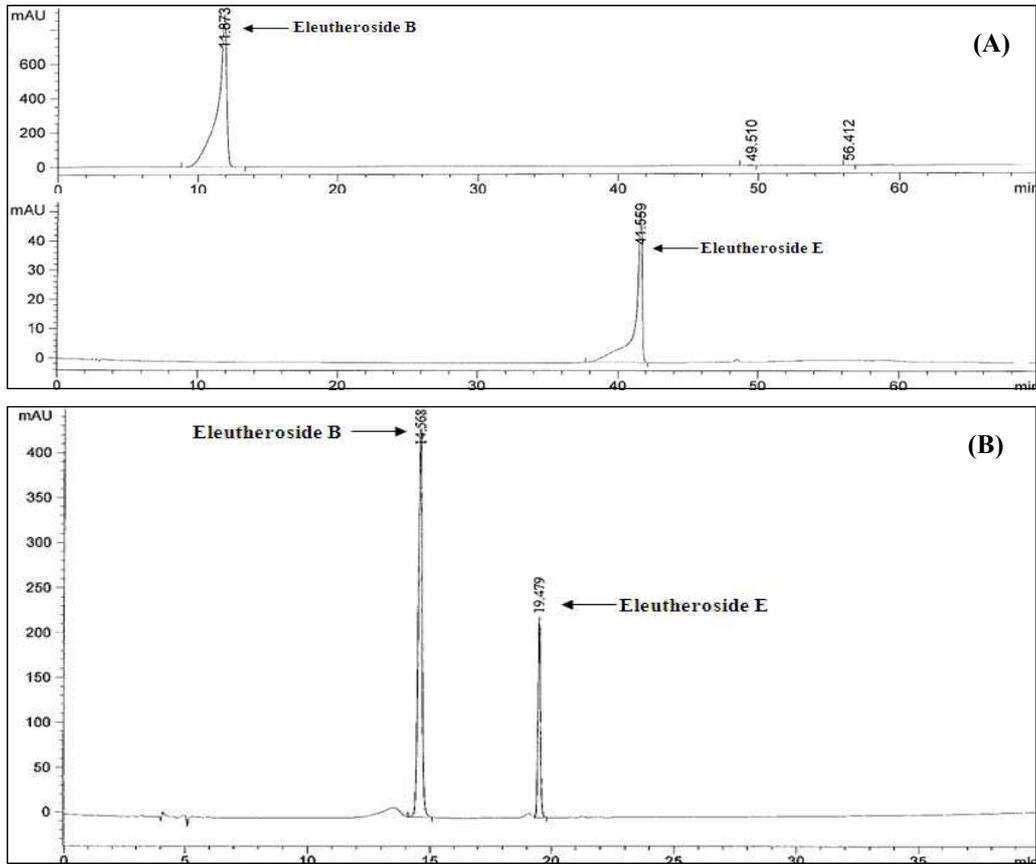


그림 7. HPLC chromatograms of eleutheroside B and E in condition (A) and (B)

○ 섬오가피 부위별 지표성분 함량을 확인한 결과 줄기의 eleutherosides의 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, 줄기와 뿌리를 적정 비율로 혼합하여 소재개발을 진행함.

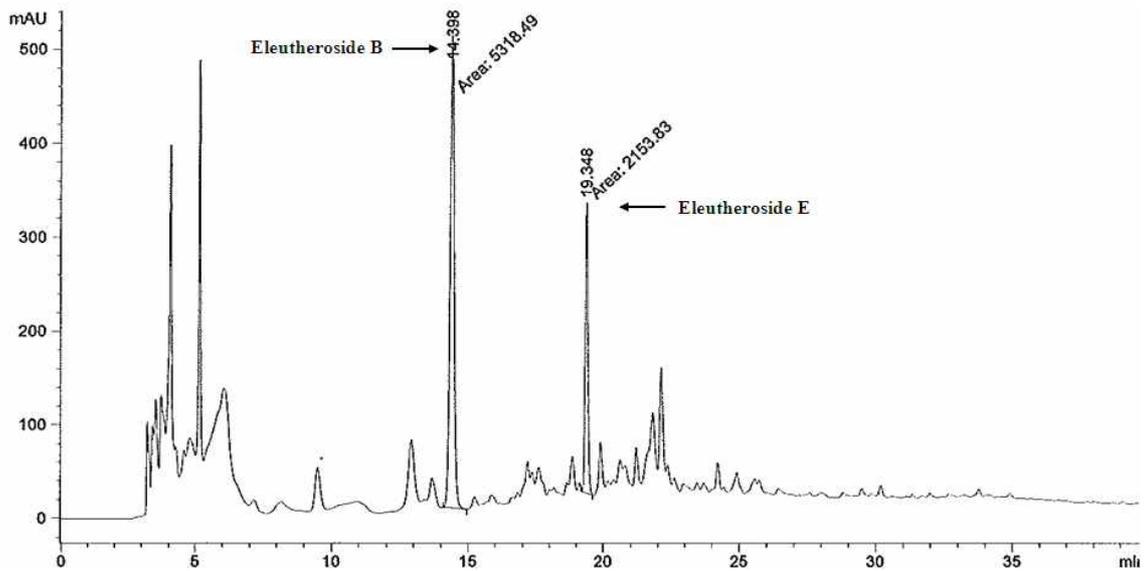


그림 8. HPLC chromatogram of the extracts from stem and root of *Acanthopanax koreanum*.

표 9. Contents of eleutheroside B and E in various parts of *Acanthopanax koreanum*

Parts	Eleutheroside B g extract (%)	Eleutheroside E g extract (%)	Eleutheroside B+E g extract (%)
Stem(2year)	1.28	0.94	2.22
Stem(7year)	1.28	0.75	2.03
Root(7year)	0.14	0.15	0.29
Stem+Root	0.78	0.53	1.31

- 최적의 추출조건 확립을 위하여 부위별(줄기, 뿌리), 용매별(물/주정 비율), 추출시간, 용매첨가량(용매/원물), 추출횟수 반복 등의 추출물 제조조건에 따른 Lab-scale에서의 추출물을 제조하였으며, 초기 지표로 설정하였던 acanthoic acid, eleutheroside B, eleutheroside E 및 수율을 기반으로 줄기와 뿌리를 혼합한 섬오가피 분말, 70%주정, 10~20배의 용매 사용비, 추출시간은 3~5시간, 추출횟수는 1회로 선행연구에서 최적화 연구를 진행함.
- 추출조건 이외의 추출물의 대량 여과 시 여과장치 및 여과지의 pore size (2, 5, 10, 25 μm)의 영향여부를 확인하기 위하여 Lab-scale에서 연구를 수행함. 여과지 pore size의 경우 생산효율성과 높은 상관성이 있으므로 pore size 에 따른 지표성분 변화 및 추출물의 청정도를 확인하고 최적의 생산 공정을 구축함. 측정결과 pore size 에 의한 영향은 거의 없는 것으로 판단하였으며, 여과속도 및 청정도를 고려하여 10 μm 의 여과지를 적용하기로 함.

표 10. Eleutheroside B and E contents of *Acanthopanax koreanum* extracts by various filter pore size

Filter pore size	Eleutheroside B g extract (%)	Eleutheroside E g extract (%)	Eleutheroside B+E g extract (%)
2 μm	0.54	0.46	1.01
5 μm	0.55	0.46	1.02
10 μm	0.54	0.46	1.01
25 μm	0.57	0.47	1.05

- 또한, 일반적으로 생산현장에서는 perlite와 housing 여과법을 사용하고 있으며 각각의 방법에 따라 성분의 흡착, 여과 정도가 다른 것으로 알려져 있으나, 이는 시료의 특성에 따라 차이가 다르므로 섬오가피추출물에 대한 적용실험을 통하여 영향여부를 확인함.

섬오가피추출물의 경우 perlite와 housing 여과방법에 따른 지표성분 차이는 거의 없는 것으로 확인되었으며, 생산물량과 제조업체의 현장상황에 맞추어 생산하고자 하였음.

표 11. Contents of eleutheroside B and E of *Acanthopanax koreanum* extracts by perlite and housing filter

Filtration	Eleutheroside B g extract (%)	Eleutheroside E g extract (%)	Eleutheroside B+E g extract (%)
Perlite	0.74	0.57	1.32
Housing	0.72	0.56	1.29

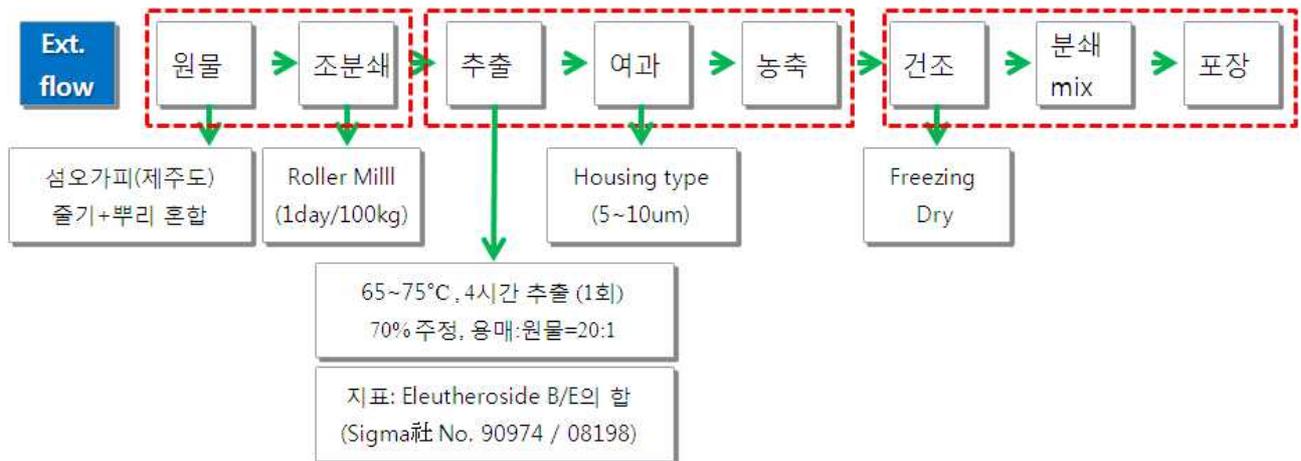
라. 대량생산공정구축

- 건강기능식품은 GMP제조시설에서 제품을 생산해야 하는 기준에 따라 섬오가피추출물을 제조 할 수 있는 최적의 시스템을 탐색하고 이원화 가능성을 확인하고자 2곳의 GMP업체에서 시생산을 진행함.

GMP업체	대 량 생 산 설 비
B사	추출-여과-농축 설비 이용가능 하나, 별도의 건조(SD, FD)업체를 필요 추출장비 1.8ton(두대): 용매순환식 추출기이므로 수율이 낮을 것으로 예상 타업체에 비해 규모는 작으나, 반복생산을 통한 주정사용 절감 가능
M사	추출-여과-농축-건조(FD)-분쇄 및 v-mixer 포장 가능(GMP12월 획득가능) 추출장비 5.0ton(최소량): 기계식으로 교반시켜 수율이 높을 것으로 예상 여과기 capacity가 대용량/filter disc를 이용하므로 loss 발생 가능 FD 최소 capacity가 2.4ton이므로 추가 비용 발생 가능



○ Lab-scale에서 확립한 최적추출조건을 바탕으로 대량생산을 진행하였으며, 제조단계별 시료채취 및 분석을 통한 공정단계별 성분변화 여부를 확인하고 lab-scale에서 제조된 추출물과의 재현성을 확인하였으며, Lot.별 오차범위는 $\pm 10\%$ 로 정함. 섬오가피추출물 대량생산을 위한 workflow는 다음과 같음.



○ 연속적인 대량생산을 진행하여 3Lot. 반복생산에 대한 재현성을 확인하였으며, 표준화된 원료생산 기술을 구축함. 섬오가피추출물의 생산수율은 약 7~9% 정도로 확인되었으며, 지표성분의 함량은 약 1.4%로 측정됨. 생산수율이 낮은 편이므로 추후 수율증가를 위한 연구가 추가적으로 진행되어야 할 것으로 판단되며, 반복생산을 진행할수록 회수된

주정을 사용함으로써 원가절감이 가능할 것으로 사료됨.

- 연속적인 대량생산을 진행하여 반복생산(3회 이상)에 대한 재현성을 확인 및 대량생산 scale-up test 진행을 통한 표준화된 원료생산 기술 구축과 섬오가피추출물(CJAK)의 품목제조신고 완료.

제조공정	공정내용	세부설명
원료	원료는 식품의 기준 및 규격에 적합한 것을 사용한다.	섬오가피 원료는 세척하여 건조 후 조분쇄한 것을 사용한다.
정수	지하수를 순수제조장치로 정수처리한 정제수를 사용한다.	먹는물기준에 적합한 지하수를 사용하여 정제한 RO수를 사용한다.
칭량	원료를 칭량저울을 이용하여 필요한 양만큼 칭량한다.	추출량을 제외한 실중량을 소수점 첫째자리 기준으로 외부 칭량실에서 추출량에 PE비닐을 씌우고 칭량한다.
회석	정제수를 사용하여 주정을 70%±3% 범위로 회석한다.	회석은 추출탱크의 해당volume를 눈금으로 확인 후 먼저 정제수를 110L 투입 후 주정으로 400L 눈금까지 맞추는 것으로 한다.(400L기준)
투입	칭량된 원료를 추출용매에 투입한다.	추출기에 넣은 원료를 투입 후 추출기 내부 추출망 우경을 덮어 추출용매에 충분히 잠기도록 한다.
추출	투입된 원료를 70°C에서 4시간 동안 순환 추출한다.	추출기 온도 도달 후 4시간동안 추출하고, 추출액 이송 후 슬러지를 정제수 또는 회수알콜을 사용하여 세척하며 스테인레스 재질의 내부 추출망 우경 2개를 사용하여 추출기 내부에서 약 50cm의 높이로 슬러지가 눌러 남은여액을 회수할 수 있도록 한다.
여과	추출액을 10 μ m필터를 사용하여 여과한다.	여과기에 여과망 및 10 μ m필터를 사용하여 여과한다.
농축	여과된 추출액을 진공감압농축기(가압 600~700 mmHg) 온도 60°C 이하에서 고형분 30% 이하로 농축한다.	최종원료의 동결건조에 따라 농축은 고형분 18%~30% 범위로 한다.
살균	농축된 원료를 농축기에서 85°C, 30분간 살균한다.	시생산의 경우 volume에 따라 소량은 농축기를 사용하고 대량일 경우 증숙기를 사용하여 살균한다.
포장	살균된 농축액을 식품전용용기에 밀봉포장한다.	살균된 농축액을 HDPE용기에 25KG단위로 포장한다.
검사	위의 밀봉포장된 원료를 일반식품 기준규격에 따라 적부를 자가검사한다.	포장된 농축액을 일부 개봉하여 샘플채취하고 미생물시험을 포함한 규격시험을 진행한다.
출하	자가품질검사 결과 적합한 경우 저온보관소에서 제조번호 및 유통기한을 표시한 후 보관출하한다.	검사결과 적합한 경우 표시사항을 부착하여 동결건조업체로 출하한다.



마. 기능성평가(in vitro & in vivo)

(1) 스트레스로 인한 우울 및 불안 모델 확립

- 본 연구에서 스트레스를 유도하여 실험동물의 행동 변화를 관찰하기 위하여 다양한 스트레스 방법을 이용하였음. 그 결과, 전기충격과 억압 스트레스를 동시에 줄 때 불안감과 우울감을 느끼는 것을 행동변화를 통해서 관찰하였음. 그 결과를 요약하면 다음과 같음.
- 실험동물에게 급성 스트레스를 가할 시 그림 A와 같이 상승된 십자미로에서 열린 공간에 머문 시간이 대조군에 비하여 감소하는 것을 확인하였음. 이는 급성 스트레스로 인하여 실험동물이 불안을 느끼는 것으로 사료됨. 한편, 강제수영실험에서는 급성 스트레스군과

대조군 사이에 유의적인 차이는 나타나지 않았음. 이는 급성 스트레스시에는 실험동물이 우울감을 느끼는 않는 것을 의미함. 이에 따라 급성 스트레스 유도는 이와 동일한 방법으로 진행하였음.

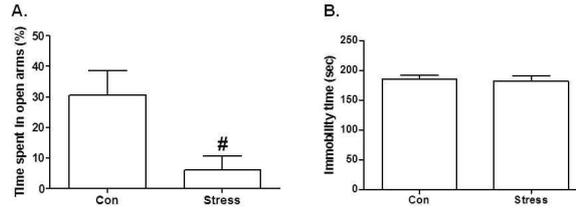


그림 9. The effects of acute stress (1 day) in the elevated plus maze test (A) and forced swimming test (B) in mice. [#]P < 0.05 versus control group.

- 실험동물에게 2주 간의 장기 스트레스를 주면, 대조군과 비교하여 불안(A)과 우울감(B)을 느끼는 것을 확인하였음. 이는 기존의 보고와 일치하는 것으로, 향후 장기 스트레스 유도는 이와 동일한 방법으로 진행하였음.

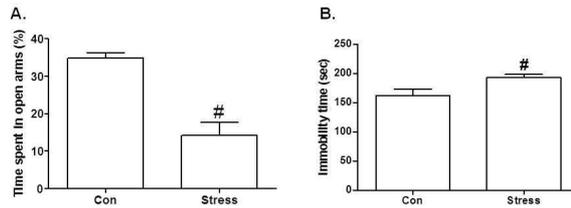


그림 10. The effects of chronic stress (14 days) in the elevated plus maze test (A) and forced swimming test (B) in mice. [#]P < 0.05 versus control group.

(2) 항우울 또는 항불안 약물 스크리닝

- 항우울 또는 항불안 약물 스크리닝을 위하여 15개 천연물 유래 추출물에 대하여 스트레스로 인하여 감소한 유전적 바이오마커를 타킷으로 real-time PCR를 이용하여 효과를 확인하였음. 그 결과, 최종적으로 산사나무 열매, 오미자 열매, 건강 뿌리, 대추 열매, 꿀피 열매껍질 등을 1차 스크리닝 대상으로 선정하였음.

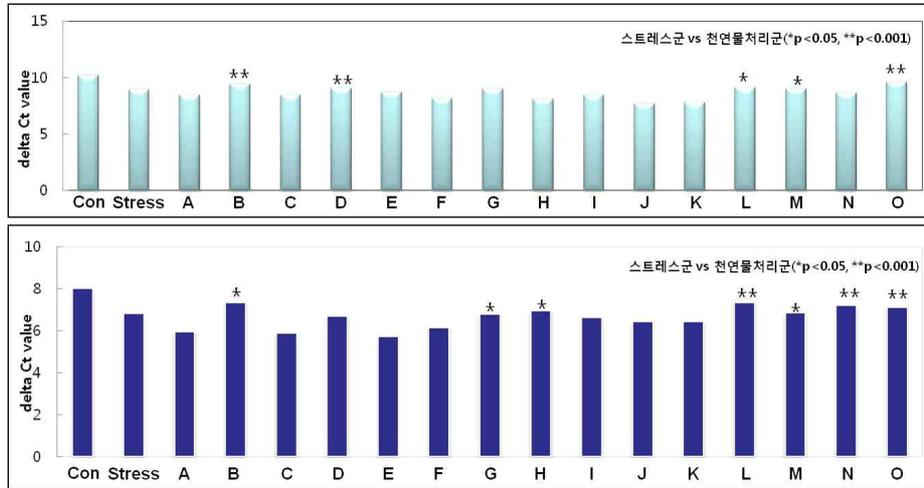


그림 11. The effects of various herbal extracts on the alteration of stress-related mRNA using real-time PCR. *P < 0.05 versus stress group.

○ 유전적 바이오마커를 통하여 선정된 천연물 유래 추출물 중 기존 문헌(논문, 특허 등) 및 향후 사업성을 바탕으로 검토한 결과, 산사, 오미자, 진피를 1차 스크리닝 약물로 정하였고, 정상 실험동물에게 투여하여 항우울 효과가 있는지 강제수영실험을 통하여 확인하였음. 그 결과, 산사의 에탄올 추출물이 대조군과 비교하여 부동시간이 감소하는 것을 확인하였고, 이러한 효능은 양성대조군인 imipramine과 비슷한 정도인 것을 확인함. 이는 산사 에탄올 추출물이 항우울 효과가 있음을 시사하는 바이며, 섬오가피와 함께 항스트레스 연구를 진행하였음.

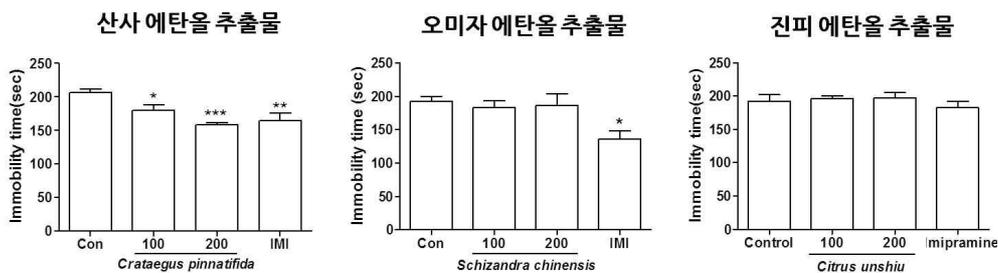


그림 12. The effects of various herbal extracts in the forced swimming test in mice. *P < 0.05 versus control group. Imi, imipramine.

(3) 정상 동물에서의 섬오가피추출물의 항불안, 항우울 효능 평가

○ 스트레스를 주지 않은 정상 동물에게 섬오가피 에탄올 추출물을 투여 후 행동 변화를 관찰하였음. 섬오가피추출물을 정상동물에게 단회(A) 또는 장기(B) 투여 후 상승된 십자미로에서 항불안 효능을 평가한 결과에 따르면 추출물 투여군과 대조군 간의 유의한 차이는 나타나지 않았으며, 이는 섬오가피추출물은 정상동물에게는 항불안 효능은 없는 것으로 사료됨. 한편, 섬오가피추출물을 정상동물에게 단회(C) 또는 장기(D) 투여 후

강제수영 실험을 통하여 항우울 효능을 평가한 결과, 섬오가피의 단기투여는 항우울 효능을 나타내지 않았지만, 2 주간의 장기투여 시 50 mg/kg의 농도에서 항우울 효능이 있는 것을 확인하였음.

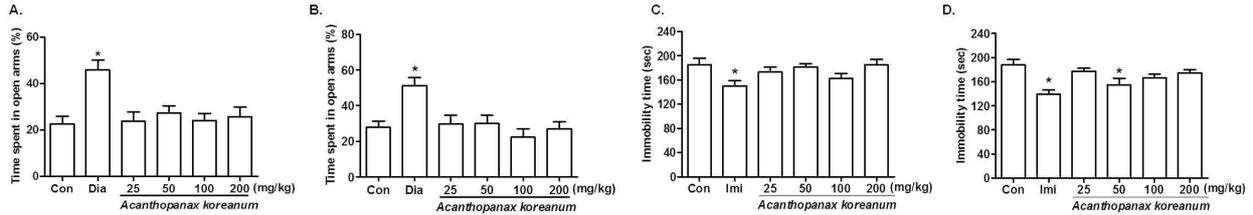


그림 13. The effects of acute (A, C) or chronic (B, D) administration of *Acanthopanax koreanum* in the elevated plus maze test (A, B) and forced swimming test (C, D) in normal naive mice. * $P < 0.05$ versus control group. Dia, diazepam; Imi, imipramine.

(4) 스트레스 인한 불안 및 우울 동물 모델에서의 섬오가피추출물의 효과

○ 단기 및 장기 스트레스를 실험동물에게 주면 대조군과 비교하여 불안해하는 것을 상승십자미로 실험을 통하여 확인함. 또한 섬오가피추출물을 스트레스로 불안을 유도한 실험동물에게 단기(A) 또는 장기(B) 투여 시 스트레스군과 비교하여 유의한 열린공간에 머무름 시간이 증가함을 확인하였고, 이는 섬오가피추출물의 투여가 스트레스로 인한 불안을 개선하는 것을 의미함. 한편, 단기 스트레스시에는 실험동물이 우울감을 느끼지 않았지만(C), 장기 스트레스 시에는 우울감을 느끼는 것을 확인하였음(D). 또한 섬오가피추출물을 스트레스로 우울감을 유도한 실험동물에게 장기(B) 투여시 모든 용량(25, 50, 100, 및 200 mg/kg)에서 부동시간이 감소하는 것을 확인하였으며, 이는 섬오가피추출물의 투여가 장기간의 스트레스로 인한 우울감을 억제하는 것을 시사함.

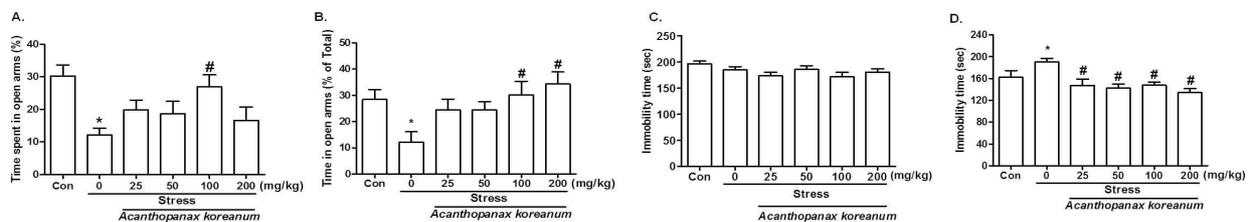


그림 14. The effects of acute (A, C) or chronic (B, D) administration of *Acanthopanax koreanum* in the elevated plus maze test (A, B) and forced swimming test (C, D) in stress mice model. * $P < 0.05$ versus control group. # $P < 0.05$ versus stress group.

○ 장기 스트레스를 유도한 동물에게 섬오가피추출물을 투여 후 일반운동활성을

열린공간시험(open field test)를 통하여 확인하였음. 실험결과에 따르면, 섬오가피추출물의 투여는 실험동물에게 일반운동의 활성화에 변화를 주지 않음을 확인하였음(A, B).

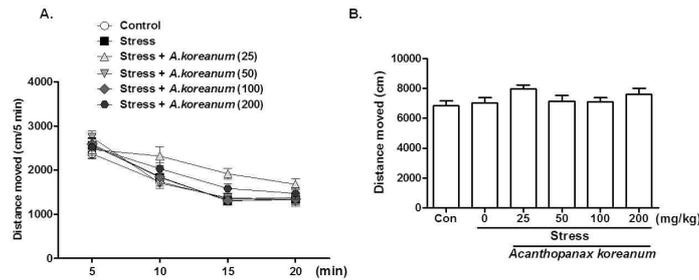


그림 15. The effects of chronic administration of *Acanthopanax koreanum* in the open field test in stress mice model.

- 이러한 결과를 종합하면, 섬오가피추출물의 투여가 정상 동물에서 항우울 작용을 가지며, 스트레스로 인한 불안 및 우울 동물 모델에서는 섬오가피추출물이 항불안 및 항우울 작용을 가지며, 이러한 개선 작용은 실험동물의 운동활성의 변화에 의한 것이 아닌 정서적인 변화에 의한 것임을 의미함.

(5) 섬오가피 추출물의 신경영양인자 및 신경생성(neurogenesis) 관여 여부 확인

- 최근 연구에 따르면 불안 또는 우울증이 뇌 내의 해마(hippocampus)영역에서의 신경재생성과 밀접한 관련이 있음이 알려져 있음. 또한 다양한 스트레스 동물모델에서 신경재생성이 감소하는 것이 알려져 있음. 이에 본 연구에서 정상동물 또는 스트레스 동물에서 섬오가피추출물의 투여가 뇌 내의 해마의 영역의 신경재생성에 미치는 영향을 면역염색법을 통하여 관찰하였음. 본 연구진은 BrdU라는 물질을 실험동물에게 투여 시 세포 분열할 때 incorporation되는 점을 이용하여 섬오가피추출물 투여 후 뇌세포가 분열되는 정도를 확인하였고, 또한 미성숙신경세포의 마커인 doublecortin (DCX)를 이용하여 신경생성의 정도를 확인하였음.

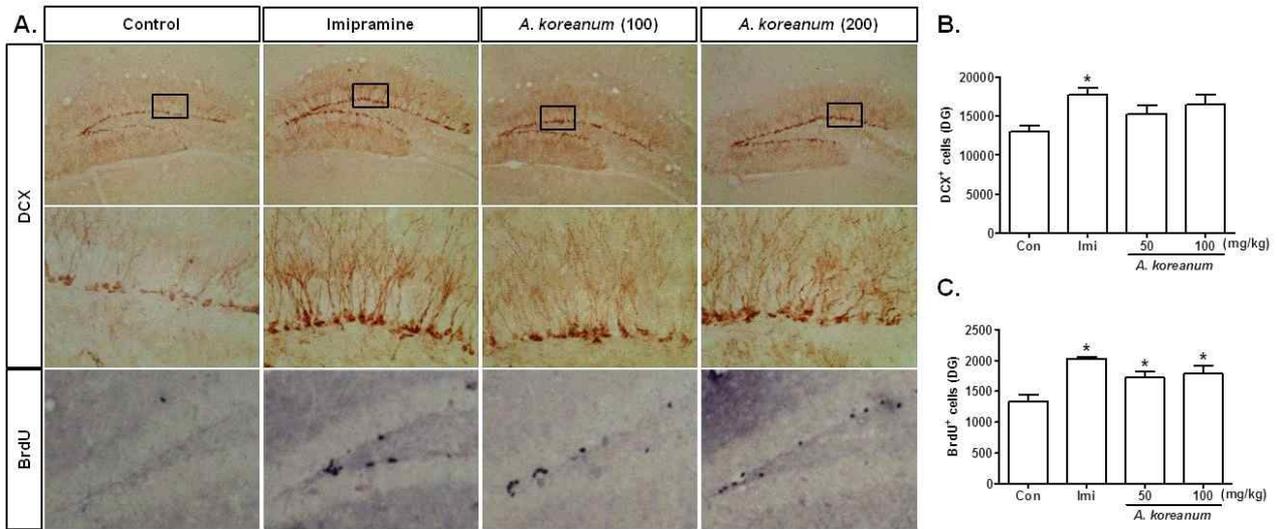


그림 16. The effects of chronic administration of *Acanthopanax koreanum* (14 days) on the DCX (B) and BrdU (C) immunopositive cells in the dentate gyrus region of hippocampus in normal naive mice. * $P < 0.05$ versus control group. Imi, imipramine.

- 정상동물에게 섬오가피추출물을 14일간 장기투여 후 뇌내 해마 영역 중 신경생성이 활발히 일어난다고 알려져 있는 dentate gyrus 영역을 면역염색법을 이용하여 BrdU 및 DCX positive 세포의 갯수를 확인함(A). 그 결과, 대조군과 비교하여 섬오가피추출물 투여군은 미성숙세포의 마커인 DCX positive 세포의 갯수는 증가하는 경향을 보이고(B), 세포분열의 마커인 BrdU positive 세포의 개수는 유의적으로 증가시켰음(C). 또한 양성대조군인 imipramine은 DCX 및 BrdU positive 세포의 개수를 유의적으로 증가시켰음(B, C). 이러한 결과는 섬오가피추출물이 정상동물에서 신경생성을 활발히 촉진시키는 것을 의미하며, 정상동물에서 항우울 효능을 보이는 작용과 밀접한 관련이 있다고 사료됨.
- 장기 스트레스를 유도한 동물에게 섬오가피추출물을 장기 투여 후 뇌내 해마 영역에서 DCX positive 세포의 갯수를 확인함. 스트레스를 유도한 군과 대조군 사이의 세포갯수의 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 섬오가피추출물 투여시 스트레스군과 비교하여 증가하는 경향을 확인하였음.



그림 17. The effects of chronic administration of *Acanthopanax koreanum* (14 days) on the DCX immunopositive cells in the dentate gyrus region of hippocampus in stress mice model.

- 섬오가피 추출물의 항우울/불안 작용에 대한 추가 기전 연구로서 신경영양인자 및 신경생성에 미치는 영향을 확인하였음. 실험동물에게 구속 및 전기 스트레스를 장기간(2주) 실시한 뒤, 해마조직을 면역염색 시 세포분열 및 신경생성의 마커인 DCX와 neuropeptide Y의 발현양이 대조군과 비교하여 유의적으로 감소되어 있는 것을 알 수 있음(그림 18). 하지만, 이러한 스트레스 동물에게 섬오가피 추출물 또는 양성대조군인 홍삼추출물을 2주간 투여 시, 스트레스만 준 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 세포분열의 증가 또는 DCX와 neuropeptide Y의 증가가 관찰되었음. 이러한 것은 스트레스로 인한 우울 또는 불안의 증상을 섬오가피 추출물이 억제하는 작용과도 밀접한 관련이 있다고 사료됨. 이러한 결과를 해외 SCI급 저널인 *Journal of Ethnopharmacology*에 게재하였음(Jung et al. *J Ethnopharmacol.* 2013;148(3):826-34)

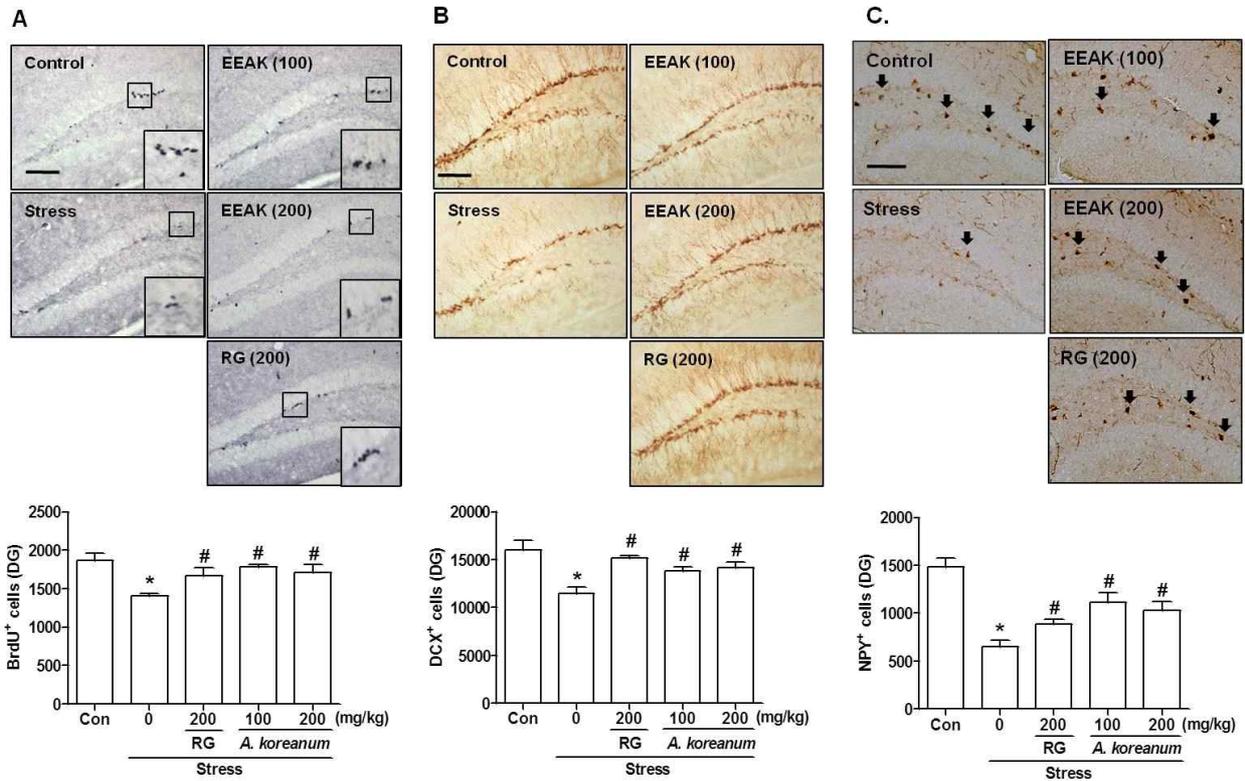


그림 18. Effects of the sub-chronic administration of an ethanolic extract of *A. koreanum* (EEAK) on the 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) incorporation (A), doublecortin (DCX) expression (B), or NPY expression (C) in sub-chronically stressed mice. Representative photomicrographs and quantitative results of BrdU-incorporating cells, doublecortin expression, or NPY expression in the hippocampal dentate gyrus (DG) region are shown. Red ginseng (RG) was used as a positive control. The data represent the means \pm S.E.M. ($n = 4$ per group). * $P < 0.05$, compared with the vehicle-treated controls group, # $P < 0.05$ compared with the stress only group. Photomicrographs of magnified region are shown in the right lower part of the box. The original magnification was 200 \times and the scale bar represents 500 μ m. The parentheses show the dose of EEAK (mg/kg). Con, control.

(6) 스트레스 모델에서 섬오가피추출물이 비장(spleen)의 무게에 미치는 영향

○ 스트레스 시에는 Hypothalamic - pituitary - adrenal axis (HPA axis)가 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며, 또한 비장(spleen)의 무게가 감소한다고 알려져 있음. 이에 본 연구진은 실험동물에게 장기 스트레스를 유도하고 섬오가피추출물을 투여 후 비장을 적출하여 무게를 측정함. 결과에 따르면 스트레스 시 유의적이지는 않지만 비장의 무게가 감소하는 경향이 관찰되었으며, 섬오가피추출물은 이러한 감소를 회복시키지는 못하는 것을 확인하였음. 이러한 결과는 섬오가피추출물의 스트레스 모델에서의 항우울 및

항불안 작용은 HPA axis에서 호르몬에 직접적으로 작용하는 점이 아니라는 점을 추측 가능하게 함.

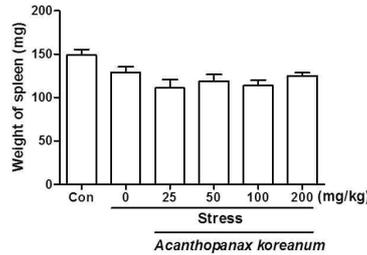


그림 19. The effects of chronic administration of *Acanthopanax koreanum* on the weight of spleen (mg) in stress mice model.

※ 항불안 및 항우울 개선을 위한 소재탐색 중 섬오가피추출물 이외에 산사추출물의 기능성을 추가 확인하였으며 추후 지속적으로 기능성 소재 산업화 가능성을 확인해보고자 함.

(7) 정상 동물에서의 산사 추출물의 항불안, 항우울 효능 평가

○ 스트레스를 주지 않은 정상 동물에게 산사 열매의 에탄올 추출물을 투여 후 행동 변화를 관찰하였음. 산사 추출물을 정상동물에게 단회(A) 또는 장기(B) 투여 후 상승된 십자미로에서 항불안 효능을 평가한 결과에 따르면 추출물 투여군과 대조군 간의 유의한 차이는 나타나지 않았으며, 이는 섬오가피추출물은 정상동물에게는 항불안 효능은 없는 것으로 사료됨. 한편, 산사 추출물을 정상동물에게 단회(C) 또는 장기(D) 투여 후 강제수영 실험을 통하여 항우울 효능을 평가한 결과, 섬오가피의 단기투여는 항우울 효능을 나타내지 않았지만, 2 주간의 장기투여 시 100 mg/kg의 농도에서 항우울 효능이 있는 것을 확인함.

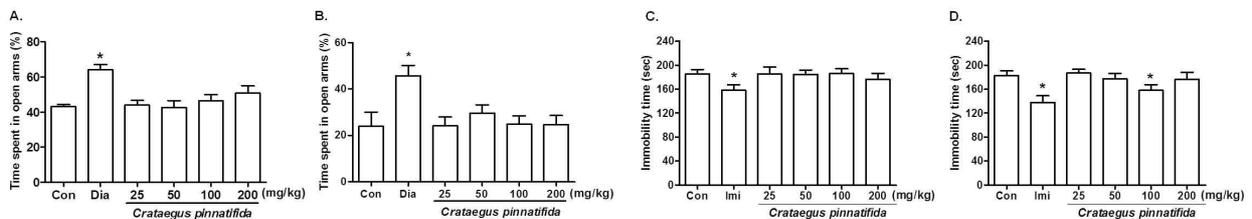


그림 20. The effects of acute (A, C) or chronic (B, D) administration of *Crataegus pinnatifida* in the elevated plus maze test (A, B) and forced swimming test (C, D) in normal naive mice. *P < 0.05 versus control group. Dia, diazepam; Imi, imipramine.

(8) 스트레스로 인한 불안 및 우울 동물 모델에서의 산사 추출물의 효과

○ 실험동물에게 단기 또는 장기 스트레스를 유도한 불안 동물모델에게 산사 추출물을

단회(A) 또는 장기(B) 투여시 스트레스군과 비교하여 유의한 열린공간에 머무름 시간이 증가함을 확인하였고, 이는 산사 추출물의 투여가 스트레스로 인한 불안을 개선하는 것을 의미함. 한편, 단기 스트레스 시에는 실험동물이 우울감을 느끼지 않았지만(C), 장기 스트레스 시에는 우울감을 느끼는 것을 확인하였음(D). 또한 산사 추출물을 스트레스로 우울감을 유도한 실험동물에게 장기간의 투여 시 25 또는 200 mg/kg의 용량에서 스트레스군과 비교하여 유의적인 부동시간의 감소가 나타났으며, 이는 산사 추출물의 투여가 장기간의 스트레스로 인한 우울감을 억제하는 것을 의미함.

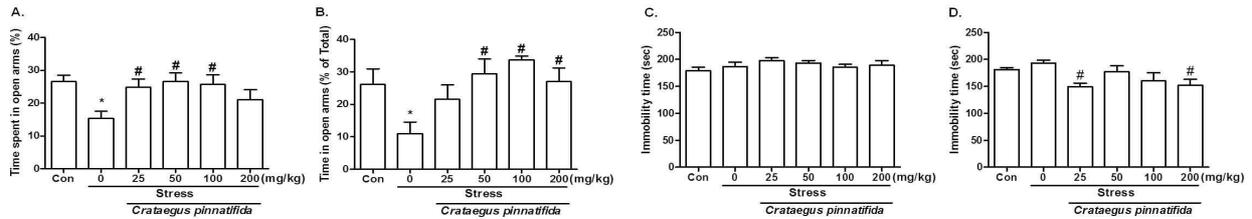


그림 21. The effects of acute (A, C) or chronic (B, D) administration of *Crataegus pinnatifida* in the elevated plus maze test (A, B) and forced swimming test (C, D) in stress mice model. *P < 0.05 versus control group. #P < 0.05 versus stress group.

○ 장기 스트레스를 유도한 동물에게 산사 추출물을 투여 후 일반운동활성을 열린공간시험(open field test)를 통하여 확인하였음. 실험결과에 따르면, 산사 추출물의 투여는 실험동물에게 일반운동의 활성화에 변화를 주지 않음을 확인하였음(A, B).

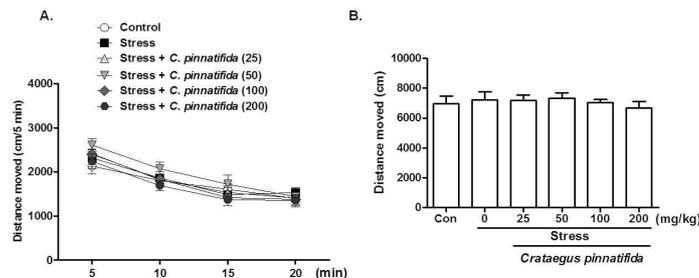


그림 22. The effects of chronic administration of *Crataegus pinnatifida* in the open field test in stress mice model.

○ 이러한 결과를 종합하면, 산사 추출물의 투여가 정상 동물에서 약간의 항우울 작용을 가지며, 스트레스로 인한 불안 및 우울 동물 모델에서는 산사 추출물의 투여가 강력한 항불안 작용과 약한 항우울 작용을 가지는 것으로 판단되며, 이러한 작용은 실험동물의 운동활성의 변화에 의한 것이 아닌 정서적인 변화에 의한 것임을 의미함.

(9) 스트레스 모델에서 산사 추출물이 비장(spleen)의 무게에 미치는 영향

○ 실험동물에게 장기 스트레스를 유도하고 산사 추출물을 투여 후 비장을 적출하여 무게를

측정한 결과, 스트레스 유도 시 유의적이지는 않지만 비장의 무게가 대조군과 비교하여 감소하는 경향이 관찰되었으며, 산사 추출물을 투여 시 유의적이지는 않지만 증가하는 경향을 보였음. 이러한 결과는 산사 추출물이 스트레스 모델에서의 항우울 및 항불안 작용은 HPA axis에서 호르몬에 작용할 수 있음을 간접적으로 제시하는 바이며, 향후 추가 연구를 진행할 예정이다.

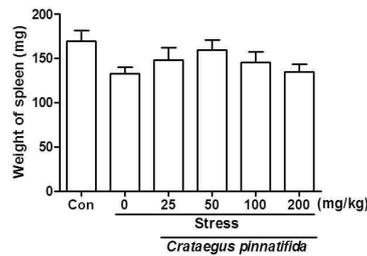


그림 23. The effects of chronic administration of *Crataegus pinnatifida* on the weight of spleen (mg) in stress mice model.

(10) 산사추출물이 신경생성(neurogenesis)에 미치는 영향

- 정상동물에게 산사 추출물을 14일간 장기투여 후 해마의 dentate gyrus 영역을 면역염색법을 이용하여 BrdU positive 세포의 갯수를 확인함. 그 결과, 세포분열의 마커인 BrdU positive 세포의 개수가 대조군과 비교하여 유의적이지는 않지만 증가하는 경향을 관찰함.

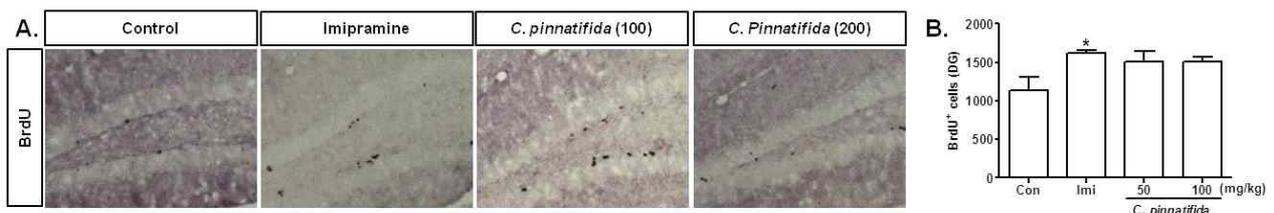


그림 24. The effects of chronic administration of *Crataegus pinnatifida* (14 days) on the BrdU immunopositive cells in the dentate gyrus region of hippocampus in normal naive mice. *P < 0.05 versus control group. Imi, imipramine.

- 장기 스트레스를 유도한 동물에게 산사 추출물을 장기 투여 후 뇌 내 해마 영역에서 DCX positive 세포의 갯수를 확인한 결과, 스트레스를 유도한 군과 대조군 사이의 세포갯수의 유의적인 차이는 나타나지 않았지만, 산사 추출물 투여 시 스트레스군과 비교하여 증가하는 경향을 확인하였음. BrdU positive 세포의 개수는 현재 연구 진행 중임.

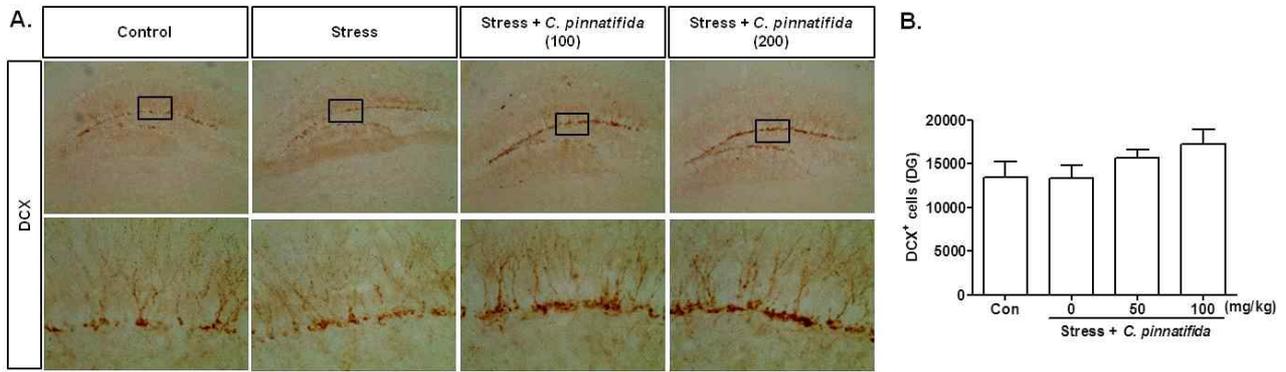


그림 25. The effects of chronic administration of *Crataegus pinnatifida* (14 d) on the DCX-positive cells in the DG region of hippocampus in stress mice model.

바. 안전성평가

(1) 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험

- 암수 5,000 mg/kg 투여 후 14일 동안 평가한 결과, 사망례는 관찰되지 않았으며, 일반증상, 체중 및 부검에서 시험물질 투여에 의한 영향은 인정되지 않음. 즉, 단회 경구투여 독성시험 조건하에서 섬오가피추출물의 개략의 치사량은 암수 모두 5,000mg.kg을 상회하며 섭취시 안전한 것으로 판단됨.

표 12. Summary of Mortality

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Days after dosing														Mortality (dead/total)		
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14	
Male	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)
	G2 5,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)
Female	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)
	G2 5,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)

표 13. Summary of Clinical Signs

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Hours (Day 0) after dosing				
				0.5	1	2	4	6
Male	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	5	5	5	5	5
Female	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	5	5	5	5	5

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing														
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Compound-colored stool	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Diarrhea	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Compound-colored stool	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Diarrhea	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

NOA: No Observable Abnormality

(2) 세균을 이용한 복귀돌연변이시험

○ 본시험의 최고용량을 설정하기위해 용량설정시험을 실시한 결과, 시험물질에 의한 생육저해는 대사활성화 비존재하의 TA100균주의 1,250 µg/plate 이상에서 관찰되었음. 대사활성화 존재하의 TA100균주, 대사활성화 비존재하 및 존재하의 TA98, TA1535, TA1537 및 WP2uvrA(pKM101)균주에서는 시험물질에 의한 생육저해는 관찰되지 않았음. 시험물질의 침전은 대사활성화 비존재하 및 존재하의 5,000 µg/plate에서 관찰되었지만, 복귀변이콜로니수의 계측에는 영향이 없었음. 따라서 본시험의 용량은 아래와 같이 설정함.

균주명	S9 mix	본시험의 용량 (µg/plate)
TA98, TA1535, TA1537, WP2uvrA(pKM101)	-/+	5000, 2500, 1250, 625, 313
TA100	-	1250, 625, 313, 156, 78.1, 39.1
	+	5000, 2500, 1250, 625, 313

○ 대사활성화 유무에 관계없이 각 균주의 모든 용량에서 복귀변이콜로니수는 음성대조군의 2배를 초과하지 않았고, 용량의존적인 증가도 관찰되지 않음. 시험물질에 의한 생육저해는

대사활성화 비존재하의 TA100균주의 625 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 이상에서 관찰되었음. 대사활성화 존재하의 TA100균주, 대사활성화 비존재하 및 존재하의 TA98, TA1535, TA1537 및 WP2uvrA(pKM101)균주에서는 시험물질에 의한 생육저해는 관찰되지 않음. 양성대조군에서는 각 균주에 대한 복귀변이콜로니수가 음성대조군과 비교하여 2배 이상 확실하게 증가함. 이상의 결과로부터, 본 시험조건에서 시험물질인 섬오가피추출물은 유전자돌연변이 유발성이 없는 것으로 판단함.

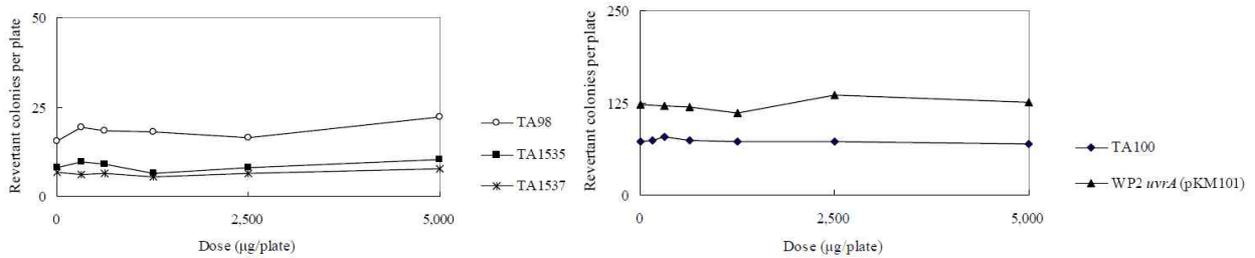


그림 26. Dose-response Curve in the absence of Metabolic Activation (TA98, TA1535, TA1537, TA100, WP2uvrA(pKM101))

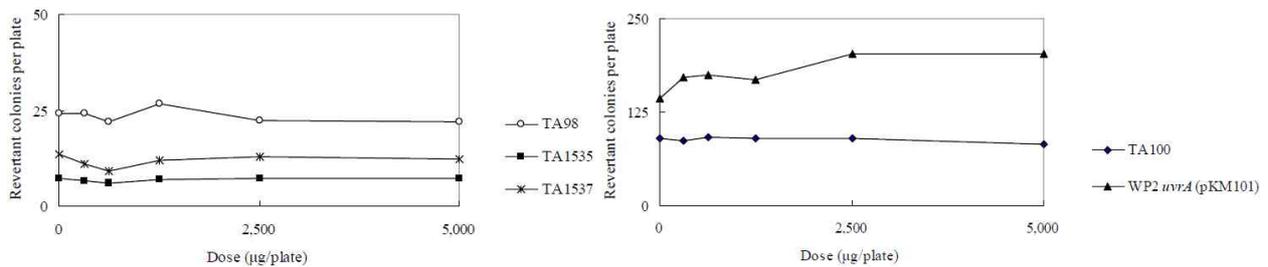


그림 27. Dose-response Curve in the Presence of Metabolic Activation (TA98, TA1535, TA1537, TA100, WP2uvrA(pKM101))

(3) 포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험

- 본시험의 최고용량을 설정하기 위해 세포증식억제시험을 실시한 결과, 단시간처리법의 대사활성화 비존재하 및 존재하, 연속처리법의 대사활성화 비존재하에서 세포독성이 관찰됨. 따라서, 본시험의 최고용량은 50% 세포증식억제용량(Inhibition concentration 50%: IC₅₀)으로 하고, 이하 공비 2로 3용량의 시험물질균을 설정하고, 음성대조군 및 양성대조군을 설정하여 평가함.

군주명	S9 mix	본시험의 용량($\mu\text{g}/\text{plate}$)
단시간처리법	-	1640, 820, 410, 205
	+	1440, 720, 360, 180
연속처리법	-	630, 315, 158, 78.8

- 단시간처리법의 대사활성화 비존재하 및 존재하, 연속처리법의 대사활성화 비존재하의 모든 처리계열에서 염색체이상을 가진 세포의 출현빈도는 5% 미만으로 염색체이상 유발 작용은 확인되지 않았으며, 음성대조군과 비교하여 통계학적으로 유의한 차이도 관찰되지 않음. 각 처리계열의 양성대조군에서는 구조이상을 가진 세포의 출현빈도가 음성대조군과 비교 시 통계학적으로 유의하게 증가되었음. 이상의 결과로부터 본 시험조건하에서 섬오가피추출물은 염색체이상을 유발하지 않는 것으로 판단됨.

(4) 마우스를 이용한 소핵시험

- 본시험의 최고용량을 설정하기 위해 5,000, 2,500, 1,000, 500 및 250 mg/kg의 용량으로 용량설정시험을 실시한 결과, 모든 동물에서 일반증상 및 사망동물은 관찰되지 않음. 따라서 본시험은 5,000 mg/kg을 최고용량으로 하고, 이하 공비 2로 2,500 및 1,250 mg/kg의 시험물질군을 설정하였다. 또한, 음성대조군에는 주사용수를, 양성대조군에는 Mitomycin C를 설정함.
- 검체제작설정시험에서는 용량설정시험에서 설정된 최고용량(5,000 mg/kg)을 투여한 후, 투여 후 24, 48 및 72시간에 골수를 채취하여 소핵출현빈도를 관찰한 결과, 모든 관찰시간대에서 증가되지 않았기 때문에 일반적으로 사용되는 투여 후 24시간을 본시험의 골수채취시간으로 설정함. 시험물질군에서는 다염성적혈구 (Polychromatic erythrocyte, PCE) 중 소핵다염성적혈구(Micronucleated polychromatic erythrocyte, MNPCE)의 출현빈도가 음성대조군과 비교하여 유의한 증가는 관찰되지 않음.
- 또한, 총적혈구에 대한 다염성적혈구의 비율도 음성대조군과 비교 시 유의한 차이는 관찰되지 않음. 양성대조군에서는 다염성적혈구 중 소핵다염성적혈구의 출현빈도가 음성대조군에 비해 현저하게 증가하였고, 총적혈구에 대한 다염성적혈구의 비율은 음성대조군과 비교 시 유의한 차이는 관찰되지 않음. 이상의 결과로부터 섬오가피추출물은 본 시험의 조건하에서 마우스 골수세포의 소핵유발에 영향을 미치지 않는 것으로 판단함.
- 이상의 결과를 표 14, 표 15로 요약 정리하였음.

Σ 14. Summary of Chromosome Aberration

Test substance	Dose (μg/mL)	S9 mix	Trt-Rec Time (hr)	No. of cell analyzed	Number of cells with structural aberrations					total (%)	gap (%)	Number of cells with numerical aberrations		
					ctb	csb	cte	cse	fig			end	pol	total (%)
Water for injection	0	-	6-18	100	0	0	0	0	0	2 (1.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	2	0	0	0	0			0		
The extract of <i>Eleutherococcus gracilistylus</i>	205	-	6-18	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	410	-	6-18	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	820†	-	6-18	100	0	0	1	0	0	1 (0.5)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	1,640†	-	6-18	toxic										
	MMC	0.05	-	6-18	100	2	0	14	0	0	37* (18.5)	0 (0.0)	1	1
100					11	2	11	0	0	0			1	
Water for injection	0	+	6-18	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0	0	
The extract of <i>Eleutherococcus gracilistylus</i>	180	+	6-18	not observed										
	360	+	6-18	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	720†	+	6-18	100	0	0	1	0	0	1 (0.5)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	1,440†	+	6-18	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	B[a]P	20	+	6-18	100	4	0	10	0	0	33* (16.5)	0 (0.0)	0	0
100					7	1	14	0	0	1				
Water for injection	0	-	24-0	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
The extract of <i>Eleutherococcus gracilistylus</i>	78.8	-	24-0	not observed										
	158	-	24-0	100	0	0	0	0	0	1 (0.5)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	1	0	0			0		
	315	-	24-0	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	630†	-	24-0	100	0	0	0	0	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0	0	0 (0.0)
				100	0	0	0	0	0			0		
	MMC	0.05	-	24-0	100	2	0	15	0	0	34* (17.0)	0 (0.0)	0	1
100					5	1	12	0	0	0				

Aberration; gap: chromatid and chromosome gap, ctb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, fig: fragmentation, end: endoreduplication, pol: polyploidy

MMC: Mitomycin C, B[a]P: Benzo[a]pyrene

Trt-Rec time : Treatment-Recovery times

Significant difference from negative control by fisher's exact test : * p<0.05

† : Precipitation

est

Σ 15. Summary of Micronucleus test

Groups	Dose (µg/kg)	Administration route	Hours post dosing	Animal ID	Counted PCE : NCE	PCE/(PCE+NCE)	MNPCE/ PCE	
Negative control	Water for injection	0	P.O.	24	1101	169 / 331	0.338	0 / 2000
					1102	99 / 401	0.198	0 / 2000
					1103	136 / 364	0.272	0 / 2000
					1104	161 / 339	0.322	0 / 2000
					1105	143 / 357	0.286	2 / 2000
					Total	-	-	2 / 10000
			Mean±S.D.	-	0.283 ± 0.055	0.4 ± 0.894		
Test substance	The extract of <i>Eleutherococcus gracilistylus</i>	1,250	P.O.	24	1201	182 / 318	0.364	0 / 2000
					1202	142 / 358	0.284	2 / 2000
					1203	140 / 360	0.280	1 / 2000
					1204	176 / 324	0.352	1 / 2000
					1205	102 / 398	0.204	0 / 2000
					Total	-	-	4 / 10000
				Mean±S.D.	-	0.297 ± 0.064	0.8 ± 0.837	
		2,500	P.O.	24	1301	129 / 371	0.258	1 / 2000
	1302				159 / 341	0.318	0 / 2000	
	1303				160 / 340	0.320	1 / 2000	
	1304				145 / 355	0.290	2 / 2000	
	1305				167 / 333	0.334	1 / 2000	
	Total	-	-	5 / 10000				
				Mean±S.D.	-	0.304 ± 0.030	1.0 ± 0.707	
	5,000	P.O.	24	1401	108 / 392	0.216	0 / 2000	
1402				122 / 378	0.244	1 / 2000		
1403				112 / 388	0.224	0 / 2000		
1404				180 / 320	0.360	1 / 2000		
1405				122 / 378	0.244	0 / 2000		
Total	-	-	2 / 10000					
			Mean±S.D.	-	0.258 ± 0.059	0.4 ± 0.548		
Positive control	Mitomycin C (MMC)	2	I.P.	24	1501	158 / 342	0.316	166 / 2000
					1502	100 / 400	0.200	102 / 2000
					1503	137 / 363	0.274	82 / 2000
					1504	100 / 400	0.200	81 / 2000
					1505	110 / 390	0.220	84 / 2000
					Total	-	-	515† / 10000
			Mean±S.D.	-	0.242 ± 0.051	103.0 ± 36.249		

P.O. : Per Os

I.P. : Intraperitoneal injection

MNPCE : Micronucleated polychromatic erythrocyte

PCE : Polychromatic erythrocyte

NCE : Normochromatic erythrocyte

S.D. : Standard deviation

Significant difference compared to the negative control using the criteria of Kastenbaum-Bowmant : $p < 0.05$

사. 인체적용시험

(1) 스트레스로 인한 불안/우울증상에 관한 인체적용시험 설계

불안증상개선 소재로 개발 중인 섬오가피추출물 이외에 CJ제일제당에서 전임상 시험결과를 확보한 영경귀추출물(CJCJ)을 추가로 2건의 인체적용시험을 진행하여 국내 식물자원을 활용한 항불안 소재 개발의 성공가능성을 높이고자 함.

인체적용시험 수행연구기관 선정

- 불안/우울증상 개선 기능성 평가는 의약품으로 진행된 사례는 있으나, 건강기능식품 개발을 위해 진행된 경우는 거의 없는 상황으로 수행연구기관 선정에 어려움이 있었음. 1차적으로 서울시정신보건센터에 자문을 구하여 전문가를 추천받았으며, 2차적으로는 CJ제일제당 임상센터의 뇌기능 전문가와 협의과정을 거쳐 최종 3곳(경희대학교병원, 서울아산병원, 국립정신병원)의 연구기관을 선정하였음. 후보기관별 인터뷰를 통하여 건강기능식품 개발을 위한 인체적용시험 진행 경험 및 수행가능여부를 논의함.
- 그 결과, 최종적으로 ‘*경희대학교병원 정신건강의학과 연구팀*’과 공동연구를 수행하기로 선정하였으며, 인체적용시험의 성공률을 높이기 위하여 시험설계에 많은 논의 끝에 불안증상개선에 대한 기능성을 주요하게 검증하고 부가적으로 우울증상에 대한 기능성을 확인하고자 함. 일반적으로 불안증상이 우선적으로 나타나고 이러한 증상이 지속될 경우 우울증상으로 전환되는 경우가 많으며, 피험자 선정에 있어서도 불안증상의 범주가 더 광범위한 점을 고려하여 설정함

시험물질 섭취용량 설정 및 생산

- 시험물질 섭취용량은 in vivo 평가결과(200 mg/kg/day)를 바탕으로 인체 섭취량으로(1.2 g/kg/day) 환산한 뒤 제품적용가능 원가를 고려하여 최고농도로 설정하였으며, 이를 정제타입으로 생산하기 위한 테스트 생산을 진행하였으며 부원료(결정셀룰로오스, 유당, 이산화규소 등) 적용을 고려하여 1000 mg 정제타입 기준으로 2정 1일 1회 섭취하는 것으로 최적비로 생산을 완료한 뒤 포장을 진행함.

구분	원료명	배합비율(%)	함량(mg)
주원료	섬오가피/영경귀추출물	60.00	600.0
부원료	결정셀룰로오스	16.46	164.6
	유당	20.00	200.0
	이산화규소	1.80	18.0
	HPMC	0.50	5.0
	글리세린지방산에스테르	0.04	0.4
	스마그	1.20	12.0
합 계		100.00	1000.0

인체 적용시험 계획서(Clinical Study Protocol) 작성 및 IRB 심의

- 불안증상을 가진 건강인을 대상으로 섬오가피추출물(CJAK) 및 영경귀추출물(CJCJ) 2가지 소재의 불안증상 개선 효과를 확인하고자 각각 단일기관, 단일군, 공개 인체적용 시험으로 설계하여 진행함. 각 기능성 소재별로 30명의 피험자를 대상으로 기능성 평가를 수행함.
- 대상자는 문맹자를 제외한 만 20세 이상의 남성 및 여성으로 상태불안척도(STAI-state)검사 상 52점 이상의 불안수준이 높은 정상인으로 규정하고 선정/제외 기준을 설정하여 선정하였음.

상태-특성불안 척도 (The State-Trait Anxiety Inventory: STAI)					
아래 문장들은 사람들이 자신을 표현하는데 사용되어지고 있는 것들입니다. 각 문장들을 잘 읽으시고 각 문장의 오른쪽에 있는 4개의 항목중에서 당신이 지금 이순간에 바로 느끼고 있는 상태를 가장 잘 나타내어 주는 문장하나를 검게 칠하십시오. 여기에서 옳고 그른답은 없습니다. 어느 한문장에 너무 오래 머무르지 마시고 당신이 지금현재의 느낌을 나타내고 있다고 생각되는 문장에 바로 답을 해주십시오. (1)전혀그렇지않다. (2)조금그렇다. (3)보통으로그렇다. (4)대단히그렇다.					
상태불안척도(State anxiety inventory)		점 수			
1	나는 마음이 차분하다.	1	2	3	4
2	나는 마음이 든든하다.	1	2	3	4
3	나는 긴장되어 있다.	1	2	3	4
4	후회스럽고 서운하다.	1	2	3	4
5	나는 마음이 편하다.	1	2	3	4
6	나는 당황해서 어찌할 바를 모르겠다.	1	2	3	4
7	나는 앞으로 불행이 있을까봐 걱정하고 있다.	1	2	3	4
8	나는 마음이 놓인다.	1	2	3	4
9	나는 불안하다.	1	2	3	4
10	나는 편안하게 느끼다.	1	2	3	4
11	나는 자신감이 있다.	1	2	3	4
12	나는 짜증스럽다.	1	2	3	4
13	나는 마음이 조마조마 하다.	1	2	3	4
14	나는 극도로 긴장되어 있다.	1	2	3	4
15	내 마음은 긴장 풀려 푸근하다.	1	2	3	4
16	나는 만족스럽다.	1	2	3	4
17	나는 걱정하고 있다.	1	2	3	4
18	나는 흥분되어 어쩔 줄 모르겠다.	1	2	3	4
19	나는 즐겁다.	1	2	3	4
20	나는 기분이 좋다.	1	2	3	4

- 대상자 선정을 위하여 총 115명을 대상으로 상태/특성불안척도(STAI) 및 Beck불안/우울척도를 이용하여 사전조사를 진행한 결과, 약 21%가 상태불안척도 기준에 대상자가 되는 것으로 확인됨. 이외 가벼운 우울증상을 보이는 대상자들도 상당수 나타나는 것으로 분석되는 것으로 보아 정신건강을 위한 건강식품 개발의 필요성 및 가능성을 재확인 할 수 있었음. 하지만, 불안증상을 넘어 장애로 판단되는 대상자나 주요 정신과 질환을 포함한 질병을 치료중인 대상자는 제외하여야 보다 기능성 검증에 정확성을 높일 수 있을 것으로 판단하고 기준을 설정하였으며 이외 시험계획은 아래와 같이 작성을 완료하였음.

- 인체적용시험계획서(요약) -

제 목	섬오가피추출물의 불안증상 개선평가를 위한 인체적용 시험
시험책임자	경희대학교병원 정신건강의학과 부교수 김 중 우
실시기관	경희대학교병원, 서울시 동대문구 경희대로 23
의뢰자/ 모니터	- 경희대학교 산학협력단 단장: 김 영 진 연구책임자: 약학대학 교수 류중훈 서울시 동대문구 경희대로 26 경희대학교 - CJ제일제당, 담당자: 홍은영 수석연구원 서울시 중구 쌍림동 292 CJ제일제당센터
목 적	불안증상을 가진 건강인을 대상으로 섬오가피추출물(CJAK)의 불안증상 개선을 확인하는 것을 목적으로 함.
시험설계	단일기관, 단일군, 공개 인체적용시험
대상자	문맹자를 제외한 만 20세 이상의 남성 및 여성으로 상태불안척도 (STAI-state)검사 상 52점 이상의 불안수준이 높은 정상인
피험자의 선정기준	<p><선정 기준></p> <p>* 대상피험자들은 다음의 모든 기준에 적합하여야 한다</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 문맹자를 제외한 만 20세 이상 만 85세 미만인 남성 및 여성 2) 불안수준이 높은 정상인 (상태특성 불안척도(STAI-state)점수가 52점 이상인 자) 3) 인체적용시험동의서에 서면 동의한 자 <p><제외 기준></p> <p>* 다음조건의 하나라도 해당되는 피험자는 본 연구에 참여할 수 없다.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 구조화된 정신과적 면담도구(MINI)를 통해 불안장애를 갖는 자 2) 3개월 이내 또는 현재 알코올중독으로 치료 중이거나 갑상선기능 이상으로 치료중인 자 3) 오가피, 유제품 복용 시 알레르기 등 이상반응을 경험한 자 4) 인체적용시험 참여 전 3개월 이내에 치매, 우울증, 범불안장애와 같은 주요 정신과 질환으로 치료중인 자 5) 뇌종양, 수두증이 있거나 있었던 자 혹은 3개월 이내에 호르몬대체요법을 시행했거나 시행중인 자 6) 뇌졸중, 심질환(심부전, 협심증, 심근경색), 악성종양, 수축기 혈압 180 mmHg 이상 고혈압 환자, 조절되지 않는 고혈압 피험자 (> SBP 145mmHg 또는 DBP 90mmHg) 또는 폐질환이 있는 피험자 7) 심한 신기능 장애 나 간 기능장애가 있는 피험자 (serum creatinine > 2.0 mg/dl, ALT, AST, alkaline phosphatase > 정상 상한치 * 2.5) 8) 혈당조절이 어려운 경우(혈당강하제를 복용함에도 불구하고 공복 혈당 160이상)와 혈소판(15만/mm³이하), 백혈구(3000/mm³이하), 혈색소 수치(남자 9.5g/dL, 여자 9.0g/dL)이하 인 피험자 9) 최근 3개월 이내에 경구용 스테로이드, 호르몬제등을 복용하였거나 시험 식품의 흡수, 대사, 배설에 영향을 주는 약물 또는 신경안정제나 수면제 같은 불안수준에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경험이 있거나 3개월 내 기타 인체적용시험에 참여한 경험이 있는 피험자 10) 6개월 내 외과적 수술을 받았거나 1개월 내 금지된 치료(침술이나 불안수준 개선 목적의 치료 또는 건강식품, 남용우려 있는 약물 투여)를

	<p>받고 있는 자</p> <p>11) 임신부, 수유부 및 적절한 피임 방법을 사용하지 않는 가임여성</p> <p>12) 인체적용시험담당자의 소견으로 볼 때, 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되거나 기타 의사가 부적합하다고 판단되는 피험자</p>												
임상시험약	시험식품 : 섬오가피추출물 (1정 1000 mg)												
투여용량	시험식품 2정을 1일 1회 (2000mg/day) 6주간 섭취												
목표 피험자 수	최종 평가가능 예수 30례												
시험방법	<p>피험자가 인체적용시험에 참여할 것을 서면으로 동의하면, 인체적용시험 계획서에 따라 필요한 검진 및 검사를 실시한 후, 피험자 적합성 평가결과 선정기준에 적절한 피험자에 한하여 무작위 배정된다.</p> <p>무작위 배정된 피험자는 6주간 인체적용시험용 식품인 섬오가피추출물 (CJAK)을 복용하게 되며, 복용 시작 2주 후 전화 문진을 통하여 인체적용시험용 식품 복용 후의 이상반응을 조사한다.</p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>방문 1 (D-28)</td> <td>방문 2 (D0)</td> <td>전화문진 (D14±5)</td> <td>방문 3 (D42±5)</td> </tr> <tr> <td>스크리닝 방문</td> <td>무작위배정방문</td> <td>이상반응 조사</td> <td>종료방문</td> </tr> <tr> <td colspan="4">6 주 투약</td> </tr> </table>	방문 1 (D-28)	방문 2 (D0)	전화문진 (D14±5)	방문 3 (D42±5)	스크리닝 방문	무작위배정방문	이상반응 조사	종료방문	6 주 투약			
방문 1 (D-28)	방문 2 (D0)	전화문진 (D14±5)	방문 3 (D42±5)										
스크리닝 방문	무작위배정방문	이상반응 조사	종료방문										
6 주 투약													
시험기간	<p>각 피험자 별로 총 8주(스크리닝 2주, 약제투여기간 6주)가 소요되며 전체 30명의대상 지원자를 모집하는데 필요한 기간은 약 16주 이상 예상되며, 총 인체적용시험 실시기간은 최초 모집시점으로부터 약 24주 이상 소요될 것으로 예상된다.</p>												
평가기준	<p>유효성 (Functionality)</p> <p>① 1차 기능성 평가 (Primary endpoint):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Baseline 대비 Beck의 불안 질문지(BAI)의 개선을 <p>② 2차 기능성 평가 (Secondary endpoint):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Baseline 대비 상태-특성 불안검사(STAI)의 개선을 - Baseline 대비 걱정 증상 질문지(PSWQ)의 개선을 - Baseline 대비 HAM-A의 개선을 <p>안전성 (safety)</p> <p>시험식품 투여 전과 투여 6주 후에 심전도 검사, 실험실적 검사, 활력징후 측정, 이학저거 검사 진행을 실시하고 시험식품 투여 2주 후에는 전화 문진을 통하여 이상반응을 평가하고 연구기간 내내 이상반응을 평가한다.</p>												

- 인체적용시험 흐름도 -

(평가일: 방문예정일 ± 5일)	스크리닝	치료기간			F/U12) 필요시
	Visit 1	Visit 2	전화문진	Visit 3	
	-14일 ~ -1일	0일 (0주)	2주 (14일)	6주 (42일)	
피험자 동의	O				
인구학적 조사 1)	O				

활력징후2)	O	O		O	O
신체검사3)	O			O	O
생활습관 조사4)		O		O	
병력 및 동반질환	O				
STAI-state 검사5)	O				
MINI 검사6)	O				
이학적 검사	O	O		O	O
심전도 검사	O			O	O
실험실적 검사7)	O	O		O	O
임신여부 검사(가임기 여성)8)	O	O		O	O
선행/병용 약물	O	O		O	O
이상반응			O	O	O
피험자 적합성 평가9)	O				
기능성 평가검사10)		O		O	O
인체적용시험용 식품 처방		O			
복약 순응도 평가				O	

1. 인구학적 조사: 생년월일, 성별 등을 조사한다.
2. 활력징후: 체온, 혈압, 맥박수를 측정하며, 혈압과 맥박수는 5분간 앉은 자세로 안정을 취한 후 동일한 혈압계를 사용하여 측정한다.
3. 신체검사: 체중은 시험기간 중 동일한 체중계를 사용하며, 신장은 신을 벗고 cm 단위로 측정하며 방문1에서만 측정한다.
4. 생활습관조사: 방문 2와 방문 4에서만 시행하며, 시험대상자의 흡연, 음주, 식사, 운동 습관에 대하여 조사한다.
5. STAI-state 검사: STAI-state(상태 불안검사)를 실시하여 52점 이상인 자를 선정한다.
6. MINI 검사: 구조화된 정신과적 면담도구로써, 공황장애, 임소공포증, 사회공포증, 특수공포증, 강박장애, 외상 후 스트레스장애, 범 불안장애를 검사하여 불안장애로 진단된 경우 제외하도록 한다.
7. 실험실적 검사: 시험대상자는 채혈하기 전 최소 8시간 이상 금식한 상태로 내원해야 한다. 단 방문 1 이전 2주 이내에 본원에서 실시한 실험실적 검사결과가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 되며, 방문 1에서 시행해야 할 검사 항목 중 누락된 항목이 있는 경우나 임상적으로 문제가 있는 경우에는 해당 항목에 대해서만 추가적으로 검사를 할 수 있다.
혈액학적 검사: WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelet
혈액생화학적 검사: BUN, Albumin, Total bilirubin, AST, ALT, r-GT, Triglyceride, Total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, Creatinine, Alkaline phosphatase, glucose
소변검사: pH, Protein, Glucose, RBC, WBC, Specific gravity, HCG (가임 여성인 경우)
8. 임신여부검사: 실험실적 검사의 일환으로 시험대상자 중 임신가능성이 있는 경우에 한하여 매 방문 시 임신여부를 확인한다.
9. 시험대상자 적합성 평가: 스크리닝 검사가 끝난 후 방문2 전에 시험대상자 적합성 평가를 실시한다.
10. 기능성 평가 검사: 상태-특성불안검사(STAD), Beck의 불안 질문지_(BAI), 걱정 증상 질문지(PSWQ), HAM-A 검사를 실시한다.
11. 전화문진: 복용 시작 2주 후 전화 문진을 통하여 인체적용시험용 식품 복용 후의 이상반응을 조사한다.
12. F/U: 인체적용시험용 식품 투여종료 후 혹은 중도탈락 후 비정상적인 실험실 결과나 비정상적인 심전도 검사 결과, 계속되는 이상반응 등 시험자 판단에 따라 추적관찰이 필요하다고 여겨지는 경우에 따라 실시하며 심전도 검사의 경우 종료방문 후 심전도 검사 결과 이상이 있는 경우에 한하여 시행하도록 한다.

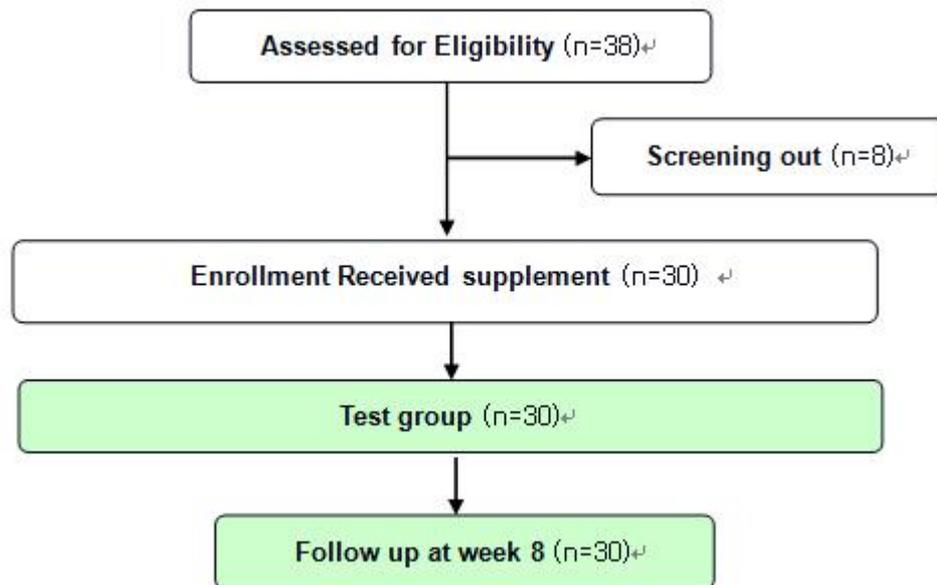
(2) 스트레스로 인한 불안증상에 관한 인체적용시험 결과(2): 섬오가피 및 영경귀추출물

(가) 섬오가피추출물(CJAK) 인체적용시험

통계분석방법

- 섬오가피추출물(CJAK) 인체적용시험의 시험대상자로부터 얻어진 자료는 탈락자가 없어서

ITT(intention to treat) 분석법과 PP(per protocol)분석법을 구분하지 않고 전체 자료를 분석함. 분석은 시험대상자 중 인체시험계획서대로 완료한 시험대상자로부터 얻어진 자료를 분석에 포함시키고 0주와 6주의 자료를 분석함. 38명을 스크리닝하여 선정기준 미달이나 동의철회로 8명이 스크리닝에서 탈락되었고 30명을 등록하여 시험식품을 복용하게 하고 얻어진 자료를 분석함. 자료는 연속변수로 측정된 변수는 시험 전후의 차이를 paired t-test를 이용하여 전후 차이를 분석하였고, 유의수준은 0.05로 함.



시험대상자 기초정보

- 시험대상자는 남자 15명, 여자 15명으로 총 30명임. 시험대상자의 연령대는 23세부터 73세까지 구성되었는데 평균은 40.3 ± 15.8 세였음. 또한 시험대상자의 EKG, X-ray, 흡연, 음주 운동 등 생활습관과 질병력, 약복용력 등의 분포는 아래 표와 같이 분포함. 시험대상자의 사전조사에서 공황장애, 임소공포증, 사회공포증, 특수공포증, 강박장애 및 외상 후 스트레스 장애를 보이는 피험자는 한 명도 없었음.

표 16. 섬오가피추출물 인체적용시험 대상자 기초정보

평가변수		평균
연령 (세) (mean±s.d.)		40.27±15.84
성별(n,%)	남자	15(50)
	여자	15(50)
몸무게(kg) (mean±s.d.)		67.01±12.57
키(cm) (mean±s.d.)		166.41±9.15
혈압(mmHg) (mean±s.d.)	수축기혈압(mmHg)	119.33±12.39
	이완기혈압(mmHg)	75.17±10.15
맥 박 (b e a t / m i n .) (mean±s.d.)		70.47±8.67
체온(℃)		36.53±.45
흡연력(n,%)	비흡연	24(80.0)
	과거흡연	4(13.3)
	현재흡연	2(6.7)
음주력(n,%)	비음주	13(43.3)
	소량음주(<소주½병/주)	15(50.0)
	다량음주(>소주½병/주)	2(6.7)
병용약물(n,%)	없음	23(76.7)
	있음	7(23.3)
병력 및 동반질환 (n,%)	없음	23(76.7)
	있음	7(23.3)
이학적검사 (n,%)	no	29(96.7)
	yes	1(3.3)
심전도 (n,%)	정상	25(83.3)
	비정상(임상적 의미없음)	5(16.7)
식사 (n,%)	규칙적	16(53.3)
	불규칙적	14(46.7)
운동 (n,%)	전혀하지 않음	0
	불규칙적(30분, 주3회이하)	12(40.0)
	규칙적(30분, 주3회이상)	18(60.0)
기능성식품 (n,%)	주기적 복용	1(3.3)
	복용하지 않음	29(96.7)

Data are mean±standard deviation or n(%)

유효성분석결과

- 본 시험의 단일군, 공개 인체시험으로 시험의 목적은 불안수준이 높은 정상인에서 섬오가피추출물(CJAK)을 경구 복용하게 하여 Beck의 불안 질문지(BAI), 상태-특성 불안검사(STAI), 걱정 증상 설문지(PSWQ), HAM-A 등의 검사를 수행하여 불안증상 개선에 미치는 섬오가피 추출물의 효능을 확인하고 안전성 여부도 확인하고자 함. 시험

전후의 차이는 paired t-test를 사용하여 유의성 검증을 함.

○ 6주간 섭오가피 추출물을 투여 받은 시험대상자에서 각 심리 검사 결과는 다음과 같음

- Beck의 불안 질문지(BAI) 검사는 시험 전 38.67±8.93점에서 시험 후 32.60±11.06점으로 6.07±9.78점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.002$). 전체 대상자중 22명인 73.3%가 시험 전에 비해 BAI 점수가 감소함. 시험 전후 14.8%에서 개선율을 나타냄.
- 상태-특성 불안검사의 STAI-State 검사에서는 시험 전 54.93±8.13점에서 시험 후 44.77±10.97점으로 10.17±12.48점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 23명인 76.7%의 시험자가 시험전에 비해 STAI-state 점수가 감소함. 시험 전후 17.2 % 개선율을 보임. STAI-State의 시험 전후의 변화는 약간 높음이 7명(23.3%)에서 시험 후 4명(13.3%)로 감소하였음. 상당히 높음은 시험 전 7명(23.3%)에서 시험 후 1명(3.3%)로 감소하였으며, 매우 높음도 6명(20.0%)에서 시험 후 3명(10.0%)로 감소함. 전체적으로 시험 전후의 단계가 감소하였으며 이 변화는 통계적으로 의미가 있었음(McNemar test $p=0.044$).
- 상태-특성 불안검사의 STAI-Trait 검사에서는 시험 전 53.63±9.20점에서 시험 후 44.63±9.44점으로 9.00±8.78점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 26명인 86.7%에서 STAI-Trait 점수가 감소함. 시험 전후 15.8% 개선율을 보임. STAI-Trait의 시험 전후의 변화는 약간 높음이 시험 전 6명(20.0%)에서 시험 후 3명(10.0%)으로, 상당히 높음은 시험 전 5명(16.7%)에서 시험 후 1명(3.3%)로, 매우 높음은 시험 전 4명(13.3%)에서 시험 후 1명(3.3%)로 감소함. 시험 전후의 단계가 감소하였으며 이 변화는 통계적으로는 의미가 없었음(Nemar test $p=0.061$).
- 걱정증상 설문지(PSWQ) 검사에서는 시험 전 47.13±7.12점에서 시험 후 40.80±8.35점으로 6.33±7.38점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 24명인 73.3%에서 PSWQ 점수가 감소하였음. 시험 전후 12.8%의 개선율을 보임.
- HAM-A 검사에서는 시험 전 12.33±4.91점에서 시험 후 5.07±4.29점으로 7.27±5.00점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 29명인 96.7%의 시험대상자에서 HAM-A 점수가 감소함. 시험 전후 56.9%에서 개선율을 보임.

표 17. 섬오가피추출물 섭취 전후 유효성평가 변수의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
STAI-State	54.93±8.13	44.77±10.97	10.17±12.48	<0.001
SATI-Trait	53.63±9.20	44.63±9.44	9.00±8.78	<0.001
BAI score	38.67±8.93	32.60±11.06	6.07±9.78	<0.002
PSWQ score	47.13±7.12	40.80±8.35	6.33±7.38	<0.001
HAM-A score	12.33±4.91	5.07±4.29	7.27±5.00	<0.001

Data are mean±standard deviation

STAI-State : State-Trait Anxiety Inventory : STAI-X-1

STAI-Trait : State-Trait Anxiety Inventory : STAI-X-2

BAI : Beck Anxiety Inventory

PSWQ : Penn State Worry Questionnaire

HAM-A : The Hamilton Anxiety Rating Scale

안전성 분석결과

- 이상반응은 시험식품을 투여한 후 1회 이상 안전성에 대한 조사가 된 시험대상자를 대상으로 평가함. 시험대상자에서 발생한 이상반응은 왼쪽배에 지방종 의심 물질 발견, 두통, 콧물, 잇몸 통증, 목감기 증세를 보였으나 시험제품과 명백한 관련성을 찾을 수 없었음. 1명에서 시험 종료 후에 임신이 발견되었으나 현재까지 시험제품에 의한 이상을 평가할 수 없는 상황이며 출산 시점에 다시 평가가 필요할 것으로 보임.

표 18. 섬오가피추출물 섭취 후 이상반응 현황

시험대상자/ 시험군	이상반응	이상반응정도	처치	제품 연관성
R101	왼쪽 배에 지방종 의심 물질 발견	경증	없 음	관련 없음
R103	두통	NA	없 음	관련 없음
R109	콧물약간	경증	치료약물병용투여	관련 없음
R110	잇몸통증	중등증	치료약물병용투여	관련 없음
R114	목감기증세	경증	치료약물병용투여	관련 없음
R114	임신	NA	없 음	관련 없음

- 기초생체지표의 변화는 시험식품을 투여하기 직전과 투여한 후 6주 후의 변화량을 two-sample t-test의 방법으로 평가함. 또한, 그룹별 차이는 student's t-test를 이용하여

분석함. 그 결과, 모든 생체지표의 변화가 각 군에서 의미 있는 차이를 나타내지 않음.

표 19. 섬오가피추출물 섭취 전후 활력징후 변수의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
Systolic B.P.	119.80±11.90	120.13±10.96	-.33±8.73	0.836
Diastolic B.P.	73.50±9.66	75.63±10.21	-2.13±9.51	0.229
Pulse	71.07±8.42	69.67±7.02	1.40±7.98	0.345
Temperature(°C)	36.42±.37	36.33±.48	.08±.51	0.376

† p value by Paired t-test

- 실험실 검사 결과는 투여군 내에서는 시험식품 투여 전(0주)과 투여 후(6주)의 변화를 보기 위하여 two-sample t-test 를 실시함. 그 결과, 모두에서 각 군간 통계학적 유의한 차이를 보이지 않음.

표 20. 섬오가피추출물 섭취 전후 생화학적 변화의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
ALP	59.73±12.62	58.03±12.17	1.70±6.00	0.131
Total Protein	7.68±.43	7.66±.41	.02±.24	0.599
AST	25.07±8.96	25.23±8.26	-.17±3.95	0.819
ALT	21.13±15.46	21.27±15.04	-.13±6.07	0.905
rGTP	30.17±28.12	29.27±23.80	.90±7.15	0.496
BUN	12.27±3.81	12.67±3.42	-.40±2.93	0.461
Creatinine	.76±.14	.75±.14	.02±.09	0.344
Glucose	94.17±8.47	96.33±11.90	-2.17±9.46	0.220
Uric acid	6.75±7.00	5.41±1.25	1.34±7.14	0.313
Total Cholesterol	193.23±30.85	193.23±30.85	.00±.00	1.000
Triglyceride	104.30±58.21	122.37±73.24	-18.07±47.81	0.047
LDL	118.60±27.50	121.60±30.01	-3.00±19.40	0.404
HDL	56.30±12.15	54.60±13.43	1.70±7.55	0.227

† p value by Paired t-test

표 21. 섬오가피추출물 섭취 전후 혈액학적 변화의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
WBC	6.17±1.42	6.03±1.27	.13±1.20	0.546
RBC	4.63±.56	4.67±.55	-.03±.32	0.573
Hemoglobin	14.04±1.46	14.10±1.42	-.07±.53	0.499
Hematocrit	41.36±3.94	41.85±3.48	-.49±1.71	0.126
Platelet	265.00±60.48	264.83±54.39	.17±32.24	0.978

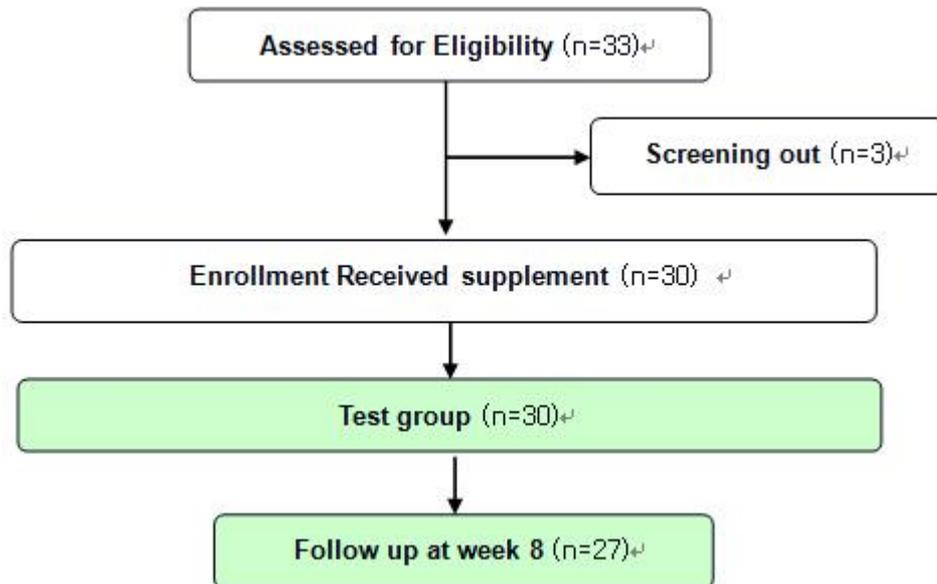
† p value by Paired t-test

- 섬오가피추출물의 불안증상 감소 효과를 연구하기 위하여 단일군, 공개 인체적용시험을 수행한 결과, 불안증상의 감소에 기여하는 것으로 나타으며, 매우 안전한 식품임을 알 수 있었고 향후 이중맹검 등을 통한 연구를 통하여 기능성 식품으로의 개발하고자 함.

(나) 영경귀추출물(CJCJ) 인체적용시험

통계분석방법

- 영경귀추출물(CJCJ) 인체적용시험의 분석은 시험대상자 중 인체시험계획서대로 완료한 시험대상자로부터 얻어진 자료를 분석에 포함시키고 0주와 6주의 자료를 분석함. 33명을 스크리닝하여 선정기준 미달이나 동의철회로 3명이 스크리닝에서 탈락되었고 30명을 등록하여 시험식품을 복용하게 하고 얻어진 자료를 분석함. 연속변수로 측정된 변수는 시험 전후의 차이를 paired t-test를 이용하여 전후 차이를 분석하였고, 유의수준은 0.05로 함.



* Visit window 위반으로 2명 제외 및 순응도 미달로 분석 제외 1명

시험대상자 기초정보

- 시험대상자는 남자 15명, 여자 15명으로 총 30명이며, 연령대는 25세부터 71세까지 구성되었고 평균은 42.60 ± 12.57 세였음. 또한 시험대상자의 EKG, X-ray, 흡연, 음주 운동 등 생활습관과 질병력, 약복용력 등의 분포는 아래 표와 같이 분포함. 시험대상자의 사전조사에서 공황장애, 임소공포증, 사회공포증, 특수공포증, 강박장애 및 외상 후 스트레스 장애를 보이는 피험자는 한 명도 없었음.

표 22. 영경퀴추출물 인체적용시험 대상자 기초정보

평가변수		평균
연령 (세) (mean±s.d.)		42.60±12.57
성별(n,%)	남자	15(50)
	여자	15(50)
몸무게(kg) (mean±s.d.)		62.49±10.00
키(cm) (mean±s.d.)		163.28±7.25
혈압(mmHg) (mean±s.d.)	수축기혈압(mmHg)	117.20±11.66
	이완기혈압(mmHg)	76.67±7.53
맥 박 (b e a t / m i n .) (mean±s.d.)		75.90±9.19
체온(℃)		36.58±.31
흡연력(n,%)	비흡연	22(73.3)
	과거흡연	1(3.3)
	현재흡연	7(23.3)
음주력(n,%)	비음주	11(36.6)
	소량음주(<소주½병/주)	17(56.7)
	다량음주(>소주½병/주)	2(6.7)
병용약물(n,%)	없음	25(83.3)
	있음	5(16.7)
병력 및 동반질환 (n,%)	없음	23(76.7)
	있음	5(16.7)
이학적검사 (n,%)	no	29(96.7)
	yes	1(3.3)
심전도 (n,%)	정상	27(90.0)
	비정상(임상적 의미없음)	3(10.0)
식사 (n,%)	규칙적	15(50.0)
	불규칙적	15(50.0)
운동 (n,%)	전혀하지 않음	13(43.3)
	불규칙적(30분, 주3회이하)	17(56.7)
	규칙적(30분, 주3회이상)	0(0.0)
기능성식품 (n,%)	주기적 복용	0(0.0)
	복용하지 않음	30(100.0)

Data are mean±standard deviation or n(%)

유효성분석결과

- 본 시험의 단일군, 공개 인체시험으로 시험의 목적은 불안수준이 높은 정상인에서 영경퀴추출물(CJCJ)을 경구 복용하게 하여 Beck의 불안 질문지(BAI), 상태-특성 불안검사(STAI), 걱정 증상 설문지(PSWQ), HAM-A 등의 검사를 수행하여 불안증상 개선에 미치는 섬오가피 추출물의 효능을 확인하고 안전성 여부도 확인하고자 함. 시험

전후의 차이는 paired t-test를 사용하여 유의성 검증을 함.

○ 6주간 영경귀추출물을 투여 받은 시험대상자에서 각 심리 검사 결과는 다음과 같음

- Beck의 불안 질문지(BAI) 검사는 시험 전 43.07±9.37점에서 시험 후 31.57±6.84점으로 11.50±7.64점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 전체 대상자(27명) 중 25명인 92.6%가 시험 전에 비해 BAI 점수가 감소함. 시험 전후 26.7%에서 개선율을 나타냄.
- 상태-특성 불안검사의 STAI-State 검사에서는 시험 전 53.80±7.01점에서 시험 후 45.80±7.50점으로 12.73±11.70점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 전체 대상자(27명) 중 23명인 85.2%의 시험대상자가 시험 전에 비해 STAI-state 점수가 감소함. 시험 전후 21.7% 개선율을 나타냄. STAI-State의 시험 전후의 변화는 약간 높음이 5명(16.7%)에서 시험 후 6명(20.0%)로 약간 증가함. 상당히 높음은 시험전 10명(33.3%)에서 시험 후 0명(0.0%)로 큰 폭으로 감소하였으며, 매우 높음도 10명(33.3%)에서 시험 후 1명(3.3%)로 감소함.
- 상태-특성 불안검사의 STAI-Trait 검사에서는 시험 전 53.80±5.71점에서 시험 후 44.60±7.45점으로 9.20±8.92점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 전체 대상자 (27명) 중 25명인 92.6 %에서 STAI-Trait 점수가 감소함. 시험전후 17.1 % 개선율을 보임. STAI-Trait의 시험전후의 변화는 약간 높음이 시험 전 7명(23.3%)에서 시험 후 2명(6.7%)으로, 상당히 높음은 시험전 5명(16.7%)에서 시험 후 1명(3.3%)로, 매우 높음은 시험전 2명(6.7%)에서 시험 후 0명(0.0%)로 감소함.
- 걱정증상 설문지(PSWQ) 검사에서는 시험 전 48.00±6.87점에서 시험 후 39.27±6.65점으로 8.73±8.53점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄 ($p < 0.001$). 전체 대상자 (27명) 중 23명인 85.2 %에서 PSWQ 점수가 감소하였음. 시험 전후 18.1%의 개선율을 보임.
- HAM-A 검사에서는 시험전 10.73±4.43점에서 시험 후 4.50±3.39점으로 6.23±4.31점 감소하였고 통계적으로 유의한 결과를 나타냄($p < 0.001$). 전체 대상자(27명) 중 24명인 88.9%의 시험대상자에서 HAM-A 점수가 감소함. 시험 전후 58.1%에서 개선율을 보임.

표 23. 영경귀추출물 섭취 전후 유효성평가 변수의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
STAI-State	58.53±7.01	45.80±7.50	12.73±11.70	<0.001
SATI-Trait	53.80±5.71	44.60±7.45	9.20±8.92	<0.001
BAI score	43.07±9.37	31.57±6.84	11.50±7.64	<0.001
PSWQ score	48.00±6.87	39.27±6.65	8.73±8.53	<0.001
HAM-A score	10.73±4.43	4.50±3.39	6.23±4.31	<0.001

Data are mean±standard deviation

STAI-State : State-Trait Anxiety Inventory : STAI-X-1

STAI-Trait : State-Trait Anxiety Inventory : STAI-X-2

BAI : Beck Anxiety Inventory

PSWQ : Penn State Worry Questionnaire

HAM-A : The Hamilton Anxiety Rating Scale

안전성 분석결과

- 이상반응은 시험식품을 투여한 후 1회 이상 안전성에 대한 조사가 된 시험대상자를 대상으로 평가함. 전체 30명의 시험대상자 중에서 이상반응이 있다고 응답한 시험대상자는 8명에서 14건임.

표 24. 영경귀추출물 섭취 후 이상반응 현황

시험 대상자	이상반응	이상반응 정도	처치	제품 연관성
R110	허리통증	경증	없음	관련없음
R117	간혹 가슴이 답답함	경증	없음	불명
R119	얼굴부위 가려움증	경증	치료약물병용투여	관련 없음
R120	피부가려움증,얼굴트러블	중등증	일시적 중단	연관 가능성이 있음
R120	피부가려움증,얼굴트러블	중등증	일시적 중단	연관 가능성이 있음
R120	피부가려움증,얼굴트러블	중등증	시험식품투여 중단	연관 가능성이 있음
R121	두통	중등증	없음	불명
R121	얼굴부위뽀루지,가려움증	경증	시험식품투여 중단	연관 가능성이 있음
R121	감기	중등증	치료약물 병용투여	연관이 없음
R122	콧물	경증	없음	연관이 없음
R122	기침	경증	없음	연관이 없음
R128	설사,똥은변	경증	치료약물 병용투여	연관 가능성이 있음
R130	기침,가래,감기증세	경증	치료약물 병용투여	연관이 없음
R130	속이 더부룩함	경증	없음	연관이 없음

- 시험대상자에서 발생한 이상반응은 허리통증, 간혹 가슴이 답답함, 얼굴부위 가려움증, 피부가려움증, 얼굴트러블, 두통, 얼굴부위 뻘루지, 가려움증, 콧물, 기침, 설사, 땀은변, 가래, 감기증세, 속이 더부룩함 증세를 보였으나 시험제품과 명백한 관련성을 찾을 수 없었음. 단, R119, 120, 121 시험대상자에서 발생한 가려움증과 얼굴트러블은 엉덩퀴 전초 중 꽃에 의한 알러지 반응으로 추정되며, 향후 개발 시 지속적으로 고려하여 진행하고자 함.
- 기초생체지표의 변화는 시험식품을 투여하기 직전과 투여한 후 6주 후의 변화량을 two-sample t-test의 방법으로 평가함. 또한, 그룹별 차이는 student's t-test를 이용하여 분석함. 그 결과, 모든 생체지표의 변화가 각 군에서 의미 있는 차이를 나타내지 않음.

표 25. 엉덩퀴추출물 섭취 전후 활력징후 변수의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
Systolic B.P.	116.17±13.07	111.50±12.22	4.67±9.62	0.013
Diastolic B.P.	74.70±10.30	72.57±9.27	2.13±7.06	0.108
Pulse	75.50±10.32	76.27±9.86	-.77±10.13	0.682
Temperature(°C)	36.54±.32	36.47±.33	.07±.47	0.425

† p value by Paired t-test

- 실험실검사 결과는 투여군 내에서는 시험식품 투여 전(0주)과 투여 후(6주)의 변화를 보기 위하여 two-sample t-test을 실시하였으며 각 군간 통계학적 유의한 차이를 보이지 않음.

표 26. 영경귀추출물 섭취 전후 생화학적 변화의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
ALP	61.57±15.28	61.57±15.58	.00±7.27	1.000
Total Protein	7.47±.42	7.52±.41	-.05±.40	0.472
AST	25.27±8.27	24.40±7.85	.87±10.27	0.647
ALT	23.07±12.06	22.90±15.42	.17±17.75	0.959
rGTP	25.80±18.47	24.97±16.05	.83±10.42	0.665
BUN	11.93±2.88	12.63±3.44	-.70±3.57	0.292
Creatinine	.67±.12	.89±.28	-.22±.26	<0.001
Glucose	92.10±9.10	98.27±31.88	-6.17±29.31	0.259
Uric acid	4.28±1.43	4.27±1.42	.01±.49	0.911
T o t a l Cholesterol	183.53±31.23	184.50±30.69	-.97±26.76	0.845
Triglyceride	94.77±50.70	88.87±59.81	5.90±32.94	0.335
LDL	108.27±24.94	109.40±25.49	-1.13±22.50	0.785
HDL	59.87±13.83	60.00±15.13	-.13±7.91	0.927

† p value by Paired t-test

표 27. 영경귀추출물 섭취 전후 혈액학적 변화의 검정

평가변수	시험 전 (mean±s.d.)	시험 후 (mean±s.d.)	차이 (mean±s.d.)	p value†
WBC	6.43±1.28	6.20±1.15	.23±1.29	0.337
RBC	4.42±.43	4.44±.43	-.02±.26	0.718
Hemoglobin	13.30±1.50	13.44±1.46	-.14±.71	0.276
Hematocrit	40.00±4.31	40.42±3.86	-.42±1.84	0.225
Platelet	266.27±55.40	269.87±54.60	-.60±31.16	0.917

† p value by Paired t-test

- 영경귀추출물의 불안증상 감소 효과를 연구하기 위하여 단일군, 공개 인체적용시험을 수행한 결과 불안증상의 감소에 기여하는 것으로 나타남. 본 인체적용시험을 통하여 영경귀 추출물은 안전한 식품임을 알 수 있었고, 알러지에 대한 부분을 개선하여 향후 이중맹검 등을 통한 연구를 통하여 기능성 식품으로 개발하고자 함.

아. 섬오가피추출물을 활용한 시제품개발

(1) 섬오가피추출물 품질규격설정 및 유통안정성평가

- 섬오가피추출물의 품질관리지표 설정(성상, 이물, 수분함량, 고형분, pH, 일반세균, 대장균군) 및 적합여부를 확인한 결과, 이미-이취-이물이 없는 것으로 확인되었으며, 고형분 함량은 Lot별로 차이는 있으나 7~8.5% 수준, pH4~5로 측정됨. 특히 중요한 일반세균과 대장균군 측정에서 일반세균은 불검출 되었으며, 대장균군도 음성으로 확인됨.
- 또한 공인분석기관에서 중금속(4종) 및 잔류농약(245항목) 분석한 결과 불검출을 확인함.

표 28. 섬오가피추출물의 중금속 및 대장균군 평가

시 험 항 목	단 위	시험방법	정량한계	결 과
납	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
카드뮴	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
비소	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
수은	µg/kg	식품공전	50	불검출
대장균군	**	식품공전	-	음성

- 주) (1) 불검출 = 정량한계 이하
 (2) g/100g = %(w/w)
 (3) - = No Regulation
 (4) ** = 단위없음

표 29. 섬오가피추출물의 잔류농약(245항목) 분석

시 험 항 목 : 잔류농약 245항목
 시 험 방 법 : 농산물품질관리원 다성분 동시 분석 I 법

Dichlorvos, Methabenzthiazuron, Terbutylazine, Iprobenfos, Simetryn, Metalaxyl, Terbutryn, Malathion, Parathion, Pendimethalin, Triadimenol, Triflumizole, Hexaconazole, Myclobutanil, Cyproconazole, Edifenphos, Etoxazole, Furathiocarb, Pyraclofos, Molinate, Chlorpropham, Cadusafos, Terbufos, Phosphamidone, Prometryn, Fenitrothion, Thiazopyr, Diphenamide, Isofenphos, Methidathion, Fenamiphos, Prothiofos, Iprovalicarb, Buprofezin, Diniconazole, (E, Z)pyriminobac-methyl, Tebufenpyrad, Azinphos-methyl, Bitertanol, Diphenylamine, Phorate, Diazinon, Chlorpyrifos-methyl, Pirimiphos-methyl, Fenthion, Fosthiazate, Dimepiperate, Fenothiocarb, Fludioxonil, Flusilazole, Tebuconazole, Metconazole, Phosalone, Fenbuconazole, Ethoprophos, Dimethoate, Tebupirimphos, Tolclofos-methyl, Esprocarb, Chlorpyrifos, Cyprodinil, Phenthoate, Paclbutrazole, Napropamide, Profenofos, Mepronil, Triazophos, EPN, Fenazaquin, Pyrazophos, Lufenuron, Triflumuron, Trifluralin, Dicloran, Disulfoton, Etrifos, Dimethenamide, Parathion-methyl, Chlorfluazuron, Dicofof, Penconazole, Chlorfenvinphos, Folpet, Flutolanil, Oxyfluorfen, Cyflufenamid, Chlorobenzilate, Carbophenothion, Bromopropylate, Fenpropathrin, Anilofos, Cyhalothrin, Permethrin, Halfenprox, Fenvalerate, Deltamethrin, Mevinphos, Simazine, Tefluthrin, Metobromuron, Metribuzin, Heptachlor(Heptachlor-epoxide), Probenazole, Aldrin, Tetraconazole, Procymidone, Simeconazole, Captan, Endosulfan(alpha, beta, sulfate), Imazalil, Oxadiazon, Thifluzamide, Chlorfenapyr, Zoxamide, Bifenthrin, Indanofan, Tetradifon, Clofentezine, Prochloraz, Flucythrinate, Difenoconazole, Azoxystrobin, BHC(alpha, beta, gamma, delta), Quintozene(pentachloroaniline, Methyl pentachlorophenyl sulfide), Bromobutide, Dithiopyr, Dichlofluanid, Metolachlor, Fthalide, Tolyfluanid, Fipronil, Butachlor, Isoprothiolane, Kresoxim-methyl, Fenoxanil, Ethion, Nuarimol, Iprodione, Piperophos, Fenamidone, Mefenacet, Acrinathrin, Cyfluthrin, Pyridaryl, Indoxacarb, Etridiazole, Ethalfuralin, Flufenoxuron, Chlorothalonil, Propanil, Vinclozolin, Alachlor, Thiobencarb, Triadimefon, Pirimiphos-ethyl, Mecarbam, Chinomethionat, Endrin(diieldrin), DDT(DDE, DDD), Ofurace, Diclofop-methyl, Pyridaphenthion, Methoxychlor, Bifenox, Fenarimol, Pyridaben, Cypermethrin, Pyrimidifen, Tralomethrin, Clothianidin, Imidacloprid, Thiachloprid, Thiophanate-methyl, Forchlofenuron, Diuron, Ferimzone, Flumioxazine, Diethofencarb, Tladinil, Mepanipyrim, Methoxyfenozide, Cyazofamide, Pencycuron, Metamifop, Novaluron, Fluacrypyrim, Pentoxazone, Pyribenzoxim, Pyributicarb, Tricyclazole, Carbendazim, Acetamiprid, Cymoxanil, Pyroquilon, Quinoclamine, Pirimicarb, Dimethomorph, Pyrimetanil, Dimethylvinphos, Diflubenzuron, Chromafenozide, Tebufenozide, Pyraclostrobin, Teflubenzuron, Imibenconazole, Cyhalofop-butyl, Pyriproxyfen, Fenpyroxiamte, Uniconazole, Bendicarb, Ethaboxam, Chlorantraniliprole, Bentiovalicarb-isopropyl, Mendiprofamide, Flupicolide, Flubendiamide, Hexaflumuron, Benzoximate, Trifloxystrobin, Amisulbram, Oxaziclomefon, Hexythiazox, Spiromesifen, Spirodiclofen, Silafluofen, Boscalid, Oxamyl, Methomyl, Aldicarb, Metolcarb, Propoxur, Ethiofencarb, Fenobucarb, Thiamethoxam, Thiodicarb, Carbofuran, Carbaryl, Isoprocarb, Methiocarb, Fluquinconazole, Propiconazole, Dieldrin, Chlordane, Thiabendazole, Etofenprox

시험결과 : 245 항목 불검출

- 건강기능식품 개발에서 소재의 안정성은 매우 중요한 요인의 하나이며, 대량생산된 섬오가피추출분말에 대한 품질관리 요인으로 이화화적인 지표로는 수분, 외관적 지표로는 색상, 미생물의 경우 일반세균과 진균을 확인하고 지표성분은 eleutheroside B와 eleutheroside E의 함량을 저장기간별(0, 4, 8, 12주), 저장온도별(25, 35, 45℃) 가속시험을 통한 변화정도를 측정하여 품질 안정성을 확인함.

시험 조건	가속시험	장기보존시험
	온도 : 35℃, 45℃	온도 : 25℃
	시험기간 : 24주 (지속체크 1년, 2년) 측정시기: 초기, 4, 8, 12, 24주	시험기간 : 24주 (지속체크 1년, 2년) 측정시기 : 초기, 4, 8, 12, 24주

- 그 결과, 수분함량은 저장온도가 증가할수록 다소 감소하는 경향을 확인하였으나, 기준규격으로 설정한 5% 이하를 유지하는 것을 확인하였으며, 일반세균 및 진균 측정결과 기준이하로 확인되어 품질에 이상이 없는 것으로 확인됨.
- 건강기능식품의 지표성분의 함량기준 범위는 80~120 %이므로 섬오가피 추출분말의 지표성분함량을 1.40%로 기준으로 하고 그 범위는 1.17~1.68 %로 설정하였음. 그 결과

초기치 1.45%를 기준으로 4주, 8주, 12주의 함량변화는 1.33~1.47 %으로 기준범위에 모두 포함되는 분석치를 확인하였으며, 유의적인 차이도 없는 것으로 판단되었음. 또한, 온도조건별로도 0.05%이하 수준으로 차이가 나는 것을 확인하여, 지표성분의 안정성이 매우 높은 것을 확인할 수 있었음.

- 유통기한 산출 계산식으로 분석한 결과, 저장 안정성을 24개월로 추정할 수 있었으며 지속적인 실측실험을 진행하여 안정성을 근거자료를 계속 확보하고자 함.

(2) 섬오가피추출물의 제형테스트

- 섬오가피 추출분말 타입을 검토한 결과, 분말화가 잘되는 편이며, 용해도가 높은 것으로 확인되어 보다 다양한 제형에 적용이 가능할 것으로 확인함. 분말타입의 제형에 적용하기 위하여 흐름성 강화를 위한 과립테스트를 진행하였음. 그 결과, 덱스트린과 같은 부형제를 최소화(10-20%)하여 과립 최적 조건을 설정할 수 있었으며 이는 일반적으로 과일추출농축액이 분말화를 위하여 사용하는 40-50%의 부형제 사용을 50%이상 감소시킬 수 있는 것으로 확인함



- 섬오가피추출분말을 이용한 정제제품 테스트 진행결과 아래와 같은 조건에서 타정이 효과적으로 진행되는 것으로 확인되었음



[섬오가피추출물정제]

표 30. 섬오가피추출물 정제제품 생산 원료 배합비 테스트 조건

원 료 명	나정			코팅정		
	배합 비율 (%)	함량 (mg)	1일 총섭취량	배합 비율 (%)	함량 (mg)	1일 총섭취량
섬오가피추출물	60.000	600.00	1200.0	60.000	600.00	1200.0
결정셀룰로오스	17.000	170.00	340.00	16.460	164.60	340.00
유당	20.000	200.00	400.00	20.000	200.00	400.00
이산화규소	1.8000	18.000	36.000	1.8000	18.000	36.000
HPMC				0.5000	5.0000	0.0000
글리세린지방산에스테르				0.0400	0.4000	0.0000
스마그	1.2000	12.000	24.000	1.2000	12.000	24.000
원재료비 계	100.00	1000.0	2000.0	100.00	1000.0	2000.000

- 섬오가피추출분말을 음료제형에 적용 테스트를 진행한 결과 수용성이 떨어지는 것을 확인하였으며 이를 개선하기 위하여 추출농축액 타입으로 생산규격을 설정하는 연구를 수행함. 그 결과, 추출액의 1/20로 농축하고 고형분 함량을 10% 수준으로 설정하여 사용하는 것이 최적인 것으로 확인됨.



(3) 시장동향 및 소비자조사

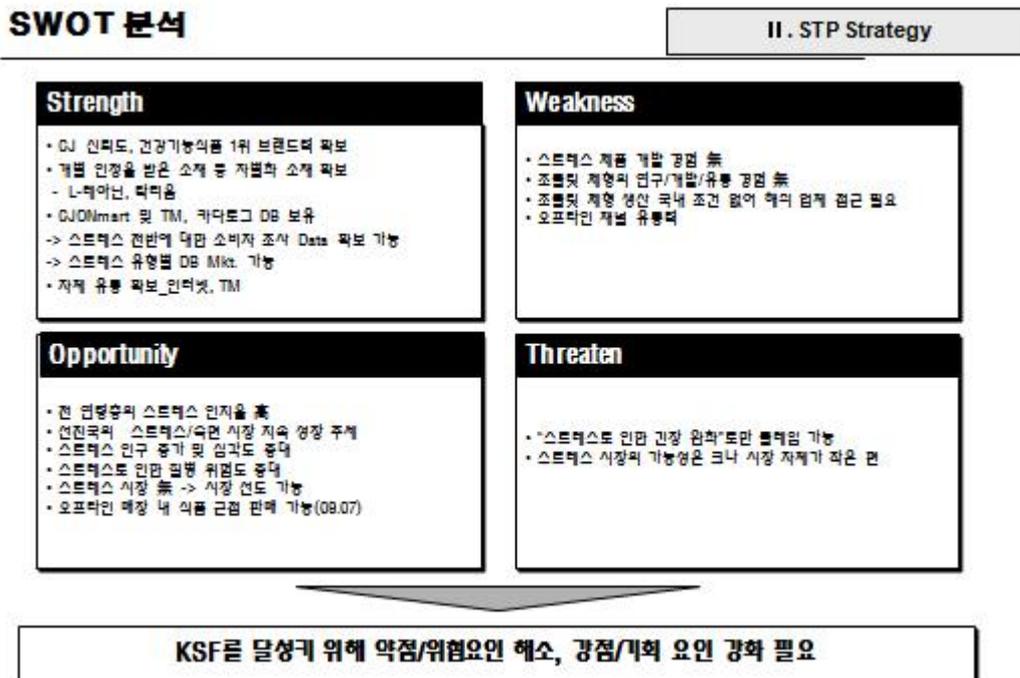
- 최근 해외식품박람회를 참관하여 보면, Mood/Mental Health management(정신건강 관련 기능성 식품)가 지속 성장하고 있는 것으로 확인됨 * Vitafoods Asia 참관 결과

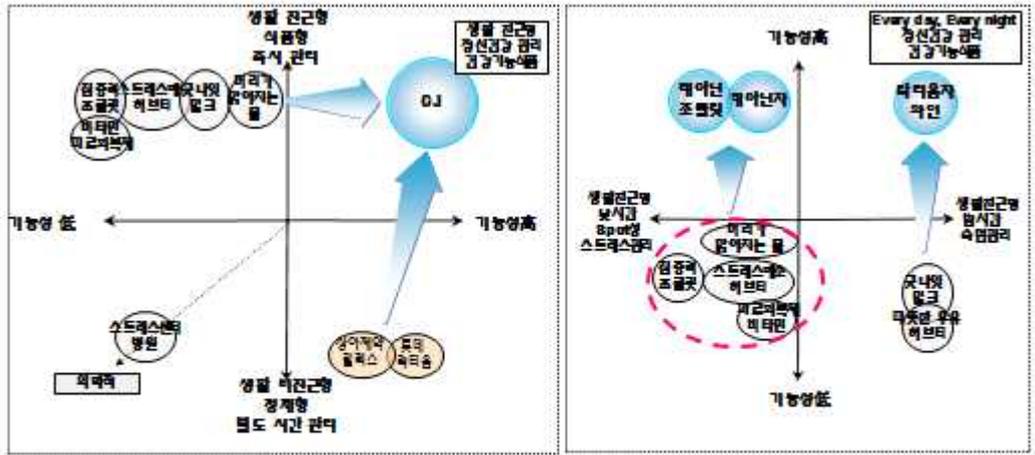


- DSM은 vitamins, carotenoids 및 fine chemicals 제조 및 성분배합을 전문으로 하는 회사임
- **Relaxation & Sleep을 위한 Vitamins & Nutritional lipids 제품**
 - Vitamin B12는 수면의 질을 증가시켜줌 [Quali-B]
 - Niacin과 vitamin B6은 serotonin과 melatonin의 생산에 필수성분으로 수면Cycle에 도움
 - Vitamin D은 mood와 circadian rhythm의 영향을 주는 요인으로 수면질에 영향을 줌
 - Omega 3는 뇌세포막의 중요 구성 성분이며, serotonin, noradrenalin 및 dopamine과 같은 neurotransmitters의 분비 및 조절에 중요한 작용을 함
 - Minerals 중 magnesium과 Zinc은 relaxation에 중요한 작용을 함
- **Relaxation을 위한 Nutraceuticals**
 - Chamomile은 신경의 긴장을 완화시켜줌
 - Lemon Balm은 GABA를 증가시키고 calming effect를 줌
 - L-theanine은 Blood-brain barrier을 통과할 수 있는 성분으로 alpha-wave brain activity를 증가시켜 relaxation에 좋은 효과를 줌
- **Sleep을 위한 Nutraceuticals**
 - Tryptophan은 serotonin의 전구물질로 수면시간 증가에 효과적
 - Valerian은 relax와 수면에 도움을 줄 수 있음, 임상연구를 통해서도 확인 됨.
- **DSM의 정신건강 제품line**
 - 최근 Empower your mind, Energize your mind, Relax your mind 시리즈를 개발함
 - 논의를 통해 최적의 배합비를 설정하여 제조 공급할 수 있다고 함



- 국내시장에서 소비자니즈에 대한 조사는 거의 되어 있지 않은 실정이기에 우선 스트레스 및 그로 인한 증상들에 대한 소비자 조사를 실시함. Target 소비자층은 스트레스 노출수위가 높은 3그룹(수험생, 취업생, 40대중심의 직장인)을 선정하여 진행하였으며, 스트레스를 느끼는 정도, 해결방안 및 이를 건강식품 또는 건강기능식품으로 해결하는 것에 대한 연관성에 대해 질문하고 응답을 분석하여 新건강기능식품의 접근 방향을 탐색함.
- 스트레스 및 그로 인한 증상인 우울/불안관련 평가지(병원진단용)을 이용하여 분석한 결과와 open question을 통한 결과를 비교하여 본 결과, 평가지에 의한 진단보다는 개인이 느끼는 자각 강도가 높은 특징이 있는 영역임을 확인 할 수 있었음. 이러한 결과는 시장분석자료에 있는 분석치보다 더 큰 시장이 창출 될 수 있을 것으로 추정됨.
- 다른 영역의 건강기능식품보다 자각 및 해소정도가 매우 중요한 시장이며 이를 식품으로 해결할 수 있다는 연결고리를 만들어 소비자 인식을 높여야 할 것으로 사료되며, 추후 사업방향 설정을 위한 SWOT분석 및 Positioning을 검토함.





Every day, Every night 나의 생활과 함께 하는
생활 친근형 정신건강 브랜드로 positioning

(4) 섬오가피추출물(CJAK) 함유 시제품 개발

○ 스트레스 관련 시장 현황을 재검토한 뒤 'Relaxtion Drink' 제품 컨셉을 도출하였으며, 섬오가피추출농축액과 부원료들의 배합비(안)를 구축하고, 자각효능이 있는 용량을 설정하여 2종의 음료 시제품을 개발함. 소비자를 대상으로 관능평가(C&U) 및 구매의향도를 조사한 결과, 긍정적인 결과(3.8이상)를 도출하였으며 이를 기반으로 지속적인 제품개발을 진행하고자 함.



원재료	배합비(%)	병당 투입량(g)
섬오가피추출농축액	0.47	1.54
사과농축액	0.91	3.00
레몬농축액	0.91	3.00
사과향	0.08	0.25
레몬향	0.08	0.25
액상과당	2.42	8.00
허브혼합추출액	95.14	313.96
합계	100	330

담당	PM
<p>▶ 스트레스 관련 제품(음료) 스트레스 TPO 및 스트레스로 인한 증상 해소와 관련된 POINT를 스구하는 제품으로는 슬의논, 라이프워터, 앙그리버드 등이 있으나, 라이프워터의 경우에는 전반적인 건강 컨셉으로 스구하여 바타인워터와 유사한 POSITIONING을 하고 있으며, 앙그리버드의 경우에는 판매 실적이 저조한 것으로 판단됨.</p>	
 <p>머리까지 시원해지는 느낌 슬의논(도매)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ 타겟 : 스트레스를 많이 받는 직장인이나 대학생 ▶ 성분 : 슬라주올농축액(폴리페놀) ▶ 가격 : 1000원선 	 <p>얼받니? 화끈하게 날려버려! 앙그리버드(타우린 소다) (도매)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ 성분 : 타우린 1,000MG 함유(탄산음료)
 <p>멀티바타인 생수음료 라이프워터(한국민수업(주)회사)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ 타겟 : 스트레스를 많이 받는 직장인이나 대학생 ▶ 성분 & 기능성 <ul style="list-style-type: none"> ① 멀티엘리트-심전대사 원할 비타민B3,5,6,12, L-CARNITINE ② 울라베리맛-활성산소 감소 비타민B3,5,6,12, 비타민E 	 <p>얼받니? 상급하게 날려버려! 앙그리버드(비타민 소다) (도매)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ 성분 : 비타민C 500MG 함유(탄산음료) ▶ 타겟 : 스마트폰 익숙한 젊은 세대 ▶ 2012년 6월 출시 ※ 유통기한 일막 재고를 온라인 판매중임

담당	PM
<p>▶ 제품의 특징 “스트레스 TPO(피중/용분, 긴장, 불안, 우울 등에 마시는 스트레스 해소 음료)”</p> <p>① 성분 및 효능</p> <ul style="list-style-type: none"> · 망스트레스 소재로 개발중인 성오가피 함유 (참고) 성오가피 : 동의보감, 문조강목에 ‘정신을 맑게’ 해주는 효능에 대해 소개된 식재료, 스트레스 완화, 기분전환 등에 좋은 것으로 알려져 있습니다. · 자각효능 및 소비자 인지 고려한 허브류 첨가 <p>② 제품의 색상 다양화 및 감각테라피 활용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 감각테라피에서 받고 있는 색상별 심리적 효과와 제품의 효능 간 MATCHING & STORY TELLING - 감성적 접근 및 재미요소 부여 <p>예) 레드 : 고강신장에 자극을 주어 전신에 활력이 생겨 신체가 최대한으로 활동할 수 있는 힘을 돕, 기분유율을 막음</p> <p>핑크 : 뇌 안의 엔도르핀의 분비가 왕성해져 스트레스가 해소되고 행복감을 느끼게 함</p> <p>옐로우 : 뇌를 활성화시키고 신체 내부로부터 원기가 살아나게 함, 기운을 맑게 하고 희망을 가지게 만드는 색</p> <p>그린 : 활력을 높주고 긴장완화, 감정을 느긋하게 진정시키는 데 효과</p> <p>퍼플 : 체내의 피로기능을 가진 세포가 활발히 움직여 스트레스를 해소시키고 피로를 풀어줌</p> <p>③ 분리본말컨 적용</p> <ul style="list-style-type: none"> · 두정을 돌리면 두정속에 숨어있던 분말이 물속으로 떨어져 섞이는 제품 → 분말이 물과 섞이며 색상이 변하는 것을 보는 즐거움과 보는 동안 마음의 진정효과 → 원료에 있는 유용한 성분을 두정속에 그대로 보존할 수 있음 → 먹기 직전 바로 섞어 먹어, 신선한 이미지 부여 	
	 <p><참고이미지></p>

2. 불면개선용 소재 및 제품 개발

가. 후보소재 탐색

- 한방적으로 청열(淸熱) 또는 안신(安神)하는 약물이 진정 또는 수면유도의 기능이 있다고 알려져 있음. 따라서 1차적으로 전통문헌을 근거로 수면개선 기능성 소재 후보군을 약 30가지를 설정하였음. 이러한 후보군에 대하여 논문, 특허, 민간요법 등을 조사하고, 국내자생여부 및 생산량, 식용 가능 유무, 산업화 가능성, 사회적 인식 등을 다각적으로

고려한 뒤, 전문가(경희대학교 약학대학 명예교수 육창수)와 토의하여 총 8가지의 후보물질을 최종 선정하였음. 선정한 후보 물질은 다음과 같음(표 31).

표 31. 불면개선용 기능성 소재 후보물질 각 선정 근거

후보물질	학명	한방적 효능	선정 근거
소엽맥문동	<i>Opiopogon japonicus</i>	清心除熱	전통문헌, 민간요법
산조인	<i>Zizyphus jujuba</i>	養心安神	전통문헌, 민간요법
죽엽	<i>Sasa japonica var. purpurascens</i>	清熱除煩	전통문헌, 민간요법
길초근	<i>Valeriana officinalis var. latifolia</i>	心神安定	논문
하고초	<i>Prunella vulgaris var. lilacina Nakai</i>	清肝火, 散鬱結	전통문헌
애엽	<i>Artemisia princeps var. orientalis</i>	溫經	전통문헌
상엽	<i>Morus alba</i>	平肝, 清肺潤燥	전통문헌
약쑥	<i>Artemisia princeps var. orientalis</i>	溫經	전통문헌

- 각 후보물질의 70% 에탄올 추출물을 제작하였고, 실험동물을 이용하여 pentobarbital 유도 수면 시험에서 수면유도 작용이 있는지 확인하였음. 실험결과에 따르면 소엽맥문동(그림. 28 A, B), 산조인(그림. 28 C, D), 죽엽(그림. 28. E, F)의 70% 에탄올 추출물은 설정한 실험용량에서 수면유도 시간의 감소 또는 수면지속 시간의 증가가 관찰되지 않았음. 따라서 본 소재들은 수면유도 작용이 없다고 판단하였음.
- 길초근(그림. 28. G, H), 하고초(그림. 28 I, J), 애엽(그림. 28. K, L), 상엽(그림. 28 M, N)의 70% 에탄올 추출물의 경우의 대조군과 비교하여 통계적으로 유의미한 수면유도 시간의 감소 또는 수면지속 시간의 증가가 관찰되었으며, 이는 수면개선 기능성 소재로 가능성이 있음을 의미함. 또한 본 약물들을 이용하여 추출농도의 변화에 따른 활성 평가, 배합에 따른 활성평가 등을 진행하였음.

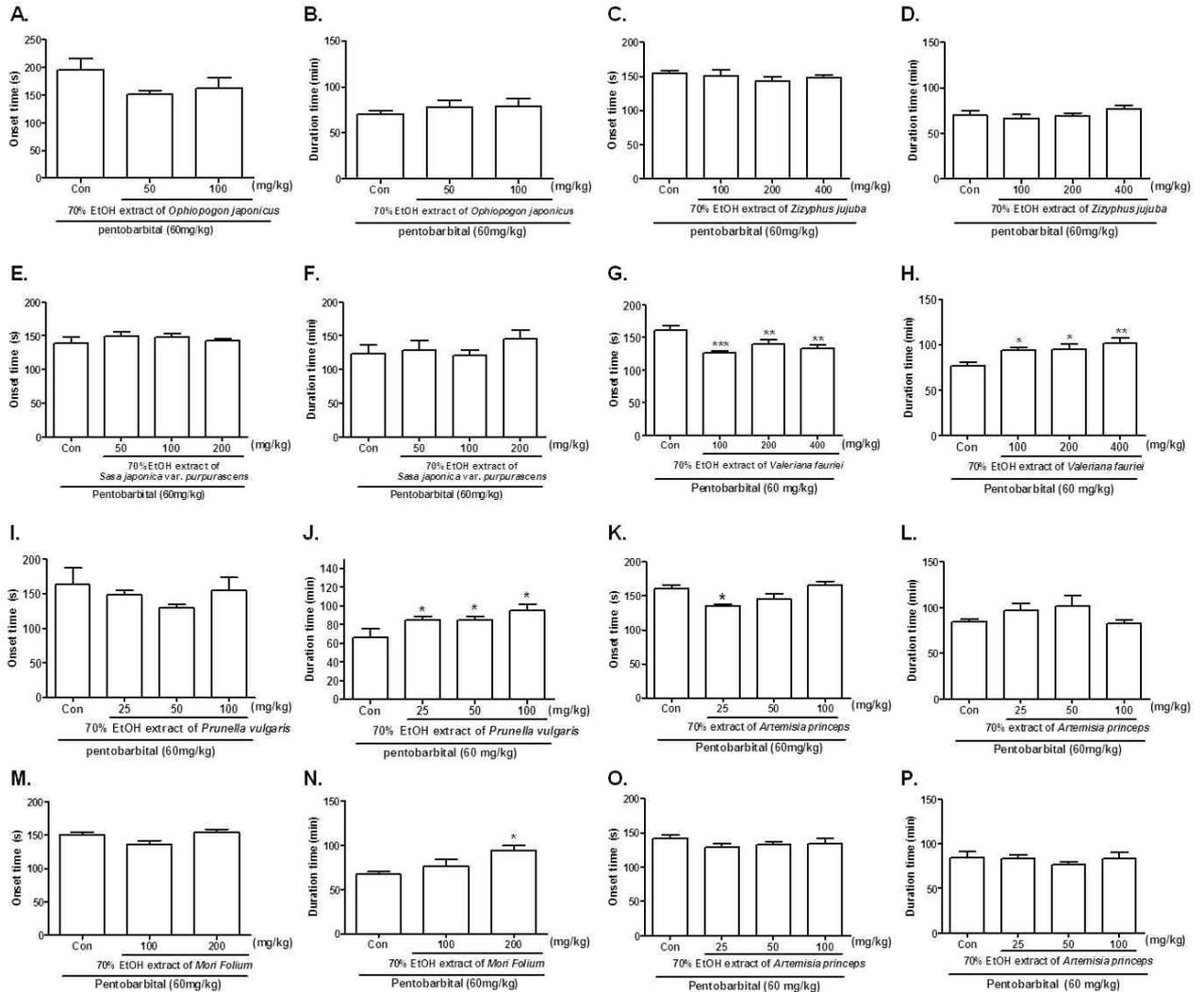


그림. 28. The effects of *Ophiopogon japonicus* (A, B), *Zizyphus jujuba* (C, D), *Sasa japonica* var. *purpurascens* (E, F), *Valeriana officinalis* var. *latifolia* (G, H), *Prunella vulgaris* var. *lilacina* (I, J), *Artemisia princeps* var. *orientalis* (K, L), *Morus alba* (M, N), *Artemisia princeps* (O, P) on the sleep onset time and sleep duration time in the phentobarbital (60 mg/kg)-induced sleep test in mice.

○ 후보검색에서 가장 효과가 좋았던 길초근, 하고초, 애엽 추출물(각 30, 70, 99.9%)에 대하여 추가 연구를 진행하였음. 이중 길초근의 30% 에탄올 추출물의 투여는 수면유도 감소 및 수면시간 증가가 나타나지 않았음(그림. 28. A, B). 따라서 길초근은 70% 이상의 에탄올 추출물에서 효과가 있는 것으로 확인됨. 길초근추출물의 경우 원료에서 불쾌한 냄새(길초근의 이명이 쥐오줌풀임)가 나고, 이러한 것은 소비자에게 불쾌함을 줄 수 있으며, 국내수급의 어려움 및 국외에서 탈취한 길초근추출물을 활용하여 제품판매가 되고 있으므로 제외하고자 함. 또한 길초근추출물의 유효성 확인 연구결과는 본 연구진이 연구방법이 수면평가에 효과적임을 검증해주는 결과라 할 수 있음.

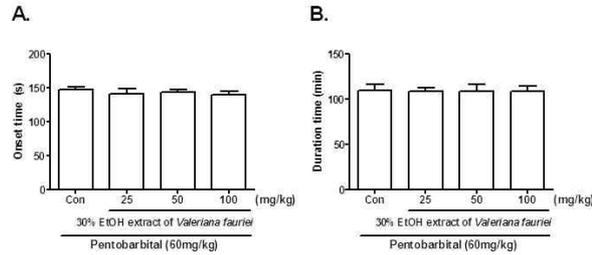


그림. 29. The effects of 30% EtOH extract of *Valeriana officinalis* var. *latifolia* on the sleep onset time (A) and sleep duration time (B) in the phentobarbital (60 mg/kg)-induced sleep test in mice.

- 후보소재 탐색결과를 바탕으로 ‘하고초’를 최우선 소재로 심화 연구를 수행하고 이외 후보소재들에 대해서도 추가 연구를 수행하고자 함.

나. 원물의 규격화

- 하고초(*Prunella vulgaris* L., 꿀풀, 유월건, 맥수하고초)은 우리나라 전국 각처의 산야지 양지에 자생, 여러해살이풀로 높이는 약 1m 정도이며 어린순, 어린잎, 꽃대 식용 가능함. 5~6월에 꽃이 피고 여름이면 시듦, 온화하고 습윤한 기후가 좋지만 내한성 있음, 양지바르고 배수가 잘되는 사질양토가 가장 적합하며 점질 또는 석회질 토양에서도 잘 자람.
- 하고초는 함양군의 지역특산물로 지정하고 양봉 및 관광 사업을 위한 목적으로 재배되고 있었으나 양봉사업이 어려워지면서 현재는 재배량이 매우 감소하고 있는 것으로 확인됨. 원물확보의 어려움은 산업화에 있어서 굉장한 위험요인이며 이를 해결하기 위한 근본적인 방안 마련을 위하여 전략구매 전문가의 자문 및 원물 필요량 산출 등을 검토하고 재배농가와 협의과정을 수행함. 기능성 연구결과 및 수면시장의 사업성을 고려하여 필요한 원물의 양을 계약재배하여 확보하고자 함. 우선 소재개발을 위한 원물을 확보하고자 현지방문을 통하여 보관하고 있는 건조원물 70kg을 구입진행하고 올해 생산되는 원물 30kg를 확보하여 총 100kg (건조물기준)을 확보하여 소재개발을 진행하였음.
- 또한, 하고초의 경우 식품의약품안전처의 식품원재료검색 정보에서 보면 식용가능 부위를 어린순, 어린잎, 꽃자루로 표기하고 있으나, 원물 수확과정에서 꽃자루만은 수확하는 과정 및 생산효율을 고려하였을 때 전초사용이 불가피하여 가능방안을 검토함. 하고초 전초섭취에 대한 식경험 근거를 확보하고 안전성 평가(단회, 유전독성)를 진행한 뒤 식품의약품안전처에 협의를 진행하고자 함.

- 현재는 원료수급이 안정적이지 못하므로 전략구매와 함께 계약재배 및 수급 방법을 협의한 뒤 농가현장 및 산업과 가능 원물규격을 설정하고자 함.



원재료명	꿀풀	
이명	유월건(六月乾), 맥수하고초(麥穗夏故草), Xia ku cao, self heal, all heal	
학명	<i>Prunella vulgaris</i> L.	
생약명	하고초 (夏枯草, Prunellae Spica)	
원재료 분류	식물	
식용가능 여부	가능	어린순 / 어린잎 / 꽃자루
	제한적	
	불가능	
	※ 해당부위를 클릭하시면 부위별 상세정보를 확인 할 수 있습니다.	



이미지 출처 : 국립수목원

1 2

클릭하시면 원래 크기로 보실 수 있습니다.

* (참고) 식품의약품안전처 식품원재료 검색

다. 지표성분 및 최적추출조건 설정

지표성분 탐색

- 하고초추출물의 지표성분을 탐색한 결과 dansensu 성분을 분리하였으나, 이는 제품의 품질지표성분 관리에 어려움이 있으므로 품질관리지표성분으로 함량이 1%이상이며 분석조건이 용이한 후보지표성분(Rosmarinic acid, Ursolic acid, Oleanolic acid, Caffeic acid, p-Hydroxy cinnamic) 중 Rosmarinic acid를 선정하여 추출조건별 함량분석을 진행함.

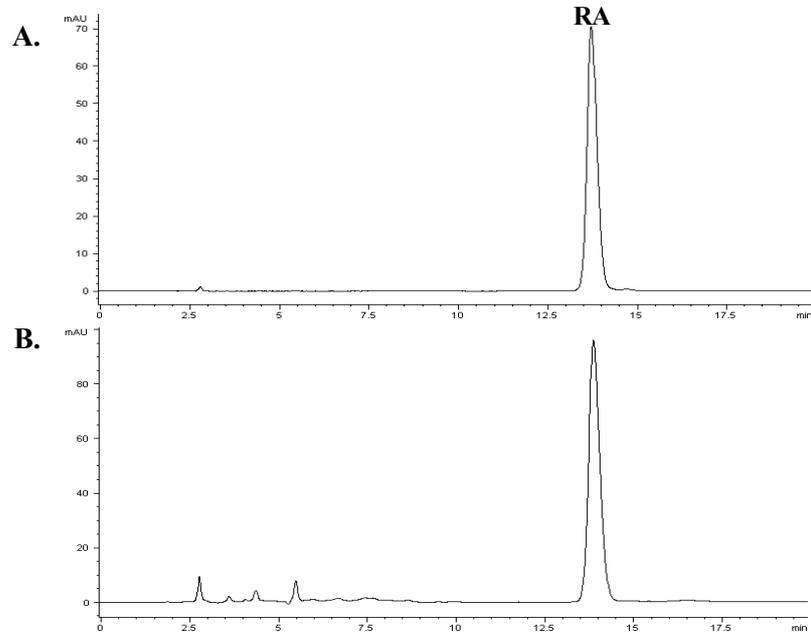
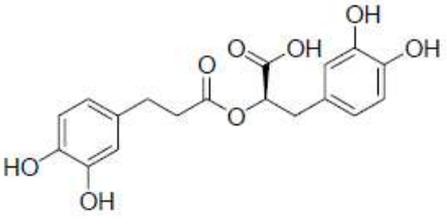


그림 30. HPLC chromarogram of Rosmarinic acid (A, RA) and *Prunella vulgaris* L extract (B).

표 32. HPLC condition for Rosmarinic acid of *Prunella vulgaris* L extract

Parameters	Conditions	
Column	Phenomenex Luna 5u C18(2) 250x4.60x5	 <p style="text-align: center;">Rosmarinic acid</p>
Mobile phase	Acetonitrile : water (22:78) with 1% Acetic acid	
Detector	320nm	
Flow rate	1.0mL/min	
injection volumn	10μL	
Column Temp.	30℃	

하고초추출물 제조조건 최적화

- 하고초추출물 추출조건을 설정하기 위하여 관련 참고문헌을 탐색한 뒤 선행연구를 기반으로 추출시간, 추출 주정농도, 추출온도에 대한 요인별 추출조건에 따른 수율 및 지표성분인 rosmarinic acid 함량을 분석하였으며, 그 결과 45~50% 주정, 70℃, 3시간 추출하는 것이 가장 효과적인 것으로 확인함. 이를 바탕으로 제조가공비용을 고려하여 대량생산조건의 최적화 연구를 통하여 표준화를 완료하고자 하며 이를 이용하여 효능평가를 통해 최종 확정하고자 함

표 33. Contents of rosmarinic acid in various extraction condition of *Prunella vulgaris* L

Extraction condition		Yield (%)	Rosmarinic acid (%/g dry weight)
Extraction temperature	Extraction solvent		
70℃	H ₂ O	16.31	1.37
70℃	10% EtOH	17.79	1.51
70℃	30% EtOH	18.42	1.70
70℃	50% EtOH	18.79	1.96
70℃	70% EtOH	17.45	1.98
70℃	100% EtOH	7.13	1.96
30℃	70% EtOH	7.98	1.14
40℃	70% EtOH	8.00	1.09
50℃	70% EtOH	12.29	1.64
60℃	70% EtOH	15.68	1.82
70℃	70% EtOH	17.45	1.98

표 34. 하고초추출물 Lab-Scale 최적조건(요약)

단계	제조공정		표준화 조건	세부 내용
Step1	원료	지표	Rosmarinic acid	초기 5 가지 하고초의 지표성분 후보군을 설정하고 분석조건을 세팅한 결과, Rosmarinic acid 로 지표성분을 정함.
		종 지역 부위 시기	하고초 경남 함양 꽃대:줄기 6 월	산지별(함양, 영천, 중국) 지표함량 비교 부위별 지표함량 비교 년 1 회 5~6 월 수확
Step2	분쇄	입도(상) 입도(중) 입도(하)	o	조분쇄 수준의 입도로 분쇄 후 추출(8~10 mesh)
Step3	추출	용매 가수 온도 시간 횟수 교반/정치	40~50% EtOH 원료:용매=1:10 70~80℃ 2~3 시간 1~2 회 정치	용매 종류별, 에탄올 함량별 지표함량 비교 원료 추출 시 용매 함유비율 확정 온도별 추출 시 지표함량 비교 후 확정 시간별 추출 시 지표함량 비교 후 확정 추출횟수 별 지표함량 비교 후 확정 수율 및 지표함량 차이 거의 없음
Step4	여과	Filter Centri.	5 μm Filter/감압	Lab 사용 일반 filter paper 여과 조건 50% 에탄올 추출/여과 시 원심분리 공정 불필요
Step5	농축	Evaporator/45~50℃		Lab 사용 일반 농축
Step6	건조	동결 건조		수율 15~20%

라. 대량생산공정구축

- 건강기능식품은 GMP 제조시설에서 제품을 생산해야 하는 기준조건에 따라 하고초 추출물 대량생산공정을 구축하였으며 3회 연속생산 결과, 재현성을 확보함.

GMP업체	대 량 생 산 설 비
B사	추출-여과-농축 설비 이용가능 하나, 별도의 건조(SD, FD)업체를 필요 추출장비 1.8ton(두대): 용매순환식 추출기이므로 수율이 낮을 것으로 예상 타업체에 비해 규모는 작으나, 반복생산을 통한 주정사용 절감 가능

- 현재 국내 GMP시설 중 건강기능식품제조에 가장 적당하다고 판단되는 제조처이며 반복생산을 통해 대량생산 공정에 대한 세부 표준화 작업을 진행하여 각 공정에 대한 기준 및 규격을 설정함. “하고초 원물 수급→조분쇄→원물건조→분쇄→칭량→추출→여과→농축→건조” 단계에 따라 반복 대량생산 Test을 진행하였으며, 단계별 미생물 검출여부 및 지표성분 함량 변화 등을 분석하고 공정 및 기준규격을 확립함.

표 35. 하고초추출물 대량생산공정(요약)

순서	공정내용	세부설명
원료	식품의 기준 및 규격에 적합한 것 사용	하고초 원료는 세척하여 건조 후 조분쇄한 것을 사용한다.
정수	순수제조장치로 정수처리한 정제수를 사용	먹는 물 기준에 적합한 지하수를 사용하여 정제한 RO수를 사용한다.
칭량	원료를 칭량저울을 이용하여 칭량	추출망을 제외한 실중량을 소수점 첫째자리 기준으로 외부 칭량실에서 추출망에 PE비닐을 씌우고 칭량한다.
희석	정제수로 주정을 40~50%범위로 희석	희석은 추출탱크의 해당볼륨을 눈금으로 확인 후 먼저 정제수를 200L 투입 후 주정으로 400L 눈금까지 맞추는 것으로 한다. (400L기준)
투입	칭량된 원료를 추출용매에 투입	추출망에 넣은 원료를 투입후 추출기 내부추출망 뚜껑을 덮어 추출용매에 충분히 잠기도록 한다.
추출	원료를 70℃에서 2시간 동안 순환 추출	추출기 온도 도달 후 2시간 동안 추출하고 추출액 이송 후 슬러지를 정제수 또는 회수 알코올을 사용하여 세척하며 스테인레스 재질의 내부추출망 뚜껑 2개를 사용하여 추출기 내부에서 약 50cm 높이로 슬러지가 눌러 남은 여액을 회수 할 수 있도록 한다.
여과	추출액을 5~10um필터를 사용하여 여과	여과기에 5~10um 필터를 사용하여 여과한다.
농축	여과된 추출액을 진공감압농축기 (600~700 mmHg) 온도 60℃이하, 고형분 30%이하 농축	최종원료의 동결건조에 따라 농축은 고형분 12~15%범위로 한다.
살균	농축된 원료를 농축기에서 85℃, 30분간 살균	시생산의 경우 볼륨에 따라 소량은 농축기를 사용하고 대량일 경우 증숙기를 사용하여 살균한다.
포장	살균된 농축액을 식품전용용기에 밀봉포장	살균된 농축액을 HDPE용기에 25kg단위로 포장한다.
검사	위의 밀봉 포장된 원료를 일반식품 기준, 규격에 따라 적부를 자가 검사	포장된 농축액을 일부 개봉하여 샘플채취하고 미생물시험을 포함한 규격시험을 진행한다.
출하	자가품질검사 결과 적합한 경우 저온보관소에서 제조번호 및 유통기한을 표시한 후 출하	검사결과 적합한 경우 표시사항을 부착하여 동결건조업체로 출하한다.

마. 기능성평가(in vitro & in vivo)

(1) 수면 개선 효능 평가(in vivo)

- 하고초의 경우, 다양한 농도의 에탄올 비율로 추출물을 제작하여 각 추출물에 대한

수면유도 시험을 진행하고 있음. 한편, 본 연구진의 선행연구에 따르면 하고초의 성분 중 danshensu가 수면유도 작용의 생리활성성분으로서의 가능성이 있어 추가 연구를 진행하였음. 아래 그림 31.에 따르면, danshensu는 pentobarbital (60 mg/kg)으로 유도한 수면시험에서 유의미한 수면유도 시간의 감소(그림 31. A) 및 수면지속 시간의 증가(그림 31. B)를 나타내는 것으로 확인됨. 한편, 기존의 pentobarbital 농도(60 mg/kg) 보다 약간 낮으면서 약간의 수면유도 작용을 가지는 sub-effect 농도를 설정(50 mg/kg) 하여 danshensu의 수면 유도 효과를 확인하였음. 본 실험에서도 마찬가지로 danshensu는 비록 통계적으로 유의미하지는 않지만 수면유도 시간의 감소(그림 31. C) 및 수면지속 시간의 증가(그림 31. D)를 나타내는 것으로 확인됨. 따라서 하고초의 수면유지 시간 증강 작용은 danshensu에 의한 것으로 판단됨.

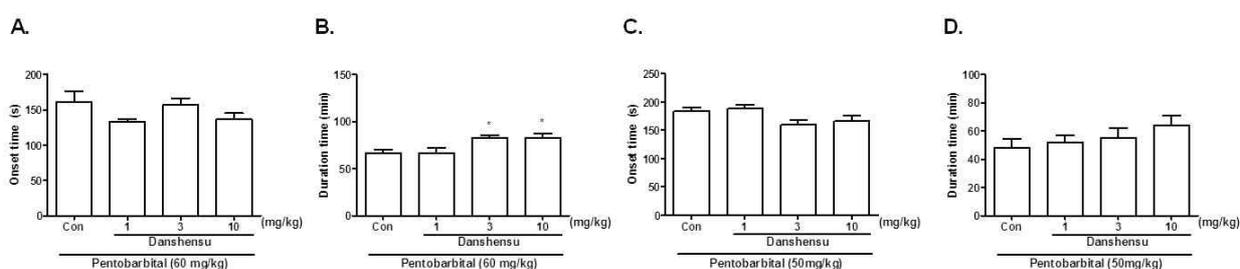


그림 31. The effects of danshensu on the sleep onset time and sleep duration time in the phentobarbital (50 or 60 mg/kg)-induced sleep test in mice.

○ 수면유도 작용을 가지는 약물이 진정 및 항불안 작용을 가지는 것에 착안하여, danshensu가 항불안 작용을 가지는지 행동학적 실험을 통하여 확인하였음. 실험동물의 불안을 측정할 수 있는 상승된 십자미로 시험(elevated-plus maze test)를 실시한 결과, danshensu의 투여는 대조군과 비교하여 열린공간에서의 머무른 시간(그림 32. A)과 이동횟수(그림 32. B)를 증가시켰으며 이는 danshensu가 유의미한 항불안 작용을 가지고 있음을 의미함. 또한 기존의 항불안 약물의 흔한 부작용인 운동성 저하 및 근육계통의 이상이 있는지 확인해 본 결과, danshensu의 투여는 운동능력의 저하(그림 32. C) 또는 일반운동활성의 변화(그림 32. D)가 관찰되지 않았음. 결과적으로 danshensu는 수면유도 및 항불안 작용이 있는 것으로 판단되고 특이한 부작용은 관찰되지 않았으며, 향후 추가연구를 통하여 항불안제로의 개발 가능성이 있다고 판단됨. 이러한 결과들은 현재 국외저널에 논문게재 (Kwon et al., 2014) 및 투고 중이며, 특허출원 중에 있음.

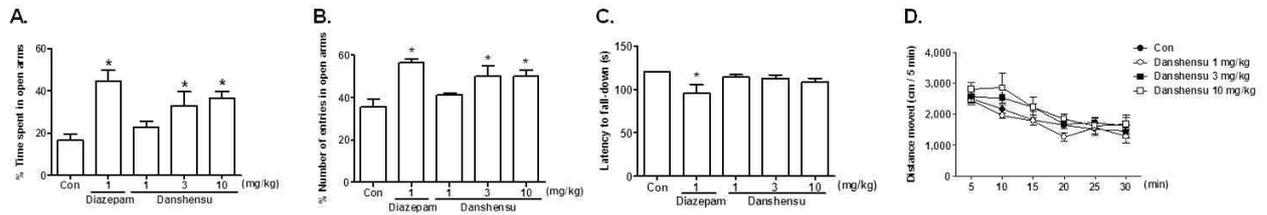


그림 32. The effects of danshensu on the anxiety-like behavior in the elevated-plus maze test (A, B), motor coordination in the rota-rod test (C), or locomotor activity in the open field test (D) in mice.

○ 애엽을 각각 30%, 70%, 99.9% 에탄올로 추출하여, pentobarbital 유도 수면 시험에서 수면유도 작용이 있는지 확인하였음. 애엽 30% 에탄올 추출물은 수면유도 시간 및 수면지속 시간에서 대조군과 비교하여 차이가 없었음(그림 33. A, B). 한편, 애엽의 70% 에탄올 추출물(그림 33. C) 및 99.9% 에탄올 추출물(그림 33. D)은 통계적으로 유의미하게 수면유도 시간을 감소시켰음. 이러한 결과는 애엽의 70% 이상 비율의 에탄올 추출물이 수면유도 촉진 작용을 가지는 것으로 판단됨. 한편, 99.9% 에탄올 추출법의 경우 산업화 과정에서 지나치게 많은 원료 생산비를 요구하므로 향후 연구에서는 70%에탄올 추출물을 이용하여 실험을 진행하였음.

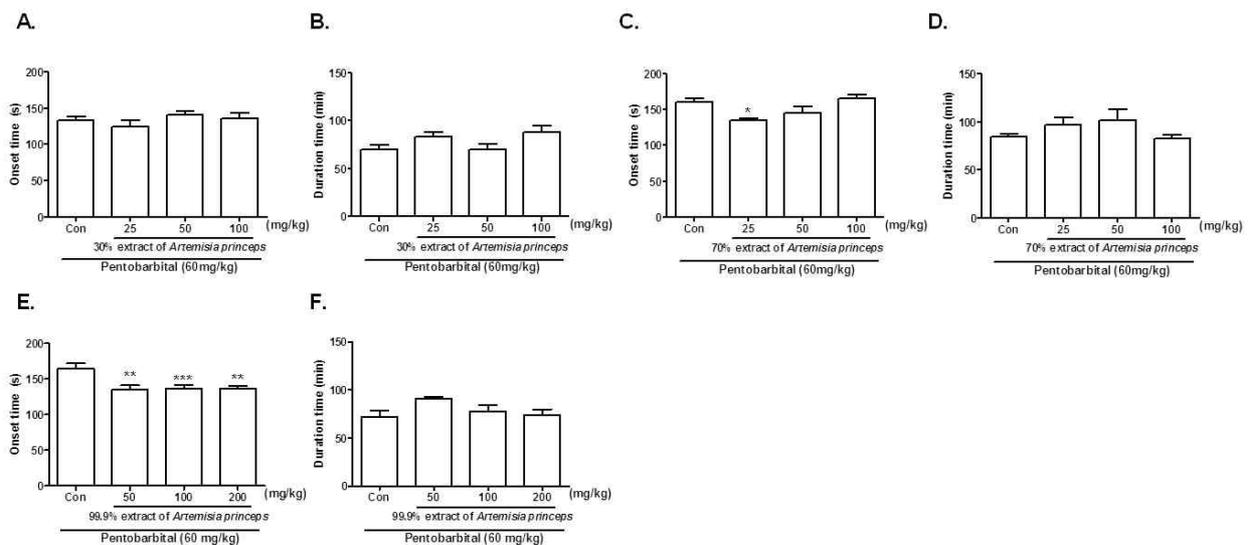


그림 33. The effects of 30% (A, B), 70% (C, D) or 99.9% (E, F) EtOH extract of *Artemisia princeps* var. *orientalis* on the sleep onset time and sleep duration time in the phentobarbital (60 mg/kg)-induced sleep test in mice.

○ 앞선 연구결과에 따르면, 하고초 70% 에탄올 추출물은 수면지속 시간을 증가시키고 애엽 70% 에탄올 추출물은 수면유도 시간을 감소시키는 것으로 판단되어, 단독으로 추출물을

투여하는 것보다 복합추출물을 이용하는 것이 효능 측면에서 가능성이 있을 것으로 판단되어 배합연구를 진행하였음. 하고초와 애엽의 배합시험 결과, 수면유도 시간은 대조군과 시험물질 투여군 사이에 차이가 없었지만(그림 34. A), 하고초와 애엽을 각각 50mg, 12.5mg 배합하여 투여한 결과 수면지속 시간이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의미하게 증가하는 것을 확인하였음(그림 34. B)

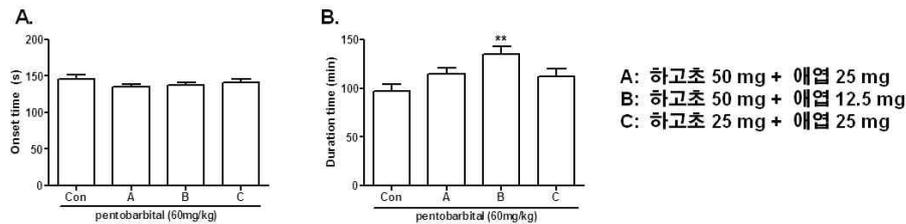


그림 34. The effects of mixture of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* and *Artemisia princeps* var. *orientalis* on the sleep onset time and sleep duration time in the phentobarbital (60 mg/kg)-induced sleep test in mice.

○ 앞선 결과를 바탕으로, 하고초와 애엽의 배합은 기대했던 효과를 가지지 못하는 것을 판단하고, 애엽 대신 약쑥을 이용하여 배합연구에 진행하였음. 애엽과 약쑥은 비록 기원생약은 같지만 채취시기가 다르고, 활성성분도 다른 것으로 알려져 있음. 또한 본 연구진의 선행연구를 통하여 약쑥에 대한 많은 연구가 이루어져 있어 애엽을 대신하여 약쑥을 이용해서 연구를 진행하였음. 하고초와 약쑥의 배합은 대조군과 비교하여 수면유도 시간의 감소 및 수면지속 시간의 증가를 일으키는 것을 확인하였음. 따라서 본 연구진은 불면개선용 최종 소재로 하고초 70% 에탄올 추출물과 하고초와 약쑥을 배합한 추출물을 선정하여 향후 연구를 진행하였음.

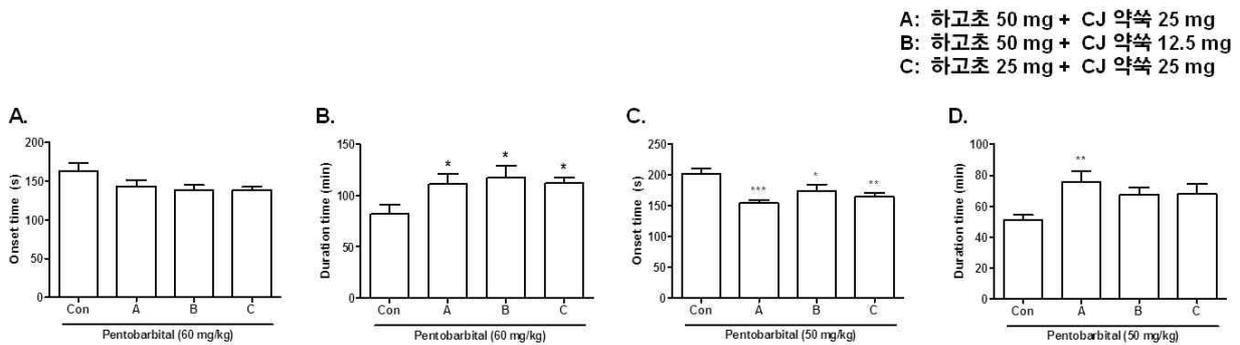


그림 35. The effects of mixture of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* and *Artemisia princeps* on the sleep onset time and sleep duration time in the phentobarbital (50 or 60 mg/kg)-induced sleep test in mice.

○ 한편, 상업도 하고초와 비슷하게 수면유지 시간의 증가 작용이 있는 것을 바탕으로

상엽과 약쑥의 배합 연구를 진행하였음. 상엽과 약쑥을 배합한 경우, 특정농도에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의미하게 수면유도 시간의 감소 및 수면지속 시간의 증가가 관찰되었음. 이러한 결과를 바탕으로 상엽과 약쑥을 배합한 추출물을 차선의 수면개선 후보 소재로서 선정하였음

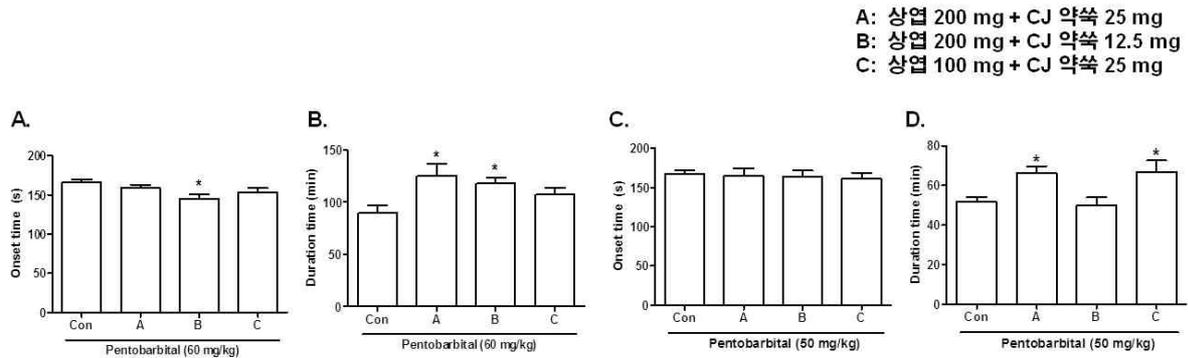


그림 36. The effects of mixture of *Morus alba* and *Artemisia princeps* on the sleep onset time and sleep duration time in the phentobarbital (50 or 60 mg/kg)-induced sleep test in mice.

(2) 뇌파연구를 통한 하고초의 기능 확인

- 실험동물에게 하고초 추출물 또는 하고초+약쑥 추출물을 투여 후, 1시간 뒤 뇌파를 측정하여 불면개선용 소재로서의 가능성 및 in vivo mechanism를 확인하였음. 현재 실험결과들을 해석 중에 있으며, 지속적인 연구를 통하여 최종후보 소재를 선정하고자 함. 향후 실험동물을 추가하여 연구를 진행할 예정임.

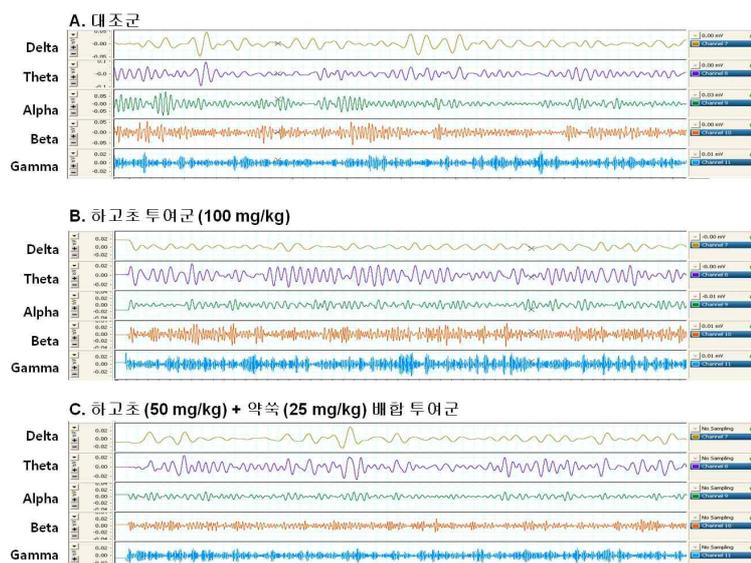


그림 37. Representative EEG samples recorded after the 70% EtOH extract of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* or the mixture extract of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* and *Artemisia princeps* administration in rats.

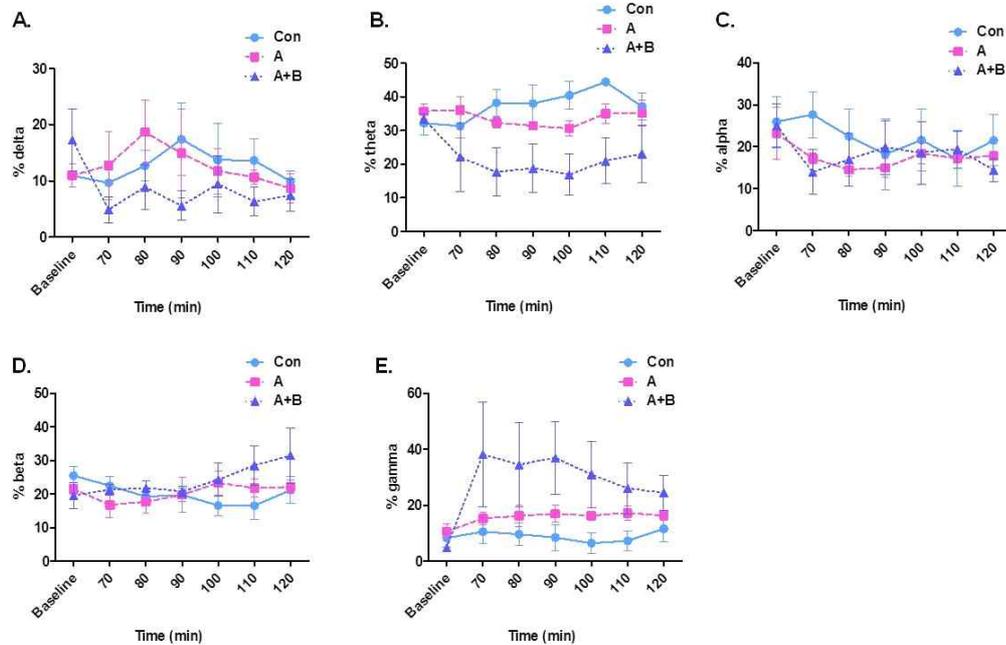


그림 38. The effects of the 70% EtOH extract of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* or the mixture extract of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* and *Artemisia princeps* on the delta power (A), theta power (B), alpha power (C), beta power (D), or gamma power (E) of EEG in rats.

바. 안전성평가

(1) 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험

- 본 시험은 하고초추출물을 Sqrage-Dawley 계 암수 6주령 랫드에 단회 경구투여시 나타나는 독성을 평가하고 개략의 치사량은 구하기 위하여 실시함. 그 결과, 암수 5,000 mg/kg 투여군에서 사망례는 관찰되지 않았다. 투여당일 및 투여 후 1일에 시험물질색변, 점액변 또는 하복부오염이 관찰되었으나, 투여 후 2일부터 일반증상의 이상은 관찰되지 않았음. 체중 및 부검에서 시험물질 투여에 의한 영향은 인정되지 않았음. 하고초추출물의 개략적 치사량은 암수 모두 5,000 mg/kg을 상회하는 것으로 판단됨.

표 36. Summary of Mortality

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Days after dosing														Mortality (dead/total)		
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14	
Male	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)
	G2 5,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)
Female	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)
	G2 5,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%	(0/5)

표 37. Summary of Clinical Signs

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Hours (Day 0) after dosing				
				0.5	1	2	4	6
Male	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	5	5	5	5	5
Female	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	5	5	5	5	5

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing															
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Compound-colored stool	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Diarrhea	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	G2 5,000	5	NOA	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Compound-colored stool	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Diarrhea	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

NOA: No Observable Abnormality

(2) 세균을 이용한 복귀돌연변이시험

- 본시험의 최고용량을 설정하기 위해 5,000 mg/kg을 최고용량으로 하고, 이하 공비 4로 1,250, 313, 78.1 및 19.5 µg/plate으로 용량설정시험을 실시한 결과, 시험물질에 의한 생육저해가 대사활성화비존재하의 TA100 균주의 1,250 µg/plate 이상, TA1535 및 TA1537 균주의 5,000 µg/plate에서 관찰됨. 대사활성화비존재하의 TA98, WP2uvrA(pKM101) 균주 및 대사활성화존재하의 TA98, TA100, TA1535, TA1537 및

WP2uvrA(pKM101) 균주에서는 생육저해가 관찰되지 않았음. 따라서 본시험의 용량은 아래와 같이 설정함.

균주명	S9 mix	본시험의 용량($\mu\text{g}/\text{plate}$)
TA98, WP2uvrA(pKM101)	-	5000, 2500, 1250, 625, 313
TA100	-	1250, 625, 313, 156, 78.1, 39.1
TA1535, TA1537	-	5000, 2500, 1250, 625, 313, 156
TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2uvrA(pKM101)	+	5,000, 2,500, 1,250, 625, 313

- 본시험의 결과, 하고초 추출물군에서는 대사활성화 유무에 관계없이 각 균주의 모든 용량에서 복귀변이콜로니수는 음성대조군의 2배를 초과하지 않았고, 용량의존적인 증가도 관찰되지 않았음. 양성대조군의 복귀변이콜로니수는 음성대조군과 비교하여 2배 이상 확실하게 증가함. 이상의 결과로부터, 본 시험조건하에서 시험물질인 하고초추출물의 유전자 돌연변이 유발성은 없는 것으로 판단됨.

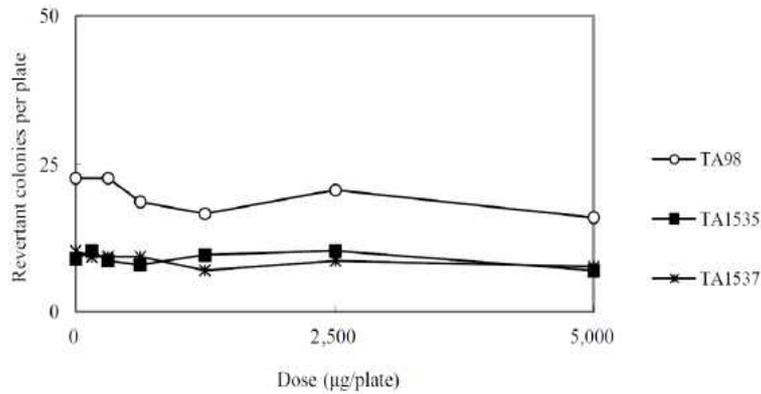


그림 38. Dose-response Curve in th Absence of Metabolic Activation (Main Study:TA98, TA1535, TA1537)

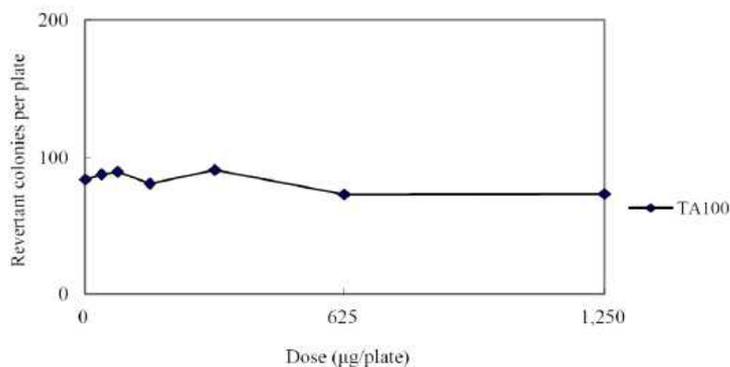


그림 39. Dose-response Curve in th Absence of Metabolic Activation (Main

Study:TA100)

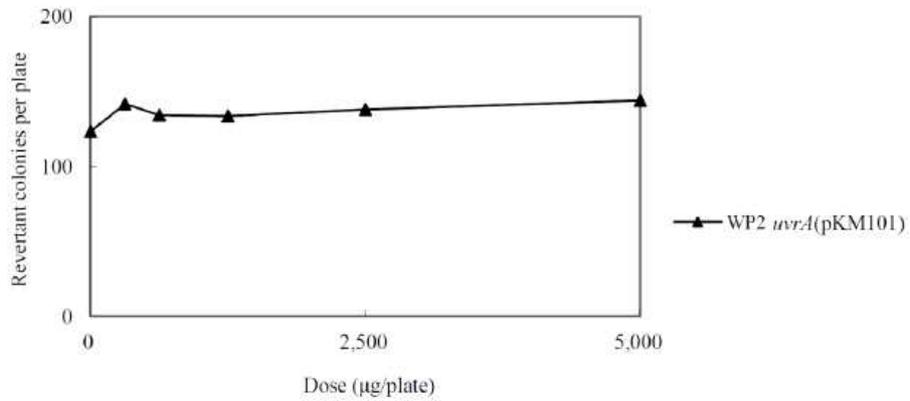


그림 40. Dose-response Curve in th Absence of Metabolic Activation (Main Study:WP2uvrA(pKM101))

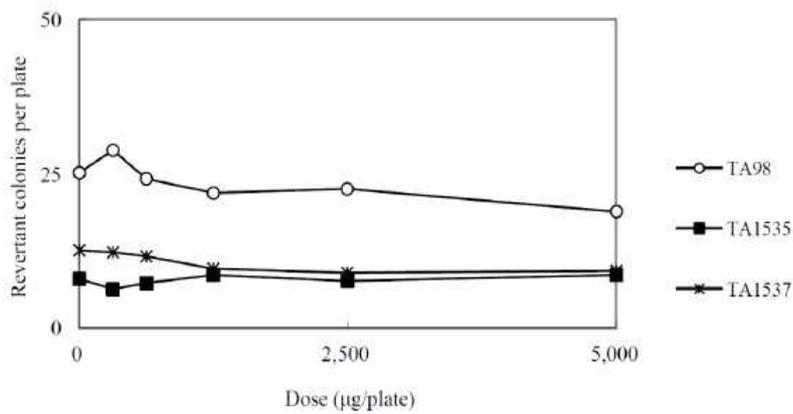


그림 41. Dose-response Curve in th Absence of Metabolic Activation (Main Study:TA98, TA1535, TA1537)

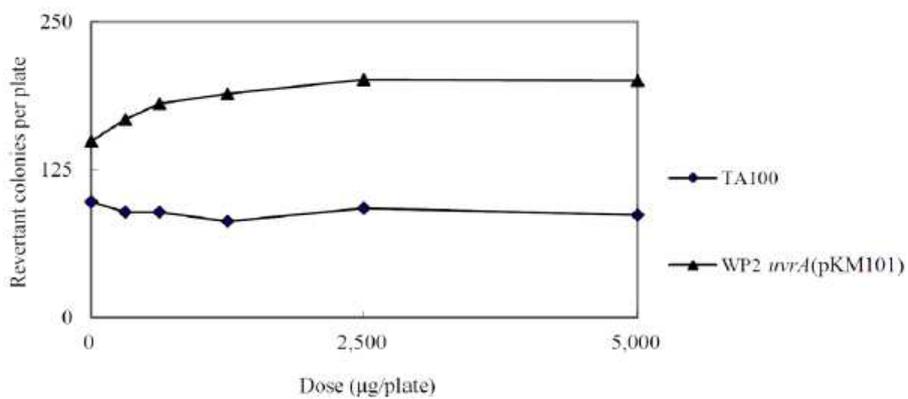


그림 42. Dose-response Curve in th Presence of Metabolic Activation (Main

Study:TA100 and WP2uvr(pKM101))

(3) 포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험

- 본시험의 최고용량을 설정하기 위해, 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 최고용량으로 하고, 이하 2,500, 1,000, 500, 250, 100, 50, 10 및 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 세포증식억제시험을 실시한 결과, 단시간처리법의 대사활성화 비존재 하 및 존재 하, 연속처리법의 대사활성화 비존재 하에서 세포독성이 관찰되어, 50% 세포증식억제 용량 (Inhibition concentration 50%: IC50)을 산출함. 그 결과, 단시간처리법의 대사활성화 비존재 하는 1,299.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 존재하는 2,241.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 및 연속처리법의 대사활성화 비존재 하는 1,404.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었다. 따라서 본시험의 용량은 아래와 같이 설정함.

군주명	S9 mix	본시험의 용량($\mu\text{g}/\text{plate}$)
단시간처리법	-	1,300, 650, 325, 163
	+	2,250, 1,125, 563, 281
연속처리법	-	1,410, 705, 353, 176

- 단시간처리법의 대사활성화 비존재하의 최고용량인 1,300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서만 구조이상을 가진 세포의 출현빈도가 12.5%로, 10% 이상임. 또한, 연속처리법의 대사활성화 비존재하의 최고용량인 1,410 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 세포독성에 의해 염색체이상 유무를 확인할 수 없었음. 따라서, 최고용량 근처의 용량을 세분화하여 염색체이상 유무를 확인하기 위해 추가시험을 실시함. 추가시험의 용량은 아래와 같이 설정함.

군주명	S9 mix	본시험의 용량($\mu\text{g}/\text{plate}$)
단시간처리법	-	1,500, 1,300, 1,000, 800, 650
연속처리법	-	1,300, 1,000, 800

- 추가시험의 결과, 단시간처리법의 대사활성화 비존재하의 최고용량인 1,500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 세포독성의 의해 염색체이상 유무를 확인할 수 없었고, 판독가능한 최고용량인 1,300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 구조이상을 가진 세포의 출현빈도가 17.5%로, 본시험의 결과와 동일하게 10% 이상임. 연속처리법의 대사활성화 비존재하에서는 염색체이상을 가진 세포의 출현빈도는 5% 미만임.
- 각 처리계열의 양성대조군에서는 구조이상을 가진 세포의 출현빈도가 10% 이상으로 음성대조군과 비교시 통계학적으로 유의하게 증가됨. 이상의 결과로부터, 단시간처리법의 대사활성화 비존재하의 판독가능한 최고용량인 1,300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 세포증식률은 약

41%였고, 구조이상을 가진 세포의 출현빈도는 12.5% (본시험) 및 17.5% (추가시험)로, 10% 이상임. 따라서 시험물질 하고초추출물은 본 시험 조건하에서 염색체이상 유발성은 양성으로 판정됨.

- 시험물질의 침전이 관찰된 대사활성화비존재하 및 존재하 각각의 최고용량인 1,300 및 2,250 ug/mL 에서 구조이상을 가진 세포의 출현빈도는 각각 12.5% 및 6.0%, 연속처리법의 대사활성화비존재하의 최고용량인 1,410 ug/mL 에서는 세포독성으로 염색체이상 유발여부는 확인할 수 없었음. 양성으로 확인된 단시간처리법의 대사활성화비존재하의 1,300 ug/mL은 세포독성이 약 59%, 1,500 ug/mL에서는 세포독성으로 염색체 관찰이 불가능하였음. 따라서, 본 시험물질인 하고초추출물은 침전된 용량에서 세포독성으로 염색체 관찰이 불가능한 것을 고려해볼 때, 침전된 시험물질에 의한 세포독성으로 염색체이상이 유발될 가능성이 있으므로, 염색체이상을 확인할 수 있는 in vitro 및 in vivo 염색체이상시험 또는 소핵시험의 확인이 필요할 것으로 사료됨.

☒ 38. Summary of Main Study

Test substance	Dose (µg/mL)	S9 mix	Trt-Rec Time (hr)	No. of cell analyzed	Number of cells with structural aberrations						gap (%)	Number of cells with numerical aberrations			TR value	
					ctb	csb	cte	cse	frg	total (%)		end	pol	total (%)		
Water for injection	0	-	6-18	100	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-
				100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	
CJ-PV	163	-	6-18	not observed												
				100	0	0	0	0	0	0	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0.0)			
	650	-	6-18	100	2	0	1	1	0	6 [#]	0(0.0)	0(0.0)	0	1	2(1.0)	3.1
				100	1	0	3	0	0	(3.0)	0	1	0	0		
	1,300 [‡]	-	6-18	100	6	0	7	0	0	25**	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	6.5
100				4	0	10	0	0	(12.5)	0	0	0	0			
MMC	0.1	-	6-18	100	4	0	17	1	0	37*	0(0.0)	0(0.0)	0	0	1(0.5)	140,000
				100	9	0	11	1	0	(18.5)	0	1	0	0		
Water for injection	0	+	6-18	100	0	0	0	0	0	1(0.5)	1(0.5)	0	1	1(0.5)	-	
				100	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
CJ-PV	281	+	6-18	not observed												
				100	0	0	1	0	0	1(0.5)	0(0.0)	0	2	2(1.0)	-	
	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
	1,125	+	6-18	100	0	0	0	0	0	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-	
				100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	2,250 [‡]	+	6-18	100	1	0	6	0	0	12*	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-
100				3	0	3	0	0	(6.0)	0	0	0	0			
B[a]P	20	+	6-18	100	2	0	14	0	0	29*	0(0.0)	0(0.0)	1	0	1(0.5)	-
				100	4	0	12	2	0	(14.5)	0	0	0	0		
Water for injection	0	-	24-0	100	0	0	0	0	0	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-	
				100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
CJ-PV	176	-	24-0	100	0	0	0	0	0	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-	
				100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	353	-	24-0	100	0	0	0	0	0	0(0.0)	1(0.5)	0	0	0(0.0)	-	
				100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	705	-	24-0	100	2	0	0	0	0	2(1.0)	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-
				100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1,410 [‡]	-	24-0	toxic													
MMC	0.1	-	24-0	100	7	0	24	0	0	56*	0(0.0)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-
				100	6	0	25	0	1	(28.0)	0	0	0	0		

D₂₀ : S9-, 6-18hr, 1.893 mg/mL, TR value : 6.5

Aberration; gap: chromatid and chromosome gap, ctb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, frg: fragmentation, end: endoreduplication, pol: polyploidy

MMC: Mitomycin C, B[a]P: Benzo[a]pyrene

Trt-Rec time : Treatment-Recovery times

Significant difference from negative control by fisher's exact test : * p<0.05

Significant difference from negative control by cochrane-armitage trend test : # p<0.05, ## p<0.01

‡ : Precipitation

표 39. Summary of Additional Study

Test substance	Dose (µg/mL)	S9 mix	Trt-Rec Time (hr)	Proliferation rate (%)	No. of cell analyzed	Number of cells with structural aberrations					gap (%)	Number of cells with numerical aberrations			TR value	
						crb	csb	cte	cse	frg		total (%)	end	pol		total (%)
Water for injection	0	-	6-18	100	100	0	0	0	0	0	0(0.0)	0	1	1(0.5)	-	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0			
CJ-PV	650	-	6-18	68.9	100	1	0	0	0	0	1(0.5)	0	0	0(0.0)	-	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0			
	800	-	6-18	55.8	100	1	0	1	0	0	2(1.0)	0	1	1(0.5)	0.6	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0			
	1,000	-	6-18	50.7	100	3	0	3	0	0	8 [#] (4.0)	1(0.5)	0	2	4(2.0)	2.5
					100	1	0	2	0	0	0	0	0			
1,300 [‡]	-	6-18	41.4	100	10	0	13	0	0	35 ^{##} (17.5)	1(0.5)	2	0	2(1.0)	10.8	
				100	9	0	15	0	0	0	0	0				
1,500 [‡]	-	6-18	36.4	toxic												
MMC	0.1	-	6-18	98.7	100	11	0	20	0	0	51* (25.5)	1(0.5)	0	2	2(1.0)	210,000
					100	3	0	22	1	0	0	0	0			
Water for injection	0	-	24-0	100	100	0	0	0	0	0	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0			
CJ-PV	800	-	24-0	59.0	100	1	0	2	0	0	5(2.5)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-
					100	2	0	0	0	0	0	0	0			
	1,000	-	24-0	38.8	100	3	0	1	0	0	7* (3.5)	3(1.5)	0	0	0(0.0)	-
					100	2	0	1	0	0	0	0	0			
1,300 [‡]	-	24-0	35.4	toxic												
MMC	0.1	-	24-0	74.4	100	10	1	23	0	0	71* (35.5)	0(0.0)	0	0	0(0.0)	-
					100	9	0	34	2	0	0	0	0			

Dose: S9-, 6-18hr, 1,472 µg/mL, TR value: 10.8

Aberration: gap: chromatid and chromosome gap, crb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break, cse: chromosome exchange, frg: fragmentation, end: endoreduplication, pol: polyploidy

MMC: Mitomycin C, B[a]P: Benzo[a]pyrene

Trt-Rec time: Treatment-Recovery time

Significant difference from negative control by fisher's exact test: * p<0.05

Significant difference from negative control by cochrane-armitage trend test: # p<0.05, ## p<0.01

‡: Precipitation

(4) 마우스를 이용한 소핵시험

- 시험물질 하고초 추출물의 마우스 골수세포에 대한 소핵유발 유무를 평가하기 위하여 수컷 ICR 마우스를 이용하여 단회 경구투여하여 검토함. 본시험의 최고용량을 설정하기 위해, 5,000 mg/kg을 최고용량으로 하고, 이하 2,500, 1,250, 625 및 313 mg/kg으로 용량설정시험을 실시한 결과, 모든 용량에서 시험물질에 의한 일반증상 및 사망동물은 관찰되지 않았음. 따라서, 본시험의 최고용량은 5,000 mg/kg으로 하고, 이하 공비 2로 2용량 (2,500 및 1,250 mg/kg)의 시험물질군을 설정함. 또한, 음성대조군에는 주사용수를, 양성대조군에는 Mitomycin C를 설정함.
- 검체제작설정시험에서는 용량설정시험에서 설정된 최고용량 (5,000 mg/kg)을 투여한 후, 투여 후 24, 48 및 72시간에 골수를 채취하여 소핵유발빈도를 관찰한 결과 모든 관찰 시간대에서 소핵유발은 증가되지 않았기 때문에 일반적으로 사용되는 투여 후 24시간을

본시험의 골수채취시간으로 설정함.

표 40. Summary of Chromosome Aberration test

Group	Dose (mg/kg)	Route	Hours after administration	Animal ID	Counted PCE : NCE	PCE/ (PCE+NCE)	MNPCE/ PCE	
Negative control	Water for injection	0	P.O.	24	1101	134 : 366	0.268	0 / 2000
					1102	124 : 376	0.248	0 / 2000
					1103	131 : 369	0.262	0 / 2000
					1104	146 : 354	0.292	1 / 2000
					1105	151 : 349	0.302	3 / 2000
					Total	- : -	-	4 / 10000
				Mean±S.D.	- : -	0.274 ± 0.022	0.8 ± 1.3	
	1,250	P.O.	24	1201	128 : 372	0.256	0 / 2000	
				1202	146 : 354	0.292	1 / 2000	
				1203	109 : 391	0.218	1 / 2000	
				1204	145 : 355	0.290	1 / 2000	
				1205	166 : 334	0.332	2 / 2000	
				Total	- : -	-	5 / 10000	
				Mean±S.D.	- : -	0.278 ± 0.043	1.0 ± 0.7	
Test Substance	CJ-PV	2,500	P.O.	24	1301	160 : 340	0.320	0 / 2000
					1302	110 : 390	0.220	1 / 2000
					1303	78 : 422	0.156	0 / 2000
					1304	122 : 378	0.244	1 / 2000
					1305	94 : 406	0.188	0 / 2000
					Total	- : -	-	2 / 10000
				Mean±S.D.	- : -	0.226 ± 0.062	0.4 ± 0.5	
	5,000	P.O.	24	1401	146 : 354	0.292	0 / 2000	
				1402	163 : 337	0.326	0 / 2000	
				1403	162 : 338	0.324	0 / 2000	
				1404	159 : 341	0.318	0 / 2000	
				1405	153 : 347	0.306	1 / 2000	
				Total	- : -	-	1 / 10000	
				Mean±S.D.	- : -	0.313 ± 0.014	0.2 ± 0.4	
Positive control	MMC	2	IP.	24	1501	93 : 407	0.186	119 / 2000
					1502	132 : 368	0.264	133 / 2000
					1503	104 : 396	0.208	110 / 2000
					1504	144 : 356	0.288	134 / 2000
					1505	103 : 397	0.206	176 / 2000
					Total	- : -	-	672 † / 10000
				Mean±S.D.	- : -	0.230 ± 0.043	134.4 ± 25.3	

P.O.: Per Os

IP.: Intraperitoneal

PCE: Polychromatic erythrocyte

NCE: Nonochromatic erythrocyte

MNPCE: Micronucleated polychromatic erythrocyte

MMC: Mitomycin C

S.D.: Standard Deviation

Significant difference from negative control by Kastenbaum & Bowman: † p<0.01

표 41. Summary of Micronucleus test

Historical control values of micronucleated polychromatic erythrocytes(MNPCE)						
Group	Hours after administration (hrs)	Dose (mg/kg)	n	MNPCE/2000PCE Mean±S.D.	Range(MNPCE/2000PCE)	
					MIN	MAX
Negative control	24	0	112	0.520 ± 0.505	0.0	1.78
Negative control	48	0	24	0.450 ± 0.414	0.0	1.48
Positive control	24	2	112	112.9 ± 30.42	36.9	189.0

Historical control values of ratio of polychromatic erythrocytes(PCE) to total erythrocytes						
Group	Hours after administration (hrs)	Dose (mg/kg)	n	PCE/NCE+PCE Mean±S.D.	Range(PCE/NCE+PCE)	
					MIN	MAX
Negative control	24	0	112	0.358 ± 0.044	0.248	0.469
Negative control	48	0	24	0.338 ± 0.060	0.189	0.487
Positive control	24	2	112	0.335 ± 0.044	0.224	0.446

Negative control : Including water for injection, normal saline injection, olive oil, corn oil, DMSO, PBS, 0.5% methyl cellulose 1,500cP solution, 0.5% CMC-Na solution, DMSO:Co-solvent:DW (4:80:16), 5% dextrose injectable solution, Cosolvent:water for injection (25:75), 40% PEG-400, 0.5% Citric acid, 5% lactose-monohydrate etc.

Positive control : Mitomycin C (2 mg/kg, I.P., single administration)

The above historical control values were obtained from the data pooled from Dec. 09, 2009 to May 15, 2013. (24hr)

The above historical control values were obtained from the data pooled from July 6, 2010 to Mar. 26, 2013. (48hr)

The range was calculated by the control limit from Mean ± 2.5S.D.

○ 본 시험의 결과, 시험물질군의 다염성적혈구(Polychromatic erythrocyte, PCE) 중 소핵다염성적혈구(Micronucleated polychromatic erythrocyte, MNPCE)의 출현빈도가 음성대조군과 비교하여 유의한 차이는 관찰되지 않았음. 또한, 총 적혈구에 대한 다염성적혈구의 비율도 음성대조군과 비교시 유의한 차이는 관찰되지 않았음. 양성대조군에서는 다염성적혈구 중 소핵다염성적혈구의 출현빈도가 음성대조군에 비해 유의하게 증가함. 총 적혈구에 대한 다염성적혈구의 비율은 음성대조군과 비교시 유의한 차이는 관찰되지 않았음. 이상의 결과로부터 시험물질 하고초 추출물은 본 시험의 조건하에서 마우스 골수세포의 소핵유발에 영향을 미치지 않는 것으로 판단됨.

○ 염색체이상시험에서 양성반응이 나타났으나 이러한 결과로 하고초 추출물이 안정성에

문제가 된다고 단정 지을 수는 없으나 꽃대 이외 부위를 식용등록 및 추후 기능성 소재개발에 있어서는 어려움이 있을 것으로 판단하여 다른 불면개선소재를 연구하였을 뿐만 아니라, CJ제일제당의 추가 연구비를 투자하여 후보소재 중 산업화에 적합한 국내산 인진(사철쭉) 및 상엽(뽕잎)을 선정하여 이후 연구를 수행함.

인진호(사철쭉)의 안전성 평가 자료

○ 인진호(사철쭉)은 식품공전에 주원료로 사용가능한 동식물에 속하고 식품의약품안전처 식품원재료 분류에서도 지상부가 식용 가능한 것으로 확인되는 소재이므로 이를 활용한 소재의 안전성은 확인되었다고 판단되며, 반복투여 및 유전독성시험 결과에서도 안전성을 확인하였으므로 이를 활용한 추출소재 개발 및 인체적용시험을 진행함.

○ 식품공전: 식품공전 원재료 분류 - 주원료로 사용가능한 동식물에 속함
(식품공전 별표1 “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록: 식물성 160)

[별표 1] “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록

1. 식물성

160	사철쭉	인진호, 인진	<i>Artemisia capillaris Thunberg</i>	지상부*(인진호)
-----	-----	---------	--------------------------------------	-----------

○ 식품의약품안전처 식품원재료 DB: 사철쭉 지상부가 식용 가능한 것으로 확인함

원재료명	사철쭉		
이명	민진쭉, 애당쭉, 면민진, 인진호, 인진(茵陳), 자화열당, 활화열당, 초조용, Tarragon, 생당쭉, 땡강쭉, 더위지기, 민진초		
학명	<i>Artemisia capillaris Thunberg</i>		
생약명	인진호(茵陳蒿, Artemisiae Capillaris Herba)		
원재료 분류	식물		
식용가능 여부	가능	지상부	
	제한적		
	불가능		
※ 해당부위를 클릭하시면 부위별 상세정보를 확인 할 수 있습니다.			

○ 인진호(사철쭉)의 14일 및 13주 반복투여 및 유전독성시험 결과 안전성 확보

: 독성물질국가관리사업연구보고서 제6권 The Annual Report of KNTF, 2007

(요약) 14일 반복투여 용량결정시험 결과, 최고용량인 2000 mg/kg에서도 임상증상 및 폐사율, 체중의 변화, 뇨검사 결과, 육안 소견, 장기중량, 병리조직소견 등에서 사철쭉추출물에 의한 특이적인 변화는 전혀 관찰되지 않았음. 또한, 유전독성을 알아보기

위하여 복귀돌연변이시험, 체외 염색체이상시험, 체내 소핵시험을 실시한 결과, 음성으로 확인됨. 13주 경구 반복투여 독성시험의 최고용량을 2000 mg/kg B.W.으로 설정하였고, 공비 3으로 5단계의 용량(0, 25, 74, 222, 667, 2000 mg/kg B.W.)으로 13주간 반복투여한 결과, 본 시험물질의 독성에 의한 것으로 추정되는 임상증상 및 사망, 체중변화, 사료/음수섭취량 변화, 혈액학 및 혈액생화학적 이상, 뇨검사 수치 이상, 수컷의 생식기관 및 정자 검사 이상, 암컷의 성주기 특이한 변화, 육안적 부검소견 및 병리조직학적 병변은 관찰되지 않았음. 따라서, 인진호(사철쭉)추출물의 무해용량은 2000 mg/kg으로 판단되었으며, 표적장기는 관찰되지 않았음.

상엽(뽕잎)의 안전성 평가 자료

- 상엽(뽕잎)은 식품공전에 주원료로 사용가능한 동식물에 속하고 식품의약품안전처 식품원재료 분류에서도 식용 가능한 것으로 확인되는 소재이므로 이를 활용한 소재의 안전성은 확인되었다고 판단되며, Natural Medicine Comprehensive Database에서도 안전성을 확인하였으므로 이를 활용한 추출소재 개발 및 인체적용시험을 진행함.
- 식품공전: 식품공전 원재료 분류 - 주원료로 사용가능한 동식물에 속함
(식품공전 별표1 “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록: 식물성 154)

[별표 1] “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록

1. 식물성

154	뽕나무	오디나무	<i>Morus alba L.</i>	열매* (상십자), 잎, 어린가지* (상지), 뿌리껍질* (상백피)
-----	-----	------	----------------------	---------------------------------------

- 식품의약품안전처 식품원재료 DB: 사철쭉 지상부가 식용 가능한 것으로 확인함

원재료명	뽕나무	
이명	모디나무, 상지, White Mulberry 상백피: 상근백피(桑根白皮), 상근, 목맥, 오목이, 뽕나무껍질, 누 상엽: 철선자(鐵扇子), 경상상엽(經霜桑葉), Sang ye, 모디나무, 백상(白桑)엽, 뽕나무 잎 상지: 눈상지(嫩桑枝), 상조(桑條), 뽕나무 가지, Mulberry twig, Sang zhi(상지/桑枝), 자명심 상심자: 오디	
학명	<i>Morus alba</i> L.	
생약명	상백피 (桑白皮, Mori Cortex), 상엽 (桑葉, Mori Folium), 상지 (桑枝, Mori Ramulus), 상심자 (桑心子, Mori Fructus), 상실(桑實, 오디)	
원재료 분류	식물	
식용가능 여부	가능	열매 / 잎 / 어린가지 / 뿌리껍질
	제한적	
	불가능	
※ 해당부위를 클릭하시면 부위별 상세정보를 확인 할 수 있습니다.		

○ Natural Medicine Comprehensive Database 안전성 확보

: 1.2 g/day 3회 섭취방법으로 5주간 인체적용시험 선행연구 결과 및 식경험에 대한 근거를 바탕으로 ‘Possibly safe’로 확인

사. 인체적용시험

불면증상개선 소재인 인진호(사철쭉)과 상엽(뽕잎)을 개별 평가한 후 각각의 효능을 확인하고, 추후 혼합하여 시너지 효과를 평가하여 보다 효과적인 기능성 소재를 개발하고자 함.

(1) 시험물질 섭취용량 설정 및 생산

○ 두 시험물질 섭취용량은 in vivo 평가결과(200 mg/kg/day)를 바탕으로 인체 섭취량으로(1.2 g/kg/day) 환산한 뒤 제품적용가능 원가를 고려하여 최고농도로 설정하였으며, 이를 정제타입으로 생산하기 위한 테스트 생산을 진행하였으며 부원료(결정셀룰로오스, 유당, 이산화규소 등) 적용을 고려하여 750 mg 정제타입 기준으로 3정 1일 1회 취침 30분전에 물과 함께 섭취하는 것으로 최적비로 생산을 완료한 뒤 포장을 진행함.

구분	원료명	배합비율(%)	함량(mg)
주원료	사철쭉/빵잎추출물	53.334	400.005
부원료	결정셀룰로오스	25.000	187.500
	말토덱스트린	20.486	153.645
	스마그	1.000	7.500
	HPMC	0.170	1.275
	글리세린지방산	0.010	0.075
합 계		100.000	750.000

(2) 인체 적용시험 계획서(Clinical Study Protocol) 작성 및 IRB 심의

- 수면건강관련 건강기능식품 개별인정 Claim은 현재 허가되고 있는 영역은 아니나, 추후 신규 Claim 추가 될 가능성이 높은 것으로 평가되고 있으므로 이를 평가하기 위한 방법 설계 및 기능성 검증은 매우 중요하다. 따라서 본 연구에서는 전문가 자문 및 불면증관련 인체적용시험 연구논문 등을 기반으로 시험법을 설계함.
- 불면증상을 가진 건강인을 대상으로 사철쭉추출물(CJAC) 및 빵잎추출물(CJMA) 2가지 소재의 불면증상 개선 효과를 확인하고자 각각 단일기관, 단일군, 공개 인체적용 시험으로 설계하여 진행함. 각 기능성 소재별로 30명의 피험자를 대상으로 기능성 평가를 수행함.
- 대상자는 문맹자를 제외한 만 20세 이상 70세 미만의 남성 및 여성으로 불면증상은 있으나 DSM-5의 불면장애 진단기준을 만족하지 않는 건강인을 대상으로 경희대학교병원 IRB에 승인 받고 인체적용시험을 진행함.

- 인체적용시험계획서(요약) -

제 목	(1) 사철쭉추출물의 불면증상 개선평가를 위한 인체적용시험 (2) 빵잎추출물의 불면증상 개선평가를 위한 인체적용시험
시험책임자	경희대학교병원 정신건강의학과 부교수 백 중 우
실시기관	경희대학교병원, 서울시 동대문구 경희대로 23
의뢰자/ 모니터	- 경희대학교 산학협력단 단장: 김 영 진 연구책임자: 약학대학 교수 류종훈 서울시 동대문구 경희대로 26 경희대학교 - CJ제일제당, 담당자: 홍은영 수석연구원 서울시 중구 쌍림동 292 CJ제일제당센터
목 적	불면증상을 가진 건강인을 대상으로 사철쭉 및 빵잎추출물의 불면증상 개선을 확인하는 것을 목적으로 함
시험설계	단일기관, 단일군, 공개 인체적용시험
대상자	문맹자를 제외한 만 20세 이상 70세 미만의 남성 및 여성으로 불면증상은 있

<p>피험자의 선정기준</p>	<p>으나DSM-5의 불면장애 진단기준을 만족하지는 않는 반건강인 <선정 기준> (대상피험자들은 다음의 모든 기준에 적합하여야 한다.)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 문맹자를 제외한 만 20세 이상 70세 미만의 남성 및 여성 2. 불면증상이 있으나 DSM-5의 불면장애 진단기준을 만족하지 않는 자 3. 인체적용시험동의서에 서면 동의한 자 <p><제외 기준> (다음 조건의 어느 하나라도 해당되는 피험자는 본 연구에 참여할 수 없다.)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. DSM-5에 명시된 불면장애의 진단기준에 부합하는 자 2. 3개월 이내 또는 현재 알코올중독으로 치료 중이거나 갑상선 기능 이상으로 치료중인 자 3. 시험 참여 전 3개월 이내에 치매, 우울증, 범 불안 장애, 불면증과 같은 주요 정신과 질환으로 치료중인 자 4. 뇌종양, 수두증이 있거나 있었던 자 혹은 3개월 이내에 호르몬 대체요법을 시행했거나 시행중인 자 5. 뇌졸중, 심질환(심부전, 협심증, 심근경색), 악성종양, 수축기 혈압 180 mmHg 이상 고혈압 환자, 조절되지 않는 고혈압 피험자 (> SBP 145mmHg 또는 DBP 90mmHg) 또는 폐질환이 있는 피험자 6. 심한 신기능 장애 나 간 기능장애가 있는 피험자 7. 혈당강하제로 혈당조절이 어려운 경우 8. 최근 3개월 이내에 경구용 스테로이드, 호르몬제 등을 복용하였거나 시험 식품의 흡수, 대사, 배설에 영향을 주는 약물 또는 신경안정제나 수면제 같은 불안 및 불면수준에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경험이 있거나 3개월 내 기타 시험에 참여한 경험이 있는 피험자 9. 6개월 내 외과적 수술을 받았거나 1개월 내 금지된 치료(침술이나 불안수준 개선 목적의 치료 또는 건강식품, 남용우려 있는 약물 투여)를 받고 있는 자 10. 임신부, 수유부 및 적절한 피임 방법을 사용하지 않는 가임여성 시험당담자의 소견으로 볼 때, 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되거나 기타 의사가 부적합하다고 판단되는 피험자
<p>임상시험약</p>	<p>시험식품 : 사철썩 및 뽕잎 추출물 (1정 1000 mg)</p>
<p>투여용량</p>	<p>시험식품 3정을 1일 1회 (2.25g/day) 4주간 섭취</p>
<p>목표 피험자 수</p>	<p>최종 평가가능 예수 30례</p>
<p>시험방법</p>	<p>피험자가 인체적용시험에 참여할 것을 서면으로 동의하면, 인체적용시험 계획서에 따라 필요한 검진 및 검사를 실시한 후, 피험자 적합성 평가결과 선정기준에 적절한 피험자에 한하여 무작위 배정된다. 무작위 배정된 피험자는 4주간 인체적용시험용 식품인 CJAC추출물을 복용하게 되며, 복용 시작 2주 후 전화 문진을 통하여 인체적용시험용 식품 복용 후의 이상반응을 조사한다.</p>

	방문 1 (D-28)	방문 2 (D0)	전화문진 (D14±3)	방문 3 (D28±3)
	스크리닝 방문	무작위배정방문	이상반응 조사	종료방문
	6 주 투약			
시험기간	각 피험자 별로 총 5주(스크리닝 1주, 약제투여기간 4주)가 소요되며 전체 30명의대상 지원자를 모집하는데 필요한 기간은 약 6주 이상 예상되며, 총 인체적용시험 실시기간은 최초 모집시점으로부터 약 12주 이상 소요될 것으로 예상된다.			
평가기준	<p>유효성 (Functionality)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Baseline 대비 Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI)의 개선율 - Baseline 대비 Insomnia Severity Index(ISI)의 개선율 - Baseline 대비 Epworth Sleepiness Scale(ESS)의 개선율 - Baseline 대비 Beck Depression Inventory(BDI)의 개선율 <p>안전성 (safety)</p> <p>시험식품 투여 전과 투여 4주 후에 심전도 검사, 실험실적 검사, 활력징후 측정, 이화학적 검사 진행을 실시하고 시험식품 투여 2주 후에는 전화 문진을 통하여 이상반응을 평가하고 연구기간 내내 이상반응을 평가한다.</p>			

- 인체적용시험 흐름도 -

(평가일: 방문예정일 ± 5일)	스크리닝	치료기간			F/U12) 필요시
	Visit 1	Visit 2	전화문진	Visit 3	
	-3일 ~ -1일	0일 (0주)	2주 (14일)	4주 (28일)	
피험자 동의	O				
인구학적 조사 1)	O				
활력징후2)	O	O		O	O
신체검사3)	O			O	O
생활습관 조사4)		O		O	
병력 및 동반질환	O				
의사면담(DSM-5검사)5)	O				
이학적 검사	O	O		O	O
심전도 검사	O			O	O
실험실적 검사6)	O	O		O	O
임신여부 검사(가임기 여성)7)	O	O		O	O
선행/병용 약물	O	O		O	O
이상반응			O	O	O
피험자 적합성 평가8)	O				
기능성 평가검사9)		O		O	O
인체적용시험용 식품 처방		O			
복약 순응도 평가				O	

1. 인구학적 조사: 생년월일, 성별 등을 조사한다.
2. 활력징후: 체온, 혈압, 맥박수를 측정하며, 혈압과 맥박수는 5분간 앉은 자세로 안정을 취한 후 동일한 혈압계를 사용하여 측정한다.
3. 신체검사: 체중은 시험기간 중 동일한 체중계를 사용하며, 신장은 신을 벗고 cm 단위로 측정하며 방문1에서만 측정한다.

- 4. 생활습관조사: 방문 2와 방문 4에서만 시행하며, 시험대상자의 흡연, 음주, 식사, 운동 습관에 대하여 조사한다.
- 5. STAI-state 검사: STAI-state(상태 불안검사)를 실시하여 52점 이상인 자를 선정한다.
- 6. MINI 검사: 구조화된 정신과적 면담도구로써, 공황장애, 임소공포증, 사회공포증, 특수공포증, 강박장애, 외상 후 스트레스장애, 범 불안장애를 검사하여 불안장애로 진단된 경우 제외하도록 한다.
- 7. 실험실적 검사: 시험대상자는 채혈하기 전 최소 8시간 이상 금식한 상태로 내원해야 한다. 단 방문 1 이전 2주 이내에 본원에서 실시한 실험실적 검사결과가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 되며, 방문 1에서 시행해야 할 검사 항목 중 누락된 항목이 있는 경우나 임상적으로 문제가 있는 경우에는 해당 항목에 대해서만 추가적으로 검사를 할 수 있다.
- 혈액학적 검사: WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelet
- 혈액생화학적 검사: BUN, Albumin, Total bilirubin, AST, ALT, r-GT, Triglyceride, Total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, Creatinine, Alkaline phosphatase, glucose
- 소변검사: pH, Protein, Glucose, RBC, WBC, Specific gravity, HCG (가임 여성인 경우)
- 8. 임신여부검사: 실험실적 검사의 일환으로 시험대상자 중 임신가능성이 있는 경우에 한하여 매 방문 시 임신여부를 확인한다.
- 9. 시험대상자 적합성 평가: 스크리닝 검사가 끝난 후 방문2 전에 시험대상자 적합성 평가를 실시한다.
- 10. 기능성 평가 검사: 상태-특성불안검사(STAI), Beck의 불안 질문지_(BAI), 걱정 증상 질문지(PSWQ), HAM-A 검사를 실시한다.
- 11. 전화문진: 복용 시작 2주 후 전화 문진을 통하여 인체적용시험용 식품 복용 후의 이상반응을 조사한다.
- 12. F/U: 인체적용시험용 식품 투여종료 후 혹은 중도탈락 후 비정상적인 실험실 결과나 비정상적인 심전도 검사 결과, 계속되는 이상반응 등 시험자 판단에 따라 추적관찰이 필요하다고 여겨지는 경우에 따라 실시하며 심전도 검사의 경우 종료방문 후 심전도 검사 결과 이상이 있는 경우에 한하여 시행하도록 한다.

(3) 임상검사 항목 및 관찰검사방법

- DSM-5의 불면 장애 (insomnia disorder) 진단기준(American Psychiatric Association, 2013)

- A. 다음 중 한 개 이상의 항목에 연관되어 수면의 양과 질에 대한 불만족에 대해 호소한다.
 - 1. 입면의 어려움
 - 2. 수면 유지의 어려움 (수면 중 잦은 각성과 재입면의 어려움)
 - 3. 새벽의 조기 각성
 - B. 수면 방해로 인해 사회적, 직업적, 교육적, 학문적, 행동적 기능에서 임상적으로 유의미한 고통 또는 장애를 유발한다.
 - C. 수면 문제가 주당 3회 이상 발생한다.
 - D. 수면 문제가 3개월 이상 지속된다.
 - E. 적절한 수면의 기회가 있음에도 불구하고 수면 문제가 발생한다.
 - F. 불면 증상이 다른 수면 장애로 설명되지 않는다.
 - G. 불면 증상이 물질에 의한 생리적 반응은 아니다.
 - H. 공존하는 정신과적 내과적 질환이 불면 증상을 설명할 수 없다.
- 단, 증상이 3개월 미만이면서 위의 진단기준을 모두 만족할 경우에는 단기불면증 (brief insomnia disorder)으로 진단할 수 있다.

- Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI, 피츠버그 수면의 질) 검사: 수면 상태를 평가하는 척도로 세부항목은 7개의 영역으로 이루어졌으며, 영역별로 0-3점으로 점수화되어 있음
- Insomnia Severity Index(ISI) 검사: 불면증의 중증도를 평가하는 검사로서 총 7개 문항이 있으며 28점 만점의 검사임. 15점 이상일 경우 임상적으로 의미 있는 불면증으로 평가할

수 있으나 불면장애의 진단은 정신과적 면담에 의거하여 판단함.

- Epworth Sleepiness Scale(ESS, 엡워스 주간졸음증 척도) 검사: 주간 졸림 증상을 평가하는 설문으로 8개의 항목으로 구성되어 있음.
- Beck Depression Inventory 검사: 우울증을 선별하기 위한 환자 보고형 검사로서 21문항으로 구성되어 있음. 각 문항당 0에서 3점으로 평가하여 최저 0점에서 최고 63점이 될 수 있음. 10-15점이면 가벼운 우울상태, 16-23점이면 중등도의 우울상태, 24-63점이면 심한 우울상태를 시사함.
- 이학적 검사: 이학적 검사는 시진, 촉진, 문진에 의해 확인할 수 있는 외관, 피부, 두/경부, 흉부/폐, 복부, 비뇨/생식계, 사지, 근골격계, 신경계, 림프절 등 기타 신체기관 검진을 포함함. 스크리닝 검사상 발견된 유의할 만한 사항은 증례기록서의 이학적 검사란에 기록하고, 인체적용시험용 식품의 투여개시 후 이상반응의 정의에 부합되는 이학적 소견상의 유의할만한 사항이 발견된 경우에는 증례기록서의 이상반응란에 기록함. 인체적용시험용 식품의 투약개시 이전에 발현된 바람직하지 못한 이학적 증상이 발현된 경우에는 현병력 조사란에 추가하여 기록하도록 함.
- 심전도 검사: 방문 1, 방문 3에서 실시되며, 방문 1에서 실시되는 심전도 검사의 경우 선정된 피험자를 대상으로 실시함.
- 실험실적 검사: 실험실적 검사를 위한 혈액채취는 방문 1, 방문 2, 방문 3, Follow up 방문에서 이루어짐. 피험자는 채혈하기 전 최소 8시간 이상 금식한 상태로 내원해야 함. 단 실험실적 검사는 방문1 이전 2주 내에 실시한 실험실적 검사결과가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 되며, 방문 1에서 시행해야 할 검사 항목 중 누락된 항목이 있는 경우나 임상적으로 문제가 있는 경우에는 해당 항목에 대해서만 추가적으로 검사를 할 수 있음. 또한, 방문 2의 실험실적 검사의 경우 방문 1에서 실시한 실험실적 검사 결과가 있을 경우 검사를 별도로 시행하지 않고 방문 1의 검사 결과를 기재하도록 함. 단, 임신검사의 경우 반드시 매 방문마다 시행하도록 함. 만일 인체적용시험 종료 시점에서 시행한 실험실적 검사에 임상적으로 문제가 있을 경우에는 추적 조사 방문 시에 이러한 검사들을 다시 시행함. 실험실적 검사치가 정상 범위를 벗어날 경우 시험자는 이에 대한 임상적 의미를 규명하고 해결될 때까지 또는 시험자가 임상적인 관련이 없다고 판정할 때까지 추적 조사함.

※ 임상실험실 검사 항목

혈액학적 검사	WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelets
혈액생화학적 검사	BUN, Albumin, Total bilirubin, AST, ALT, r-GT, Triglyceride, Total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, Creatinine, Alkaline phosphatase, glucose
소변 검사	pH, Protein, Glucose, WBC, RBC, Specific gravity, HCG (피험자 중 임신가능성이 있는 경우에 한하여 각 방문 시 임신여부를 확인)

- 선행/병용약물 조사: 선행/병용약물 조사는 인체적용시험 참가 4주 이내 약물 복용력 또는 인체적용시험 진행 중에 병용한 약물 투여현황(용법, 용량, 투여기간 등)에 대하여 조사함.
- 이상반응 조사: 인체적용시험 중 발생하는 모든 이상반응을 기록하는 것은 시험자의 의무임. 이상반응은 의학진단용어로 기록하여야 하며, 이것이 불가능한 경우 시험자가 관찰하거나 보고한 증상 및 징후에 대한 용어를 기록하여야 함. 증례기록지에는 이상반응의 증상 및 증후, 시작일 및 시작시간, 종료일 및 종료시간, 마지막 투약일 및 투약시간, 총 기간, 중증도, 경과, 결과, 경증도, 인체적용시험식품과의 인과관계, 취해진 조치가 기재되어야 함. 세부적인 치료 내용은 CRF의 이상반응 페이지에 기록하여야 함.
- 피험자 적합성 평가: 선정기준에 적합한 증상을 가진 피험자의 자발적 동의서를 받은 후 스크리닝 검사를 실시함. 스크리닝 검사 평가들을 종합하여 방문1에 피험자 적합성 평가를 최종 평가함.
- 기능성평가 검사: 기능성을 평가하기 위한 검사로써, 피츠버그 수면의 질(PSQI), Insomnia Severity Index(ISI) 검사, 엠플스 주간졸음증 척도(ESS) 검사, Beck의 우울 질문지(BDI) 검사를 시행하며, 기능성평가는 방문 2, 방문3 및 Follow-up방문에서 진행함.
- 피험자 배정: 선정기준/제외기준에 합당한 피험자를 선정한 후 시험군으로 배정하고, 인체적용시험용 식품을 처방하여 투약함.
- 인체적용시험용 식품의 처방 및 교부: 무작위배정 후 방문2에 처방되며 다음 방문에 남은 식품과 포장용기 모두를 반납함.
- 반납의약품 회수 및 순응도 평가: 인체적용시험용 식품의 복용순응도는 각 방문 시마다 남은 식품의 개수를 세는 것으로 측정하는데, 복용하고 남은 식품은 약국에 반납함. 후

방문2에 처방되며 다음 방문에 남은 식품과 포장용기 모두를 반납함.

(4) 기능성 평가기준, 평가방법 및 해석방법(통계분석방법)

○ 기능성평가기준

- Baseline (visit 2) 대비 종료시점(4주)의 피츠버그 수면의질(PSQI) 질문지수의 수치 개선율: 시험식품을 투여 받은 피험자에 대하여 투여 4주 후 피츠버그 수면의 질(PSQI) 질문지의 수치를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 정도를 평가함.
- Baseline (visit2) 대비 종료시점(4주)의 Insomnia Severity Index (ISI) 검사지수의 개선율: 시험식품을 투여받은 피험자에서 투여 4주 후 Insomnia Severity Index(ISI)검사지수를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 비율의 정도를 구하여 평가함.
- Baseline (visit 2) 대비 종료시점(4주)의 웹워스 주간졸음증 척도(ESS)질문지수의 개선율: 시험식품을 투여받은 피험자에서 투여 4주 후 웹워스 주간 졸림 증상 검사지수를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 비율의 정도를 구하여 평가함.
- Baseline (visit 2) 대비 종료시점(4주)의 Beck 우울 질문지수의 개선율: 시험식품을 투여받은 피험자에서 투여 4주 후 Beck 우울 질문지수의 수치를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 비율의 정도를 구하여 평가함.

○ 기능성 평가변수 분석 방법

- Baseline (visit 2) 대비 종료시점(4주)의 피츠버그 수면의 질(PSQI) 질문지수의 수치 개선율: 시험식품을 투여 받은 피험자에 대하여 투여 4주 후 피츠버그 수면의 질(PSQI) 질문지의 수치를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 비율의 정도를 paired t-test를 이용하여 분석한다.
- Baseline (visit 2) 대비 종료시점(4주)의 Insomnia Severity Index(ISI) 검사지수의 개선율: 시험식품을 투여받은 피험자에서 투여 4주 후 Insomnia Severity Index(ISI)검사지수를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 비율의 정도를 paired t-test를 이용하여 분석함.
- Baseline (visit 2) 대비 종료시점(4주)의 웹워스 주간졸음증 척도(ESS)질문지수의

개선율: 시험식품을 투여 받은 피험자에서 투여 4주 후 웹위스 주간 졸림 증상 검사지수를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 비율의 정도를 paired t-test를 이용하여 분석함.

- Baseline(visit 2) 대비 종료시점(4주)의 Beck 우울 질문지수의 개선율: 시험식품을 투여 받은 피험자에서 투여 4주 후 Beck 우울 질문지수의 수치를 구하여 계산하고, 투여 전 baseline (visit 2) 대비 감소한 비율의 정도를 paired t-test를 이용하여 분석함.

○ 통계분석 방법

- 분석 대상자군: 본 인체적용시험의 피험자로부터 얻어진 자료는 크게 Safety군, ITT (Intent-To-Treat)군, PP (Per Protocol)군의 세가지 형태로 분석됨. Safety군은 본 인체적용시험에 참여하여 최소한 1회 이상 인체적용시험용 식품을 복용한 피험자를 대상으로 안전성 평가가 이루어진 모든 피험자로부터 얻어진 자료를 모두 분석함. ITT군은 최소한 한 번이라도 인체적용시험용 식품을 복용 후, 주 1차 기능성 평가변수에 대한 측정이 1회 이상 이루어진 피험자를 대상으로 함. PP군은 ITT군에 포함되는 피험자 중 인체적용시험계획서에 따라 본 인체적용시험을 완료한 피험자를 대상으로 하며, 시험계획서를 위반한 피험자, 금지약물 복용자, 방문기간을 준수하지 않은 대상자는 제외함.
- 결과해석의 원칙: 기능성 평가에 대한 자료는 ITT 분석을 주분석으로 하고 PP분석을 별도로 실시하여 ITT 분석 결과와 차이가 있는지 평가함. ITT군의 경우, 어떤 시점에서 결측치가 발생되거나 인체시험이 종료되기 전에 피험자가 탈락하면 가장 최근에 얻은 자료를 마치 해당 시점에서 얻어진 것처럼 자료분석을 실시(Last Observation Carried Forward Analysis)하는 방법으로 분석함.
- 통계분석방법: 모든 통계적 분석은 SPSS version 12.0 이상으로 수행함. 기술 분석 시 연속형 자료인 경우 평균, 표준편차, 95% 신뢰구간을 산출하고, 범주형 자료인 경우 빈도, 퍼센트를 산출함. 결측치가 있는 경우, 결측치를 나타내는 자료는 분석에서 제외함. 단, ITT군에서 결측치가 발생한 경우, LOCF 법으로 결측치를 처리함. 분석 시 이용되는 모든 검정 통계량은 양측검정의 결과이고, 통계적 유의수준은 0.05를 기준으로 함.

※ 현재 사철쭉추출물의 피험자 시험식품 섭취가 완료되어 결과분석 중이며, 뽕잎추출물의 피험자 선정 및 시험식품 섭취가 진행 중이며 이에 대한 결과가 확보 되는대로 추가로 보고하고자 함. 이를 포함한 불면개선소재로 연구된 결과물(특허)을 주관연구기관(경희대학교)에서 협동연구기관(CJ제일제당)으로 기술이전 계약을

완료하였으며, 추후 보완연구 및 제품개발을 계속 진행하고자 함.

아. 불면개선 추출소재의 품질평가 및 숙면시장 분석

(1) 품질규격설정

- 인진호(사철쭉)추출소재 및 상엽(뽕잎)추출소재의 품질관리지표 설정(성상, 이물, 수분함량, 고형분, pH, 일반세균, 대장균군) 및 적합여부를 확인한 결과, 이미-이취-이물이 없는 것으로 확인되었으며, 사철쭉 추출소재의 경우 Lot별로 차이는 있으나 Brix 12~14%, pH 5.0~5.2로 측정됨. 뽕잎 추출소재의 경우 Brix % 14~16, pH 6.2~6.5 로 측정됨. 특히 품질관리의 중요한 요인인 일반세균과 대장균군 측정에서 일반세균은 불검출 되었으며, 대장균군도 음성으로 확인됨.
- 또한 공인분석기관에서 각각의 추출소재에 대한 중금속(4종) 및 잔류농약(245항목) 분석한 결과 모든 항목에서 불검출을 확인함.

표 42. 인진호(사철쭉)추출물의 중금속 및 대장균군 평가

시 험 항 목	단 위	시험방법	정량한계	결 과
납	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
카드뮴	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
비소	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
수은	µg/kg	식품공전	50	불검출
대장균군	**	식품공전	-	음성

주) (1) 불검출 = 정량한계 이하
 (2) g/100g = %(w/w)
 (3) - = No Regulation
 (4) ** = 단위없음

표 43. 상엽(뽕잎)추출물의 중금속 및 대장균군 평가

시 험 항 목	단 위	시험방법	정량한계	결 과
납	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
카드뮴	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
비소	mg/kg	식품공전, ICP/OES	0.7	불검출
수은	µg/kg	식품공전	50	불검출
대장균군	**	식품공전	-	음성

주) (1) 불검출 = 정량한계 이하
 (2) g/100g = %(w/w)
 (3) - = No Regulation
 (4) ** = 단위없음

표 44. 인진호(사철쭉)추출물의 잔류농약(245항목) 분석

시 험 항 목 : 잔류농약 245항목
 시 험 방 법 : 농산물품질관리원 다성분 동시 분석 I 법

Dichlorvos, Methabenzthiazuron, Terbutylazine, Iprobenfos, Simetryn, Metalaxyl, Terbutryn, Malathion, Parathion, Pendimethalin, Triadimenol, Triflumizole, Hexaconazole, Myclobutanil, Cyproconazole, Edifenphos, Etoxazole, Furathiocarb, Pyraclofos, Molinate, Chlorpropham, Cadusafos, Terbufos, Phosphamidone, Prometryn, Fenitrothion, Thiazopyr, Diphenamide, Isofenphos, Methidathion, Fenamiphos, Prothiofos, Iprovalicarb, Buprofezin, Diniconazole, (E,Z)pyriminobac-methyl, Tebufenpyrad, Azinphos-methyl, Bitertanol, Diphenylamine, Phorate, Diazinon, Chlorpyrifos-methyl, Pirimiphos-methyl, Fenthion, Fosthiazate, Dimepiperate, Fenothiocarb, Fludioxonil, Flusilazole, Tebuconazole, Metconazole, Phosalone, Fenbuconazole, Ethoprophos, Dimethoate, Tebupirimphos, Tolclofos-methyl, Esprocarb, Chlorpyrifos, Cyprodinil, Phenthoate, Paclobutrazole, Napropamide, Profenofos, Mepronil, Triazophos, EPN, Fenazaquin, Pyrazophos, Lufenuron, Triflumuron, Trifluralin, Dicloran, Disulfoton, Etrimfos, Dimethenamide, Parathion-methyl, Chlorfluazuron, Dicofof, Penconazole, Chlorfenvinphos, Folpet, Flutolanil, Oxyfluorfen, Cyflufenamid, Chlorobenzilate, Carbophenothion, Bromopropylate, Fenpropathrin, Anilofos, Cyhalothrin, Permethrin, Halfenprox, Fenvalerate, Deltamethrin, Mevinphos, Simazine, Tefluthrin, Metobromuron, Metribuzin, Heptachlor(Heptachlor-epoxide), Probenazole, Aldrin, Tetraconazole, Procymidone, Simeconazole, Captan, Endosulfan(alpha, beta, sulfate), Imazalil, Oxadiazon, Thifluzamide, Chlorfenapyr, Zoxamide, Bifenthrin, Indanofan, Tetradifon, Clofentezine, Prochloraz, Flucythrinate, Difenoconazole, Azoxystrobin, BHC(alpha, beta, gamma, delta), Quintozene(pentachloroaniline, Methyl pentachlorophenyl sulfide), Bromobutide, Dithiopyr, Dichlofluanid, Metolachlor, Fthalide, Tolyfluanid, Fipronil, Butachlor, Isoprothiolane, Kresoxim-methyl, Fenoxanil, Ethion, Nuarimol, Iprodione, Piperophos, Fenamidone, Mefenacet, Acrinathrin, Cyfluthrin, Pyridaryl, Indoxacarb, Etridiazole, Ethalfuralin, Flufenoxuron, Chlorothalonil, Propanil, Vinclozolin, Alachlor, Thiobencarb, Triadimefon, Pirimiphos-ethyl, Mecarbam, Chinomethionat, Endrin(dieldrin), DDT(DDE, DDD), Ofurace, Diclofop-methyl, Pyridaphenthion, Methoxychlor, Bifenox, Fenarimol, Pyridaben, Cypermethrin, Pyrimidifen, Tralomethrin, Clothianidin, Imidacloprid, Thiachloprid, Thiophanate-methyl, Forchlofenuron, Diuron, Ferimzone, Flumioxazine, Diethofencarb, Tiadinil, Mepanipyrim, Methoxyfenozide, Cyazofamide, Pencycuron, Metamifop, Novaluron, Fluacrypyrim, Pentoxazone, Pyribenzoxim, Pyributicarb, Tricyclazole, Carbendazim, Acetamiprid, Cymoxanil, Pyroquilon, Quinoclamine, Pirimicarb, Dimethomorph, Pyrimetanil, Dimethylvinphos, Diflubenzuron, Chromafenozide, Tebufenozide, Pyraclostrobin, Teflubenzuron, Imibenconazole, Cyhalofop-butyl, Pyriproxyfen, Fenpyroxiamte, Uniconazole, Bendiocarb, Ethaboxam, Chlorantraniliprole, Bentiovalicarb-isopropyl, Mendiprofamide, Flupicolide, Flubendiamide, Hexaflumuron, Benzoximate, Trifloxystrobin, Amisulbram, Oxaziclomefon, Hexythiazox, Spiromesifen, Spirodiclofen, Silafluofen, Boscalid, Oxamyl, Methomyl, Aldicarb, Metolcarb, Propoxur, Ethiofencarb, Fenobucarb, Thiamethoxam, Thiodicarb, Carbofuran, Carbaryl, Isoprocarb, Methiocarb, Fluquinconazole, Propiconazole, Dieldrin, Chlordane, Thiabendazole, Etofenprox

시험결과 : 245 항목 불검출

표 45. 상업(뽕잎)추출물의 잔류농약(245항목) 분석

시 험 항 목 : 잔류농약 245항목
 시 험 방 법 : 농산물품질관리원 다성분 동시 분석 I 법

Dichlorvos, Methabenzthiazuron, Terbutylazine, Iprobenfos, Simetryn, Metalaxyl, Terbutryn, Malathion, Parathion, Pendimethalin, Triadimenol, Triflumizole, Hexaconazole, Myclobutanil, Cyproconazole, Edifenphos, Etoxazole, Furathiocarb, Pyraclofos, Molinate, Chlorpropham, Cadusafos, Terbufos, Phosphamidone, Prometryn, Fenitrothion, Thiazopyr, Diphenamide, Isofenphos, Methidathion, Fenamiphos, Prothiofos, Iprovalicarb, Buprofezin, Diniconazole, (E,Z)pyriminobac-methyl, Tebufenpyrad, Azinphos-methyl, Bitertanol, Diphenylamine, Phorate, Diazinon, Chlorpyrifos-methyl, Pirimiphos-methyl, Fenthion, Fosthiazate, Dimepiperate, Fenothiocarb, Fludioxonil, Flusilazole, Tebuconazole, Metconazole, Phosalone, Fenbuconazole, Ethoprophos, Dimethoate, Tebupirimphos, Tolclofos-methyl, Esprocarb, Chlorpyrifos, Cyprodinil, Phenthoate, Paclobutrazole, Napropamide, Profenofos, Mepronil, Triazophos, EPN, Fenazaquin, Pyrazophos, Lufenuron, Triflumuron, Trifluralin, Dicloran, Disulfoton, Etrimfos, Dimethenamide, Parathion-methyl, Chlorfluazuron, Dicofof, Penconazole, Chlorfenvinphos, Folpet, Flutolanil, Oxyfluorfen, Cyflufenamid, Chlorobenzilate, Carbophenothion, Bromopropylate, Fenpropathrin, Anilofos, Cyhalothrin, Permethrin, Halfenprox, Fenvalerate, Deltamethrin, Mevinphos, Simazine, Tefluthrin, Metobromuron, Metribuzin, Heptachlor(Heptachlor-epoxide), Probenazole, Aldrin, Tetraconazole, Procymidone, Simeconazole, Captan, Endosulfan(alpha, beta, sulfate), Imazalil, Oxadiazon, Thifluzamide, Chlorfenapyr, Zoxamide, Bifenthrin, Indanofan, Tetradifon, Clofentezine, Prochloraz, Flucythrinate, Difenoconazole, Azoxystrobin, BHC(alpha, beta, gamma, delta), Quintozene(pentachloroaniline, Methyl pentachlorophenyl sulfide), Bromobutide, Dithiopyr, Dichlofluanid, Metolachlor, Fthalide, Tolyfluanid, Fipronil, Butachlor, Isoprothiolane, Kresoxim-methyl, Fenoxanil, Ethion, Nuarimol, Iprodione, Piperophos, Fenamidone, Mefenacet, Acrinathrin, Cyfluthrin, Pyridaryl, Indoxacarb, Etridiazole, Ethalfuralin, Flufenoxuron, Chlorothalonil, Propanil, Vinclozolin, Alachlor, Thiobencarb, Triadimefon, Pirimiphos-ethyl, Mecarbam, Chinomethionat, Endrin(dieldrin), DDT(DDE, DDD), Ofurace, Diclofop-methyl, Pyridaphenthion, Methoxychlor, Bifenox, Fenarimol, Pyridaben, Cypermethrin, Pyrimidifen, Tralomethrin, Clothianidin, Imidacloprid, Thiachloprid, Thiophanate-methyl, Forchlofenuron, Diuron, Ferimzone, Flumioxazine, Diethofencarb, Tiadinil, Mepanipyrim, Methoxyfenozide, Cyazofamide, Pencycuron, Metamifop, Novaluron, Fluacrypyrim, Pentoxazone, Pyribenzoxim, Pyributicarb, Tricyclazole, Carbendazim, Acetamiprid, Cymoxanil, Pyroquilon, Quinoclamine, Pirimicarb, Dimethomorph, Pyrimetanil, Dimethylvinphos, Diflubenzuron, Chromafenozide, Tebufenozide, Pyraclostrobin, Teflubenzuron, Imibenconazole, Cyhalofop-butyl, Pyriproxyfen, Fenpyroxiamte, Uniconazole, Bendiocarb, Ethaboxam, Chlorantraniliprole, Bentiovalicarb-isopropyl, Mendiprofamide, Flupicolide, Flubendiamide, Hexaflumuron, Benzoximate, Trifloxystrobin, Amisulbram, Oxaziclomefon, Hexythiazox, Spiromesifen, Spirodiclofen, Silafluofen, Boscalid, Oxamyl, Methomyl, Aldicarb, Metolcarb, Propoxur, Ethiofencarb, Fenobucarb, Thiamethoxam, Thiodicarb, Carbofuran, Carbaryl, Isoprocarb, Methiocarb, Fluquinconazole, Propiconazole, Dieldrin, Chlordane, Thiabendazole, Etofenprox

시험결과 : 245 항목 불검출

(2) 불면개선 소재의 제형테스트

- 인진호(사철쭉) 및 상업(뽕잎)추출분말 제형을 검토한 결과, 분말화가 잘되는 편이며 용해도가 높은 것으로 확인되어 동결건조 보다는 경제성이 우수한 분무건조법 및 과립공정을 적용하여 다양한 제형에 적용하고자 확인함.

(A)



(B)



그림 43. 불면개선추출소재 분말 및 과립 테스트 (A)사철쭉추출물 (B)뽕잎추출물

- 음료제형의 적용성을 확인하기 위해 추출분말 및 농축정도에 따른 용해도 테스트를 진행하였으며 여과공정에 따른 침전물 발생정도를 평가하며 제조생산 시 효율성을 검토한 결과, 농축타임(Brix 10% 수준)으로 생산하여 적용하고 Housing filter (1 μm)을 사용하여 음료의 청징성을 개선하고자 함.
- 인진호(사철쭉) 및 상업(뽕잎)추출물을 타정 테스트 진행결과 아래와 같은 조건에서 타정이 효과적으로 진행되는 것으로 확인되었음.

표 46. 불면개선 추출소재 정제제품 생산 원료 배합비 테스트 조건

원 료 명	사철쭉추출물			뽕잎추출물		
	배합비율 (%)	함량 (mg)	1일 총섭취량	배합비율 (%)	함량 (mg)	1일 총섭취량
불면개선추출물	53.334	400.005	1200.015	53.334	400.005	1200.015
결정셀룰로오스	25.000	187.500	562.500	30.000	225.000	675.000
말토덱스트린	20.486	153.645	460.935	15.286	114.645	343.935
스마그	1.000	7.500	22.500	1.200	9.000	327.000
HPMC	0.170	1.275	3.825	0.170	1.275	3.825
글리세린지방산	0.010	0.075	0.225	0.010	0.075	0.225
원재료비 계	100.000	750.000	2250.000	100.000	750.000	2250.000

(A)



(B)

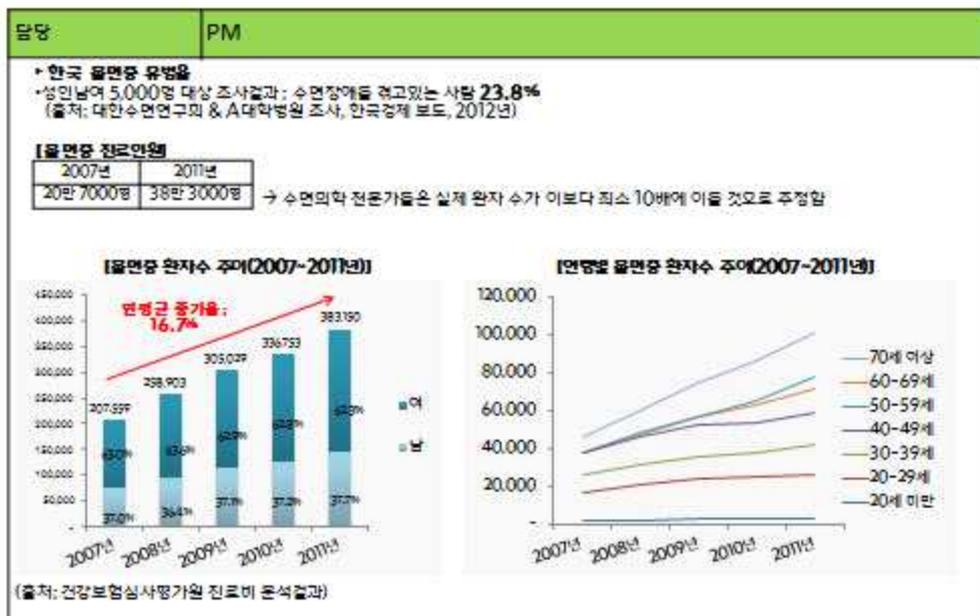


그림 44. 불면개선추출소재의 타정테스트 (A)사철쭉추출물 (B)콩잎추출물

(3) 숙면시장현황조사

- 점차 경쟁사회의 과도한 스트레스, 급격한 환경변화의 적응, 줄어드는 휴식으로 인한 신체리듬의 불균형, 각종 조명에서 뿜어져 나오는 빛으로 인한 뇌파교란 문제, 노화과정에 의한 수면구조의 변화로 인한 수면장애 등의 다양한 원인으로 수면장애를 경험하는 사람들은 증가하고 있음을 직시하고, 이를 근본적으로 해결하기 위한 건강(기능)식품의 개발이 절실한 상황인 것으로 분석됨. 특히, 국내 수면건강에 대한 중요성과 해결을 위한 소비자니즈는 증가하고 있는 현황임.

시장 현황



- 최근 식품의약품안전처에서는 수면건강의 중요성과 국민의 수면건강 증진을 위하여

수면관련 신규 health claim인 ‘수면의 질 개선에 도움을 줄 수 있다’를 허가하였음. 이는 불면증 같은 수면장애를 호소하는 사람이 계속 늘어나지만 뚜렷한 해결책을 못 찾는 경우가 많다는 것을 의미함.

- 수면제 사용은 다른 약물에 비해 중독성이나 기억력 감퇴와 같은 부작용의 우려가 큰 편이라 약물 수용의 장벽이 높은 편임. 낮에 활동량을 늘리는 것과 같은 생활습관 개선은 수면장애 치료에 있어 큰 효과를 보이지 않음. 또한, 인생의 질에 대한 소비자 니즈가 높아짐에 따라 수면에 도움을 주는 식품의 사용과 같은 신규시장 창출의 가능성이 높아질 것으로 예상됨.
- 실제로, 과도한 스트레스나 스마트폰 사용의 증가로 국내 인구의 20%가 밤에 잠들기 어렵거나 자주 깨는 등 숙면을 취하지 못하는 것으로 조사되었으며 CJ제일제당이 실시한 설문조사 결과 ‘숙면에 도움이 되는 식품이 나오면 구매할 의향이 있는지’에 대한 질문에 66.16%가 구매하겠다고 대답하여 수면건강식품에 대한 강한 소비자 니즈를 확인함. 수면시간이 부족한 수험생, 직장인, 해외출장으로 수면리듬이 깨진 사람, 교대근무로 수면시간이 불규칙하고 밤낮이 바뀐 생활을 하는 사람 등을 대상으로 수면의 질 향상으로 건강한 하루를 제공하는 제품 컨셉을 구축 중이며 본 연구결과를 토대로 추가연구를 진행하여 소재개발을 정교화하고 개별인정허가를 진행하여 수면건강의 경쟁력 있는 제품을 개발하고자 함.

시장 현황

담당		PM					
* 국내 수면/수면 관련 제품현황							
제품명	용량	가격	성분	주요특징	사용방법	비고	
 포속오도 양액마리 (포배 엘스원) 12년 7월 출시	75ML	25,000원 /1병	정제수, 에리스리톨, 레아닌, 자일리톨, 유산균발효물 , 레온그라 스투셀분말, 시클로덱스트린시럽, 구연산, 생강시럽농축액, 압생착양로, 수크랄로스, 비타민 B6염산염, 비타민B2인산에스테르나트륨	• 광범위한 동물연구 • 자일리톨 첨가로 자기 전에도 부담없이 섭취 • 유산균발효물 가바(GABA)와 녹차 추출물에서 유래한 L-테아닌(L-THYANINE) 성분이 들어 있어 숙면과 스트레스 감소에 도움	• 성인 1일 3회, 1회 1병 섭취	• 식품의 유형 혼합음료	
 코나잇 (천효식품)	4g	38,000 /60포 (20~30일분)	산초연분말 28.5%, 변근분말 24%, 편자육, 도란대분말, 열화 마그네슘(마그네슘99%)	• 편안안 잠을 보내는 데 도움 • 자연에서 얻은 성분으로 부작용이 없음	• 하루 2~3회 물과 함께 섭취. → 저녁 식사 후에는 꼭 섭취하도록 권함 • 저녁 식사 후에 사용을 마치고 먹으면 더욱 좋음	• 식품의 유형 기허가식품 • 제형: 양	
* 해외 관련제품							
 Inomed Relief spray (나투로팜) - 입안에 부리는 천연숙면제 - 카말레, 오프, 이그나티아, 칼리브롬, 모미카, zinc	 Deep Sleep (굿헬스) - 숙면증, 우울증 개선 - 도립도란, passion flower, 마그네슘, 비타민B6 등	 Easy sleep (Healberies) - 중독성 없는 천연숙면제(인공감미료 무첨가) - 발레리안, passion flower, 꿀 등	 Melatonin(GNC) - 편안한 수면을 지원하는 자연적인 방법은 멜라토닌, 비타민B6				

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 연구개발목표의 달성도 평가

1. 연구개발목표의 평가

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2012)	제 1 세부과제 (경희대학교)	○In vivo 테스트를 통해 stress로 인한 우울증 개선에 관한 효능 시험	100	○Electric shock 및 restraint 등의 mild stress 유도 모델 확립 ○강제수영시험, 상승된 십자미로 시험, 일반운동활성시험을 통하여 우울증 개선능 확인
		○항우울에 관한 in vivo mechanism 확보	100	○생화학적, 면역학적 연구 방법을 통하여 천연물의 작용 기전 확인 ○면역조직염색을 통하여 천연물이 신경재생성에 미친 영향을 확인
		○우울증 개선에 관한 최종 소재 선정	100	○표준화된 기능성 소재에 대한 정신건강 기능 개선 평가를 통한 최적 천연 소재 도출
		○In vivo 테스트를 통한 숙면 및 수면 유도에 관한 효능시험 (소재 스크리닝)	100	○Electric shock 등의 수면장애 모델 확립 ○표준화된 기능성 소재에 대한 숙면 및 수면 유도에 관한 효능시험
	제 1 협동과제 (CJ 제일제당)	○최종 소재에 대한 구체성 부여	100	○최종소재로 선정된 섬오가피의 원물규격 설정
		○국내 자생 식물을 이용한 상품화를 위한 소재 표준화 작업	100	○Lab-scale 및 Scale-up을 통한 소재표준화 연구 ○ 지표성분 및 유효물질 선정
		○시료추출물 제조 및 지표물질 최적 공정화	100	○지표성분을 포함하는 산업적 최적 추출기술 확보 ○표준화 분석기술 타당성 검증 ○1차 위해성 평가 수행
		○지표물질 제형 안정화를 위한 가공적성 테스트 (pH, 빛, 열, 용해도 등) 및 최적 조건 확보	100	○제품개발에 필요한 제형 탐색 ○가공적성 테스트 완료
		○항우울에 관한 표준화 소재의 안전성 평가	100	○단회투여독성시험 평가 확인 ○유전독성시험 3종 평가 확인

2차 년도 (2012)	제 1 세부과제 (경희대학교)	○스트레스로 인한 불안/우울 증상에 관한 인체적용시험 IRB승인 및 진행	100	○인체시험 dosage 설정 ○피험자수, 시험기간, 평가방법 등 시험설계 ○피험자의 선정/제외기준 세팅 ○기분저하/우울 행동 양상 테스트 ○유효성평가 Baseline 대비 BAI, STAI, PSWQ, HAM-A 개선을 ○안전성평가를 위한 이상반응 보 고 및 임상시험 기관 모니터링	
		○ 불면 개선에 관한 최종소재 선정	100	○표준화된 기능성 소재에 대한 정 신건강 기능 개선 평가를 통한 최적 천연 소재 도출	
		○ 불면개선 in vivo mechanism 확보	100	○생화학적, 면역학적 연구 방법을 통하여 천연물의 작용 기전 확인 ○Immunohistochemistry method, Western blot, Real time PCR 등을 활용하여 뇌 조직 내 표적 단백질 발현 및 부위 확인	
		○ 신경영양인자 및 신경생성(neurogenesis) 관여 여부 확인	100	○생화학적, 면역학적 연구 방법을 통하여 천연물의 영향 확인	
	제 1 협동과제 (CJ 제일제당)	○소재의 유통기한 설정	100	○수분, 미생물(일반세균/진균), 지표성분에 대한 온도별, 저장 기간별 안정성 확인	
		○처리조건에 따른 추출물 대량생산방법 연구	100	○유효성분의 loss 최소화를 위한 원료 제형 공정 연구 및 확립 ○식품용 원료생산에 적합한 공정개발서 완성 ○가격경쟁력을 확보한 대량 생 산 조건 설정	
		○불면개선 소재의 표준화 및 안전성평가	100	○단회투여독성시험 평가 확인 ○유전독성시험 3종 평가 확인	
		○제형 다양화 테스트	100	○소재 B2B에 대한 연구와 제품 제형에 관한 연구 ○건강기능식품 제형인 캡슐, 정제, 분말, 과립, 액상, 환, 편상, 시럽, 겔, 젤리, 바 등의 형태로 1회 섭 취가 용이한 제형 개발	
	3차 년도 (2013)	제1세부과제 (경희대학교)	○숙면 및 수면 유도에 관한 인체 적용시험(IRB 승인)	100	○인체 시험 pilot study를 통한 인체시험 dosage 설정 ○피험자 선정 가이드라인 셋팅(DSM-IV) ○Baseline check: 신체계측, 채혈, 채뇨, 기능성 식품 섭취 여부 체크

			<p>후 최종 피험자로 선정 (대상자는 60명 이상)</p> <p>○수면 상태 체크 및 숙면 행동 시험: 수면 설문 및 수면 기록 일지 작성, 정서적 변화 상태 체크(MaNair 방법, Pre status)</p>
		<p>○스트레스로 인한 불면 증상에 관한 인체 적용시험 진행 및 완료</p>	<p>100</p> <p>○Physical activity 활용한 일상생활 상태 체크(Post status)</p> <p>○수면 품질 평가(PSQI), sleep latency, sleep duration 등 실시</p> <p>○수면 관련 생화학적 지표 확인: 혈중 melatonin, 뇨중 6-sulfatoxymelatonin, 혈중 산소 포화도 등</p> <p>○항산화 및 면역 지표 확인: SOD, catalase, TBARS, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-10 등</p> <p>○이상반응 보고 및 임상시험 기관 모니터링</p>
		<p>○인체 적용시험을 통하여 정신건강 개선 천연물의 작용 기작 확증</p>	<p>100</p> <p>○동물실험과 비교하여 항우울/불안 및 항불면 개선소재의 작용 mechanism 확인</p>
제1협동과제 (CJ제일제당)		<p>○제형 다양화 테스트 및 제품 개발</p>	<p>100</p> <p>○일반식품 형태인 차류, 음료류 등에 적용하여 1일 섭취량 기준의 섭취가 용이한 제형 개발</p> <p>○일반식품 중 가공 방법이 가장 까다로운 음료 유형의 가공적성 테스트: UHT, HTST 조건 가혹 실험, 음료 filtering 테스트, 침전 테스트</p> <p>○시험 생산을 통한 가공 적성 테스트 진행</p> <p>○제형별 유통기한 설정 시험 및 저장 안정성 확보</p> <p>○시제품의 지표 안정화 확인 시험</p>
		<p>○스트레스로 인한 기분전환 또는 수면개선에 관한 신규 claim 제안 및 관련 서류 준비/작성</p>	<p>100</p> <p>○선정된 건강기능성 소재의 식약처 신규 기능성 원료 인정 가능성을 타진하고, 건강기능식품으로 출시하기 위해 각종 분석 및 성적서 확보</p>

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과

1. 실용화·산업화 계획

- 본 과제의 연구개발 성과는 아래 표로 요약 정리하였음.
- 특히, 불면개선소재로 연구된 결과물(특허)을 주관연구기관(경희대학교)에서 협동연구기관(CJ제일제당)으로 기술이전 계약을 완료하였으며 추후 보완연구 및 제품개발을 계속 진행하고자 하며, 현재 임상시험실시기관(경희대학교 병원)에서 시험을 진행 중임.

구분		(예시)특허		(예시)신품종			(예시)유전자 원 등록	논문		기타	
		출원	등록	품종 명칭등 등록	품종생 산 수입판 매 신고	품종보호		SCI	비SCI		
						출원					등록
1차 년도	목표	1						1			
	달성	1						1			
2차 년도	목표	1						1			
	달성	1						1			
3차 년도	목표		1					2			
	달성		-					-			
4차 년도	목표		1					2			
	달성		-					1			
계	목표	2	2					6			
	달성	2	0					2			

2. 논문게재 성과

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2013	The effects of a standardized Acanthopanax koreanum extract on stress-induced behavioral alterations in mice	정준만	류종훈	박세진, 이영우, 이형은, 홍성인, 류재환, 홍은영, 심재석, 정재훈	Journal of Ethnophar macology	148(3)	국외	SCI

2013	정신건강 기능성식품의 현황 및 미래	홍은영	박석준		식품과학과 산업	46(2)	국내	비SCI
2014	Anxiolytic-like effect of danshensu [(3-(3,4-dihydrox yphenyl)-lactic acid)] in mice	권구영	류종훈	김현지, 박세진, 이형은, 우현, 안영제, 고청도, 정재훈, 장대식	Life Sciences	101(1-2)	국외	SCI
2014	Positive effects of β -amyrin on pentobarbital-ind uced sleep in mice via the GABAergic neurotransmitter system	전세진, 박호재	류종훈	고청도, 이형은, 박세진, 김은지, 이선희, 홍은영, 장대식, 신찬영, 정재훈	Neuroscien ce Letters	심사중	국외	SCI
2014	Ursolic acid enhances pentobarbital-ind uced sleeping behaviors via GABAergic neurotransmission in mice	전세진, 박호재	류종훈	고청도, 박세진, 이형은, 우현, 정재훈, 홍은영	European Journal of Pharmacolo gy	심사중	국외	SCI
2014	Standardized Prunella vulgaris var. lilacina Extract Enhances Cognitive Performance through the Up-regulation of Hippocampal Neurogenesis in Normal Naive Mice	박세진	류종훈	안영제, 이형은, 홍은영	Phytothera py Research	심사중	국외	SCI
2014	Prolonged pentobarbital-ind	전세진, 고청도	류종훈	박호재, 이형은,	European Journal of	투고중	국외	SCI

	uced sleeping behaviors by danshensu: modulation of histamine H3 receptor activity			박세진, 김은지, 이선희, 홍은영, 장대식, 신찬영, 정재훈	Pharmacology			
--	--	--	--	-----------------------------------	--------------	--	--	--

3. 지식재산권 확보

출원된 특허의 경우					등록된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호	등록연도	특허명	등록인	등록국	등록번호
2013	섬오가피 추출물을 유효성분으로 포함하는 신경정신 질환의 예방 또는 치료용 조성물	홍은영, 심재석, 김상현, 류중훈, 정재훈	대한민국	10-2012-0138538					
2014	생약 추출물을 포함하는 신경안정용 약학적 조성물	류중훈, 정재훈, 장대식, 우현, 안영제, 권구영, 박세진, 김현지	대한민국	10-2013-0091705					

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 정신건강과 관련된 불안 개선, 수면 장애 개선 관련 해외 연구는 부작용이 있는 합성의약품을 대체할 수 있는 식물 유래 추출물에 대한 기능성 연구 방향으로 활발히 진행되고 있음.
- 수면 개선 연구에 있어서 complementary alternative medicine에 대한 연구는 지난 20년간 지속적으로 연구되고 있으며 Valerian, Hops등의 Natural pharmacotherapies와 함께 acupuncture, acupressur등 Manual therapies, Tai Chi, Yoga 등 Mind body therapies도 함께 연구되고 있음. Valerian 이후 뚜렷한 천연 수면 개선제가 없는 상황에서 글로벌 소재 개발 업체들이 천연 수면 개선제 개발을 활발히 진행하고 있음.
- 미국 정신건강 Supplement시장의 45% 이상을 St.Johns Wort, Valerian, Homeopathics, Combination herbs 가 차지하고 있으며 이 같은 추세는 더욱 가속화 될 전망이다. 일본 수면 시장은 항히스테민제 위주의 부작용이 있을 수 있는OTC제품에 대한 불신 때문에 새로운시장 추진 동력 확보를 위해 천연 유래의 원료 개발을 지속적으로 진행하고 있음.

제 7 장 연구시설·장비 현황

해당사항 없음

제 8 장 참고문헌

1. PhRMA, 2002-2006
2. 세계보건기구(WHO), 2008
3. WHO, 세계질병부담보고서, 2004
4. 건강보험심사평가원, 2008
5. 국립서울병원, 2006
6. Datamonitor Analysis, dietary supplement market trend & opportunities, April 29, 2009
7. 보건사회연구원, 2003
8. 보건사회연구원, 2009
9. 통계청, 2011
10. 보건복지부, 2011
11. 국민건강보험공단, 2011
12. 식품의약품안전청 고시 제2009-116호
13. 식품의약품안전처 식품원재료자료
14. Efficacy of kava extract for treating anxiety: systematic review and meta-analysis. 2000 Feb;20(1):84-9.

15. .A systematic review of insomnia and complementary medicine. 2011
Apr;15(2):99-106.
16. Euromonitor International 2012
17. Nutrition Business Journal(NBJ)'s Supplement Business Report 2009

<첨부1>

평가의견에 대한 조치 및 개인정보 삭제 확인서

평가의견에 대한 조치

평가의견	조치내용	비고
○사업화를 위한 참여기업의 개별인정 및 건강기능식품(식품제형)으로의 허가 진행에 대한 부분을 연구소에 반영 요청	○ 식품제형에 대한 정보는 기재출 보고서에 기입되어 있으며 다소 수정하였음 (최종보고서 110 쪽 참조) ○ 식약처의 수면건강 health claim 허가에 관한 사항을 기입하였으며, 이를 토대로, 본 연구 결과물의 개별인정을 추진/진행하고 있음을 보완하여 작성함 (최종보고서 112 쪽에 수정하여 제시함)	
○ 연구와 관련된 개발 시제품 정보 (타정, 액상)의 보고서 반영	○ 액상제품에 대한 배합비를 추가 기입하였으며, 음료 사진을 변경하였음 (최종보고서 74 쪽에 표와 그림 제시함)	

개인정보 삭제 확인

본인은 연구과제 최종보고서의 개인정보(주민등록번호 등)를 삭제하여 제출함을 확인합니다.

2015. 01 . 30 .

주관연구책임자 : 류 종 훈 (인)