

317070-
4

국내산 고삼을 이용한
배뇨기능 개선 기능성 제품 개발

2021

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(), 비공개(O)발간등록번호(O)
농생명산업기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003856-01

국내산 고삼을 이용한 배뇨기능 개선 기능성 제품 개발

2022.03.02.

주관연구기관 / 광주과학기술원
협동연구기관 / (주)바이오에프디엔씨

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

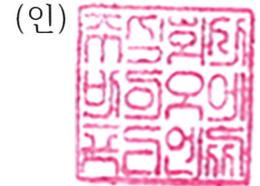
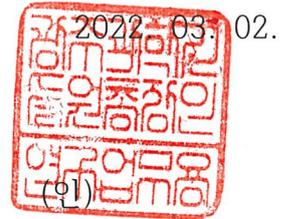
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “국내산 고삼을 이용한 배뇨기능 개선 기능성 제품 개발”(개발기간 : 2017. 11. ~ 2021. 11.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

광주과학기술원 :
(주)바이오에프디엔씨 :

김기선
정대현, 모상현



주관연구책임자 : 박철승
협동연구책임자 : 모상현

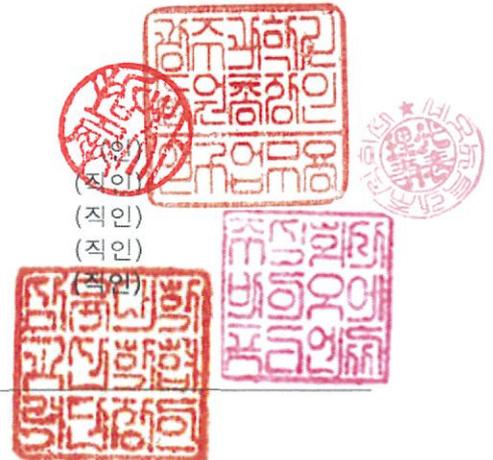
국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서							보안등급								
							일반[√], 보안[]								
중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명	사업명		농생명산업기술개발사업								
전문기관명	농림식품기술기획평가원			내역사업명											
공고번호	제2017-352호			총괄연구개발 식별번호											
				연구개발과제번호		317070-4									
기술분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LB1801	50%	2순위 LB0105	50%	3순위 없음	%								
	농림식품과학기술분류	1순위 PA0201	100%	2순위 없음	%	3순위 없음	%								
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문													
		영문													
연구개발과제명		국문		국내산 고삼을 이용한 배뇨기능 개선 기능성 제품 개발											
		영문		Development of functional food using domestic medicinal herb											
주관연구개발기관		기관명		광주과학기술원		사업자등록번호		4108207550							
		주소		(61005) 광주광역시 북구 첨단과기로 123		법인등록번호		204271-000087 1							
연구책임자		성명		박철승		직위		교수							
		연락처		직장전화		휴대전화									
				전자우편		cspark@gist.ac.kr		국가연구자번호							
연구개발기간		전체		2017. 11. 15 - 2021. 11. 14(4년 0개월)											
		단계		n단계											
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비		기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금		합계		연구개발 비외 지원금					
		현금		현금		현금		현금			현금				
총계		1,200,000		40,002		360,000		1,240,002		360,000		1,600,002			
1단계		1년차		300,000		10,000		90,000		310,000		90,000		400,000	
		2년차		250,000		8,334		75,000		258,334		75,000		333,334	
		3년차		250,000		8,334		75,000		258,334		75,000		333,334	
		4년차		400,000		13,334		120,000		413,334		120,000		533,334	
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명		책임자		직위		휴대전화		전자우편		비고			
공동연구개발기관		(주)바이오에프디엔씨		모상현		대표이사				shmoh@biofdnc.com		수요 중소기업			
위탁연구개발기관		네오뉴트라(주)		박상옥		이사				psjade@neonutra.com		위탁 중소기업			
		삼육대학교		정재훈		교수				cheongjh@syu.ac.kr		위탁 대학			
연구개발기관 외 기관															
연구개발담당자 실무담당자		성명		조희지		직위		대학원생							
		연락처		직장전화		휴대전화									
				전자우편		heeji1208@gist.ac.kr		국가연구자번호							

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2022 년 2 월 25 일

연구책임자: 박철승
 주관연구개발기관의 장: 김기선
 공동연구개발기관의 장: 모상현
 위탁연구개발기관의 장: 박상옥
 위탁연구개발기관의 장: 김일목



농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명	농생명산업기술개발사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호		317070-4	
기술 분류	국가과학기술 표준분류	1순위 LB1801	50%	2순위 LB0105	50%	3순위 없음	%
	농림식품 과학기술분류	1순위 PA0201	100%	2순위 없음	%	3순위 없음	%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		국내산 고삼을 이용한 배뇨기능 개선 기능성 제품 개발					
전체 연구개발기간		2017.11.15 - 2021.11.14 (4년 0개월)					
총 연구개발비		총 1,600,002 천원 (정부지원연구개발비: 1,200,000 천원, 기관부담연구개발비 : 400,002 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준(2) 종료시점 목표(7-8)	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표		<ul style="list-style-type: none"> ○ 고삼을 활용한 배뇨장애 개선 기능성 소재 개발 및 산업화 기술개발 <ul style="list-style-type: none"> • 고삼추출물의 배뇨장애 개선 전임상 효력 및 작용기전 규명 • 고삼추출물의 기능성식품 소재 개발 및 상용화 전략 마련 • 고삼추출물 유효성분의 발굴 및 신약 개발기반 구축 				
	전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> ○ 고삼추출물의 배뇨장애 개선 전임상 효력연구 <ul style="list-style-type: none"> • 세포모형을 이용한 배뇨장애 개선 효과 연구 • 동물모형을 이용한 배뇨장애 개선 효과 연구 ○ 고삼추출물의 성인병 개선 작용기전 연구 <ul style="list-style-type: none"> • 배뇨장애 개선 작용점 발굴 • 배뇨장애 개선 작용점에 대한 분자기전 연구 ○ 고삼추출물의 기능성식품 개발 연구 <ul style="list-style-type: none"> • 고삼추출물의 기준 규격 설정 • 제조공정 표준화 • 시제품 제작 • 안정성 연구 • 대량생산공정구축 및 식약청 기능성 인증 ○ 고삼추출물 유효성분의 발굴 <ul style="list-style-type: none"> • 타겟기반 고삼추출물 유래 혹은 화합물 라이브러리 탐색용 플랫폼 개발 • 플랫폼을 이용한 유효성분 발굴 및 검증 • 유효성분의 최적화 연구 ○ 고삼추출물 유효성분을 이용한 신약개발 기반구축 <ul style="list-style-type: none"> • 단일유효성분의 약효평가 시스템 구축 				
	1단계 (해당 시 작성)	목표					
		내용					
n단계 (해당 시 작성)	목표						
	내용						

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고삼추출물을 이용한 배뇨장애 개선 기능성 소재개발 및 상용화 전략 모델 구축 ○ 고삼추출물 유래 단일 유효성분의 발굴 ○ 배뇨장애 치료 가능한 추출물 유래 신약개발 기반 확보 ○ SCI급 국제 저널 총 3건, KCI급 저널 총 4건, 국내 및 해외 학회발표 10건 ○ 산업제품에 제품화 30건, 개별인증 신청 1건 											
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고삼추출물을 이용한 기능성식품 개발로 농가소득증대 ○ 천연물유래 단일 유효성분 발굴로 신약개발가능성 확보 ○ 노령화, 산업화에 따른 난치성질환 개선으로 삶의 질 향상 											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유	비공개 (건강기능식품 개별인증 원료 허가 신청중)											
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	7	2	1									
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	고삼		배뇨장애		쿠라리논		이온채널		요실금			
영문핵심어 (5개 이내)	<i>Sophora flavescens</i>		micturition disorder		kurarinone		ion channel		incontinence			

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

별첨 자료 (참고 문헌 등)

1. 연구개발과제의 개요

1) 연구개발의 개요

(1) 연구개발의 개요

- 현재 세계는 각국의 자생자원으로부터 기능성 바이오 소재를 개발하고 그 유전자원을 독점화, 경제화하려는 경쟁이 매우 치열한 상태에 있음
- 고삼은 잠재적 부가가치가 높은 식물자원으로 기능성 물질 특성평가와 관련해서는 주로 단일 물질을 분리하여 활용 가능성 또는 생리활성 연구에 중점을 두고 있는 실정이며, 원료중심의 시장을 형성하고 있어 높은 효능에 따른 식·의약소재 중심의 시장으로 확대가 필요한 실정에 도래하였음
- 우수한 산림자원 및 전통의료검증기술을 바탕으로 기존에 고삼 소재에 대하여 연구되어지지 않거나 산업화가 미진한 부분에 다양한 연구가 진행할 예정이며, 이에 대한 임상실험으로 지역자원과 과학기술을 융합한 가치를 산업과 연계하고자 함
- 방광 평활근의 이완을 통해 요실금 증상 완화 시킬 수 있는 신개념의 천연물 체제를 건강기능식품의 원료로 개발 또는 천연물 신약으로 개발함



[그림 1] 연구개발 개요

(2) 연구소재에 관한 고찰

- 도둑놈의지팡이, 너삼 또는 뱀의정자나무 이라고도 불리는 고삼(苦參, *Sophora flavescens*)은 콩과에 속하는 다년초로서 양지 바른 풀밭에서 자람. 높이 80~100cm로 녹색이지만 어릴 때는 검은빛을 띰. 줄기는 곧고 잎은 어긋나며 홀수깃꼴겹잎. 작은잎은 15~40개이고 긴 타원형 또는 긴 달걀 모양이며 길이 2~4cm, 나비 7~15mm. 잎자루가 길며 가장자리는 밋밋함
- 우리나라 전역의 산과 들에서 자라는 다년생 초본으로, 6~8월에 가지 끝에 20cm 정도의 꽃줄기가 나와 나비 모양의 연한 노란색 꽃이 총상꽃차례로 뿜. 꽃 길이는 15~18mm. 꽃받침은 통처럼 생겼고 곁에 털이 나며 끝이 5개로 얇게 갈라짐. 열매는 협과로 엽주 모양으로, 짧은 대가 있으며

길이 7~8cm로 9~10월에 익음

- 고삼이라는 이름은 맛이 써서 고(苦)라는 글자를 사용하고 효능이 삼과 유사하다하여 삼(參)이라는 글자를 사용함. 뿌리의 생김새 때문에 도둑놈의지팡이라는 식물명을 가지고 있음
- 한방에서는 뿌리를 말린 것을 고삼(Kushen)이라 하는데, 맛이 쓰고 인삼의 효능이 있어 소화불량·신경통·간염·황달·치질 등에 처방함. 약은 특이한 냄새가 있고 잔류성이며 약성은 매우 쓰고 참[苦寒]. 민간에서는 줄기나 잎을 달여서 살충제로 쓰기도 함. 같은 속의 식물로 산두근(山豆根)이 있으며 생김새가 매우 비슷함. 한국, 일본, 중국, 시베리아 등지에 분포함
- 고삼은 원주형이며 바깥 면은 어두운 갈색 ~ 황갈색이며 세로 주름이 뚜렷하고, 가로로 긴 피목(皮目)이 있음. 주피를 벗기면 황백색을 띠며 껍은 면은 약간 섬유성임
- 고골(苦骨), 고직(苦蕒), 교괴(驕槐), 금경(苓莖), 토괴(菟槐), 녹백(祿白), 능낭(陵郎), 백경(白莖), 수괴(水槐), 야괴(野槐), 지괴(地槐), 호마(虎麻) 등으로 부르기도 함
- 하초습열로 인한 이질, 대하, 음부소양증, 피부가려움증 등에 사용하며 방광열로 인하여 소변을 잘 못보고 통증이 있을 때 사용
- 약리효과로는 백혈구감소증 치료 및 항방사능작용, 관상동맥혈류량 증가, 심장근육 강화, 혈당 낮추는 작용, 항종양, 항균, 면역기능 억제작용 등이 보고됨



[그림 2] 약용식물 효능을 통한 소재 선정

(3) 건강기능 식품으로서의 개발 방향

- 건강기능식품의 정의
 - 건강기능식품: 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조·가공한 식품
 - 기능성: 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것
 - 기능성 원료: 건강기능식품의 제조에 사용되는 기능성을 가진 물질
 - (1) 동물, 식물, 미생물을 물리적 방법(예: 건조, 파쇄 등)으로 가공한 것
 - (2) 이를 물, 주정 등으로 추출한 것
 - (3) 추출물을 정제한 것
 - (4) 정제물과 동일하게 합성한 것

(5) 이들의 복합물

- 기능성분: 원료 중에 함유되어 있는 기능성을 나타내는 단일물질
- 지표성분: 원료 중에 함유되어 있는 화학적으로 규명된 단일물질로서 품질관리의 목적으로 설정함
- 유해물질: 원료에서 유래되거나 제조과정 중에 잔류될 수 있는 인체에 유해한 물질로서 미생물, 중금속, 잔류농약 등

○ 건강기능식품의 특징

인체에 유용한 기능성 원료 함유하여야 하고 기능성과 안전성을 확보할 수 있는 섭취량을 설정할 수 있어야 함. 영양보충용제품 등의 영양소 기능, 기타기능, 질병발생 위험감소기능과 같은 기능성을 표시할 수 있어야 함

○ 건강기능식품 제조에 사용되는 원료

- “기능성 원료”, “영양소”, “기타원료”로 구분
- 『건강기능식품에관한법률』은 안전성 · 기능성에 대한 과학적 자료를 식약청에서 검토하여 “기능성 원료”로 인정하도록 정함. 인정된 기능성 원료는 건강기능식품공전에 등재하거나 개별인정서를 발급함

○ 건강기능식품 제조에 사용되는 원재료

- 원재료: 기능성 원료를 제조하기 위해 사용되는 기원물질 (자연상태의 물질)로 정의. 합성물의 경우 그 출발물질이 원재료에 해당됨
- 사용되는 원재료는 식품으로의 구비요건을 갖추어야 함
- 식용 가능한 부분으로서 위생적으로 관리 및 유해물질로부터 안전하여야 함
- 동 원재료들에 대한 관리 목적으로 별도의 기준 및 규격이 정하여져 있는 경우 해당 규정에 적합하여야 함

○ 건강기능식품 제조에 사용되는 기타원료

- 사용되는 원재료는 식품으로의 구비요건을 갖추어야 함
- 식용 가능한 부분으로서 위생적으로 관리 및 유해물질로부터 안전하여야 함
- 기타 원료: 영양소와 기능성 원료가 아닌 것으로 건강기능식품을 구성하는 원료 또는 성분으로 정의함

(1) 식품공전에서 정하고 있는 것으로 기준 및 규격에 적합한 것

(2) 식품첨가물공전에서 정하고 있는 것으로 기준 및 규격에 적합한 것

(3) 소량으로 사용되는 “기능성 원료”는 모두 기타원료가 될 수 있음

- 영양소 또는 기능성 원료를 기타원료로 사용하려면, 식약처장이 정한 일일섭취량 미만으로 사용되어야 하며, 지방, 콜레스테롤, 나트륨, 포화지방, 트랜스지방 등 유해영양소의 함량이 높은 식품이 사용되지 않도록 주의를 기울여야 함

○ 두 가지 이상의 기능성 원료의 혼합

- 두 가지 이상의 기능성 원료를 각각 권장섭취량만큼 혼합하여 건강기능식품을 개발할 때에는 안전성과 기능성에 영향을 미칠 수 있는 상호작용을 반드시 고려하여야 함
- 상호작용에 대한 자료를 식약청에 별도로 제출하도록 의무화하고 있지는 않으나, 제조사 (또는 수입사)는 이에 관한 자료를 확보해야 함
- 식약청은 사후 부작용추정사례 모니터링과 원인분석을 통해 유통되는 복합제품의 안전성을 모니터링

터링함

- 제품의 규격을 설정할 때에는 두 가지 기능성원료의 규격을 모두 적용하도록 하고 중복된 규격 항목에 대해서는 엄격한 것을 적용토록 함

○ 건강기능식품의 구분

- 유통 · 판매를 위한 건강기능식품은 ‘원료성 제품’과 ‘최종제품’으로 구분함
- 원료성 제품: 소비자에게 직접 판매되지 않으며, 일반적으로 최종제품의 제조를 위해 대량포장으로 유통하므로 기능성내용, 일일섭취량, 섭취 시 주의사항 등과 같은 소비자정보는 필요하지 않음
- 최종제품: 소비자가 직접 구매하는 형태의 제품
- 위에서 언급한 원료성 제품에 과당, 전분, 포도당, 유당, 말토 덱스트린과 같은 부원료를 혼합한 반가공 제품은 소비자에게 직접 판매하기 위한 것이 아니므로, 최종제품이 아닌 원료성 제품으로 구분함

○ 고시형 건강기능식품

판매를 목적으로 하는 건강기능식품의 제조·사용 및 보존 등에 관한 기준과 규격을 정하여 고시하며 판매를 목적으로 하는 건강기능식품의 원료 또는 성분을 정하여 고시함

○ 개별인정형 건강기능식품

제1항의 규정에 의하여 기준과 규격이 고시되지 아니한 식품의 기준과 규격에 대하여는 영업자로부터 당해 식품의 기준·규격, 안전성 및 기능성 등에 관한 자료를 제출하게 하여 검사기관의 검사를 거쳐 건강기능식품의 기준과 규격으로 인정할 수 있으며 고시되지 아니한 건강기능식품의 원료 또는 성분에 대하여는 영업자로부터 당해 원료 또는 성분의 안전성 및 기능성 등에 관한 자료를 제출 받아 검토한 후 건강기능식품에 사용할 수 있는 원료 또는 성분으로 인정할 수 있음

○ 개별인정형 건강기능식품 평가 원칙

주장하는 효능 내용이 사실인지 (기능성), 먹어도 안전한지 (안전성), 표시된 성분이 실제 들어 있는지 (원료표준화) 측면에서 평가함

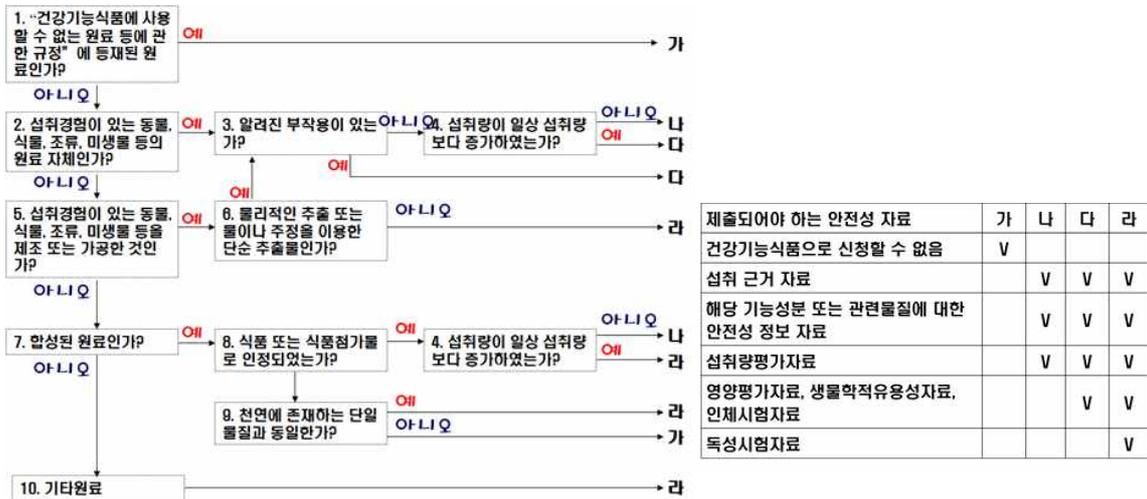
○ 개별인정형 건강기능식품 평가 원칙: 원료 표준화

- 제조에 사용된 원료 및 첨가물이 식품 또는 식품첨가물로 적합한지, 기능성분(또는 지표성분)이 확인되고 제조방법에 따라 잘 분석되었는지, 규격이 안전성을 보장할 수 있도록 설정되었는지, 적절한 분석방법 (예: 건강기능식품검사기관 의뢰)에 의해 분석되었는지 평가함
- 원 재료 관리: 식물의 종, 변종, 부위 (뿌리, 줄기, 잎)의 확인, 경작한 식물 또는 야생 식물에 대한 지역, 토양, 기후, 농사 기준 및 다른 요인 등의 일정한 성장 조건 사용, 발달 단계와 수확시기를 고려한 일관되고 적절한 수확 기준의 사용, 수확 후 가공 및 저장의 일관성, 원재료의 화학물질 분포에 대한 정성 및 정량 분석, 기능성분 (지표성분)의 함량은 어떠한지 표준화함
- 제조 공정 관리: 공정 시간, 온도, 압력, 제조 각 단계에서의 입자크기, 추출용매의 비율, 분리, 정제, 위생, 건조과정과 같은 중요한 공정 변수들의 적절한 관리, 촉매, 첨가물, 기능성분 (지표성분)의 단계별 분석하여 표준화함
- 포장 및 저장조건: 제품을 보존하고 품질을 유지, 검증 : 물리적, 화학적, 미생물학적인 특성에 대한 안정성시험을 통해 표준화
- 기능성분 (지표성분)의 분석 측면에서 상용 혹은 사내 재고 (in house stock) 여부, 제제의 특성과 순도, 안정성 확인, 공인 분석방법으로 기능성분 (지표 성분) 일관성 확인
- 순도 (불순물)의 확인: 물리적인 불순물, 미생물 불순물, 외부유래 화학물질, 내부유래 화학물질,

허용기준의 확립

○ 개별인정형 건강기능식품 평가 원칙: 안전성

- 사용경험, 제조방법, 섭취량, 독성시험결과, 인체시험결과, 영양평가결과, 생물학적유효성 등 제출된 모든 자료를 종합적으로 검토하여 안전성이 확보되어 있는지를 평가함
- 섭취근거 자료: 식품 공전 등의 공정서와 역사적 사용기록, 국외 정부기관자료 등이 포함
- 안정성 정보: Database, 학술 논문, 평가 서적등의 검색을 통해 얻는 자료
- 섭취량 평가: 국민건강 영양조사 또는 과학적 자료
- 독성시험자료: 급성/90일이상 반복독성, 유전독성, 면역 독성 등
- 영양평가, 생물학적 유효성 인체시험자료: 학술계재 논문

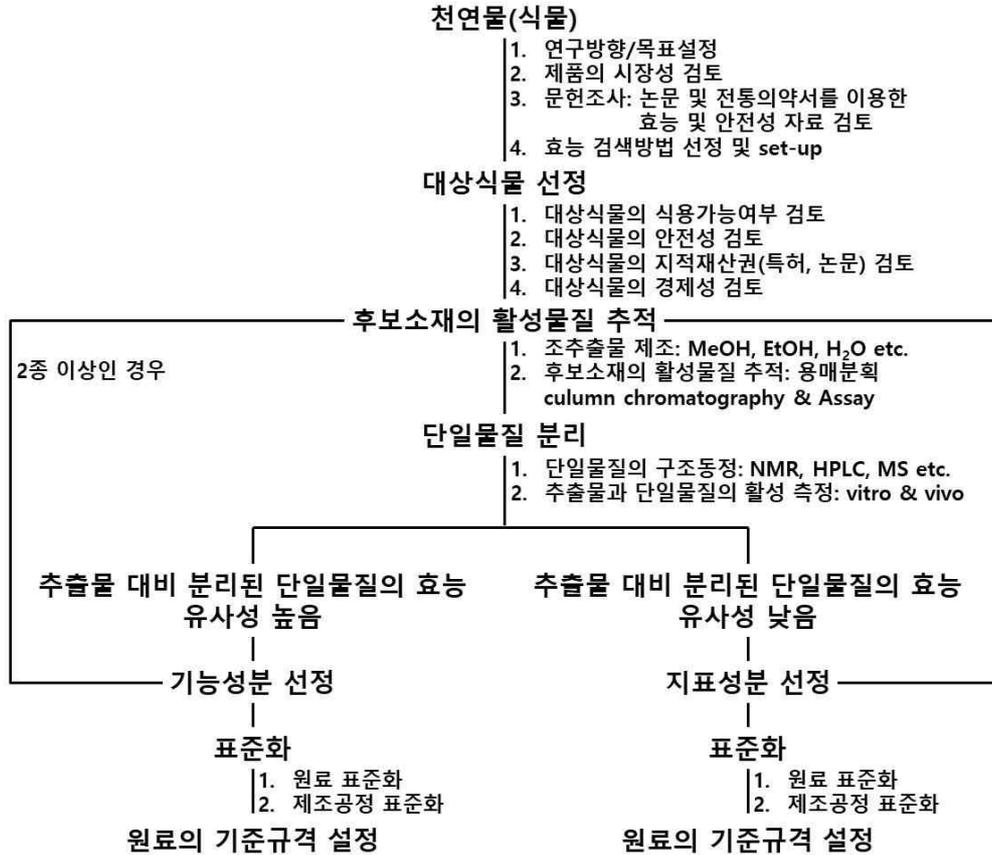


[그림 3] 건강기능식품 기능성 원료의 안전성 평가를 위한 의사결정도 (식품의약품안전처)

○ 개별인정형 건강기능식품 평가 원칙: 기능성

- 연구의 유형과 질에 따라 개별 평가하고 연구의 양, 일관성, 활용성을 종합적으로 평가함
- 건강기능식품의 기능성은 의약품과 같이 질병의 직접적인 치료나 예방을 하는 것이 아니라 인체의 정상적인 기능을 유지하거나 생리기능 활성화를 통하여 건강을 유지하고 개선하는 것을 말하는 것으로, '영양소기능', '질병발생 위험감소 기능' 및 '생리활성 기능'이 있음
- 영양소기능은 인체의 성장·증진 및 정상적인 기능에 대한 영양소의 생리학적 작용이고, 생리활성 기능은 '인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지·개선 기능을 의미하며 '질병발생 위험감소 기능'은 식품의 섭취가 질병의 발생 또는 건강상태의 위험을 감소하는 기능을 의미함
- 기능성 근거자료가 질병발생위험감소를 나타내며 확보된 과학적 근거자료의 수준이 과학적 합의에 이를 정도로 높을 경우 '질병발생위험감소기능'이 인정되며, 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지·개선을 나타낸 경우 '생리활성기능'이 인정됨

○ 새로운 식품원료의 안전성평가 가이드라인(2010.9 KFDA)



[그림 4] 식물 유래 천연물을 이용한 건강기능식품 원료 개발 과정

- 천연물을 이용한 건강기능식품의 원료를 개발할 때 어떤 효능을 위해 개발할지 정확한 연구 방향과 목표를 설정해야 함. 실제 제품이 시장에 나왔을 때 성공가능성에 대한 시장성을 조사해야 하며 논문 및 전통 의약서를 이용한 효능 및 안전성 자료를 검토하는 문헌조사를 선행하고 효능을 확인하는 구축 가능한 방법을 선정함
- 대상식물을 선정하기 위해서는 대상식물이 식용이 가능한지 여부와 안전성, 지적 재산권 (특허, 논문), 경제성을 검토하여야 함
- 이후 정해진 대상 식물 후보 소재의 활성물질을 추적하기 위해 메탄올, 에탄올 물 등을 이용하여 추출한 조추출물을 제조하고 용매분획, column chromatography assay를 통해 활성 가능성이 있는 물질을 분석함
- 활성을 보이는 단일물질을 분리하기 위해 NMR, HPLC, MS 등을 이용하여 단일물질의 구조를 동정하고 추출물과 확인된 단일물질을 in vivo, in vitro 활성평가를 통해 비교 측정함
- 추출물 대비 분리된 단일물질의 효능이 유사성이 높은 경우 기능성분으로 선정되며 2종 이상이 확인되는 경우 다시 후보소재의 활성 물질을 추적하게 되며 기능성분으로 인정되면 원료 및 제조공정의 표준화를 통해 원료의 기준규격을 설정하게 됨
- 추출물 대비 분리된 단일물질의 효능의 유사성이 낮은 경우 지표성분으로 선정되며 추가적인 활성물질에 대한 추적 단계로 돌아갈 수 있으며 지표 성분으로 인정되면 원료 및 제조공정의 표준화를 통해 원료의 기준규격을 설정하게 됨

(4) 핵심기술

- 배뇨장애 개선효과를 보이는 고삼추출물 확보
 - 기능성식품시장에 배뇨장애를 개선하는 효과가 있는 천연물에 대한 보고가 없음
 - 새로운 기능성식품시장을 개척 가능함
- 고삼추출물의 배뇨장애 개선 효과를 탐색 할 수 있는 세포 HTS 시스템 확보
- 고삼추출물로부터 분리한 단일성분을 확보
 - 기능성식품시장에서 신약시장으로의 확대 가능 기반확립
 - 기능성식품의 효능에 대한 소비자의 신임
 - 식의약 시장 개척

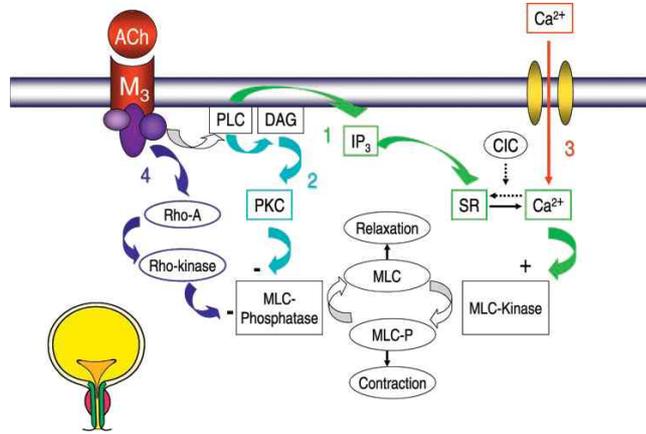
2) 연구개발의 중요성

(1) 배뇨장애: 과민성 방광증후군과 치료제 시장

- ‘요실금 (urinary incontinence, UI)’을 포함하는 과민성 방광증후군 (Overactive bladder syndrome; OAB)은 주로 방광의 수용성이완 이상으로 야기되는 급뇨 (urgency), 빈뇨 (frequency) 등의 ‘하부 비뇨기 임상증상 (lower urinary tract syndrome)’으로, 낮 또는 밤 시간동안 잦은 빈도로 요의절박 (urinary urgency)이 나타나는 질환임. 사회적 및 위생상의 문제 뿐 아니라 심각한 정신적 스트레스를 초래할 수 있는 ‘삶의 질’을 저하시키는 질병임. 이는 성별에 관계없이 40대 이상 성인의 30% 가 경험하며 나이가 들어감에 따라 증가하는 경향을 보여, 인구노령화와 함께 유병률이 급격히 증가하고 있음. 이에 따라, 과민성 방광증후군 관련 치료제 시장이 급격히 팽창하고 있음
- 배뇨장애 치료제 시장은 세계적으로 약 2조원 (국내 시장은 약 450 억원 규모로 추산)에 이르며 매년 17% 이상의 빠른 성장세를 유지하고 있어, 많은 외국계 회사가 장치와 약을 개발하여 판매하고 있음. 기존의 과민성 방광 치료 약물로는 항무스카린제, 복합-작용 약물(mixed-action drug), β -아드레날린 수용체 작용제 및 방광 내의 리셉터를 타겟팅하는 약물 등이 있음. 현재 시판되고 있는 요실금 치료제의 시장지배 약품은 무스카린성 아세틸콜린 수용체의 길항제 (항콜린제)로서 ‘톨테로딘 (tolterodine)’ (또는 데트롤[®] (Detrol[®])) 및 ‘솔리페나신 (solifenacin)’ (또는 베시케어[®] (Vesicare[®]))이 대표적인 예임
- 과민성 방광증후군 치료의 주요 약물인 항무스카린제는 장기간 사용시 순응 문제 (long-term compliance problem)라는 효능 감소 및 부작용이 발생하고 있음. 이에 직접적으로 방광 평활근 (urinary bladder smooth muscle; UBSM)을 타겟팅하면서 부작용이 적은 신규 과민성 방광 치료제에 대한 요구가 증대되고 있음

(2) 배뇨현상의 생리학적 기전

- 배뇨작용 (micturition)은 방광상피 감각신경세포가 방광의 팽창을 감지함으로써 시작되며, 중추신경계의 명령에 따른 배뇨근의 강력한 수축을 통해 소변이 방출됨. 방뇨 시 부교감 신경계는 흥분성 신경전달물질인 ‘아세틸콜린 (acetylcholine)’ 등을 분비하여, 배뇨근 세포막의 ‘무스카린성 수용체 (muscarinic receptor)’를 활성화하고 하류 신호전달체인 포스포리파제 C (phospholipase C), IP₃ 및 다량의 Ca²⁺ 유리를 통해 강력한 근수축을 유도함 (아래 그림)



[그림 5] 배뇨작용 메카니즘

- 방광의 팽창 시 상피세포는 ATP, NO (nitric oxide), 프로스타글란딘 등을 분비하며, 분비된 ATP 등은 감각 신경세포의 수용체 (P2X와 TRPV 채널)를 활성화함으로써 중추신경계로 배뇨신호를 전달함
- 소변의 ‘저장기간 (filling phase)’ 동안에는 배뇨근의 ‘수용성 이완 (receptive relaxation)’이 나타나 소변을 저장하고, ‘배뇨기 (voiding phase)’에는 큰 ‘강직성 수축 (tonic contraction)’이 나타나 소변을 방출함. 배뇨근은 주기적이며 지속적으로 작은 수축과 이완을 반복하는 ‘위상운동 (phasic movement)’을 보이는데, 위상운동의 수축기는 배뇨근의 ‘전압차 활동성 Ca²⁺ 채널(voltage-gated Ca²⁺ channel)’에 의한 Ca²⁺의 유입에 의해서 나타남
- Ca²⁺ 채널에 의해 유입된 Ca²⁺의 일부는 근육세포질세망 (sarcoplasmic reticulum)의 ‘라이아노딘 수용체 (ryanodine receptor)’를 자극하여 세포막 바로 아래의 국소적 칼슘농도 증가를 일으켜서 BKCa 채널을 개방함. 이러한 국소적 칼슘증가에 따른 BKCa 채널의 열림은 ‘STOC (spontaneous outward current)’라 불리는 외향성 K⁺ 전류를 일으켜서 배뇨근의 세포막전압을 칼슘채널의 활성화 이전 수준으로 되돌림
- 따라서 인간을 포함한 동물의 배뇨작용은 일련의 이온채널 개폐에 의해 유도되는 생리현상이며, 이에 관여하는 여러 채널단백질의 변이는 배뇨이상의 원인일 뿐 아니라 이들 병증을 완화시킬 수 있는 치료제의 표적임

(3) 신규 요실금 완화제 개발의 필요성

- 현재 시판되고 있는 과민성방광 (OAB) / 요실금 (UI) 치료제는 무스카린 수용체 억제제 (또는 항콜린제)가 유일함. 항콜린제들은 배뇨근 세포막의 수용체에 결합하여 그 기능을 차단함으로써, 근세포 수축 신호전달계를 저해하는 기전을 나타내며, 방광의 수축력을 수용체 수준에서 직접적으로 억제하는 원리를 가지고 있음
- 그러나 인체 내에는 다섯 개의 무스카린성 ‘수용체 아류형 (subtype, M1 - M5)’이 다양한 조직에 발현되고, 방광 M3 수용체를 표적하는 본 약물들의 선택성이 완벽하지 않아 다양한 부작용들이 보고되고 있음. 이에 따라, 과민성 방광 및 요실금에 대한 새로운 표적의 발굴 및 신개념 항요실금제제의 개발이 시급함
- 특히, 지속적인 개선에도 불구하고 전체 OAB 환자의 42~80%는 항콜린제 복용에 의해 증상이 개선되지 않으며, 항무스카린 제제의 심한 부작용 (입마름, 두통, 변비, 시력이상 등) 때문에 환자의 40% 이상이 투약 2년 이내에 복용을 중지하고 있는 실정임
- 따라서 요실금 (또는 과민성 방광증후군)의 새로운 표적을 찾고자 하는 노력이 다국적 제약회사를 중심으로 지속적으로 진행되어오고 있음 (아래 그림)

일반명/개발코드	신약·추가 등	개발기업	개발단계	약효/작용	예정적응증 등
비노기계질환					
이미다페나신(경구)	제형변경	杏林/小野약품	신청중	무스카린수용체길항제	과활동방광(OD정)
탐스로신(경구)	적용추가	아스텔라스	신청중	알파1수용체길항제	남성하부노료증
소리페나신(경구)	제형변경	아스텔라스	신청중	무스카린M3수용체길항제	과활동방광에 있어 노의절박감, 빈뇨 및 절박성노실금(OA)
페소테로딘후말산염(경구)	신약	화이자	신청중	과활동방광치료제	과활동방광
미라베구론(경구)	신약	화이자	임상3	베타3수용체작용약	과활동방광에 동반된 빈뇨, 노의절박감, 노실금
KCU-7483(경구)	신약	아스텔라스	임상3	베타3수용체자극작용	과활동성방광
타다라필(경구)	적용추가	일본일라이릴리	임상3	PDE5저해약	전립선비대에 동반된 배뇨장애
옥시브리닌염산염	적용추가	久光	임상3	과활동방광	과활동성방광

[그림 6] 일본 제약회사들의 요실금 치료제 개발 현황

- 따라서 과민성 방광 및 요실금에 대한 새로운 표적의 발굴 및 신개념 항요실금 제제의 개발이 시급함. 더불어 천연물에서 유래한 건강 보조식품 또는 기능성 식·의약품을 통한 요실금 및 과민성 방광 증상을 완화하는 노력이 요구됨. 무스카린성 아세틸콜린 수용체의 길항제 (항콜린제)로서 선택성이 완벽하지 않아 부작용의 가능성이 있는 별도의 치료제를 복용하지 않고서도, 천연식물소재 발효 고삼을 이용하여 과민성 방광 및 요실금에 대한 새로운 표적의 발굴 및 신개념 항요실금 제제의 개발하여 산업화 하고자 함

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1) 연구개발의 최종목표

- 동물의 방광 평활근에서 이완효과가 입증된 국내 약용식물 유래 천연 화합물을 활용한 건강기능식품 상용화 전략 구축 및 천연물 신약 기반 구축
 - 인간 표적세포 및 분자에 대한 활성에 대한 작용기작 규명을 통한 효과성 검증
 - 고부가가치 소재의 상용화를 위한 추출 및 정제방법 최적화 모델 정립
 - 임상효능과 독성여부를 확인을 통한 배뇨장애 개선 기능성 제품 개발
- 국내산 고삼 유래 천연 화합물인 쿠라리논의 추출 및 정제방법의 최적화를 통한 식품용 원료 개발
- 고삼 유래 천연 화합물을 활용한 식품 개발 및 사업화

2) 연차별 개발목표 및 내용

(1) 1차년도

- 개발 목표
 - 주관연구기관 (광주과학기술원): 쿠라리논 및 쿠라리논 유도체의 인간 방광 평활근의 칼륨통로의 개방 기능 분석
 - 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨): 건강기능식품 사용에 적합한 천연물 추출 및 정제방법의 최적화
 - 참여기관 1 (네오뉴트라(주)): 배뇨기능 개선에 대한 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발
 - 참여기관 2 (삼육대학교): 동물모델을 이용한 전임상시험
- 개발 내용 및 범위
 - 주관연구기관 (광주과학기술원)
 - 다양한 경로를 통한 쿠라리논 유도체 확보
 - 쿠라리논 및 쿠라리논 유도체들의 in vitro 시험을 통한 효능평가
 - 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨)
 - 원료 확보방안 구축
 - 고삼 뿌리에서 에탄올을 이용한 쿠라리논 농축 분획 추출 최적화
 - 고삼추출물의 High-Speed Centrifugal Separator를 통한 소재화
 - 안전성 평가를 위한 섭취량 설정
 - 참여기관 1 (네오뉴트라(주))
 - 안전성 평가 및 임상 시험 가이드
 - 전임상 가이드
 - 인체적용시험 계획서 (프로토콜) 개발
 - 참여기관 2 (삼육대학교)
 - 고삼추출물의 in vivo 배뇨기능 개선효과 확인

- 고삼추출물의 in vivo 급성 독성 평가

(2) 2차년도

○ 개발 목표

- 주관연구기관 (광주과학기술원): 쿠라리논 및 쿠라리논 유도체의 인간 방광 평활근의 칼륨통로의 개방 기전 분석
- 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨)
 - 지표 및 유효성분을 포함한 최적 대량 추출방법 및 공정도 확립
 - 제품 제형 개발 및 공인기관을 통한 안전성평가
 - 쿠라리논을 기반으로 한 다양한 사업화 영역 확대
- 참여기관 1 (네오뉴트라(주)): 전임상가이드, 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 완료
- 참여기관 2 (삼육대학교): 동물 모델을 이용한 전임상시험

○ 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관 (광주과학기술원)
 - 전기생리학을 이용한 쿠라리논 및 쿠라리논 유도체의 작용기전 연구
 - 쿠라리논의 최적 파마코포어(pharmacophore) 구조 연구
- 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨)
 - 지표 및 유효성분을 포함한 최적 대량 추출방법 및 공정도 확립
 - 고삼뿌리에서 1차 열수추출을 통한 옥시마트린, 마트린 등의 독성 성분을 일정부분 제거 후, 30% 에탄올수용액 추출방법 및 공정도 확립
 - 최적 쿠라리논 지표 및 유효성분 함량을 높이는 공정 개발 확립.
 - 추출시 추출기의 상태, 압력, 끓는점 등 작업자의 안전요소를 고려한 SOP 확보.
 - 기초 물성 측정, 부형제와의 적합성(compatibility) 연구
 - 안정성 연구 (원료 안정성 시험, 분해산물 추정, 경구제제화 연구, 안정성 연구)
 - 공인기관을 통한 안전성평가
 - 설치류 단회 투여 독성시험
 - 설치류 4주 투여 DRF 시험
 - 설치류 13주 반복 투여 독성시험
 - 유전독성시험(복귀 돌연변이, 염색체 이상 시험, 소핵시험)
 - 임상시험용 식품 제작 및 임상시험 의뢰
 - 다양한 사업화 영역 확대를 위한 쿠라리논을 유효성분으로 한 추출 Fraction의 피부세포에서의 In vitro 효능 평가 및 쿠라리논을 유효성분으로 한 추출 Fraction의 소재 사업화 추진
- 참여기관 1 (네오뉴트라(주))
 - 전임상가이드(기관별 제공자료 검토)
 - 프로토콜 개발 완료 및 IRB 심의신청 준비
- 참여기관 2 (삼육대학교)

- 고삼추출물 반복 투여에 따른 in vivo 배뇨기능 개선효과 확인
- 고삼추출물 투여 후 in vivo 배뇨기능 개선효과의 추적 관찰

(3) 3차년도

○ 개발 목표

- 주관연구기관 (광주과학기술원): 경구 제재용 고삼추출물에 대한 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 검증
- 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨)
 - 안전성(독성) 시험 결과를 토대로 한 용량 설정 및 배뇨기능개선 인체적용 임상시험
 - 지표 및 유효성분을 포함한 최적 대량 추출방법 및 공정도 확립 - 각 단계별 수율 변화 확인
 - 제품 제형 개발 및 공인기관을 통한 안전성평가
 - 쿠라리논을 기반으로 한 다양한 사업화 영역 확대
- 참여기관 1 (네오뉴트라(주)): 인체적용시험 계획서(프로토콜) IRB 승인, 배뇨기능 개선에 대한 인체적용시험 수행(대상자모집, 모니터링 등)

○ 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관 (광주과학기술원)
 - 경구 제재용 고삼추출물에 대한 세포기반 어세이를 통한 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 검증
 - 경구 제재용 고삼추출물에 대한 세포 독성 확인
 - 전임상연구 논문화
- 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨)
 - 제품 표준화 및 대량생산 시스템 구축
 - 개별인정형 이외의 사업화의 다양화
 - 식품 관련 전시회 참가 및 해외거래처를 활용한 마케팅
- 참여기관 1 (네오뉴트라(주))
 - 인체적용시험 계획서(프로토콜) IRB 승인
 - 실시기관 계약, 개시모임 실시
 - 인체적용시험 모니터링 및 모니터링 보고서 작성

(4) 4차년도

○ 개발 목표

- 주관연구기관 (광주과학기술원): 고삼추출물의 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 논문화, BK_{Ca} 채널 결합자리 예측
- 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨)
 - 배뇨기능개선 인체적용 시험 모니터링
 - 시제품 개발 및 사업화
 - 개별인정형 식품원료 신청
- 참여기관 1 (네오뉴트라(주)): 인체적용시험 완료, 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

○ 개발 내용 및 범위

- 주관연구기관 (광주과학기술원)

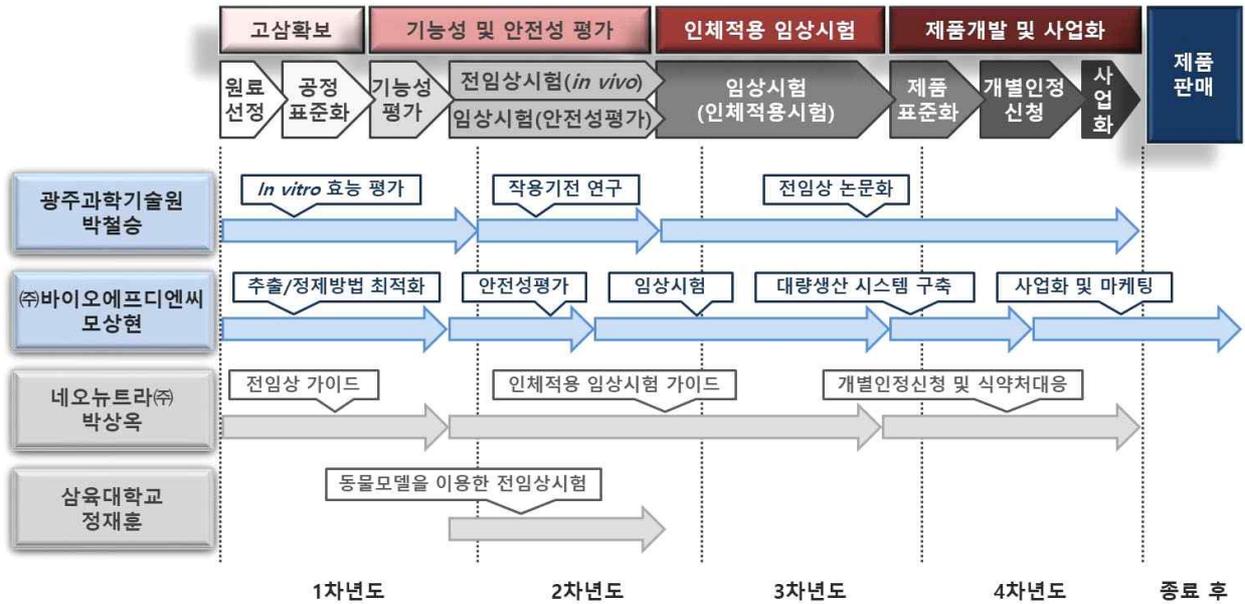
- 고삼추출물에 대한 세포기반 어세이를 통한 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 검증
- 고삼추출물에 대한 전기생리학 시험을 통한 BK_{Ca} 채널 활성화 기작 확인
- 고삼추출물 유효물질에 대한 BK_{Ca} 채널 결합자리 예측
- 전임상연구 결과에 대한 논문화

- 협동연구기관 ((주)바이오에프디엔씨)

- CRO 업체인 네오뉴트라를 통한 인체적용시험의 시험기관(중앙대병원, 동탄한림대성심병원) 모니터링
- 확립된 추출 생산 방법을 통한 3개 Lot의 시제품 생산
- 대량 생산 제품의 품질 및 안정성 시험을 통한 품질유지기간 확립
- 개별인정형 식품원료의 신청에 필요한 허가서류 작성
 - 추출 및 농축 공정에서 열에 의한 함량이 감소되는 것은 물질의 특성이기에 그 특성을 감안하여 원료 및 공정의 규격을 설정 (주성분 함량이 각각 다른 원재료들을 추출하여 최종 추출물에서 얼마만큼 주성분이 함유하는지를 확인 후 원하는 기준에 맞도록 규격 설정)
 - 기타 허가시 필요한 자료 확보
- 개별인정형 식품 원료 신청을 통한 사업 영역 확대
 - 추출방법의 차별화를 통한 활성물질인 쿠라리논의 추출을 주안점으로 하여 마케팅 자료 작성
 - 인체적용시험이 끝나는 시점에 맞춰 판매 계획 수립, 홍보 진행, 판로 개척 및 투자방법 모색

- 참여기관 1 (네오뉴트라(주))

- 인체적용시험 종료
- DM(Data Management) 및 통계분석
- 인체적용시험 결과보고서 작성 및 IRB 승인
- 개별인정 신청서 작성 및 신청
- 식약처 대응



[그림 7] 연차별, 기관별 과제 추진 시스템

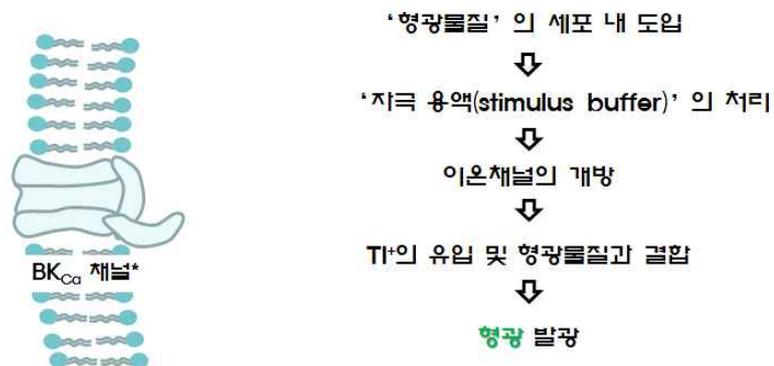
3) 연구개발 추진전략 · 방법

본 과제는 고삼추출물을 이용하여 배뇨장애를 개선하고 치료할 수 있는 기능성식품의 개발과 식약개발의 기반을 마련하는 것을 최종목표로 함

- 제1세부기관인 광주과학기술원은 기능성식품의 식약처 승인을 위한 유효성분의 작용점, 작용기전, 동물실험을 통한 효능 검증, 안전성평가 및 전임상시험을 수행함
- 제2세부기관인 (주)바이오에프디엔씨는 기능성 식품의 제품화를 위하여 추출물제조 최적화, 기능지표 성분 표준화, 안전성 시험 및 임상시험을 담당함

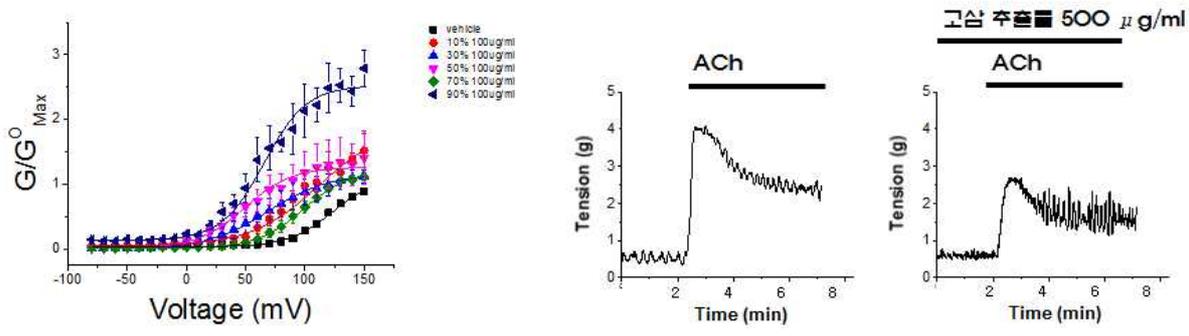
(1) 배뇨개선 기능성 인정을 위한 유효성분의 효능과 배뇨장애 치료 신약개발 기반을 위한 선도물질 도출 및 최적화 연구

- 유효성분발굴과 선도물질 도출을 위한 세포기반 탐색계의 활용



[그림 8] 세포기반 형광 활성측정 플랫폼을 이용한 고삼추출물의 BKCa 채널 활성화 확인

- 효능검증을 위해 세포기반 BKCa 채널활성 시스템과 흰쥐배뇨근 절편을 이용한 동물시스템을 사용함



[그림 9] 흰쥐배뇨근 절편을 이용한 BKCα 채널활성 평가

- 신약개발의 기반을 마련하기 위해 합성화합물 라이브러리를 스크리닝하고 리드 화합물을 발굴함
- In silico ADME 및 물성예측 (StarDrop)을 통한 쿠라린은 유도체의 신약가능성(durggability)을 확인함
- 이미 알려진 고삼 추출물의 효능에 의거하여 고삼 추출물 내의 쿠라린은 성분에 의한 배뇨장애 개선 기능 외의 새로운 효과에 대한 double effect 실험을 진행 예정

(2) 기능성식품의 제품화 (네오뉴트라(주)의 기술자문)

- 고삼 원료의 품질검토를 통한 최적 원료의 선정 및 원료 확보방안 구축
 - 추후, 계약재배 등을 통한 고삼 대량재배를 추진할 계획이며, Kg당 30,000~50,000원 정도로 총 100~200Kg 거래할 예정. PLS제도에 맞추어 대량생산된 고삼으로 제조된 소재의 잔류농약 측정 시험을 실시할 예정
- 고삼추출물의 지표성분을 분석하고, 추출방법의 최적화 및 제조공정 표준화
- 고삼추출물의 소재화 및 대량생산
- 캡슐화 기술 등을 접목한 제형 연구
 - 고삼의 쓴 맛을 보완할 뿐 아니라, 생리활성 및 안정성과 저정성을 향상시킬 수 있는 제형을 연구
- 국내의 소비자 20~30명을 대상으로 설문조사 형식의 소비자테스트를 통한 만족도 평가

(3) 고삼추출물의 안전성 평가

- 고삼추출물의 식품 소재로서의 안전성을 평가하기 위하여, 임상시험기관인 (주)켄온에 다음과 같은 건기식 독성 시험을 수행할 예정

시 험 항 목	동물종	투여기간	투여경로	기간(주)
설치류 단회 투여 독성시험 -암수 각각 5마리/군	SD rat	1회	경구	7
설치류 2주 투여 DRF 시험 -암수 각각 5마리/군	SD rat	2주	경구	6
설치류 13주 반복 투여 독성시험 -암수 각각 10마리/군	SD rat	13주	경구	27

비설치류 단회 투여 독성시험 - 암수 2마리/군 - Increasing-dose tolerance study, DES	Beagle Dog	3회	경구	12
유전독성시험 : 복귀 돌연변이 - 대장균 1군, 살로넬라균 4군 - 돌연변이 집락 관찰	-	-	-	5
유전독성시험 : 염색체 이상 시험 - 햄스터 폐 세포 - 염색체 구조 및 숫적 이상을 가진 세포의 출현빈도 관찰	균	-	-	9
유전독성시험 : 소핵시험 - 6마리/군/5군 - 소핵 관찰	ICR mouse	-	경구	9
조제균질성 및 안정성 시험 - 해당일 조제물에서 상중하 1ml 씩 채취하여 분석 실시(HPLC) - Validation 실시 + 균질성 및 함량 1회 기준 - 분석법 및 표준품 의뢰자 제공 - 유전독성, 일반독성 진행 기준			-	6

(4) 고삼을 활용한 기능소재 및 상용화 제품개발 전략 수립

- 고삼을 활용한 기능소재 및 산업화 R&D 상용화 전략 수립을 위해 연구개발 성과물의 제품화를 위한 국내외 관련 법제도 및 규제사항, 인허가 제도 (관리규정 등) 등의 조사·분석을 통한 대응전략 수립
- 국내외 시장선점을 위한 지재권 확보를 위해 선행기술 동향 분석 및 유사 특허의 종합적인 분석을 통한 특허회피·획득 전략을 수립
- 연구개발을 통해 확보된 핵심기술의 기반환경 (기술성, 시장성, 경쟁시장 구도 등) 분석을 통해 연구개발 대상의 차별화된 상용화 전략을 고려하여 특화된 연구개발 추진
 - 세계 선도기업의 유사 제품군과 차별화 될 수 있는 차별화 (기능·적용대상·신뢰성 등) 방안을 도출하여 상용화 가능성 제고
- 해외 시장 진출을 위해 글로벌 경쟁기업 분석, 개발제품의 가치 제안, 마케팅 채널, 고객 세분화, 비용 구조, 수익 흐름 등의 종합적인 분석을 통한 전략적 B/M (Business Model) 수립 및 상용화 방안 구축
- 고삼을 활용한 기능소재의 상용화 전략 수립을 통한 ICT 산업 경쟁력 확보 및 전 산업 파급효과 극대화를 통한 국가경제 성장동력 확보

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

(주관연구기관 : 광주과학기술원)

가. 고삼 농축 추출물의 제조단계별 in vitro 효능 및 세포 독성 검증

가) 연구개발 수행내용

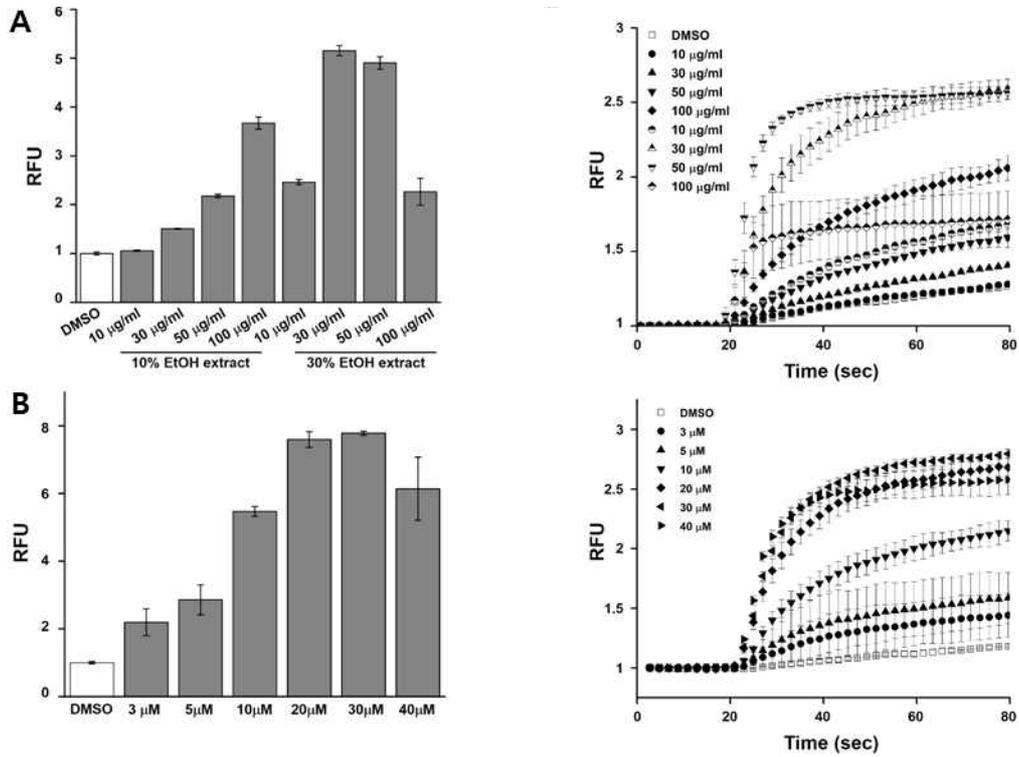
- 세포기반 형광 활성측정 플랫폼을 통한 활성 확인
 - 사람 배아 신장세포 유래의 세포주인 AD293을 활용하여 활성측정에 용이한 과활성화 BK_{Ca} 채널을 발현시키는 stable cell line을 구축함.
 - 포타슘 이온 흐름을 측정하는 형광물질 활성측정 분석법(FluxOR assay)을 사용함.
 - in vitro 세포에 독성이 없는 유기용매 DMSO를 사용함.
 - 세포막 투과성이 있는 특이 형광물질(AM-ester)을 세포에 선처리한 후 고삼추출물을 적당량 처리함.
 - 채널 활성을 유도하는 stimulus buffer를 처리하여 이온이 세포내로 유입되면 형광물질과 결합하여 형광을 발생시킴.

- MTT 분석법을 활용한 세포독성 확인
 - 약물 독성에 직접적으로 영향을 받는 간세포를 활용함.
 - 사람 간암세포 유래의 세포주인 HepG2와 C57BL/6N mouse 유래의 primary hepatocyte을 활용함.
 - 세포 사멸 정도에 따라 농도가 변화하는 화학물질 분석법(MTT assay)을 사용함.
 - 세포에 tetrazolium salt(MTT)를 처리하면 미토콘드리아 내 탈수소효소에 의해 분해되며 생성물은 다른 흡광도를 가짐.
 - 흡광도 변화를 측정하여 세포의 사멸도를 확인함.
 - in vitro 세포에 독성이 없는 유기용매 DMSO를 사용함.

나) 연구결과

(가) 예비(preliminary) 추출물: 고삼추출물의 유효성분 함유량 및 효능 시험을 위해 임의의 에탄올 농도로 추출물을 제조함.

- 고삼추출물의 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 확인
 - 10% 에탄올 추출물은 100µg/ml에서 음성대조군 대비 3.5 이상 활성이 나타남.
 - 30% 에탄올 추출물은 30µg/ml에서 음성대조군 대비 5.0 이상 활성이 나타나고 활성 포화를 보임.
 - 쿠라리논 단일물질은 30µM에서 음성대조군 대비 7.5 이상 활성이 나타나고 활성 포화를 보임.

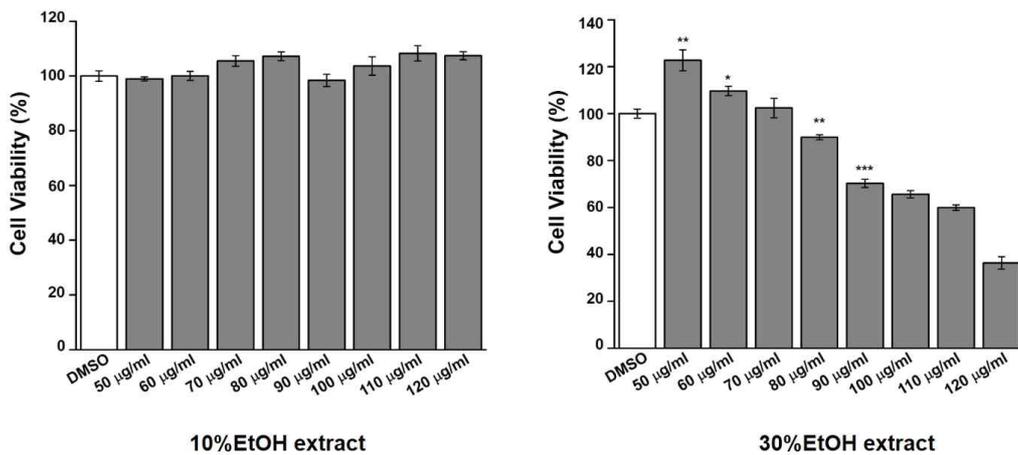


[그림 10] 고삼추출물과 쿠라리논의 세포기반 형광 활성화 측정

A. 고삼유래 10%, 30% 에탄올 추출물의 형광활성, B. 쿠라리논 단일물질의 형광활성, (좌) 음성대조군 대비 초기값에서 100s에서의 값까지의 활성 증가량, (우) 시간흐름에 따른 활성변화의 raw projection. 각각 n=4. Error bar = SEM.

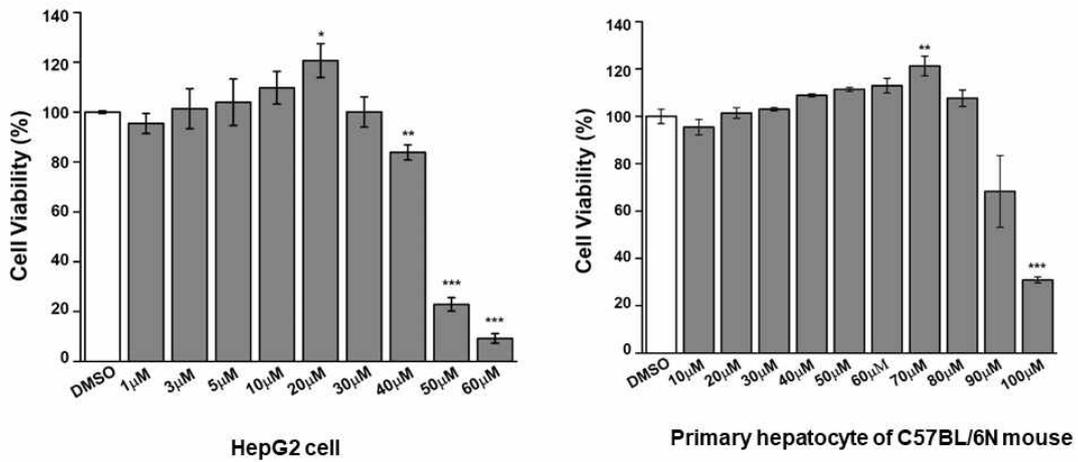
○ 고삼추출물의 세포 독성 확인

- 10% 에탄올 추출물은 120µg/ml까지 유의미한 세포독성이 나타나지 않음.
- 30% 에탄올 추출물은 50-60µg/ml에서는 음성대조군 대비 적은 세포독성을 보이고, 80µg/ml 이상에서 유의미한 세포독성이 나타남.
- 쿠라리논 단일물질은 20µM에서 음성대조군 대비 적은 세포독성을 보이고, 40µM 이상에서 세포독성이 나타남.



[그림 11] 고삼추출물의 HepG2 세포주 독성 측정

음성대조군 대비 세포생존률(%). 각각 n=4. Error bar = SEM. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.



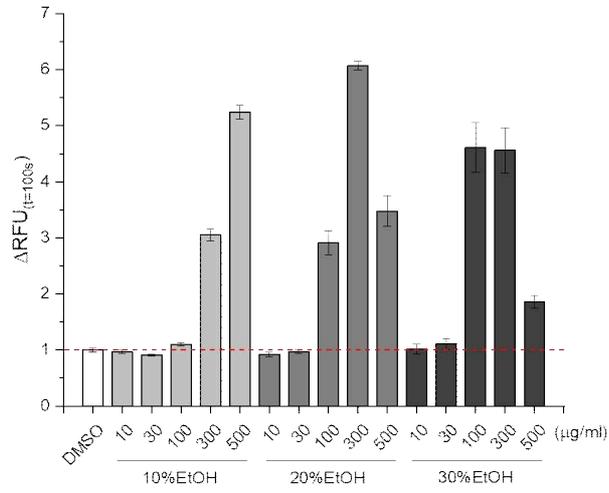
[그림 12] 쿠라리논의 HepG2 세포주와 Primary hepatocyte 독성 측정

음성대조군 대비 세포생존률(%). 각각 n=4. Error bar = SEM. *p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

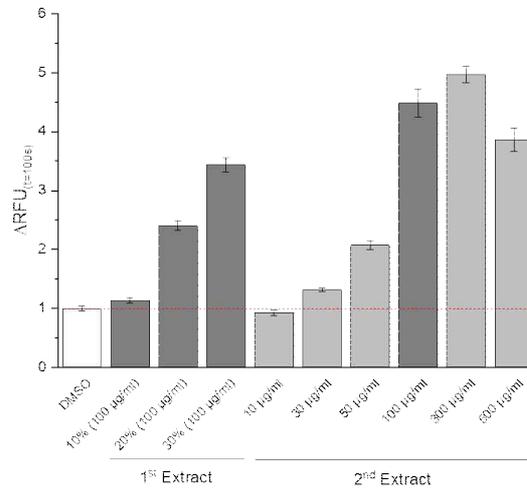
(나) 1차 및 2차 추출물: 예비 추출물의 결과를 바탕으로 원물 170g에서 에탄올 농도(10~30%)를 다르게 하여 추출물을 제조함. 1차 추출물의 효능 결과를 바탕으로 원물 400 kg에서 특정 에탄올 농도(30%)로 2차 추출물을 제조함.

○ 고삼추출물의 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 확인

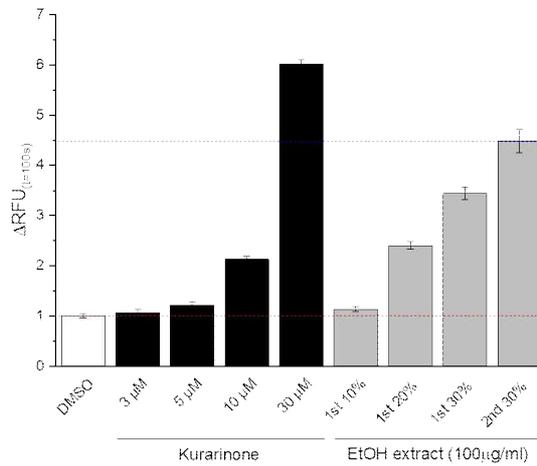
- 1차 추출물은 추출 EtOH 농도가 높아질수록 동일 농도에서 활성화가 더 빠르게 일어남. 추출EtOH 농도가 높아질수록 kurarinone 함유량이 증가하기 때문으로 보임.
- 1차 추출물 중 30%EtOH 추출물은 300 μg/ml 이상에서 활성화가 20%EtOH 추출물보다 감소함. 과활성화되어 형광 신호가 감소하는 것으로 보임.
- 2차 추출물은 동일 농도(100 μg/ml)에서 1차 추출물과 비교했을 때 더 높은 활성화를 보임.
- 2차 추출물은 농도의존적인 활성을 보이며 300 μg/ml 이상에서 활성 포화를 보임.
- 특정농도(100 μg/ml)의 Kushen extract와 Kurarinone의 activation을 비교해본 결과, 크로마토그램으로 측정한 함유량기반 추정농도보다 어세이상 추정농도가 더 높게 나옴. 쿠라리다인올(Kuraridinol) 등 다른 BK_{Ca} 채널 활성화성분을 포함할 것으로 예상됨.



[그림 13] 1차 추출물의 농도별 BK_{Ca} 채널 활성화 효과
(DMSO – vehicle, n = 3, error bar = SEM)



[그림 14] 2차 추출물의 농도별 BK_{Ca} 채널 활성화 효과
(DMSO – vehicle, n = 3, error bar = SEM)



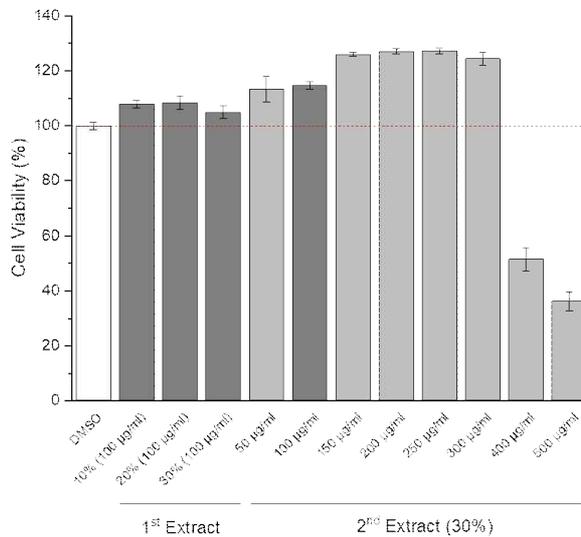
[그림 15] 쿠라리논과 고삼추출물의 BK_{Ca} 채널 활성화 비교
(DMSO – vehicle, n = 3, error bar = SEM)

EtOH%	쿠라리논 함량(mg/g)	함유량기반 추정 쿠라리논 농도(μM)	어세이상 추정 쿠라리논 농도 (μM)
1차 추출물 10%	9	2.1	약 3
1차 추출물 20%	17.8	4.1	약 10
1차 추출물 30%	45.7	10.4	10~30
2차 추출물 30%	20.7	4.7	10~30

[표 8] 고삼추출물 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 쿠라리논 함유량 추정 및 계산

○ 고삼추출물의 세포 독성 확인

- 12시간 이상 처리했을 때 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 1차 추출물과 2차 추출물 모두 세포 독성을 보이지 않음.
- 12시간 이상 처리했을 때 2차 추출물은 활성 포화를 보이는 300 $\mu\text{g/ml}$ 까지 세포 독성을 보이지 않음.



[그림 17] 고삼추출물의 추출법 및 농도별 HepG2 세포 독성 (DMSO - vehicle, n = 3, error bar = SEM)

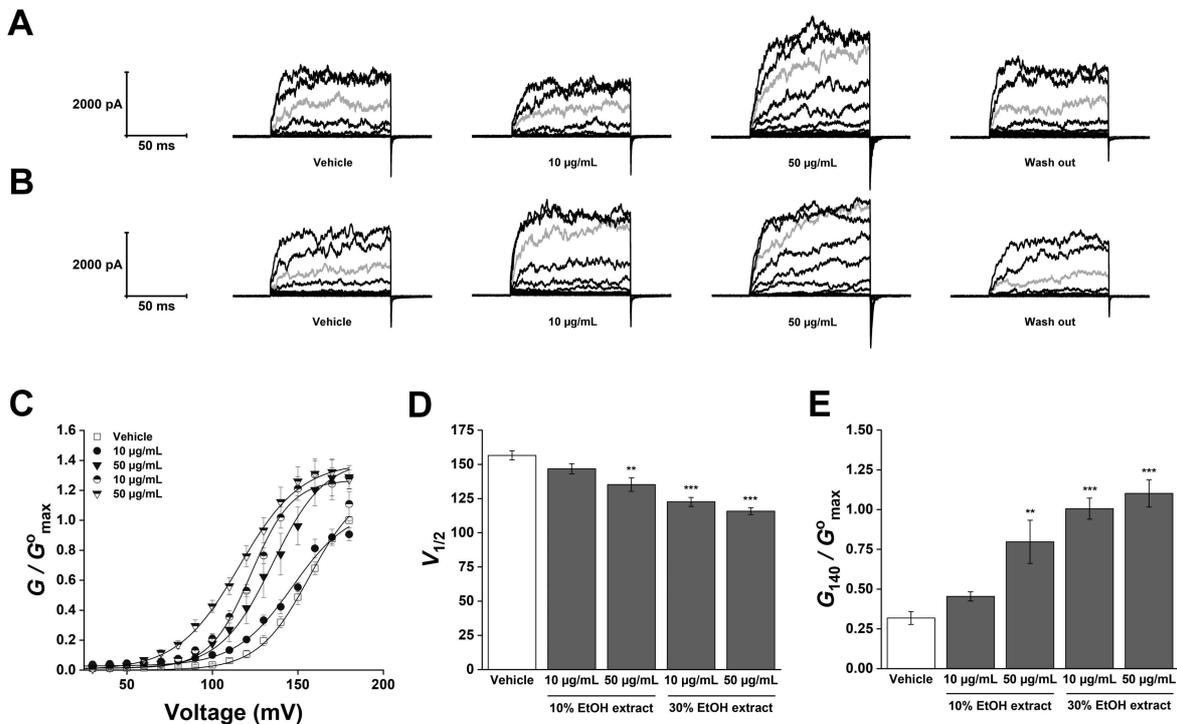
나. 고삼추출물의 BK_{Ca} 채널 개방 기작 연구

가) 연구개발 수행내용

- 시험 물질 : 고삼추출물 (10% 에탄올 및 30% 에탄올 추출물)
- Patch clamp를 통한 직접적인 BK_{Ca} 채널 활성 확인
 - 아프리카발톱개구리 (*Xenopus Laevis*)의 난모세포에 합성된 야생형 rat BK_{Ca} 채널 RNA를 주입하여 in vitro 세포막 환경을 조성함.
 - 세포막을 3~5 μM 저항을 가지는 미세유리관으로 절개 후 outside-out configuration을 조성함.
 - 세포 안팎에 동일한 칼륨농도를 가지도록 생리학적 조건의 buffer(KMHD 또는 KMHG buffer)를 처리함.
 - 전압 자극을 -80 ~ +200 mV 범위에서 주며 채널 활성을 전류 변화로 측정함.
 - Vehicle(DMSO)에 녹인 시험 물질을 세포 밖에서 처리한 후 전류 변화를 측정함.

나) 실험 결과

- 고삼추출물을 처리했을 때 BK_{Ca} 채널은 동일 전기자극(140 mV)에서 더 큰 전류를 발생시킴.
- 고삼추출물의 활성화 효과는 다량의 buffer로 씻어낼 때 시간이 지나면 완전히 제거됨.
- 고삼추출물을 처리했을 때 $G-V$ relationship이 좌측으로 더 치우침. 이는 채널이 더 약한 자극 (더 낮은 전압)에서 더 많이 활성화됨을 의미함. 이 효과는 농도가 높아질수록 커지고 30% EtOH 추출물이 10% EtOH 추출물보다 더 큰 효과를 보임.
- $V_{1/2}$ (최대전도도의 50%에 도달하기 위한 전기 자극) 값은 10% EtOH 추출물 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 처리했을 때 21.4 ± 5.9 mV 만큼 감소, 같은 농도의 30% EtOH 추출물을 처리했을 때 40.9 ± 4.1 mV 만큼 감소함.
- 140 mV 에서의 G / G_{max} (최대 전도도 대비 전도도)는 10% EtOH 추출물 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 처리했을 때 2.51 ± 0.21 배 증가, 같은 농도의 30% EtOH 추출물을 처리했을 때 3.46 ± 0.15 배 증가함.

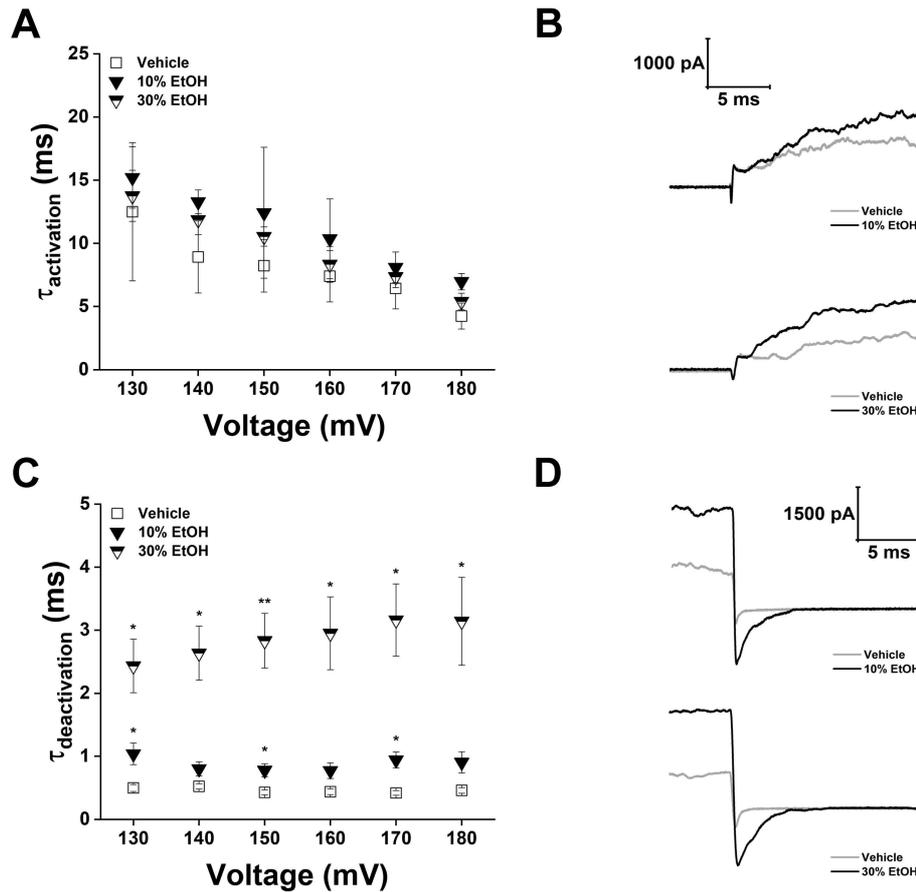


[그림 18] 고삼추출물의 BK_{Ca} 채널 개방 기능

A. 10% EtOH 추출물을 처리했을 때의 채널 전류 변화. B. 30% EtOH 추출물을 처리했을 때의 채널 전류 변화. 세포 내 칼슘농도는 3 μM 이며, 회색 라인은 140 mV 에서의 전류 변화를 의미함. C. 고삼 추출물의 $G-V$ relationship. 데이터 fitting에는 Boltzmann equation ($G/G_{\text{max}} = \{G_{\text{max}} - G_{\text{min}}\} / (1 + \exp[(V_{1/2} - V) / k]) + G_{\text{min}}$)이 사용됨. 심볼은 다음과 같음: □, vehicle (n = 6); 10% EtOH 추출물 - ●, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (n = 4); ▼, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (n = 6); 30% EtOH 추출물 - 반 채워진 ●, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (n = 6); 반 채워진 ▼, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (n = 7). D. 고삼추출물 처리에 따른 $V_{1/2}$ 변화. E. 고삼추출물 처리에 따른 140 mV 에서의 G / G_{max} 변화. 각 데이터 값은 mean \pm S.E.M.을 의미함. Vehicle 그룹과 비교했을 때, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

- BK_{Ca} 채널 활성화 시간 상수는 고삼추출물 처리에 따른 유의미한 변화가 없음. 이는 채널 개방 과정에 영향을 미치지 않는다는 것을 의미함.
- BK_{Ca} 채널 비활성화 시간 상수는 고삼추출물 처리에 따라 유의미하게 증가함. 이는 채널 폐쇄 과정을 지연시킨다는 것을 의미함. 30% EtOH 추출물이 10% EtOH 추출물보다 큰 효과를 보임.

- 고삼추출물 처리에 따라 tail current 폭의 유의미한 증가를 확인할 수 있음.
- 즉, 고삼추출물의 BK_{Ca} 채널 활성화 효과는 채널 폐쇄과정을 지연시킴으로써 발생한다고 볼 수 있으며, 이는 쿠라리논의 기작과 유사함.



[그림 19] 고삼추출물 처리에 따른 BK_{Ca} 채널 개방 시간 상수 변화

A. 고삼추출물 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 처리했을 때 BK_{Ca} 채널 활성화 시간 상수. B. 140 mV에서의 초기 outward 전류 모양. C. 고삼추출물 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 처리했을 때 BK_{Ca} 채널 비활성화 시간 상수. D. 140 mV에서의 tail 전류 모양. 데이터 fitting에는 Origin9.1의 standard exponential function($y(t) = A \exp(-t/\tau) + C$)을 사용함. 기호는 다음과 같음: □, vehicle; ▼, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 10% EtOH 추출물; 반 채워진 ▼, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 30% EtOH 추출물 (각 그룹 n = 7). 각 데이터 값은 mean \pm S.E.M.을 의미함. Vehicle 그룹과 비교했을 때, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

다. 쿠라리논 성분 유사체 탐색 및 lead 화합물 발굴

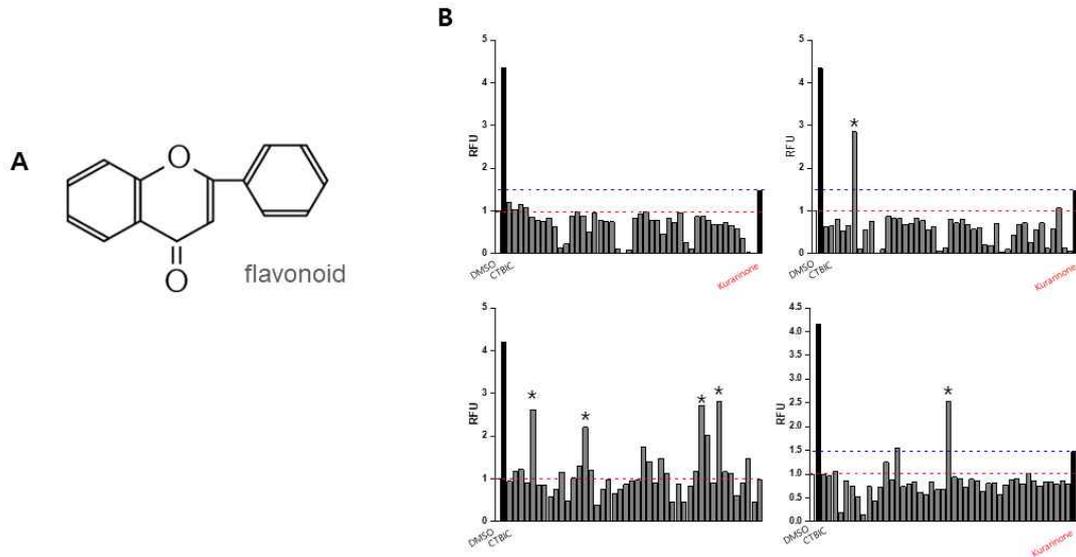
가) 연구개발 수행내용

- 스크리닝 화합물 공급회사인 TimTec에서 510종의 플라보노이드 라이브러리를 구매함.
- 세포기반 형광 활성측정 플랫폼을 통해서 활성을 확인함.
 - 사람 배아 신장세포 유래의 세포주인 AD293을 활용하여 활성측정에 용이한 과활성화 BK_{Ca} 채널을 발현시키는 stable cell line을 구축함.
 - 포타슘 이온 흐름을 측정하는 형광물질 활성측정 분석법(FluxOR assay)을 사용함.
 - in vitro 세포에 독성이 없는 유기용매 DMSO를 사용함.
 - 세포막 투과성이 있는 특이 형광물질(AM-ester)을 세포에 선처리한 후 고삼추출물을 적당량 처리함.

- 채널 활성을 유도하는 stimulus buffer를 처리하여 이온이 세포내로 유입되면 형광물질과 결합하여 형광을 발생시킴.

나) 연구결과

- 플라보노이드 510종의 형광활성을 n=1로 스크리닝함.
- 6종에서 음성대조군 대비 2 이상의 BK_{Ca} 채널 활성화 효능이 나타남.
- 그러나, 추가 실험을 위하여 시중에서 구매한 화합물들의 효능이 유의미하게 나타나지 않음.



[그림 20] 세포기반 형광 활성 측정을 통한 플라보노이드 510종의 활성 스크리닝

A. 플라보노이드의 대표 구조. B. 플라보노이드 510종의 형광 활성, 음성대조군 대비 초기값에서 100s에서의 값까지의 활성 증가량, n=1, *p≤0.05.

라. 고삼 유래 쿠라리는 유도체의 인간 방광 평활근의 칼륨통로의 개방 기능 분석

가) 연구개발 수행내용

- 시험 물질 : 부산 부경 국립대학교 식품영양학과에 의뢰하여 고삼 유래 플라보노이드를 13종 추출 및 분리하여 쿠라리는 유도체를 확보함.
- 세포기반 형광 활성측정 플랫폼을 통한 활성 확인
 - 사람 배아 신장세포 유래의 세포주인 AD293을 활용하여 활성측정에 용이한 과활성화 BK_{Ca} 채널을 발현시키는 stable cell line을 구축함.
 - 포타슘 이온 흐름을 측정하는 형광물질 활성측정 분석법(FluxOR assay)을 사용함.
 - in vitro 세포에 독성이 없는 유기용매 DMSO를 사용함.
 - 세포막 투과성이 있는 특이 형광물질(AM-ester)을 세포에 선처리한 후 고삼추출물을 적당량 처리함.
 - 채널 활성을 유도하는 stimulus buffer를 처리하여 이온이 세포내로 유입되면 형광물질과 결합하여 형광을 발생시킴.
- Patch clamp를 통한 BK_{Ca} 채널 활성 확인
 - 아프리카발톱개구리(*Xenopus Laevis*)의 난모세포에 합성된 야생형 rat BK_{Ca} 채널 RNA를 주입하여 in vitro 세포막 환경을 조성함.
 - 세포막을 3~5 μΩ 저항을 가지는 미세유리관으로 절개 후 outside-out configuration을 조성함.
 - 세포 안팎에 동일한 칼륨농도를 가지도록 생리학적 조건의 buffer(KMHD 또는 KMHG buffer)를

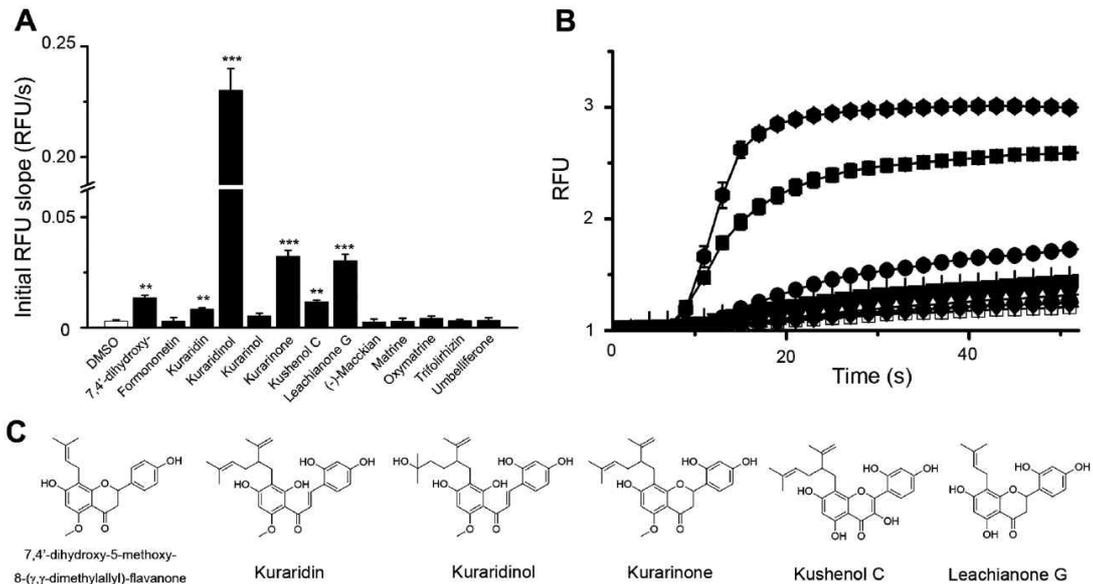
처리함.

- 전압 자극을 -80 ~ +200 mV 범위에서 주며 채널 활성을 전류 변화로 측정함.
- DMSO에 녹인 유도체를 세포 밖에서 처리한 후 전류 변화를 측정함.

나) 연구결과

○ 쿠라리논 유도체 13종의 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 확인

- 최종 농도 10 μM로 처리 시 6종의 유도체가 유의미하게 채널을 활성화함(그림 6. C).
- 그 중 쿠라리다이놀(Kuraridinol)이 가장 강력한 채널 활성화 효과를 가짐(그림 6. A, B)

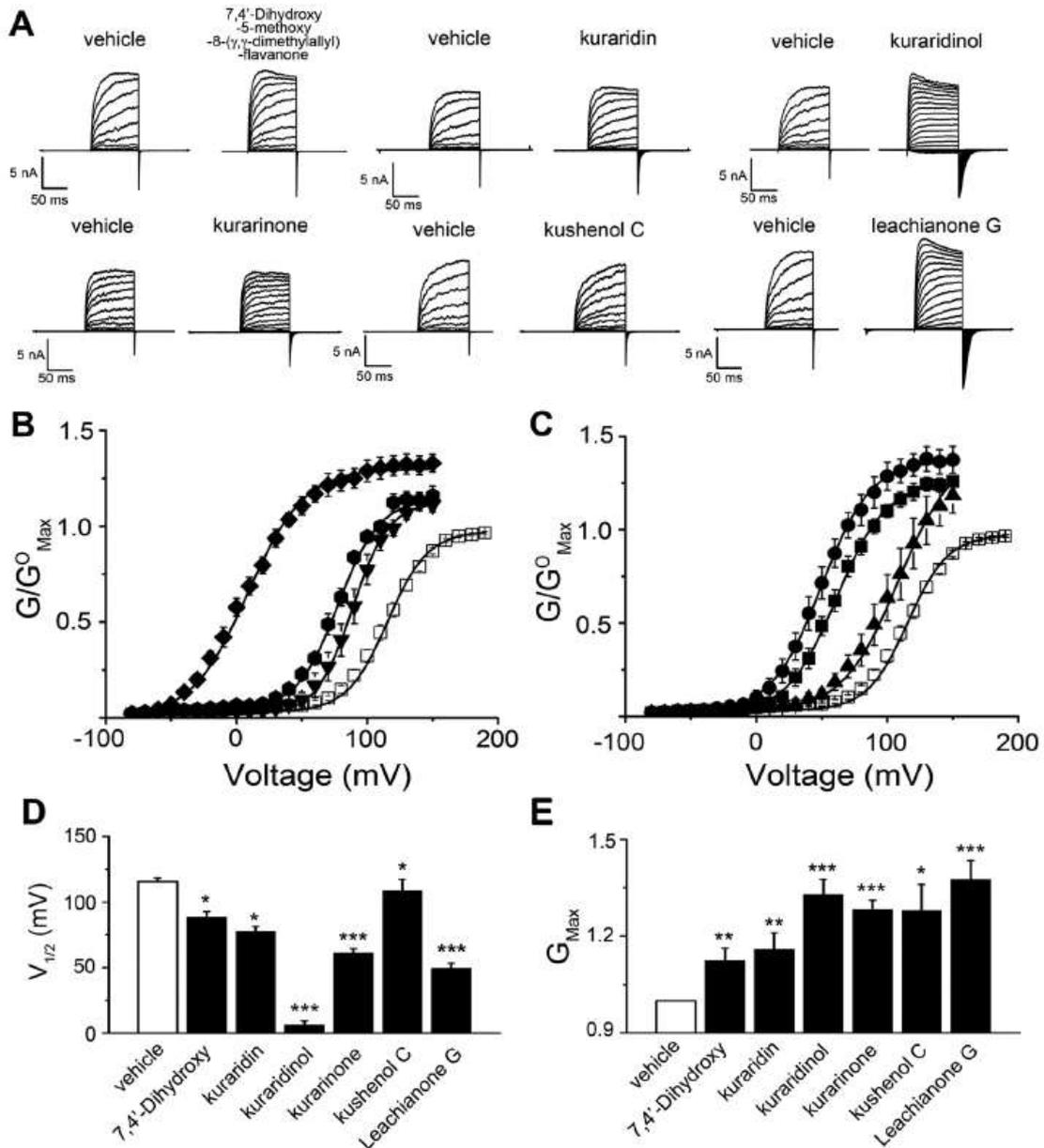


[그림 21] 쿠라리논 유도체 13종의 세포기반 형광 활성을 통한 BK_{Ca} 채널 활성화 효과 측정

A. 유도체 13종의 형광 증가 초기 기울기($n=4$). B. 상위 6종의 시간에 따른 형광 증가. 7,4-dihydroxy-5-methoxy-8-(γ,γ -dimethylallyl)-flavanone (▼), kuraridin (◆), kuraridinol (hexagon), kurarinnone (■), kushenol C (▲) and leachianone G (●) C. 상위 6종의 구조. Student-T test; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

○ 쿠라리논 유도체 6종의 BK_{Ca} 채널 활성화 기작 확인

- 쿠라리다이놀과 리치아논 G(leachianone G)가 쿠라리논보다 더 큰 $V_{1/2}$ 감소를 보여줌. $V_{1/2}$ 감소는 채널 개방이 더 적은 전압 자극으로 가능함을 의미함(그림 7. D).
- 쿠라리다이놀과 리치아논 G가 쿠라리논보다 더 큰 최대전도도(G_{Max}) 증가를 보여줌. 전도도 증가는 채널 개방의 증가를 의미함(그림 7. E).

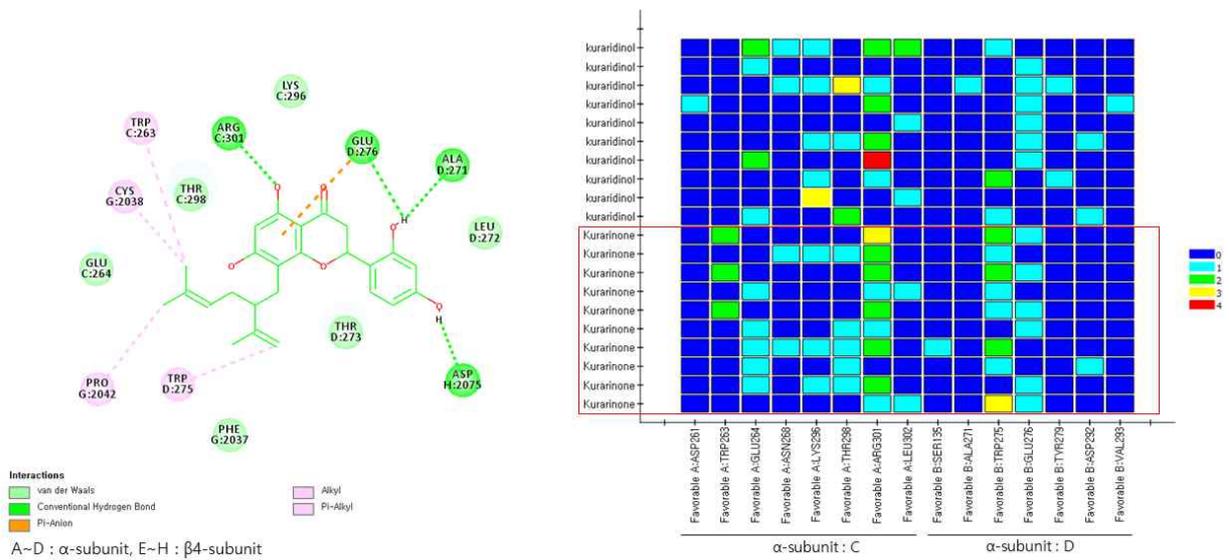


[그림 22] 쿠라리는 유도체 13종의 Patch clamp를 통한 BK_{Ca} 채널 활성화능 측정

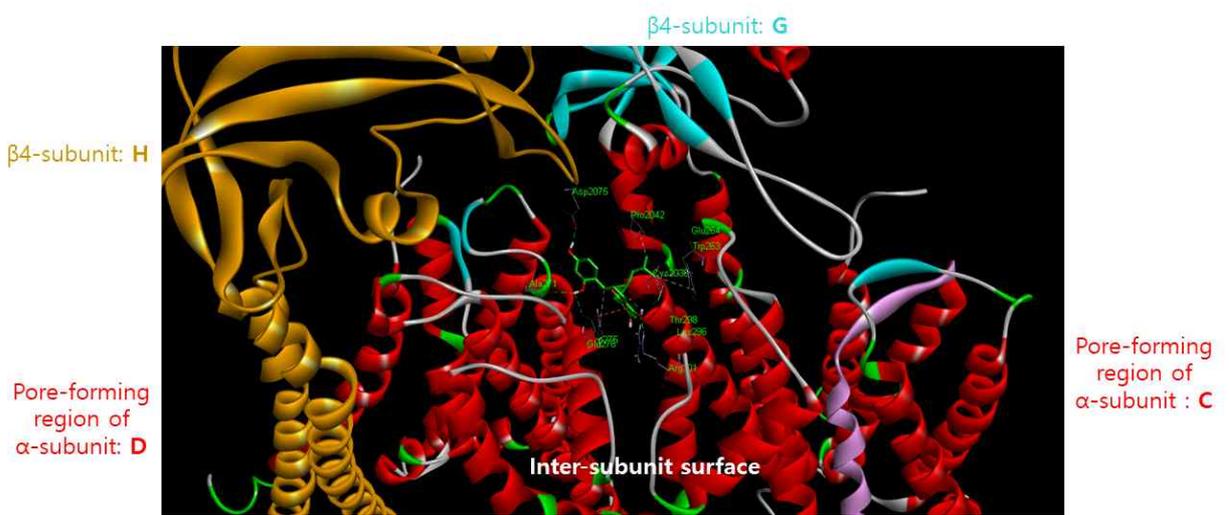
A. 상위 6종을 10 μM 농도로 처리했을 때의 채널 전류 변화. 세포 내 칼슘농도 [Ca²⁺]_i = 3 μM. B, C. 상위 6종의 G-V relationship. 전도도는 전압 자극 종료 후 0.8초 뒤 tail current 측정. Vehicle (□, n=25), 7,4-dihydroxy-5-methoxy-8-(γ,γ-dimethylallyl)-flavanone (▼, n=6), kuraridin (hexagon, n=5), kuraridinol (◆, n=4), kurarinone (■, n=5), kushenol C (▲, n=5), and leachianone G (●, n=5). 데이터 fitting에는 Boltzmann equation ($G/G_{Max} = \{ (G_{Max} - G_{Min}) / (1 + \exp[(V/2 - V) / k]) \} + G_{Min}$)이 사용됨. D. 상위 6종의 V_{1/2} 값 변화. E. 상위 6종의 G_{Max} 값 변화. Student-T test; * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.

○ 쿠라린 및 쿠라리다인올의 BK_{Ca} 채널 결합 자리 예측

- 전기생리학적 결과를 바탕으로 기발표된 인간 BK_{Ca} 채널 알파-베타4 결합 구조와 결합 자리 예측 시뮬레이션을 진행함.
- 쿠라린과 쿠라리다인올은 공통적으로 알파 소단위체의 301번 Arg과 275번 Trp과 높은 확률로 결합하는 것으로 예측됨.
- 쿠라린의 결합 자리는 인접한 두 알파 소단위체의 사이에 위치하며 세포밖에 노출되어 있는 것으로 예측됨.



[그림 23] 쿠라리논 및 쿠라리다이놀의 BK_{Ca} 채널 결합 자리 예측 결과



[그림 24] 쿠라리논의 BK_{Ca} 채널 결합 자리 3D 모델링

라. 고삼추출물의 배뇨기능 개선효과 논문화

가) 연구개발 수행내용

2018년도 시험 제조 및 검증했던 고삼추출물의 배뇨기능개선효과를 논문화하여 국내(KCI 등재) 학술지 Natural Product Sciences 지에 투고함. 추후 고삼추출물을 활용한 경구제제를 제작하고 임상을 진행할 때 본 논문이 reference가 될 수 있도록 하기위함.



[그림 25] 고삼추출물의 배뇨기능 개선효과 논문 표지

(위탁연구기관 : 삼육대학교)

가. 고삼 농축 추출물의 제조단계별 *in vivo* 배뇨기능 개선효과 및 *in vivo* 독성 평가

가) 연구개발 수행내용

(가) *in vivo* 배뇨기능 개선효과 평가

- 과민성 방광증후군(overactive bladder) 동물모델인 본태성 고혈압쥐(SHR)를 사용하였으며 정상대조군으로는 위스타교토랫드(WKY)를 사용하였음. 랫드는 8주 이상의 웅성을 사용하였음.
- 시험전날 사료 및 음수를 제한하였으며 시험 직전 2시간 동안 음수를 접근할 수 있도록 하여 방광의 상태를 일정하게 유지하였음.
- 시험물질은 고삼뿌리 추출물로서 10% 및 30%의 에탄올로 추출한 두 가지 시험물질을 사용하였음. 시험물질은 생리식염수에 녹여서 5mL/kg의 용량으로 경구투여하였으며 이후 3시간 동안 배뇨현상을 관찰하였음.
- 시험은 조용한 환경에서 시험물질을 투여한 랫드를 메타볼릭 케이지에 개별적으로 둔 후 3시간 동안 배뇨 횟수 및 배뇨량을 관찰 및 측정하였음.
- 모든 결과는 통계적인 분석을 거쳐 유의성 여부를 판별하였음.



[그림 26] 메타볼릭 케이지

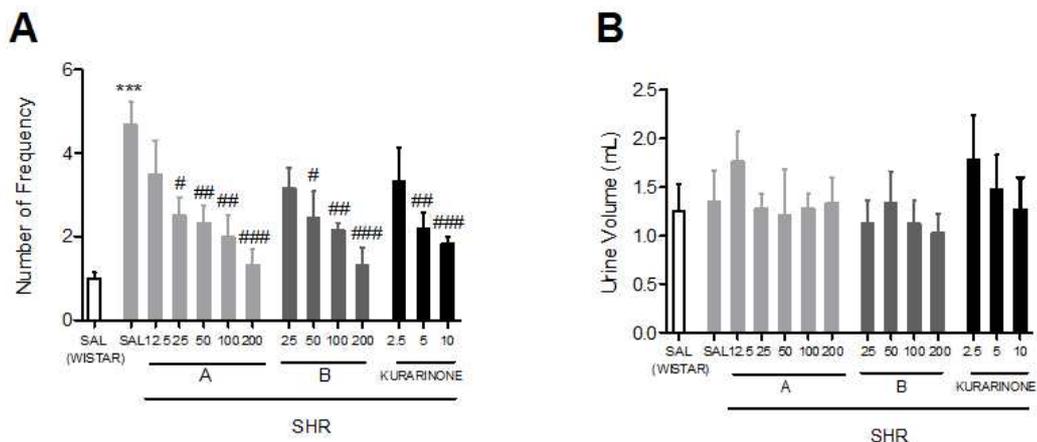
(나) in vivo 급성 독성 평가

- 고삼뿌리 추출물의 독성을 간략히 검증하기 위해 급성독성시험을 수행하였음.
- 5주령의 암수 ICR 마우스를 1주일간 안정화한 다음 추출물 500, 1,000, 2,000 mg/kg의 세 가지 용량으로 각각 단회 경구투여하였음. 마우스는 군당 5마리를 사용하였음.
- 독성평가는 단회 경구투여 후 2주일간 매일 체중 및 일반적인 행동이상을 보이는지 여부를 관찰 하였으며 실험 종료 후 각 장기별 무게의 변화를 측정하였음.

나) 연구결과

(가) 1차 추출물의 배뇨기능 개선효과 평가

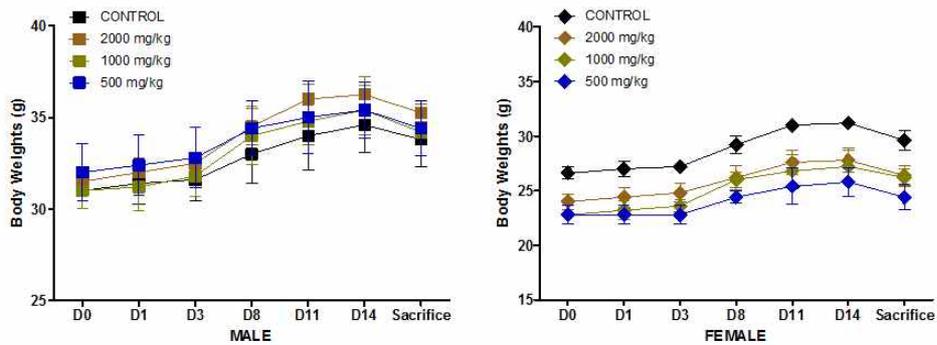
- 고삼추출물은 10% 에탄올로 추출한 A와 30% 에탄올로 추출한 B를 사용하였음. 시험의 공정성을 위하여 사전에 추출물의 종류를 맹검 처리하였음.
- 고삼추출물 A와 B는 용량의존적으로 배뇨횟수를 감소시켰으며 배뇨량에서는 차이를 보이지 않았음. A는 25 mg/kg 이상에서, B는 50 mg/kg 이상의 용량에서 유의적인 배뇨횟수 감소를 보였음.
- 고삼추출물의 주요성분인 Kurarinone에 대해서 배뇨기능 개선 효과를 검색하였음. Kurarinone은 5 mg/kg 이상의 용량에서 경구투여 후 유의적인 배뇨횟수 감소를 보였음.
- 위 실험 결과 고삼추출물은 A와 B 모두에서 배뇨기능 개선 효과가 있다고 사료됨.



[그림 27] Void behavior in SHR and Wistar Rats after single treatment of *Sophora flavescens* showing the (A) number of frequency and (B) urine volume for different dosages [12.5, 25, 50, 100, 200 mg/kg]. Values are expressed as mean \pm SEM ($n=6-12$) as compared to SAL group.

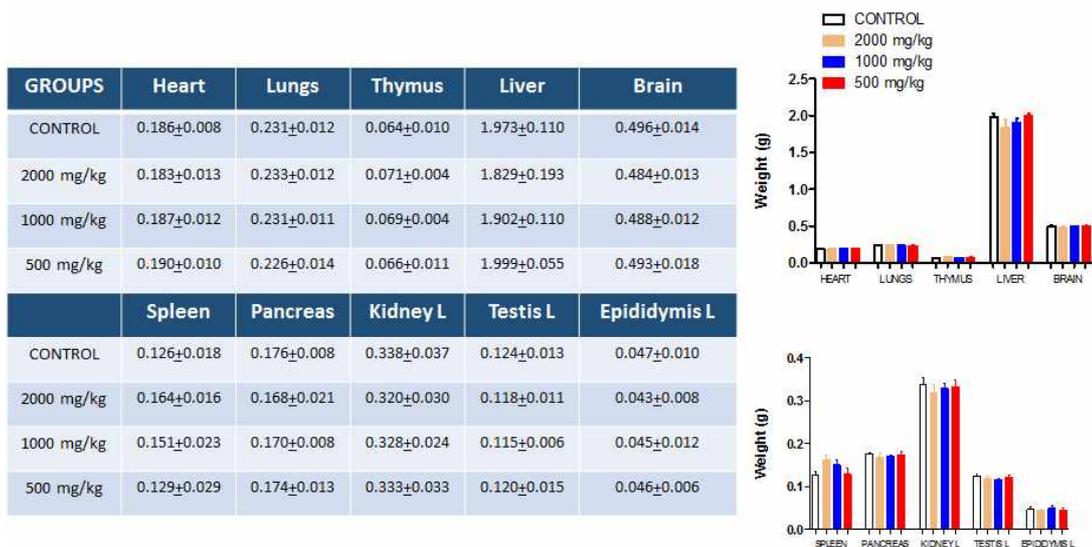
(나) 1차 추출물의 급성 독성 평가

- 고삼추출물의 급성독성평가를 간이로 실시하였음. A와 B 모두 500, 1,000, 2,000 mg/kg 용량으로 ICR 마우스에 단회 경구투여 후 2주일간 관찰하였음. 사용 동물은 암수 각각 5마리임.
- 고삼 추출물 A 단회 투여 후 2주일간 체중 변화에서는 체중 증가 정도가 차이를 보이지 않음.



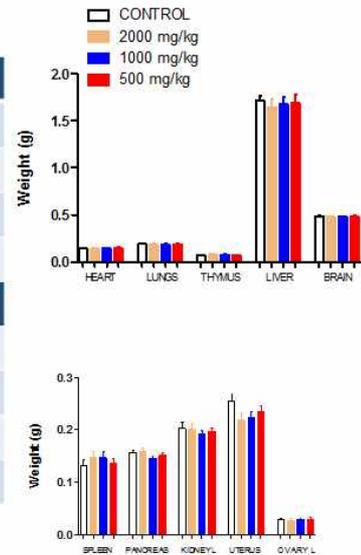
[그림 28] Body weight changes in male and female mice after single treatment of *Sophora flavescens*. Values are expressed as mean \pm SD ($n = 5$).

- 고삼 추출물 A를 숫컷 마우스에 단회 경구투여 후 2주일 후에 치사하고 각 장기의 무게를 측정하였음. 각 장기의 무게는 유의적인 차이를 보이지 않았음. 다만 간은 용량의존적으로 무게가 증가하는 경향을 보임.
- 고삼 추출물 A를 암컷 마우스에 단회 경구투여 후 2주일 후에 치사하고 각 장기의 무게를 측정함. 각 장기의 무게는 유의적인 차이를 보이지 않음. 다만 간은 용량의존적으로 증가하는 경향을 보임.



[그림 29] Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Male Mice after Single Oral Treatment of *Sophora flavescens* DRUG A

GROUPS	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Brain
CONTROL	0.144±0.006	0.191±0.018	0.070±0.008	1.715±0.010	0.486±0.015
2000 mg/kg	0.139±0.013	0.183±0.014	0.078±0.014	1.650±0.148	0.479±0.017
1000 mg/kg	0.142±0.015	0.184±0.021	0.076±0.016	1.681±0.155	0.482±0.012
500 mg/kg	0.145±0.015	0.187±0.016	0.069±0.009	1.696±0.159	0.482±0.020
	Spleen	Pancreas	Kidney L	Uterus	Ovary L
CONTROL	0.132±0.017	0.157±0.007	0.203±0.022	0.255±0.024	0.028±0.008
2000 mg/kg	0.147±0.027	0.158±0.013	0.201±0.021	0.218±0.030	0.027±0.008
1000 mg/kg	0.146±0.024	0.145±0.010	0.191±0.015	0.223±0.023	0.027±0.009
500 mg/kg	0.136±0.015	0.151±0.009	0.197±0.012	0.233±0.023	0.028±0.008



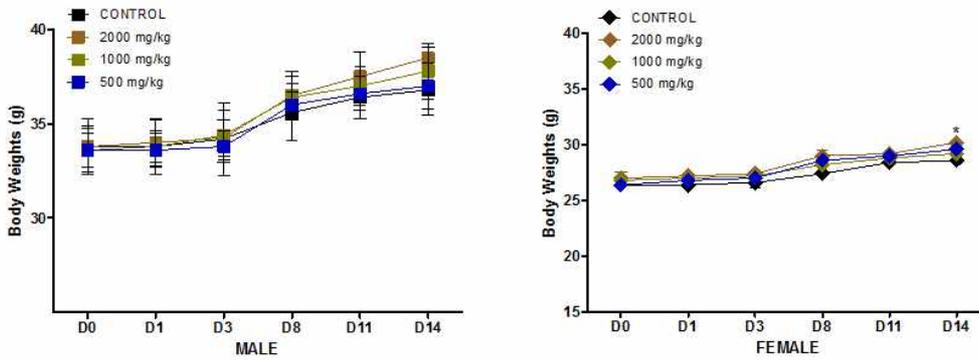
[그림 30] Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Female Mice after Single Oral Treatment of *Sophora flavescens* DRUG A

○ 마우스에 고삼 추출물 A를 단회 경구 투여 후 2주일간 임상 증상을 관찰함. 이상 징후를 보이는 경우는 없었으나 8일째에 숫컷 1마리가 최고 용량에서 사망하였음.

SEX	DOSE (mg/kg)	No. of Animals	Days after Treatment														Final Mortality			
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
M A L E	CONTROL	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5 (20%)
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
F E M A L E	CONTROL	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)

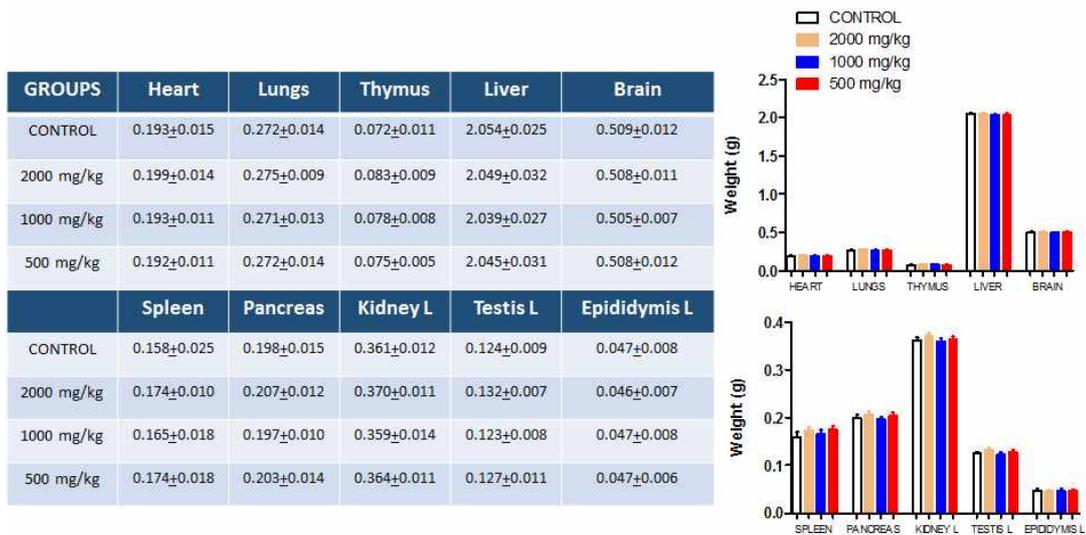
[그림 31] Abnormal clinical signs in male and female mice orally treated with a *Sophora flavescens* DRUG A

○ 고삼 추출물 B를 단회 투여 후 2주일간 체중 변화에서는 숫컷에서 용량의존적으로 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었음.



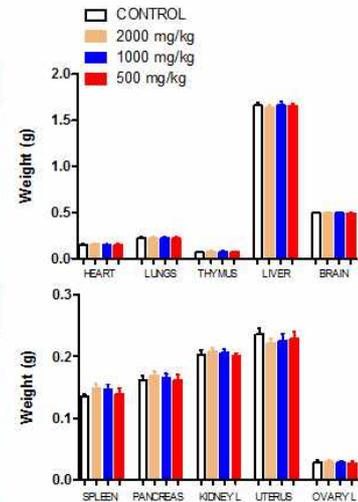
[그림 32] Body weight changes in male and female mice after single treatment of *Sophora flavescens*. Values are expressed as mean \pm SD ($n=5$).

- 고삼 추출물 B를 숫컷 마우스에 단회 경구투여 후 2주일 후에 치사하고 각 장기의 무게를 측정 하였음. 각 장기의 무게는 유의적인 차이를 보이지 않았음.
- 고삼 추출물 B를 암컷 마우스에 단회 경구투여 후 2주일 후에 치사하고 각 장기의 무게를 측정 함. 각 장기의 무게는 유의적인 차이를 보이지 않음.



[그림 33] Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Male Mice after Single Oral Treatment of *Sophora flavescens* DRUG B

GROUPS	Heart	Lungs	Thymus	Liver	Brain
CONTROL	0.155±0.013	0.221±0.024	0.071±0.009	1.659±0.052	0.494±0.021
2000 mg/kg	0.155±0.016	0.228±0.022	0.079±0.009	1.634±0.069	0.498±0.017
1000 mg/kg	0.153±0.009	0.226±0.023	0.075±0.013	1.663±0.069	0.496±0.015
500 mg/kg	0.153±0.014	0.219±0.023	0.075±0.014	1.653±0.043	0.493±0.010
	Spleen	Pancreas	Kidney L	Uterus	Ovary L
CONTROL	0.136±0.006	0.162±0.014	0.204±0.014	0.236±0.022	0.029±0.005
2000 mg/kg	0.149±0.014	0.168±0.016	0.208±0.012	0.222±0.013	0.029±0.005
1000 mg/kg	0.147±0.015	0.166±0.012	0.206±0.013	0.226±0.023	0.028±0.007
500 mg/kg	0.140±0.019	0.161±0.019	0.202±0.008	0.229±0.021	0.027±0.004



[그림 34] Changes on the Absolute Organ Weights Observed in Female Mice after Single Oral Treatment of *Sophora flavescens* DRUG B

○ 마우스에 고삼 추출물 B를 단회 경구 투여 후 2주일간 임상 증상을 관찰함. 이상 징후를 보이는 경우는 없었으나 3일째에 숫컷 1마리가 최고 용량에서 사망하였음.

SEX	DOSE (mg/kg)	No. of Animals	Days after Treatment														Final Mortality		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
M A L E	CONTROL	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)	
	2000	5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5 (20%)
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)	
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)	
F E M A L E	CONTROL	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)	
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)	
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)	
	500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5 (0%)	

[그림 35] Abnormal clinical signs in male and female mice orally treated with a *Sophora flavescens* DRUG B

나. 임상 시험용 고삼 농축 추출물의 배뇨기능개선효과 평가

가) 연구내용

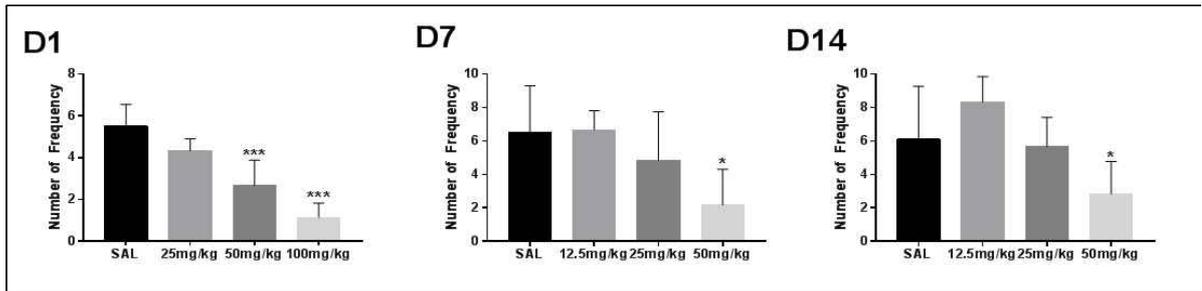
- 배뇨기능장애에 대한 동물모델은 본태성 고혈압쥐(SHR)를 사용하였으며 정상대조동물은 위스타 교토랫드(WKY)를 사용하였음. 랫드가 8주 이상으로 몸무게 250 g 이상되었을 때 웅성을 사용하였음.
- 시험전날 사료 및 음수를 제한하였으며 시험 직전 2시간 동안 음수를 접근할 수 있도록 하여 방광의 상태를 일정하게 유지하였음.
- 시험물질은 고삼추출물의 경우 바이오에프디엔씨에서 제공하는 30%의 에탄올로 추출한 것을 사용하였음. 쿠라리는 유도체는 광주과학기술원에서 제공하였음. 시험물질은 생리식염수에 녹여서 5mL/kg의 용량으로 경구투여하였으며 이후 3시간 동안 배뇨현상을 관찰하였음. 2차년도에 경우 시험물질의 투여는 일주일간 계속하여 지속적인 투여시의 영향을 확인하였음.
- 시험은 조용한 환경에서 시험물질을 투여한 랫드를 대사케이지에 개별적으로 둔 후 3시간 동안

배뇨 횟수 및 배뇨량을 관찰 및 측정하였음.

- 모든 결과는 통계적인 분석을 거쳐 유의성 여부를 판별하였음.

나) 연구결과

- 고삼추출물을 투여한 각 실험군은 대조군 12마리, 실험군 각 6마리임. 2주일간 매일 동일용량을 경구투여하고 투여 1일, 7일 및 14일째에 배뇨기능개선 정도를 확인하였음. 실험결과, 용량의존적으로 배뇨기능장애가 개선되는 경향을 보였으며 투여 1일째에 유의한 개선작용을 나타냄. 반복투여시에도 50 mg/kg 용량에서 유의적인 개선효과를 보였음.



[그림 36] 고삼추출물 반복투여에 의한 SHR에서의 배뇨기능 장애 개선실험

다) 연구진행중

- in vivo 효능시험 방법을 개선중임. 약물을 투여하고 24시간 지속적인 효과를 확인함으로써 약물 투여 간격을 조절하는 근거를 마련할 수 있음.
- 현재 시험법 개선을 하여 고삼추출물을 단회 투여하고 시간대별로 효과의 추이를 관찰하고 있음.
- 24시간 효과를 추적관찰하는 것은 기존 연구내용에 포함되어 있지 않은 추가적인 내용임.

(협동연구기관 : ㈜바이오에프디엔씨)

가. 건강기능식품 사용에 적합한 천연물 추출 및 정제방법의 최적화

가) 고삼 추출물 제조를 위한 원재료 확보

(주)바이오에프디엔씨는 고삼추출물의 건강기능식품 사용에 적합한 추출 및 정제방법의 최적화를 수행하였다. 이를 위하여, 최적화를 위한 고삼 원물을 확보하고, 영농조합법인 이노플랜트와의 고삼재배계약을 통하여 사업화를 위한 고삼 원재료를 확보하였다.



[그림 37] 고삼 원료 확보(경남 진주 대량재배)

나) 고삼추출물 제조 연구

○ 고삼추출물의 지표물질인 kurarinone의 추출률 향상을 위해 실험실에서 추출 방법의 최적화를 수행하였다. 용매의 에탄올 농도 및 추출시간을 조절한 결과, 1차 열수추출 이후 에탄올을 첨가하여 추출하는 것이 가장 효과적이고 경제적이라는 것을 확인하였다. 고삼 1 g 내 쿠라리논 함량은 에탄올 농도에 따라 증가하며, 사업화를 위한 최적의 용매조건으로 10 - 30% 에탄올을 설정하였다.



[그림 38] 고삼 추출방법 최적화(열수추출 후, 에탄올 수용액 추출) 및 원료 소재화

○ 물성 시험, 용해도 및 추출 시험 등의 예비시험을 거쳐 최종적으로 kurarinone 함량이 4.8 mg/g인 고삼 원재료를 이용하여 추출하였다. 고삼 원재료 510 g을 열수추출 후 3등분하였고, 여기에 10% 에탄올, 20% 에탄올 및 30% 에탄올을 각각 첨가하여 추출 후 농축 및 건조하였다. 각 추출물에 함유된 kurarinone 함량을 HPLC로 분석한 결과는 다음과 같다.

고삼 510g 물 추출시 Kurarinone 추출량

	고삼투입량 (g)	피크면적	고삼 510g 중 kurarinone 추출량(mg)	고삼 170g 환산 Kurarinone 추출량(mg)
sample-1	510.0	302459	45.7	15.2
sample-2		303478	45.9	15.3
sample-3		306843	46.4	15.5
mean			46.0	15.3
stdev			0.35	0.12
C.V			0.8%	0.8%

고삼 170g 물 추출 후 10% EtOH 추출시 Kurarinone 추출량

	고삼투입량 (g)	피크면적	고삼 170g 중 kurarinone 추출량(mg)	최종건조물 중 kurarinone 함량 (mg/g)
sample-1	170.0	1160727	58.6	9.0
sample-2		1170446	59.0	9.1
sample-3		1161900	58.6	9.0
mean			58.7	9.0
stdev			0.27	0.04
C.V			0.5%	0.5%

최종 건조물 수득량 : 6.5 g

고삼 170g 물 추출 후 20% EtOH 추출시 Kurarinone 추출량

	고삼투입량 (g)	피크면적	고삼 170g 중 kurarinone 추출량(mg)	최종건조물 중 kurarinone 함량 (mg/g)
sample-1	170.0	2503521	126.3	17.8
sample-2		2503922	126.3	17.8
sample-3		2508959	126.6	17.8
mean			126.4	17.8
stdev			0.15	0.02
C.V			0.1%	0.1%

최종 건조물 수득량 : 7.1 g

고삼 170g 물 추출 후 30% EtOH 추출시 Kurarinone 추출량

	고삼투입량 (g)	피크면적	고삼 170g 중 kurarinone 추출량(mg)	최종건조물 중 kurarinone 함량 (mg/g)
sample-1	170.0	4706192	356.2	45.7
sample-2		4780842	361.8	46.4
sample-3		4637308	351.0	45.0
mean			356.3	45.7
stdev			5.43	0.70
C.V			1.5%	1.5%

최종 건조물 수득량 : 7.8 g

[그림 39] 실험실 스케일에서 확인한 고삼추출물 분석 결과

○ 추출용매에 에탄올 비율이 증가할수록 kurarinone 함량이 높아졌고, 수득량도 증가되었음이 확인하였다. 단, 산업적으로 대량 생산시의 생산 단가 및 안전을 고려하여 추출 용매에 에탄올 비율을 더 높인 것은 진행하지 않았고, 대용량 추출시 30 % 에탄올을 이용하여 추출하는 것이 적합함을 확인하였다.

나. 지표 및 유효성분을 포함한 최적 대량 추출방법 및 공정 확립

실험실에서 확인한 지표 및 유효성분의 최적 추출방법을 근거로 하여 대용량으로 추출하는 방법을 확립하였다. 건조삼 뿌리 400 kg에 10배수의 정제수를 가해 열수추출 하여 이 추출물을 제거한 후, 30 % 에탄올(주정)을 이용하여 추출한 추출물을 농축, 건조하여 유효성분이 포함된 추출물 31.3 kg을 수득하였다.



- 5톤 추출 탱크 -



- 고삼 및 추출용매 투입 -



- 추출 후 농축중 -



- 건조기에서 건조 -



- 추출물이 건조된 모습 -



- 분쇄된 고삼추출물 -

[표 9] 고삼 대용량 추출 (원물 400 kg 추출하여 추출 건조물 31.3 kg 수득)

다. 기초 물성 측정, 부형제와의 compatibility 연구

400 kg을 추출 건조하여 얻은 추출물 및 이 때 사용된 고삼 원물에 대해 기준 및 시험 방법을 설정하였고, 이 방법에 의해 시험을 실시하여 시험 성적서를 발행하였다.

가) 고삼 원재료의 기준 및 시험방법 설정 및 시험 성적서

고삼 원재료는 대한약전 일반시험법 중 “고삼” 항에 따라 기준 및 시험 방법을 설정하였고, 여기에 명시된 시험 방법 외에 “쿠라리논 함량”을 추가하였다. 이에 시험 항목은 성상(육안관찰, 냄새, 맛), 확인시험, 순도시험(이물, 중금속, 잔류농약, 이산화황), 회분, 산불용성 회분, 정량시험, 쿠라리논 함량시험을 설정하였고, 중금속, 잔류농약, 이산화황, 회분, 산불용성 회분의 경우 식품의약품안전처 지정 의약품 시험기관인 대구한의대학교 산학협력단 코스메디컬센터에 의뢰하여 실시하였다. 모든 항목에 적합하였고, 이 때 고삼 원재료에 함유된 쿠라리논의 함량은 고삼 1 g당 4.8±0.20 mg/g으로 확인되었다.



시험 · 검사성적서

발행번호	R20190125-0008	접수번호	190400001-001
검사완료일	2019-01-24	접수완료일	2019-01-14
제품명	고삼 (건조고삼뿌리)		
(품목)제조번호	품목제조신고번호		
위험 · 재질 · 품목명	고삼, 고삼		
제조수입일	유통(유통일자)기화		
의뢰자	상품명 오삼현, 참이슬 업체명 (주)비이오메디칼앤씨 (21990)인천광역시 연수구 송도동로 30 소마타워 4층 512호 연락처 032-811-2027 팩스번호 032-822-2027 전자우편 sjang@biofdnc.com		
제조원	소재지		
소재지	소재지		
시험 · 검사목적	원약재 (가제)(참고용)		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험 · 검사 항목	시험 · 검사 기준	시험 · 검사 결과	판정	비고
납(ppm)	5이하	0	상기시험항목	
비소(ppm)	3이하	0	상기시험항목	
수은(ppm)	0.2이하	불검출	상기시험항목	
카드뮴(ppm)	0.3이하	0.0	상기시험항목	
중니켈(중금속)(ppm)	0.1이하	불검출	상기시험항목	
디엘드린(ppm)	0.01이하	불검출	상기시험항목	
폴리클로비페닐(중HAC)(ppm)	0.2이하	불검출	상기시험항목	
알드린(ppm)	0.01이하	불검출	상기시험항목	
엔드린(Endrin)(ppm)	0.01이하	불검출	상기시험항목	
이산화황(mg/kg)	300이하	3	상기시험항목	
회분(%)	6.0이하	5.3	상기시험항목	
산불용성회분(%)	1.5이하	1.2	상기시험항목	

성 적 서



품 명	LOT No.	원재료 입고량	입고 일
고삼(원재료)	-	800 kg	2018년 09월 05일

검 체	검체 채취량	채취 방법	검체 채취일	시험 방법 및 기준
	500 g	Random	2018년 09월 06일	쿠라리논 함량 : 자사규격 기준, 약한 기준

시험 결과

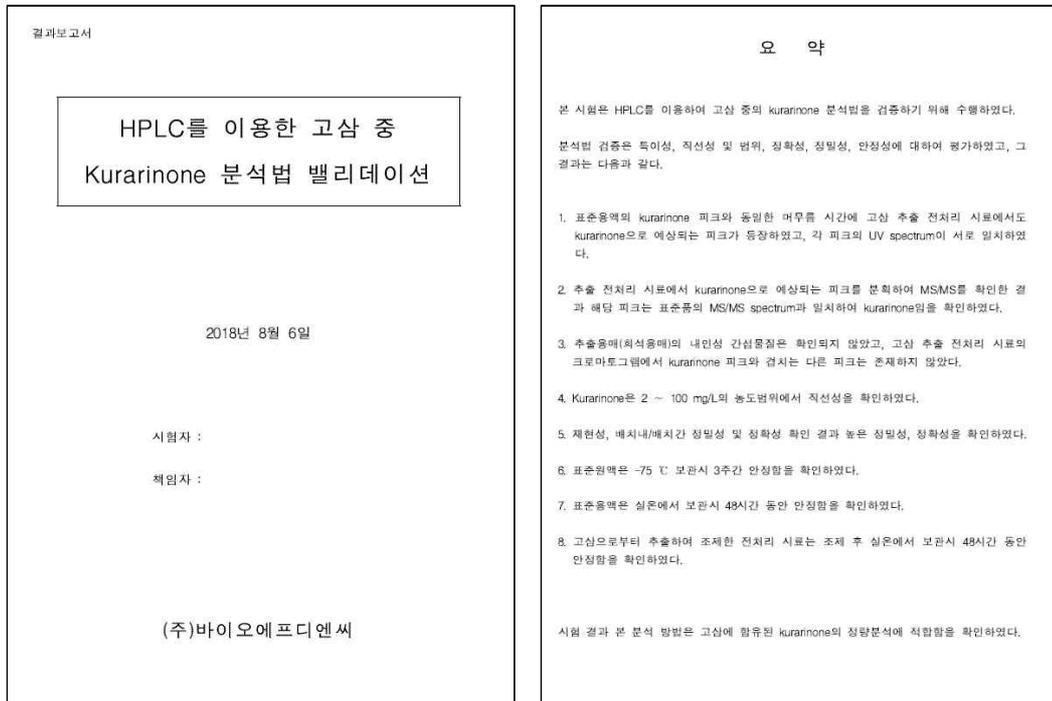
시험 항목	기 준	시 험 결 과	시험 일자	판 정
성 상 (육안관찰)	비밀면 면투명 일색~황갈색	아름은 일색	2018년 09월 07일	적 합
	세로줄과 가로줄이 교차하는 패턴이 나타나지 않음	세로줄과 가로줄이 교차하는 패턴이 나타나지 않음	2018년 09월 07일	
	패키지 내외 실 용병상	용병상	2018년 09월 07일	
성 상 (냄새)	특유의 냄새	특유의 냄새	2018년 09월 07일	적 합
	재투 쓴 맛, 오라 지숙	재투 쓴 맛, 오라 지숙	2018년 09월 07일	
확인시험	확인시험1) 용출액 용적 불일치	용출액 용적 불일치	2018년 09월 07일	적 합
	확인시험2) 프루틴과 잔류 카로틴 함량	잔류 카로틴 함량	2018년 09월 07일	
순도시험 (이물)	중 기 : 순재물 10.0 % 미만	중 기 : 10.0 % 미만	2018년 09월 07일	적 합
	기화 : 순재물 1.0 % 미만	기화 : 순재물 1.0 % 미만		
중금속 (중금속)	납 : ≤ 5 ppm	납 : 불검출	2018년 01월 25일	적 합
	비소 : ≤ 3 ppm	비소 : 불검출		
	수은 : ≤ 0.2 ppm	수은 : 불검출		
중니켈(중금속)	카드뮴 : ≤ 0.3 ppm	카드뮴 : 불검출	2018년 01월 25일	적 합
	중니켈 : ≤ 0.1 ppm	중니켈 : 불검출		
	중비이오메디칼 : ≤ 0.2 ppm	중비이오메디칼 : 불검출		
알드린	알드린 : ≤ 0.01 ppm	알드린 : 불검출	2018년 01월 25일	적 합
	엔드린 : ≤ 0.01 ppm	엔드린 : 불검출		
	엔드린 : ≤ 0.01 ppm	엔드린 : 불검출		
엔드린(인산화물)	≤ 00 ppm	0 ppm	2018년 01월 25일	적 합
	회 분 : ≤ 6.0 %	6.3 %		
산불용성회분	≤ 1.5 %	1.2 %	2018년 01월 25일	적 합
정량시험	쿠라리논과 디엘드린의 함량은 1.0 %	1.04±0.01 %	2018년 09월 18일	적 합
쿠라리논함량	1 g당 쿠라리논 함량은 ≥ 3.0 mg/g	4.8±0.20 mg/g	2018년 09월 18일	적 합

종합 판정	판정 일자	결 과	확 인 자	책 임 자
적 합	2019년 01월 25일	적 합		

[그림 40] 고삼 원재료의 시험 성적서

나) 고삼 원재료에 함유된 kurarinone의 분석법 밸리데이션

식품의약품안전처 고시 “건강기능식품 기능성 원료 및 기준 · 규격 인정에 관한 규정”을 근거로 하여 기능성분(또는 지표성분; 쿠라리논)의 시험에 대한 분석법 밸리데이션을 실시하였다. 밸리데이션 항목은 특이성, 직선성 및 범위, 정확성, 정밀성, 안정성에 대해 평가하였고, 모든 항목에서 적합함을 확인하였다.



[그림 41] 고삼 원재료에 함유된 쿠라리논 분석법 밸리데이션 보고서

- 특이성 : 회석용매 내 간섭물질 없음, 본 분석시 크로마토그램에서 쿠라리논은 약 35.6분에 등장, 고삼 전처리 시료의 크로마토그램에서 쿠라리논과 겹치는 다른 피크 없음. 고삼에서 쿠라리논으로 예상되는 피크를 쿠라리논 표준물질과 비교시 UV 스펙트럼 및 MS/MS 스펙트럼 일치.
- 직선성 및 범위 : 쿠라리논 검량선 범위를 2 ~ 100 mg/L로 하였을 때 결정계수 3회 모두 1.000 (기준 : ≥ 0.99), 상대오차 -0.2 ~ 3.2 %. (기준 : ± 15 % 이내)
- 정확성 : 회수율로써 평가. 배치내 회수율은 94.4 ~ 100.5 %, 변동계수는 0.5 ~ 3.2 %. 3배치를 시험하였을 때 배치간 회수율은 97.5 ~ 98.6 %, 변동계수는 0.8 ~ 2.3 %. (기준 : 회수율 100 ± 10 % 이내, 변동계수 5 % 이내)
- 정밀성 : 배치내 정밀성을 확인시 변동계수는 1.7 ~ 2.1 %, 3배치 시험을 통한 배치간 정밀성 확인시 그 변동계수가 1.8 ~ 1.9 %. (기준 : 변동계수 5 % 이내)
- 안정성 : 표준원액을 -75 ℃에서 3주간 보관시 상대오차가 0.1 %, 표준용액을 실온에서 48시간 보관시 상대오차가 1.0 %. 추출 전처리 시료를 실온에서 48시간 보관시 상대오차가 0.1 %. (기준 : 상대오차 ± 5 % 이내)

다) 고삼 추출물의 기준 및 시험방법 설정 및 시험 성적서

고삼 추출물의 기준 및 시험방법은 식품의약품안전처 고시 “건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정” 및 “건강기능식품의 기준 및 규격”에 의해 설정하였다. 이에 시험 항목은 정상, 대장균군, 중금속, 정량시험을 설정하였고, 대장균군 및 중금속 시험은 식품 전문 시험·검사기관인 한국기능식품연구원에 의뢰하여 실시하였다. 이 때 고삼 추출물에 함유된 쿠라리논의 함량은 고삼 추출물 1 g당 20.7 ± 0.32 mg/g으로 확인되었다.

제 D2019010164 호 분석확인																					
시험·검사성적서		계도일자 (유효기간)	2019-11-23																		
제품명	고삼추출물	제조일자																			
의뢰인	(주)바이오에프디엔씨 (주 소 인천광역시 연수구 송도동 30, 5층 (수도동, 송도BRC스마트밸리지식산업센터 A동 609-511호)	성명	모상원, 정대원																		
제조번호		검사년월일	2019-01-03																		
검사의뢰목적	검교용	검사번호	D0019010164																		
<p>귀하가 우리 연구원에 시험·검사뢰하신 결과는 다음과 같습니다. 시험·검사 완료일 : 2019-01-03 시험·검사 책임자 : 이장구, 김정순 검사관련 총 책임자 : 김현희</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>시험·검사항목</th> <th>시험·검사결과</th> <th>시험·검사한</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>납(mg/kg)</td> <td>0.0426 mg/kg (0.0425, 0.0429, 0.0429)</td> <td>유미진</td> </tr> <tr> <td>중수소(mg/kg)</td> <td>0.0014 mg/kg (0.0007, 0.0008, 0.0027)</td> <td>홍윤</td> </tr> <tr> <td>카드뮴(mg/kg)</td> <td>0.0093 mg/kg (0.0084, 0.0091, 0.0103)</td> <td>유미진</td> </tr> <tr> <td>총비소(mg/kg)</td> <td>0.0583 mg/kg (0.0593, 0.0588, 0.0568)</td> <td>유미진</td> </tr> <tr> <td>대장균군</td> <td>0.0,0.0,0</td> <td>홍사연</td> </tr> </tbody> </table> <p>※ 제 1회 식품안전관리법 시행령 제 11조 제 1항 제 1호에 따라 식품의약품안전처에서 실시하는 시험·검사는 식품안전관리법 제 11조 제 1항 제 1호에 따라 실시합니다. ※ 저면에서 부속된 경우 시험·검사 및 결과받은 것으로 착상 가능함입니다. ※ 본 성적서는 참고용 성적서입니다. 시험·검사뢰하신 시험·검사항목 이외의 항목 및 정보 등에 이용할 수 없으며, 재사용금지 또는 경우기관 각 제출 용도로 활용될 수 없습니다.</p> <p>2019년 1월 8일</p> <p style="text-align: center;">한국기능식품연구원</p> <p>(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khfi.or.kr 전화번호 (02) 311639-9400-1</p>				시험·검사항목	시험·검사결과	시험·검사한	납(mg/kg)	0.0426 mg/kg (0.0425, 0.0429, 0.0429)	유미진	중수소(mg/kg)	0.0014 mg/kg (0.0007, 0.0008, 0.0027)	홍윤	카드뮴(mg/kg)	0.0093 mg/kg (0.0084, 0.0091, 0.0103)	유미진	총비소(mg/kg)	0.0583 mg/kg (0.0593, 0.0588, 0.0568)	유미진	대장균군	0.0,0.0,0	홍사연
시험·검사항목	시험·검사결과	시험·검사한																			
납(mg/kg)	0.0426 mg/kg (0.0425, 0.0429, 0.0429)	유미진																			
중수소(mg/kg)	0.0014 mg/kg (0.0007, 0.0008, 0.0027)	홍윤																			
카드뮴(mg/kg)	0.0093 mg/kg (0.0084, 0.0091, 0.0103)	유미진																			
총비소(mg/kg)	0.0583 mg/kg (0.0593, 0.0588, 0.0568)	유미진																			
대장균군	0.0,0.0,0	홍사연																			



[그림 42] 고삼 추출물의 시험 성적서

라) 고삼 추출물의 kurarinone 분석법 밸리데이션

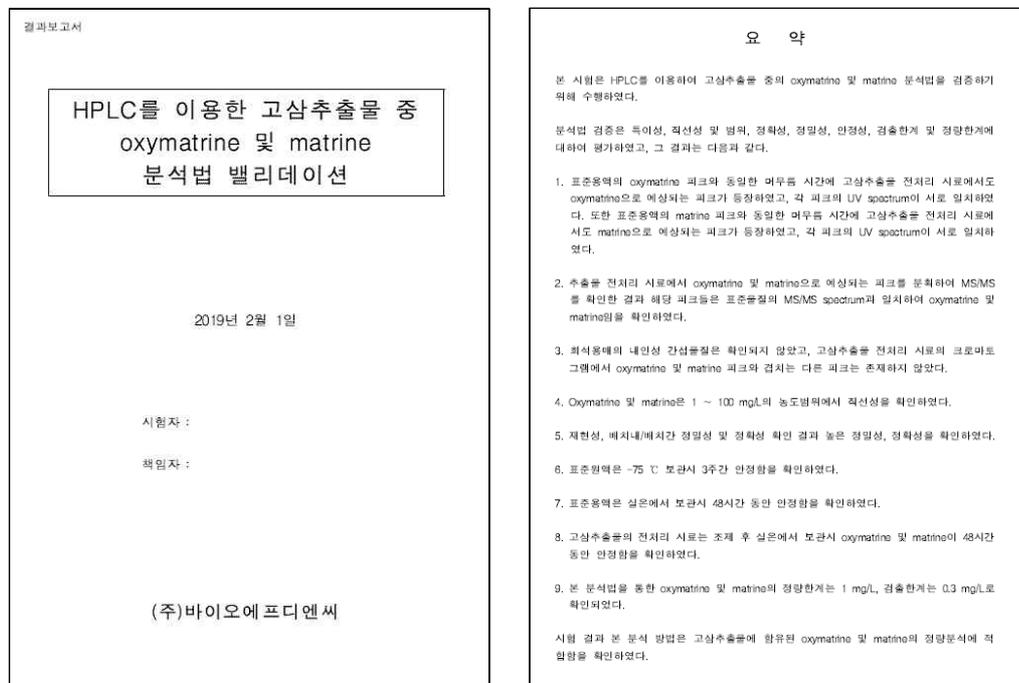
결과보고서	요약
<p>HPLC를 이용한 고삼추출물 중 Kurarinone 분석법 밸리데이션</p> <p>2019년 3월 4일</p> <p>시험자 : 책임자 :</p> <p>(주)바이오에프디엔씨</p>	<p>본 시험은 HPLC를 이용하여 고삼추출물 중의 kurarinone 분석법을 검증하기 위해 수행하였다.</p> <p>분석법 검증은 특이성, 직선성 및 범위, 정확성, 정밀성, 안정성에 대하여 평가하였고, 그 결과는 다음과 같다.</p> <ol style="list-style-type: none"> 표준용액의 kurarinone 피크와 동일한 머무름 시간에 고삼추출물 전처리 시료에서도 kurarinone으로 예상되는 피크가 등장하였고, 각 피크의 UV spectrum이 서로 일치하였다. 추출물 전처리 시료에서 kurarinone으로 예상되는 피크를 분석하여 MS/MS를 확인한 결과 해당 피크는 표준물질의 MS/MS spectrum과 일치하여 kurarinone임을 확인하였다. 회색용매의 내인성 간섭물질은 확인되지 않았고, 고삼추출물 전처리 시료의 크로마토그램에서 kurarinone 피크와 겹치는 다른 피크는 존재하지 않았다. Kurarinone은 2 ~ 100 mg/L의 농도범위에서 직선성을 확인하였다. 재현성, 배치내/배차간 정밀성 및 정확성 확인 결과 높은 정밀성, 정확성을 확인하였다. 표준물질은 -75 °C 보관시 3주간 안정함을 확인하였다. 표준용액은 실온에서 보관시 48시간 동안 안정함을 확인하였다. 고삼추출물의 전처리 시료는 조제 후 실온에서 보관시 48시간 동안 안정함을 확인하였다. <p>시험 결과 본 분석 방법은 고삼추출물에 함유된 kurarinone의 정량분석에 적합함을 확인하였다.</p>

[그림 43] 고삼 추출물에 함유된 쿠라리논 분석법 밸리데이션 보고서

식품의약품안전처 고시 “건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정”을 근거로 하여 기능성분(또는 지표성분; 쿠라리논)의 시험에 대한 분석법 밸리데이션을 실시하였다. 밸리데이션 항목은 특이성, 직선성 및 범위, 정확성, 정밀성, 안정성에 대해 평가하였고, 모든 항목에서 적합함을 확인하였다.

- 특이성 : 회석용매 내 간섭물질 없음, 본 분석시 크로마토그램에서 쿠라리논은 약 35.6분에 등장, 고삼 추출물 전처리 시료의 크로마토그램에서 쿠라리논과 겹치는 다른 피크 없음. 고삼 추출물에서 쿠라리논으로 예상되는 피크를 쿠라리논 표준물질과 비교시 UV 스펙트럼 및 MS/MS 스펙트럼 일치.
- 직선성 및 범위 : 쿠라리논 검량선 범위를 2 ~ 100 mg/L로 하였을 때 결정계수 3회 모두 1.0000 (기준 : ≥ 0.99), 상대오차 -0.2 ~ 3.2 %. (기준 : ± 15 % 이내)
- 정확성 : 회수율로써 평가. 배치내 회수율은 99.5 ~ 104.4 %, 변동계수는 0.2 ~ 1.9 %. 3배치를 시험하였을 때 배치간 회수율은 100.9 ~ 103.9 %, 변동계수는 1.0 ~ 1.3 %. (기준 : 회수율 100 \pm 10 % 이내, 변동계수 5 % 이내)
- 정밀성 : 배치내 정밀성을 확인시 변동계수는 1.8 ~ 2.5 %, 3배치 시험을 통한 배치간 정밀성 확인시 그 변동계수가 1.7 ~ 2.0 %. (기준 : 변동계수 5 % 이내)
- 안정성 : 표준원액을 -75 °C에서 3주간 보관시 상대오차가 0.1 %, 표준용액을 실온에서 48시간 보관시 상대오차가 1.0 %. 추출 전처리 시료를 실온에서 48시간 보관시 상대오차가 1.5 %. (기준 : 상대오차 ± 5 % 이내)

마) 고삼 추출물에 함유된 oxymatrine, matrine 분석법 밸리데이션



[그림 44] 고삼 추출물에 함유된 옥시마트린, 마트린 분석법 밸리데이션 보고서

식품의약품안전처 고시 “건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정”을 근거로 하여 고삼에 함유된 성분 중 옥시마트린, 마트린의 시험에 대한 분석법 밸리데이션을 실시하였다. 밸리데이션 항목은 특이성, 직선성 및 범위, 정확성, 정밀성, 안정성에 대해 평가하였고, 모든 항목에서 적합함을 확인하였다.

- 특이성 : 회석용매 내 간섭물질 없음, 본 분석시 크로마토그램에서 oxymatrine은 약 16분경, matrine은 32분경에 등장, 고삼 추출물 전처리 시료의 크로마토그램에서 oxymatrine 및 matrine 피크와 겹치는 다른 피크 없음. 고삼 추출물에서 oxymatrine 및 matrine으로 예상되는 피크를 각 표준물질과 비교시 UV 스펙트럼 및 MS/MS 스펙트럼 일치.

- 직선성 및 범위 : oxymatrine 및 matrine의 검량선 범위를 1 ~ 100 mg/L로 하였을 때 oxymatrine의 결정계수는 0.9999, 1.0000, 0.9999 (기준 : ≥ 0.99), 상대오차 -9.6 ~ 2.1 % (기준 : ± 15 % 이내), matrine의 결정계수는 3회 모두 1.0000, 상대오차는 -9.8 ~ 0.9 %.
- 정확성 : 회수율로써 평가. oxymatrine의 배치내 회수율은 99.6 ~ 106.4 %, 변동계수는 0.2 ~ 3.5 %. 3배치를 시험하였을 때 배치간 회수율은 100.3 ~ 105.7 %, 변동계수는 0.9 ~ 2.4 % (기준 : 회수율 100 \pm 10 % 이내, 변동계수 5 % 이내). matrine의 배치내 회수율은 94.4 ~ 105.8 %, 변동계수는 0.2 ~ 4.9 %, 배치간 회수율은 100.8 ~ 103.1 %, 변동계수는 1.1 ~ 4.1 %.
- 정밀성 : 동일한 시료를 6회 반복 주입하였을 때 oxymatrine, matrine의 변동계수 모두 0.3 %, 배치내 정밀성을 확인시 oxymatrine의 변동계수는 1.6 ~ 2.1 %였고, 3배치 시험을 통한 배치간 정밀성 확인시 그 변동계수가 1.8 ~ 2.3 %. Matrine의 변동계수는 배치내 1.7 ~ 2.9 %, 배치간 2.1 ~ 2.9 % (기준 : 변동계수 5 % 이내).
- 안정성 : Oxymatrine 표준원액을 -75 °C에서 3주간 보관시 상대오차가 0.2 %, 표준용액을 실온에서 48시간 보관시 상대오차가 0.0 %. Matrine 표준원액을 -75 °C에서 3주간 보관시 상대오차가 0.1 %, 표준용액을 실온에서 48시간 보관시 상대오차가 -0.1 %. 추출 전처리 시료를 실온에서 48시간 보관시 oxymatrine의 상대오차는 2.6 %, matrine의 상대오차는 -1.0 % (기준 : 상대오차 ± 5 % 이내).

바) 각 추출 단계별 수율 변화 확인

고삼 원재료 400 kg을 가지고 30 % 주정 1차, 2차 추출, 농축, 건조 과정을 거치면서 30 % 주정 1차 추출시 추출용매는 약 4000 kg, 2차 추출시는 약 2000 kg이 소모되었으며, 약 48시간의 감압 농축 과정을 거쳐 농축액은 약 512 kg을 수득하였다. 이 농축액을 건조하여 최종 건조된 추출물의 양은 31.3 kg이었다.

지표성분인 쿠라리논의 함량 분석 결과 본 추출물 제조시 사용된 고삼 원재료 400 kg에는 1920 g이 함유되어 있는데(고삼 1 g 당 쿠라리논 함유량 : 4.8 mg/g), 30 % 주정으로 1차 추출시 1340 g, 2차 추출시 290 g 이 추출되어 총 추출량은 1630 g 가량 추출되었다(원재료에서의 쿠라리논 총량 대비 약 85 %). 또한 진공 농축과정을 거치면서 약 685 g으로 함량이 줄었고(1차, 2차 추출물에서의 함유량 대비 약 42 %) 최종적으로 건조시 쿠라리논의 총 함유량은 647 g으로 확인되었다. 특이사항으로는 농축 과정을 거친 후 쿠라리논의 함량은 농축 전과 비교시 약 42 %으로 함량 감소가 생겼는데, 이는 4일간의 농축 과정을 거치면서 약 70 ~ 80 °C 고온에서의 지속적인 노출이 생기는 바 열에 의한 함량 감소로 사료되었다.

이를 확인하고자 실험실에서 scale-down하여 동일한 조건으로 추출물을 제조하였다. 고삼 원재료 50 g으로 추출하여 최종 건조된 추출물 4.0 g을 수득하였고, 이 때 쿠라리논의 양은 원재료에서 240 mg인데 1차 추출시 160.0 mg, 2차 추출시 38.2 mg으로 추출되어 총 198.2 mg이 추출되었다(쿠라리논 총량 대비 약 82.6 %). 이 추출액을 3일간 약 75 °C의 열을 가한 후 4일째 되는 날 농축을 하였고, 곧바로 건조를 실시하였다. 건조 후 쿠라리논의 총량은 92.6 mg으로 확인되어 농축 전과 비교시 약 46.7 %으로 함량 감소가 일어나 열에 의한 함량 감소임을 확인하였다.

사) 장기보존(안정성) 시험 (사용기한 설정)

고삼추출물의 사용기한 설정을 위해 실온에서 2년간 보존하면서 안정성 시험을 진행하였다. 이 때 향후 시판용과 동일한 방식으로 포장(밀봉 진공포장)을 하여 보존하였고, 시험 항목은 성상, 대장균, 지표물질(kurarionone) 함량으로 하였다(중금속은 기간이 경과한다고 증가되는 것이 아니기에 생략). 시험 시점은 초기, 3개월, 6개월, 9개월, 12개월, 18개월, 24개월이 경과된 시점에서 시험을 실시하였다.

- 정상 : 24개월 동안 색상, 맛, 물성 등 변화 없음
- 대장균군 : 음성
- Kurarinone 함량

경과 시점	초 기	3개월	6개월	9개월	12개월	18개월	24개월
Kurarinone 함량 (mg/g)	20.7±0.32	21.2±0.36	21.7±0.24	20.8±0.20	20.6±0.20	20.5±0.20	20.5±0.24

이상의 결과와 같이 고삼추출물을 2년간 보존하면서 안정성 시험을 진행한 결과 정상에 변화가 없고, 대장균군도 음성이 나왔으며, kurarinone 함량도 변화가 없기에 전체적으로 품질 변화가 없음을 확인하여 사용기한을 2년으로 설정하였다.

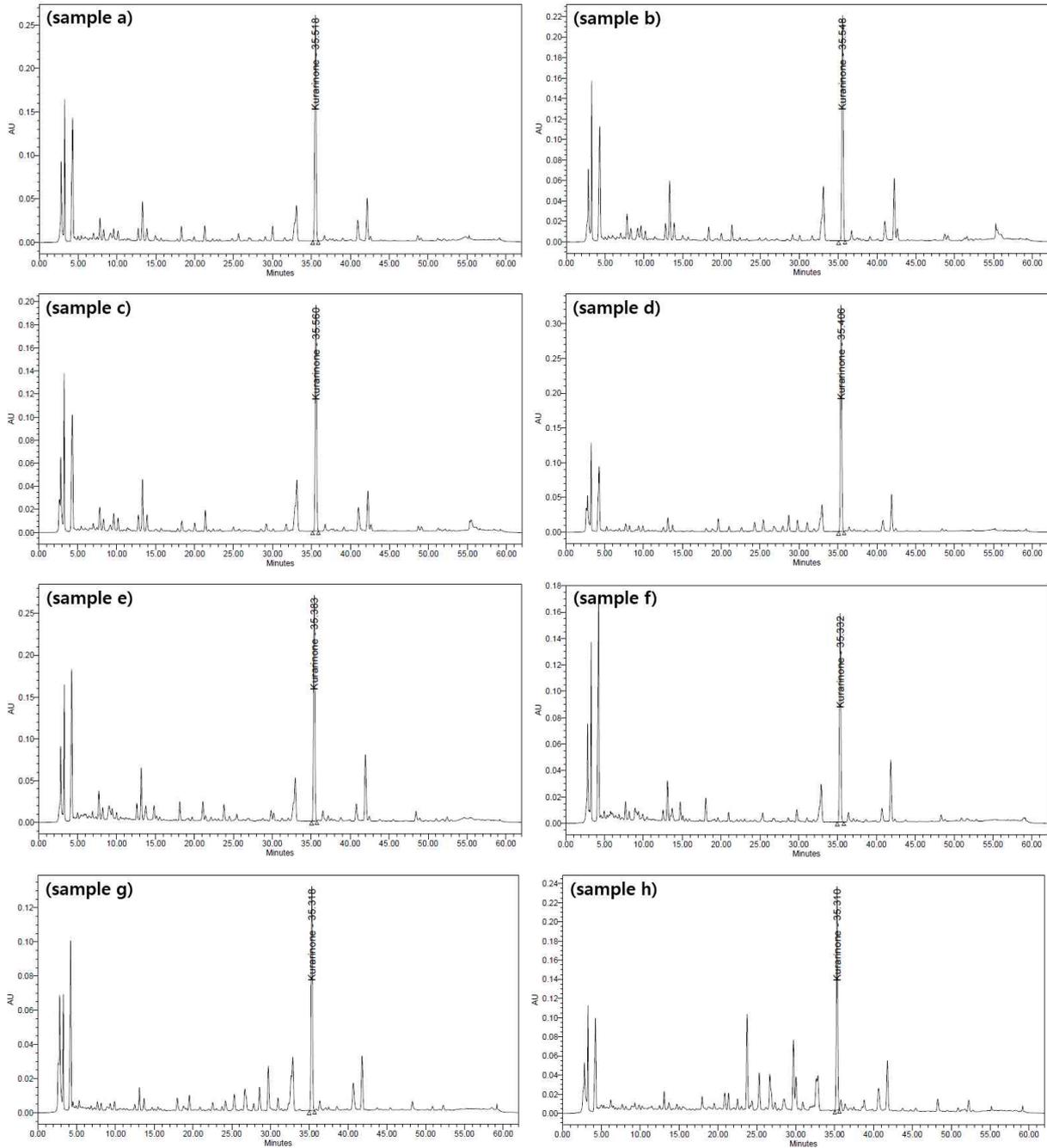
아) 고삼추출물의 프로파일링 (쿠라리논을 지표물질로 선정하게 된 근거)

고삼추출물 크로마토그램에 등장하는 몇 개의 피크들을 분석하여 MS/MS로 확인(ESI-positive or negative / product ion mode)하였고, 각 피크들을 규명한 결과 kurarinone 이외에 13개 이상의 flavonoid 물질이 함유되어 있음이 확인되었다. 해당 물질들은 다음 표에 나열하였다.

[표] 고삼추출물의 크로마토그램에서 확인된 각 피크 동정

	Retention time	m/z [M+H] ⁺ /[M-H] ⁻	Identification
1	13.3 min	563.0 ([M+H] ⁺)	Kushenol O
2	18.3 min	284.9 ([M+H] ⁺)	Trifolirhizin
3	19.9 min	284.8 ([M+H] ⁺)	3,7-Dihydroxy-4-methoxy-isoflavone (Calycosin)
4	24.8 min	271.0 ([M+H] ⁺)	Genistein
5	25.7 min	371.0 ([M+H] ⁺)	Sophoraisoflavanone A
6	29.0 min	268.7 ([M+H] ⁺)	Formononetin
7	30.0 min	355.2 ([M+H] ⁺)	7,4-Dihydroxy-5-methoxy-8-(γ , γ -dimethylallyl)-flavanone
8	31.4 min	285.0 ([M+H] ⁺)	Maackiain
9	33.0 min	455.1 ([M+H] ⁺)	Kushenol I / Kushenol N
Kurarinone	35.5 min	439.1 ([M+H]⁺)	Kurarinone
10	40.8 min	453.1 ([M+H] ⁺)	2'-Methoxykurarinone
		439.1 ([M+H] ⁺)	Kushenol C
11	42.0 min	425.1 ([M+H] ⁺)	Sophoraflavanone G
12	50.3 min	423.1 ([M-H] ⁻)	Kushenol E
13	51.0 min	437.2 ([M-H] ⁻)	Kurardine

또한 8종의 고삼 원재료 샘플을 이용하여 동일한 추출방법으로 추출 후 HPLC로 크로마토그램을 확인하였다. 그 결과 8종의 크로마토그램 결과에서 kurarinone 피크가 다른 피크들과 비교해 가장 선택적이고, 특이적인 피크로 확인되었다.



[그림 45] 8종의 고삼 원물로부터 추출하여 확인한 HPLC 크로마토그램

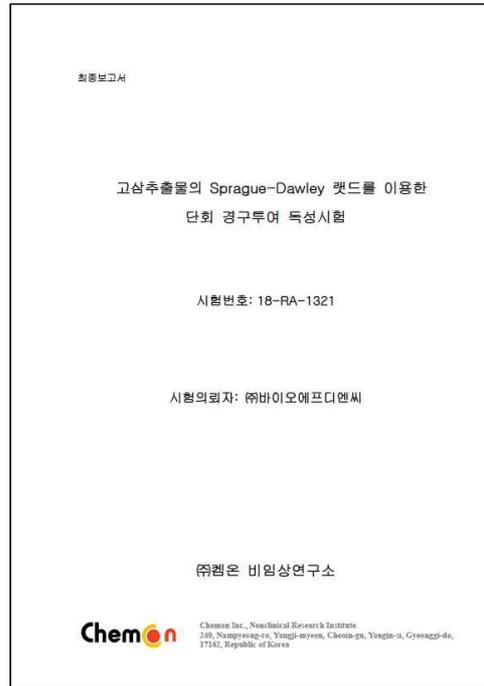
Kurarinone은 이전 연구시 분석상의 fingerprint로 제시된 물질 중에서도 가장 중요한 성분중의 하나이고, kurarinone이 BK_{Ca} 채널을 강화를 통한 배뇨기능 개선의 가능성을 보인 물질로 확인되었으며, 자사의 고삼추출물을 HPLC로 확인하였을 때 kurarinone 피크의 selectivity가 높았기에, kurarinone을 본 고삼추출물의 분석시 지표물질로 설정하였다. 또한, kurarinone을 지표물질로 한 고삼추출물의 분석을 위해 자사에서 분석법 밸리데이션을 실시하였고, 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 안정성 시험 결과 모두 적합한 것으로 확인되어, kurarinone을 최종 지표물질로 선정하였다.

라. 공인기관을 통한 안전성평가

고삼 400 kg을 추출 건조하여 얻은 고삼 추출물에 대해 (주)캠온에 안전성평가(독성평가)를 의뢰하여 현재 진행중에 있다. 시험 항목은 설치류 단회 경구투여 독성시험, 설치류 4주 반복 투여 DRF 독성시험, 설치류 13주 반복 투여 독성시험, 수컷 ICR 마우스 골수세포를 이용한 경구투여 체내 소

핵시험, 박테리아를 이용한 복귀돌연변이시험, 배양 Chinese Hamster Lung (CHL) 세포를 이용한 체외 염색체이상시험이고, 현재 설치류 13주 반복 투여 독성시험을 제외한 나머지 시험이 완료되었다. 또한 부가적으로 HPLC-UV를 이용한 멸균주사용수 현탁액 중 고삼추출물의 분석법 검증, HPLC-UV를 이용한 dimethyl sulfoxide 현탁액 중 고삼추출물의 분석법 검증 시험이 실시되었다.

가) 설치류 단회 경구투여 독성시험



[그림 46] 설치류 단회 경구투여 독성시험 결과보고서

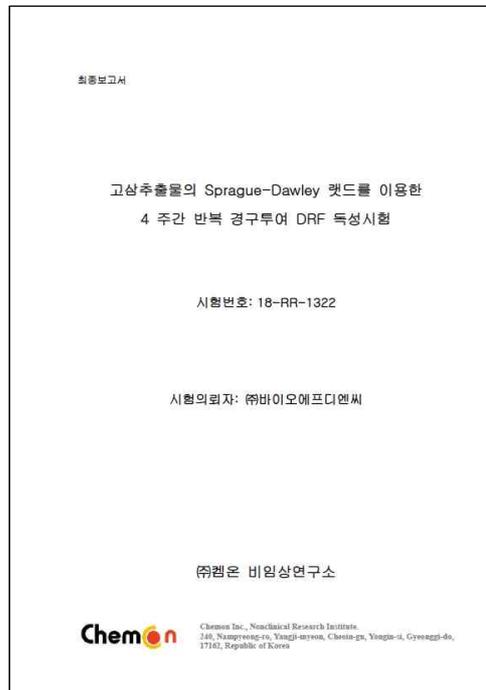
고삼추출물을 1250, 2500 및 5000 mg/kg으로 투여하는 시험물질 투여군과 멸균주사용수만을 투여하는 부형제대조군을 설정하여 군당 10 마리(암수 각 5 마리)에 단회 경구투여 하였고 2 주간 사망률, 일반증상 관찰, 체중변화 및 육안적 부검소견을 관찰하여 부형제대조군과 비교하였다.

5000 mg/kg 투여군 암수에서 관찰된 사망은 고용량군에서 관찰되었고, 사망 전 관찰된 일반증상이 계획부검동물에서도 유사하게 관찰되었기에 시험물질에 의한 영향으로 판단한다.

1250 mg/kg 이상 투여군 암수에서 관찰된 유연, 2500 mg/kg 이상 투여군 암수에서 관찰된 흉조 및 2500 mg/kg 이상 투여군 암컷에서 관찰된 하복부의 오염 또는 코주위 오염은 시험물질 투여군에서만 관찰되었거나 용량-반응 상관성 있는 변화이므로 시험물질에 의한 영향으로 판단한다. 2500 mg/kg 이상 투여군 수컷 및 5000 mg/kg 투여군 암컷에서 관찰된 일일 평균 체중의 유의한 감소는 용량-반응 상관성 있는 변화로 시험물질에 의한 영향으로 판단한다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 고삼추출물을 Sprague-Dawley 랫드에 단회 경구투여 하였을 때, 사망이 5000 mg/kg 투여군 수컷 1 레와 암컷 2 레에서 관찰되어, 본 시험조건 하에서 개략의 치사량 (Approximate Lethal Dose, ALD)은 암수 모두 5000 mg/kg으로 판단한다.

나) 설치류 4주 반복 투여 DRF 독성시험



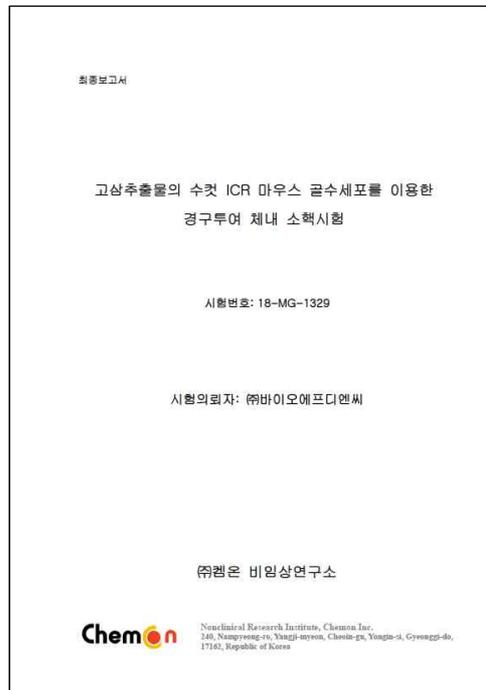
[그림 47] 설치류 4주 반복 투여 DRF 독성 시험 결과보고서

고삼추출물을 500, 1000, 2000 및 3000 mg/kg/day로 투여하는 시험물질 투여군과 멸균주사용수만을 투여하는 부형제대조군을 설정하여 군당 10 마리(암수 각 5 마리)에 4 주간 반복 경구투여 하였다.

시험물질에 의한 영향으로 500 mg/kg/day 이상 투여군 암수에서 유연, 2000 mg/kg/day 이상 투여군 암수에서 흥조, 500 mg/kg/day 이상 투여군 암수에서 체중증가 억제 및 사료섭취량 감소, 3000 mg/kg/day 투여군 수컷과 1000 mg/kg/day 이상 투여군 암컷에서 혈액학적 변화(RBC 수, HGB 또는 HCT 수치 감소, RDW 및 HDW 수치 증가), 모든 시험물질 투여군에서 혈액생화학적 변화(ALT, ALP, TBIL, TCHO, ALB, A/G ratio, BUN, IP 및 K⁺ 수치 증가/ GLU, TG 및 Na⁺ 수치 감소), 1000 mg/kg/day 이상 투여군 암수에서 간의 절대 또는 상대중량 증가, 양측 신장의 상대중량 증가 및 암컷에서 양측 신장의 절대중량 증가, 모든 시험물질 투여군 암컷의 간에 대한 조직병리학적 검사에서 지방변화가 관찰되었다.

상기 결과를 바탕으로 13 주간 반복 경구투여 독성시험에서는 장기간의 투여기간을 고려하여, 시험물질에 의한 독성이 관찰될 것으로 판단되는 500 mg/kg/day를 고용량군으로 설정하고, 그 아래로 공비 2.5로 중간 및 저용량군을 설정하는 것을 추천한다.

다) 수컷 ICR 마우스 골수세포를 이용한 경구투여 체내 소핵시험



[그림 48] 수컷 ICR 마우스 골수세포를 이용한 경구투여 체내 소핵시험 결과보고서

본 시험은 시험물질 고삼추출물의 생체내 염색체이상의 유발 또는 유사분열기구에 대한 이상 유발 여부를 수컷 ICR 마우스의 골수세포에서 소핵 유발성을 지표로 하여 평가하기 위하여 실시하였다.

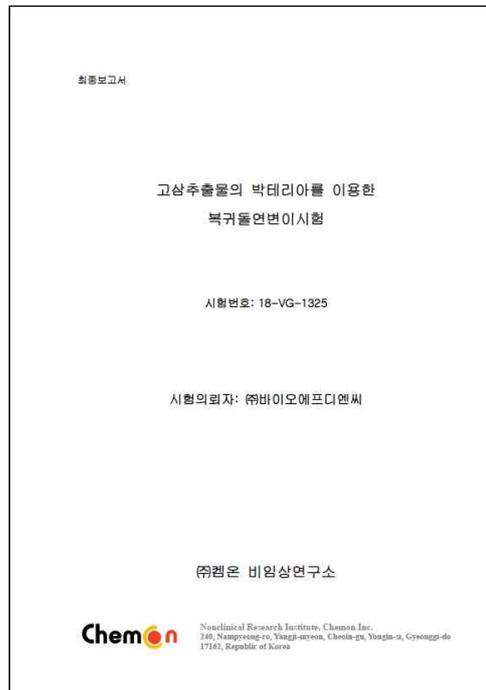
시험물질은 멸균주사용수에 현탁하여 투여하였다. 약 8 주령의 수컷 ICR 마우스(군당 6 마리)에 음성대조군(0), 시험물질 1250, 2500 및 5000 mg/kg/day의 용량을 1 일 1 회, 연속 2 일간 경구투여하였다.

부형제투여군을 음성대조군으로 하였으며, 양성대조군에는 70 mg/kg의 Cyclophosphamide monohydrate를 2 회차 투여일에 1 회 복강투여 하였다. 최종 투여로부터 약 24 시간 후에 모든 동물을 부검, 대퇴골에서 골수세포를 수거하여 소핵 유발과 세포독성을 평가하였다. 소핵의 평가를 위하여 개체 당 4000 개의 PCE (polychromatic erythrocyte, 다염성적혈구) 중 MNPCE (micronucleated polychromatic erythrocyte, 소핵을 가진 다염성적혈구)의 수를 계수한 결과, 모든 시험물질 투여군에서 MNPCE의 빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내지 않았고, 용량상관성이 없었으며, 음성대조군의 historical control data 범위 내에 있었다. 세포독성은 PCE:RBC (red blood cell, 적혈구) 비율을 산출하여 평가하였다. 개체당 500 개의 총적혈구로부터 세포독성을 평가한 결과, 이 비율은 모든 시험물질 투여군에서 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 변화는 없었다.

양성대조군에서는 분명한 양성의 결과를 얻었다.

이상의 결과, 시험물질 고삼추출물은 본 시험조건 하에서 수컷 ICR 마우스의 골수세포에 소핵을 유발하지 않으며, 음성으로 판단된다.

라) 박테리아를 이용한 복귀돌연변이시험



[그림 49] 박테리아를 이용한 복귀돌연변이 시험 결과보고서

본 시험은 시험물질 고삼추출물이 대사활성계 적용(+S) 및 비적용(-S) 하에 *Salmonella typhimurium*의 히스티딘 요구성 4 균주(TA100, TA1535, TA98, TA1537)와 *E. coli*의 트립토판 요구성 균주(WP2 uvrA)에 복귀돌연변이를 유발하는가를 알아보기 위하여 실시하였다.

대사활성계로는 Aroclor1254로 유도한 랫드의 간균질액에 보조소(cofactor)를 첨가한 것을 사용하였다. 시험은 direct plate incorporation 방법으로 실시하였다. 처리용 시험물질은 Dimethyl sulfoxide로 용해하여 조제하였다. 아래 표와 같이 설정한 농도군과 부형제(음성)대조군 및 양성대조군으로 시험군을 구성하였으며, 농도군당 3 개의 평판을 사용하였다.

균주명	S9 mix	농도군(µg/plate)				
TA strains	+/-	50	150	500	1500	5000
WP2 uvrA	+/-	50	150	500	1500	5000

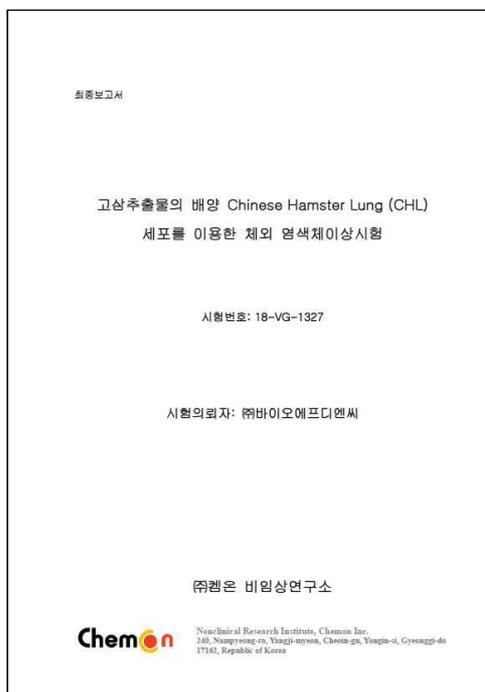
균주명	S9 mix	농도군(µg/plate)						
TA 1537	+/-	5	15	50	150	500	1500	3000

시험결과, 모든 균주의 시험물질 처리농도에서 음성대조군에 비해 평균 집락 수의 실질적인 증가는 관찰되지 않았다. TA100 균주에서는 5000 µg/plate(±S)에서 기본성장균층이 얇아지는 것이 관찰되었다. TA98 균주에서는 5000 µg/plate(-S)에서 집락 수의 감소 및 기본성장균층이 얇아지는 것이 관찰되었다. TA1537 균주에서는 1500 µg/plate(+S) 및 3000 µg/plate(±S)에서 미세집락, 집락 수의 감소 및 기본성장균층이 얇아지는 것이 관찰되었다.

한편 모든 양성대조군에서는 음성대조군에 비해 집락 수의 확실한 증가가 관찰되었다.

이상의 결과로 시험물질 고삼추출물은 본 시험조건 하에서 사용한 시험균주에 복귀돌연변이를 유발하지 않는 것으로 사료된다.

마) 배양 Chinese Hamster Lung (CHL) 세포를 이용한 체외 염색체이상시험



[그림 50] 배양 Chinese Hamster Lung (CHL) 세포를 이용한 체외 염색체이상시험 결과보고서

시험물질 고삼추출물의 유전독성 평가를 위하여 배양 Chinese hamster lung (CHL) 세포를 이용하여 대사활성계 적용 및 비적용 하에 염색체이상시험을 수행하였다. 대사활성계로는 Aroclor 1254로 유도한 랫드의 간균질액에 cofactor를 첨가한 것을 사용하였다.

시험물질은 Dimethyl sulfoxide로 조제하였다. 최고농도는 Relative Increased Cell Count (RICC)를 세포독성의 지표로 하여 결정하였다. 음성(부형제)대조군 및 양성대조군을 포함하여 다음 표와 같이 농도군을 설정하였으며, 농도군당 2 개의 플라스크를 사용하였다.

Treatment series	Metabolic activation	Treatment time - recovery time (hrs)	Dose of test article (µg/mL)	Positive control and dose (µg/mL)
1	+	6-18	0, 75, 150, 300	B[a]P 20
2	-	6-18	0, 62.5, 125, 250	4NQO 0.4
3	-	24-0	0, 25, 50, 100	4NQO 0.4

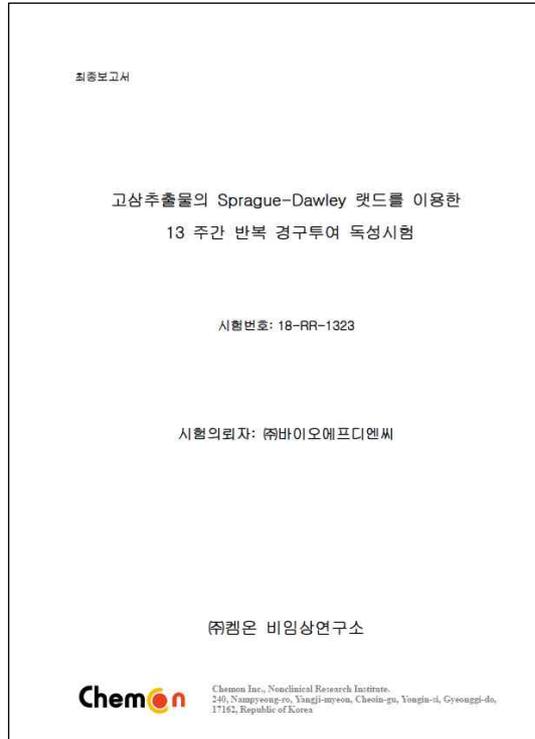
활발히 증식 중인 세포를 트립신으로 분리 후, 배양면적 25 cm² 플라스크에 5 × 10⁴ 개의 세포를 5 mL의 배양액에 파종하여 약 3 일간 배양한 후 시험물질을 처리하였다. 처리개시로부터 24 시간 후에 염색체 검체를 제작하여, 플라스크당 150 개(농도군당 300 개)의 중기상으로부터 염색체이상을 계수하였다. 구조적(혹은 수적) 이상을 가진 중기상의 결과는 평균과 백분율(%)로 각각 표시하였다.

염색체 이상을 계수한 결과, 시험물질 처리군에서 구조적 및 수적 염색체이상을 가진 중기상의 출현빈도는 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 나타내지 않았고, 용량의존적으로 증가하지 않았으며, 음성대조군의 Historical Control Data 범위 내에 있었다.

한편, Benzo[a]pyrene 혹은 4-Nitroquinoline-1-oxide를 처리한 모든 양성대조군에서는 확실한 양성 결과를 얻었다.

이상의 결과로 보아, 시험물질 고삼추출물은 본 시험에 사용한 CHL 세포에 염색체이상을 유발하지 않는 것으로 사료되며, 명확한 음성으로 판단된다.

바) 설치류 13주 반복 투여 독성시험



[그림 51] Sprague-Dawley 랫드를 이용한 13주간 반복 경구투여 독성시험 보고서

설치류 4주 반복 투여 DRF 독성시험을 통해 설정한 500 mg/kg/day를 고용량군으로 하여 총 4개의 군(0, 80, 200, 500 mg/kg/day)을 구성하였고, 각 군당 암수 각각 10마리씩 투여하는 것으로 하여 시험을 진행하였다.

고삼추출물을 80, 200 및 500 mg/kg/day로 투여하는 시험물질 투여군과 별군주사용수만을 투여하는 부형제대조군을 설정하여 군당 암수 각 10 마리에 13 주간 반복 경구투여 하였다. 사망을 포함한 일반증상 관찰, 체중측정, 사료 및 물섭취량 산출, 안과학적 검사, 요검사, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사, 장기중량 측정, 부검소견 관찰 및 조직병리학적 검사를 실시하여 부형제대조군과 비교하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1. 사망동물은 관찰되지 않았다.
2. 일반증상 관찰 결과, 투여 직후 일시적인 유연이 80 mg/kg/day 이상 투여군 암수 일부 또는 모든 동물에서 일시적 또는 지속적으로 관찰되었고, 시험물질색변이 500 mg/kg/day 투여군 암수에서 지속적으로 관찰되었다.
3. 체중측정 결과, 500 mg/kg/day 투여군 수컷에서 체중증가억제가 투여개시 후 지속적으로 관찰되었고, 절식체중 감소가 관찰되었다.
4. 사료섭취량 측정 결과, 500 mg/kg/day 투여군 암수에서 Day 1의 일일 평균 사료섭취량의 감소가 관찰되었다.
5. 물 섭취량 측정 결과, 200 mg/kg/day 이상 투여군 수컷에서 Day 14-90의 일일 평균 물 섭취량의 증가가 관찰되었다.
6. 안과학적 검사 결과, 시험물질에 의한 이상소견은 관찰되지 않았다.
7. 요검사 결과, 80 mg/kg/day 이상 투여군 수컷에서 요량의 증가가 관찰되었다.
8. 혈액학적 검사 결과, 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았다.
9. 혈액생화학적 검사 결과, 500 mg/kg/day 투여군 수컷에서 CRE 농도의 감소, 500 mg/kg/day 투여군 암컷에서 TBIL 농도의 증가가 관찰되었다.

10. 장기중량 측정 결과, 500 mg/kg/day 투여군 수컷에서 양측 신장과 간의 상대중량 증가, 500 mg/kg/day 투여군 암컷에서 양측 신장과 200 mg/kg/day 이상 투여군 암컷에서 간의 절대 및 상대중량 증가가 관찰되었다. 80 mg/kg/day 이상 투여군 암컷에서 양측 부신의 절대 및 상대중량 증가가 관찰되었다.

11. 부검 시, 시험물질에 의한 육안적 이상소견은 관찰되지 않았다.

12. 조직병리학적 검사 결과, 간에서 중심소엽성 간세포 비대 또는 쿠퍼세포 비대/과다형성이 모든 시험물질 투여군 암수에서 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 고삼추출물을 Sprague-Dawley 랫드에 80, 200 및 500 mg/kg/day 로 13 주간 반복 경구투여 하였을 때, 시험물질에 의한 영향으로 80 mg/kg/day 이상 투여군 암수에서 투여직후 일시적인 유연, 500 mg/kg/day 투여군 암수에서 시험물질색변, 500 mg/kg/day 투여군 수컷에서 체중증가억제 및 질식체중 감소, 500 mg/kg/day 투여군 암수에서 사료섭취량 감소, 200 mg/kg/day 이상 투여군 수컷에서 물 섭취량 증가, 80 mg/kg/day 이상 투여군 수컷에서 요량 증가, 500 mg/kg/day 투여군 수컷에서 CRE 농도 감소, 500 mg/kg/day 투여군 암컷에서 TBIL 농도 증가, 시험물질 투여군에서 장기중량 증가(양측 신장, 간, 양측 부신), 중심소엽성 간세포 비대 및 쿠퍼세포 비대/과다형성이 관찰되었다. 다만, 상기 변화들은 모두 독성학적으로 유해하지 않은 변화였다.

따라서, 본 시험조건 하에서 고삼추출물의 무독성량(no observed adverse effect level, NOAEL)은 암수 모두 500 mg/kg/day로 판단하고, 표적장기는 관찰되지 않았다.

마. 안전성(독성) 시험 결과를 토대로 한 용량 설정 및 제품 제형 개발

가) 섭취 용량 설정

본 연구 과제의 위탁연구기관인 삼육대에서 실시한 동물시험 결과(고삼 추출물을 각 용량별로 14 일간 연속 경구투여하였을 시 대조군과 비교해 12.5 mg/kg에서는 약간의 감소, 25 mg/kg에서는 개선이 보이고 50 mg/kg에서는 효과를 보임) 및 (주)캠온에서 실시한 안전성 시험 결과(13주 반복투여 시 최대무독성량은 500 mg/kg/day)를 근거로 하여 인체적용시험시의 용량(섭취량) 설정을 하였다.

(주)캠온에서 랫드의 13주 반복투여 진행시 투여농도는 0, 80, 200, 500 mg/kg/day 이었고, 고농도 투여군인 500 mg/kg/day에서 독성이 없는 것으로 확인되어 이를 인체 적용시 500 mg/kg/day × 60 kg (1인당 몸무게) / 10 (종간 factor) / 10 (개체간 factor) = 300 mg/day가 되어 하루에 최대로 섭취할 수 있는 양을 300 mg으로 설정하였다. 또한 삼육대에서 랫드를 통한 효능시험시, 1일 1회 14일간 투여한 효능 시험 결과 50 mg/kg/day에서 효과를 보이고, 25 mg/kg/day에서 개선 경향이 보이며, 12.5 mg/kg에서 평균 배뇨횟수가 약간 감소하였는데, 이를 인체 적용시

$$\rightarrow 50 \text{ mg/kg/day} \times 60 \text{ kg} \times 0.162 = 486 \text{ mg/day}$$

$$\rightarrow 25 \text{ mg/kg/day} \times 60 \text{ kg} \times 0.162 = 243 \text{ mg/day}$$

$$\rightarrow 12.5 \text{ mg/kg/day} \times 60 \text{ kg} \times 0.162 = 121.5 \text{ mg/day}$$

(0.162 : human-rat간 conversion 계수)

로 확인하였다.

이 결과를 바탕으로 하루에 121.5 mg 이상 섭취시 변화를 보일 수 있을 것으로 예상하였고, 이에 연구자 회의를 통해 한 정당 150 mg이 함유된 정제를 오전에 1회, 오후에 1회 섭취하는 것(하루 2회 투여, 고삼추출물로써 총 300 mg 섭취)으로 결정하였다.

나) 인체적용시험을 위한 제품 제형 개발

고삼 추출물의 경우 성상이 분말 형태이기 때문에 사람이 섭취하기 용이하도록 경구제제화 연구를 진행하였다. 제형 개발은 우수건강기능식품제조기준(GMP) 인증업체인 (주)노바렉스와 공동으로 진행하였다. 정제(나정, 필름코팅정, 당의정), 캡슐(경질캡슐, 연질캡슐) 형태 및 과립제, 산제 형태의 연구를 진행하였으며, 이중 정제 형태가 가장 적합할 것으로 판단되어 정제 형태로 시험생산을 진행

하였다. 또한, 타정을 위한 과립 설계시 고삼 추출물을 습식과립 방식으로 하여 연구를 진행하였고, 흡습의 우려가 있어 필름코팅정으로 하였다. 타정 방식은 최초 직타 방식으로 하려 하였으나 타정시의 효율성 및 제약, 건강기능식품 제조시 흔히 사용되는 방식을 고려하여 습식과립 제조 후 타정하는 방식으로 설계하였다. 또한 흡수 모를 위장에서의 거부반응이나 구토반응 등을 고려하여 장용 필름코팅을 하려 하였으나, 시험생산한 일반 필름코팅 정제를 시험적으로 섭취한 결과 전혀 거부반응이 일어나지 않아 일반 필름코팅정으로 제조하였다. 이 식품의 성상은 “짙은 갈색 내지는 고동색의 장방형 필름코팅정”으로 하였고, 1정당 고삼추출물이 150 mg이 함유되도록 하였다. 다음 표에 본 시험식품의 원재료 및 배합비율을 기재하였다.

[표] 시험식품(고삼추출물 함유)의 원재료 및 배합비율

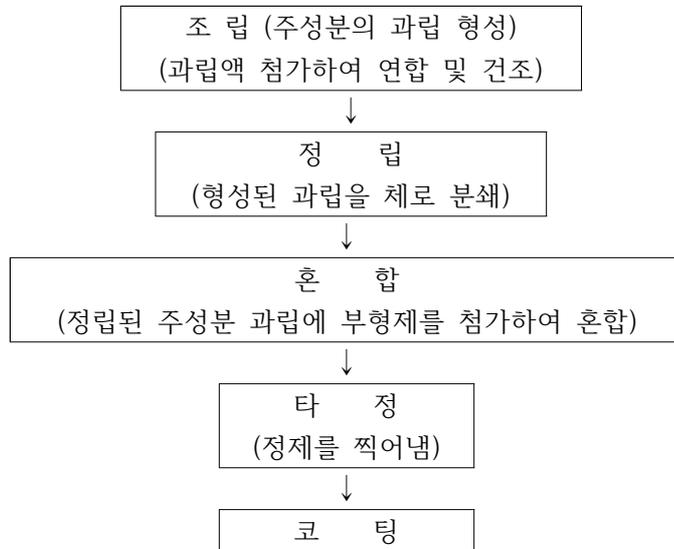
원 료 명	배합비율 (%)	분 량 (mg/정)
고삼추출물	25.00	150.00
결정셀룰로오스	36.50	219.00
유당	31.00	186.00
카복시메틸셀룰로스칼슘	3.00	18.00
HPMC	1.25	7.50
이산화규소	1.00	6.00
스테아린산마그네슘	1.00	6.00
이산화티타늄	0.62	3.72
색소(JS-200)	0.38	2.28
미바셋	0.25	1.50
합 계	100.00	600.00

또한 인체적용시험시 필요한 대조군(placebo) 식품도 같이 연구 및 생산을 진행하였는데, 이 때 대조군은 시험군(고삼추출물 함유 정제)과 모양, 크기, 색상이 같도록 제조하였다. 대조식품의 원재료 및 배합비율은 다음 표와 같다.

[표] 대조식품(placebo)의 원재료 및 배합비율

원 료 명	배합비율 (%)	분 량 (mg/정)
결정셀룰로오스	35.00	210.00
유당	35.00	210.00
덱스트린	24.50	147.00
HPMC	1.25	7.50
이산화규소	1.00	6.00
스테아린산마그네슘	1.00	6.00
이산화티타늄	0.62	3.72
색소(JS-200)	0.88	5.28
색소 858	0.50	3.00
미바셋	0.25	1.50
합 계	100.00	600.00

정제를 제조하는 공정은 다음 표와 같다.



[그림 52] 정제 제조 방법 (모식도)

다) 제형의 기준 및 시험 방법 설정

고삼추출물 제형의 기준 및 시험 방법 설정시 시험 항목은 식품의약품안전처고시 “의약품의 품목 허가·신고·심사 규정”의 “기준 및 시험방법 기재항목”을 근거로 하여 선정하였다. 이에 정상, 확인시험, 봉해시험, 제제균일성시험, 정량시험을 선정하여 각각의 기준, 시험방법을 설정하였다. 각 시험의 시험 방법은 다음과 같다.

a. 정상

이 식품은 갈색 내지는 진한 고동색의 장방형 필름코팅정이다. 이 식품의 코팅을 제외한 내부 성분의 맛은 매우 쓰다.

b. 확인시험

정량법의 검액에서 나온 주피크(쿠라리논) 및 표준액에서 얻은 주피크의 유지시간은 같다.

c. 봉해시험

이 식품을 가지고 식품의약품안전처 고시 “건강기능식품의 기준 및 규격”의 건강기능식품 시험법 중 “봉해시험법”에 따라 시험할 때 적합하다.

d. 제제균일성시험

이 식품을 가지고 대한약전 일반시험법 중 제제균일성시험법에 따라 시험할 때 적합하다.

e. 정량시험 (표시량의 90.0 ~ 110.0 %에 해당하는 고삼추출물을 함유)

이 식품 약 20정 이상을 가지고 그 질량을 정밀하게 달아 가루로 한다. 고삼추출물 약 150 mg에 해당하는 양을 정밀하게 달아 50 % (v/v) 에탄올을 10분간 초음파 처리하여 녹인 다음 50 % (v/v) 에탄올을 넣어 50 mL로 하고 이를 여과하여 검액으로 한다. 따로 쿠라리논표준품 약 12 mg을 정밀하게 달아 50 % (v/v) 에탄올에 넣어 녹여 100 mL로 한다. 이 액 5.0 mL를 정확하게 취하여 50 % (v/v) 에탄올 5.0 mL를 넣고 혼합하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액을 가지고 30 µL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 쿠라리논의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정 후 고삼추출물의 함유량을 계산한다.

$$\text{고삼추출물의 양(mg)} = \text{쿠라리논표준품의 양 (mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{250}{\text{고삼추출물 1 g에 함유된 쿠라리논의 mg 수}}$$

조작조건은 다음과 같다.

- 검출기 : 자외부흡광도계(측정파장 280 nm)
- 칼 럼 : 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 25 cm인 스테인레스강관에 5 μm의 액체크로마토그래프 용옥타데실실릴실리카겔을 충전한다.
- 칼럼온도 : 30 ℃ 부근의 일정온도
- 이동상 : 이동상 A 및 이동상 B를 가지고 다음과 같이 단계적으로 또는 농도기울기적으로 제어한다.
 이동상 A : 0.1 % 트리플루오로아세트산이 함유된 물
 이동상 B : 0.1 % 트리플루오로아세트산이 함유된 아세토니트릴
- 유 량 : 1.0 mL/분

시간(분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)
0 ~ 50	80 → 30	20 → 70
50 ~ 51	30 → 5	70 → 95
51 ~ 55	5	95
55 ~ 56	5 → 80	95 → 20
56 ~ 62	80	20

라) 제형의 성적서 작성

위 설정된 기준 및 시험 방법으로 시험을 실시하여 결과값을 얻었고, 고삼추출물 정제의 성적서를 작성하였다.

성 적 서					 <small>BIOSOURCEMEDICAL</small>	
품 명	LOT No.	제조 산출량	제 조 일	유효기간		
고삼추출물 정제	2020-T-02-003	20,000 정	2020년 2월 28일	2년		
시 험 결 과						
시험 항목	기 준	시 험 결 과	시험일자	시험방법	판 정	
성 상	건한 갈색 내지는 고동색의 정방형 필름코팅정, 내부상분은 매우 큰 것	건한 갈색 내지는 고동색의 정방형 필름코팅정	2020. 03. 02	자사규격	적 합	
확 인	견역과 표준액의 주피크 유지시간 동일	견역 주피크 유지시간 : 35.4 분 표준액 주피크 유지시간 : 35.4 분	2020. 03. 02	자사규격	적 합	
분 해	60분 이내	30 ~ 34 분	2020. 03. 02	건강기능식품의 기준 및 규격	적 합	
제대균일성	상대표준편차 15% 이내	1.4 %	2020. 03. 02	대한약전	적 합	
정량시험	고삼추출물 함량 90.0 ~ 110.0 %	102.2 ± 0.43 %	2020. 03. 02	자사규격	적 합	
종합 판정	판정 일자	결 과	확 인 자	책 임 자		
적 합	2020년 03월 02일	재				

[그림 53] 고삼추출물 정제의 성적서

마) 정량시험 설정 근거 (정제의 분석법 밸리데이션)

분석법 밸리데이션은 ICH 가이드라인 Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Q2(R1)), 식품의약품안전처 고시 “건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정”, 식품의약품안전처에서 발행한 “의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인”을 근거로 하여 기능성분(또는 지표성분; 쿠라리논)의 시험에 대해 분석법 밸리데이션을 실시하였다. 밸리데이션 항목은 특이성, 직선성 및 범위, 정확성, 정밀성, 안정성에 대해 평가하였고, 모든 항목에서 적합함을 확인하였다.

- 특이성 : 희석용매, 특이성 시험용 공시험용액(정제 제조용 부형제) 내 간섭물질 없음, 본 분석시 크로마토그램에서 쿠라리논은 약 35.5분에 등장, 고삼 추출물 전처리 시료의 크로마토그램에서 쿠라리논과 겹치는 다른 피크 없음.
- 직선성 및 범위 : 쿠라리논 검량선 범위를 40 ~ 80 mg/L로 하였을 때, 결정계수는 3회 모두 1.0000으로 허용 기준에 적합(기준 : ≥ 0.99)하였고, 상대오차도 -0.2 ~ 0.2 % 로 기준에 적합(기준 : ± 15 % 이내).
- 정확성 : 회수율로써 평가. 배치내 평균회수율은 102.0 ~ 104.3 %, 3배치를 시험하였을 때 배치간 회수율은 102.7 ~ 103.3 %로 기준에 적합(기준 : 100 ± 10 % 이내).
- 정밀성 : 배치내 정밀성을 확인시 변동계수는 1.7 ~ 2.0 %, 3배치 시험을 통한 배치간 정밀성 확인시 그 변동계수가 1.8 ~ 1.9 %, 재현성 시험시 그 변동계수는 0.1 %로 기준에 적합(기준 : 변동계수 5 % 이내).
- 안정성(전처리 후 안정성) : 실온에서 48시간 보관 후 측정된 추출 전처리 후 안정성 확인 결과 상대오차가 1.8 %였기에 기준에 적합(기준 : 상대오차 ± 5 % 이내).

<p>결과보고서</p> <p style="text-align: center;">HPLC를 이용한 고삼추출물 정제에 함유된 Kurarinone 분석법 밸리데이션</p> <p style="text-align: center;">2020년 1월 23일</p> <p>시험자 : 책임자 :</p> <p style="text-align: center;">(주)바이오에프디엔씨</p>	<p style="text-align: center;">요 약</p> <p>본 시험은 HPLC를 이용하여 고삼추출물 정제 중에 함유된 kurarinone 분석법을 검증하기 위해 수행하였다.</p> <p>분석법 검증은 특이성, 직선성 및 범위, 정확성, 정밀성, 안정성에 대하여 평가하였고, 그 결과는 다음과 같다.</p> <ol style="list-style-type: none">1. 표준용액의 kurarinone 피크와 동일한 머무를 시간에 고삼추출물 정제 전처리 시료에서도 kurarinone 피크가 등장하였다.2. 희석용매의 내인성 간섭물질은 확인되지 않았고, 고삼추출물 전처리 시료의 크로마토그램에서 kurarinone 피크와 겹치는 다른 피크는 존재하지 않았다.3. 위장(placebo)을 동일한 방법으로 전처리 후 분석한 결과 위장에서의 내인성 간섭물질은 확인되지 않았다.4. Kurarinone은 40 ~ 80 mg/L의 농도범위에서 직선성을 확인하였다.5. 재현성, 배치내/배치간 정밀성 및 정확성 확인 결과 높은 정밀성, 정확성을 확인하였다.6. 고삼 추출물 정제의 전처리 시료는 조제 후 실온에서 보관시 48시간 동안 안정함을 확인하였다. <p>시험 결과 본 분석 방법은 고삼추출물 정제에 함유된 kurarinone의 정량분석에 적합함을 확인하였다.</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[그림 54] 고삼추출물 정제에 함유된 쿠라리논 분석법 밸리데이션 보고서

바. 식약처 모듬토의 진행

고삼추출물의 원활한 허가 진행을 위해 인체적용시험을 진행하기 전 식품의약품안전처에 모듬토의를 신청하여 실무관의 의견을 듣고 문제점 및 개선점을 논의하였다.

가) 기준/규격

- 고삼 원재료에 대해 표준화가 필요함 : 지역, 생육환경, 재배환경 등에 따라 차이가 있을 수 있으나 어떠한 조건에서도 동일한 지표성분이 나올 수 있도록 셋업함.
- 원재료 공급 부족 등에 대처가 필요, 추출물의 규격 변경은 쉽지 않으니 처음부터 규격화가 필요함.

나) 안전성 및 전임상 시험 관련

- BK_{Ca} 채널은 방광 외에 심장근육에도 영향을 줄 수 있는데, 혈관평활근의 수축 메커니즘과 방광 수축 메커니즘이 다를 수 있기에 확인 필요함.
- 효능평가를 위한 동물시험시 시험 디자인 및 동물모델에 대해 확인 필요함.
- 알칼로이드, 제니스테인 분석값이 필요함.
- GLP 시험기관에서 독성시험은 진행하였지만, 그 외 문헌상에서 언급된 안전성에 대한 확인이 필요함.

다) 인체적용시험에 반영 사항

- 대상자의 수분섭취량, 카페인, 녹차 등 이뇨작용이 있는 식품의 섭취량 확인이 필요함.
- 배뇨장애 원인별로 대상자를 타겟팅하여 시험 진행하는 것도 고려할 수도 있음.
- 여성의 경우 안전성 평가시 호르몬 변화를 확인할 필요가 있음.
- 전립선 비대증의 전립선 용적 기준은 연령대별로 다르므로 기준을 재설정할 필요가 있음.
- 시험식품은 대조식품과 비교해 겉보기는 차이가 없지만 내용물이 매우 쓰기에 시험 대상자가 씹어먹지 않도록 교육하는 것이 필요함.

사. 인체적용시험

고삼추출물의 인체적용시험은 중앙대학교 병원과 한림대학교 동탄성심병원에서 실시하였으며, 본 과제를 같이 진행중인 (주)네오뉴트라에 주관 하에 진행하였다. 구체적인 시험 계획, 진행 및 결과는 (주)네오뉴트라 파트에서 기술하도록 하겠다.

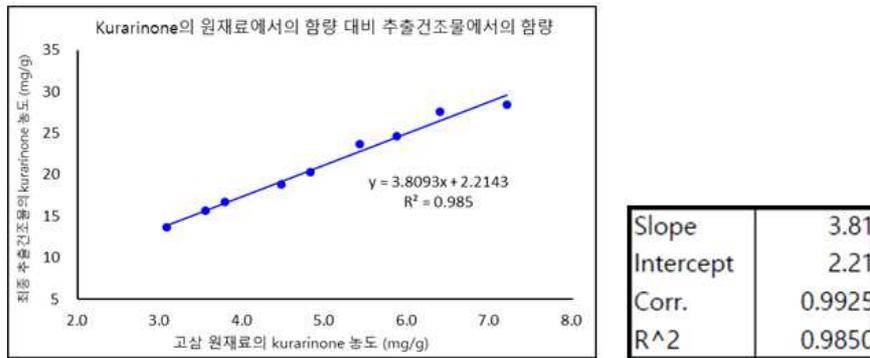
아. 생산 공정 표준화 및 수율 향상을 위한 제조(추출) 공정 최적화

가) 고삼추출물 제조시 kurarinone 함유량을 일정하게 하기 위한 원재료의 규격 설정

고삼 원재료 샘플 9종을 선별하여 실험실 스케일로 고삼 추출물을 제조하였고, 각 9종의 고삼추출물에 함유된 kurarinone 함량과 원재료에서의 kurarinone 함량을 비교하여 그 상관관계를 유추하였고, 다음 그림에 결과를 나열하였다. 고삼 원재료에서의 kurarinone 함량을 x축, 고삼추출물에서의 kurarinone 함량을 y축으로 하여 그래프를 그린 결과 그 둘은 서로 비례됨이 확인되었고, 이 때의 회귀방정식을 구한 결과 $y=3.81x+2.21$ 이 나왔다.

각 추출 공정 단계별 kurarinone 농도

고삼 종류	원재료의 kurarinone 함량 (mg/g)	30% EtOH로 추출시 kurarinone 함량 (mg/L)	최종 건조파우더의 kurarinone 함량(mg/g)
고삼 A	5.9 mg/g	418.8 mg/L	24.7 mg/g
고삼 B	4.8 mg/g	355.5 mg/L	20.3 mg/g
고삼 C	4.5 mg/g	320.0 mg/L	18.8 mg/g
고삼 D	7.2 mg/g	494.3 mg/L	28.5 mg/g
고삼 E	6.4 mg/g	445.4 mg/L	27.6 mg/g
고삼 F	3.8 mg/g	261.6 mg/L	16.7 mg/g
고삼 G	3.1 mg/g	217.8 mg/L	13.7 mg/g
고삼 H	5.4 mg/g	376.2 mg/L	23.6 mg/g
고삼 I	3.5 mg/g	245.3 mg/L	15.7 mg/g



[그림 55] 9종의 고삼 원재료와 각 원재료로 제조된 고삼추출물의 kurarinone 함량 및 상관관계

독성시험 및 인체적용시험용으로 생산된 고삼추출물에서의 kurarinone 함량은 20.7 mg/g이고, 품질관리를 위한 규격 설정시 해당 함유량의 ±20 %이기에 고삼추출물의 규격은 16-24 mg/g이 된다. 고삼추출물에서의 kurarinone 함량이 16-24 mg/g이 되기 위한 원재료에서의 kurarinone 함량을 위식에 대입하면 3.61-5.71 mg/g이 나왔고, 이 때 safety margin 5 %를 적용하여 3.8-5.4 mg/g으로 설정하였다.

나) 대용량 생산시의 공정 최적화

향후 고삼추출물의 사업 확대를 목적으로 제조시 수율 향상을 위한 최적화 연구를 진행하였다. 생산 시설은 우수건강기능식품 제조관리기준(Good Manufacturing Practice; GMP) 인증업체인 경방신약(주) 금산공장의 설비를 이용하였고, 독성시험용 생산시와 마찬가지로 원재료 400 kg을 투입하는 것으로 하여 연구를 진행하였다.



- 원재료 투입 -



- 용매 추출 -



- 추출 완료 -



- 덱스트린 투입 -



- Brix 확인 -



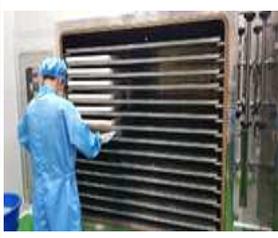
- 농축 종료 -



- 건조기 투입 -



- 고삼추출물 -

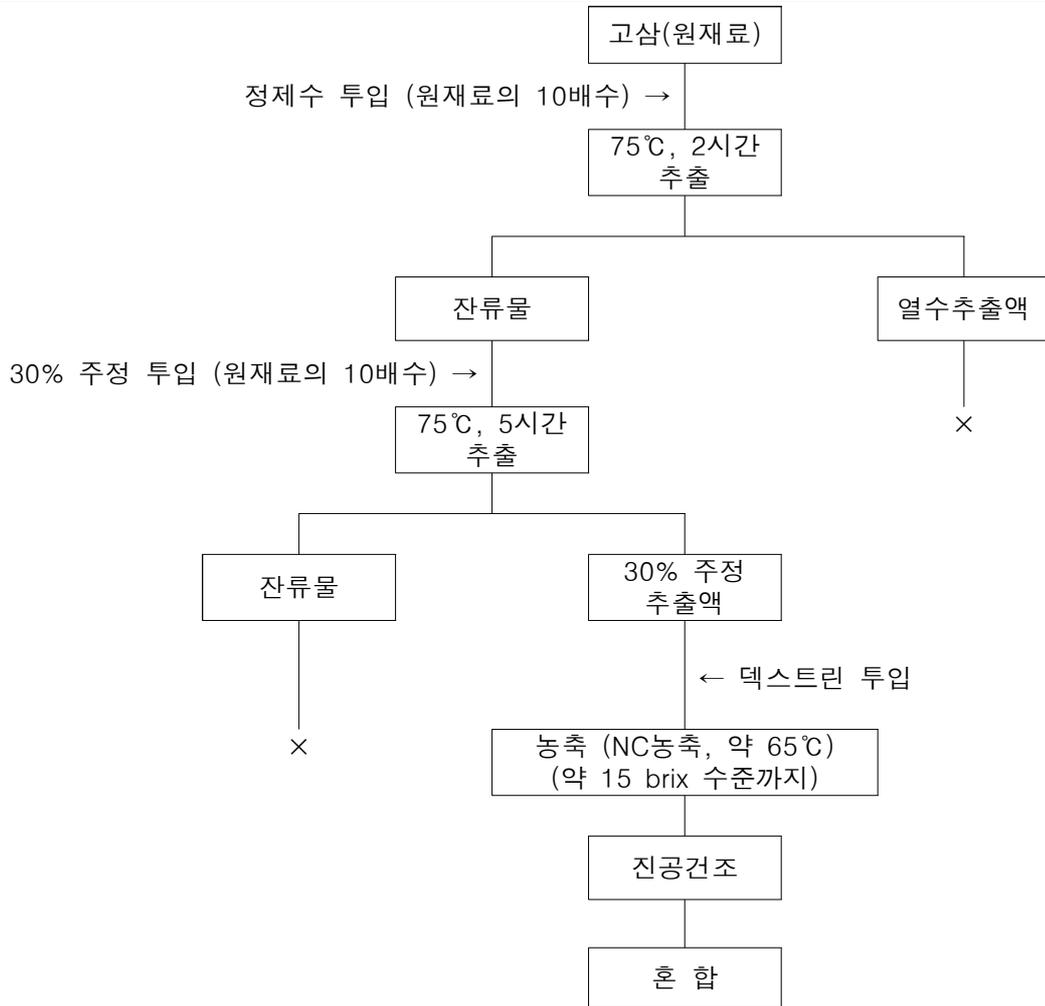


[그림 56] 고삼 대용량 추출시 공정 개선

이 때의 제조 공정 및 제조 수율 및 전체적인 공정 모식도는 다음 그림과 같다.

제조 공정	공정, 식품, 식품첨가물	Kurarinone 함량변화 (mg/g)	수율 (kg)
원재료 고삼 건조 뿌리	· 원재료 : Sophora flavescens · 사용부위 : 뿌리 (건조뿌리) · 원산지 : 국내산	4.7 mg/g	원재료 400 kg
↓			
열수추출	· 물 투입량 : 원재료의 10배수 · 추출온도 : 75±3 °C · 추출시간 : 2 시간	-	-
↓			
추출액 제거	· 추출 후 추출액 완전히 제거 · 온도 : 온도미설정 · 50메쉬 여과	-	-
↓			
주정추출 (30 % 주정)	· 물 투입량 : 원재료의 7배수 · 주정 투입량 : 원재료의 3배수 · 추출온도 : 75±3 °C · 추출시간 : 5 시간 · 추출 후 저장탱크로 이송 · 저장탱크로 이송시 50메쉬 여과	0.34 mg/g	추출액 4,000 kg
↓			
말토덱스트린 첨가 및 혼합	· 말토덱스트린 투입량 : 원재료 의 0.08 - 0.12배수 · 첨가 후 약 30분 이상 (50 rpm, 70±3 °C) · 농축기로 이송시 100메쉬 여과	0.33 mg/g	추출혼합액 4,040 kg
↓			
농 축	· 농축온도 : 75 °C 이하 · 최종 Brix : 15 - 20 brix · 소요시간 : 약 2시간	3.3 mg/g	농축액 350 - 400 kg
↓			
진공건조	· 건조온도 : 75 °C · 소요시간 : 24-48시간	-	-
↓			
고삼추출물		20 mg/g	파우더 55 - 65 kg

[그림 57] 제조 공정 및 수율



[그림 58] 고삼 추출물 제조 공정 모식도

자. 허가용 시제품 3개 롯트 생산 및 시험

가) 식품의약품안전처에 건강기능식품 개별인정형 원료 허가 신청을 위해 생산 진행

3개의 롯트로 생산을 진행하였다. 생산 시설은 공정 연구 때와 마찬가지로 경방신약(주) 금산공장의 설비를 사용하였다. 고삼 원재료 400 kg을 투입하여 위에서 언급된 공정으로 생산을 진행하였으며, 최종 건조 공정 완료시 각 롯트별로 62 kg, 59.3 kg, 63.5 kg을 생산하였다. 각 롯트별 제조지시 및 기록서는 다음과 같다.

제조지시 및 기록서
PRODUCTION ORDER & BATCH RECORD

<제품정보>		문서번호(Ver.)	-
제품명	고상주출물	시용보관기간	-
		제조번호	FMK-Sophora-201-021
성상 및 제형	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 연한 황갈색 분말	제조단위	고상 400 kg
지시서발행번호	-	분류	연구용
제정일자	-	유통기한	제조일로부터 24개월
개정일자	-	제품코드번호	-
보관방법	밀봉포장	용량단위	10 kg
제조일자	2021. 01. 26.	유통기한	2023. 01. 26.

<지시>		연구용제조지시서 발행 (연구부서담당자)	연구용제조지시서 (연구부서책임자)
20 21 . 01 . 26		20 21 . 01 . 26	
김수미		최은수	

<회용검토>		제조지시 기록서의 내용을 확인한 결과 정상적으로 제조되었음을 확인함.	연구부서담당자	연구부서책임자
20 21 . 01 . 27		20 21 . 01 . 27		
김수미		최은수		

KB-P-017-F01-00

1 of 6 page



제조지시 및 기록서
PRODUCTION ORDER & BATCH RECORD

<제품정보>		문서번호(Ver.)	-
제품명	고상주출물	시용보관기간	-
		제조번호	FMK-Sophora-201-022
성상 및 제형	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 연한 황갈색 분말	제조단위	고상 400 kg
지시서발행번호	-	분류	연구용
제정일자	-	유통기한	제조일로부터 24개월
개정일자	-	제품코드번호	-
보관방법	밀봉포장	용량단위	10 kg
제조일자	2021. 01. 16.	유통기한	2023. 01. 16.

<지시>		연구용제조지시서 발행 (연구부서담당자)	연구용제조지시서 (연구부서책임자)
20 21 . 01 . 16		20 21 . 01 . 16	
김수미		최은수	

<회용검토>		제조지시 기록서의 내용을 확인한 결과 정상적으로 제조되었음을 확인함.	연구부서담당자	연구부서책임자
20 21 . 01 . 18		20 21 . 01 . 18		
김수미		최은수		

KB-P-017-F01-00

1 of 6 page



제조지시 및 기록서
PRODUCTION ORDER & BATCH RECORD

<제품정보>		문서번호(Ver.)	-
제품명	고상주출물	시용보관기간	-
		제조번호	FMK-Sophora-201-023
성상 및 제형	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 연한 황갈색 분말	제조단위	고상 400 kg
지시서발행번호	-	분류	연구용
제정일자	-	유통기한	제조일로부터 24개월
개정일자	-	제품코드번호	-
보관방법	밀봉포장	용량단위	10 kg
제조일자	2021. 01. 19	유통기한	2023. 01. 19

<지시>		연구용제조지시서 발행 (연구부서담당자)	연구용제조지시서 (연구부서책임자)
20 21 . 01 . 19		20 21 . 01 . 19	
김수미		최은수	

<회용검토>		제조지시 기록서의 내용을 확인한 결과 정상적으로 제조되었음을 확인함.	연구부서담당자	연구부서책임자
20 21 . 01 . 19		20 21 . 01 . 19		
김수미		최은수		

KB-P-017-F01-00

1 of 6 page



[그림 59] 허가신청용 시제품의 제조지시 및 기록서

나) 시제품 시험 및 성적서 발급

각 시제품을 식품으로 사용함에 있어 필요한 시험을 진행하였고, 이는 식품의약품안전처에서 지정 한 식품 시험 기구(공인기관)에서 진행하였다. 시험 항목은 성상, 일반성분(열량, 탄수화물, 조단백질, 조지방, 수분, 회분, 나트륨), 중금속, 대장균군, 총아플라톡신, 잔류농약, 제니스테인(genistein), 옥시마트린 · 마트린 (oxymatrine · matrine) 함량, 이산화황, 쿠라리논(kurarinone) 함량이었다.

- 성상 : 고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 황갈색 분말
- 일반성분 : 열량 394.21 kcal/100g, 탄수화물 87.83 %, 조단백질 5.48 %, 조지방 2.33 %, 수분 2.32 %, 회분 2.04 %, 나트륨 70.35 mg/100g
- 중금속 : 납 0.0500 mg/kg, 카드뮴 0.0071 mg/kg, 비소 0.0510 mg/kg, 수은 불검출
- 대장균군 : 음성
- 총아플라톡신 : 불검출
- 잔류농약 (69종) : 모두 불검출 / 잔류농약 (알드린, 엔드린, 디엘드린) : 모두 불검출
- 제니스테인 : 0.11 mg/g
- 옥시마트린 · 마트린 함량 : 13.16 mg/g, 2.31 mg/g
- 이산화황 : 불검출
- 쿠라리논 함량 : 20.14 - 21.49 mg/g

위 결과를 바탕으로 기본적인 항목을 선별하여 자체 성적서를 발급하였다.

성 적 서				
				
종 명 : 고삼추출물				
Lot No. :	FDNC-Sophora-2021-001			
제 조 일 :	2021년 11월 26일	사 용 기 한 :	제조일로부터 24개월	
*시험 방법 : 지사 규격				
시 험 결 과				
시험 항목	기 준	시 험 결 과	시 험 일 자	판 정
성 상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 연한 황갈색 분말	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 연한 황갈색 분말	2021년 09월 29일	적 합
대장균군	음성	음성	2021년 09월 15일	적 합
중 경 속	납: < 1.0 mg/kg	0.0500 mg/kg	2021년 09월 18일	적 합
	중비소: < 1.0 mg/kg	0.0510 mg/kg		
	카드뮴: < 0.3 mg/kg	0.0071 mg/kg		
	중수은: < 0.5 mg/kg	불검출		
정량시험	고삼추출물 1 g당 쿠라리논 함량 16 mg/g 이상 24 mg/g 이하	21.49 mg/g (21.34, 21.48, 21.64)	2021년 10월 26일	적 합
종합 판정	판정 일자	판정	확 인 자	책 임 자
적 합	2021년 10월 26일	적 합		

[그림 60] 허가신청용 시제품의 자체 성적서

차. 건강기능식품 개별인정형 원료 허가 신청을 위한 허가서류 작성

가) 허가서류 작성을 위한 자료 수집

식품의약품안전처에 개별인정형 원료 허가 접수를 위해 원료 관련 자료 이외에 부가적인 필수 조건, 필요 서류 및 부가적인 자료를 확보하였다.

- 기원, 개발경위, 국내·외 인정 및 사용현황 자료 : OASIS 전통의학정보포털, 국립생물자원관, 본초감별도감, 세계 약용식물 백과사전, 대한민국 약전, 고삼주 자료, 미국·캐나다·일본·대만·중국 인정현황 등
- 제조방법 관련 자료 : 주정 COA, 말토덱스트린 COA, 경방신약(주)와 체결한 생산 위수탁 계약서, 생산업체인 경방신약(주)의 GMP 인증서, 경방신약(주)의 건강기능식품 영업허가증
- 원료의 특성 관련 자료 : Kurarinone의 COA, 고삼 원재료에 대해 유전자 분석 보고서

Sample Name

Sample Name	Kukbeo-Sophora flavescens_Root_1
-------------	----------------------------------

Analysis Report

Name	Read Length (Normal)	Read Length (Q16)	Read Length (Q20)	GC Content
Kukbeo-	420	368	367	57.38695238695238
Kukbeo-	372	363	361	56.182795698952473
Kukbeo-	372	363	359	58.602150537634413

Contig Sequence

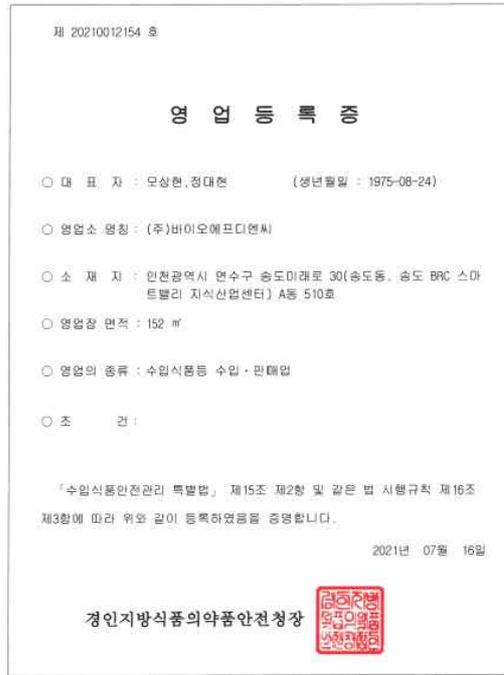
```
TTTGACTCTCGGGACAGATATCTGGCTCTTGCATGATGAGAGAGCTAGGGAAATCCGATACTTGGTGTGAATTCAGAAATCCCGTGAACCAT
CGAATCTTTAAGACAGATTGCGCCGAGCCCTTAGCTGAGGGCAGCCCTGCTGGGTGTCGACATGCTTGGCCGAAATCCCTCAGCCCTTTTG
CTAGCGATATTAAGAGGCTGATTTGCTTCTCCCTGAGCATGCTCCGGGCTGCTGAAATTTGATTCCTGCTGATGCTGGCCGAGATGAGTG
GTGGTGTGATTAAGAGCTCCAGACCAATCTGTGTGTCCACCCCTACCGGATTTGTACTCTTGGACCCATAGCGCCGCTGGCTGGCCACAGGGG
ACCTGAGTGTAGCGGGGCTACCCCGGCTGATAG
```

BlastN Report

Query		Subject		Score							Identity	
Start	End	Description	AC	Leq	Start	End	Bit	Raw	EV	Max	Total	Pct(%)
4	417	Sophora flavescens isolate F2 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large ribosomal RNA gene, partial sequence	MF469489.1	691	243	673	734	397	0.0	409	414	99
4	417	Sophora flavescens isolate rs internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and large ribosomal RNA gene, partial sequence	MF469488.1	721	241	673	734	397	0.0	409	414	99
4	417	Sophora flavescens voucher NCNU-D8941201-1094 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	HQ207664.1	703	261	673	734	397	0.0	409	414	99
4	417	Sophora flavescens voucher NCNU-D8941201-1093 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	HQ207663.1	703	261	673	734	397	0.0	409	414	99
4	417	Sophora flavescens 18S ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	EU082767.1	731	294	705	730	395	0.0	409	413	99

[그림 61] 고삼 원물의 유전자 분석 결과서 (일부)

- 안전성 자료 : AHPA's Botanical Safety Handbook, The Plant List, The Data Base of Ethno-medicines in the world (ETHMEDmm), Medicinal plant image database, Examine.com, KEGG DRUG, Plants of Taiwan, Tox-info 등
- 수입식품 등 수입판매업 등록 : 개별인정형 원료 신청을 하기 위해서는 건강기능식품 전문제조업이나 건강기능식품 벤처제조업 또는 수입식품 등 수입판매업의 영업 허가가 있어야 하는데 현재 (주)바이오에프디엔씨는 건강기능식품 제조 설비 및 고삼 원료 관련 특허를 따로 보유하지 않기에 현 상황에 맞춰 수입식품 등 수입판매업을 경인지방식품의약품안전청에 신청하여 등록하였다.



나) 식약처 제출용 허가자료 작성

(주)네오뉴트라가 가이드라인 및 검토 하에 고삼추출물의 건강기능식품 개별인정형 원료 허가 신청을 위한 허가자료를 작성하였다. 자료는 총괄 요약본, 기원·개발 경위, 국내외 인정 및 사용현황, 제조방법, 원료의 특성, 기능(지표)성분의 규격 및 시험방법에 관한 자료, 유해물질 자료, 안전성, 기능성, 섭취량·섭취시 주의사항의 9가지 항목으로 구성되었고, 각 세부 항목은 다음과 같다.

- 총괄 요약본 : 요약본
- 기원·개발 경위, 국내외 인정 및 사용현황 : 기원, 개발경위, 국내외 인정·허가 현황, 국내외 사용 현황
- 제조방법에 관한 자료 : 제조공정표, 원재료부터 단위공정별 제조방법 설명, 원료 첨가물 규격 적합 여부 자료, 주요 제조 단계별 기능성부 함량변화, 주요 제조단계별 수율 변화
- 원료의 특성에 관한 자료 : 원료를 특징지을 수 있는 성상이나 물성 등, 기능(지표)성분 및 근거, 영양성분정보자료, 유사원재료와 구분할 수 있는 자료
- 기능(지표)성분의 규격 및 시험방법에 관한 자료 및 시험성적서 : 기능(지표)성분의 규격 및 근거, 기능(지표)성분의 시험성적서 및 분석자료 포함(3루트 이상), 표준품 정보, 기능(지표)성분의 시험방법
- 유해물질에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료 : 유해물질 규격 항목(중금속, 미생물)의 규격 및 근거, 시험성적서 및 분석자료 포함(3루트 이상), 유해물질 규격 미설정 항목(잔류농약 등)의 시험성적서 및 분석자료, 추가 항목의 규격 및 근거, 추가 항목의 시험성적서 및 분석자료 포함(3루트 이상), 유해물질(중금속, 잔류농약, 미생물 등)의 시험방법
- 안전성에 관한 자료 : 섭취 근거 정보, 기능성분 또는 관련 물질에 대한 안전성 검색 정보, 섭취량 평가 정보, 인체적용시험 정보, 독성시험자료 (단회투여/3개월 반복투여/유전독성), GLP 기관 보고서
- 기능성 내용에 관한 자료 : 시험관 시험 및 동물시험 자료(논문)
- 인체적용시험 : 인체적용시험 보고서, IRB 승인서, 연구계획서, 연구보고서
- 섭취량, 섭취시 주의사항 및 그 설정에 관한 자료 : 섭취량 및 설정근거, 섭취방법 및 근거, 섭취시 주의사항 및 근거

기능성원료 인정 신청을 위한
제출 자료

■ 신청원료 개요[신규신청]

회 사 명(기관명)	한바이오프로바이오틱스 (대표자 : 모 상 현, 장 대 현)			
주 소 및 연락처	(주소) 인천광역시 연수구 송도미림로 30(송도동, 송도 BRC 스마트빌리 지식산업센터) A동 510호			
	(연락처) 032-236-2013 (팩스) 032-822-2027			
	담당자	(이름) 장 성 주	차장 (연락처) 010-5249-0753	
	대행자	(이름) (연락처)		
원료 구분	<input checked="" type="checkbox"/> 국내원료 <input type="checkbox"/> 수입원료			
「건강기능식품의 기준 및 규격」에 고시되지 아니한 원료	신청 원료명	고삼추출물		
	기능성 내용	해노기능 개선에 도움을 줄 수 있음		
	일일 섭취량	고삼추출물로서 300 mg/일		
영양외 종류 (등록번호)	<input checked="" type="checkbox"/> 연동 <input type="checkbox"/> 현탁 제제 <input type="checkbox"/> 분체 제제 <input checked="" type="checkbox"/> 수임형			
	<input type="checkbox"/> 기타 총리형 <input type="checkbox"/> 비열안정인 <input type="checkbox"/> 건강기능식품 또는 식품관련 연구결과기관			
	<input type="checkbox"/> 정복출연 연구기관 <input type="checkbox"/> 중앙행정기관 <input type="checkbox"/> 지방자치단체 <input type="checkbox"/> 공공기관			
	등록번호	제 20210012154 호		
신청원료 제조	<input checked="" type="checkbox"/> 국내	<input type="checkbox"/> 자사제조	<input type="checkbox"/> 전 공장 <input type="checkbox"/> 일부 공장 (소재지)	
		<input checked="" type="checkbox"/> 위탁제조	<input checked="" type="checkbox"/> 전 공장 <input type="checkbox"/> 일부 공장 (회사명) 광명신약(주) 금산공장 (소재지) 충청남도 공산군 부리면 입삼막조공단로 27 광명신약(주) 금산공장 업종 건강기능식품제조업 등록번호 제 20200016625 호	
	<input type="checkbox"/> 수입	수입식품 등의 수입신고 관수번호	수출국	
		제조회사		
		소재지		
사전 검토 이력	<input checked="" type="checkbox"/> 모두동의 <input type="checkbox"/> 기술지원 <input type="checkbox"/> 방문상담 (실시 날짜) 2020.03.11			
예산 지원여부 등	<input checked="" type="checkbox"/> 정부지원 <input type="checkbox"/> 지자체 지원 <input type="checkbox"/> 기타() (기관/기관) 2017.11.15 - 2021.11.14 / 농림축산식품부(제2017-352호)			

[그림 63] 기능성원료 인정 신청을 위한 제출 자료

카. 식품의약품안전처에 개별인정형 원료 등록 접수

위의 허가 서류를 취합하여 식품안전나라 인터넷사이트(<https://www.foodsafetykorea.go.kr>)에 처리주관부서를 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과로 하여 건강기능식품 개별인정형 원료 허가를 접수하였다. 또한, 모든 자료를 출력한 하드카피본, kurarinone 표준품, 분석용 컬럼, 시제품 샘플, 데이터 CD를 해당 심사부서에 우편접수 하였다.

접수증

접수번호: 20210593673 접수일자: 2021.11.10

민원사무명	건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청)
신청번호	7596010
민원인 (대표 또는 대리인)	모상현(20190199329)
처리예정일	2022.05.02
처리주관부서	식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과(-)
안내사항	※ 방문수령의 경우에는 교부받고자 하는 민원실에 본 접수증을 제출하셔야 하며, 본인의 신분증 또는 대리인인 경우에는 위임장을 제시하셔야 민원서류를 수령하실 수 있습니다.
수수료	1,900,000

위 건명의 민원을 접수하였습니다.

[그림 64] 건강기능식품 기능성원료 인정(신규 신청) 접수증

(위탁기관: 네오뉴트라(주))

가. 전임상 및 기능성원료 인허가 가이드

가) 식약처 신청 시 필요자료를 기반으로 한 자료 검토 및 가이드

○ 기원, 개발경위, 국내/외 인정 및 사용현황 등에 관한 자료

① 기원 및 개발경위
✓ 언제, 어느 나라에서, 어떤 경위로 개발되었는지, 천연물을 원재료로 사용한 경우에는 그 기원, 학명, 원산지, 사용부위 등이 구체적으로 기재되었는지 검토
② 국내외 인정·허가 현황
✓ 국내외 및 국제기구에서의 인정·허가 상황, 사용 기준·규격 등의 관련 내용이 정확히 기재되었는지 확인 (국제식품규격위원회(Codex Alimentarius Commission, CAC) 등 국제기구에서 검토 중인 경우에는 안전성 평가 상황 및 사용기준, 규격 등에 관한 자료를 첨부)
③ 국내외 사용현황
✓ 국내외에서 식품 등으로 사용실적이 있는 경우에는 사용용도, 유통량, 제조회사, 섭취실태 등에 관한 자료 첨부

○ 제조방법 및 그에 관한 자료

① 제조 온도, 시간, 압력 등 단위공정별 구체적인 제조방법
② 제조공정에 사용된 용매, 효소, 미생물 등 안전성·기능성 평가와 관련된 제조방법 및 제조국가 등
③ 주요 제조단계별(추출, 여과, 농축 등) 기능(또는 지표)성분의 함량 및 수율 변화에 대한 상세한 자료
④ 두 가지 이상의 원재료를 혼합한 경우 각 원재료의 명칭, 배합비 및 안정성관련 자료

○ 원료의 특성에 관한 자료

- ① 해당 원료를 특징지을 수 있는 성상, 물성 등에 관한 자료
- ② 해당 원료의 표준화를 확인하기 위한 기능성분(또는 지표성분)에 관한 자료
- ③ 육안으로 다른 원재료와 구별하기 곤란한 원재료가 존재할 경우 이를 구분할 수 있는 성상, 지표성분 등의 자료

○ 기능성분(또는 지표성분)에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료

- ① 기능성분(또는 지표성분)의 규격
- ② 기능성분(또는 지표성분)의 시험방법
- ③ 국내·외 시험·검사기관에서 시험분석한 시험성적서

○ 유해물질에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료

- ① 유해물질의 규격
- ② 유해물질의 시험방법
- ③ 국내외 시험·검사기관에서 시험 분석한 시험성적서

○ 안전성에 관한 자료

- ① 원료를 제안된 방법에 따라 섭취하였을 때 해당 원료가 인체에 위해가 없음을 확인할 수 있는 과학적 근거 자료(섭취 근거 자료, 해당 원료 또는 성분에 대한 안전성 정보 자료, 섭취량평가자료, 인체적용시험자료(중재시험, 역학조사 등), 독성시험자료 등)
- ② 안전성 자료의 요건 검토
 - ✓ 섭취 근거 자료의 경우 당해 원료가 안전하다고 판단할 수 있는 역사적 사용 기록 뿐 아니라 제조방법, 용도, 섭취량 등이 기술된 과학적 자료인지 검토
 - ✓ 해당 기능성분 또는 관련물질에 대한 안전성 정보 자료가 국내외 학술지에 게재되거나 게재증명서를 받은 것, 국내외 정부 보고서 또는 국제기구 보고서, 관련 데이터베이스 검색결과로 나타나는지 검토
 - ✓ 섭취량 평가 자료는 다양한 과학적 자료(섭취실태조사자료, 통계자료 등)를 사용하여 작성되었는지 검토(특정 대상군을 섭취대상으로 하는 경우에는 해당 섭취대상에 대한 섭취량 평가 자료가 있는지)
 - ✓ 안전성과 관련된 인체적용시험자료
 - ✓ 독성시험자료의 경우 우수실험실운영규정(Good Laboratory Practice, GLP)에 따라 운영된 기관이 경제협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)에서 정하고 있는 독성시험방법(OECD Test Guideline)에 준하여 시험한 보고서

○ 기능성내용 및 그에 관한 자료

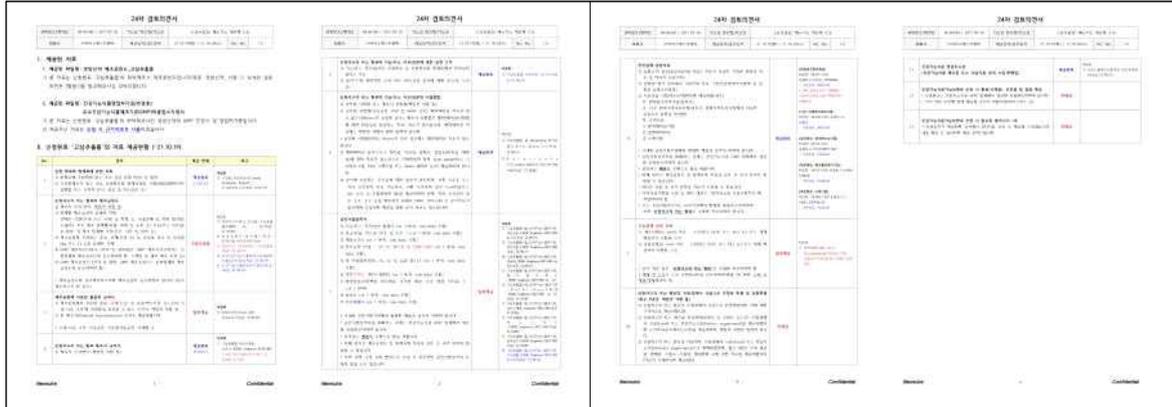
- ① 기능성 내용
- ② 기능성에 관한 자료로 사용할 인체적용시험, 동물시험, 시험관시험 자료 등 확인
- ③ 기능성 자료의 요건 검토
 - ✓ 동물시험 및 시험관시험은 과학기술논문인용색인(Science Citation Index(Expanded), SCI(E) 포함)이나 한국학술지인용색인(Korea Citation Index, KCI)과 동등 이상의 학술지에 게재된 것(게재증명서 포함)인지 확인
 - ✓ 인체적용시험의 경우 IRB 승인된 인체적용시험계획서 및 최종보고서

○ 섭취량, 섭취시 주의사항 및 그 설정에 관한 자료

- ① 안전성 및 기능성 자료를 근거로 원료의 안전성이 보장되고 기능성이 나타나는 일일 섭취량 또는 그 범위가 적절히 설정되었는지 검토(특정 대상군을 섭취대상으로 하는 경우에는 해당 섭취대상에 대하여 설정)
- ② 기능성 자료를 근거로 하여 해당 원료의 기능성이 가장 효과적으로 나타나는 섭취방법이 기재되었는지 검토

③ 해당 원료의 과다섭취에 따른 부작용, 신청 기능성과 관련된 식품 또는 복용중인 의약품 성분과의 상호작용, 취약집단(임산부, 수유부, 어린이, 노약자 등) 등을 고려하여 섭취 시 주의사항이 기재되었는지 검토

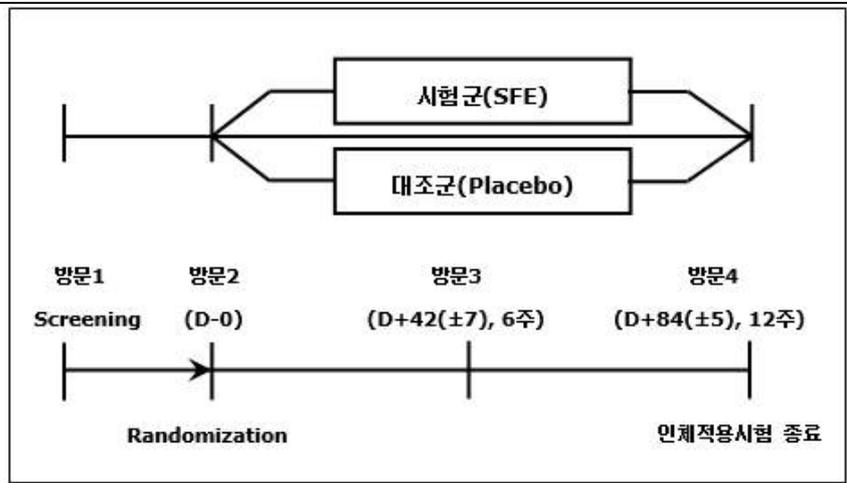
나) 검토의견서 작성 및 공유



나. 인체적용시험 계획서(프로토콜) 개발 및 IRB 승인

가) 프로토콜 요약

인체적용시험 제목	배뇨기능 개선에 미치는 SFE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 다기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험
인체적용시험 의뢰자	(주)바이오에프디엔서 인천광역시 연수구 송도미래로 30
인체적용시험 책임자	명순철 교수(중앙대학교병원 비뇨의학과) 한준현 교수(한림대학교동탄성심병원 비뇨의학과)
인체적용시험 실시기관	중앙대학교병원(서울특별시 동작구 흑석로 102) 한림대학교동탄성심병원(경기도 화성시 큰재봉길 7)
인체적용시험 기간	임상시험심사위원회(IRB)의 인체적용시험 승인일로부터 24개월
인체적용시험 대상	배뇨기능이 저하된 성인 남·녀
인체적용시험 목적	본 인체적용시험은 배뇨기능이 저하된 성인 남·녀를 대상으로 SFE(고삼추출물)를 섭취시켰을 때 대조식품(Placebo)과 비교하여 배뇨기능 개선에 미치는 유효성 및 안전성을 평가하기 위하여 계획되었다.
시험단계 및 디자인	단 계: 기타(건강기능식품) 디자인: 12주, 다기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조
인체적용시험용 식품	시험식품: SFE(고삼추출물) 대조식품: Placebo
인체적용시험용 식품 섭취방법	시험식품(SFE): 1일 2회(오전, 오후), 1회 1정씩 충분한 물과 함께 섭취 (고삼추출물로서 300 mg/day) 대조식품(Placebo): 시험식품과 동일한 방법으로 섭취
인체적용시험용 식품 섭취기간	12주
인체적용시험 방법	인체적용시험 대상자(또는 법정대리인)는 자의로 인체적용시험 동의서에 서명 후, 방문평가를 통해 선정/제외기준 적합 여부를 판정한 뒤, 적합한 인체적용시험 대상자에 한하여 등록된 순서에 따라 시험군 또는 대조군 중 한 군으로 무작위배정한다. 배정된 인체적용시험 대상자는



12주간 인체적용시험용 식품(시험식품 또는 대조식품)을 섭취한다.

인체적용시험 대상자 수		시험군 (SFE)	대조군 (Placebo)	총 시험대상자 수
	최종 평가 레수(PP Set)	37	37	74
	Drop-out(25%) 고려레수	50	50	100

- 선정기준
- 만 35세 이상, 만 75세 이하의 남·녀
 - 과활동성 방광 증상(요절박 증상이 있으면서 야간뇨(0~4회)를 포함한 1일 8회 이상의 빈뇨)이 1개월 이상 지속된 자
 - 방문2에서 배뇨일지를 통해 과활동성 방광 증상(요절박 증상이 있으면서 야간뇨(0~4회)를 포함한 1일 8회 이상의 빈뇨)이 확인된 자
 - 인체적용시험이 시작되기 전에 본 인체적용시험의 참여를 동의하고, 서면 동의서(Informed Consent Form)를 작성한 자

- 제외기준
- 중증의 심혈관계, 면역계, 호흡기계, 간담도계, 신장 및 비뇨기계, 신경계, 근골격계, 정신성, 감염성 질환 및 악성종양 등으로 현재 치료 중인 자(단, 인체적용시험 대상자의 상태를 고려하여 시험자의 판단에 따라 시험에 참여 가능하다.)
 - 방광종양, 방광출구폐색, 요로결석, 요도협착, 방광경부구축, 하부 요로(방광, 요도)의 염증, 요로결핵, 전립선 비대증(전립선 용적 35 cc 이상)이 있는 자
 - 방문1 기준 3개월 이내에 배뇨기능 개선을 위한 약물(항무스카린제, 복합 작용제, 삼환계 항우울제 등)을 복용한 자
 - 방문1 기준 1개월(30일) 이내에 배뇨기능 개선을 위한 치료(배뇨훈련, 골반기저근운동 등)를 받은 자
 - 복잡성 요실금 수술 이력이 있는 자
 - 잔뇨량이 150 mL 이상인 자
 - 조절되지 않는 당뇨병 환자(공복 혈당 180 mg/dL 이상)
 - 조절되지 않는 고혈압 환자(수축기 혈압 160 mmHg 이상 또는 이완기 혈압 100 mmHg 이상, 인체적용시험 대상자 10분 안정 후 측정기준)
 - TSH가 0.1 μ U/mL 이하이거나 10 μ U/mL 이상인 자
 - Creatinine이 시험기관 정상 상한치의 2배 이상인 자
 - AST(GOT) 또는 ALT(GPT)가 시험기관 정상 상한치의 3배 이상인 자
 - 방문1 기준 3개월 이내에 다른 중재적 임상시험(인체적용시험 포

	<p>함)에 참여했거나, 본 인체적용시험 시작 이후 다른 중재적 임상시험(인체적용시험 포함)에 참여할 계획이 있는 자</p> <ul style="list-style-type: none"> • 인체적용시험용 식품 성분에 민감하거나 알레르기가 있는 자 • 알코올 또는 약물남용의 병력이 있는 자 • 임신 중이거나 수유 중 또는 본 인체적용시험 기간 동안 임신 계획이 있는 자 • 시험자가 본 인체적용시험에 부적절하다고 판단하는 자
<p>유효성 평가 변수</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 1차 유효성 평가 변수 <ul style="list-style-type: none"> - 배뇨빈도 • 2차 유효성 평가 변수 <ul style="list-style-type: none"> - 배뇨량, 절박뇨, 요실금 빈도 - 배뇨속도(최대, 평균) - 잔뇨량 - OAB-V8, OABSS - IPSS - IIEF-5 - Estradiol - hs-CRP - urine NGF, urine PGE, urine ATP
<p>안전성 평가 변수</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 이상반응 • 활력징후(혈압, 맥박), 신체계측(체중) • 임상병리검사(혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사) • 심전도검사 • 혈중 PSA • FSH

나) 프로토콜

인체적용시험계획서

**배뇨기능 개선에 미치는 SFE의
유효성 및 안전성을 평가하기 위한
12주, 다기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조 인체적용시험**

Protocol No. : BFDC_SFE
 Version No. : 2.6
 Version Date : 2021년 02월 19일

네비오에프디엔씨 소유

Confidential

본 인체적용시험계획서에는 네비오에프디엔씨에 주속되는 기밀정보가 포함되어 있습니다. 본 문서는 인체적용시험 계획자, 인체적용시험 공표연구자, 인체적용시험 위대내이더, 임상시험심사위원회(IRB), 식품의약품안전처 등 인체적용시험의 실시와 관련된 자에게 제공된 것으로 인체적용시험용 식물을 섭취하는 사항에게 시험용기에 대한 서면 통보를 받기 위한 경우를 제외하고는 네비오에프디엔씨의 사전 서면 동의 없이 제3자에게 제공되거나 공개될 수 없습니다.

Protocol Signature Page

Study Title

배뇨기능 개선에 미치는 SFE의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 12주, 다기관, 무작위배정, 이중 눈가림, 위약대조 인체적용시험

A 12 week, Multi-Center, Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Clinical Trial for the Evaluation of the Efficacy and Safety of SFE on Voiding Function

Protocol No. BFDC_SFE
Version 2.6(19 Feb 2021)

CRO (NeoNutra Co., Ltd.)

Written by:

		19 / FEB / 2021
Clinical Research Associate	Signature	Date (DD-MMM-YYYY)

Reviewed by:

		19 / FEB / 2021
Biostatistics Manager	Signature	Date (DD-MMM-YYYY)
		19 / FEB / 2021
Clinical Research Manager	Signature	Date (DD-MMM-YYYY)
		19 / FEB / 2021
Clinical Research Director	Signature	Date (DD-MMM-YYYY)

Sponsor (BIO-FD&C Co., Ltd.)

Reviewed by:

		23 / FEB / 2021
Printed Name	Signature	Date (DD-MMM-YYYY)

Approved by:

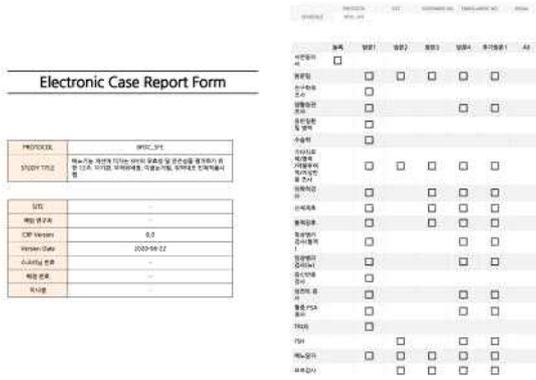
		23 / FEB / 2021
Printed Name	Signature	Date (DD-MMM-YYYY)

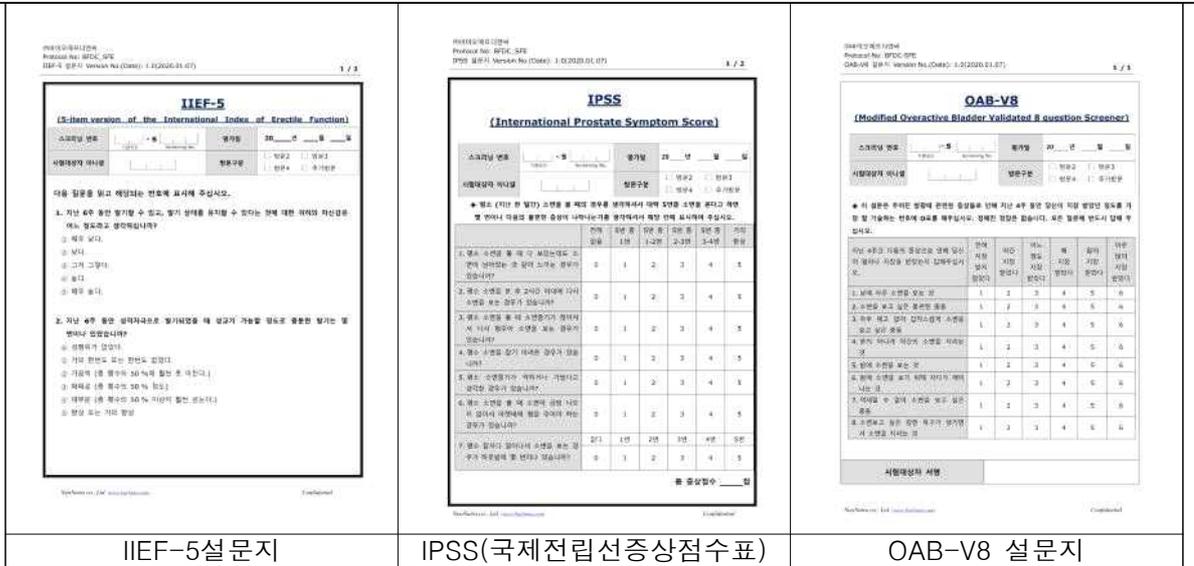
NeoNutra co., Ltd. neo@neobutra.com Confidential

<p>네비오에프디엔씨 Clinical Study Protocol Protocol No.: BFDC_SFE Version No.(Date): 2.6(2021.02.19) 13/69</p> <div style="text-align: center; border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> 목 차 </div> <ul style="list-style-type: none"> 0 인체적용시험계획서 1 0 인체적용시험계획서 요약 2 0 인체적용시험 진행 일차표 8 0 약어 11 1. 인체적용시험의 명칭 및 단계 18 <ul style="list-style-type: none"> 1.1. 명칭 18 1.2. 단계 18 2. 시험자 및 인체적용시험 일시기관 지원조치 18 <ul style="list-style-type: none"> 2.1. 인체적용시험 실시기관(INSTITUTION) 18 2.2. 인체적용시험 책임자(PRINCIPAL INVESTIGATOR) 18 2.3. 인체적용시험 의뢰자(SPONSOR) 18 2.4. 인체적용시험 수탁기관(CONTRACT RESEARCH ORGANIZATION, CRO) 19 3. 인체적용시험의 목적 및 배경 19 <ul style="list-style-type: none"> 3.1. 인체적용시험의 목적 19 3.2. 인체적용시험의 배경 19 4. 인체적용시험용 식물 21 <ul style="list-style-type: none"> 4.1. 인체적용시험용 식물의 개요 21 <ul style="list-style-type: none"> 4.1.1. 시험식물(SFE) 21 4.1.2. 대조식물(Placebo) 22 4.2. 인체적용시험용 식물의 생산·모양 및 관리법 22 4.3. 인체적용시험용 식물의 구분 23 4.4. 인체적용시험용 식물의 관리 및 기록 24 4.5. 인체적용시험용 식물의 회수 및 폐기 24 4.6. 이중눈가림의 유지 24 5. 인체적용시험 기관 25 6. 인체적용시험 대상자의 선정기준, 제외기준 및 목표 인체적용시험 대상자의 수 25 <ul style="list-style-type: none"> 6.1. 인체적용시험 대상자 25 <ul style="list-style-type: none"> 6.1.1. 선정기준 25 6.1.2. 제외기준 25 <p style="font-size: x-small;">NeoNutra co., Ltd. neo@neobutra.com Confidential</p>	<p>네비오에프디엔씨 Clinical Study Protocol Protocol No.: BFDC_SFE Version No.(Date): 2.6(2021.02.19) 14/69</p> <ul style="list-style-type: none"> 6.2. 목표한 인체적용시험 대상자의 수 및 선정기준 25 <ul style="list-style-type: none"> 6.2.1. 인체적용시험 대상자 수 26 6.2.2. 선정기준 27 7. 인체적용시험 방법 28 <ul style="list-style-type: none"> 7.1. 인체적용시험의 설계 28 7.2. 인체적용시험용 식물의 섭취법, 섭취방법 및 섭취기간 29 <ul style="list-style-type: none"> 7.2.1. 1일 섭취량 및 섭취방법 29 7.2.2. 섭취기간 29 7.2.3. 섭취량 측정사유 30 7.3. 병행요법 30 <ul style="list-style-type: none"> 7.3.1. 병행요법 약물 및 건강기능식품 30 7.3.2. 병행요법 약물 및 건강기능식품 30 7.3.3. 병행요법 치료 31 7.4. 무작위배정 31 7.5. 인체적용시험 대상자 모의 방법 32 8. 인체적용시험 진행일정, 관측 및 임상조사 항목과 방법 33 <ul style="list-style-type: none"> 8.1. 인체적용시험 진행일정표 33 8.2. 관측항목 및 임상조사 항목 35 <ul style="list-style-type: none"> 8.2.1. 인체적용시험 대상자 평가 및 연구목적 조사 35 <ul style="list-style-type: none"> 8.2.2. 설문조사 조사 35 8.2.3. 혈액 및 약물투여력 조사, 병용약물 및 병용요법 확인 36 8.2.4. 의학적검사 36 8.2.5. 신장기능(신장, 혈중) 36 8.2.6. 혈액화학(총단, 백혈, 적혈) 측정 36 8.2.7. 임상병리검사(항산화효능검사) 36 8.2.8. 심전도검사 37 8.2.9. 골밀 PSA 38 8.2.10. TRUS 38 8.2.11. FSH 38 8.2.12. 배뇨량, 배뇨빈도, 골박뇨, 요실금 빈도 39 8.2.13. 오작 검사 39 8.2.14. 초음파 관측검사 39 8.2.15. OAB-V8, OABSS 39 8.2.16. IPSS 40 <p style="font-size: x-small;">NeoNutra co., Ltd. neo@neobutra.com Confidential</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

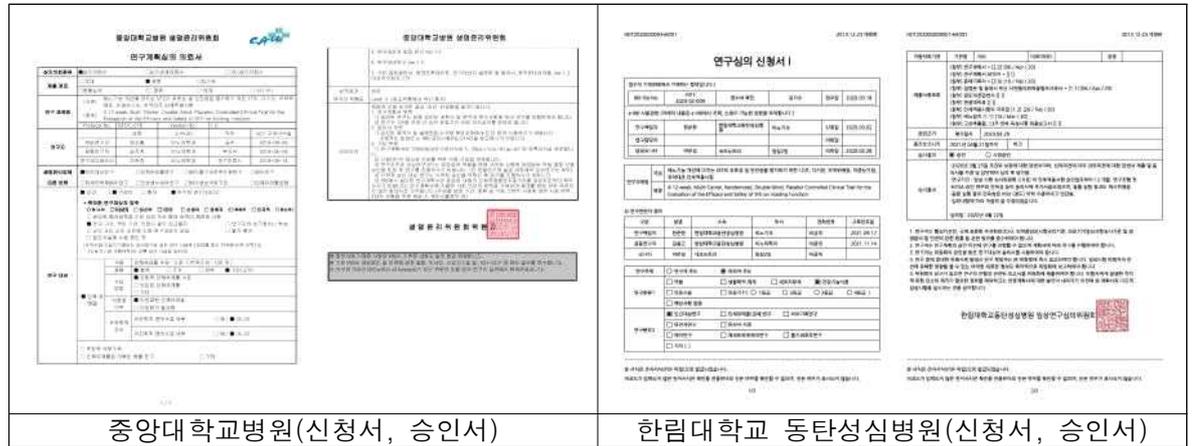
다) 프로토콜 IRB 초기심의 업무

- 인체적용시험 실시기관(병원)의 IRB에 인체적용시험 개시를 위한 인체적용시험용 문서 및 초기심의 신청서류를 제작하여 제출하여 IRB 승인을 획득하였음
- 인체적용시험용 문서

<p>증례기록서(Case Report Form)</p>	<p>- 각각의 대상자 별로 인체적용시험 계획서에서 요구한 정보를 기록하여 인체적용시험 의뢰자에게 전달할 목적으로 개발된 문서</p>
<p>인체적용시험 대상자 동의서(Informed Consent Form)</p>	<p>- 대상자가 인체적용시험 참여 유무를 결정하기 전에 대상자 설명서를 통하여 인체적용시험과 관련된 모든 정보를 제공받고, 대상자 본인이 자발적으로 인체적용시험에 참여함을 확인하는 서명 및 서명일자가 포함된 문서</p>
<p>인체적용시험 대상자 모집 공고문</p>	<p>- 대상자가 합리적인 참여 결정을 위해 필요한 정보(인체적용시험의 명칭, 목적, 방법, 대상자 자격 및 선정기준, 의뢰자와 책임자의 성명·주소·연락처 및 예측 가능한 부작용에 관한 사항 등)를 이해하기 쉽고 정확하게 전달하도록 작성된 문서</p>
<p>인체적용시험 피해 보상 규약</p>	<p>- 대상자가 인체적용시험 참여로 인한 손상(인체적용시험 계획서에 따라 섭취한 인체적용시험용 식품 또는 인체적용시험 계획서에 따라 행해진 의학적 치료 과정 또는 개입으로 인한 손상)이 발생하였을 경우, 그 보상에 대한 사항을 규정하는 문서</p>
 <p>증례기록서</p>	 <p>대상자 동의 설명서</p>
 <p>대상자 모집 공고문 및 모집 포스터</p>	 <p>피해 보상 규약</p>



○ IRB 신청서 및 승인서



다. 인체적용시험 수행

가) 인체적용시험 개시모임(Initiation Meeting)

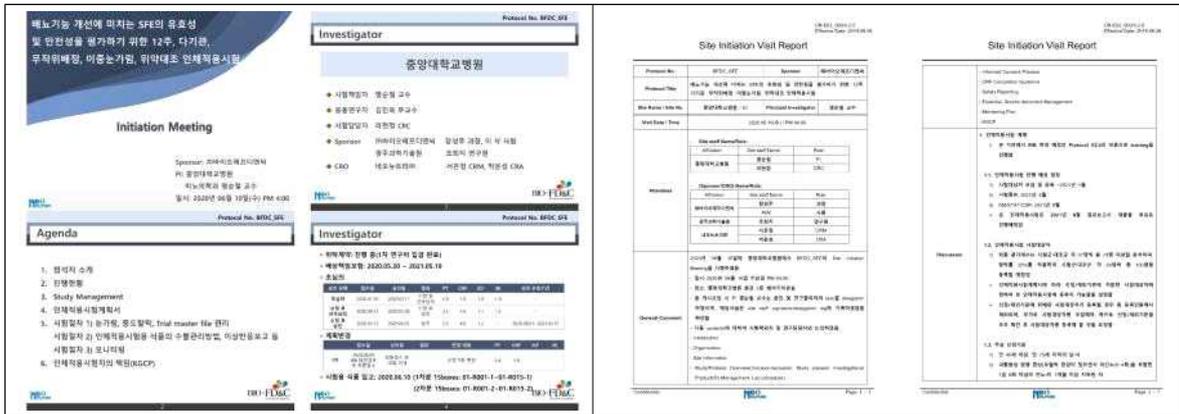
○ 연구 시작 전 인체적용시험 계획서 및 연구진행에 대한 발표 및 질의응답의 시간을 가지기 위한 연구 모임 진행

○ 개시모임 수행 업무

- ① 인체적용시험 계획서의 전반적 검토(선정/제외기준, 시험진행 절차, 시험식품 섭취, 무작위 배정 및 맹검법, 1차 유효성 평가변수 및 기타 자세한 사항들) 및 설명, 논의, 준수사항 (GCP설명)
- ② 시험 관련 문서 및 물품 등 필요한 자료 제공
- ③ 영상진단의학실 검사(임상병리실) 및 특수 컴퓨터 프로그램과 같은 전문적인 절차에 대한 지침 검토
- ④ Protocol, ICF, CRF, 복용일지 등에 대한 모든 질문사항 및 의문점들에 대한 논의
- ⑤ IRB승인 및 변경 사항 문서화
- ⑥ 시험 담당자의 역할과 책임
- ⑦ 향후 모니터링 SDV업무계획 소개 및 근거문서(Source Document)정의(모니터링 방문 간격, 모니터링 방문 시 CRC준비사항 등)
- ⑧ 이상반응 및 중대한 이상반응 등에 대한 보고 및 보고 절차
- ⑨ 의뢰자에게 관련 연구에 관한 최신 정보를 제공

- ⑩ 시험기관 내에서의 절차 및 이슈사항
- ⑪ 연구문서의 종류, 보관 및 사용방법 등에 대한 소개(동의서, 시험대상자 로그, 워크시트, 증례기록서, 수불대장, 처방전, 온도기록지 등의 작성법)
- ⑫ 시험에 사용되는 식품의 수불 일지 확인
- ⑬ 모든 연구 관련 교육 후의 교육기록 문서화
- ⑭ 시험 실시 전 확보되어야 할 기본 문서들 확인, Investigator Site File(ISF) 검토(기록의 보관) 및 ISF보관 기본문서 설명
- ⑮ 연구자파일 및 약국파일 업데이트(추후 발송되는 뉴스레터 와 IRB 관련 변경 및 승인사항, Material 인수증 등)

○ 개시모임 발표자료 및 보고서



나) 대상자 등록 및 검사 진행(실시기관)

- 프로토콜 일정에 따라 목표 대상자 수가 등록될 때까지 병원 내/외 광고 등을 통해 인체적용 시험 대상자 모집을 실시하고, 검사를 진행
- 인체적용시험 진행 일정

Period		Screening	Active Treatment		
Visit		1	2	3	4
Week ¹⁾		-2	0	6	12
Window period(day) ²⁾				±7	±5
서면 동의서		○			
인구학적 조사 ³⁾		○			
생활습관 조사 ⁴⁾		○			○
병력 및 약물투여력 조사 ⁵⁾		○	○		
이학적검사		○		○	○
신체계측 ⁶⁾	신장	○			
	체중	○		○	○
활력징후(혈압, 맥박) 측정		○		○	○
임상병리검사 ⁷⁾		○			○
임신반응검사 ⁷⁾		○			
심전도검사 ⁸⁾		○			○
혈중 PSA 검사 ⁹⁾		○			○
TRUS ^{9,10)}		○			

유효성 평가	배뇨량, 배뇨빈도, 절박뇨, 요실금 빈도 ¹¹⁾	일지 배부	○	○	○	
		일지 확인		○	○	○
	요속검사(최대, 평균)			○	○	○
	초음파 잔뇨검사		○		○	○
	OAB-V8			○	○	○
	IPSS ⁹⁾			○	○	○
	IIEF-5 ⁹⁾			○	○	○
	hs-CRP, Estradiol			○		○
	urine NGF, urine PGE, urine ATP ¹²⁾					
식사지도 및 식이조사 ¹³⁾			○	○	○	
인체적용시험 대상자 적합성 평가		○	○			
무작위배정			○			
인체적용시험용 식품 처방			○	○		
이상반응 확인				○	○	
순응도 확인 ¹⁴⁾				○	○	
병용약물 및 병용요법 확인				○	○	
자가평가 설문					○	
<p>1) 방문1 이후 2주일 이내에 방문2가 시행되어야 한다. 방문1의 검사가 누락된 경우에는 방문 2 무작위배정 전까지 실시할 수 있다. 방문2는 방문1 이후 3일간의 배뇨일지가 확인된 후에 진행 가능하다.</p> <p>2) 방문3의 방문일은 지정된 날짜 전·후 7일을 허용하며, 방문4의 방문일은 지정된 날짜 전·후 5일을 허용한다.</p> <p>3) 방문1에 인체적용시험 대상자의 이니셜, 성별, 생년월일, 연령을 조사하여 기록한다.</p> <p>4) 방문1, 4에 흡연여부, 음주여부, 운동여부, 스트레스 정도, 카페인 섭취습관에 관한 설문을 실시한다.</p> <p>5) 방문1, 2에 방문1 기준으로 3개월 이내의 외과적 수술력을 포함한 병력과 약물투여력을 조사하여 기록한다.</p> <p>6) 방문1에서 신장, 체중을 측정하고, 방문3, 4에서 체중을 측정한다.</p> <p>7) 인체적용시험 대상자는 채혈하기 전 8시간 금식상태로 내원하여 다음의 항목을 검사한다. 방문1 기준 2주 이내의 검사결과가 있다면 적용 가능하며(임신반응검사 제외), 시험자의 판단에 따라 비정상적인 결과에 대하여 재검사를 실시할 수 있다.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 혈액학적 검사: RBC, WBC, Hb, Hct, Platelet, Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil • 혈액화학적 검사: AST(GOT), ALT(GPT), γ-GTP, Total Protein, Albumin, Glucose, Total bilirubin, Na, K, Cl, Creatinine, BUN, Uric acid, Total Cholesterol, Triglyceride, HDL-Cholesterol, LDL-Cholesterol • 뇨검사: SG, pH, Nitrite, Protein, Glucose, Ketone, Urobilinogen, Bilirubin, RBC(Erythrocyte), WBC(Leukocyte) • 임신반응검사: Urine HCG(※ 가임기 여성만 해당) • 갑상선호르몬검사: TSH(※ 방문1에서만 시행) <p>8) 방문1 기준 1개월(30일) 이내의 검사 결과가 있다면 적용 가능하다.</p> <p>9) 혈중 PSA, TRUS 및 IPSS, IIEF-5 평가는 남성의 경우에만 실시한다.</p> <p>10) 방문1 기준 12개월 이내 TRUS 또는 복부골반 CT 검사결과가 있을 시 추가 검사 없이 적</p>						

- 용 가능하다(단, 검사 이후 5ARI 제제를 3개월 이상 사용한 경우는 적용이 불가하다.).
- 11) 방문1, 2, 3에 인체적용시험 대상자에게 배뇨일지를 배부하고, 방문2, 3, 4에 회수하여 확인한다.
 - 12) 방문2, 4에 배뇨기능 관련 요증 지표 검사를 위해 소변 5mL을 채취하여 냉동보관 후 분석하며, 검체는 분석 후 폐기한다.
 - 13) 방문2에서는 하루 전날 섭취한 식사를 24시간 회상법으로 인체적용시험 대상자 또는 인체적용시험 코디네이터가 기록하며, 방문2, 3에 인체적용시험 대상자에게 식이조사지를 배부하고, 방문3, 4에 회수하여 확인한다. 또한 시험기간 동안 고삼 관련 식품을 복용하지 않도록 교육한다.
 - 14) 방문3, 4에 인체적용시험 대상자가 지참하고 온 인체적용시험용 식품의 잔량을 확인하여 인체적용시험 코디네이터가 점검 및 기록한다('인체적용시험용 식품 처방 날~다음 방문 전날' 섭취).

○ 인체적용시험 대상자 등록 및 검사 완료

Site Name	Planned Enrollment	Screened	S/F	Randomized (%)	Dropped	Completed
중앙대학교병원	34	19	4	15(44%)	0	15
한림대학교 동탄성심병원	66+2	91	7	84(127%)	6	78
합계	100+2	110	11	99(99%)	6	93
FPE(First Patient Enrollment)	중앙대학교병원(2020.10.12), 한림대학교 동탄성심병원(2020.07.07)					
LPO(Last Patient Out)	중앙대학교병원(2021.04.26), 한림대학교 동탄성심병원(2021.06.08)					

다) 인체적용시험 모니터링

- 시험 대상자의 권리와 복지를 보호하기 위한 인체적용시험 모니터링 실시
- 보고된 인체적용시험 관련 자료가 근거문서(Source Documents)와 대조하여 정확하고 (accurate) 완전하며(complete) 검증이 가능한지(verifiable) 확인
- 모니터링 실시내용

- ① 시험책임자가 시험기간 동안 안전하고 적절하게 인체적용시험을 수행할 자격이 있고 자원을 확보하고 있는지 여부 확인
- ② 인체적용시험에 사용되는 시험식품에 대한 다음 사항의 확인
 - 저장조건의 적절성, 섭취기간의 준수 여부 및 이들 시험식품이 인체적용시험을 실시하기에 충분한지의 여부
 - 선정기준을 만족하는 대상자에게만 시험계획서에 명시된 섭취기간, 섭취방법대로 사용되고 있는지의 여부
 - 대상자가 인체적용시험에 사용되는 시험식품의 적절한 섭취·보관·반납에 관한 정보를 제공받는지의 여부
 - 실시기관에서 인체적용시험에 사용되는 시험식품의 인수 또는 섭취, 의뢰자로의 회수 등이 적절히 관리되고 문서화되는지의 여부
- ③ 시험자가 승인된 시험계획서 또는 시험변경계획서를 준수하고 있는지 여부 확인
- ④ 대상자가 인체적용시험에 참여하기 이전에 동의서가 얻어졌는지의 여부 확인
- ⑤ 시험자가 인체적용시험을 적절히 실시하고 이 기준에서 정한 사항을 준수하기 위하여 필요

한 최신의 인체적용시험자 자료집 및 문서, 인체적용시험에 사용되는 시험식품을 포함한 그 밖의 공급품을 수령하였는지의 여부 확인

- ⑥ 시험자가 인체적용시험의 제반 사항을 충분히 숙지하고 있는지의 여부 확인
- ⑦ 시험자가 특정한 인체적용시험 관련 기능을 시험계획서 및 의뢰자와 실시기관의 장 또는 시험책임자와 합의한 문서에 따라 수행하고 있으며, 권한이 없는 자에게 이러한 기능이 위임되지 않았다는 사실의 확인
- ⑧ 시험책임자가 선정기준에 적합한 대상자만을 인체적용시험에 참여시키고 있는지의 여부 확인
- ⑨ 대상자 모집 현황에 대한 보고
- ⑩ 근거문서 및 그 밖의 인체적용시험 관련 기록이 정확하고 완전하며 최신 사항이 반영되도록 유지되고 있는지의 여부 확인
- ⑪ 시험책임자가 인체적용시험에 필요한 모든 보고서, 통지서, 신청서 등을 적절히 제공하고 있으며, 이러한 문서들을 통해 해당 인체적용시험을 확인할 수 있고 또한 그 기록이 정확하고 적절하며, 읽기 쉽고, 날짜가 기재되어 있는지 여부 확인
- ⑫ 증례기록서상의 기재 내용, 근거문서 및 그 밖의 인체적용시험 관련 문서의 정확성과 완전성에 대한 검토와 이들의 상호대조로부터 서로 일치하는지의 여부 및 다음 각 사항에 대한 확인
 - 계획서에서 요구한 자료가 증례기록서에 정확히 기재되었거나 보고되고 있으며, 근거문서와 일치하는지 여부
 - 섭취기간이나 섭취방법 등의 변동사항이 각 대상자별로 적절히 문서화되고 있는지의 여부
 - 대상자가 지키지 못한 방문검사, 실시하지 않은 실험실 검사 또는 임상 검사 등에 대하여 증례기록서상에 사실대로 명확하게 기재되었거나 보고되고 있는지의 여부
 - 인체적용시험으로부터 대상자가 탈락하거나 탈퇴한 모든 사실이 증례기록서 상에 기재되었거나 보고되고 그 이유가 설명되었는지의 여부
 - 증례기록서의 기재오류, 누락사항과 판독하기 어려운 부분에 대하여 시험책임자에게 알리고, 이러한 사항에 대한 정정·첨가·삭제 등이 적절하게 이루어졌는지, 날짜와 그 사유(필요한 경우)가 기재되어 있는지, 시험책임자 또는 시험책임자를 대신하여 증례기록서상의 기재사항에 대한 변경권한을 가진 시험담당자가 서명을 하였는지 등의 확인
 - 모든 이상반응이 인체적용시험 계획서, 심사위원회, 의뢰자 및 관련규정에 명시된 기간 내에 적절하게 보고되었는지의 여부 확인
 - 시험책임자가 기본문서를 보존하고 있는지의 여부 확인
 - 인체적용시험 계획서, 표준작업지침서에서 정한 사항을 준수하지 않은 것에 대해 시험책임자에게 알리고, 이러한 미 준수 사항이 재발되지 않도록 하는 적절한 조치

○ 모니터링 실시내역

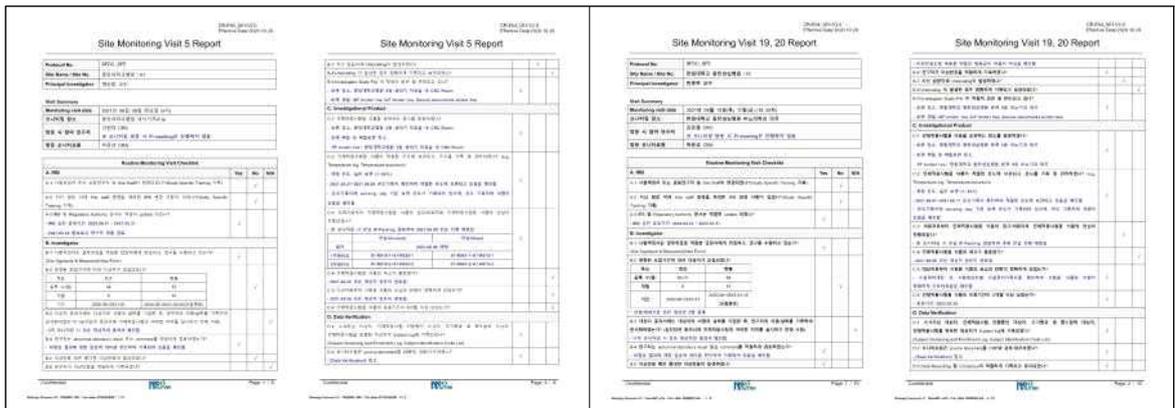
실시기관	회차	실시일자
중앙대학교병원	1	2020.10.26
	2	2021.04.06
	3	2021.04.26
	4	2021.05.11
	5	2021.06.08
한림대학교 동탄성심병원	1	2020.07.24
	2	2020.09.25
	3,4	2020.10.14~15

	5,6	2020.11.26~27
	7,8	2020.02.03~04
	9,10	2021.02.25~26
	11	2021.04.02
	12,13	2021.05.20~21
	14,15	2021.05.25~26
	16	2021.06.01
	17,18	2021.06.03~04
	19,20	2021.06.10~11

○ KGCP 규정에 의거한 모니터링 보고서 작성

- ① 모니터링을 실시한 날짜 및 장소
- ② 모니터요원의 이름 및 시험자 또는 접촉한 사람의 이름
- ③ 모니터요원이 확인한 사항의 요약
- ④ 임상적으로 의미있는 발견 또는 사건
- ⑤ 인체적용시험 계획서, 의뢰자 표준작업지침서, 실시기관 표준작업지침서 및 이 기준을 위반한 사항 또는 인체적용시험의 문제점
- ⑥ 결론
- ⑦ 인체적용시험 계획서, 의뢰자 표준작업지침서, 실시기관 표준작업지침서 및 이 기준을 위반한 사항이 재발되지 않도록 조치한 사항 및 조치가 필요한 사항

○ 모니터링 보고서



라) 연구상황 보고서(Monthly Report) 작성

- 인체적용시험 관련자들의 상호 정보 공유를 위한 연구 상황 보고서(Monthly Report)를 작성
- 주요내용

- ① 전반적인 연구 Set-up 현황(계약, 미팅, IB, IP, 실시기관 선정, IRB 초기심의, vendor, e-CRF 완료 등)
- ② 시험 대상자 등록 예정기간
- ③ 시험 대상자 등록 현황(표)
- ④ 모니터링 진행 현황
- ⑤ IRB 진행 현황
- ⑥ 시험 대상자 모집광고 진행 현황 등

○ 연구상황 보고서



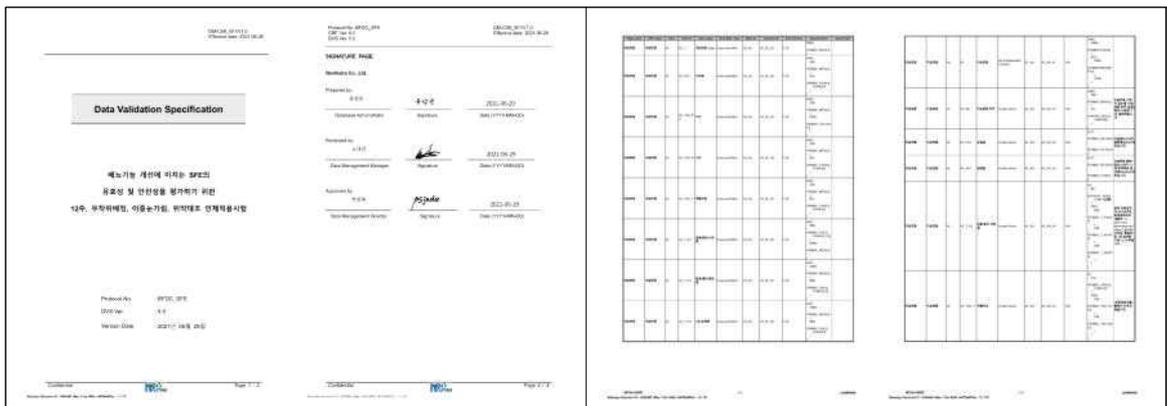
라. 인체적용시험 Data Management 및 통계분석

가) EDC(Electronic Data Capture) System 및 전자증례기록서(e-CRF; electronic-Case Report Form) 구축

- 데이터의 실시간 입력 및 수정, Audit Trail 관리, 사용자 정의 DVS(Data Validation Specification) 기능 등을 갖춘 EDC System 및 e-CRF를 도입, 구축하였음.

나) DVS(Data Validation Specification)

- 쿼리(Query;질의)항목(CRF로 수집해야 하는 자료 중 계획서·CRF 작성 지침에 위반되거나 수집되어야 할 자료의 누락 또는 수집된 자료 간의 일치하지 않는 항목 등)을 사전정의 및 목록화하는 과정으로서, Data의 무결성을 최대화하고, 높은 수준의 Data Quality를 이끌어내기 위한 Validation 작업 실시



다) DMP(Data Management Plan) 작성

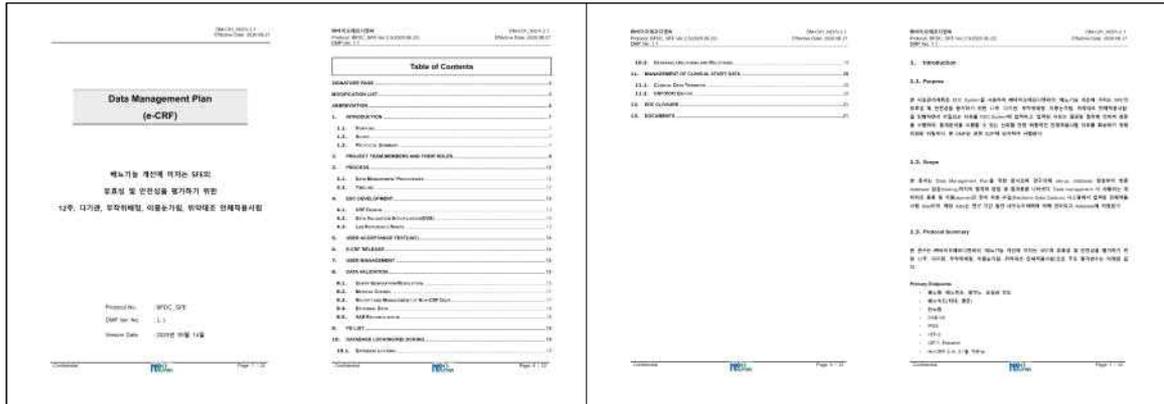
- 질 높은 데이터를 제공하고, 분석 목적을 달성하기 위해 시행되는 일련의 Data Management 과정을 계획하여 문서화

○ DMP 구성

- ① Signature Page
- ② Modification List
- ③ Abbreviation
- ④ Protocol Summary
- ⑤ Project Team Members and Their Roles
- ⑥ Data Flow
- ⑦ Data Management System
- ⑧ Data Validation
- ⑨ Medical Coding

- ⑩ Database Quality Check(DBQC)
- ⑪ Database Locking/Unlocking
- ⑫ Management of Clinical Study data (Transfer, backup 등)
- ⑬ Archiving

○ DMP



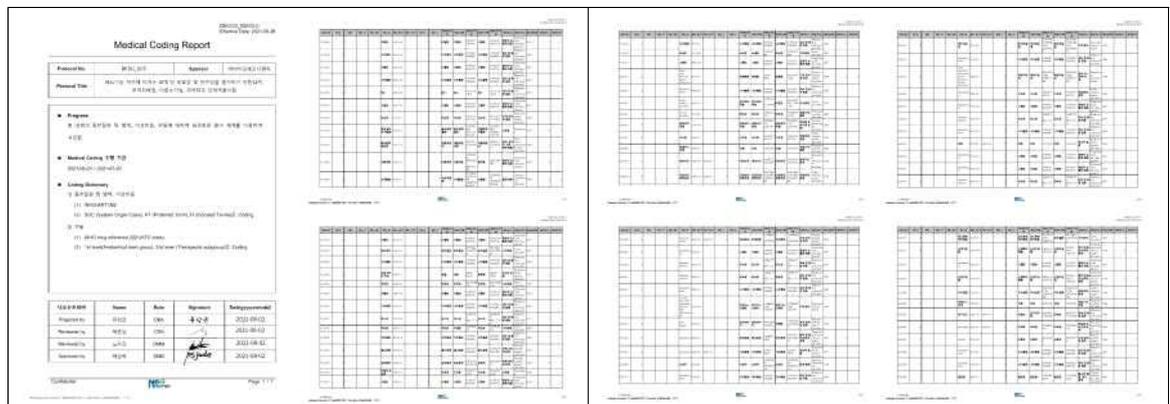
라) Medical Coding

○ 인체적용시험 과정에서 수집된 이상반응, 병력, 약물에 대한 자료를 표준용어체계를 이용하여 일괄된 용어로 선택함으로써 자료저장, 검색, 분석, 표현을 용이하게 할 뿐만 아니라 자료의 활용도를 높이고, 신속하고 정확한 정보교환을 가능케 함.

○ Coding Dictionary

이상반응, 동반질환 및 병력, 수술력	MedDRA ver.23.0 이상	의학정보의 분류를 지원하기 위해 설계된 새로운 국제적 의학 용어사전으로 ICH에 의해 개발되고 MedDRA MSSO의 의해 관리됨
약물투여력(선행약물)	WHO drug reference 2021(ATC code)	작용기관 및 계통에 따라 약물의 화학적, 약학적, 치료적 특성에 따라 서로 다른 그룹으로 분류되는 약물 분류코드이며 WHO부작용 모니터링 센터에서 ATC시스템에 제정, 개정 관리 개발됨.

○ Medical Coding Report



마) DB Locking

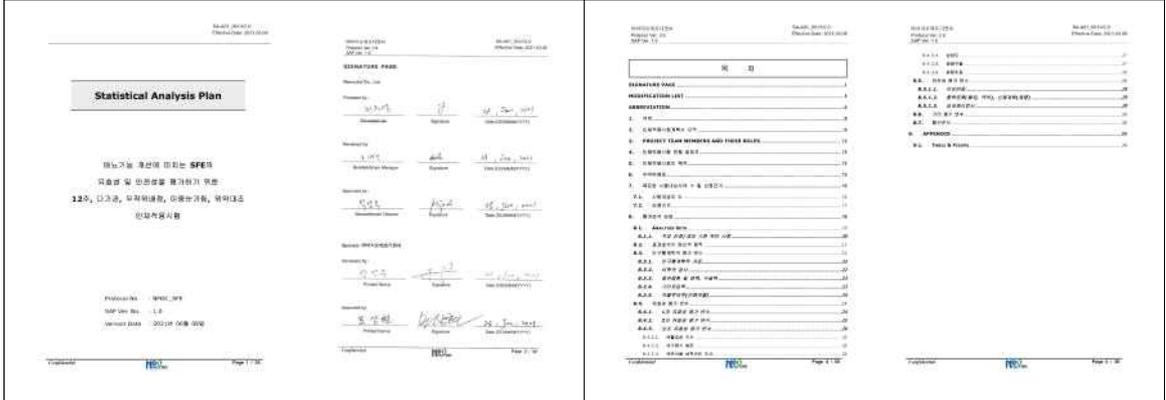
○ DB Locking(잠금)은 Data Management 업무의 완료단계로서, Data Cleaning을 확인하고 사전에 정해진 절차에 따라 데이터베이스를 잠그는 과정을 의미

○ 관련자들의 Data 접근 권한을 제한하여 분석이 가능한 Data로 생성하고, 완료된 Data를 저

장, 보관하며, 인체적용시험 Data의 결과도출, 분석, 제출과정의 무결성(Data Integrity)을 확보

바) SAP(Statistical Analysis Plan) 작성

- 인체적용시험 계획서에 기술된 평가변수들에 대한 통계 분석의 주요한 특성 및 방법을 보다 기술적이고 상세하게 포함한 통계분석 계획 작성
- SAP



사) 통계분석 실시

<p>유효성 평가 변수</p>	<p>1) 1차 유효성 평가 변수 - 1차 유효성 평가 변수인 배뇨빈도의 섭취 전후 변화에 대한 군내 비교는 Paired t-test를 이용하여 분석하고, 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가하였음. 또한 다음의 변수(연령, 고혈압, BMI, 스트레스, 흡연, 카페인)를 공변량으로 하는 GLM(Generalized Linear Model)을 실시하며, 기저특성 중 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 존재하는 경우 해당 변수를 공변량으로 고려하여 GLM을 실시하였음.</p> <p>2) 2차 유효성 평가 변수 - 2차 유효성 평가 변수인 배뇨량, 질박뇨, 요실금 빈도, 배뇨속도(최대, 평균), 잔뇨량, OAB-V8, OABSS, IPSS, IIEF-5, Estradiol, hs-CRP, urine NGF, urine PGE, urine ATP의 섭취 전후 변화에 대한 군내 비교는 Paired t-test를 이용하여 분석하고, 각 시점에서의 시험군과 대조군 간의 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가하였음. 또한 다음의 변수(연령, 고혈압, BMI, 스트레스, 흡연, 카페인)를 공변량으로 하는 GLM(Generalized Linear Model)을 실시하며, 기저특성 중 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 존재하는 경우 해당 변수를 공변량으로 고려하여 GLM을 실시하였음.</p>
<p>안전성 평가 변수</p>	<p>1) 이상반응 - 인체적용시험용 식품 섭취 후 발생한 모든 이상반응을 도표화한 후 발생률을 산출하여 평가하였음. 각 군간 이상반응이 발생한 인체적</p>

	<p>용시험 대상자의 비율을 계산하고 카이제곱검정(Chi-square test) 또는 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 이용하여 비교 분석하였음.</p> <p>2) 활력징후(혈압, 맥박), 신체계측(체중) - 활력징후(혈압, 맥박), 신체계측(체중) 검사치에 대하여 섭취 전후 변화에 대한 군내 비교는 Paired t-test를 이용하여 분석하고, 시험군과 대조군 간의 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가하였음.</p> <p>3) 임상병리검사(혈액학적/혈액화학적검사, 뇨검사) - 혈액학적 및 혈액화학적 검사치와 같이 연속형(Continuous type)자료의 섭취 전후 변화에 대한 군내 비교는 Paired t-test를 이용하여 분석하고, 시험군과 대조군 간의 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가하였음. 뇨검사는 정상과 비정상으로 나누어 McNemar test를 실시하여 군내 차이를 비교하였음.</p> <p>4) 심전도검사 - 심전도검사 결과는 임상적 유의성에 따라 정상과 비정상으로 나누어 McNemar test를 실시하여 군내 차이를 비교하였음.</p> <p>5) 혈중 PSA - 혈중 PSA 검사치에 대하여 섭취 전후 변화에 대한 군내 비교는 Paired t-test를 이용하여 분석하고, 시험군과 대조군 간의 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가하였음.</p> <p>6) FSH - FSH 검사치에 대하여 섭취 전후 변화에 대한 군내 비교는 Paired t-test를 이용하여 분석하고, 시험군과 대조군 간의 변화의 정도는 정규성 만족 여부에 따라 Two sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test를 실시하여 통계적으로 유의한 차이가 있는지 평가하였음.</p>
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

마. 인체적용시험 결과보고서 작성 및 IRB 승인

가) 인체적용시험 결과보고서 작성 및 IRB 승인

- 인체적용시험 종료 결과 및 통계분석에 따른 결과를 근거로 결과보고서를 작성하고 IRB 승인을 득하였음.

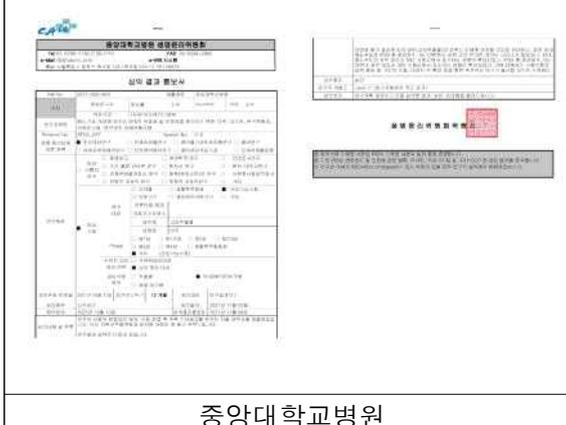
(유효성 및 안전성 평가 변수에 대한 통계분석 결과(p-value 포함)는 인체적용시험 결과보고서 참조)

- 수록문서

- ① 최종 승인된 인체적용시험 계획서
 - ② 최종 승인된 인체적용시험자 자료집(Investigator's Brochure)
 - ③ 시험 대상자 동의서 및 설명문
 - ④ 증례기록서 사본
 - ⑤ 인체적용시험 심의에 대한 IRB status
 - ⑥ 인체적용시험계획 변경 및 종료 심의의뢰서, 승인통지서
 - ⑦ 무작위배정표
 - ⑧ 인체적용시험 책임자 서명
 - ⑨ 시험대상자 일람표(인구학적 정보, 복용전 특성, 복용 순응도, 병용약물, 유효성 평가결과, 안전성 평가결과)
- 인체적용시험 결과보고서

 <p style="text-align: center;">인체적용시험 결과보고서</p>	 <p style="text-align: center;">Investigator's Brochure</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

○ IRB 승인서

 <p style="text-align: center;">중앙대학교병원</p>	 <p style="text-align: center;">한림대학교 동탄성심병원</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

바. 인체적용시험 결과 및 결론

- 본 인체적용시험의 시험식품인 SFE는 고삼추출물로서, 고삼은 방광염로 인하여 소변을 잘 못 보고 통증이 있을 때 사용하기도 함. 또한, SFE(고삼추출물)를 사용한 동물시험에서 배뇨량 및 배뇨횟수가 감소됨을 확인함으로써 배뇨 장애 개선 효과를 확인하였음. 이에 본 인체적용시험에서는 배뇨기능이 저하된 성인 남녀를 대상으로 SFE(고삼추출물)의 12주간의 섭취가 배뇨기능 개선에 미치는 유효성 및 안전성을 확인하고자 하였음.
- 배뇨량 평가 결과, 섭취 12주 후 시험군 대비 대조군에서 감소하여 통계적으로 유의한 차이가 나타났으나($p=0.0255$, PP set) 시험식품의 개선 효과는 아니었음.
- 최대 배뇨속도에서 섭취 12주 후 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았으나, 대조군($p=0.3997$, PP set) 대비 시험군($p=0.0773$, PP set)에서 증가하는 경향이 확인되었음. IPSS 총 증상점수 (시험군: $p=0.0723$, 대조군: $p=0.0665$, PP Set)와 hs-CRP

(시험군: p=0.6395, 대조군: p=0.8585, PP Set) 역시 섭취 12주 후 섭취 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았으나, 대조군 대비 시험군에서 감소하는 경향이 확인되어 SFE의 배뇨기능에 대한 개선 효과를 예측할 수 있었음.

- 그 밖에 배뇨빈도, 절박뇨 빈도, 요실금 빈도, 평균 배뇨속도, 잔뇨량, OAB-V8, OABSS, IIEF-5 총점 및 개별문항 점수, Estradiol, Urine NGF, Urine PGE, Urine ATP 분석에서는 섭취 군간 유의한 차이가 나타나지 않았음.
- 인체적용시험 기간동안 안전성 평가를 위해 시행된 이상반응 평가에서 시험군과 대조군에서 각각 12건의 이상반응이 발생하였음. 이 중 중대한 이상반응은 대조군에서 1건이었으나, 시험자에 의해 인체적용시험용 식품의 인과관계는 '명확히 관련이 없음'으로 판단되었음. 또한, 이상반응으로 인한 중도 탈락자는 시험군과 대조군 모두에서 없었음.
- 발생한 이상반응 중, 본 인체적용시험용 식품과의 관련성을 배제할 수 없는 이상반응은 대조군에서 '관련 있을 가능성 있음'으로 판단된 1건(상복부불쾌감)이었으며, 관련조치 및 교정치료 없이 완전치유되었음을 확인하여 이는 일시적인 현상이었을 것으로 사료됨.
- 안전성 평가 항목 중 뇨검사에서 Glucose는 대조군에서 섭취 전후 통계적으로 유의한 차이가 나타났으나, 시험자에 의해 임상적 의미는 없는 것으로 판단됨. 이외의 혈액학적/혈액화학적 검사, 뇨검사, 활력징후(혈압, 맥박), 신체계측(체중), 심전도 검사에서 섭취 12주 후 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았음.
- 결론적으로 안전성 평가 결과에 따라 SFE(고삼추출물)의 섭취는 인체에 안전할 것으로 판단됨. 또한 최대 배뇨속도와 IPSS 총 증상점수, hs-CRP에서 섭취 군간 유의한 차이는 나타나지 않았으나, 최대 배뇨속도의 경우 대조군 대비 시험군에서 증가하는 경향이 확인되었고, IPSS 총 증상점수, hs-CRP의 경우 대조군 대비 시험군에서 감소하는 경향이 확인되었음. 이에 대해서는 시험식품의 섭취 용량 및 기간의 조절, 대상자 수 확대 등을 통한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료됨.

사. 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청

가) 식품의약품안전처 개별인정형 건강기능식품 기능성원료 신청서 작성 및 신청 완료

○ 제출문서

- ① 제출자료 전체의 총괄 요약본
- ② 기원, 개발경위, 국내/외 인정 및 사용현황 등에 관한 자료
- ③ 제조방법 및 그에 관한 자료
- ④ 원료의 특성에 관한 자료
- ⑤ 기능성분(또는 지표성분)에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑥ 유해물질에 대한 규격 및 시험방법에 관한 자료
- ⑦ 안전성에 관한 자료
- ⑧ 기능성내용 및 그에 관한 자료
- ⑨ 섭취량, 섭취시 주의사항 및 그 설정에 관한 자료
- ⑩ 의약품과 같거나 유사하지 않음을 확인하는 자료

○ 신청서

3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Direct activation of the large-conductance calcium-activated potassium channel by flavonoids isolated from <i>Sophora flavescens</i>	Biological Pharmaceutical Bulletin	Sojung Lee	41(8)	Japan	The Pharmaceutical Society of Japan	SCI	2018-08-01	0918-6158	50%
2	고삼 추출물의 과민성 방광에 미치는 효과 및 급성독성 연구	약학회지	이현준	63(5)	대한민국	사단법인 대한약학회	비SCI	2019-09-18	0377-9556	100%
3	고삼뿌리 추출물 내 kurarinone, oxymatrine, matrine 분석 방법 검증	한국화장품미용학회지	장성주	10(1)	대한민국	한국화장품미용학회지	비SCI	2020-06-26	2733-919X	100%
4	Kurarinone 함량이 풍부한 고삼추출물의 자외선 차단에 의한 피부세포 보호 효과	한국화장품미용학회지	백승혜	11(1)	대한민국	한국화장품미용학회지	비SCI	2021-06-15	2234-330x	100%
5	Identification and characterization of a novel large-conductance calcium-activated potassium channel activator, CTIBD, and its relaxation effect on urinary bladder smooth muscle.	Molecular Pharmacology	Narasaem Lee	99	US	The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics	SCI	2020-11-11	1521-0111	50%
6	Synthesis and BK channel-opening activity of 2-amino-1,3-thiazole derivatives	Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	Xiao-Lei Qi, Heeji Jo	43	UK	Elsevier Ltd.	SCI	2021-04-23	0960-894X	50%
7	<i>Sophora flavescens</i> extracts have therapeutic effects on overactive bladder syndrome by potentiation of large-conductance calcium-activated potassium channel	Natural Product Sciences	Heeji Jo	27(3)	ROK	The Korean Society of Pharmacognosy	비SCI	2021-09-12	1226-3907	100%

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2018 Experimental Biology (ASBMB Annual Meeting)	Jisun Han	2018-04-22	San Diego Convention Center, San Diego, California	USA
2	2018 추계약학회	이현준	2018-10-18	제주, ICC	대한민국
3	2018 KPS (한국생리학회)	박철승	2018-10-26	강원도 원주시 오크밸리 리조트	대한민국
4	2019 한국이온통로연구회	이나라섬	2019-01-08	KIST 강릉분원 과학기술연수원	대한민국
5	2019 Experimental Biology (ASBMB Annual Meeting)	Narasaem Lee	2019-04-09	Orange County Convention Center, Orlando, Florida	USA
6	2019 춘계약학회	이현준	2019-04-26	서울	대한민국
7	한국생체분자과학연합학술대회	이나라섬	2020-01-09	광주, GIST	대한민국
8	2021년 (사)한국응용생명화학회 국제학술대회	장성주, 모상현	2021-08-23	라마다프라자 제주호텔	대한민국

9	KSBMB International eConference 2020	Heeji Jo	2020-09-21~23	online	ROK
10	KSMCB International Conference 2021	Heeji Jo	2021-11-03~05	Jeju ICC, Jeju	ROK

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	Composition for BK _{Ca} channel activation	미국	Chul-Seung Park	2018-09-04	16082257					50%	미활용
2	과민성 방광 예방 또는 치료용 조성물	대한민국	광주과학기술원	2021-06-24	10-2021-0082553					100%	미활용

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
1	√					√				

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 제안 또는 인증 중 해당되는 사항을 기재합니다.

* 3) 신규 또는 개정 중 해당되는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

- * 1, 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2, 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3, 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	양도	고삼유래 물질을 이용하여 방광 배뇨기능개선제를 만드는 기술	(주)바이오에 프디엔씨	2017-12-27	100,000,000원	100,000,000원

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	기술이전	신제품 개발	국내	고삼추출물	고삼추출 물의 화장품 원료화	(주)바이 오에프 디엔씨	1,330	-	2018	10년
2	기술이전	신제품 개발	국내	에델리안올 리고펩타이 드에센스	고삼추출 물을 함유한 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	28,950	-	2018	10년
3	기술이전	신제품 개발	국내	수랑미스트	고삼추출 물을 함유한 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	5,040	-	2018	10년
4	기술이전	신제품 개발	국내	나인프리 펩타 부스터	고삼추출 물을 함유한 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	2,025	-	2018	10년
5	기술이전	신제품 개발	국내	셀바이오 - 나인프리 펩타 부스터	고삼추출 물을 함유한 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	6,075	-	2019	10년
6	기술이전	신제품 개발	국내	조이앤코퍼 레이션 - 사라퀸 펩타 부스터	고삼추출 물을 함유한 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	10,000	-	2019	10년
7	기술이전	신제품 개발	국내	피코테라 - 셀톡스 퍼스트 앰플	고삼추출 물을 함유한 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	4,500	-	2019	10년

8	기술이전	신제품 개발	국내	인큐브 스텝 특스 페이스 애플	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	8,640	-	2019	10년
9	기술이전	신제품 개발	국내	본트리 블룸독스 아이크림	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	6,600	-	2019	10년
							5,280	-	2020	10년
10	기술이전	신제품 개발	국내	CORE 530 Ampoule	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	4,575	-	2019	10년
11	기술이전	신제품 개발	국내	셀링앰 셀특스 퍼스트 애플	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	4,500	-	2020	10년
12	기술이전	신제품 개발	국내	메디코이 바이오 세이프 핸드 리프레쉬 젤	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	29,500	-	2020	10년
13	기술이전	신제품 개발	국외 (러시아)	Via Namma Renewal Cream	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	-	3,954.6	2020	10년
14	기술이전	신제품 개발	국내	어메이징스 토리 앰플	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	29,875	-	2020	10년
15	기술이전	신제품 개발	국내	그레이스앤 어니스트 (#26 토너)	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	9,015	-	2020	10년
16	기술이전	신제품 개발	국내	그레이스앤 어니스트 (#32 토너)	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	7,695	-	2020	10년
17	기술이전	신제품 개발	국내	그레이스앤 어니스트 (#41 오일토너)	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	16,500	-	2020	10년
18	기술이전	신제품 개발	국내	드림영 외음부 수딩겔	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	25,600	-	2020	10년
19	기술이전	신제품 개발	국내	락희만 블라썸 리프레쉬 미스트(3종)	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	27,272	-	2020	10년
20	기술이전	신제품 개발	국내	메디코이 바이오 세이프 멀티 프로텍션 미스트	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오에프 디엔씨	11,250	-	2020	10년
21	기술이전	신제품 개발	국내	올리셀 섬유아세포 배양액 더셀 미스트	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	6,600	-	2020	10년
22	기술이전	신제품 개발	국내	퀵수리	고삼추출 물함유 제형 개발	(주)바이 오 에프디 엔씨	20,200	-	2020	10년

23	기술이전	신제품 개발	국내	퀵탱	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	14,245	-	2020	10년
24	기술이전	신제품 개발	국내	키텍스 마스크팩 시그니처 화이트	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	1,758	-	2020	10년
25	기술이전	신제품 개발	국내	피코테라 L-Care	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	9,800	-	2020	10년
26	기술이전	신제품 개발	국내	쓰리페이지 오버나이트 트리트먼트 펩타이드 세럼	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	12,775	-	2021	10년
							4,650			
27	기술이전	신제품 개발	국내	쓰리페이지 오버나이트 트리트먼트 펩타이드 크림	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	26,775	-	2021	10년
							13,980			
28	기술이전	신제품 개발	국내	쓰리페이지 올데이 트리트먼트 펩타이드 세럼	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	12,565	-	2021	10년
							4,320			
29	기술이전	신제품 개발	국내	쓰리페이지 올데이 트리트먼트 펩타이드 크림	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	24,990	-	2021	10년
							12,450			
30	기술이전	신제품 개발	국내	오그램 AC 크림	고삼추출물 함유 제형 개발	(주)바이오 에프디 엔씨	13,300	-	2021	10년
							7,920			

- * 1, 기술이전 또는 자기실시
- * 2, 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3, 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
고삼추출물	2018	1,330	-	1,330	
에델리안올리고펩타이드에센스	2018	28,950	-	28,950	
수량미스트	2018	5,040	-	5,040	
나인프리 펩타 부스터	2018	2,025	-	2,025	
셀바이오 - 나인프리 펩타 부스터	2019	6,075	-	6,075	
조이앤코퍼레이션 - 사라퀸 펩타 부스터	2019	10,000	-	10,000	
피코테라 - 셀텍스 퍼스트 앰플	2019	4,500	-	4,500	
인큐브 스킴 톡스 페이스 앰플	2019	8,640	-	8,640	
본트리 볼륨톡스 아이크림	2019	6,600	-	6,600	
본트리 볼륨톡스 아이크림	2020	5,280	-	5,280	
CORE 530 Ampoule	2019	4,575	-	4,575	
셀링앰 셀텍스 퍼스트 앰플	2020	4,500	-	4,500	
메디코이 바이오 세이프 핸드 리프레쉬 젤	2020	29,500	-	29,500	
Via Namma Renewal Cream	2020	-	3,954.6	3,954.6	
어메이징스토리 앰플	2020	29,875	-	29,875	
메디코이 바이오 세이프 멀티 프로텍션 미스트	2020	11,250	-	11,250	
락히만 블라썸 리프레쉬 미스트(3종)	2020	27,272	-		

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
드림영 와이존 수딩겔	2020	25,600	-	25,600	
인큐브 스템 톡스 페이스 앰플	2020	3,429			
퀵탱(수분밤)	2020	14,245	-	14,245	
올리셀 섬유아세포배양액 더셀 미스트	2020	6,600	-	6,600	
피코테라 L-Care(시술용-140 kg)	2020	9,800	-	9,800	
퀵수리(새살패드)	2020	20,200	-	20,200	
키투스 마스크팩 시그니처 화이트	2020	1,758	-	1,758	
그레이스앤어니스트(#26 토너)	2020	9,015	-	9,015	
그레이스앤어니스트(#32 토너)	2020	7,695	-	7,695	
그레이스앤어니스트(#41 오일토너)	2020	16,500	-	16,500	
오그램 AC 크림 (아크네 크림)	2021	21,220	-	21,220	
본트리 볼룸톡스 아이크림	2021	18,480	-	18,480	
쓰리페이지 올데이 트리트먼트 펩타이드 크림	2021	37,440	-	37,440	
쓰리페이지 오버나이트 트리트먼트 펩타이드 크림	2021	40,755	-	40,755	
쓰리페이지 올데이 트리트먼트 펩타이드 세럼	2021	16,885	-	16,885	
쓰리페이지 오버나이트 트리트먼트 펩타이드 세럼	2021	17,425	-	17,425	
드림영 와이존 수딩겔	2021	9,600	-	9,600	
퀵탱(수분밤)	2021	8,280	-	8,280	
합계		470,339	3,954.6	443,592.6	

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내			
	국외				
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획				
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출				

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)				합계
			2018년	2019년	2020년	2021년	
1	신규 고용	(주)바이오프디엔씨	1	3	2	4	10
2	신규 고용	네오뉴트라(주)	2	0	0	0	2
합계			3	3	2	4	12

□ 고용 효과

구분		고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력	
		생산인력	
	개발 후	연구인력	
		생산인력	

비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/ 수입

[사회적 성과]

법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	학위	2018		1				1				1	
2	신규취업	2018	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
						1		1	1				
3	학위	2020	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
				1				1				1	

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	중앙일간지	한국경제	바이오프디엔서, 이온채널 표적 방광배뇨 개선제 공동 연구 진행	2021-06-04

포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

[인프라 성과]

연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

--

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

--

<참고 1> 연구성과 실적 증빙자료

성과유형	첨부자료 예시
연구논문 7건	논문 사본(저자, 초록, 사사표기)을 확인할 수 있는 부분 포함, 연구개발과제별 중복 첨부 불가)
지식재산권 2건	산업재산권 등록증(또는 출원서) 사본(발명인, 발명의 명칭, 연구개발과제 출처 포함)
제품개발(시제품) 30건	제품개발사진 등 시제품 개발 관련 증빙자료
기술이전 1건	기술이전 계약서, 기술실시 계약서, 기술료 입금 내역서 등
사업화 30건 (상품출시, 공정개발)	사업화된 제품사진, 매출액 증빙서류(세금계산서, 납품계약서 등 매출 확인가능 내부 회계자료) 등
품목허가	미국 식품의약국(FDA) / 식품의약품안전처(MFDS) 허가서
임상시험실시	임상시험계획(IND) 승인서

<참고 2> 국가연구개발혁신법 시행령 제33조제4항 및 별표 4에 따른 연구개발성과의 등록·기탁 대상과 범위

구분	대상	등록 및 기탁 범위
등록	논문	국내외 학술단체에서 발간하는 학술(대회)지에 수록된 학술 논문(전자원문 포함)
	특허	국내외에 출원 또는 등록된 특허정보
	보고서원문	연구개발 연차보고서, 단계보고서 및 최종보고서의 원문
	연구시설·장비	국가연구개발사업을 통하여 취득한 3천만 원 이상 (부가가치세, 부대비용 포함) 연구시설·장비 또는 공동활용이 가능한 모든 연구시설·장비
	기술요약정보	연차보고, 단계보고 및 최종보고가 완료된 연구개발성과의 기술을 요약한 정보
	생명자원 중 생명정보	서열·발현정보 등 유전체정보, 서열·구조·상호작용 등 단백질체정보, 유전자(DNA)칩·단백질칩 등 발현체 정보 및 그 밖의 생명정보
	소프트웨어	창작된 소프트웨어 및 등록에 필요한 관련 정보
	표준	「국가표준기본법」 제3조에 따른 국가표준, 국제표준으로 채택된 공식 표준정보[소관 기술위원회를 포함한 공식 국제표준화기구(ISO, IEC, ITU)가 공인한 단체 또는 사실표준화기구에서 채택한 표준정보를 포함한다]
기탁	생명자원 중 생물자원	세균, 곰팡이, 바이러스 등 미생물자원, 인간 또는 동물의 세포·수정란 등 동물자원, 식물세포·조직 등 식물자원, DNA, RNA, 플라스미드 등 유전체자원 및 그 밖의 생물자원
	화합물	합성 또는 천연물에서 추출한 유기화합물 및 관련 정보
	신품종	생물자원 중 국내외에 출원 또는 등록된 농업용 신품종 및 관련 정보

2) 목표 달성

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 고삼추출물의 배뇨장애 개선 전 임상 효력연구	○ In vitro 시험을 통해 고삼추출물이 인간 방광 평활근의 칼륨통로의 개방 확인 및 in vivo 시험을 통해 랫드에 고삼추출물 투여시 단회투여 및 반복투여 연구 결과 소변 횟수의 감소를 확인함.	○ 100
○ 고삼추출물의 성인병 개선 작용 기전 연구	○ 전기생리학 기법을 이용하여 고삼추출물 유효성분들의 BK _{Ca} 채널 활성화능과 특성을 확인함.	○ 100
○ 고삼추출물의 기능성식품 개발 연구	○ 고삼추출물의 독성시험 및 인체적용시험을 통해 안전성 및 미투여군에 비해 배뇨횟수 감소의 기능성을 확인함.	○ 100
○ 고삼추출물 유효성분의 발견	○ 고삼의 유효성분인 쿠라리논을 통해 기능성 및 지표성분 설정 및 품질관리에 필요한 분석법 검증을 완료함.	○ 100
○ 고삼추출물 유효성분을 이용한 신약개발 기반구축	○ 추출방법 설정 및 추출시 일정한 양의 유효성분 함유량 유지를 위한 표준화 방법을 확립함. 본 방법을 식품에 사용 불가한 다양한 용매로 추출하는 추출 방법에 응용함. 투여량 증가를 토대로 약리작용 확인하여 천연물신약으로 개발 가능성을 확인함.	○ 100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 기제시한 정성적 목표는 달성하였으나, 아래 부분에 대한 정량적 계획은 미달성 되었음.
 - SCI논문(계획 4, 실적 3)
 - : SCI 논문 1편이 현재 수정(revision) 중인 바 계획을 달성할 수 있을 것으로 예상하며, 비SCI 논문은 초과(계획 2, 실적 4) 게재하였음.
 - 특허등록(계획 1, 실적 0)
 - : 2건의 출원 특허는 현재 심사중이며, 조속한 등록이 이루어질 수 있도록 노력 및 대응 중임.
 - 제품수출(계획 100, 실적 4 (백만원))
 - : 고삼추출물 첨가 제품의 개발(계획 1, 실적 30 (건)) 및 국내 매출(계획 300, 실적 470 (백만원))은 크게 초과 달성하였으나, 제품의 수출은 대외 환경으로 지연되고 있음. 팬데믹 상황의 개선에 따라 제품의 수출증가를 기대함.
 - 교육지도(계획 1, 실적 0)
 - : 예상치 못한 코로나 팬데믹 상황으로 기업 등을 대상으로한 교육지도가 원활치 못했으며, 향후 본 연구개발 성과에 대한 교육지도를 지속할 계획임.
-

2) 자체 보완활동

- 특허등록
 - 해외특허 1건 출원완료 (PCT/KR2017/002291, 2018-12-14) : 심사 대기 중임.
 - 국내특허 1건 출원완료 (10-2021-0082553, 2021-06-25) : 후속연구 진행 중임.
 - 제품수출 확대
 - 무역 전문교육을 통한 전문인력양성 : 중소기업청, KOTRA, 무역협회 등에서 지원하는 무역전문인력교육을 통한 무역실무능력을 배양을 통해 제품 수출에 대한 해외시장 진출의 기회 향상을 도모함.
 - 해외 거대 기업의 당사 지분참여를 통한 수출 루트 마련 : 스위스에 상장되어 있는 프랑스 기업이 본사 주식의 10% 가량을 지분으로 참여해 있고, 이에 해당 업체를 통하여 고삼추출물 소재 등의 수출 주도를 기획 중임.
 - 해외사업파트너를 이용 : 태국(TF Cosmetology 社), 인도(GgeneX 社), 중국(Siyanli 社, Shanghai Previne 社), 홍콩(SEAU 社), 대만(RENATI BIOTECH 社, Campson 社), 일본(GINZA TOMATO 社, TOA KASEI 社), 말레이시아(BEAUBELLE WORLDWIDE SDN BHD社), 태국(Agilent Resources 社, NADEV CHMIE 社), 스페인(Provital Group 社) 및 미국(Derma Lucia 社)를 활용하여 해외 시장 진출 시도함.
-

3) 연구개발 과정의 성실성

-
- 본 연구진은 지난 4년간 본 사업의 목표를 달성하기 위해 제시한 연구개발을 성실하게 수행하였음.
 - 전혀 예상치 못한 바이러스 팬데믹 상황에서도 본 연구진은 본연의 위치(실험실, 사무실, 공장 및 병원 등)에서 계획한 연구와 개발, 데이터 분석, 인체적용 시험 및 자료 정리 등을 차질없이 수행하였음.
 - 그 결과로 논문 및 학술발표, 특허출원, 기술이전, 제품화와 판매, 고용창출, 인력양성, 전임상 시험 및 기능성 원료 인정 신청 등을 달성하였음.
-

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 칼륨통로인 BK_{Ca} 채널 활성화 효능을 가진 플라보노이드 구조체를 최초로 확보함으로써, BK_{Ca} 채널 활성화인자 개발 기반을 확보함.
 - 쿠라리논이 작용하는 BK_{Ca} 채널 활성화 자리를 탐색할 수 있는 자료를 확보함.
 - 기존의 기작과 다른 BK_{Ca} 채널 활성화라는 새로운 방식으로 배뇨장애 개선에 대해 접근함.
 - 소수성 성질을 가진 활성성분을 확보하기 위한 추출 방법을 개발함.
 - 물질의 특성에 맞는 추출법을 개발할 수 있는 발판을 마련함.
 - 특히 용매를 치환하여 다회에 거쳐 추출하는 방법을 표준화함.
 - 지표물질의 분석을 통한 최종 제품에서의 품질관리를 위해 원재료로부터 규격을 설정하는 근거를 제시함.
 - 배뇨장애 개선 관련하여 합성의약품이 아닌 천연물신약으로 개발 가능성을 확인함.
 - 인체적용시험을 통한 고삼추출물이 배뇨기능 개선에 미치는 유효성 및 안전성을 확인함.
-

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 쿠라리논 및 유도체의 BK_{Ca} 채널 활성화능 분석 자료를 이들의 작용자리를 탐색하는 데에 활용할 예정이다. 이온 채널의 활성화 기작을 분자수준에서 연구함으로써 신약개발연구에 학술적으로 기여할 것으로 기대함.
- 식품으로 생산시 원료부터 제품에 이르기까지 품질관리에 활용할 예정임. 특히 생산 완료 후 부적합이 나올 경우 막대한 시간과 비용과 인력이 낭비되기에 원재료 규격 설정을 통한 관리 및 선별을 통해 낭비되는 비용이 없도록 사전에 예방할 수 있음.
- 고삼 원재료 수급은 충북 옥천군과 협의를 통해 고삼의 대규모 재배 계약을 진행할 예정임. 추출물 생산은 경방신약(주)에서, 완제품 제형은 (주)노바렉스에서 생산하도록 계약이 된 상태이며, 판매 및 판로를 위해 (주)셀트리온, (주)노바렉스, CJ(주), 광동제약(주), 경방신약(주) 등과 접촉을 하여 현재 협상중임. 판매사가 정해지면 해당 판매사의 유통망을 통해 시장에 진입할 계획임.
- 팬데믹 상황 종료 후 (주)바이오에프디엔씨의 거래처인 Atlas R&D社(캐나다), GgeneX社(인도), TF Cosmetology社 / NADEV CHMIE社(태국), Givaudan社(프랑스), Siyanli社 / Shanghai Previne社(중국), SEAU社(홍콩), RENATI BIOTECH社 / Campson社(대만), GINZA TOMATO社 / TOA KASEI社(일본), BEAUBELLE WORLDWIDE SDN BHD社(말레이시아), Provital Group社(스페인), Derma Lucia社(미국)를 활용하여 해외 시장 진출 시도할 계획.
- 고삼 이외에 다양한 식물 원료로부터 추출물 기능성식품, 화장품 원료 및 기타 추출 식품 개발시 물질의 특성에 맞는 추출방법 개발에 활용할 계획임. 특히 활성 성분의 특성에 맞는 추출법 연구시 본 추출법을 응용할 수 있음.
- 고삼추출물의 배뇨 개선 기능 관련하여 세포 및 동물시험에서 이를 확인하였고, 현재 개선된 생산 방법으로 추출하여 다시 독성 시험을 진행중인 바, 독성시험 후 증가된 섭취 용량으로 인체적용시험을 재실시 하여 본 기능을 입증할 계획임. 이 결과를 바탕으로 식약처에 건강기능식품 개별인정형 원료 신청을 다시 진행할 예정.
- 천연물 유래인 천연물신약을 개발하는 기초 데이터로 활용할 예정임. 특히 합성의약품의 거부감을 뛰어넘고, 천연물(식물) 유래인 안전성이 확보된 약의 개발에 본 기술을 접목하여 천연물 신약의 개발 가능성을 시사함.
- 본 연구를 통해 고삼이 배뇨기능 개선에 효능이 있다는 점을 확인한 바, 제약에 사용 가능한 다양한 용매 또는 공정을 통한 추출 방법을 현재 연구중에 있으며, 이 중 가장 효능이 높은 공정을 통한 천연물 신약을 개발중에 있음. 특히 제약 관련 연구 및 허가에 필요한 ADME, pharmacodynamics, pharmacokinetics 등의 pharmacological action 및 toxicokinetics를 확인하기 위해 본 과제를 같이 진행한 삼육대 연구팀과 협의중에 있음. 삼육대 연구팀과의 협업 이후 KIT, 켐온, 바이오톡스텍 등의 GLP 독성기관을 통한 약물 안정성을 확인할 계획. 또한, 본 과제를 진행하면서 고삼 추출물 성분에 대한 profiling을 진행하였고, 이 연구 결과를 바탕으로 내용을 보완 및 확대하여 식약처에 IND 신청을 진행할 예정.
- 고삼 추출물의 새로운 제형으로 독성·임상시험을 통한 기능성 식품 또는 한시적 식품 허가 신청을 준비함.
- 현재 개선된 생산 방법으로 추출하여 (주)바이오톡스텍에 독성시험 새로 진행중이며, 독성 시험이 끝나는 대로 인체적용시험을 추가로 실시할 예정. 특히 독성시험 종료시점에는 팬데믹 상황이 끝날 것으로 예상되어 인체적용시험시 인원 모집이 수월할 것으로 판단되기에 이전 시험보다 훨씬 좋은 결과가 나올 것으로 기대함.

- 본 인체적용시험의 경험과 피드백을 후속연구의 대상자 선정기준 및 제외기준의 설정, 통계분석방법 등에 활용함.
- 본 연구개발결과를 바탕으로 연구종료 후 5년 동안 다음의 정량적 성과를 계획함.

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내
국외논문	SCIE	1
	비SCIE	-
	계	1
국내논문	SCIE	-
	비SCIE	-
	계	-
특허출원	국내	1
	국외	-
	계	1
특허등록	국내	-
	국외	1
	계	1
인력양성	학사	-
	석사	1
	박사	1
	계	2
사업화	상품출시	-
	기술이전	-
	공정개발	-
제품개발	시제품개발	-

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
2.	1)
	2)

자체평가의견서

1. 과제 현황

		과제번호	317070-4		
사업구분	농생명산업기술개발사업				
연구분야	식품 > 식품영양 > 식품영양		과제구분	지정공모	
사업명	농생명산업기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	국내산 고삼을 이용한 배뇨기능 개선 기능성 제품 개발		과제유형	(기초,응용,개발)	
연구개발기관	광주과학기술원 (주관) (주)바이오에프디엔씨 (협동) 네오뉴트라㈜ (위탁) 삼육대학교 (위탁)		연구책임자	박철승	
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	17.11.15 - 18.11.14	300,000	100,000	400,000
	2차년도	18.11.15 - 19.09.14	250,000	83,334	333,334
	3차년도	19.09.15 - 20.07.14	250,000	83,334	333,334
	4차년도	20.07.15 - 21.11.14	400,000	133,334	533,334
	계	17.11.15 - 21.11.14	1,200,000	400,002	1,600,002
참여기업	(주)바이오에프디엔씨 (협동) 네오뉴트라㈜ (위탁)				
상대국	없음	상대국연구개발기관	없음		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 :

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
광주과학기술원	교수	박철승

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확인하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

학 약	
-----	---------------------------------------------------------------------------------------

[별첨 1]

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 본 과제는 방광의 특정 이온채널을 활성화함으로써 배뇨기능을 개선할 수 있는 천연물을 국내산 식물에서 최초로 확인하고, 이를 바탕으로 '새로운 배뇨기능 개선제제'를 개발한 연구로서, 원료의 대량 재배, 제제의 추출 및 규격화, 기능성의 확인, 활성 기전의 규명, 전임상 및 임상 시험, 인증 신청 등 일련의 연구개발 과정 및 결과가 매우 우수하고 창의적으로 사료됨.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 본 과제의 결과는 학문적 및 산업적 파급효과가 지대하다고 평가함. 방광 이온채널인 BK_{Ca} 채널을 표적하는 새로운 천연물 및 추출물의 확보는 신규성 및 경쟁력 면에서 매우 우수함. 또한 이들 제제는 그 표적 및 활성기전이 분명하고 효능 및 안정성이 확인되어 향후 배뇨기능 개선을 위한 새로운 기능성 식품 및 천연물 신약으로의 개발 및 상용화 가능성이 지대함. 노령화에 따라 유병률 및 유병 인구가 지속적으로 증가하고 있는 요실금과 과민성 방광 등의 배뇨기능 장애를 예방, 제어, 치료 및 극복함에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대함.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 본 과제의 결과로 요실금 및 과민성 방광에 대한 새로운 기능성 식품 및 천연물 신약의 기반을 구축하였음. 심각한 부작용 등으로 제어가 어려웠던 배뇨기능 장애에 대한 새로운 표적의 천연물 제제 도출 및 인정은 곧바로 기능성 제품으로 사업화될 수 있으며, 단일 성분을 활용한 천연물 신약 개발의 개발로 이어질 수 있음. 본 발명은 이미 기술이전이 이루어진 바 해당 기업의 후속 제품화 및 상용화가 기대됨.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 본 연구진은 지난 4년간 본 사업의 목표를 달성하기 위해 제시한 연구개발을 성실하게 수행하였음. 전혀 예상치 못한 바이러스 팬데믹 상황에서도 본 연구진은 각자의 위치(실험실, 사무실, 공장 및 병원 등)에서 계획한 연구와 개발, 데이터 분석, 인체적용 시험 및 자료 정리 등을 차질 없이 수행하였으며, 기대했던 연구개발 성과를 도출하였다고 자평함.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 본 과제를 통해 논문 7건(SCI 3건 비SCI 4건)을 발표하였으며, SCI 논문의 평균 IF는 3 점으로 우수함. 또한 국내외 최고 수준의 학술대회에 참가하여 10편의 논문을 포스터 형태로 발표·홍보하였음. 현재 2건의 특허가 출원 중이며, 그 내용 및 수준이 매우 우수하다고 판단함. 본 개발사항은 경제전문지인 한국경제를 통해 홍보되기도 하였음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
고삼추출물의 배뇨장애 개선 전임상 효력연구	20	100	전임상 효력 연구 완료
고삼추출물의 성인병 개선 작용기전 연구	20	100	추출물의 작용기전 규명
고삼추출물의 기능성식품 개발 연구	20	100	기능성식품의 공정 및 규격화 완료
고삼추출물 유효성분의 발견	20	100	추출물 내 유효성분 규명, 보고 및 지적재산권 청구 완료
고삼추출물 유효성분을 이용한 신약개발 기반구축	20	100	추출물 내 최대 함유량의 유효 단일물질(쿠라리논)의 규명 및 천연물 신약 개발 가능성 확인
합계	100	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 본 연구진은 팬데믹 속에서도 지난 4년간의 기초-개발-응용의 전과정을 성실하게 수행하여 계획한 목표를 성공적으로 달성하였으며, 본 과제를 통해 우수한 연구개발 결과와 전임상 및 임상 데이터, 공정 및 제품 등은 확보하였다고 평가함.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 본 과제를 통해 확보한 연구결과, 데이터 등은 향후 새로운 개념의 배뇨기능 개선 기능성 식품 및 천연물 신약 제제의 개발, 생산 및 판매로 이어질 것이며, 이에 따른 경제적 및 산업적 기여가 지대할 것으로 기대함.

IV. 보안성 검토

- 본 보고서에는 미공개 연구결과 및 데이터(비임상 및 임상) 등이 다수 포함되어 있어 일정 기간 대외비로 유지하여 줄 것을 요청함.

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

- 본 보고서에는 현재 진행 중인 기능성 원료 신청의 연구결과 및 데이터가 포함되어 있는 바 1년간 본 보고서 공개 유예를 요구함.

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

- 국가연구개발혁신법 시행령 제35조
 - ② 연구개발기관의 장은 다음 각 호의 어느 하나에 해당하는 경우에는 법 제17조제2항 단서에 따라 중앙행정기관의 장에게 연구개발성과 비공개의 승인을 요청할 수 있다.
 - 4. 연구개발기관의 장이 해당 연구개발성과에 대하여 지식재산권을 취득하려는 경우
 - ③ 제2항에 따른 요청을 받은 중앙행정기관의 장은 다음 각 호의 구분에 따른 기간의 범위에서 연구개발성과의 비공개를 승인할 수 있다.
 - 2. 제2항제4호부터 제7호까지의 규정의 어느 하나에 해당하는 경우: 1년 6개월 이내

*(참고) 국가연구개발혁신법 제17조 제2항

- ② 연구개발기관과 연구자는 연구개발과제 수행이 종료된 때에는 대통령령으로 정하는 바에 따라 해당 연구개발과제의 최종보고서 및 연구개발성과에 관한 정보를 공개하여야 한다. 다만, 연구개발과제가 제21조제2항에 따라 보안과제로 분류되거나 대통령령으로 정하는 바에 따라 중앙행정기관의 장의 승인을 받은 경우에는 공개하지 아니할 수 있다.

- 본 과제를 통한 연구개발 결과는 현재 지식 재산권(건강기능식품 기능성 원료 인정)을 취득하기 위한 절차가 진행 중으로, 국가연구개발혁신법 시행령 제35조 2항 4호 및 동법 시행령 제35조 3항 2호에 의거 1년간 최종 보고서의 비공개를 요청하는 것은 타당한 것으로 판단됨

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	식품 > 식품영양 > 식품영양	
연구과제명	국내산 고삼을 이용한 배뇨기능 개선 기능성 제품 개발			
주관연구개발기관	광주과학기술원		주관연구책임자	박철승
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	1,200,000,000	400,002,000		1,600,002,000
연구개발기간	2017. 11. 15 - 2021. 11. 14(4년 0개월)			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 고삼추출물의 배뇨장애 개선 전임상 효력연구	in-vitro 시험을 통해 고삼추출물이 인간 방광 평활근의 칼륨통로의 개방 확인. in-vivo 시험을 통해 랫드에 고삼추출물 투여시 단회투여 및 반복투여 연구 결과 소변 횟수의 감소를 확인.
② 고삼추출물의 성인병 개선 작용기전 연구	전기생리학 기법을 이용하여 고삼추출물 유효성분들의 BKCa 채널 활성화능과 특성을 확인함.
③ 고삼추출물의 기능성식품 개발 연구	고삼추출물의 독성시험 및 인체적용시험을 통해 안전성 확인 및 미투여군에 비해 배뇨횟수 감소의 기능성 확인.
④ 고삼추출물 유효성분의 발견	고삼의 유효성분인 쿠라리논을 통해 기능성 및 지표성분 설정 및 품질관리에 필요한 분석법 밸리데이션 완료.
⑤ 고삼추출물 유효성분을 이용한 신약개발 기반 구축	추출방법 설정 및 추출시 일정한 양의 유효성분 함유량 유지를 위한 표준화. 이러한 방법을 활용하여 식품에 사용 불가한 다양한 용매로 추출하는 추출 방법 응용. 투여량 증가를 토대로 약리 작용 확인하여 천연물신약으로 개발 가능성 확인.

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표											연구기반지표									
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용· 홍보		기타 (타연구 활용등) (%)	
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시		
													S C I	비 S C I							논 문 평 관 I F
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	5	10	-	-	10	10	10	10	5	10	-	-	-	10	5	5	-	10	-		
최종 목표	2	1	-	-	1	100	1	300	100	10	-	-	4	2	-	6	1	3	-	1	-
실적	2	0	-	-	1	100	30	837	4	12	-	-	3	4	3.0	10	0	3	-	1	-
달성률 (%)	100	0	-	-	100	100	100	100	4	100	-	-	75	100	-	100	0	100	-	100	-

[별첨 2]

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	지표물질의 분석을 통한 최종 제품에서의 품질관리를 위해 원재료로부터 규격을 설정
②	물질의 특성에 맞는 추출법을 개발할 수 있는 발판을 마련 / 특히 용매를 치환하여 다회에 거쳐 추출하는 방법을 표준화
③	배뇨장애 개선 관련하여 합성의약품이 아닌 천연물신약으로 개발 가능성 확인

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	v						v			
②의 기술	v						v			
③의 기술	v					v	v			

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	식품으로 생산시 원료부터 제품에 이르기까지 품질관리에 활용. 특히 생산 완료 후 부적합이 나올 경우 막대한 시간과 비용과 인력이 낭비되기에 원재료 규격 설정을 통한 관리 및 선별을 통해 낭비되는 비용이 없도록 사전에 예방.
②의 기술	고삼 이외에 다양한 식물 원료로부터 추출물 (기능성식품, 화장품 원료 및 기타 추출 식품) 개발시 물질의 특성에 맞는 추출방법 개발에 활용. 특히 활성 성분의 특성에 맞는 추출법 연구시 본 추출법을 응용.
③의 기술	천연물 유래인 천연물신약을 개발하는 기초 데이터로 활용. 특히 합성의약품의 거부감을 뛰어넘고, 천연물(식물) 유래인 안전성이 확보된 약의 개발에 본 기술을 접목하여 천연물 신약의 개발 가능성을 시사.

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표											연구기반지표									
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용· 홍보		기타 (타연구 활용등)	
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시		
													S C I	비 S C I							논 문 평 가 점 수
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	건	건				
가중치	5	10	-	-	10	10	10	10	5	10	-	-	-	10	5	5	-	10	-		
최종목표	2	1	-	-	1	100	1	300	100	10	-	-	4	2	-	6	1	3	-	1	-
연구기간내 달성실적	2	0	-	-	1	100	30	837	4	12	-	-	3	4	3.0	10	0	3	-	1	-
연구종료후 성과창출 계획	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	3	-	2	-	-	-

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.