

317041-5

맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 개별인정형 건강기능식품 개발

2021

농림식품기술기획평가원  
농림축산식품부

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

발간등록번호

11-1543000-004029-01

# 맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 개별인정형 건강기능식품 개발

2022. 04. 01

주관연구기관 / (주)제넨셀  
협동연구기관 / 경희대학교산학협력단  
동국제약(주)

농림축산식품부  
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 개별인정형 건강기능식품 개발”(개발기간 : 2017. 06. ~ 2021. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 04. 01

주관연구기관명 : (주)제넨셀 (대표자) 정 용 준 (인)

협동연구기관명 : 경희대학교 산학협력단 (대표자) 김 윤 혁 (인)

동국제약(주) (대표자) 오 흥 주 (인)

참여기관명 : (주)에이온엘에스 (대표자) 오제임스섭 (인)

주관연구책임자 : 정용준

협동연구책임자 : 강세찬

이계완

참여기관책임자 : 오제임스섭

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

## <첨부2> 최종보고서 표지 및 요약서(관리기준 별지 제 17호 참조)

최종보고서				보안등급					
				일반[√], 보안[ ]					
중앙행정기관명		농림축산식품부		사업명		고부가가치식품기술개발사업			
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원		내역사업명 (해당 시 작성)		기능성·전통식품			
공고번호		제 농축 2017-126호		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)					
				연구개발과제번호		317041-5			
기술분류	국가과학기술 표준분류	LA0906	80%	LC1102	20%	-	%		
	농림식품과학기술분류	PA0201	80%	PA0204	10%	PA0105	10%		
연구개발과제명		국문	맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 개별인정형 건강기능식품 개발						
		영문	Development of individual approved specific-health-functional food for alleviating premenstrual syndrome from complex of Hordei Fructus Germinatus						
주관연구개발기관		기관명	(주)제넨셀		사업자등록번호	475-86-00585			
		주소	(16950) 경기도 용인시 기흥구 흥덕중앙로 120		법인등록번호	134511-0299360			
연구책임자		성명	정용준		직위	대표이사			
		연락처	직장전화		휴대전화				
					국가연구자번호				
연구개발기간	전체 2017. 06. 15 - 2021. 12. 31 (4년 7개월)								
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금		합계		연구 개발 외 지원금	
	현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물		합계
총계	1,517,000	50,610	455,490	-	-	1,567,610	455,490	2,023,100	-
1년차	200,000	6,700	60,300	-	-	206,700	60,300	267,000	-
2년차	350,000	11,670	105,030	-	-	361,670	105,030	466,700	-
3년차	350,000	11,670	105,030	-	-	361,670	105,030	466,700	-
4년차	297,000	9,900	89,100	-	-	306,900	89,100	396,000	-
5년차	320,000	10,670	96,030	-	-	330,670	96,030	426,700	-
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고		
		역할	기관유형						
공동연구개발기관		경희대학교 산학협력단	강세찬	교수			공동	대학	
		동국제약(주)	이계완	연구 소장			공동	중견기업	
위탁연구개발기관		(주)에이온엘 에스	오제임스섭	대표 이사			위탁	중소기업	
연구개발담당자 실무담당자		성명	전혜린		직위	책임연구원			
		연락처	직장전화		휴대전화				
					국가연구자번호				

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

2022년 04월 01일

연구책임자: 정용준

주관연구개발기관의 장: (주)제넨셀 대표이사

공동연구개발기관의 장: 경희대학교 산학협력단장

공동연구개발기관의 장: 동국제약(주) 대표이사

위탁연구개발기관의 장: (주)에이온엘에스 대표이사

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

## < 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		고부가가치식품기술개발사업				총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		
내역사업명 (해당 시 작성)		기능성·전통식품				연구개발과제번호		317041-5
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LA0906	80 %	LC1102	20 %	-	%	
	농림식품 과학기술분류	PA0201	80 %	PA0204	10 %	PA0105	10%	
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		-						
연구개발과제명		맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 개별인정형 건강기능식품 개발						
전체 연구개발기간		2017. 06. 15 - 2021. 12. 31 (4년 7개월)						
총 연구개발비		총 2,023,100천원 (정부지원연구개발비: 1,517,000천원, 기관부담연구개발비 : 506,100천원)						
연구개발단계		기초[ ] 응용[ ] 개발[ <input checked="" type="checkbox"/> ] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[ ]			기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준( ) 종료시점 목표( <input checked="" type="checkbox"/> )	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)								
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)								
연구개발 목표 및 내용		<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 20%; text-align: center;"> <p>최종 목표</p> </div> <div style="width: 80%;"> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 소재 개발 및 월경전 상태개선 기능성 원료 인허가                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 뇌하수체 세포 증식 (세포보호, 세포독성 포함) 효능 및 prolactin 분비 억제 효능 소재 탐색에 따른 PMS 완화 후보소재 선정</li> <li>- 효능 및 문헌조사를 통한 최종 후보소재 도출</li> <li>- 후보소재의 원재료 (가공단계 포함) 표준화 확립 3건</li> <li>- 후보소재의 PMS 완화 유효성분 규명 및 지표성분 설정 3건 이상</li> <li>- 후보소재 혼합비율 설정, 지표성분 분석법 개발 및 함량 분석을 통한 원료 규격 설정                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>→ 복합원료의 표준화를 위한 공인기관 인증 1건</li> </ul> </li> <li>- 후보소재 및 복합원료, 유효/지표성분의 전임상 유효성 평가 및 작용기전 연구</li> <li>- 복합원료의 전임상 안전성 검증을 위한 GLP 기관 시험성적서 자료 확보</li> <li>- 복합원료의 PMS 완화 인체적용시험 1건</li> <li>- PMS 완화 복합소재의 표준화 및 기능성 자료 확보에 따른 월경전 상태개선 기능성 원료 신청</li> </ul> </li> <li>○ 월경전 상태개선 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 산업화                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 복합원료의 대량생산 기술 및 공정 개발 1건</li> <li>- 개별인정형 건강기능식품 제품화를 위한 제형 3건 개발</li> <li>- 기능성 원료 인증 후 PMS 완화 고부가가치 기능성 전략 상품 제품화 (종료 1차년도)</li> <li>- 본 과제를 통한 고용창출 2명 이상 확보</li> <li>- 월경전 상태개선 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 사업화 추진을 통한 누적 매출액 100억원 창출 (사업종료 후 3년 이내)</li> </ul> </li> </ul> </div> </div>						
전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 뇌하수체 세포 증식 (세포보호, 세포독성 포함) 효능 및 prolactin 분비 억제 효능 소재 탐색에 따른 PMS 완화 후보소재 선정                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 61종의 한약재 추출물에서 뇌하수체 세포 증식 효능을 나타내는 소재 4종과 prolactin 분비 억제 효능을 나타내는 소재 3종 도출 완료</li> </ul> </li> <li>○ 문헌조사 및 효능 검증을 통한 최종 후보소재 도출                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 후보소재 7종 중 육계와 계지를 계피로 묶어 6종의 소재에 대해 용</li> </ul> </li> </ul>						

매별 추출물을 제조하였으며, 각 추출물의 in vitro 효능 평가를 진행하여, 문헌조사와 동일한 3종의 소재 (노회, 구절초, 맥아)를 1차 개발 소재로 선정함

- 또한, 6종의 소재에 대해 성분조사를 실시하여, 각 소재별 주요성분 총 18종을 확보하고 효능을 측정하여 유효성분을 11종을 선정함

○ 후보소재의 원재료 표준화 확립

- 문헌조사와 병행하여 각 1차 선별 소재 3종 (노회, 구절초, 맥아)에 대한 정의, 특징, 확인시험법, 순도 시험법 기준 등의 규격을 확립

○ 1차 선정 소재의 제조공정 연구 및 혼합비율 설정

- 각 소재의 효능을 기반으로 알로에 30% EtOH, 맥아 50% EtOH, 구절초 70% EtOH로 추출하였으며, 각 lab scale 및 pilot scale 원료의 제조 재현성을 측정한 결과, 각 원료의 유사도가 0.9 이상인 것으로 확인되었음
- 각 원료의 혼합비율에 따른 효능 (prolactin 분비 억제 및 세포독성 평가)을 측정하여 1차 선정소재 3종의 혼합비율을 설정하고자 하였으며, 그 결과 맥아:구절초=1:1과 맥아:구절초:알로에=2:2:1 또는 2:2:0.5 비율에서 가장 우수한 효능이 나타남을 확인하였음
- 다만, 알로에 추출물의 경우, 알로에 특유의 수분함유로 인해 그 수율이 1% 미만으로 나오고, 혼합비율 설정 시 알로에 자체의 효능이 미비하다 사료되어, 산업화를 위한 최종 복합원료 소재 선정에서 알로에는 제외하였음

○ 최종 복합소재 및 원료의 혼합비율 설정

- 알로에를 제외한 맥아와 구절초를 복합소재로 최종 선정하고 각각 50%와 70% 주정으로 추출하였으며, 효능을 분석한 후 최종 혼합비율을 설정함 (맥아:구절초=1:1)
- 최종 원료 명칭: (국문) 맥아구절초추출복합물, (영문) Lomens-P0

○ 최종 복합소재의 가공단계 및 감별법 확립

- 맥아의 경우 오용/혼용의 가능성이 낮아 발아 및 가공 단계에서의 표준화 추진하여 최종 원재료 표준화를 확립함 (겉보리 4일 발아 후 50℃에서 48시간 건조)
- 구절초는 유통되고 있는 구절초와 3개의 농가에서 수집한 구절초를 대상으로 DNA 추출 후 ITS 부위를 증폭시켜 sequencing을 진행한 결과, 유통되고 있는 구절초는 가구절초로 감국, 산국 등 인 것으로 확인되었으며, 농가에서 수집한 구절초는 모두 진구절초로 판정되어 현재 2개의 농가 (정읍, 화순 농가)에서 구절초를 수집하여 사업화를 진행하고자 하고 있음

○ 후보소재의 PMS 완화 유효성분 규명 및 지표성분 설정

- 1차 선정된 유효성분 11종 중 구절초는 5종이었으며, 이 중 함량이 높은 esculletin과 chlorogenic acid를 지표성분 후보물질로 선정함 후 효능 및 함량 분석을 통해 최종 chlorogenic acid를 구절초 70% 주정추출물의 지표성분으로 설정함
- 맥아는 문헌조사와 효능 분석을 통해 1차 hordenine을 유효성분이자 지표성분 후보물질로 선정하였으나, 맥아 원재료 표준화 후 hordenine이 검출되지 않아 (prolactin 분비 억제 효능은 유사) LC-MS 분석, 효능 기반의 물질 분리 등을 통해 최종 tricin을 맥아 50% 주정추출물의 유효성분이자 지표성분으로 설정함

○ 개발원료의 대량생산 기술 및 공정 개발

- 맥아 및 구절초 추출물의 lab scale 원료 생산을 통한 제조 및 건조 방법 확립 완료
- 맥아주정추출분말 (맥아 50% 주정추출물) 및 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물)의 bGMP 대량생산을 통한 맥아구절초추출복합물 3 batch 대량 생산 완료

○ 개발원료의 지표성분 분석법 밸리데이션 및 표준화 확립

- 맥아주정추출분말과 구절초주정추출분말의 지표성분을 각각 chlorogenic acid와 tricin으로 선정하고, 이에 대한 분석법 밸리데이션과 표준화를 최종 개발원료인 맥아구절초추출복합물에서 실시

하여 공인기관인 한국기능식품연구원에서 인증함

○ 개발원료의 전임상 유효성 평가 및 작용기전 연구

- 도출된 1차 후보물질 6종에 대한 prolactin 분비 억제 및 세포독성 또는 뇌하수체 세포 증식 효과를 측정
- 맥아 및 구절초 추출물의 항염증, 항산화, prolactin 분비 억제 효과 및 도파민 수용체 활성화, estrogen 분비 억제 효과 검증
- 개발원료 맥아구절초추출복합물의 항염증, 세포 증식 효과, prolactin 분비 억제 효과, estrogen 분비 억제 효과 검증
- MCP 유도 고프로락틴 혈증 마우스 모델에서 맥아구절초추출복합물의 효능을 검증
- MCP 유도 고프로락틴 혈증 랫드 모델에서 맥아구절초추출복합물의 효능을 최종 검증

○ Back-up 소재 목향 추출물의 유효/지표성분 설정 연구 및 전임상 유효성 평가

- 목향 30, 50, 70% EtOH 추출물 제조 및 prolactin 분비 억제 효과 측정을 통한 추출 용매 선정 (최종 30% 및 50% EtOH 추출물)
- 문헌조사를 통한 주요 성분 2종 (costunnolide, dehydrocostus lactone)에 대하여 prolactin 분비 억제 효능을 측정한 결과 매우 우수한 억제 효능을 나타냄
- 목향 추출물에서 효능 기반의 물질 분리를 통해 유효/지표성분 분리 및 규명  
→ 최종 선정된 유효/지표성분: Syringin (Prolactin 분비 억제 효과 매우 우수)
- MCP 유도 고프로락틴 혈증 마우스 모델에서 목향 30% EtOH 추출물의 효능 검증
- MCP 유도 고프로락틴 혈증 랫드 모델에서 목향 50% EtOH 추출물의 효능을 검증

○ 개발원료의 전임상 안전성 검증을 위한 GLP 기관 시험성적서 자료 확보

- 맥아구절초추출복합물의 전임상 안전성 평가는 설치류 단회투여 독성시험, 2주 DRF 및 13주 반복투여 독성시험, 비설치류 단회투여 독성시험, 유전독성시험 3종을 실시하였으며, GLP 기관인 한국건설생활환경시험연구원에서 안전성을 검증하였음

○ 개발원료의 생리전증후군 (월경전 상태) 개선 인체적용시험

- 인체적용시험약은 전임상 효능을 근거로 맥아구절초추출복합물이 500 mg이 포함되게 제조하였으며 (일일섭취량 500 mg/day), 같은 형태의 위약을 제조하여 총 80명에게 (시험약 40명, 위약 40명) 3개월간 섭취시켰음
- 경도 및 중등도의 월경전 증후군이 있는 대상자가 맥아구절초추출복합물을 섭취했을 때 섭취 12주 후에 임상적, 통계적으로 유의미한 개선이 확인되었으며, 특히 시험약 섭취군의 DSR과 COPE 점수가 기저점 대비 섭취종료 시점에 월경전 증후군 증상의 경감을 의미하는 통계적으로 유의한 변화량을 나타냈음

○ PMS 완화 복합소재의 표준화 및 기능성 자료 확보에 따른 월경전 상태개선 기능성 원료 신청 (기능성 자료, 안전성 자료, 작용기전 확보 자료, 원료 표준화 자료, 인체적용시험 자료 통합 제출)

- 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물은 “월경전 변화에 의한 불편한 상태 개선에 도움을 줄 수 있음”의 기능성으로 식약처 사전검토를 완료하고, 과제 기간 내 기능성 원료 신청을 완료함 (접수번호: 20210701872, 신청번호: 7704209)

○ 맥아구절초추출복합물 함유 시제품 제형 연구 및 시제품 제작

- 맥아구절초추출복합물 500 mg 함유 캡슐 및 정제 제형 연구를 통한 최종 시제품 제형 확립 (정제로 개발)
- 용법 및 용량: 맥아구절초추출복합물 250 mg/정 (총 중량 500 mg/정), 일일 2정 섭취
- 수요자 니즈 기반의 제품 컨셉을 활용한 시제품 3건 제작

	<ul style="list-style-type: none"> <li>① 컨셉 1: 월경전 불편감 개선/긴장완화/혈행개선</li> <li>② 컨셉 2: 월경전 불편감 개선/활성산소 제거</li> <li>③ 컨셉 3: 월경전 불편감 개선/뼈건강</li> </ul> <p>○ 생리전증후군 완화 건강기능식품 개발을 위한 마케팅 전략 수립</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 원료의 효능, 시장 조사, 경쟁제품 현황 파악을 통한 마케팅 전략 수립</li> <li>- 10대부터 50대까지 가임기 여성 1,001명을 대상으로 한 설문조사를 통해 핵심 니즈 도출</li> </ul>
--	--

연구개발성과	특허출원 9건 및 특허등록 4건, SCI 논문 2편 게재, 학술발표 10건, 기술실시 1건, 제품화 3건, 고용창출 6명, 기술인증 1건, 인력양성 6명, 홍보전시 3건, 기타 2건
--------	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>1) 건강기능식품 제품화/산업화 활용방안 : 약 225억원/년 이상 매출 기대 (기술 안정화 시)</p> <p>가) 월경전 상태개선 개별인정형 건강기능식품의 제품군 : 100억원/년 이상 예상</p> <p>나) 기능성 원료(원료분말 형태) : 20억원/년 매출 예상 (원료 4톤 분량, 25만 세트 (1개월) 생산)</p> <p>다) 맥아 및 구절초 원재료 : 약 5억원/년 이상 매출 예상</p> <p>라) 국내 및 해외 기술이전 및 수출 : 동남아 등 해외 수출 (100억원/년 매출 기대)</p> <p>2) 본 연구개발 성과의 논문 투고 방안</p> <p>가) 종료 1차년도 3건</p> <p>나) 종료 2차년도 2건</p> <p>3) 본 연구개발에서 달성한 특허의 활용 방안</p> <p>가) 맥아구절초추출복합물의 국내 특허등록에 따른 활용방안</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 맥아 성분에 대한 생리전 증후군 완화 특허 등록 완료</li> <li>- 구절초 성분에 대한 생리전 증후군 완화 특허 등록 완료</li> <li>- 특허를 기반으로 기능성 원료 인정 시 국내 독점 사업화 개시</li> </ul> <p>나) 맥아구절초추출복합물의 해외 특허출원에 따른 활용방안</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 본 특허는 PCT 출원 후 건강기능식품 사업화를 진행할 9개 국가에 특허 출원 준비 중으로 현재 각국에 출원할 명세서를 작성하고 있음 (미국, 일본, 싱가포르, 말레이시아, 태국, 필리핀, 호주, 캐나다, 유럽 총 9개국)</li> </ul> <p>다) Back-up 소재 목향 추출물의 국내 특허등록 및 해외 특허 출원에 따른 활용방안</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 현재 추출공정 확립 및 유효성 평가 이외에 연구개발이 추진되고 있지는 않으나, 국내 특허 등록 및 PCT 출원을 완료하였으며, 미국과 일본에 기술이전 또는 직접 사업화를 위해 특허를 출원하여 과제 종료 후 후속 연구 또는 기술이전을 추진하고자 함</li> </ul> <p>4) 기능성 평가 가이드라인 범위 확대 및 시장 예측에 활용</p> <p>가) 전임상 유효성 검증 및 바이오 마커 활용</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 감마리놀렌산을 기준으로 확립되어 있는 식약처 기능성 평가 가이드라인에 본 연구개발 노하우를 건의하여 추가 시험범위 및 바이오마커 확대에 활용하고자 함</li> </ul> <p>나) 생리전 증후군 시장 예측에 활용</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 현재 감마리놀렌산의 경우 4가지 기능성을 포함하고 있고, 진통제 등 섭취하는 품목도 달라 시장예측이 사실상 어려우며, 가임기 여성 중 50% 정도가 생리전 증후군을 경험하고 있는 시장임을 감안할 때 잠재적 시장이 매우 클 것으로 사료됨</li> <li>- 따라서, 본 연구개발의 기능성과 안전성이 확보된 제품으로 시장 점유 및 이에 대한 시장을 예측하는데 활용할 수 있음</li> </ul> <p>5) 국산 원재료의 우수성 홍보 및 농가 소득에 기여</p> <p>가) 국산 맥아 및 구절초의 우수성 홍보</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 현재 맥아는 가공 방법이 다양하여 이를 위한 표준화 확립이 필요하며, 구절초는 유통되고 있는 대부분의 구절초가 가구절초임이 확인되어 본 연구개발 결과로 하여금 표준화된 맥아와 구절초 (진구절초)에 대한 우수성을 홍보하고자 함</li> </ul> <p>나) 국산 맥아 및 구절초 재배 농가 소득에 기여</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 본 연구의 결과로 국내 원료의 우수한 기능성을 인정받은 신소재 개발이 이루어질 것이며, 이는 농가의 소득은 물론 수입대체 및 수출효과 까지 기대가 가능함</li> <li>- 특히, 유통되고 있는 가구절초가 아닌 진구절초를 재배하는 농가의 경우 구절초</li> </ul>
---------------------------	---

	의 특수성 홍보가 가능하여 재배 농가의 소득 창출에 도움이 될 것으로 예상됨											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 해외 특허 출원 (2개 원료 총 11건) 및 추가 특허 출원 대비 비공개 요청</li> <li>▪ 기술 보호를 위한 공개 유보 요청 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2년 이상의 기술 안정화 및 사업화 구축 기간이 필요함</li> </ul> </li> </ul>											
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
	2	4										
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)	생리전 증후군		맥아		구절초		맥아구절초추출 복합물		기능성 원료			
영문핵심어 (5개 이내)	Premenstrual Syndrome		Hordei Fructus Germinatus		Chrysanthemi Zawadskii Herba		Lomens-P0		Functional materials			



## < 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	10
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용 .....	37
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도 .....	253
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성) .....	268
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도 .....	272
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획 .....	274

# 1. 연구개발과제의 개요

가. 연구개발 대상 및 기술·제품의 개요

1) 본 연구개발 기술은 국내식물자원으로부터 여성 생리전증후군 (premenstrual syndrome, PMS) 완화 개별인정형 건강기능식품 소재 개발 및 산업화로, 잠재적 산업화 가능성이 매우 높은 국내 식물자원을 대상으로 PMS 완화 효능을 전임상 시험과 인체적용시험을 통해 밝히고자 하며, 원료 기준 규격 등의 원료 표준화 확립을 통해 월경전 상태 개선 기능성 원료로 등재하고자 함

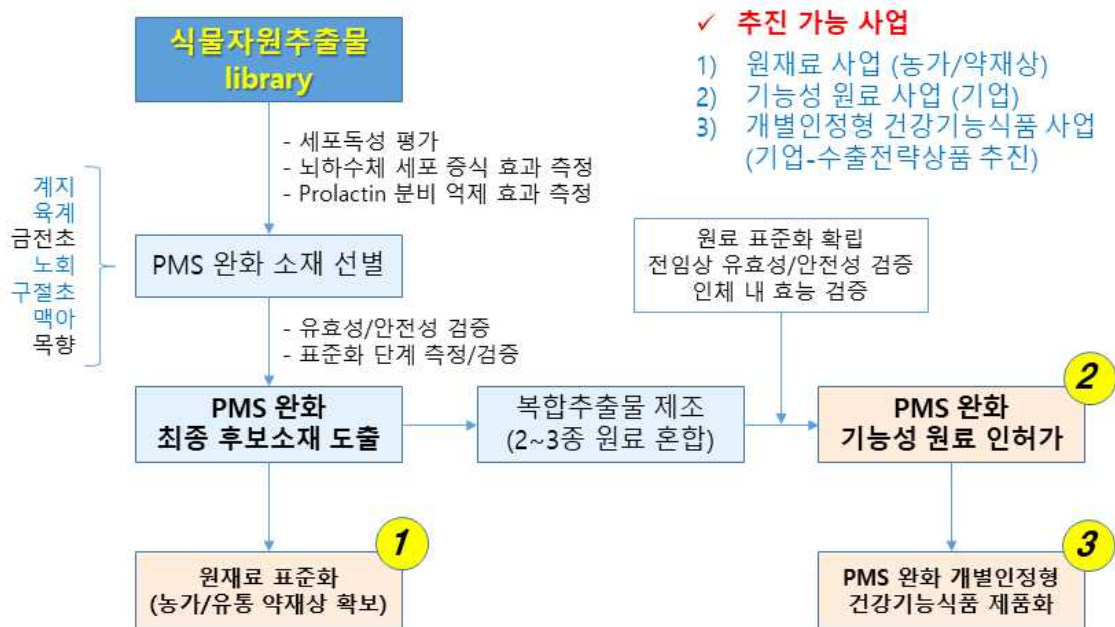
가) 기구축된 국내 식물자원 추출물을 이용한 뇌하수체 세포 증식 및 prolactin 분비 억제 소재 탐색 완료 ⇨ 7종의 후보소재 도출

나) 최종 2~3종의 소재를 이용한 PMS 완화 복합원료 제조 및 원료 표준화 확립

다) 표준화된 복합원료의 전임상 유효성/안전성, 인체 내 효능 검증

라) 사업기간 내 월경전 상태개선 기능성 원료 인허가 신청 및 사업화 준비

마) 후보소재의 공급체계 구축을 통한 표준화된 원재료 대량생산체계 확립



2) 최종 사업화 시기 및 형태

가) 사업화 추진 시기

- 사업기간 내 (5차년도) 준비하여 사업종료 후 1~2차년도에 활성화 (수출 포함)

나) 사업화 추진 형태

- 후보소재의 표준화된 원재료 사업화 (건조물 형태: 1~2만원/kg)

→ 계약 농가 및 표준화 기업에서의 사업화 추진

- 월경전 상태 개선 기능성 원료 사업화 (추출분말 형태: 30~50만원/kg 이상)

→ 주관기관에서 원료 사업화 추진

- 월경전 상태 개선 개별인정형 건강기능식품 사업화 (제품 1달분: 6~8만원/세트)

→ 주관 및 제2협동기관에서 건강기능식품 사업화 추진

3) 연구개발 범위

가) 컨소시엄 구성 및 역할

① 주관기관: (주)제넨셀

- 최종 후보소재 도출 및 최적혼합비율 설정

- 후보소재 추출물의 유효성분 규명 및 지표성분 설정, 원료 규격 설정

- 복합추출물의 원료표준화 및 유해성분 함량 분석, 전임상 안전성 검증 (식약처 권고사항: 추출물 형태의 섭취 근거 미흡)

(GLP기관 용역 : 유전독성, 설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복투여 독성)

- 월경전 상태 개선 인체적용시험 프로토콜 개발 및 인체적용시험 관리
- 복합추출물의 월경전 상태 개선 기능성 원료 인허가 및 원료 사업화

② 주관기관 위탁: (주)에이온엘에스

- 최종 후보 소재의 원재료 표준화 및 공급처 관리
- 복합추출물의 영양성분 분석
- 최종 후보 소재의 재배농가 확보 및 농가 계약 재배 추진
- 표준화된 원재료 확보에 따른 표준 관리

③ 제1협동기관: 경희대학교

- 식물자원추출물 공급 및 1차 PMS 완화 소재 탐색
- 2차 PMS 완화 소재 탐색을 통한 최종 후보 소재 제안
- 최종 후보 소재의 PMS 완화 in vitro 효능 검증 및 back-up 소재 연구
- 최종 후보 소재의 PMS 완화 전임상 유효성 검증 및 소재와 유효성분의 작용기전 규명
- 기능성 원료 신청을 위한 자료 수집 및 보완 지원

④ 제2협동기관: 동국제약(주)

- 최종 후보 소재의 원료 생산 및 제조공정 확립
- 복합추출물의 대량생산체계 확립 및 3 batch 생산
- Lab scale 비교를 통한 원료 동등성 자료 확보 및 안정성 확립
- 건강기능식품 제조용 제형 개발 및 인체적용시험용 시제품 생산, 안정성 확립
- 복합추출물의 월경전 상태 개선 기능성 원료 인허가 (주관 공동) 및 건강기능식품 사업화
- 국내 및 해외수출 판매전략 수립



나. 사업 신청 당시 국내 기술 수준 및 시장현황

1) 기술현황

가) 생리전증후군 (Premenstrual syndrome, PMS) 완화 소재 개발기술 현황

- 국내 PMS 연구는 대부분 발병현황, 특성 및 원인을 규명하기 위한 연구가 대부분이며, 완화 소재 개발 연구는 상대적으로 적은 것으로 나타났음 (총 4건)
  - 연구된 소재 중 본 연구개발 소재와 중복되는 소재는 검색되지 않았으며, 연구된 소재의 사업화는 이루어지지 않거나 일반식품에 한정되어 있음
  - 또한, 본 연구개발의 PMS 억제 기전인 prolactin 억제 소재에 대한 연구결과 없음
- PMS 완화 소재 연구현황

연구제목	저자	발행기관	발행연도/권/호
이소플라본과 백수오 보충 섭취가 월경전 증후군, 월경통에 미치는 영향 (20대 여성 중심)	김성자 한채정	동아시아 식생활학회지	2015/25/1
효모 가수분해물 SCP-20의 월경전 증후군 감소효과	유광원 등	한국식품영양 과학회지	2001/30/5
Flavonoids 함유 엉겅퀴속 및 향유속 자생식물을 이용한 월경전 증후군 및 항우울증 효과 식품소재 개발에 관한 연구	덕성여자 대학교	농림부 연구보고서	2007
한약재를 이용한 월경전 증후군 치료방법의 연구	동국 대학교	보건복지부 연구보고서	2002

- 덕성여자대학교 김건희 등은 농림부 과제를 통해 엉겅퀴속 및 향유속 식물의 월경전 증후군 및 항우울증 효과 식품소재 개발 연구를 진행하였으며, 엉겅퀴, 꽃향유 및 향유의 flavonoids, 특히 apigenin의 함량을 분석하고, 항산화 및 세포막 안정화 효과, 세포내 Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> 농도 분석, 동물에서의 항우울 효과 분석, 전임상 안전성 및 인체적용시험 (우울 및 불안)을 진행하여 연구개발을 수행함
  - 그러나 이와 같은 연구는 일반 식품 (잡곡빵, 차, 음료) 개발에 관한 연구를 목적으로 하였으며, 기능성 원료 등재는 이루어지지 않음
  - 특허를 2008년도에 출원하였으나 2010년도 특허 등의 절차를 포기하였음
- 동국대학교 이태균은 PMS에서 나타나는 스트레스 반응 연구를 위해 노르에피네프린, 혹은 코르티졸을 분비하는 부신세포를 이용하여 외부의 신호에 의해 분비된 신경호르몬의 양을 정량하는 방법을 구축하였으며, 이에 대한 한약재 추출물의 효능을 분석함
  - 황백, 후박, 시호, 인삼, 음향과, 지모, 오미자, 감초, 반하, 건강 추출물의 노르에피네프린 분비 억제효능 확인
  - 소목, 금앵자, 사인, 길경, 산수유, 선복화, 백미, 복분자에서 코르티졸 분비 억제 효과 확인
- 김성자와 한채정은 현재 건강기능식품으로 팔리고 있는 이소플라본 정과 백수오환골드에 대한 설문조사를 통해 20대 여성의 PMS 개선 효과를 확인함
  - 월경전 증후군 척도 (menstrual distress questionnaire, MDQ), 월경통 정도 분석

나) 국내 월경전 상태 개선 기능성 원료 인정 현황

○ 월경전 상태 개선 기능성 원료 인정 현황

번호	원료명	인정등급	기능(지표)성분	일일섭취량
1	감마리놀렌산 함유 유지	2	γ-linolenic acid 70 mg/g 이상	감마리놀렌산 210~300 mg

- 현재 국내 월경전 상태 개선 기능성 원료는 감마리놀렌산 함유 유지가 유일하며, 2014년 5월 인정 이후 총 18건 (2014년 14건, 2015년 4건)이 인정되면서 2017년 7월 1일에 고시형

원료로 전환됨

※ 2017년 7월 1일 부터는 월경전 상태 개선 개별인정형 원료 없음

○ 감마리놀렌산 함유 유지 인정 기능성

- 감마리놀렌산 함유 유지의 인정 기능성 내용은 “월경 전 변화에 의한 불편한 상태 개선에 도움을 줄 수 있음”으로 생리활성 2등급의 기능성 원료임
- PMS를 겪는 여성은 중추신경계, 유방조직 등에서 prostaglandin의 결핍현상이 나타난다고 알려져 있는데, 감마리놀렌산의 섭취는 대사산물인 prostaglandin의 생성을 유도하여 자궁의 과다 수축을 억제한다고 알려져 있으며, 특히 생리 전 여성들의 호르몬 변화로 오는 히스테리 증상에 유용성이 있는 것으로 알려져 있음

다) 월경 전 상태 개선 (생리전증후군 완화) 제품개발 현황

○ 감마리놀렌산 함유 유지 건강기능식품 현황

- 현재 유통되고 있는 월경 전 상태 개선 목적의 감마리놀렌산 함유 유지 건강기능식품의 경우 5품목 정도 만이 유통되고 있으며, 이는 소재 기능성의 불명확함과 제품 홍보의 미흡이 그 원인으로 제품의 차별성 결여가 이유로 주목되고 있음



○ PMS 개선 의약품 현황

- 종근당에서 판매하고 있는 PMS 치료제 “프리페민정”은 스위스 생약전문회사 ‘Zeller’에서 생산하여 종근당이 수입한 일반의약품으로써, 아그누스카스투스 열매 추출물 성분의 생약제제이며, 월경전증후군의 주요 원인인 프로락틴의 과도한 분비를 줄여 호르몬 밸런스를 유지함으로써 PMS 증상을 개선하는데 효과적으로 알려져 있음

※ 본 연구개발 소재의 기능성이 검증될 경우 PMS 개선 일반의약품에서 형성된 시장도 잠식할 수 있음



2) 생리전증후군 완화 제품 시장현황

- 2016년 발표된 ‘2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석‘ (한국식품안전관리인증원)에 따르면 2015년 건강기능식품의 총 생산액은 1조 1,332억원으로 2014년 대비 1.1% 증가하였으며, 총 매출액은 1조 8,230억원, 총 매출량은 3만 4,568톤으로 10% 이상 증가하였음

구 분	업체수	생산액 (억원)	생산량 (톤)	총 매출액 (억원)	총 매출량 (톤)	내수용		수출용	
						판매액 (억원)	판매량 (톤)	판매액 (억원)	판매량 (톤)
2014	460	11,208	32,494	16,310	30,545	15,640	29,500	670	1,045
<b>2015</b>	<b>487</b>	<b>11,332</b>	<b>36,083</b>	<b>18,230</b>	<b>34,568</b>	<b>17,326</b>	<b>33,016</b>	<b>904</b>	<b>1,551</b>
전년대비 성장률(%)	5.9	1.1	11.1	11.8	13.2	10.8	11.9	34.9	48.4

○ 품목별 매출 현황을 보면 월경 전 상태 개선 기능성 원료인 감마리놀렌산 함유 유지는 2015년 128.1억원의 매출을 기록하였으며, 유사 원료인 EPA 및 DHA 함유 유지는 484.7억원, 달맞이꽃종자 추출물은 0.8억원을 각각 기록하였음

구 분	항목	매출 순위	총 매출액 (억원)	비율 (%)
감마리놀렌산 함유 유지	월경전 상태개선 / 과민피부상태개선	19	128.1	0.9
EPA 및 DHA 함유 유지	기억력 개선 / 눈 건강	6	484.7	3.2
달맞이꽃종자 추출물	혈당조절	-	0.8	0.0

○ 건강기능식품 원료 및 제품의 수입은 2015년 5,965억원으로 2014년 (4,412억원) 대비 35.2% 증가하였으며, 수출 904억원에 비해 매우 높은 수입의존도를 나타내고 있음  
- 대부분의 건강기능식품은 수출용이 아닌 내수판매용으로 판매되고 있으며, 월경 전 상태 개선 건강기능식품 또한 대부분 내수용으로 판매되고 있음

구 분	항목	총 매출액 (억원)	내수용 (억원)	수출용 (억원)
감마리놀렌산 함유 유지	월경전 상태개선 / 과민피부상태개선	128.1	123.9	4.2
EPA 및 DHA 함유 유지	기억력 개선 / 눈 건강	484.7	474.2	3.2
달맞이꽃종자 추출물	혈당조절	0.8	0.8	0.0

○ PMS 치료제 시장

- 대표적 PMS 치료제인 프리페민 (종근당)은 약 30억원대의 매출로 작은 시장을 형성하고 있음

3) 월경 전 상태 개선 건강기능식품 경쟁기관 현황 (참조: 한국식품안전관리인증원, 2016)

○ 월경 전 상태 개선 건강기능식품은 콜마비엔에이치(주)가 32.7억원으로 가장 많은 매출을 달성했으며, EPA 및 DHA 함유 유지는 (주)서흥이 가장 높은 매출을 달성하였으나, 모두 내수용 매출로 수출에 대한 매출은 없음

품목유형	순위	업체명	매출액 (억원)		
			총 매출액	내수용	수출용
감마리놀렌산 함유 유지	1	콜마비엔에이치(주)	32.7	32.7	-
	2	플무원건강생활(주)	24.2	24.2	-
	3	(주)에스트라	18.9	18.9	-
	4	(주)서흥	12.3	12.3	-
	5	코스맥스바이오(주)	7.7	7.7	-

EPA 및 DHA 함유 유지	1	(주)서흥	100.1	100.1	-
	2	종근당건강(주)	94.4	93.7	0.7
	3	(주)노바렉스	49.3	49.3	-
	4	코스맥스바이오(주)	46.5	46.5	-
	5	콜마비엔에이치(주)	36.8	36.8	-

- PMS 치료제인 프리페민 (종근당)은 의약품이나 처방을 받지 않아도 약국에서 구매 가능한 일반의약품으로 본 연구개발을 통한 기능성 원료 개발 시 경쟁 관계에 놓일 수 있으나, 의약품이 건강기능식품 시장에 주는 영향은 적으므로 오히려 의약품 시장을 잠식할 가능성이 충분히 있음
- 마케팅 전략
  - 여성의 50%는 생리통과 PMS 증상을 구분하지 못할 만큼 PMS의 인식이 결여된 상태이므로 진통제 등의 소비가 이루어지고 있음
  - 그러므로 1차 타겟을 홈쇼핑으로 진출하여, PMS에 대한 홍보를 대대적으로 시행할 계획임
  - 그 후 2협동기관의 유통라인을 이용하여 사업화를 진행하고자 함

**사업화 전략**

- 목표 고객**  
가임기 여성 중 PMS로 불편함을 호소하는 여성
- "PMS"에 대한 소비자 인지도 확대**  
교육프로그램 진행, 잡지, 케이블 등 광고
- 소비자 마케팅/제품홍보**  
사전 홍보 및 ATL/BTL 마케팅 실시  
과학적인 효력 결과 홍보(인체적용시험, 효력 논문)  
동영상 바이얼, SNS, 제품 체험단 → 콘텐츠 생산/홍보

---

**판매전략**

**타겟 소비층 공략 | 다양한 제품군 제조**  
[국내]  
-홈쇼핑/대형마트/CVS/인터넷  
-약국 체인망 (약 10,000여개)  
-면세점 : 롯데 인터넷면세점 등



<가임기 여성 약 1,000만명>  
 → PMS 증상 여성을 50%로 산정  
 → 약 5백만명  
 → 1 set 구입/년 → 약 2,500억원

4) PMS 개선 소재의 지식재산권 현황

- 생리전증후군 (Premenstrual syndrome)으로 출원/등록된 (포기/거절 제외) 특허를 검색한 결과 1건의 특허만이 검색됨
  - 본 연구개발 기전인 prolactin 억제 소재에 대한 특허 없음

명 칭	출원/등록번호	출원인	출원/등록일
월경 전기 증후군 및 월경통 완화의 기능을 갖는 조성물	10-2014-0052770	(주)아모레퍼시픽	2014. 04. 30

- (주)아모레퍼시픽은 인삼 열매 추출물을 함유하는 월경 전기 증후군 및 월경통 완화 조성물에 대한 특허를 출원하였으며, 40명의 여성으로부터의 설문을 통해 홍삼과 비교하여 특허를 출원하였으나 본 연구개발 소재와는 중복성 없음

5) 본 연구개발을 위한 후보소재의 표준화 현황

○ 본 연구개발을 위한 선행연구에서 뇌하수체 세포 증식 효능을 나타내는 소재 4종과 prolactin 분비 억제 소재 3종을 선별하였으며, 추후 기능성 검증과 표준화 확립이 가능한 소재를 선별하여 후보소재로 연구를 진행하고자 함

- 뇌하수체 세포 증식 소재: 계지, 육계, 금전초, 노회
- Prolactin 분비 억제 소재: 구절초, 맥아, 목향

→ 본 연구개발을 위한 후보소재는 전부 생약규격집에 등재되어 있음

○ 계지 (Cinnamomi Ramulus)

<p>이 약은 육계(肉桂) <i>Cinnamomum cassia</i> Presl (녹나무과 Lauraceae)의 어린 가지이다.</p> <p><b>성상</b> 이 약은 어린 가지로 긴 원기둥모양의 여러 가지로 분지되어 있으며 길이 30 ~ 75 cm, 지름 3 ~ 7 mm이다. 바깥면은 갈색 ~ 적갈색으로 모가 난 것도 있다. 가는 주름과 잎, 가지 또는 새싹이 붙었던 자국이 있다. 질은 단단하고 부스러지기 쉬우며 껍은 면의 피부는 적갈색이고 목부는 황백색 ~ 연한 황갈색이며 수부는 사각형을 나타낸다.</p> <p>이 약은 특유한 향기가 있고 맛은 약간 맵고 껍질부분은 매운 맛이 더욱 강하다.</p> <p><b>확인시험</b> 이 약의 가루 2.0 g에 에테르 10 mL를 넣고 3분간 흔들어서 섞은 다음 여과한 액을 검액으로 한다. 이 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험한다. 검액 10 µL를 박층크로마토그래프용실리카겔(형광제 첨가)을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 헥산-아세트산에틸혼합액(2 : 1)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 자외선 (주파장 254 nm)을 쬐일 때 <math>R_f</math> 값 0.4 부근에 보라색의 반점을 볼 수 있다. 그 반점에 2,4-디니트로페닐히드라진시액을 뿌릴 때 황갈색을 나타낸다.</p> <p><b>순도시험</b> 1) <b>이물 및, 잎자루</b> 이 약은 잎이나 잎자루가 3.0 % 이상 섞여 있어서는 안된다.</p> <p>2) <b>중금속</b> 가) 납 5 ppm 이하. 나) 비소 3 ppm 이하. 다) 수은 0.2 ppm 이하. 라) 카드뮴 0.7 ppm 이하.</p> <p>3) <b>잔류농약</b> 가) 총 디디티(p,p'-DDD, p,p'-DDE, o,p'-DDT 및 p,p'-DDT의 합계) 0.1 ppm 이하. 나) 디엘드린 0.01 ppm 이하. 다) 총 비에이치제(α,β,γ 및 δ-BHC의 합계) 0.2 ppm 이하. 라) 알드린 0.01 ppm 이하. 마) 엔드린 0.01 ppm 이하.</p> <p>4) <b>이산화황</b> 30 ppm 이하.</p> <p><b>건조감량</b> 11.0 % 이하.</p> <p><b>회분</b> 3.0 % 이하.</p> <p><b>정유함량</b> 0.3 mL 이상 (50 g).</p> <p><b>엑스함량</b> <b>물은에탄올엑스</b> 5.0 % 이상.</p> <p><b>저장법</b> 밀폐용기.</p>
--

- 이정숙 등은 계지의 지표성분을 cinnamic acid, cinnamaldehyde, 2-methoxycinnamic acid로 설정하고, 분석법을 확립하여 서울시내 유통 중인 계지의 지표성분을 조사하여 표준화 함

Table I - Comparison of marker compounds contents according to extraction solution, time and method

추출용매와 시간	Cinnamic acid (%) n=3			Cinnamaldehyde (%) n=3			2-Methoxycinnamic acid (%) n=3		
	30 min	1 h	2 h	30 min	1 h	2 h	30 min	1 h	2 h
100% MeOH 환류추출	0.067± 0.000 <sup>efg</sup>	0.071± 0.002 <sup>g</sup>	0.063± 0.002 <sup>cde</sup>	1.601± 0.005 <sup>cd</sup>	1.559± 0.054 <sup>c</sup>	1.394± 0.071 <sup>b</sup>	0.074± 0.000 <sup>ef</sup>	0.075± 0.006 <sup>ef</sup>	0.057± 0.002 <sup>d</sup>
70% MeOH 환류추출	0.056± 0.001 <sup>b</sup>	0.066± 0.002 <sup>def</sup>	0.069± 0.005 <sup>fg</sup>	1.419± 0.021 <sup>b</sup>	1.607± 0.034 <sup>cd</sup>	1.671± 0.099 <sup>d</sup>	0.069± 0.001 <sup>cd</sup>	0.077± 0.002 <sup>gh</sup>	0.081± 0.005 <sup>hi</sup>
50% MeOH 환류추출	0.048± 0.004 <sup>a</sup>	0.048± 0.001 <sup>a</sup>	0.055± 0.003 <sup>b</sup>	1.243± 0.067 <sup>a</sup>	1.242± 0.011 <sup>a</sup>	1.376± 0.053 <sup>b</sup>	0.064± 0.003 <sup>b</sup>	0.065± 0.001 <sup>bc</sup>	0.071± 0.002 <sup>de</sup>
100% MeOH 초음파추출	0.059± 0.001 <sup>bc</sup>	0.062± 0.001 <sup>cd</sup>	0.064± 0.001 <sup>de</sup>	1.585± 0.015 <sup>c</sup>	1.580± 0.010 <sup>c</sup>	1.592± 0.005 <sup>cd</sup>	0.075± 0.001 <sup>ef</sup>	0.075± 0.000 <sup>f</sup>	0.077± 0.001 <sup>fg</sup>
70% MeOH 초음파추출	0.065± 0.000 <sup>de</sup>	0.065± 0.001 <sup>de</sup>	0.065± 0.000 <sup>de</sup>	1.604± 0.013 <sup>cd</sup>	1.584± 0.026 <sup>c</sup>	1.595± 0.009 <sup>cd</sup>	0.082± 0.001 <sup>hi</sup>	0.081± 0.001 <sup>hi</sup>	0.082± 0.000 <sup>i</sup>
50% MeOH 초음파추출	0.062± 0.003 <sup>cd</sup>	0.064± 0.001 <sup>de</sup>	0.065± 0.000 <sup>de</sup>	1.536± 0.054 <sup>c</sup>	1.569± 0.016 <sup>c</sup>	1.577± 0.013 <sup>c</sup>	0.078± 0.023 <sup>ghi</sup>	0.080± 0.001 <sup>ghi</sup>	0.081± 0.001 <sup>ghi</sup>

1) Mean±S.D. and the sample alphabet in each column mean not significantly different (p<0.05) by anova Duncan's multiple range test.



○ 육계 (Cinnamomi Cortex)

이 약은 육계 (肉桂) *Cinnamomum cassia* Presl (녹나무과 Lauraceae)의 줄기껍질로서 그대로 또는 주피를 약간 제거한 것이다. 이 약은 정량할 때 환산한 건조물에 대하여 신남산 ( $C_9H_8O_2$  : 148.16) 0.03 % 이상을 함유한다.

**성상** 이 약은 줄기껍질로 통 모양 또는 말려 들어간 통 모양이고, 길이 5 ~ 50 cm, 지름 15 ~ 50 mm, 두께 1 ~ 5 mm이다. 바깥면은 어두운 적갈색, 안쪽 면은 적갈색을 띠며 매끈하다. 꺾이기 쉬우며 꺾인 면은 적갈색을 띠고 연한 갈색의 얇은 층이 있으며 약간 섬유성이다. 이 약의 횡단면을 현미경으로 볼 때 1 기 피부와 2 기 피부는 거의 연속된 석세포 환층으로 구별되고 환층의 바깥쪽에는 거의 원형으로 모여 있는 섬유속이 있고 환층을 이루고 있는 각 석세포의 막은 대개가 U 자형으로 두터워져 있다. 2 기 피부 중에는 석세포를 볼 수 없고 군데군데 소수의 후막섬유가 있다. 유조직 중에는 기름세포, 점액세포 및 미세한 옥살산칼슘침전을 지닌 세포가 있고 유세포에는 전분립이 있다.

이 약은 특유한 냄새가 있으며 맛은 약간 달고 매우며 후에 약간 점액성이고 수렴성이다.

**확인시험** 이 약의 가루 및 육계표준생약 약 2 g을 달아 에테르 10 mL를 넣고 3 분 간 흔들어서 섞은 다음 여과하여 검액 및 육계표준생약표준액으로 한다. 이들 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험한다. 검액 및 표준생약표준액 10  $\mu$ L씩을 박층크로마토그래프용실리카겔 (형광제 첨가)을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 석유에테르·아세트산에틸혼합액(17 : 3)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 자외선 (주파장 254 nm)을 쬐일 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점은 육계표준생약표준액에서 얻은 반점과 색상 및  $R_f$  값이 같고, 그 중  $R_f$  값 0.7 부근에서 신남알데히드의 반점을 각각 확인할 수 있다.

**순도시험** 1) 중금속 가) 납 5 ppm 이하.

나) 비소 3 ppm 이하.

다) 수은 0.2 ppm 이하.

라) 카드뮴 0.7 ppm 이하.

2) 잔류농약 가) 총 디디티( $p,p'$ -DDD,  $p,p'$ -DDE,  $o,p'$ -DDT 및  $p,p'$ -DDT의 합) 0.1 ppm 이하.

나) 디엘드린 0.01 ppm 이하.

다) 총 비에이치씨( $\alpha,\beta,\gamma$  및  $\delta$ -BHC의 합) 0.2 ppm 이하.

라) 알드린 0.01 ppm 이하.

마) 엔드린 0.01 ppm 이하.

3) 이산화황 30 ppm 이하.

**건조감량** 15.5 % 이하 (6 시간).

**회분** 5.0 % 이하.

**정량법** 이 약의 가루 약 1.0 g을 정밀하게 달아 메탄올 50 mL를 넣어 1시간 동안 초음파 추출한 다음 여과하고 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 신남산표준품 (미리 실리카겔대시케이터에서 12 시간 이상 건조한다) 약 10 mg을 정밀하게 달아 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액 및 표준액의 피크면적  $A_T$  및  $A_S$ 를 측정한다.

$$\begin{aligned} & \text{신남산 (C}_9\text{H}_8\text{O}_2\text{)의 양 (mg)} \\ & = \text{신남산표준품의 양 (mg)} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{1}{2} \end{aligned}$$

**조작조건**

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 280 nm)

칼럼 : 안지름 4 ~ 6 mm, 길이 15 ~ 25 cm인 스테인레스강관에 5 ~ 10  $\mu$ m의 액체크로마토그래프용옥타데실실릴실리카겔을 충전한다.

칼럼온도 : 상온

이동상 : 물·아세트니트릴·아세트산(100)혼합액(68 : 30 : 2)

유량 : 1.0 mL/분

시스템적합성

시스템의 재현성 : 표준액 10  $\mu$ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 신남산 피크면적의 상대 표준편차는 1.5 % 이하이다.

**저장법** 밀폐용기.

○ 금전초 (Lysimachiae Herba)

이 약은 과로황(過路黃) *Lysimachia christinae* Hance (앵초과 Primulaceae)의 전초이다.

**성상** 이 약은 전초로 엉켜 뭉쳐져 있고 털이 없거나 또는 부드러운 털이 성글게 덮여 있다. 줄기 겉면은 갈색 혹은 어두운 적갈색으로 세로무늬가 있고, 아래의 줄기 마디에는 수영뿌리가 있으며, 절단면

의 중심부는 충실하다. 잎은 마주 나고 대부분 주름져 있는데 펼치면 넓은 계란 모양 혹은 심장모양으로 길이 1 ~ 4 cm, 너비 1 ~ 5 cm이다. 아랫부분은 약간 움푹하고 가장자리가 밋밋하다. 윗면은 회록색 혹은 갈색이며 아랫면은 색이 비교적 연하고, 주맥이 뚜렷하게 솟아 있어 물에 담근 다음 빛에 비추어보면 검은색 혹은 갈색의 줄무늬가 보이며, 잎자루의 길이는 1 ~ 4 cm이다. 어떤 것은 꽃이 달려 있는데 꽃은 노란색이고 잎겨드랑이에 단생하며 긴 꽃자루가 있고 삭과는 구형이다.

이 약은 냄새가 약간 있고, 맛은 담담하다.

**확인시험** 이 약의 가루 1 g을 달아 80 % 메탄올 50 mL를 넣고 1 시간 초음파추출한 다음 여과한 여액을 증발건고한다. 잔류물을 물 10 mL에 녹이고 에테르 10 mL씩으로 2 회 세척한다. 수층에 묽은염산 10 mL를 넣고 환류냉각기를 달고 수욕에서 1 시간 가온한다. 식힌 다음 아세트산에틸 20 mL씩으로 2 회 추출하고 물 30 mL를 넣어 세척하고 아세트산에틸층을 모아 증발건고한다. 잔류물을 메탄올 1 mL에 녹여 검액으로 한다. 따로 퀘르세틴 표준품 0.5 mg 및 캄페롤 표준품 0.5 mg을 달아 각각 메탄올 1 mL에 녹여 표준액 (1) 및 표준액 (2)로 한다. 이들 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험한다. 검액 및 표준액 (1), (2) 10  $\mu$ L씩을 박층크로마토그래프용실리카겔 (형광제 첨가)을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 시클로헥산·포름산에틸·아세트산에틸·포름산혼합액(5 : 4 : 1 : 1)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 1 % 염화알루미늄·에탄올용액을 고르게 뿌린 다음 105  $^{\circ}$ C에서 가열한 다음 자외선 (주파장 365 nm)을 쬐일 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 2 개의 반점은 표준액 (1) 및 표준액 (2)에서 얻은 반점과 색상 및  $R_f$  값이 같다.

**순도시험** 1) **중금속** 가) 납 5 ppm 이하.

나) 비소 3 ppm 이하.

다) 수은 0.2 ppm 이하.

라) 카드뮴 0.3 ppm 이하.

2) **잔류농약** 가) 총 디디티(p,p'-DDD, p,p'-DDE, o,p'-DDT 및 p,p'-DDT의 합) 0.1 ppm 이하.

나) 디엘드린 0.01 ppm 이하.

다) 총 비에이치씨( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$  및  $\delta$ -BHC의 합) 0.2 ppm 이하.

라) 알드린 0.01 ppm 이하.

마) 엔드린 0.01 ppm 이하.

**건조감량** 11.0 % 이하.

**회 분** 14.0 % 이하.

**산불용성회분** 7.0 % 이하.

**엑스함량** 묽은에탄올엑스 6.0 % 이상.

**저장법** 밀폐용기.

## ○ 노회 (Aloe)

이 약은 *Aloe barbadensis* Linné, *Aloe ferox* Miller, *Aloe africana* Miller 또는 *Aloe spicata* Baker의 잡종 (백합과 Liliaceae)의 잎에서 얻은 액즙(液汁)을 건조한 것이다.

**성상** 이 약은 액즙을 건조한 것으로 흑갈색 ~ 어두운 갈색의 고르지 않은 덩어리로 바깥면에 노란색의 가루가 붙어 있을 때도 있다. 부서진 면은 매끄럽고 유리 같은 광택이 있다.

이 약은 특유한 냄새가 있고 맛은 매우 쓰다.

**확인시험** 1) 이 약의 가루 0.5 g에 물 50 mL를 넣고 가온하여 녹이고, 식힌 다음 규조토(硅藻土) 0.5 g을 넣고 여과한 여액을 검액으로 하여 다음 시험을 한다.

가) 검액 5 mL에 붓사 0.2 g을 넣고 수욕중에서 가온하여 녹인다. 이 액 몇 방울을 물 30 mL에 떨어뜨리고 흔들어서 섞을 때 액은 녹색의 형광을 나타낸다.

나) 검액 2 mL에 질산 2 mL를 넣고 흔들어서 섞으면 액은 황갈색을 나타내고 점차 녹색으로 되었다가 이를 수욕중에서 가온하면 적갈색으로 변한다.

2) 이 약의 가루 0.2 g에 메탄올 10 mL를 넣고 5 분간 흔들어서 섞은 다음 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 발바로인 표준품 1 mg을 메탄올 1 mL에 녹여 표준액으로 한다. 이 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험한다.

검액 및 표준액 10  $\mu$ L씩을 박층크로마토그래프용실리카 겔(형광제첨가)을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음 아세트산에틸·아세톤·물·아세트산(100)혼합액(20 : 5 : 2 : 2)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개시킨 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 자외선 (주파장 365 nm)을 쬐일 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 1 개의 반점은 표준액에서 얻은 붉은색 반점과 색상 및  $R_f$  값이 같다.

**순도시험** 1) **수지** 이 약의 가루 0.5 g에 에테르 10 mL를 넣고 수욕에서 가온한 다음 여과한다. 여과지상의 잔류물과 여과지를 에테르 3 mL로 씻고 여액과 씻은 액을 합하여 에테르를 날려 보낼 때 그 잔류물의 양은 5.0 mg 이하이다.

2) **에탄올불용물** 이 약의 가루 1.0 g에 에탄올 50 mL를 넣고 환류냉각기를 달아 수욕에서 30 분간 끓이고

미리 무게를 단 여과기(G 4)를 써서 더울 때 여과한다. 여과기 위의 잔류물을 에탄올로 씻은 액이 착색하지 않을 때까지 씻고 잔류물을 105 °C에서 5시간 건조하였을 때 그 양은 0.1 g 이하이다.)

**3) 중금속 1) 중금속 가) 납** 5 ppm 이하.

나) 비소 3 ppm 이하.

다) 수은 0.2 ppm 이하.

라) 카드뮴 0.3 ppm 이하.

**건조감량** 12.0 % 이하 (6시간).

**회 분** 2.0 % 이하.

**엑스함량** 물엑스 40.0 % 이상.

**저 장 법** 밀폐용기.

### ○ 구절초 (*Chrysanthemi Zawadskii Herba*)

이 약은 구절초 *Chrysanthemum zawadskii* Herbich var. *latilobum* (Maxim.) Kitamura 또는 산구절초 *Chrysanthemum zawadskii* var. *coreanum* (Nakai) (국화과 Compositae)의 전초이다.

**성 상** 이 약은 전초로 줄기는 둥글고 길이 20 ~ 40 cm이며 회록색 ~ 회갈색이다. 잎은 달걀모양 ~ 넓은 달걀모양으로 줄기에 어긋나게 달려있고, 길이 3 ~ 4 cm, 너비 2 ~ 3 cm로 깊게 갈라졌으며, 잎자루는 길이 1 ~ 2 cm이다. 꽃은 두상화로 지름 2 ~ 6 cm이고, 설상화는 흰색이고, 관상화는 노란색이다. 이 약은 특유한 향기가 있고 맛은 약간 쓰다.

**확인시험 1)** 이 약의 가루 0.5 g에 물 10 mL를 넣고 끓여 여과한 여액에 염화철(III)시액 1 ~ 2 방울을 떨어뜨리면 액은 어두운 남색을 나타낸다.

**2)** 이 약의 가루 2.0 g에 에탄올 10 mL를 넣고 수욕에서 10 분간 끓여 여과한 여액에 마그네슘가루 0.1 g과 염산 1 ~ 2 방울을 넣으면 액은 연한 적자색을 나타낸다.

**순도시험 1) 이물** 이 약은 다른 식물의 잎, 꽃 및 그 밖의 이물이 5.0 % 이상 섞여 있지 않다.

**2) 중금속 가) 납** 5 ppm 이하.

나) 비소 3 ppm 이하.

다) 수은 0.2 ppm 이하.

라) 카드뮴 0.3 ppm 이하.

**3) 잔류농약 가) 총 디디티(p,p'-DDD, p,p'-DDE, o,p'-DDT 및 p,p'-DDT의 합계)** 0.1 ppm 이하.

나) 디엘드린 0.01 ppm 이하.

다) 총 비에이치체(α,β,γ 및 δ-BHC의 합계) 0.2 ppm 이하.

라) 알드린 0.01 ppm 이하.

마) 엔드린 0.01 ppm 이하.

**4) 이산화황** 30 ppm 이하.

**건조감량** 12.0 % 이하.

**회 분** 8.0 % 이하.

**엑스함량** 물에탄올엑스 12.0 % 이상.

**저 장 법** 밀폐용기.

- 김택제 등은 구절초의 chlorogenic acids와 linarin의 동시 정량 분석을 실시함 (대한화학회지, 1991)

Sample	CA		3,5-DCQA		4,5-DCQA		Linarin	
	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD	Mean	RSD
H.S.	0.42	2.4	0.66	1.1	0.106	1.5	2.72	0.45
H.B.D.	0.45	1.6	0.54	1.3	0.114	2.9	2.64	0.46
W.C.	0.55	1.8	0.76	1.3	0.140	2.5	2.30	0.50
J.J.	0.35	2.0	0.46	2.7	0.077	2.1	1.63	0.43
H.I.	0.23	1.9	0.46	1.4	0.231	1.4	0.16	2.30

CA; Chlorogenic acid, 3,5-DCQA; 3,5-O-dicaffeoylquinic acid, 4,5-DCQA; 4,5-dicaffeoylquinic acid, RDS; Relative standard deviation.

### ○ 맥아 (*Hordei Fructus Germinatus*)

이 약은 보리 *Hordeum vulgare* Linné var. *hexastichon* Aschers (벼과 Gramineae)의 잘 익은 열매를 발아시킨 것이다.

**성 상** 이 약은 열매를 싹을 낸 것으로, 긴 방추형(方錐形)이며 길이 10 ~ 15 mm, 너비 3 ~ 4 mm이다. 한쪽 끝에는 약 5 mm 정도의 유아(幼芽)가 있고 다른 쪽에는 한 개 또는 여러 개의 유근(幼根)이 있다.

바깥 면은 연한 노란색이고 씨젖은 유백색이다. 질은 단단하며 부서지기 쉽다.

이 약은 달콤한 냄새가 있고 맛은 약간 달다.

**확인시험** 이 약의 가루 0.1 g을 달아 풀물(100 °C로 말린 감자녹말 5 g에 증류수 30 mL를 넣어 섞고 다시 뜨거운 증류수 70 mL를 더 넣어 30 분간 수욕중에서 가열하고 55 °C로 식혀서 만듬)을 넣어 55 °C에서 1 시간 당화시킨 액 10 mL가 40 mL의 페링용액을 탈색시킨다.

**순도시험** 1) **중금속** 가) 납 5 ppm 이하.

나) 비소 3 ppm 이하.

다) 수은 0.2 ppm 이하.

라) 카드뮴 0.3 ppm 이하.

2) **잔류농약** 가) 총 디디티(p,p'-DDD, p,p'-DDE, o,p'-DDT 및 p,p'-DDT의 합계) 0.1 ppm 이하.

나) 디엘드린 0.01 ppm 이하.

다) 총 비에이치씨(α,β,γ 및 δ-BHC의 합계) 0.2 ppm 이하.

라) 알드린 0.01 ppm 이하.

마) 엔드린 0.01 ppm 이하.

3) **이산화황** 30 ppm 이하.

**건조감량** 13.0 % 이하.

**회 분** 5.0 % 이하.

**산불용성회분** 3.0 % 이하.

**엑스함량** 묽은에탄올엑스 15.0 % 이상.

**저장법** 밀폐용기.

### ○ 목향 (Aucklandiae Radix)

이 약은 목향(木香) *Aucklandia lappa* Decne. (국화과 Compositae)의 뿌리로 거친 껍질을 제거한 것이다. 이 약을 건조한 것은 정량할 때 코스투놀리드(C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub> : 232.32), 데히드로코스투스락톤(C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> : 230.30)의 합 1.8 % 이상을 함유한다.

**성상** 이 약은 뿌리로 원기둥모양 혹은 반원기둥모양이고 길이는 5 ~ 10 cm, 지름 5 ~ 50 mm이다. 바깥면은 황갈색 ~ 회갈색이며 뚜렷한 주름과 세로홈 및 뿌리자국이 있다. 질은 단단하며 쉽게 꺾이지 않는다. 꺾은 면은 회갈색 ~ 어두운 갈색이며 주변은 회황색 또는 연한 황갈색이고 형성층의 고리는 갈색이며 방사상의 무늬가 있고 갈색이고 점 모양인 유실(油室)이 산재되어 있다. 이 약의 횡단면을 현미경으로 볼 때 코르크층은 여러 열의 코르크세포로 되어 있고 때로 탈락되어 있는 경우도 있다. 사부는 넓고 섬유육음이 있으며 섬유육음은 바퀴 모양으로 배열하고 있다. 형성층은 고리 모양을 이룬다. 목부는 도관이 하나씩 중앙을 향하여 배열하고 목부섬유는 형성층이 있는 곳과 중심에 있는 도관 주변에 존재한다. 1차목부는 대부분 사원형(四原型)이다. 유실은 유조직 중에 흩어져 있고 원형 또는 타원형이며 늘 노란색의 기름방울을 저장하고 있다. 유세포에는 이눌린이 들어있다.

이 약은 특유한 냄새가 있고 맛은 약간 쓰다.

**확인시험** 1) 이 약의 가루 0.5 g에 에탄올 10 mL를 넣고 1분간 가온하여 식힌 다음 여과하여 여액 1 mL에 염산 0.5 mL를 넣어 흔들어서 섞을 때 액은 보라색을 나타낸다.

2) 이 약의 가루 0.5 g을 달아 디클로로메탄 10 mL를 넣고 30 분간 초음파추출한 다음 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 데히드로코스투스락톤표준품 및 코스투놀리드표준품을 5 mg씩 달아 디클로로메탄 10 mL에 각각 녹여 표준액 1, 표준액 2로 한다. 이들 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험한다. 검액, 표준액 1 및 표준액 2를 각각 5 μL씩 박층크로마토그래프용실리카 겔(형광제 넣은 것)을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 디클로로메탄·시클로헥산혼합액(7 : 1)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 분무용황산시액을 고르게 뿌리고 105 °C에서 10 분간 가열할 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 2 개의 반점은 표준액 1과 표준액 2에서 얻은 반점과 색상 및 R<sub>f</sub> 값이 같다.

**순도시험** 1) **이물** 이 약의 횡단면에 요오드시액을 떨어뜨릴 때 청자색을 나타내지 않는다.

2) **중금속** 가) 납 5 ppm 이하.

나) 비소 3 ppm 이하.

다) 수은 0.2 ppm 이하.

라) 카드뮴 0.7 ppm 이하.

3) **잔류농약** 가) 총 디디티(p,p'-DDD, p,p'-DDE, o,p'-DDT 및 p,p'-DDT의 합계) 0.1 ppm 이하.

나) 디엘드린 0.01 ppm 이하.

다) 총 비에이치씨(α,β,γ 및 δ-BHC의 합계) 0.2 ppm 이하.

라) 알드린 0.01 ppm 이하.

마) 엔드린 0.01 ppm 이하.

4) **이산화황** 30 ppm 이하.

**회 분** 4.0 % 이하.

**정 량 법** 이 약의 가루 약 1.0 g을 정밀하게 달아 메탄올 100 mL에 넣고 45 분간 초음파 추출한 액을 여과한다. 그 여액에 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 코스투놀리드표준품 약 10 mg 및 데히드로코스투스락톤표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 메탄올 100 mL에 녹여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액의 코스투놀리드 및 데히드로코스투스락톤의 피크면적  $A_{7a}$  및  $A_{7b}$ 와 표준액의 코스투놀리드 및 데히드로코스투스락톤의 피크면적  $A_{Sa}$  및  $A_{Sb}$ 를 측정한다.W

$$\text{코스투놀리드}(C_{15}H_{20}O_2)\text{의 양}(mg) = \text{코스투놀리드표준품의 양}(mg) \times \frac{A_{7a}}{A_{Sa}}$$

$$\text{데히드로코스투스락톤}(C_{15}H_{18}O_2)\text{의 양}(mg) = \text{데히드로코스투스락톤표준품의 양}(mg) \times \frac{A_{7b}}{A_{Sb}}$$

**조 작 조 건**

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 210 nm)

칼 럼 : 안지름 4 ~ 6 mm, 길이 15 ~ 25 cm인 스테인레스강관에 5 ~ 10  $\mu$ m의 액체크로마토그래프용 옥타데실실릴실리카겔을 충전한다.

칼럼온도 : 30  $^{\circ}$ C

이동상 : 물·아세트니트릴 (9 : 11)

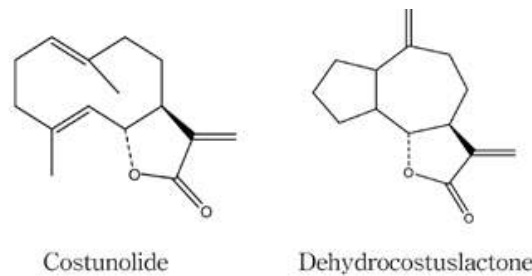
유 량 : 1.0 mL/분

시스템적합성

시스템의 재현성 : 표준액 10  $\mu$ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6회 반복할 때 코스투놀리드 및 데히드로코스투스락톤 각각의 피크면적의 상대표준편차는 1.5 % 이하이다.

**저 장 법** 밀폐용기.

- 이아영 등은 목향과 토목향의 지표성분 (Costunolide, dehydrocostuslactone)의 함량을 비교하여 분석함 (목향: AL, 토목향: IH) (생약학회지, 2007)



	Dehydrocostuslactone amount (%)	Costunolide amounts (%)	Loss on drying (%)	Ash (%)	Acid-insoluble ash (%)	Water-soluble extract (%)	Dilute ethanol-soluble extract (%)	Ether-soluble extract (%)	Essential oil content (mL)
AL-1	1.21	1.54	12.19	3.85	0.71	36.25	37.13	5.04	0.07
AL-2	1.64	1.00	11.89	4.05	0.50	22.24	21.77	7.32	0.04
AL-3	1.06	0.32	13.47	4.15	1.31	45.03	49.29	3.62	0.18
AL-4	1.72	0.93	13.03	4.44	1.04	33.06	32.11	4.64	0.09
AL-5	2.24	1.25	11.17	3.30	0.56	18.96	22.84	4.57	0.03
AL-6	1.86	0.93	12.07	3.39	0.50	31.24	29.75	6.78	0.20
AL-7	2.06	1.01	11.37	4.58	0.83	30.78	28.61	5.48	0.12
AL-8	1.76	0.63	16.08	4.24	1.35	54.67	58.89	7.32	0.02
AL-9	1.78	0.91	12.46	3.87	0.55	35.48	34.99	7.00	0.08
Average ( $\pm$ S.D)	1.70 $\pm$ 0.37	0.84 $\pm$ 0.29	12.64 $\pm$ 1.48	3.99 $\pm$ 0.44	0.82 $\pm$ 0.34	34.19 $\pm$ 10.84	35.04 $\pm$ 12.14	5.75 $\pm$ 1.38	0.10 $\pm$ 0.064
IH-1	1.45	N. D.	10.37	6.63	1.07	44.39	34.66	3.84	0.19
IH-2	2.65	N. D.	11.18	5.88	1.37	38.22	31.72	3.49	0.11
IH-3	1.37	N. D.	13.41	4.68	0.52	29.22	31.15	3.88	0.05
IH-4	1.79	N. D.	10.79	6.55	1.01	37.50	27.42	4.93	0.05
Average ( $\pm$ S.D)	1.82 $\pm$ 0.59	N. D.	11.42 $\pm$ 1.38	5.94 $\pm$ 0.90	0.99 $\pm$ 0.35	37.33 $\pm$ 6.23	31.24 $\pm$ 2.97	4.04 $\pm$ 0.62	0.10 $\pm$ 0.066

다. 사업 신청 당시 국외 기술 수준 및 시장현황

1) 기술현황

가) PMS 완화 소재 개발기술 및 제품개발 현황

- 해외 PMS 완화 소재 개발연구 (영양소 제외)는 대부분 임상적 감소요인, 특성 및 원인을 규명하기 위한 연구가 대부분이며, 완화 소재 개발 연구는 상대적으로 적은 것으로 나타났고, 또한 대부분 임상적 적용 연구가 많았음
- 소재 연구는 agnus castus와 관련된 연구가 많았으나, 본 연구개발 소재와 중복되는 소재는 검색되지 않았음
- 또한, 본 연구개발의 prolactin 억제 기전 연구와 유사한 논문을 검색하였으나 대부분 임상적 연구만 수행하였으며, 비임상 효력시험에 대한 자료는 미비함

연구제목	저자	발행기관	발행연도
The treatment of premenstrual syndrome with preparations of Vitex agnus castus: a systematic review and meta-analysis	Verkaik et al.	Am J Obstet Gynecol	2017
The effect of Valerian root extract on the severity of premenstrual syndrome symptoms	Behboodi Moghadam et al.	J Tradit Complement Med	2016
Effect of curcumin on serum brain-derived neurotrophic factor levels in women with premenstrual syndrome: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial	Fanaei et al.	Neuropeptides	2016
The effect of wheat germ extract on premenstrual syndrome symptoms	Ataollahi et al.	Iran J Pharm Res	2015
Effect of treatment with ginger on the severity of premenstrual syndrome symptoms	Khayat et al.	ISRN Obstet Gynecol	2014
Evaluation of the effect of omega-3 fatty acids in the treatment of premenstrual syndrome: "a pilot trial"	Sohrabi et al.	Complement Ther Med	2013
Comparison of Metabolic and Hormonal Profiles of Women With and Without Premenstrual Syndrome: A Community Based Cross-Sectional Study	Hashemi et al.	Int J Endocrinol Metab	2016
Essential fatty acids for premenstrual syndrome and their effect on prolactin and total cholesterol levels: a randomized, double blind, placebo-controlled study	Rocha Filho et al.	Reprod Health	2011
Water Extract of Fructus Hordei Germinatus Shows Antihyperprolactinemia Activity via Dopamine D2 Receptor	Wang et al.	Evid Based Complement Alternat Med	2014
Identification of the Beer Component Hordenine as Food-Derived Dopamine D2 Receptor Agonist by Virtual Screening a 3D Compound Database	Sommer	Sci Rep	2017

- 본 연구개발 후보소재에 대한 prolactin 분비 억제 효능과 dopamine receptor 작용제 연구 논문을 검색한 결과, 그 중 맥아추출물의 prolactin 분비 억제 효능 규명 논문과 그 유효성 분인 hordenine의 dopamine receptor 작용제 효능연구 논문 2건 검색됨
- ※ Wang 등 (2014)은 맥아 물추출물의 항고프로락틴혈증 활성을 dopamine D2 receptor를 통해 나타낸다고 보고하였음

※ Sommer 등 (2017)은 맥아의 유효성분인 hordenine이 dopamine D2 receptor 작용제 역할을 한다고 보고함

- PMS 개선 제품 개발 현황을 보면 천연 추출물, 비타민 B6 등의 제품이 유통되고 있으며, 국내와는 다르게 식이보충제 (dietary supplements) 제품 형태로 많이 유통되고 있음



나) 건강기능식품의 제품개발 및 시장현황 (경쟁기관 현황 포함)

※ 참조: 건강기능식품 시장 동향 (연구성과실용화진흥원, 2016)

- 세계건강기능식품 시장 규모는 2015년 기준 1,179억 달러 (약 131조원)로 연평균 7.3%의 성장을 이루고 있으며, 2020년도에는 약 1,677억 달러 (약 187조원)에 이를 전망이다



(출처 : NBJ's global supplement & nutrition industry report, Nutrition Business Journal, 2014)

- 세계 시장에서 미국이 약 404억 달러 (약 45조원, 점유율 34.3%)로 가장 큰 규모의 시장을 형성하고 있으며, 중국이 약 163억 달러 (약 18조원, 점유율 13.8%), 일본이 약 109억 달러 (약 12조원, 점유율 9.2%)의 시장을 형성하고 있음

- 한국은 21억 달러 규모의 시장을 형성하고 있으며, 점유율은 1.78%를 차지함

(단위 : 억 달러 또는 %)

구분	2015년	2020년	연평균 성장률	점유율 (2015년 기준)
미국	404	568	7.1	34.3
서유럽	168	190	2.5	14.2
중국	163	267	10.4	13.8
아시아(중국, 일본 제외)	118	187	9.5	10.0
일본	109	122	2.3	9.2
남미	89	155	11.7	7.5
그 외	127	188	8.2	10.8
합계	1,179	1,677	7.3	100.0

(출처 : NBJ's global supplement & nutrition industry report, Nutrition Business Journal, 2014)

○ 주요 국가별 시장규모 및 주요 연구분야

구분	미국	중국	일본
시장 규모	· 404억 달러(45조 원) · 연평균 성장률 : 7.1%	· 163억 달러(18조 원) · 연평균 성장률 : 13.8%	· 109억 달러(12조 원) · 연평균 성장률 : 2.3%
주요 소비 분야	· 멀티 비타민 · 천연물/전통 식품보충제	· 비타민 및 무기질	· 비타민 및 무기질
성장 분야	· 비타민 B, D · 프로바이오틱스	· 칼슘제	· 시력 보호 · 수면 보조
기업 동향	· 대형 기업이 시장 선점 · 대규모 유통망을 통해 판매	· 점유율 10위 기업 중 외국 기업 3개 포함 · 직소판매형식 <sup>3)</sup>	· 드럭 스토어, 통신 판매 등 다양한 판매 · 자체 브랜드 제품의 성장

○ 미국의 제품개발 및 시장현황

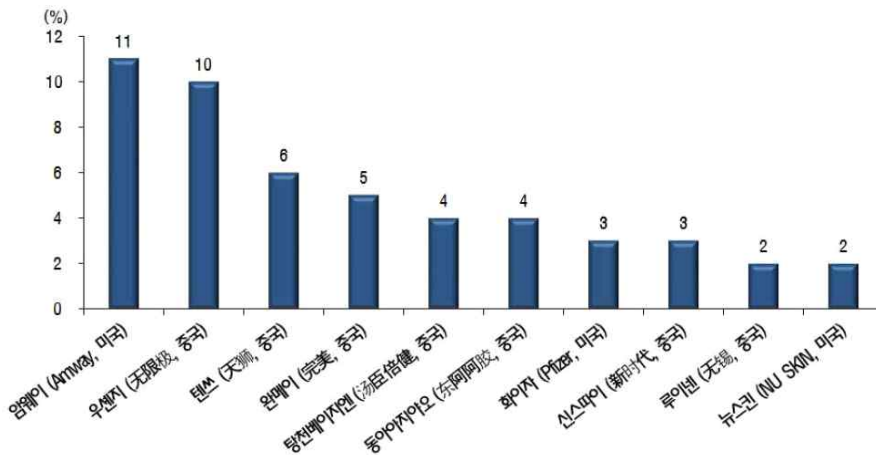
- 미국의 건강기능식품 시장은 비타민 시장이 104.9억 달러로 가장 큰 점유율을 차지하고 있으며, 식품 보충제 시장은 천연물/전통 식품 보충제가 34.7억 달러 (약 3조 9,002억원)의 시장을 형성
- 대부분 자국 제품을 이용하고 있으나, 인삼 및 홍삼 제품은 중국과 한국 등에서 수입하고 있으며, 대부분 대형 기업들이 시장을 선점하고 있음
- NBTY는 대규모의 유통망 확보를 통하여 주요 브랜드인 Nature's Bounty와 Sundown를 소매점에서 판매하고 있으며, 다른 자사 브랜드들도 인터넷과 건강식품 전문점 운영을 통해 판매 중임
- General Nutrition Center(GNC)는 비타민과 식이보조제품, 운동 보조제, 체중 감량제를 주로 제조하며, 미국 전역에서 5,300여개의 전문 상점을 운영하고 있음
- CVS Health는 미국 전역에 1,660개 이상의 매장을 가지고 있는 약국·클리닉 사업부 인수 (2015년 6월)를 통해 오프라인 매장을 확대함
- 소규모 업체들은 다른 시장의 대형업체와 파트너십을 통해 시장 경쟁력을 기르고 있으며, 특히 Private Label 업체인 Perrigo Company는 Ferrara Candy Company와 공급 계약 (2015년 1월)을 통해 다양한 비타민 제품 출시를 준비하고 있음

○ 중국의 제품개발 및 시장현황

- 중국 건강기능식품 시장은 약 163억 달러 (약 18조 원, 2015년) 규모로 연평균 13.8%씩 성장하여 2020년에는 약 267억 달러 (약 30조 원)에 이를 것으로 전망되며, 건강관리에 대한 인식 확산 및 인구 규모 등을 고려할 때 중국 시장은 더욱 성장할 것으로 예측됨
- 건강관리에 대한 관심 증가 이외에도 중국 시장의 성장 요인으로는 2009년에 실시한 의료제도 개혁에서 국민 건강의 중점을 치료가 아닌 예방에 두고 있다는 것과 사스, 조류인플루엔자 등의 전염병 발생으로 국민들이 면역력 강화를 목적으로 다수의 건강기능식품을 이용하게 되었다는 점, 중국 정부의 가격 간섭을 받지 않아 최근 가격상승 경향이 계속되고 있다는 점으로 예측할 수 있음
- 중국의 건강기능식품시장에서 비타민 및 무기질이 점유율 50.7%로 1위를 차지하고 있으며, 영양소 보충제 중 칼슘제의 2014년 판매액은 약 24억 달러(약 2조 7,000억원)으로 2010년 대비 약 2배 성장함
- 보건식품 소비 품목은 주로 면역 조절, 항피로, 항노화, 혈중 지방 조절 등의 기능으로 집중되어 있으며, 천연 보건식품의 끊임없는 요구로 천연 영양 보건식품 수요가 증가할 것으로 예측됨



- 건강기능식품 수출액은 2.7억 달러(약 3,000억 원, 2014년)로 2013년 대비 8.9% 증가하였으며, 어유, 레시틴, 로열젤리 등이 건강기능식품 원료로 98개 국가와 지역으로 수출되고 있음
- 수입액은 11.8억 달러(약 1조 3,000억 원, 2014년)로 2013년 대비 8.3% 증가하였으며, 비타민류가 전체 수입 품목 중 26.1%로 1위를 차지하였고, 식물 추출물(23.6%), 아미노산류(20.8%), 연골소(4.11%)가 그 뒤를 차지함
- 건강기능식품 시장 점유율은 1~10위 기업이 전체 시장의 50%를 차지하고 있으며, 특히 점유율 10위 내 기업 중 외국 기업은 3개(암웨이, 화이자, 뉴스킨)로 초기 중국시장에 진출하여 직접 판매하는 형식으로 영업 활동을 진행하고 있음
- 암웨이는 뉴트리라이트 시리즈의 판매로 11%의 점유율(판매율 1위)을 차지하고 있으며, 우셴지(无限极)는 아동 건강 보건의료의 수요 증가와 함께 매출액이 매년 증가하고 있음
- 탕첸베이제엔(汤臣倍健)은 연간 매출의 3% 이상을 신제품과 특허 개발에 투자하고 있으며, By-Health(면역력 증진 기능) 제품이 대표적임
- 화이자는 칼슘제 브랜드인 칼트레이트와 센트룸 시리즈의 판매량이 높으며, 이들 제품의 확대 생산을 위하여 쑤저우 공장 건설에 착수함(2016년)
- 중국의 한국 건강기능식품 수입 금액은 0.1억 달러(112억 원, 2011년)에서 0.4억 달러(483억 원, 2015년)로 연평균 44.3% 증가하고 있는 추세이며, (주)KT&G, 일양약품(주), 일동제약(주), (주)풀무원, (주)개성인삼협동조합 등에서 제조한 건강기능식품이 수출 등록되어 있음(2016년 3월 말 기준)



(출처 : 중국 건강보조식품산업 현황분석, 한국무역협회, 2016)

#### ○ 일본의 제품개발 및 시장현황

- 일본 건강기능식품 시장은 약 109억 달러(약 12조 원, 2015년) 규모로 연평균 2.3%씩 성장하여 약 122억 달러(약 14조 원, 2020년)에 이를 것으로 전망되며, 급속히 고령화되는 사회, 라이프 스타일의 변화로 야기된 질병, 건강관리에 대한 관심 등이 꾸준하기 때문에 완만한 성장은 계속될 것으로 전망됨
- 특히 일본은 다른 주요 국가들과는 달리 시력 보호 및 수면 보조 관련 제품이 2015년 주목을 받았으며, 중년 이후 원시 증상을 완화해 주는 눈 영양제를 기능성 표시 식품으로 출시하면서 시력보호 기능 시장은 전년 대비 7.6% 성장함
- 대부분의 완제품 형태의 건강기능식품은 「식품위생법」이나 「건강증진법」 하의 엄격한 규제를 피하기 위해 일본 국내에서 제조되고 있으며, 제품에 함유된 첨가제, 보존제, 식용색소 및 향료 등의 주요 성분에 대한 자세한 기술사항 및 증명서가 없이는 통관이 되지 않는 등 규제가 엄격함
- 건강기능식품의 기존 판매는 방문판매에 한정되어 있었으나 규제 완화로 인하여 드럭 스

토어, 통신판매 등 판매 방식이 다양해지고 있으며, 소비자들의 가격 대비 가치를 따지는 성향이 강해지면서 유통업체의 자체 브랜드 제품의 성장세가 나타남

- 일본 내 가장 많은 점포를 보유하고 있는 드럭 스토어인 마츠모토키요시가 자체 브랜드의 비타민 제품 및 식이보조 제품군을 출시하여 유통하고 있으며, 드럭 스토어 연합인 HapYcom는 자체 브랜드의 비타민 및 식이보조제품을 출시하여 유통하고 있음
- 한국산 인삼 및 홍삼제품은 고급품으로서의 인식이 강하며 50대 이후의 중장년층이 주요 구매대상이나 제품 수준이 전통적 이미지에만 머물러 있고 신제품 개발이 미흡하여 아직은 선물용과 건강에 도움이 되는 정도로 인식되고 있음

## 2) PMS 개선 소재의 지식재산권 현황

- PMS에 대한 해외 특허 (미국, 유럽, 일본, 중국, PCT)를 조사한 결과 약 9,000 여개의 특허가 검색되었으며, 이 중 최근 10년의 해당 연구개발 관련 PMS 개선 소재와 관련된 특허를 조사함
- 국내 동향과는 달리 해외에서는 PMS에 대한 지식재산권 확보가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 중국의 경우 전통한약재의 특허출원이 매우 활발하지만, 대부분 출원에 그치고 있고 등록건수는 거의 없음

명 칭	출원/등록번호	출원인/국가	출원/등록일
Pharmaceutical composition for treating premenstrual tension syndrome and preparation method thereof	201410015059	BEIJING NUOXIN PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD / 중국	2014.01.14
Chinese and western medicine compound preparation for premenstrual syndrome	201510677440	YUE YONGLEI / 중국	2015.10.16
Traditional Chinese medicine for treating cyclomastopathy and premenstrual syndrome and preparation method of traditional Chinese medicine	201610039569	SHENZHEN T'AI CHI BREAST BIOTECH CO., LTD. / 중국	2016.01.21
Chinese medicine for treating premenstrual syndrome	201110379437	Wendeng Stomatological Hospital Mishan Road Oral Clinic / 중국	2011.11.08
Compound angelica-Szechuan lovage rhizome soup used for treating premenstrual catatonic syndrome	200910016056	Wang Hairong / 중국	2009.06.16
Traditional Chinese medicine composition for treating premenstrual syndrome and preparation method of traditional Chinese medicine composition	201510038002	GE YANXIN / 중국	2015.01.27
COMPOSITION HAVING A FUNCTION FOR ALLEVIATING PREMENSTRUAL SYNDROME AND MENSTRUAL PAIN	14819802 / 14902392	Amorepacific Corporation / 유럽, 미국	2014.06.19
Composition for treatment or reduction of symptoms related to premenstrual syndrome (pms), premenstrual disphoric disorder (pmdd),	14001905 / 14292587	EMS S.A. / 유럽, 미국	2014.06.02

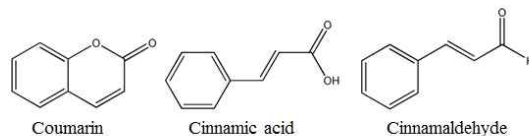
premenopause, menopause or female hormonal disorders in a pharmaceutical composition containing said form, and process for producing said pharmaceutical form and use of said composition			
Compositions for use in alleviating symptoms associated with premenstrual syndrome and premenstrual dysphoric disorder	02769725	Lipogen Ltd. / 유럽	2016.06.29. (등록)
Compositions and methods of treatment for alleviating premenstrual syndrome symptoms	08399432	David Rutenberg Rina Perry Faierwerger / 미국	2013.03.19. (등록)
Nutritional health-care product for improving premenstrual syndromes	2012105749 86	Dongguan Zhaoyan Biological Technology Co., Ltd. / 중국	2012.12.26

○ 검색된 특허 중 BEIJING NUOXIN PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY는 PMS 개선 약학적 조성물에 대한 특허를 출원하였으며, 시호, 치자나무, 옛기름 (맥아), 질국대 등을 포함

- 맥아의 경우 본 연구개발을 위한 후보소재와 중복되나 혼합소재가 다르다는 점에서 지식 재산권을 확보할 수 있으며 (혼합물의 경우), 다른 후보소재의 경우 중복된 소재는 없음

### 3) PMS 개선 후보소재의 국외 표준화 현황

○ Jeong 등은 계지와 육계의 지표성분 coumarin, cinnamic acid, cinnamaldehyde의 함량을 분석함 (Natural Product Sciences, 2013)

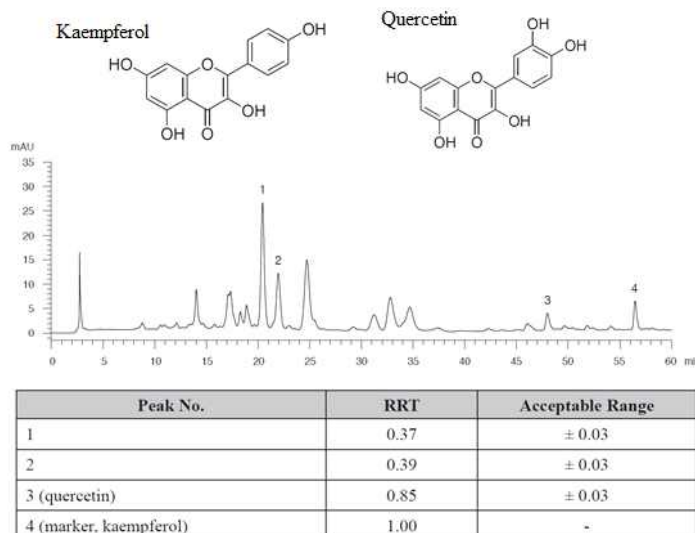


**Table 5.** Average contents (wt %, n = 3) of three components in Cinnamomi Ramulus and Cinnamomi Cortex samples

	Coumarin (1)	Cinnamic acid (2)	Cinnamaldehyde (3)
	mean ± S.D.	mean ± S.D.	mean ± S.D.
Cinnamomi Ramulus (n = 38) <sup>a</sup>	0.09 ± 0.06	0.08 ± 0.03	1.75 ± 0.54
Cinnamomi Cortex (n = 35) <sup>b</sup>	0.30 ± 0.22	0.04 ± 0.03	3.21 ± 1.28

<sup>a</sup> R01 – R38; <sup>b</sup> C39 – C73

○ 중국 한약재 표준화 정보에서 금전초의 지표성분 및 분석방법, 함량 정보가 기재됨

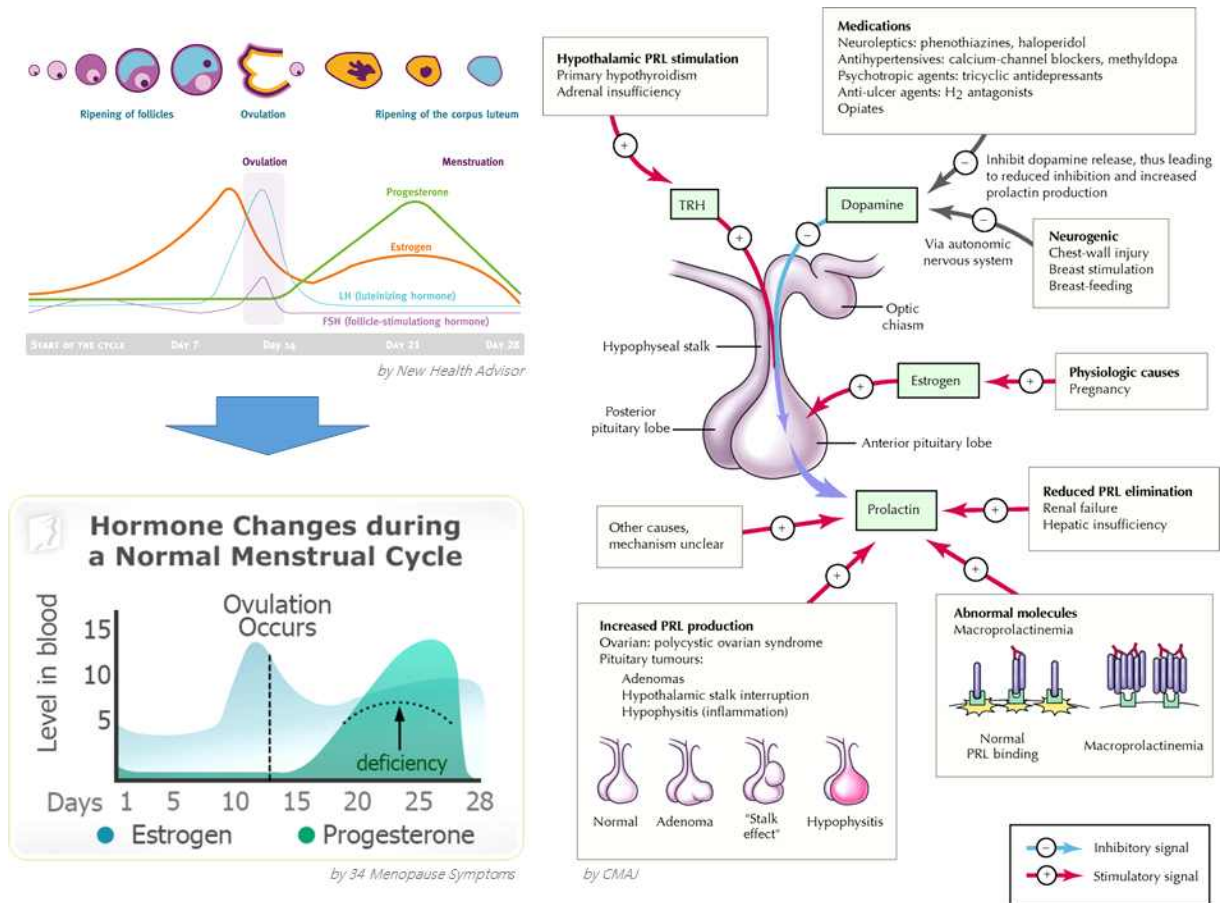


라. 연구개발의 중요성

1) 여성 생리전증후군 완화를 위한 제품개발의 필요성

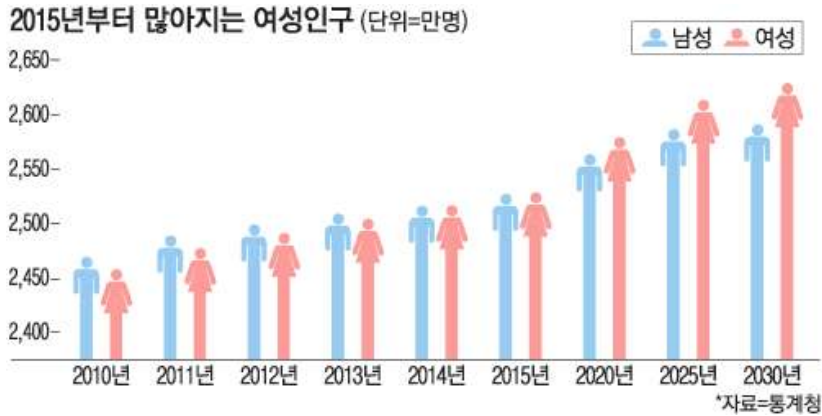
가) 생리전증후군 (PMS)의 개요

- 국제질병분류 (International Classification of Disease, [ICD]-10)에서 정의한 바와는 경미한 정신적 장애 (minor psychological discomfort), 더부룩함 (bloating), 체중 증가 (weight gain), 유방 압통 (breast tenderness), 근육통 (muscular tension or aches), 집중력 저하 (poor concentration), 식욕 변화 (change in appetite)의 7가지 증상 중 1가지 이상 만족시키면서 이러한 증상이 월경주기 중 황체기에만 국한될 때 월경전증후군으로 진단할 수 있다고 정의함
- PMS의 발생 원인은 명확하게 규명되지 않았지만, 유전적 성향과 배란 생리주기, 약물복용, 흡연, 음주 및 카페인 섭취, 식사패턴, 피임약 복용, 감정상태 및 결혼상태 등의 생활습관 및 사회적 요인, 그 밖에 연령, 신장과 체중, 출산 및 월경력, 스트레스 등도 PMS와 관련이 있음이 보고되어 있음
- 최근에는 월경 주기에 따라 변화하는 여성 호르몬과 황체 호르몬이 각종 뇌신경 전달물질에 영향을 미쳐 PMS의 발생을 유도할 수 있다고 보고되어 있으며, 특히, 프로게스테론과 에스트로겐의 불균형, 도파민 감소로 인한 프로락틴의 증가, 세로토닌의 감소 등의 호르몬 문제가 PMS의 발생에 매우 중요하게 작용한다고 보고되어 있음

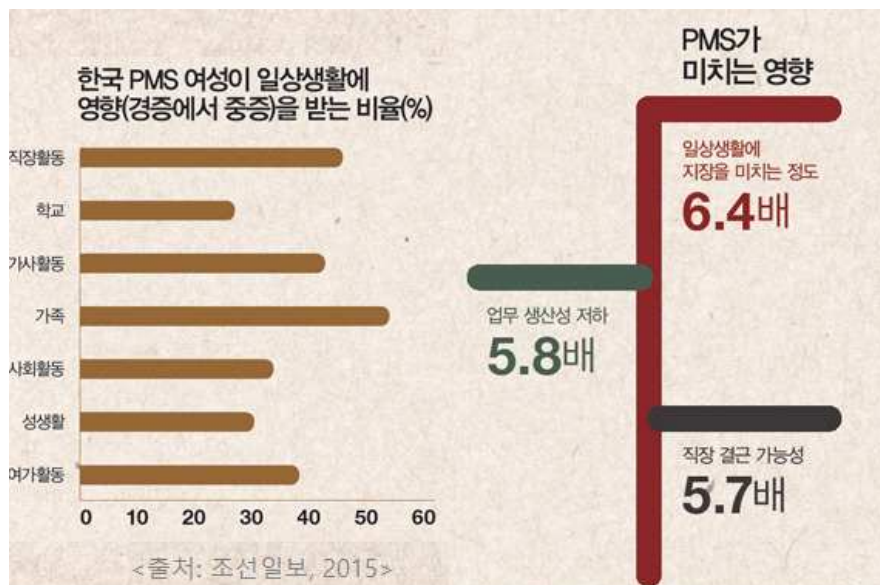


나) PMS 완화 개별인정형 건강기능식품 개발의 필요성

- 2015년 대한민국 인구통계서에 따르면, 2013년 대비 남성보다 여성 인구가 대폭 늘어났으며, 2015년 처음으로 남녀 비율이 역전되는 현상이 벌어졌음



- 그러나, 여성들의 출산, 육아 문제와 맞물린 경쟁력 제고는 여전히 사각지대에 놓여 있음
- 특히, 여성의 삶의 질을 향상시키기 위해서는 사회활동이 가장 활발한 가임기 여성 80%가 겪는 PMS에 대해 적극적인 대처가 필요함
- PMS는 생리전 발생하는 여성 질환으로 가슴·아랫배 통증, 두통 등 신체적 증상과 감정기복, 우울감, 짜증 등 정신적 증상을 동반하며, 심할 경우 도벽이나 자살충동 같은 심신 장애를 일으킬 수 있어 유럽 각국에서는 일찍부터 그 심각성을 명시해왔음
  - 평균적으로 여성은 일생 동안 약 4백~5백 회의 월경을 반복하는데, 한 번의 월경을 할 때 PMS를 겪는 기간이 4~7일인 점을 감안하면 평생 4~10년, 즉 3천일이란 시간 동안 PMS라는 고통에 노출되는 셈이나 우리나라에선 아직 PMS에 대한 문제 인식이 부족한 실정임
- PMS를 겪는 직장인 여성을 조사한 결과, 일반 여성보다 직장 결근율은 5.7배, 업무 생산성 저하는 5.8배, 일상생활에 지장을 미치는 정도는 6.4배 가량 높은 것으로 나타났음
  - 2005년 발표된 한 논문에 따르면 PMS로 인한 결근과 생산성 저하로 인한 재정적 손실은 1인당 약 4천3백 달러에 달한다고 보고됨
  - 연령대별 PMS 강도는 일과 가사, 육아를 병행하는 35세가 가장 높아 이 시점의 여성은 자녀와 가족, 직장 모두에게 영향을 미치므로 PMS에 대한 관리가 필요함



- 국내 PMS 관련 기능성 원료 (월경전 상태 개선)는 감마리놀렌산이 유일하나 그 효과가 미비하여 상품성이 부족하며, 2017년 7월 고시형 원료로 전환되어 전문성이 떨어질 것으로 사료됨
  - PMS를 겪는 여성은 중추신경계, 유방조직 등에서 prostaglandin의 결핍현상이 나타난다고 알려져 있는데, 감마리놀렌산의 섭취는 대사산물인 prostaglandin의 생성을 유도하여

자궁의 과다 수축을 억제한다고 알려져 있으며, 특히 생리 전 여성들의 호르몬 변화로 오는 히스테리 증상에 유용성이 있는 것으로 알려져 있음

- 그러나, 감마리놀렌산은 갱년기 증상 개선과 생리전 증후군에 효과가 미비하다는 것이 많은 논문들에 의해 밝혀졌으며, 실제로 감마리놀렌산의 매출이 각종 이슈에 의해 증가했다가 재구매로 이어지지 못하고 수요가 감소하는 패턴을 보여왔으므로 이를 대체할 수 있는 신규의 월경전 상태 개선 기능성 원료의 개발이 필요함

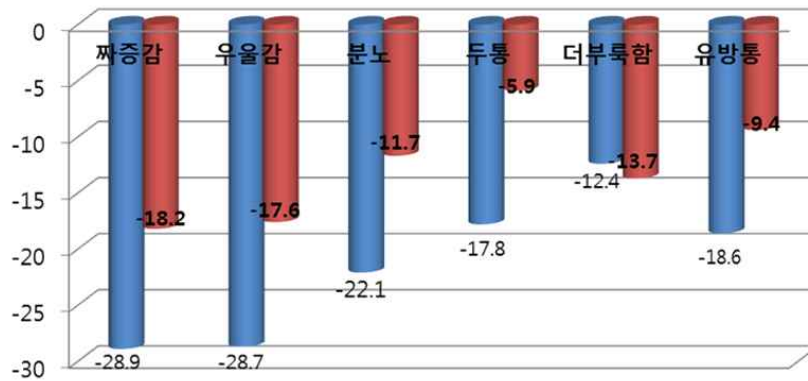


다) Dopamine 수용체 활성화를 통한 prolactin 분비 억제 제품 개발의 필요성

- 현재 PMS 치료제로 판매되고 있는 프리페민정 (중근당)은 순결나무 열매 (아그누스 카스투스, Vitex agnus castus, Chaste Tree)에서 추출한 생약성분이 함유된 일반의약품으로 아그누스 카스투스 열매는 유럽에서 전통적으로 PMS와 월경불순 치료에 사용되고 있으며, 프리페민정은 아그누스 카스투스 열매 60% 에탄올 연조엑스 20 mg을 함유하고 있음
- 작용기전은 충분히 밝혀지지 않았으나 아그누스 카스투스에 존재하는 dopaminergic compounds (도파민성 화합물)에 의한 것으로 추측되고 있음
- 뇌하수체의 도파민 수용체중 하나인 D2 수용체에 작용하여 과다한 prolactin 분비를 줄임으로서 여성 호르몬의 균형을 유지시켜 다양한 증상을 완화시키는 것으로 추정됨



- 프리페민정의 PMS 완화 효과를 측정하기 위한 임상시험에서 짜증감, 우울감, 분노, 두통, 유방통 등의 신체적 및 정신적 증상의 개선 효과가 50% 이하로 나타났으며, 이는 도파민 수용체 조절에 따른 프로락틴 분비 억제 효과가 PMS 증상 완화에 도움을 준다고 예측할 수 있음
- 그러나, 단일추출물에 의한 부작용을 완화할 수 있는 기반을 갖추고 있지 않아 알리지 반응, 피부반응, 두통, 어지럼증, 소화장애, 여드름, 월경의 빈도나 양의 변화 등의 이상반응이 나타남
- 프리페민정은 일반의약품으로 안전성 보다는 기능성에 기반을 두고 있음



- 이에 본 연구개발 사업에서는 이미 PMS 개선 효능이 증명된 dopamine 수용체 활성화를 통한 prolactin 분비 억제 기전을 활용하고자 하며, 이러한 기전을 중심으로 천연자원 기반의 여성 PMS 완화 소재를 개발하고, 이를 활용하여 월경전 상태개선 개별인정형 건강기능식품을 제품화 하고자 함
  - 프리페민정의 부작용을 보완하기 위하여 dopamine 수용체 활성화 및 prolactin 분비 억제 시 발생할 수 있는 이상반응을 확인하고, 이를 완화할 수 있는 소재를 혼합하여, 그 기능성은 유지하면서 부작용을 보완할 수 있는 제품을 개발하고자 함

2) PMS 완화 후보소재의 개요 및 제품개발의 중요성

- 본 연구개발을 위한 선행연구에서 뇌하수체 세포 증식 효능을 나타내는 소재인 계지, 육계, 금전초, 노회외 4종과 prolactin 분비 억제 소재인 구절초, 맥아, 목향외 3종을 선별하였으며, 추후 기능성 검증과 표준화 확립이 가능한 소재를 선별하여 후보소재로 연구를 진행하고자 함
  - 본 연구개발을 위한 후보소재 7종은 전부 생약규격집에 등재되어 있어 타소재에 비해 연구개발이 유리하며, 금전초를 제외한 6종의 소재는 식품원재료 목록에 등재되어 있어 안전성이 확보된 소재라 할 수 있음
  - 그러나, 추출물의 경우 대부분 추출물 상태의 섭취량의 근거가 미흡하거나 기존 섭취량보다 증가하여 식약처에서 식품원재료일 경우에도 설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복투여 독성, 유전독성의 시험을 권고하고 있음 (식약처 Q&A를 통해 확인)

가) 계지 (Cinnamomi ramulus) 및 육계 (Cinnamomi cortex)

- 대한약전 9개정에는 육계는 육계 (*Cinnamomum cassia* Blume) 또는 기타 동속 근연식물 (녹나무과, Lauraceae)의 수피 또는 주피를 다소 제거한 수피라고 규정하고 있으며, 계지(桂皮)는 대한약전외한약(생약)규격집에 육계 또는 기타 동속 근연식물 (녹나무과)의 어린가지라고 규정되어 있음
  - 중국의 중화인민공화국약전에는 *Cinnamomum cassia*의 수피를 육계(肉桂), 어린가지를 계지(桂枝)라고 규정하고 있으며, 일본의 제15개정 일본약국방에 계피는 *Cinnamomum cassia*의 수피 또는 주피의 일부를 제거한 것이라고 규정하고 있음
  - 본 연구개발을 위한 선행연구에서 계지와 육계는 뇌하수체 세포 증식효과를 나타내는 소재로 선정되었으며, 또한, 식약처 식품원재료로 등재되어 있어 식품원료로 개발하기 용이함



계지



육계

원재료	이명 또는 영명	학명 또는 특성	생약명	가능	제한	사용부위
계피	시나몬, Cassia, Chinese cinnamon	<i>Cinnamomum cassia</i> (L.) Presl / <i>Cinnamomum aromaticum</i> Nees	-	○	×	가지※(계지), 줄 기껍질※(육계)

- 계지는 중국 원산이며, cinnamaldehyde, coumarin,  $\beta$ -sitosterol, protocatechuic 등의 화학 성분을 함유하는 것으로 알려져 있으며, 발한, 해열, 진통, 강심, 항알러지, 항바이러스, 항균 작용 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있음
  - 계지에 대한 연구로는 AP-1 불활성화에 의한 대장암 성장 억제, cell cycle 억제에 따른 항암 활성, 혈관 신생 억제 활성, NF- $\kappa$ B의 억제를 통한 2'-hydroxycinnamaldehyde의 NO 생성 억제 효과, cinnamaldehyde의 림프구 증식 억제와 T-cell 분화 조절에 관한 연구 등이 있음
- 육계는 정유를 1~3% 함유하고 있는데, 그 중 80~90%가 phenylpropanoid인 cinnamaldehyde이며, 그 밖에 cinnamyl acetate, phenylpropyl acetate, cinnamic acid, salicylaldehyde 등이 포함되어 있음
  - 또한 cinnzeylanine, cinnzeylanol, cinncassiol A, B, C1~3, D1~4, E, anhydrocinnzeylanine 등과 같은 diterpenoid 성분과 (-)-procyanidin B2, B5, C1, cinnamtannin A2~4 등과 같은 tannin 성분 등이 포함되어 있음
- 육계는 혈관 확장, 혈액순환촉진, 진정, 해열, 건위작용 등의 효능이 보고되어 있으며, 혈액 응고 억제, 항암, 미생물생육억제, 항산화, 항궤양, A $\beta$  생성억제 작용 등에 대한 연구가 보고됨
  - 기능성을 나타내는 주성분으로는 cinnamic acid와 cinnamaldehyde 등이 알려져 있으며, 보건복지부에서 시행한 한약재 품질표준화 연구사업의 결과에서 육계의 지표물질로 cinnamic acid를 추천하고 있음

#### 나) 금전초 (Lysimachiae Herba)

- 금전초는 앵초과 (Primulaceae)에 속하는 큰가지풀 *Lysimachia christinae* Hance의 전초로서 청열해독, 이담, 배석, 이뇨 등의 효능을 이용하여 발한, 이뇨, 해열, 황달, 해독, 수종 등에 사용하였으며, myricetin, kaempferol, quercetin 등의 성분이 주요성분으로 보고되어 있음
  - 본 연구개발을 위한 선행연구에서 금전초는 뇌하수체 세포 증식효과를 나타내는 소재로 선정 되었으나, 금전초는 식품원재료에 등재되어 있지 않은 소재로 안전성이 미확보되어 있으며, 본 과제를 위한 선행연구에서 금전초는 뇌하수체 세포 증식 효과가 다른 3종의 소재에 비해 미비함

#### 다) 노회 (Aloe)

- 노회는 백합과의 다년생 초목으로 *Aloe barbadensis* L. *A. ferox* Miller, *A. africana* Miller 또는 *A. spicata* Baker의 잡종의 잎에서 얻은 액즙을 모아 증진하여 괴상으로 만든 약재이며, aloin(barbaloin), isobarbaloin,  $\beta$ -barbaloin 및 수지를 함유하고 있음
- 노회는 전통적으로 피부암, 화상, 습진, 건선 등의 피부질환에 많이 사용되었으며, 피부 보습 및 홍반 억제 효과, 항산화 효과, 창상 치유 효과, 항변비 효과, 항균 효과, 항골다공증 효과가 보고되어 있음
  - 본 연구개발을 위한 선행연구에서 노회는 뇌하수체 세포 증식효과를 나타내는 소재로 선정되었으며, 식약처 식품원재료로 등재되어 있어 식품원료로 개발하기 용이함
  - 또한, 기존 프로락틴 분비 억제 약물의 부작용인 피부트러블의 부작용을 완화하기 위한 소재로 적절함



원재료	이명 또는 영명	학명 또는 특성	생약명	가능	제한	사용부위	
알로에	노회	<i>Aloe barbadensis</i> L. / <i>Aloe ferox</i> Miller / <i>Aloe africana</i> Miller 또는 <i>Aloe spicata</i> Baker의 잡종	-	○	X	잎에서 얻은 액즙※(노회)	

라) 구절초 (Chrysanthemi Zawadskii Herba)

- 구절초는 국화과에 속하는 다년생 초본으로 전초를 구절초라 하여 한방이나 민간에서 폐렴, 기관지염, 기침, 감기, 인두염, 방광질환, 부인병, 냉증, 위장병, 고혈압 등에 사용되어 왔으며, 주요성분으로 flavonoid계 화합물인 linarin과 coumarin계 화합물인 hydroxycoumarin, scopoletin 및 esculetin, polyacetylene계 화합물, sesquiterpene lactone계 화합물인 angeloylcumambrin B, cumambrin A, 정유성분인 chamazulene가 보고되어 있음
- 구절초 추출물 및 linarin은 항염증 작용, 해열작용 및 간 보호 작용이 보고되어 있으며, sesquiterpene lactone은 항종양 활성, 암세포 세포독성, 타감 작용, 항균작용 및 살충작용 등이 알려져 있고, 위장 세포의 보호 작용이나 진통 작용, 항산화 등과 같은 다양한 약리 활성이 보고되어 있음
- 본 연구개발을 위한 선행연구에서 구절초는 뇌하수체 세포에서의 prolactin 분비 억제효과를 나타내는 소재로 선정되었으며, 식약처 식품원재료 정보에 제한적 원료로 등재되어 있어 식품원료로 개발하기 용이함 (혼합물 중 50% 이내 구성)

원재료	이명 또는 영명	학명 또는 특성	생약명	가능	제한	사용부위	
구절초	-	<i>Chrysanthemum zawadskii</i> Herbach var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitamura / <i>Chrysanthemum zawadskii</i> var. <i>coreanum</i>	전초 (구절초)	X	○	전초	

마) 맥아 (Hordei Fructus Germinatus)

- 맥아는 벼과의 대맥 *Hordeum vulgare* L.의 싹을 내어 말린 후 살짝 볶아서 만든 약제로써 맥아효소인 amylase가 생성되고 엿기름이라 하여 맥주 양조의 원료로 사용되기도 함
- 한의학에서는 비위허약으로 인한 소화장애, 소화불량과 유즙분비 부족 등을 치료하는데 사용되었으며, 특히 유즙 분비가 과다할 때 맥아를 사용하여 왔는데, 이는 맥아 추출물이 dopamine D2 receptor의 활성화를 유도하여 prolactin의 분비를 억제하기 때문이라고 보고됨
- 맥아에는 엿기름 성분 (diastase, investase, dextrin) 등의 소화 촉진 효소 이외에도 hordenine의 알카로이드 성분이 보고됨
- Hordenine은 에피네프린과 유사한 교감신경 흥분 효과를 가지고 있어 혈관을 수축시키고, 기관지를 이완시키며, 장관 운동을 억제한다고 보고됨
- 본 연구개발을 위한 선행연구에서 맥아는 뇌하수체 세포에서의 prolactin 분비 억제효과를 나타내는 소재로 선정되었으며, 이는 기존연구에서 밝혀진 기능성과 일치함으로써 PMS 완화 소재 개발을 위한 연구개발 소재로 매우 큰 가능성이 있음을 시사함
- 또한, 식약처 식품원재료로 등재되어 있어 식품원료로 개발하기 용이함

원재료	이명 또는 영명	학명 또는 특성	생약명	가능	제한	사용부위	
보리	겉보리, 알보리, 곡맥, 대맥, 엿기름, 맥아, Barley	<i>Hordeum vulgare</i> L. / <i>Hordeum vulgare</i> var. <i>hexastichon</i> (L.) Asch. / <i>Hordeum vulgare</i> var. <i>nudum</i> Spenn.	-	○	X	씨앗 순(겨(속껍질))	

바) 목향 (Aucklandiae radix)

- 목향은 국화과에 속한 *Aucklandia lappa* Dencne.의 뿌리로 이기, 건비, 지통 등을 위해 사

용되었으며, *Saussurea lappa* Clarke로 명명되기도 함

- 목향은 정유를 0.3~3% 함유하고 있으며, 정유성분으로는 costunolide, dihydrocostunolide, costuslactone, dihydrocostuslactone, α-costol, saussurea lactone 등이 포함되어 있음
  - 우리나라 생약규격집과 중국의 중화인민공화국약전에서 목향의 지표성분은 costunolide 와 dehydrocostuslactone으로 규정되어 있으며, 그 총량이 1.8% 이상 함유하는 것을 규정 하고 있음
  - 이 중 costunolide는 항염증, 항암, iNOS 생성 억제, 위액분비, 위장관운동 항진작용, 항게 양 작용 등이 보고되어 있음
  - 본 연구개발을 위한 선행연구에서 목향은 뇌하수체 세포에서의 prolactin 분비 억제효과 를 나타내는 소재로 선정되었으며, 식약처 식품원재료 정보에 제한적 원료로 등재되어 있어 식품원료로 개발하기 용이함 (혼합물 중 50% 이내 구성)
  - 그러나 구절초 및 맥아에 비해 프로락틴 분비 억제 효능이 미비하여 back-up 소재로 활 용하고자 함 (후보물질의 효능, 흡수율, 제형 개발 한계 시 검토)

원재료	이명 또는 영명	학명 또는 특성	생약 명	가능	제한	사용부위
토목향	목향, Scabwort, Yellow-starwort	<i>Inula helenium</i> L	-	X	O	뿌리



바) 문헌조사를 통한 최종 후보소재 도출

- 본 연구개발을 위한 선행연구에서 뇌하수체 세포 증식 소재 4종 (계지, 육계, 금전초, 노회) 과 prolactin 분비 억제 소재 3종 (구절초, 맥아, 목향)을 선별하였으며, 이 중 뇌하수체 세포 증식 소재 1종과 prolactin 분비 억제 소재 2종 또는 prolactin 분비 억제 소재 2종을 혼합하여 최종 후보소재로 도출하고자 함
- 뇌하수체 세포 증식 소재 중 가장 효능이 우수하면서 식품원재료로 등재되어 있고, 표준화 를 위한 원재료의 지표성분이 규정되어 있는 육계 또는 노회를 선정하고자 함
- 뇌하수체 세포에서 prolactin의 분비를 억제하는 소재 3종 중 효능이 우수하면서 식품원재 료로 등재되어 있고, 표준화가 원활한 소재인 구절초, 맥아를 선정하고자 함
- 본 연구개발을 위한 최종 후보소재로 육계 또는 노회, 구절초, 맥아 추출물을 선정 후 혼합 하여 기능성 원료 인정을 위한 연구를 수행하고자 함

마. 본 연구개발의 범위

1) 연구개발의 추진 전략·방법

가) 천연자원 추출물 library 구축에 따른 PMS 완화 소재 탐색

- 제1협동기관에 구축되어 있는 천연자원 추출물 library를 통한 소재 탐색
  - 1차 스크리닝을 통한 7종의 후보소재 선정
- 주관기관에서 최종 사업화 후보소재 도출
  - 1협동기관 연계를 통한 in vitro 효능 검증 및 문헌조사
  - 최종 2종의 사업화 후보소재 (복합원료 소재) 도출

나) 후보소재 원재료 확보 및 추출물 제조

- 주관위탁기관에서는 연구개발을 위한 원재료 구입 및 공급
- 주관기관에서 최적추출용매 선정 (1협동기관 in vitro 효능 검증 지원)
- 제2협동기관에서 lab scale 원료 생산
  - 각 기관에 연구개발을 위한 원료 공급

다) 후보소재의 유효성분 규명 및 지표성분 설정

- 주관기관에서 기존 문헌 등의 검색을 통한 유효성분 분리 및 규명

- 제1협동 기관에서 각 유효 성분의 PMS 완화 효능 검토
- 주관기관에서 기능성을 특정 지을 수 있는 지표성분 설정 및 분석법 개발
- 라) 혼합비율 설정에 따른 최종 복합원료 생산 및 검증
  - 주관기관에서 2종의 원료 혼합비율별 지표성분 함량 분석
    - 제1협동기관에서 in vitro 효능 분석
  - 주관기관에서 최종 복합원료 규격설정 및 표준화 확립 (주관 위탁 참여)
    - 공인시험기관 검증 의뢰 후 인증
  - 제2협동기관에서 복합원료의 제조공정 확립에 따른 대량생산체계 확립
    - 3 batch 복합원료 대량 생산 및 안정성 확보
- 마) 복합원료의 기능성 및 안전성 자료 구축
  - PMS 완화 기능성 자료 확보 (제1협동기관)
    - 제2협동기관에서 제조한 복합원료를 이용한 전임상 유효성 검증
    - 1차선별 소재 추출물 및 유효성분, 복합원료의 바이오마커 분석 및 작용기전 규명
  - 복합원료의 전임상 안전성 자료 확보 (주관기관)
    - 제2협동기관에서 제조한 복합원료를 이용한 전임상 안전성 검증
    - 설치류/비설치류 단회, 13주 반복, 유전독성 검증을 위한 GLP 인증기관 의뢰 및 검증
- 바) 복합원료의 인체적용시험
  - 제2협동기관에서 인체적용시험용 시제품 제작 및 인체적용시험 지원
  - 주관기관에서 인체적용시험 시행
    - 확보된 자료를 통한 주관기관에서의 CRO 계약 및 임상기관 선정
    - IRB 승인 및 시험대상자 모집
    - 인체적용시험기관에서 인체적용시험 시행
- 사) 복합원료 소재의 원재료 표준화 및 안정적인 공급체계 구축 (주관기관)
  - 구절초 생산 농가 확보
    - 1차년도 연구를 통해 국내 구절초 재배 농가 3농장, 구절초 유통 약제에 대한 원재료의 감별법 확립 (DNA 동정)에 따른 원재료 표준화 완료 (유통 약제의 경우 가구절초로 판정)
    - 구절초 농장 방문 및 단가 산정에 따른 재배농가 확보 (정읍 구절초 마을 및 꿈의 향기 농장)
    - 잔류농약 및 중금속 분석에 따른 최종 재배농가 최종 확보
  - 맥아 원재료 표준화 및 유통 약제상 확보
    - 1차년도 연구를 통해 맥아의 원재료 겉보리의 발아일수 및 건조시간에 따른 기능성 분석
      - 원재료 표준화 완료 (겉보리를 4일 동안 발아하여 50℃에서 48시간 건조)
    - 분당밀짜농장에서의 공급체계 구축 및 유사원재료 혼입 방지를 위한 시스템 구축에 따른 계약 생산
    - 잔류농약 및 중금속 분석을 통한 원재료 안전성 확보
  - 안정적 원재료 확보를 위한 관리
    - 제1/2협동기관 지원을 통한 안정적 원재료 생산 및 확보체계 구축
    - 주관기관과 재배농가 (유통약제상) 계약에 따른 계약 재배 추진
- 아) 월경전 상태개선 기능성 원료 인허가
  - 주관기관 인허가 신청
    - 기능성 원료 인정과정에서 발생할 수 있는 문제에 대한 회피전략 모색 (각 참여기관 및 전문가 활용 전략 수립)

- 원재료 표준화: 해당 문제 해결 완료 (농가계약 추진)
- 원료: 최종 원료에 대한 생산 체계 확보 및 표준화 인증을 통한 문제성 배제
- 기능성 원료 인허가: 식약처 가이드라인 기준의 시험 추가 진행으로 문제발생 가능성 배제

- 주관기관 및 제1협동기관, 제2협동기관 자료 취합 및 기능성 원료 신청

자) 월경전 상태개선 기능성 원료 사업화 (주관기관)

○ 표준화된 원재료 확보 및 공급

- 맥아 (겉보리, 4일 발아) 원재료 확보 및 단가 산출 (약 5~6,000원/kg)
- 구절초 원재료 확보 (정읍 구절초 농가) 및 단가 산출 (약 10,000원/kg)
- 맥아의 추출 수율이 약 1/3 정도 낮으므로, 실질적인 맥아와 구절초의 구입은 맥아:구절초 =3:1 수준으로 확보하여야 함

○ 기능성 원료 사업화

- 맥아구절초추출복합물의 원재료 단가, 추출수율, bGMP 추출 단가 등으로 원료가 산정시 약 40~50만원/kg 수준으로 예상됨
- 제2협동기관과의 원료 공급계약을 통한 사업화 진행
- 초기에는 단독 공급을 원칙으로 하고, 추후 개별 사업화를 통해 타 기업에도 원료를 공급하여 판매할 계획임 (전략적 사업화 추진)

차) 월경전 상태개선 개별인정형 건강기능식품 사업화 (과제 종료 후)

○ 제2협동기관에서 개별인정형 건강기능식품 사업화

- 사업기간 내 제2협동기관에서 복합 또는 단일 품목의 개별인정형 건강기능식품 시제품 생산 및 사업화를 위한 마케팅 전략 수립
- 주관기관과 판매 계약을 진행하여, 기업들의 상생협력 관계 확립
- 월경전 상태개선 복합원료 500 mg/day 단독 제품 및 컨셉 제품  
→ 타블렛 (고형제), 캡슐, 튜브 (액제) 등의 제형개발의 따른 3건의 제품형태 도출
- 사업종료 후 제품화 및 사업화 진행

카) 해외 마케팅 전략 수립

- 주관기관은 동남아, 유럽 등의 기업과 전략적 제휴를 맺고 있으며, 유럽, 동남아, 미국, 일본 등의 해외 특허 출원을 통해 사업화 기반을 구축할 계획임
- 또한, 제2협동기관의 해외 판매 네트워크를 통해 해외 사업화를 추진할 계획임

## 2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

### 가. 생리전 증후군 완화 복합소재 선정을 위한 소재 탐색

#### (1) 연구방법

- (가) 생리전증후군 치료제인 프리페민정의 기전을 활용하여 후보 한약재 추출물 중 개발 복합 소재를 선정
- (나) 랫드 뇌하수체 세포에서의 세포독성, 세포증식, prolactin의 분비 억제 효능을 측정하여 세포독성이 적은 소재를 기반으로 세포증식 유도 소재와 prolactin 분비 억제 소재를 선별

#### (2) 재료 및 방법

##### (가) 실험 재료

- ① 후보 한약재 추출물 61종
- ② 랫드 뇌하수체 세포 GH3 rat pituitary tumor cell line

##### (나) 실험방법

##### ① 뇌하수체 세포 증식 유도 시험

- GH3 세포는 10% FBS, 1% P/S이 첨가된 DMEM 배지에서 배양하였고 96 well plate에  $5 \times 10^3$  cells/well로 분주하였음
- 24시간 후 실험용 배지 (DMEM)에 10% charcoaled FBS가 첨가된 배지로 교환해 주었으며, 시험물질을 처리하고, 48시간 후 뇌하수체 세포 증식을 정량화하기 위해 MTT assay를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정함

##### ② Prolactin 분비 억제 시험

- GH3 세포는 10% FBS, 1% P/S이 첨가된 DMEM 배지에서 배양하였고 24 well plate에  $4 \times 10^4$  cells/well로 분주하였음
- 24시간 후 시험물질을 처리하고, 48시간 후 ELISA Kit(mol-innovation, Rat Prolactin ELISA kit, RPRLKT)를 통해 프로락틴 양을 측정함 (표준곡선을 통해 계산식을 구하여 세포 배양액 내 프로락틴 분비량을 수치화함)

#### (3) 연구결과

##### (가) 뇌하수체 세포 증식 유도 소재 탐색

- ① PMS 완화 소재를 선정하기 위해 1차적으로 식용가능한 국내 유통 한약재 추출물 61종을 이용하여 뇌하수체 세포 (GH3 rat pituitary tumor cell line)에서의 세포독성 확인과 세포증식 (세포보호) 효능을 측정한 결과, 뇌하수체 세포 증식 및 생존율 증가 효능을 나타내는 시료는 계지 (10), 금전초 (25), 노회 (34), 육계 (36)이며, 그 중 육계, 계지, 노회 추출물에서 우수한 세포 증식 효능을 나타내었음

CON	1	2	3	4	5	7	8	9	10
100.00± 2.45	110.46± 11.74	87.38± 0.34	109.35± 1.10	89.51± 16.89	105.04± 5.59	71.04± 3.07	114.26± 7.42	105.58± 25.93	130.95± 0.49
<b>11</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>21</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>
110.15± 9.63	83.91± 9.88	86.21± 0.73	70.52± 2.94	77.11± 0.43	86.38± 12.59	96.30± 10.32	102.88± 15.93	102.24± 0.72	117.86± 0.63
<b>28</b>	<b>29</b>	<b>31</b>	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>34</b>	<b>35</b>	<b>36</b>	<b>37</b>	<b>39</b>
73.47± 6.57	106.95± 8.37	89.68± 0.94	56.06± 47.42	79.53± 10.56	120.07± 1.94	87.34± 3.72	136.06± 10.68	95.41± 1.48	92.49± 988
<b>40</b>	<b>42</b>	<b>43</b>	<b>44</b>	<b>45</b>	<b>46</b>	<b>47</b>	<b>48</b>	<b>50</b>	<b>52</b>
95.51± 0.39	99.62± 0.90	104.75± 6.01	56.63± 9.24	91.23± 4.27	89.10± 4.27	71.34± 21.33	88.93± 1.67	83.30± 3.44	89.42± 3.18
<b>53</b>	<b>54</b>	<b>55</b>	<b>56</b>	<b>57</b>	<b>58</b>	<b>60</b>	<b>61</b>	<b>63</b>	<b>64</b>
87.15±	43.68±	109.42±	90.62±	100.19±	109.17±	38.88±	61.69±	48.20±	44.70±

0.76	2.17	17.16	4.58	11.53	2.59	4.29	2.84	12.99	4.77
<b>65</b>	<b>66</b>	<b>67</b>	<b>68</b>	<b>69</b>	<b>70</b>	<b>71</b>	<b>77</b>	<b>78</b>	<b>81</b>
44.22± 2.17	46.94± 15.55	38.68± 8.45	79.38± 6.36	101.37± 39.85	102.11± 0.98	94.22± 1.41	96.94± 5.67	96.48± 0.58	92.45± 0.52
<b>82</b>	<b>84</b>								
91.03± 2.79	109.73± 0.02								

(나) Prolactin 분비 억제 소재 탐색

① 상기의 뇌하수체 세포 증식 유도 시험과 동일한 시험물질로 뇌하수체 세포 (GH3 rat pituitary tumor cell line)에서의 prolactin 분비 억제 효능을 측정한 결과, 뇌하수체 세포에서 세포독성을 나타내지 않으면서 prolactin 분비 억제 효능을 나타내는 시료는 구절초 (21), 맥아 (52), 목향 (58)이며, 그 중 맥아추출물에서 가장 우수한 prolactin 분비 억제 효능을 나타내었고, 구절초 추출물에서도 우수한 효능을 나타냄

CON	1	2	3	4	5	7	8	9	10
100.0± 2.46	80.74± 4.31	164.97± 23.45	106.43± 20.34	131.56± 20.51	101.38± 20.27	94.06± 25.07	102.91± 23.77	122.41± 38.14	94.48± 11.34
<b>11</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>21</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>
99.83± 22.61	107.86± 25.02	128.45± 56.8	89.28± 3.82	175.1± 13.14	133.38± 39.60	67.53± 4.63	123.27± 48.77	150.17± 46.03	131.8± 57.91
<b>28</b>	<b>29</b>	<b>31</b>	<b>32</b>	<b>33</b>	<b>34</b>	<b>35</b>	<b>36</b>	<b>37</b>	<b>39</b>
82.80± 3.57	106.76± 38.66	104.81± 28.57	124.95± 57.35	207.82± 61.02	133.65± 1.65	94.11± 0.30	106.84± 24.95	77.17± 4.79	84.92± 8.28
<b>40</b>	<b>42</b>	<b>43</b>	<b>44</b>	<b>45</b>	<b>46</b>	<b>47</b>	<b>48</b>	<b>50</b>	<b>52</b>
86.4± 8.32	91.0± 11.22	118.44± 58.33	130.87± 59.12	176.8± 105.82	71.59± 2.165	180.7± 103.35	77.79± 2.39	84.24± 20.74	54.39± 0.61
<b>53</b>	<b>54</b>	<b>55</b>	<b>56</b>	<b>57</b>	<b>58</b>	<b>60</b>	<b>61</b>	<b>63</b>	<b>64</b>
124.04± 23.85	91.04± 8.70	93.13± 9.49	76.07± 6.27	89.86± 2.28	76.0± 9.08	73.68± 4.18	71.71± 4.63	75.66± 7.37	73.15± 7.60
<b>65</b>	<b>66</b>	<b>67</b>	<b>68</b>	<b>69</b>	<b>70</b>	<b>71</b>	<b>77</b>	<b>78</b>	<b>81</b>
115.57± 1.25	51.95± 0.49	195.44± 1.67	177.2± 6.00	142.31± 37.26	96.16± 3.11	113.82± 31.48	89.9± 3.38	91.95± 7.41	78.28± 1.86
<b>82</b>	<b>84</b>								
86.06± 0.00	85.15± 1.90								

(4) 결론

(가) 뇌하수체 세포 증식 효과를 나타내는 소재 4종 (계지, 금전초, 노회, 육계)과 prolactin 분비 억제 소재 3종 (맥아, 구절초, 목향) 선정

(나) 7종의 후보물질을 대상으로 복합원료로의 개발가능성을 평가하여 최종 복합소재를 선정하고자 하였음

나. 선별된 후보소재의 개발 가능성 검증 및 복합원료 1차 선정

(1) 연구방법

(가) 선별된 후보소재의 문헌 검색을 통하여 소재의 특성과 표준화 정보를 수집함으로써 산업화를 위한 원료의 개발 가능성을 파악하고자 하였음

(나) 선별된 후보소재를 수집하여 최적 추출용매와 기능성을 검증하고자 하였으며, 해당 결과를 바탕으로 1차 복합원료 선정을 위한 최적 소재를 선별하고자 하였음

(2) 재료 및 방법

(가) 실험 재료

① 선별된 후보소재 7종에 대한 국산 및 수입산 소재 확보



② GH3 rat pituitary tumor cell line 및 PC12 cell line (Dopamine D2 receptor 보유 세포)

(나) 실험방법

① 문헌조사를 통한 후보소재의 특성 조사 및 추출물 제조

- 선별된 후보소재 7종에 대한 문헌 조사 (논문, 서적 등)를 실시하여, 각 소재에 대한 특성 파악
- 선별된 후보소재 7종을 확보하고, 육계와 계지를 계피로 묶어 최종 6종의 소재에 대하여 30, 50, 70% EtOH로 추출
- 문헌조사를 통한 후보소재 7종의 주요성분 확보

② 뇌하수체 세포 증식 유도 및 prolactin 분비 억제 시험을 통한 1차 복합소재 선정

- 선별된 후보물질 추출물과 조사된 주요성분의 뇌하수체 세포 증식 효과 및 prolactin 분비 억제 효과를 측정하였으며, 1차 3종의 복합소재 후보물질을 선정하여 GH3와 PC12 세포를 이용한 단백질 수준에서의 검증을 실시함
- 1차 선정된 3종의 후보물질에 대하여 생약규격집 등 문헌 조사를 통한 감별법 및 표준화 연구 수행을 위한 기초자료로 활용하고자 하였음

(3) 연구결과

(가) 문헌조사에 따른 후보소재의 특성 및 개발 가능성 조사

① 상기 문헌조사 내용을 바탕으로 각 소재별 장단점을 조사하여 복합원료로써 개발 가능성을 파악함

본 연구	후보소재	알려진 효능	분석결과
뇌하수체 세포증식 소재	육계/계지	발한, 해열, 진통, 강심, 항균, 면역작용, 혈액순환 등의 효능 보고	뇌하수체 세포증식 효능이 우수하고, 원료 표준화에 대한 정보가 잘 정립되어 있으나, 국내에서는 생산되지 않는 소재로 원재료 표준화에 문제가 많음
	금전초	청열해독, 이담, 배석, 이뇨, 해열, 황달, 해독, 수종 등의 효능 보고	지표성분에 대한 연구가 잘 정립되어 있고, 해독의 효능이 강해 본 연구개발을 위한 부작용 완화 소재로 적당하나, 식품원재료로 등재되어 있지 않아 사용에 한계가 있음
	노회	피부암, 화상, 습진, 건선 등의 피부질환에 사용하였으며, 홍반억제, 항산화, 창상치유, 항변비, 항균 효과 보고	지표성분에 대한 연구가 잘 정립되어 있으며, 프리페민정의 심각한 부작용인 피부질환 치료가 주요효능으로 보고되어 있어 본 연구를 위한 최적의 소재라 할 수 있으나 현재 생산 및 수입이 중단된 소재로 만

			약 사용될 경우 원재료인 알로에를 사용해야 함
Prolactin 분비억제 소재	구절초	감기, 폐렴, 인두염, 부인병, 자궁냉증, 위장병, 고혈압 등에 사용하였으며, 항염증, 해열작용, 항종양, 진통, 항산화 등의 효능 보고	Prolactin 분비 억제 효능이 우수하고, 기존에 부인병 질환에 사용된 소재로 알려진 기능성분이 많아 유효성분을 지표성분으로 설정하기 용이하나 제한적 식품원재료로 전체 중량의 50%를 초과할 수 없음
	맥아	소화장애, 소화불량, 유즙 분비 부족 등에 사용하였으며, 교감신경 흥분효과, 혈관수축, 기관지 이완, 장관운동 억제 효능 보고	Prolactin 분비 억제 효능이 매우 우수하나 기존 연구가 되어 있는 소재로써 단독으로의 사용이 어려우며 적용 가능한 지표성분이 1종이라는 점과 복합원료 소재로 개발하여야 한다는 점으로 볼 때 혼합원료로써 개발가능성이 큼
	목향	이기, 건비, 지통 등에 사용되어 왔으며, 항염증, 항암, 항산화, 위액분비, 항궤양 효능이 보고	Prolactin 분비 억제 효능이 우수하고, 원료 표준화 정립이 잘 구축되어 있으나, 제한적 원재료로써 약간의 독성을 가지고 있음

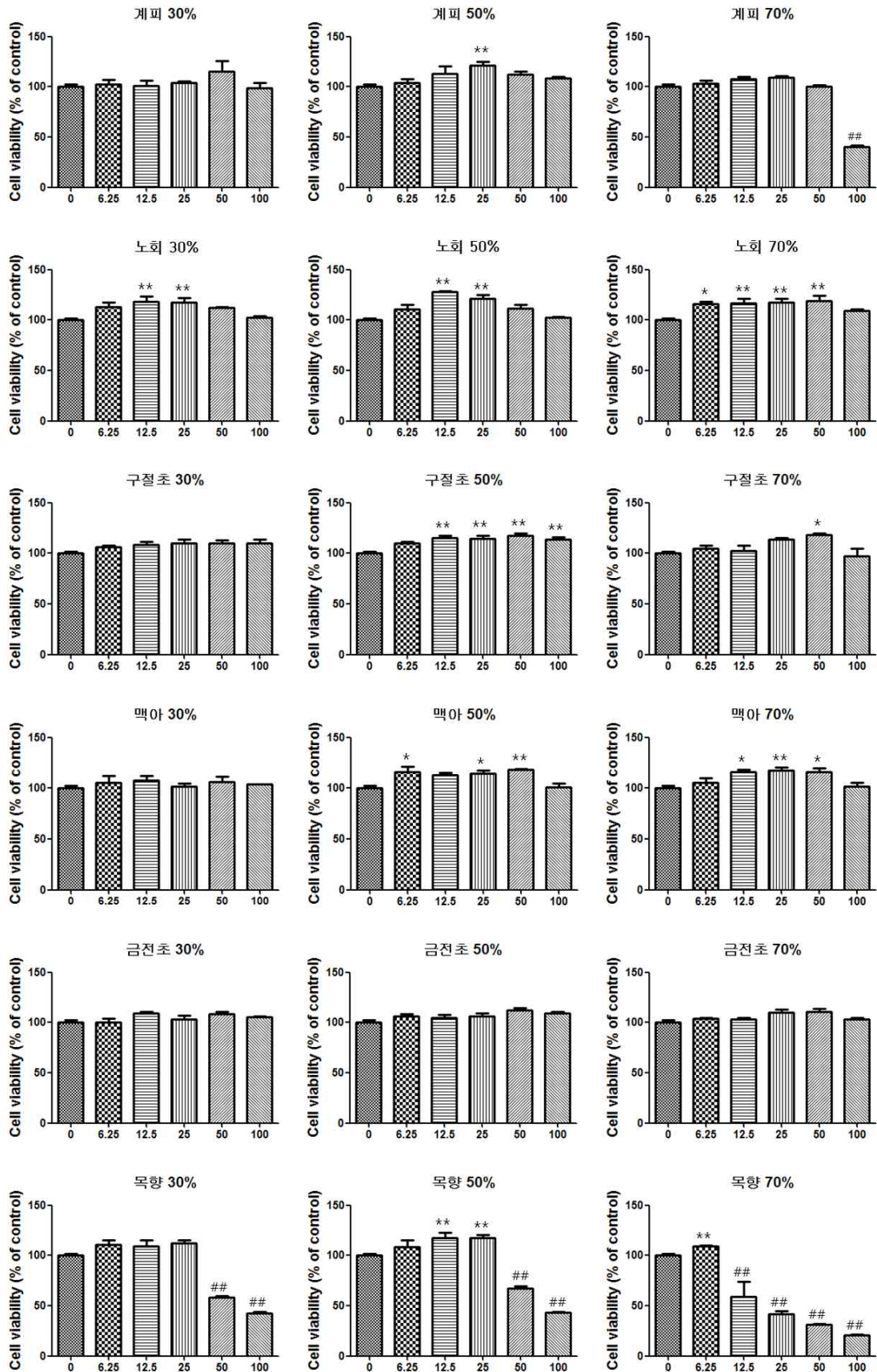
(나) 선별된 후보소재의 lab scale 추출물 제조 및 효능 분석

- ① 선별된 후보소재 7종 중 육계와 계피를 계피로 묶어 최종 6종의 소재에 대하여 30, 50, 70% EtOH로 추출하였으며, 각 소재 효능에 따른 뇌하수체 세포 증식 효과와 prolactin 분비 억제 효과를 측정하고자 하였음

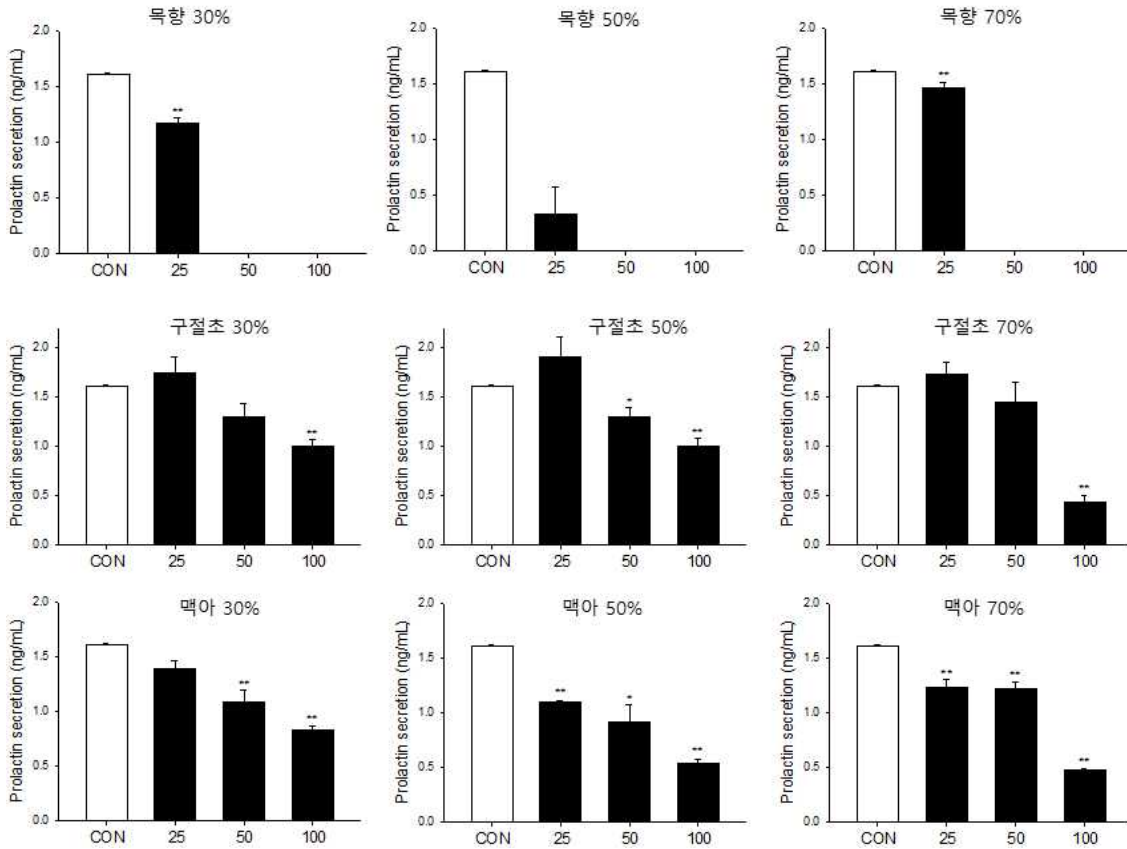
소재	원산지	추출 조건	수율 (%)
육계 (계피)	베트남	가열 30% EtOH 100g(1:10)	6.2%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	29.8%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	13%
노회	중국	가열 30% EtOH 100g(1:10)	99.5%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	87.5%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	90.6%
구절초	국산	가열 30% EtOH 100g(1:10)	10.1%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	5%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	11.7%
맥아	국산	가열 30% EtOH 100g(1:10)	4.1%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	9.1%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	9.1%
금전초	국산	가열 30% EtOH 100g(1:10)	13%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	19.9%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	10.4%
목향	중국	가열 30% EtOH 100g(1:10)	31.5%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	33.2%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	31.3%

- ② Lab scale 추출물에 대한 GH3 뇌하수체 세포의 세포독성 또는 세포증식 효능을 측정한 결과 계피 70% EtOH 추출물과 목향의 전체 추출물에서 세포독성이 나타났으며, 노회 30, 50% EtOH 추출물에서 우수한 세포증식 효능이 관찰되었음





③ Prolactin 분비 억제 소재의 선별 및 최적 용매 선정을 위한 ELISA 평가 결과 목향 추출물에서는 강한 세포독성으로 인해 측정이 불가능하였으며, 구절초는 70% EtOH 추출물에서, 맥아는 50% EtOH 추출물에서 가장 우수한 prolactin 분비 억제 효능이 나타남



④ GH3 뇌하수체 세포에서의 세포독성 또는 세포증식 효과와 prolactin 분비 억제 효능을 근거로 1차 복합원료 소재로 노회, 구절초, 맥아를 선정함

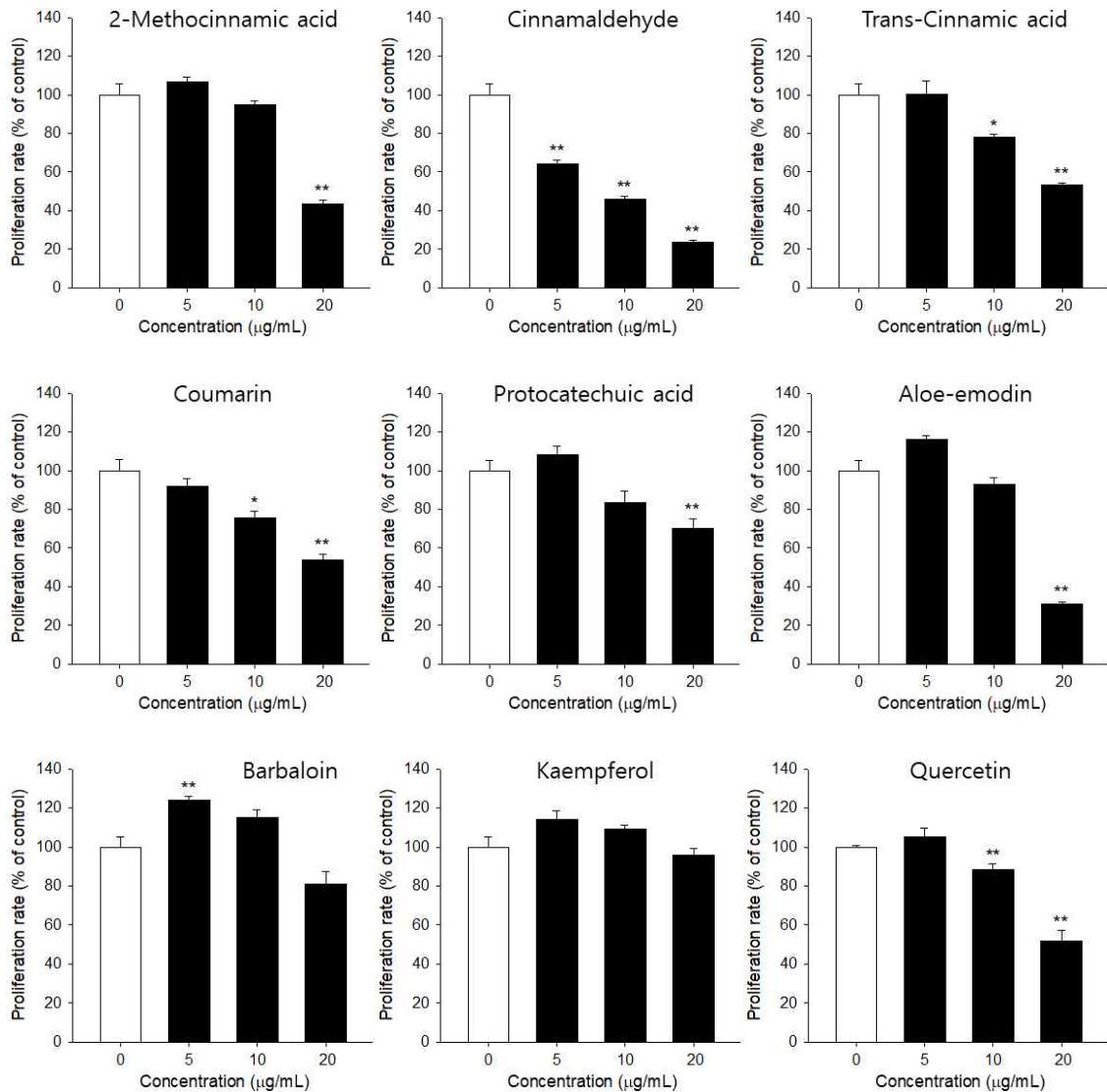
(다) 선별된 후보소재의 기능성분 조사 및 효능 분석

① 선별된 후보소재의 기능성분을 조사하여, 각 소재 효능에 따른 뇌하수체 세포 증식 효과와 prolactin 분비 억제 효과를 측정하고자 하였음

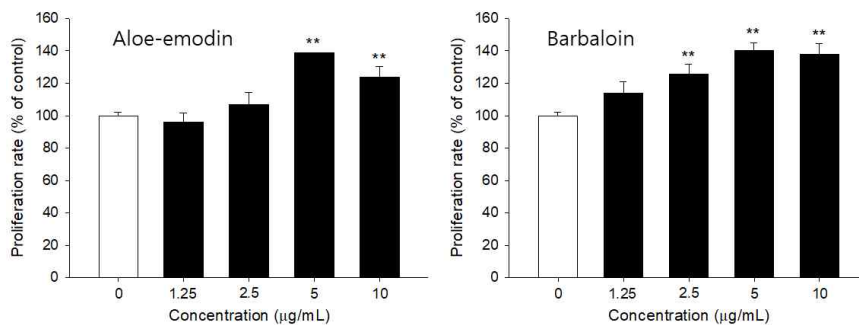
소재	기능 성분
육계/계지 (5종)	2-Methoxycinnamic acid
	Cinnamaldehyde
	Trans-Cinnamic acid
	Coumarin
	Protocatechuic acid
노회 (2종)	Aloe-emodin
	Barbaloin
금전초 (2종)	Kaempferol
	Quercetin
구절초 (6종)	3,5-O-dicaffeoylquinic acid
	4-Hydroxycoumarin
	Chlorogenic acid
	Esculetin
	Linarin
	Scopoletin
맥아 (1종)	Horadenine
목향 (2종)	Costunolide
	Dehydrocostus lactone

② GH3 세포에서 육계/계지, 노회, 금전초 기능성분의 세포증식 효과를 측정된 결과,

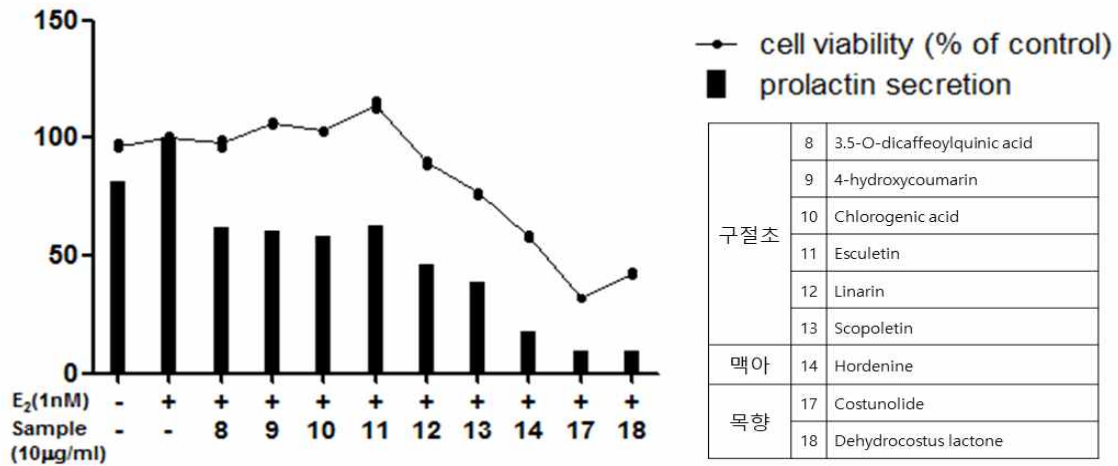
cinnamaldehyde, trans-cinnamic acid, coumarin을 제외한 기능성분 5 µg/mL 농도에서 세포증식 효과를 나타내었음



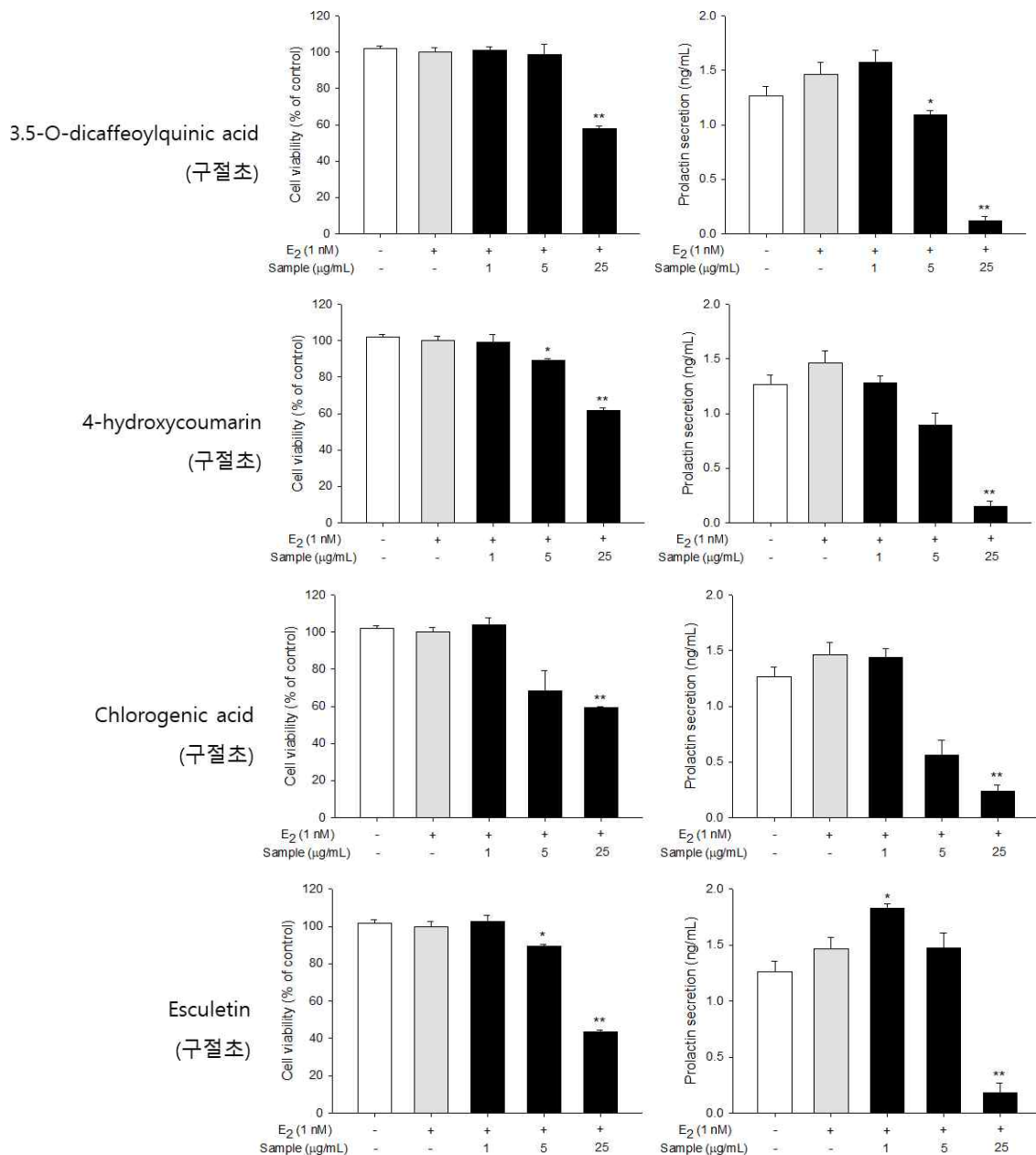
③ 1차 복합원료 소재인 노희의 기능성분 aloe-emodin과 barbaloin의 뇌하수체 세포 증식 효과를 10 µg/mL를 최고 농도로 재추정한 결과, 모두 5 µg/mL까지 비슷한 양상을 나타내었으며, 그 중 barbaloin의 경우 안정적인 증가양상을 나타내어 노희의 유효성분이 지표성분으로 설정하고자 하였음

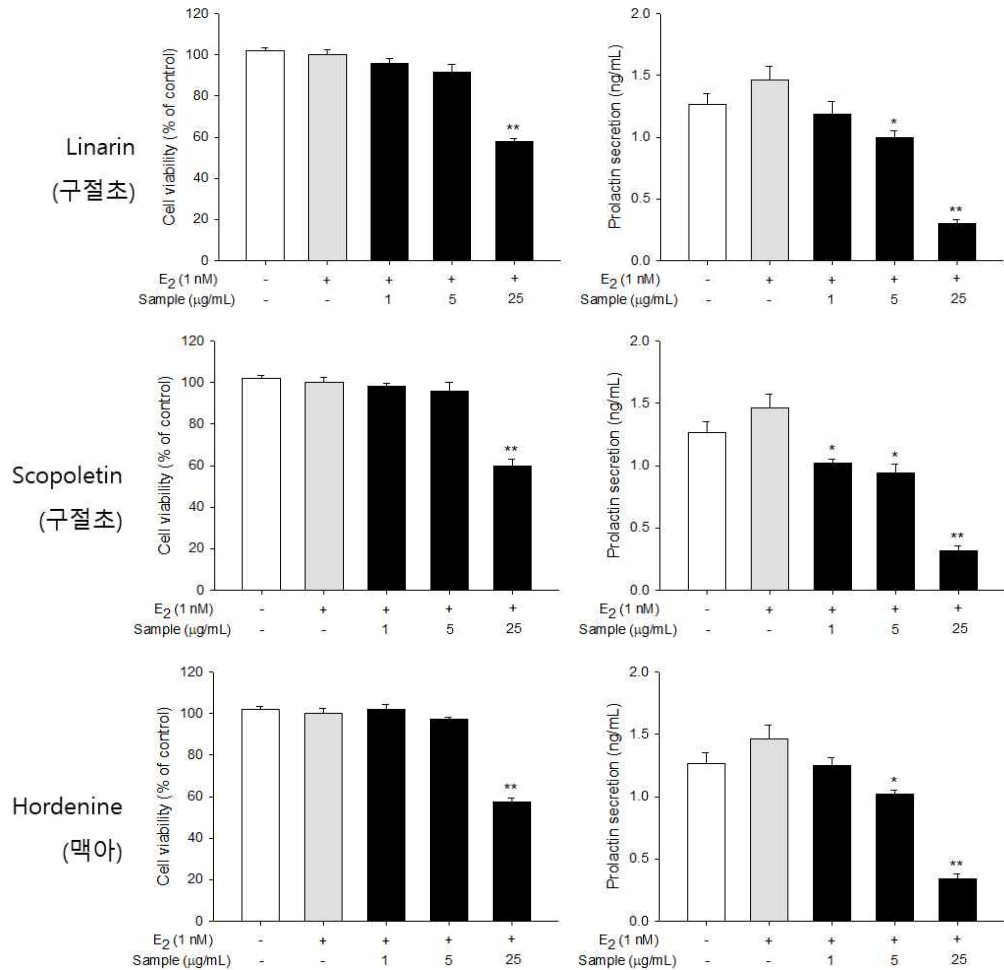


④ GH3 세포에서 구절초, 맥아, 목향 기능성분 (단일농도, 10 µg/mL)의 prolactin 분비억제 효과를 탐색한 결과, 모두 유의한 결과를 나타내었으나, 목향 기능성분의 경우 세포독성이 매우 높게 나타남



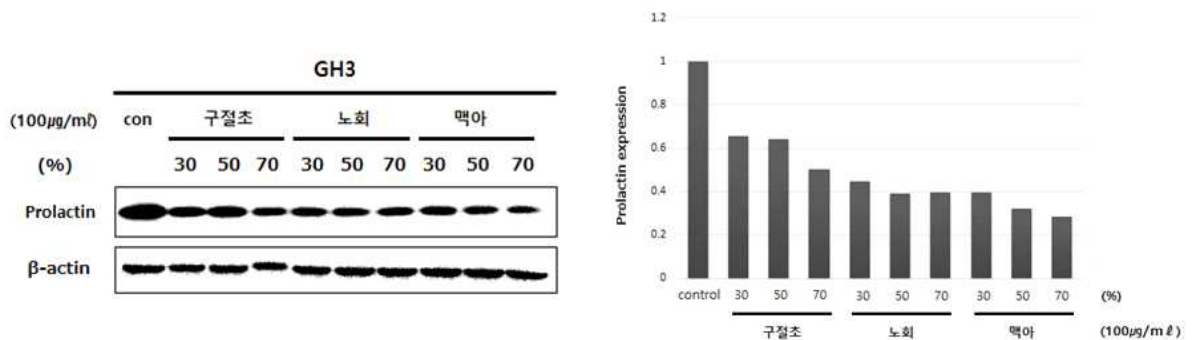
⑤ 목향을 제외한 복합원료 소재인 구절초와 맥아 기능성분의 prolactin 분비억제 효과를 GH3 세포에서 농도별로 측정된 결과, 모든 성분에서 우수한 prolactin 분비억제 효과가 측정되었으며, 특히 고농도에서는 세포독성에 비해 유효성이 더 우수하였음



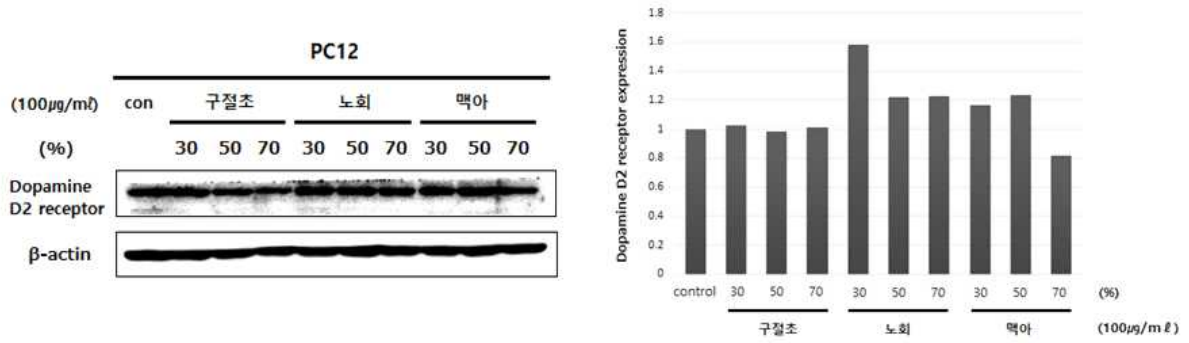


(라) 1차 선정된 후보물질의 prolactin 분비 억제 및 dopamine receptor 활성화 검증

① 구절초, 노회, 맥아 추출물의 prolactin 분비 억제 효능을 단백질 수준에서 조사한 결과 기존 연구와 유사한 결과를 도출하였으며, 특이적으로 노회추출물 또한 단백질의 발현이 감소하는 것을 확인함



② 프리페민정의 기전을 근거로 PC12 세포에서 각 추출물의 dopamine receptor 활성화 효과를 단백질 수준에서 조사한 결과, 노회와 맥아추출물의 경우 발현이 증가한 반면 구절초는 변화가 없는 것으로 측정되어, 맥아와 구절초의 기전이 다를 것으로 예측하였음



(라) 1차 선정된 후보물질의 문헌조사를 통한 감별법 및 표준화 기준 확립

① 맥아

정의	대맥(大麥) <i>Hordeum vulgare</i> Linne var. <i>hexastichon</i> Aschers (벼과, Gramineae)의 잘 익은 열매를 발아 시켜 싹이 5 mm 정도 자랐을 때 햇볕이나 60°C 이하에서 말린 것
특징	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 긴 방수형, 길이는 1~1.5 cm, 너비는 3~4 mm 정도</li> <li>- 한쪽 끝에는 유아(幼芽)가 있고 다른 한쪽 끝에는 유근(幼根)이 있음</li> <li>- 바깥 면은 엷은 황색을 띠고 배유는 유백색을 띰</li> <li>- 질은 단단하면서 부서지기 쉬움</li> <li>- 달콤한 냄새가 있고 맛은 약간 단 편</li> <li>- 중국산의 경우 국산에 비해 색이 밝은 편이며 무거운 편임</li> </ul>
확인 시험법	<p>가루 0.1 g을 달아 풀물(100°C로 말린 감자녹말 5 g에 증류수 30 mL를 넣어 섞고 → 뜨거운 증류수 70 mL를 더 넣어 30 분간 수욕 중에서 가열 → 55°C로 식힘)을 넣어 55°C에서 1 시간 당화시킨 액 10 mL가 40 mL의 페링용액을 탈색시킴</p> <p>※“DNA 바코드 및 유전자은행 정보 분석을 통한 한제의 구성약재 감별”이라는 연구보고서를 통해 한국한의약연구원 한약자원그룹과 대검찰청 DNA수사담당관실에서 밝힌 결과, “<b>바코드 부위 중 ITS2 부위를 비교하는 것이 가장 적합</b>”한 것으로 밝힘</p>
순도 시험법 기준	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 중금속 <ul style="list-style-type: none"> <li>가) 납 5 ppm 이하</li> <li>나) 비소 3 ppm 이하</li> <li>다) 수은 0.2 ppm 이하</li> <li>라) 카드뮴 0.3 ppm 이하</li> </ul> </li> <li>2. 잔류농약 <ul style="list-style-type: none"> <li>가) 총 DDT 0.1 ppm 이하</li> <li>나) 디엘드린 0.01 ppm 이하</li> <li>다) 총 BHC(α,β,γ 및 δ-BHC의 합계) 0.2 ppm 이하</li> <li>라) 알드린 0.01 ppm 이하</li> <li>마) 엔드린 0.01 ppm 이하</li> </ul> </li> <li>3. 이산화황 30 ppm 이하</li> <li>4. 건조감량 13.0% 이하</li> <li>5. 회분 5.0% 이하</li> <li>6. 산불용성회분 3.0% 이하</li> <li>7. 엑스함량 묽은에탄올엑스 15.0% 이상</li> </ol>

② 구절초

정의	<i>Chrysanthemum zawadskii</i> Herbich var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitamura 또는 산구절초 <i>Chrysanthemum zawadskii</i> var. <i>coreanum</i> (Nakai) (국화과 Compositae)의 전초. 음력 9월 9일에 채취한 것이 가장 효과가 좋다고 하여 구절초라고 불리우는 약초로서, 다른 이름은 선모초(仙母草)라고 불리는데, 어미를 신선으로 만들어주는 풀이라는 의미를 가짐(성질이 따뜻하여 불임과 난임에 가장 많이 사용하는 약초로 아랫배를 따뜻하게 데워주는 역할을 한다고 알려져 있음)
특징	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 이 약은 전초로, 줄기는 둥글고 길이 20~40 cm, 색상은 회녹색~회갈색을 띰</li> <li>- 잎은 달걀모양~넓은 달걀모양으로 줄기에 어긋나게 달려있고, 길이 3~4 cm, 너비 2~3 cm로 깊게 갈라졌으며, 잎자루는 길이 1~2 cm임</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 꽃은 두상화로 지름 2~6 cm이고, 설상화는 흰색이고, 관상화는 노란색을 띠</li> <li>- 이 약은 특유한 향기가 있고 맛은 약간 쓴</li> </ul>
확인 시험법	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 이 약의 가루 0.5 g에 물 10 mL를 넣고 끓여 여과한 여액에 염화철(III)시액 1-2 방울을 떨어뜨리면 액은 어두운 남색을 나타냄</li> <li>2. 이 약의 가루 2.0 g에 에탄올 10 mL를 넣고 수욕에서 10 분간 끓여 여과한 여액에 마그네슘가루 0.1 g과 염산 1~2 방울을 넣으면 액은 연한 적자색을 띠</li> </ol> <p>※ 식품의약품안전평가원 생약연구과 성락선 연구책임자 팀의 연구 결과, 국화과의 구절초 등 4품목을 대상으로 DNA 바코드를 이용한 기원종 감별법을 개발함</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>엽록체 DNA의 4개의 구간(matK, rbcL, atpF-atpH, trnH-psbA)과 핵 DNA의 ITS2의 염기서열을 분석하여 각 품목의 기원종 구별뿐만 아니라 유사근연종과 혼용 및 오용될 수 있는 식물에 대해서도 구별할 수 있는 방법</b>을 마련하였음</li> <li>- 구절초와 산구절초 대상으로 구절초의 형태학적 비교 및 DNA 바코드 구간에서 염기서열 분석을 진행, 상세 데이터가 수록되어 있음 (참고: 'NGS를 활용한 '구절초'등 4품목의 유전학적 감별 연구' 보고서)</li> <li>※ <b>참고</b></li> <li>- 현재 시장에서 유통되는 구절초는 대부분 가을에 핀 국화로, 성질이 대부분 차가운 것이 특징이며, 아랫배를 따뜻하게 해주는 구절초와는 다른 성질을 가짐</li> <li>- 따라서 시장에서는 따뜻한 성질을 가진 구절초를 '원구절초', 찬 성질을 가진 구절초를 '가구절초'로 나누어 유통하고 있음</li> <li>- 원구절초와 가구절초의 향기는 묘하게 달라 일반 국화와 원구절초의 향을 비교하면 확실하게 알 수 있음</li> </ul>
순도 시험법 기준	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 이물 이 약은 다른 식물의 잎, 꽃 및 그 밖의 이물이 5.0 % 이상 섞이지 않음</li> <li>2. 중금속 <ol style="list-style-type: none"> <li>가) 납 5 ppm 이하</li> <li>나) 비소 3 ppm 이하</li> <li>다) 수은 0.2 ppm 이하</li> <li>라) 카드뮴 0.3 ppm 이하</li> </ol> </li> <li>3. 잔류농약 <ol style="list-style-type: none"> <li>가) 총 DDT디디티 0.1 ppm 이하</li> <li>나) 디엘드린 0.01 ppm 이하</li> <li>다) 총 BHC 0.2 ppm 이하</li> <li>라) 알드린 0.01 ppm 이하</li> <li>마) 엔드린 0.01 ppm 이하</li> </ol> </li> <li>4. 이산화황 30 ppm 이하</li> <li>5. 건조감량 12.0% 이하</li> <li>6. 회분 8.0% 이하</li> <li>7. 엑스함량 묽은에탄올엑스 12.0% 이상</li> </ol>

③ 노회

정의	백합과의 다년생 초목으로 <i>Aloe barbadensis</i> L., <i>A. ferox</i> Miller, <i>A. africana</i> Miller 또는 <i>A. spicata</i> Baker의 잡종의 잎에서 얻은 액즙을 모아 증건하여 괴상으로 만든 약재
특징	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 원산지는 아프리카이고 현재 우리나라에서는 따뜻한 남부지방에서 재배하며 가정에서도 관상용으로도 키움</li> <li>- 연중 채취하여 잎의 밑 부분을 잘라 흘러내린 즙을 모아 끓여 엿처럼 졸여 굳힌 다음 분쇄하여 사용함</li> <li>- 이 약은 액즙을 건조한 것으로 흑갈색~어두운 갈색의 고르지 않은 덩어리로 바깥면에 노란색의 가루가 붙어 있을 때도 있음</li> <li>- 부서진 면은 매끄럽고 유리 같은 광택이 있으며, 특유한 냄새가 있고 맛은 매우 쓴</li> </ul>
확인 시험법	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 이 약의 가루 0.5 g에 물 50 mL를 넣고 가온하여 녹이고, 식힌 다음 규조토 0.5 g을 넣고 여과한 여액을 검액으로 하여 다음시험을 진행함 <ol style="list-style-type: none"> <li>가) 검액 5 mL에 붓사 0.2 g을 넣고 수욕 중에서 가온하여 녹인 다음 몇 방울을 물 30 mL에 떨어뜨리고 흔들어서 섞을 때 액은 녹색의 형광을 나타냄</li> <li>나) 검액 2 mL에 질산 2 mL을 넣고 흔들어서 섞으면 액은 황갈색을 나타내고 점차 녹색으로 되었다가 이를 수욕 중에서 가온하면 적갈색으로 변함</li> </ol> </li> <li>2. 이 약의 가루 0.2 g에 메탄올 10 mL를 넣고 5 분간 흔들어서 섞은 다음 여과한 액을 검액 설정함</li> </ol>

	<p>-&gt; 따로 발바로인 표준품 1 mg을 메탄올 1 mL에 녹여 표준액으로 설정하고 이 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험을 진행함</p> <p>-&gt; 검액 및 표준액 10 µL씩을 박층크로마토그래프용실리카 겔(형광제첨가)을 써서 만든 박층판에 점적한 다음, 아세트산에틸 · 아세톤 · 물 · 아세트산(100)혼합액 (20:5 :2:2)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개시킨 다음 박층 판을 말리고 여기에 자외선 (주파장 365 nm)을 쬐임</p> <p>-&gt; 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 1 개의 반점은 표준액에서 얻은 붉은색 반점과 색상 및 Rf 값이 같음</p>
순도 시험법 기준	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 수지 이 약의 가루 0.5 g에 에테르 10 mL를 넣고 수욕에서 가온한 다음 여과함 여과지상의 잔류물과 여과지를 에테르 3 mL로 씻고 여액과 씻은 액을 합하여 에테르를 날려 보낼 때 그 잔류물의 양은 5.0 mg 이하임</li> <li>2. 에탄올불용물 이 약의 가루 1.0 g에 에탄올 50 mL를 넣고 환류냉각기를 달아 수욕에서 30 분간 끓이고 미리 무게를 단 여과기(G4)를 써서 더울 때 여과함 여과기 위의 잔류물을 에탄올로 씻은 액이 착색하지 않을 때까지 씻고 잔류물을 105 °C에서 5시간 건조하였을 때 그 양은 0.1 g 이하임</li> <li>3. 중금속 <ol style="list-style-type: none"> <li>가) 납 5 ppm 이하</li> <li>나) 비소 3 ppm 이하</li> <li>다) 수은 0.2 ppm 이하</li> <li>라) 카드뮴 0.3 ppm 이하</li> </ol> </li> <li>4. 건조감량 12.0% 이하 (6시간)</li> <li>5. 회분 2.0% 이하</li> <li>6. 엑스함량 몰엑스 40.0% 이상</li> </ol>

(4) 결론

- (가) 7종의 후보물질 중 뇌하수체 세포 증식 효과를 나타내는 소재 노회와 prolactin 분비 억제 소재 맥아 및 구절초 총 3종을 1차로 선정하고, 프리페민정의 기전을 활용한 효능을 검증 하였음 (노회 30%, 맥아 50%, 구절초 70% EtOH 추출물 선정)
- (나) 1차 선정 소재 노회, 구절초, 맥아의 감별법 및 표준화 기준 확립
- (다) 1차 선정 소재의 기능성분 및 지표성분 설정을 위해 주요성분의 각 기능성을 측정하여 노회의 경우 barbaloin, 맥아의 경우 hordenine, 구절초의 경우 6종의 성분 중 함량이 높은 성분으로 결정하고자 하였음
- (라) 세포독성이 있으나 강한 prolactin 분비 억제 효능을 나타내는 목향 추출물을 back-up 소재로 선정하여 추가 연구개발을 진행함

다. 1차 선정 소재의 제조공정 연구 및 혼합비율 설정

(1) 연구방법

- (가) 1차 선정 소재의 후보 복합원료인 맥아 50% 주정추출물, 구절초 70% 주정추출물, 알로에 30% 주정추출물의 pilot scale 제조공정 연구
  - ※ 노회 수급량의 문제 (수입 금지 품목)로 인해 노회의 원재료인 알로에로 대체하여 생산공정에 적용
- (나) 제조된 원료의 HPLC pattern 분석을 통한 제조 재현성 검증
- (다) 생산된 원료의 배합을 통한 혼합비율 설정

(2) 재료 및 방법

- (가) 실험 재료
  - ① 원재료 3종: 구절초, 맥아, 알로에
  - ② 추출용매: 정제수, 에탄올
  - ③ 분석용매: Acetonitrile, phosphoric acid, 정제수
- (나) 실험방법



① 각 주정추출물 lab 및 pilot scale 제조

- 원재료 투입량 : 100 g (lab scale), 1~3 kg (Pilot scale)
- 각 추출용매/배수 : 구절초 70%, 맥아 50%, 알로에 30% 주정 / 각 10배수
- 추출온도/추출시간 : 70°C / 5 시간
- 여과 : 80 mesh 카트리지
- 농축 : 40 mbar, 농축온도 45 °C
- 건조

<동결건조 조건>

- step 1 : -30°C, 24 hr holding
- step 2 : -30~0°C, 1 hr holding
- step 3 : 0~30°C, 24 hr / 24 hr holding
- step 4 : 30~35°C, 12 hr /10 min holding
- step 5 : 35~36°C, 15 min

<분무건조 조건>

- 각 농축액 고형분 대비 20% 베타시클로덱스트린 혼합
- 각 추출물의 수율 확인

② 1차 후보 소재 3종 추출물의 HPLC Pattern 분석을 통한 제조 재현성 확인

- 구절초 70% 주정추출물 및 맥아 50% 주정추출물의 HPLC pattern 분석법

<분석법>

- 시료 농도 : 5 mg/mL (with 50% MeOH)
- 분석과장 : 300 nm(맥아 50% 주정추출물), 280 nm(구절초 70% 주정추출물)
- 컬럼 : UG 120 5 um, 4.6mm I.D X 250 mm
- 이동상 : Solvent A (0.1% 인산), Solvent B (Acetonitrile)

Time	Solvent A %	Solvent B %
10.0	95	5
35.0	75	25
40.0	55	45
40.1	40	60
45.0	40	60
45.1	95	5
55.0	95	5

- 알로에 30% 주정추출물의 HPLC pattern 분석법

<분석법>

- 시료 농도 : 5 mg/mL (with 50% MeOH)
- 분석과장 : 280 nm
- 컬럼 : UG 120 5 um, 4.6mm I.D X 250 mm
- 이동상 : Solvent A (0.1% 인산), Solvent B (Acetonitrile)

Time	Solvent A %	Solvent B %
5.0	90	10
35.0	65	35
45.0	55	45
45.1	40	60
50.0	40	60
50.1	90	10

55.0	90	10
------	----	----

③ Pilot scale 제조 원료를 활용한 1차 선정 3종 추출물의 혼합비율 설정

- 맥아 50% 주정추출물 : 구절초 70% 주정추출물 : 알로에 30% 주정추출물을 1~3 배수로 설정하여 세포 증식 효과와 prolactin 분비 억제 효과를 측정함
- 추가로 prolactin 분비 억제 소재 맥아와 구절초 만으로 혼합비율 연구를 수행함

(3) 연구결과

(가) 1차 후보소재 3종의 lab scale 및 pilot scale 규모 추출물 제조

① 구절초 70% 주정추출물 제조 수율 결과

batch No.	동결건조 수율(%)	분무건조 수율(%)	비고
1차	7.15 %	9.40 %	Lab scale
2차	7.50 %	-	Lab scale
3차	8.00 %	-	Pilot scale

② 알로에 30%주정추출물 제조 수율 결과

batch No.	동결건조 수율(%)	분무건조 수율(%)	비고
1차	0.79 %	0.92 %	Lab scale
2차	0.82 %	-	Lab scale
3차	0.86 %	-	Pilot scale

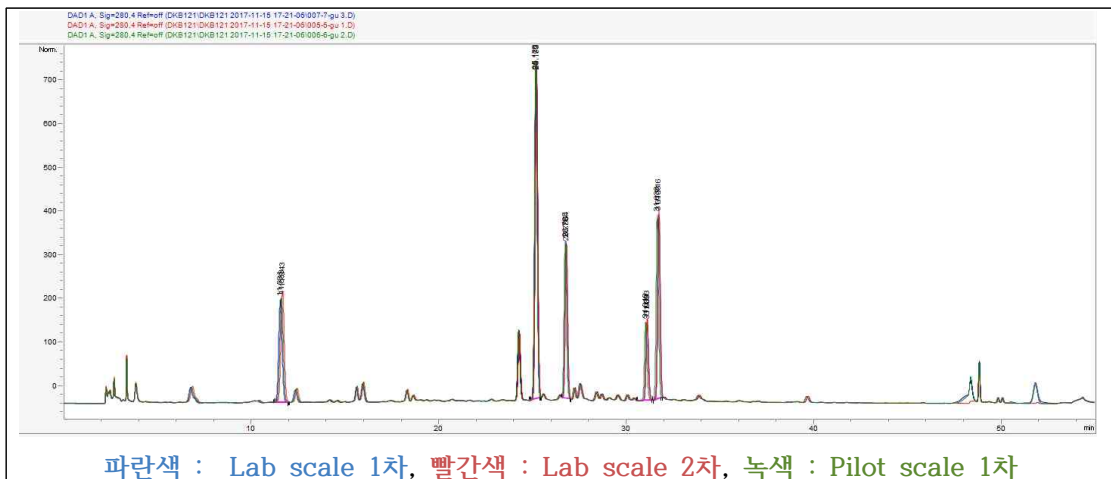
③ 맥아 50%주정추출물 제조 수율 결과

batch No.	동결건조 수율(%)	분무건조 수율(%)	비고
1차	8.5 %	10.0 %	Lab scale
2차	8.1 %	-	Lab scale
3차	8.8 %	-	Pilot scale

(나) 제조된 1차 후보소재 3종 추출물 원료의 제조 재현성 평가

① 구절초 70% 주정추출물 제조 lots별 HPLC pattern 분석 결과

- PEARSON 값을 통한 각 batch 별 peak area값의 유사도 평가 결과, 유사도가 0.9 이상으로 확보됨에 따라 lab scale과 pilot scale간 제조 재현성이 있음을 확인함



Batch	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	유사도
Lab scale 1차	2755.543	6379.891	2737.606	1511.786	3470.846	0.999
Lab scale 2차	2760.890	6746.528	2947.137	1522.323	3509.711	1.000
Pilot scale 1차	2763.658	6758.751	2969.064	1528.568	3533.308	1.000
성분프로파일	2760.030	6628.390	2884.602	1520.892	3504.622	



① 생산된 pilot scale 원료인 맥아, 구절초, 알로에 추출물을 대상으로 복합원료의 혼합비율을 설정하고자 각 추출물의 세포독성 및 prolactin 분비 억제 효과를 측정된 결과, 맥아:구절초=1:1과 맥아:구절초:알로에=2:2:1 또는 2:2:0.5 비율에서 가장 우수한 prolactin 분비 억제 효과를 나타내었음

No.	혼합비율			Cell viability (% of control)	Prolactin secretion (ng/mL)
	맥아	구절초	알로에		
1	1			78.3	0.409
2		1		86.6	0.389
3			1	100.7	1.698
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>		<b>82.5</b>	<b>0.371</b>
5	1		1	91.6	0.852
6		1	1	98.3	0.860
7	1	1	1	93.0	0.489
8	2	1	1	96.1	0.623
9	1	2	1	91.5	0.625
10	1	1	2	96.1	0.701
<b>11</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>89.8</b>	<b>0.367</b>
<b>12</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0.5</b>	<b>88.2</b>	<b>0.344</b>
13	2	1	2	94.6	0.947
14	1	2	2	91.9	0.773
15	3	1	1	85.7	0.684
16	1	3	1	87.7	0.646
17	2	3	1	89.7	0.660
18	3	2	1	91.0	0.751
Control				100	1.641

② 알로에 추출물을 제외한 맥아 추출물과 구절초 추출물의 혼합비율 설정 연구를 추가로 진행한 결과, 맥아:구절초=1:1 또는 1:2 비율에서 가장 우수한 prolactin 분비 억제 효과를 나타내었음

	맥아	구절초	prolactin secretion (ng/ml)
1	-	-	0.403±0.075
2	1	-	0.074±0.009
3	-	1	0.054±0.004
<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0.011±0.008</b>
<b>5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>0.011±0.002</b>
6	1	3	0.112±0.062
7	2	1	0.138±0.058
8	3	1	0.146±0.006

(4) 결론

(가) 제조된 각 3종의 원료 (맥아, 구절초, 알로에 추출물) 모두 제조 공정에 따라 제조 시 생산 규모와 상관없이 수율, 성상 등에서 일관성 있게 제조되며, HPLC pattern 분석에서도 유사도 값이 모두 0.9 이상으로 측정되어 재현성이 우수함을 확인하였음

(나) 1차 선정 원료 3종 추출물의 최적 혼합비율 설정 및 최종 복합원료 소재 선정

- ① 맥아, 구절초, 알로에 추출물의 혼합비율은 알로에 추출물과 상관없이 맥아 추출물과 구절초 추출물의 혼합물 만으로 prolactin 분비 억제 효능을 유지하였음
- ② 복합원료로써 알로에 소재의 적절성 여부
  - 노획은 사실상 공급을 받기 어려우며, 알로에는 추출 수율이 너무 낮아 (알로에 추출물 수율 약 0.8%) 산업화를 위한 본 과제에 적절하지 않다고 판단하였음
  - 또한, 알로에 동결건조분말의 경우 현재 고시형 건강기능식품 원료로 등재되어 있어 이에 대한 기준 규격이 설정되어 있고, 실질적인 prolactin 분비 억제 효과를 나타내는 원료가 아니므로 (뇌하수체 세포 증식 효과, 부작용 완화 원료로 선정) 월경전 상태개선 기능성 원료 인정을 위한 복합원료로 제조하기 보다는 최종 제품에서 차별화를 나타내도록 부원료로 혼합하는 것이 타당하다 판단하였음

2-47 알로에 겔

1) 제조기준

- (1) 원재료 : 알로에 베라(*Aloe vera*)의 잎
- (2) 제조방법
  - (가) 상기 (1) 원재료의 외피를 제거한 후 겔 부분을 분리하여 건조·분말화하여 제조하여야 함
  - (나) 상기 (1) 원재료의 겔 부분만을 분리하도록 분쇄·여과하거나 착즙한 것 또는 분쇄·착즙한 후 농축하거나 농축한 것을 건조·분말화하여 제조하여야 함
- (3) 기능성분(또는 지표성분)의 함량 : 고형분 중에서 총 다당체를 30 mg/g 이상 함유하고 있어야 함

2) 규격

- (1) 성상 : 고유의 색택과 향미를 가지며 이미·이취가 없어야 함
- (2) 총 다당체(기타원료에서 유래하는 다당체를 구분하여 표시하여야 함)
  - (가) 원료성 제품 : 표시량 이상
  - (나) 최종제품 : 표시량의 80% 이상
- (3) 안트라퀴논계 화합물(무수바바로인으로서)(%) : 0.005 이하(알로에 겔 100% 기준, 원료의 농축배수 및 알로에 겔 환산 함량에 따라 환산 적용함)
- (4) 대장균군 : 음성

- ③ 최종 복합원료 선정
  - 상기의 내용을 바탕으로 알로에 추출물은 최종 복합원료에서 제외하였으며, 맥아와 구절초 추출물의 혼합비율 설정 시험에서 1:1 또는 1:2 혼합 시 가장 우수한 prolactin 분비 억제 효능을 나타내었음
  - 따라서, 본 연구개발의 최종 복합원료는 맥아와 구절초 추출물의 1:1 혼합물로 선정하고, 개별인정형 기능성 원료 개발을 위한 연구를 수행함  
(원료명: 맥아구절초추출복합물)

라. 원재료 표준화 연구

(1) 연구방법

(가) 최종 선정된 복합소재인 맥아와 구절초의 안정적인 원료 수급을 위해 원재료의 표준화를 진행하고자 하였음

(2) 재료 및 방법

(가) 실험 재료

- ① 유통판매 및 지역 농가별 구절초, 발아 및 건조시간별 맥아
- ② 구절초 및 맥아 주요성분 표준품

(나) 실험방법

① 맥아의 원재료 표준화

- 맥아의 경우 대맥의 열매를 발아시킨 소재로 오용/혼용의 가능성이 낮아 DNA 동정 보다는 기존 문헌을 바탕으로 발아 일수 및 건조시간 조절에 따른 최종 소재를 선정하고자 하였음

- 품종: 걸보리
- 발아일수: 4일 (참조: Kim 등 2013)
- 건조 온도 및 시간: 50°C에서 24, 48, 60, 72시간 건조

② 구절초의 원재료 표준화

- 유통되고 있는 대부분의 구절초는 일명 가구절초라 불리는 국화과의 식물 집단으로 진구절초 (또는 원구절초)라 불리는 구절초와는 그 성질이 다르다고 알려져 있으며, 대부분 오용/혼용하므로 이에 대한 표준화가 절대적으로 필요함

- 가구절초는 가을에 핀 국화로 성질이 대부분 차가운 것이 특징임
- 진구절초의 경우 따뜻한 성질을 가지고 있어 아랫배를 따뜻하게 해주는 효과가 있음
- 본 연구에서는 이러한 구절초의 표준화를 위해 시장에서 유통되고 있는 구절초와 재배 농가에서 구절초로 재배 및 판매하고 있는 3곳의 구절초를 수집하여 이에 대한 DNA 서열을 분석하였으며, 각각의 ITS 부위를 분석하여 이를 근거로 동정하였음
- 정읍 (구절초 마을, 꿈의 향기 농장), 화순 구절초 농가, 시장에 유통판매되고 있는 구절초 총 4개의 시료를 DNA 추출 후 ITS 부위를 증폭시켜 sequencing을 진행함



(3) 연구결과

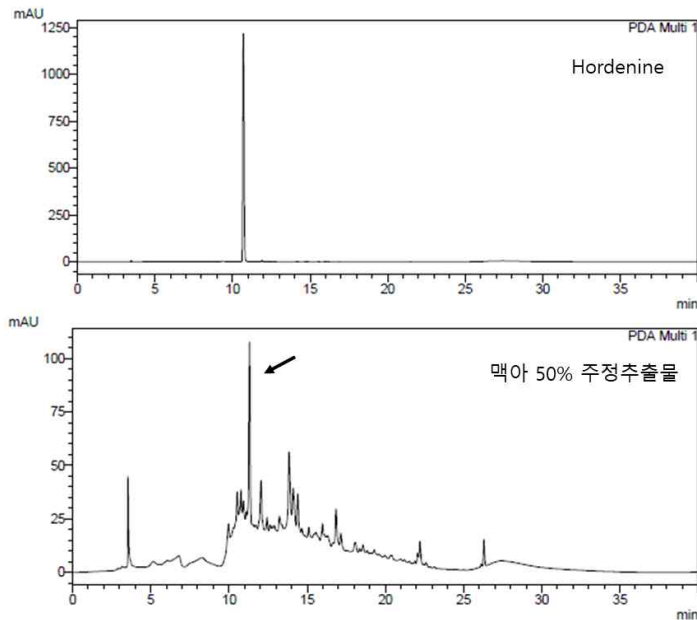
(가) 맥아의 원재료 표준화에 따른 최종 원재료 확보

- ① 걸보리 4일 발아 후 각 시간별로 건조하여 50% 주정추출물을 제조하고, 각 추출물의 prolactin 분비 억제 효과를 측정한 결과 48시간 건조 맥아에서 가장 우수한 효능을 나타내었음

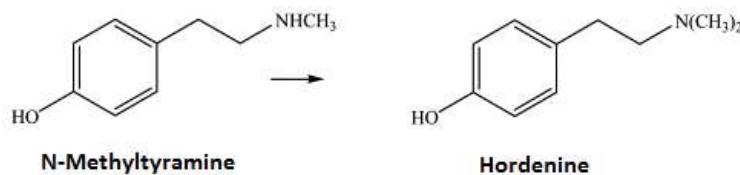
	농도 (µg/mL)	Prolactin secretion (ng/ml)	Cell viability (% of control)
Control	-	0.554±0.034	100
Prefemin	100	0.091±0.024	88.74±5.31
맥아 24h	50	0.165±0.023	122.51±6.61

	100	0.094±0.044	96.00±4.10
맥아 48h	50	0.131±0.020	119.12±4.11
	100	0.064±0.040	100.89±5.02
맥아 60h	50	0.159±0.026	99.28±3.33
	100	0.109±0.038	88.87±2.61
맥아 72h	50	0.277±0.050	94.53±1.33
	100	0.235±0.101	83.55±2.47

② 1차 맥아의 prolactin 분비 억제 유효성분으로 hordenine을 선정하여 분석하였으며, 특히 확보 및 추가 유효성분 규명을 위해 hordenine 외에 맥아 발아 시 성분 변화를 나타내는 N-methyltyramine과 gramine의 효능 분석을 추가로 진행하였음



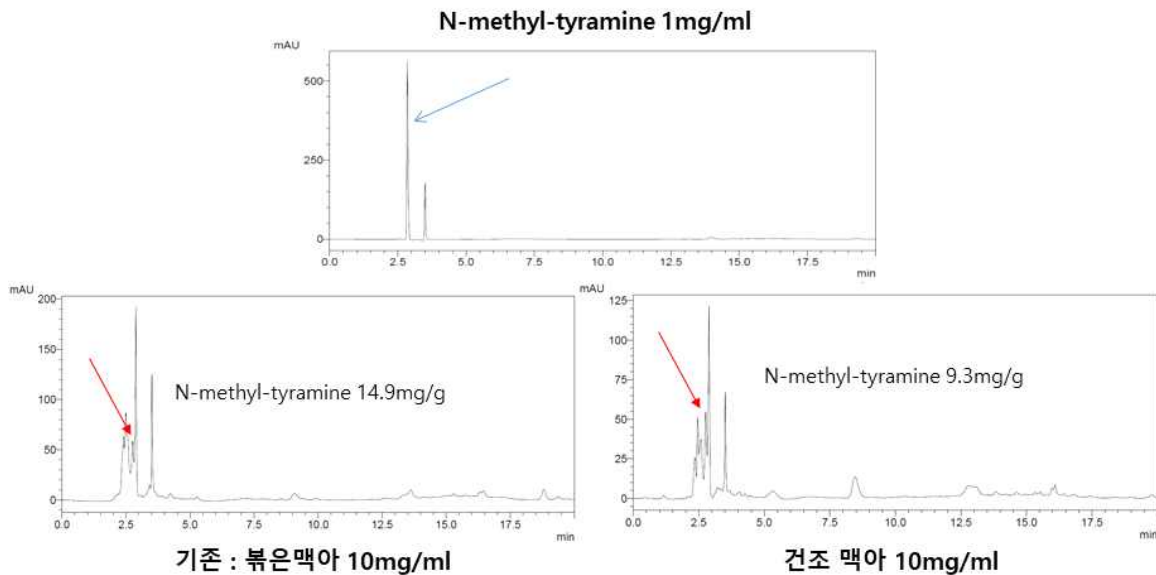
- Hordenine과 gramine은 맥아 발아 시 생합성 되어지는 alkaloid 성분으로 발아 시간에 따라 함량이 높아진다고 알려져 있으며, 특히 4일 발아 시 함량이 최고조에 달한다고 보고되어 있음
- 특히 hordenine은 N-methyltyramine으로부터 생합성 되어지므로 이에 대한 함량 분석이 중요하다 할 수 있음



	농도 (µg/mL)	Prolactin secretion (ng/ml)
Control	-	0.554±0.034
N-methyl tyramine	0.1	0.516±0.017
	1	0.540±0.038
	10	0.298±0.001

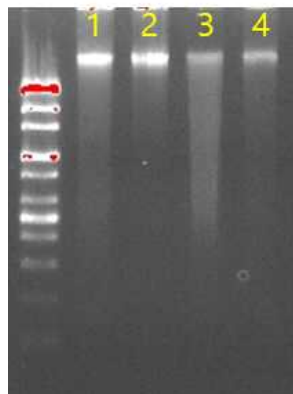
Gramine	0.1	0.501±0.041
	1	0.414±0.013
	10	0.232±0.008

- N-methyltyramine과 gramine의 prolactin 분비 억제 효능을 측정한 결과 hordenine에 비하여 다소 낮은 효능을 나타냈으나, 농도가 높아질수록 유의성 있게 prolactin 분비를 억제하여 추가 유효성분으로 확보하고자 하였음
- 유통되고 있는 맥아의 경우 건조 후 볶아 생산되어 지나, 본 연구개발에 사용되는 맥아의 경우 볶지 않은 맥아로써 기존 맥아와 N-methyltyramine의 성분 함량을 분석하였으며, (N-methyltyramine는 hordenine 등의 다른 유효성분으로 생합성 되어지므로 낮은 함량은 생합성이 증가함을 의미함), 분석 결과 건조 맥아에서 N-methyltyramine 함량이 더 낮게 측정되었음



(나) 구절초의 원재료 표준화에 따른 최종 원재료 확보

- ① 정읍 (구절초 마을, 꿈의 향기 농장), 화순 구절초 농가, 유통 판매되고 있는 구절초 총 4개의 시료를 DNA 추출 후 ITS 부위를 증폭시켜 sequencing한 결과, 농가에서 재배하고 있는 구절초 3종은 모두 진구절초로 동정되었으나, 현재 시장에 유통되고 있는 구절초는 국화로 동정되어 가구절초로 판정되었음
  - 농가 재배 구절초: *Chrysanthemum zawadskii* (구절초)
  - 유통 판매 구절초: *Chrysanthemum indicum* / *lavandulifolium* (감국, 산국 등)



- 1 : 정읍 (구절초 마을)
- 2 : 화순 농가
- 3 : 정읍 (꿈의 향기 농장)
- 4 : 유통 구절초



## 정읍 (구절초 마을)

>[KX394604.1](#) Chrysanthemum zawadskii isolate TKM201572 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  
Length=744

Score = 1266 bits (685), Expect = 0.0  
Identities = 695/700 (99%), Gaps = 0/700 (0%)  
Strand=Plus/Plus

## 화순 농가

>[KX394604.1](#) Chrysanthemum zawadskii isolate TKM201572 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  
Length=744

Score = 1291 bits (699), Expect = 0.0  
Identities = 699/699 (100%), Gaps = 0/699 (0%)  
Strand=Plus/Plus

## 정읍 (꿈의 향기 농장)

>[KX394604.1](#) Chrysanthemum zawadskii isolate TKM201572 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  
Length=744

Score = 1293 bits (700), Expect = 0.0  
Identities = 700/700 (100%), Gaps = 0/700 (0%)  
Strand=Plus/Plus

## 유통되고 있는 구절초

>[KC694223.1](#) Chrysanthemum indicum isolate LBH2\_13 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  
[KC694229.1](#) Chrysanthemum indicum isolate LBH2\_3 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  
[KC694247.1](#) Chrysanthemum indicum isolate LEM\_5 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  
[KC694452.1](#) Chrysanthemum indicum isolate LXY\_3 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  
[KC694520.1](#) Chrysanthemum lavandulifolium isolate LPL\_1 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  
[KC694522.1](#) Chrysanthemum lavandulifolium isolate LPL\_4 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  
[KC694523.1](#) Chrysanthemum lavandulifolium isolate LPL\_6 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  
Length=703

Score = 1288 bits (697), Expect = 0.0  
Identities = 697/697 (100%), Gaps = 0/697 (0%)  
Strand=Plus/Plus

- ② 따라서, 본 연구개발을 위한 구절초 원재료는 표준화된 원재료 확보를 위해 정읍과 화순에 있는 농가에서 시료를 구입하였으며, 종료 1차년도에 농가계약을 통한 원재료 수급의 안정화를 추진할 계획임

### (4) 결론

(가) 맥아 원재료: 겉보리 4일 발아 후 48시간 건조

(나) 구절초 원재료: 정읍 및 화순 농가에서 재배되고 있는 건조 구절초 수급 (유통되고 있는 구절초는 사용 불가)

마. 최종 복합원료 생산을 위한 제조공정 연구

(1) 연구방법

(가) 최종 선정된 복합소재인 맥아와 구절초 추출물을 GMP 시설에서 제조하기 위한 1최적 제조공정 연구 수행

(나) 최종 복합원료 ‘맥아구절초추출복합물’은 맥아 50% 주정추출물과 구절초 70% 주정추출물을 각각 제조한 후 1:1로 혼합하는 방법으로 제조할 예정이며, 이에 맥아와 구절초 각각의 추출물에 대한 제조연구를 lab scale로 진행함

(2) 재료 및 방법

(가) 실험 재료

① 표준화된 맥아, 구절초 원재료

(나) 실험방법

① 맥아 50% 주정추출물의 제조공정 연구

- 추출공정

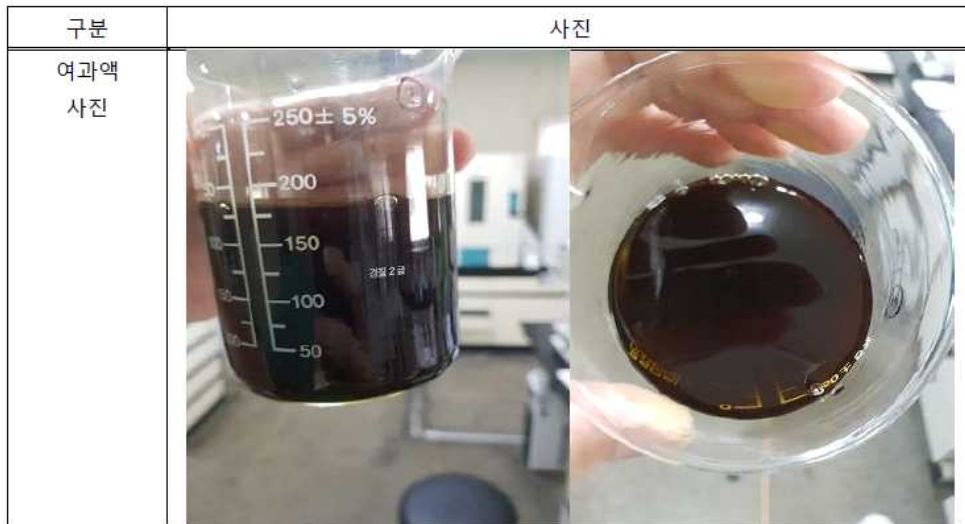
- 맥아 원료 1.5 kg씩 2 batch로 진행 (총 3kg 추출)
- 50% 에탄올 (주정) 30 L 제조 (10배수 용매 투입)

구분	시료(g)	추출 용매	용매 배수	추출온도(°C)	추출시간(hr)
추출 1	1,500	50% 에탄올	10배(15L)	70	5
추출 2	1,500	50% 에탄올	10배(15L)	70	5

- 여과공정

- 추출이 완료된 후 추출물을 여과 후 소량의 50% 에탄올로 세척


구분	여과액량 (g)	pH	Brix	고형분	수율
여과액	25,496	5.43	16	0.89	7.56



- 농축공정

- 증류수 3L를 농축액에 투입하여 최종 농축 10~12 brix까지 농축 진행
- 최종 농축 확인 후 건조 시험 진행 (분무건조)

구분	액량(g)	pH	고형분(%)	건조물(g)	수율(%)	Brix
농축액	2,378	4.66	10.52	250.17	8.34	11

구분	사진
진한 갈색의 농축상태를 보임.	

- 건조

- 농축액에 대하여 단독 분무건조 (SD), 부형제 혼합 건조로 나누어 분무건조 시행

② 구절초 70% 주정추출물의 제조공정 연구

- 추출공정

- 구절초 원료 1.5 kg씩 2 batch로 진행 (총 3kg 추출)
- 70% 에탄올 (주정) 30 L 제조 (10배수 용매 투입)

구분	시료(g)	추출 용매	용매 배수	추출온도(°C)	추출시간(hr)
①	1,500	70% 에탄올	10배(15L)	70	5
②	1,500	70% 에탄올	10배(15L)	70	5

- 여과공정

- 추출이 완료된 후 추출물을 여과 후 소량의 70% 에탄올로 세척

구분	여과액량 (g)	pH	Brix	고형분	수율
여과액	22,040	6.09	19	1.80	13.22

구분	사진
추출액 여과 후	

- 농축공정

- 농축 후 증류수 3L를 농축액에 추가 투입하여 추가 농축 진행
- 농축 종료 후 농축액 상층부에 기름띠 형성, 침전물로 인한 수기 내 침전물 띠 형성

구분	액량(g)	고형분(%)	건조물(g)	수율(%)	Brix
농축액	2,564	14.42	369.73	<b>12.32</b>	15

구분	사진
최종 농축액 상태 및 침전물	



- 건조

- 다량의 정유성분 함유로 인해 연조엑스와 같은 상태의 농축액에서 정유성분을 제외하여 분부 건조 실시

(3) 연구결과

(가) 맥아 50% 주정추출물의 제조공정 연구

- ① 단독 분부건조 시 흡습의 우려가 있고, 부형제 (텍스트린) 첨가 시 흡습은 개선되었으나 50% 이상 부형제가 첨가되어야 한다는 점에서 기존 방법과 동일한 동결건조의 방법으로 원료를 생산하고자 하였음

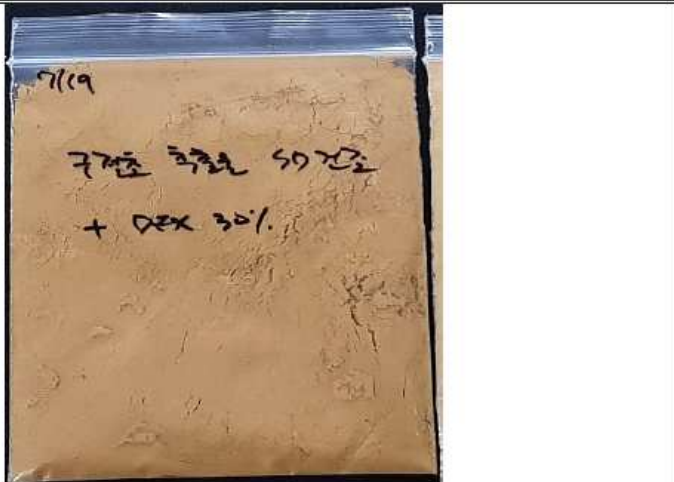
구분	사진
1) 농축액 단독 SD건조	 <p>- 건조물의 상태는 흡습이 심하고, 케이크화 현상이 발생함.</p>
2) 텍스트린 50% 혼합 SD건조	 <p>- 건조물의 상태는 흡습 일부 개선되었지만, 건조품 회수부에 붙는 현상 발생.</p>

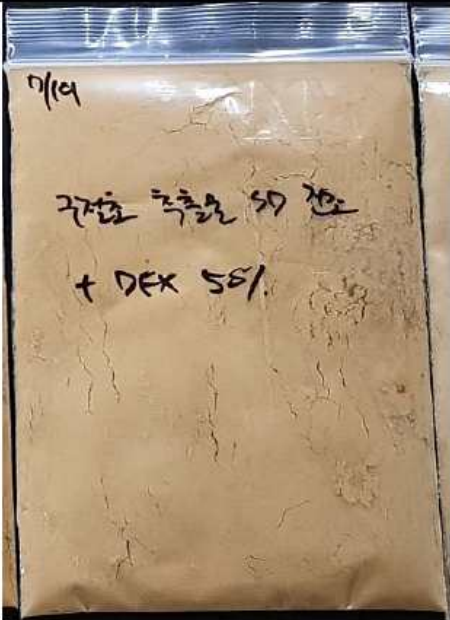
<p>3) 맥스트린 70% 혼합 SD건조</p>		
<p>- 흡습, 케이크화 현상 매우 개선됨</p>		

(나) 구절초 70% 주정추출물의 제조공정 연구

- ① 다량의 불용성 침전물로 인해 분무건조는 어려울 것으로 판단하였으며, 다량의 침전물을 제거하더라도 50% 이상 부형제가 첨가되어야 한다는 점에서 구절초 70% 주정추출물 또한 기존 방법과 동일한 동결건조의 방법으로 원료를 생산하고자 하였음

구분	사진	
<p>건조분이 기벽에 붙어 잘 떨어지지 않음.</p> <p>흡습이 심함. 손으로 만졌을 때 바로 녹음</p>		

구분	사진	
<p>건조물 상태</p> <p>흡습과 케이크 현상 이 여전히.</p>		

구분	사진
<p>건조물 상태</p> <p>건조물의 성상이 밝아 졌으며, 흡습 과 케이크 현 상이 개선됨.</p>	

(4) 결론

(가) 맥아 및 구절초 추출물 모두 분무건조는 어려울 것으로 판단되어 동결건조를 통한 분말 원료로 생산하고자 하였음

**바. 생리전증후군 완화 복합원료의 제조공정 확립 및 bGMP 대량 생산**

(1) 연구방법

(가) 표준화된 맥아 및 구절초의 lab 및 pilot scale 생산을 통해 최종 원료의 GMP 생산 공정 확립

(나) 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말 생산 공정 확립에 따른 bGMP 대량생산

(2) 재료 및 방법

(가) 실험 재료

- ① 표준화된 맥아, 구절초 원재료 2종
- ② 추출용매 및 HPLC 분석 용매 (주정, acetonitrile, phosphoric acid, 정제수)

(나) 실험방법

- ① 맥아 50% 주정추출물 및 구절초 70% 주정추출물의 생산공정 확립

<제조 조건>

- 원재료 투입량 : 각 100g (lab scale), 2 kg (Pilot scale), 190~200 kg(bGMP)
- 추출용매/배수 : 맥아 50% 주정, 구절초 70% 주정 / 각 10배수
- 추출온도/추출시간 : 70℃ / 5 시간
- 여과 : 120/80 mesh 카트리지
- 농축 : 40 mbar, 농축온도 45 ℃
- 건조

<동결건조 조건>

- step 1 : -30℃ , 24 hr holding
- step 2 : -30~0℃ , 1 hr holding
- step 3 : 0~30℃ , 24 hr / 24 hr holding
- step 4 : 30~35℃ , 12 hr /10 min holding
- step 5 : 35~36℃ , 15 min

<HPLC 분석 조건>

- 시료 농도 : 5 mg/mL (with 50% MeOH)
- 분석파장 : 300 nm(맥아 50%주정추출물), 280 nm(구절초 70%주정추출물)
- 컬럼 : UG 120 5 um, 4.6mm I.D X 250 mm
- 이동상 : Solvent A(0.1% 인산), Solvent B (Acetonitrile)

Time	Solvent A %	Solvent B %
10.0	95	5
35.0	75	25
40.0	55	45
40.1	40	60
45.0	40	60
45.1	95	5
55.0	95	5

② 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 bGMP 3 batch 생산

- Lab 및 pilot scale 생산 공정 확립에 따른 GMP 기관 3 batch 대량 생산 수행
- 3 batch 생산 자료를 근거로 맥아주정추출분말과 구절초주정추출분말의 1:1 혼합물 “맥아구절초추출복합물”의 최종 생산 공정 확립

(3) 연구결과

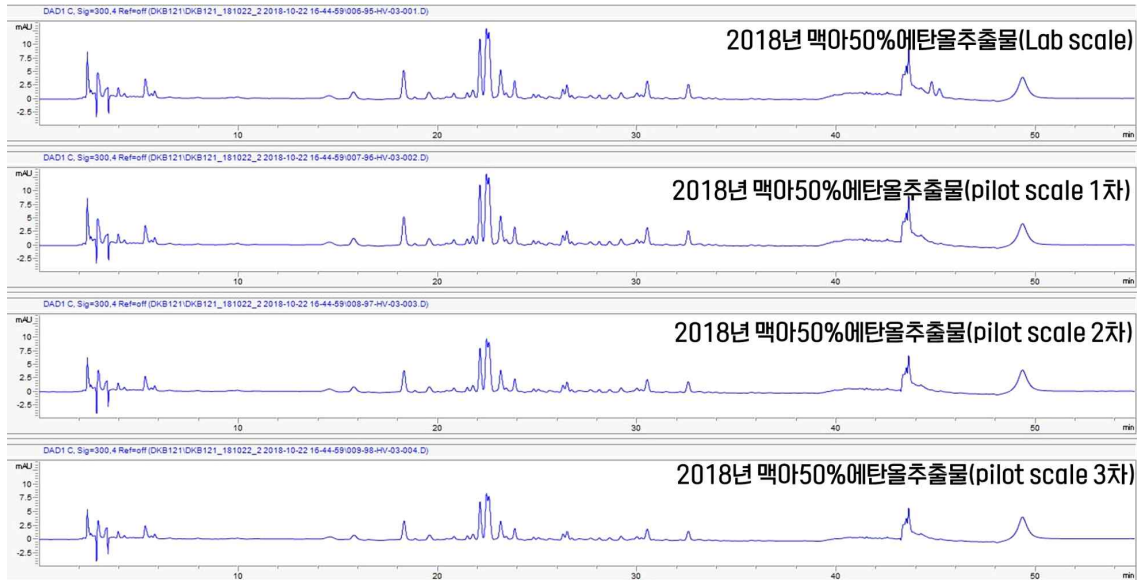
(가) 맥아 50% 주정추출물의 생산공정 확립

- ① 표준화된 맥아 원재료로 맥아 50% 주정추출물을 lab / pilot scale로 제조하여 각각의 성분 pattern을 분석하고, 이에 대한 재현성 및 동등성을 확인한 결과, 유사도가 0.99 이상으로 분석됨에 따라 제조 재현성을 확인함

<맥아 50% 주정추출물 (맥아주정추출분말)의 제조 공정 흐름도>



<제조 규모에 따른 HPLC 유사도 평가>

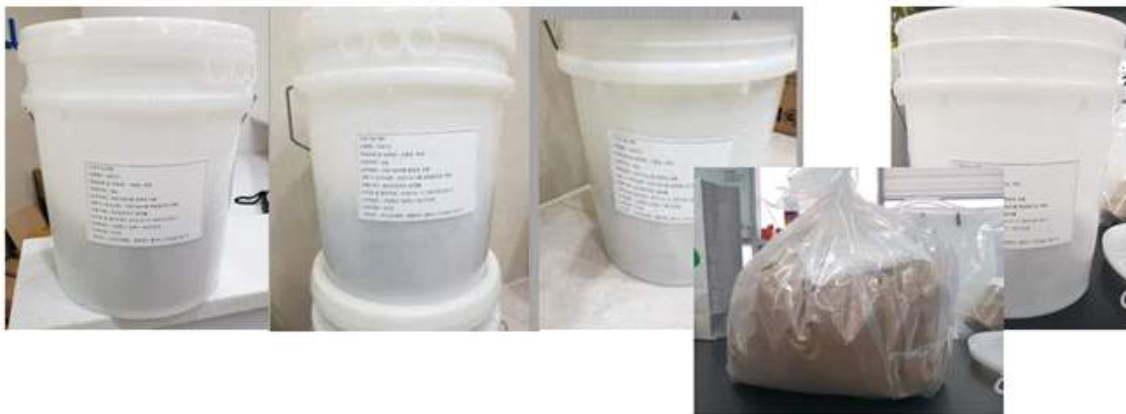


Batch	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	유사도
Lab scale 1차	60.1	84.5	95.7	99.9	59.2	0.999
Pilot scale 1차	60.5	85.2	96.6	101.5	59.9	0.999
Pilot scale 2차	41.7	62.0	73.3	74.9	44.3	0.995
Pilot scale 3차	35.4	52.9	62.2	63.9	28.5	0.991
성분프로파일	49.42	71.15	81.95	85.05	47.97	

(나) 맥아주정추출분말 (맥아 50% 주정추출물)의 bGMP 대량 생산

① Pilot scale에서 확립된 제조공정에 따라 bGMP zone에서 3 lots을 생산함

맥아주정추출분말 Lot No.	원재료 투입량(kg)	수율(%)
BDP181127-1	200	2.77
BDP181127-2	200	2.97
BDK190902	192	2.75





맥아주정추출물 1 lot(BDP181127-1)제조기록서

KGC 예본	제조지시 및 기록서		제품표준서	-	
			개정 번호	01	
제품명	맥아주정추출분말	제조 번호	BDP181127-1	제조 단위	-

[제품정보] : 제조라인 D라인

제품명	맥아주정추출분말	제품의 종류	개별인정형 (원료성)	제품코드	DKB1211
성상	연한갈색~갈색의 가루				
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관				
유통기한	제조일로부터 36개월				

[작성, 검토 및 승인]

구분	부서	성명	서명	서명 일자
작성자	생산관리팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
검토자	품질관리팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
	품질보증팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
	생산관리팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
승인자	GMP총괄책임자 (품질관리인)	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일

[발행 및 제조지시]

발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
DKB1211-001	[Redacted] [Redacted] / 2018년 11월 28일	[Redacted] / 2018년 11월 28일	BDP181127-1
제조 일자	2018년 11월 29일	유통 기한	2021년 11월 28일

-----제조완료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조관리책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인)/ 서명일
[Redacted] / 2018년 12월 11일	[Redacted] / 2018년 12월 12일
문서보존 기한	2022년 11월 28일 [해당제품 유통기한 + 1년]

**ORIGINAL**  
양식YFP-302-01(01)

KGC 예본 (주)케이 지씨 예본



페이지 1 / 27

<b>제조지시 및 기록서</b> 제품명 맥아주정추출물		제품표준서	-	
		개정 번호	01	
제조 번호	BDP181127-2		제조 단위	-

【제품정보】 : 제조라인 D라인

제품명	맥아주정추출물	제품의 종류	개별인정형 (원료성)	제품코드	DKB1211
성상	연한갈색~갈색의 가루				
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관				
유통기한	제조일로부터 36개월				

【작성, 검토 및 승인】

구분	부서	성명	서명	서명 일자
작성자	생산관리팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
검토자	품질관리팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
	품질보증팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
	생산관리팀	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
승인자	GMP총괄책임자 (품질관리인)	[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일
		[Redacted]	[Redacted]	2018년 11월 28일

【발행 및 제조지시】

발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
DKB1211-002	[Redacted] / 2018년 12월 03일	[Redacted] / 2018년 12월 03일	BDP181127-2
제조 일자	2018년 12월 04일	유통 기한	2021년 12월 03일

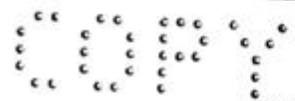
-----제조완료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조관리책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인) / 서명일
[Redacted] / 2018년 12월 12일	[Redacted] / 2018년 12월 12일
문서 보존 기한	2022년 12월 03일 [해당제품 유통기한 + 1년]

ORIGINAL  
302-01(01)

KGC 예본 (주)케이씨예본



맥아주정추출물 3 lot(BDK190902)제조기록서

KGC 예본	제조지시 및 기록서			제품표준서	-
				개정 번호	02
제품명	맥아주정추출분말	제조 번호	BPK190902	제조 단위	-

[제품정보] : 제조라인 D라인

제품명	맥아주정추출분말	제품코드	DKB1211
제조구분	<input type="checkbox"/> 자사제조 <input checked="" type="checkbox"/> 수탁제조(위탁사 : 동국제약 )	용도	- 1
성상	연한갈색~갈색의 가루		
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관		
유통기한	제조일로부터 36개월		

[작성, 검토 및 승인]

구분	부서	성명	서명	서명 일자
작성자	생산부			2019년 08월 26일
검토자	품질관리팀			2019년 08월 26일
	품질보증팀			2019년 08월 26일
	생산관리팀			2019년 08월 26일
승인자	GMP총괄책임자 (품질관리인)			2019년 08월 26일

[발행 및 제조지시]

발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
BK1211-01	[홍성림] / 2019년 08월 29일	[홍성림] / 2019년 08월 29일	BPK190902
제조 일자	2019년 08월 29일	유통 기한	2022년 08월 29일

-----제조완료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조부서 책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인)/ 서명일
[홍성림] / 2019년 09월 11일	[홍성림] / 2019년 09월 16일
문서 보존 기한	2023년 08월 29일 [해당제품 유통기한 + 1년]

ORIGINAL  
양식YFP-302-01(01)

KGC 예본 (주)케이지씨예본

페이지 1 / 27

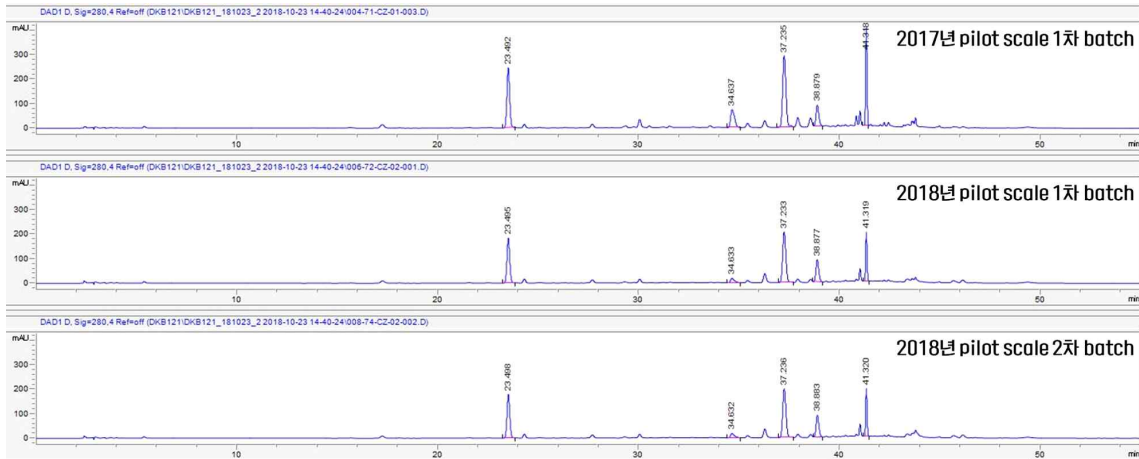
(다) 구절초 70% 주정추출물의 생산공정 확립

- ① 2017년도와 2018년도에 수집된 구절초를 대상으로 구절초 70% 주정추출물을 pilot scale로 제조하여 각각의 성분 pattern을 분석하고, 이에 대한 재현성 및 동등성을 확인한 결과, 유사도가 0.91 이상으로 분석됨에 따라 제조 재현성을 확인함

<구절초 70% 주정추출물 (구절초주정추출분말)의 제조 공정 흐름도>



<제조 규모에 따른 HPLC 유사도 평가>



Batch	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	유사도
2017년 Pilot scale (1차년도 제조 시료)	2345.3	985	3286.6	827.1	1896	
2018년 Pilot scale 1차 (2차년도 제조 시료)	1742.5	238.9	2262.8	874.6	944.8	0.916
2018년 Pilot scale 2차 (2차년도 제조 시료)	1690.5	234.6	2199.7	850.6	928.3	0.918

(라) 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물)의 bGMP 대량 생산

- ① Pilot scale에서 확립된 제조공정에 따라 bGMP zone(제조업체: KGC예본)에서 2 lots을 생산함

구절초주정추출분말 Lot No.	원재료 투입량(kg)	수율(%)
BPD181128	200	8.6
BPK190826	192	8.1

구절초주정추출분말 1 lot(BPD181128)제조기록서

KGC에본	제조지시 및 기록서		제품표문서	-	
			개정 번호	01	
제품명	구절초주정추출분말	제조 번호	BPD181128	제조 단위	-

[제품정보] : 제조라인 D라인

제품명	구절초주정추출분말	제품의 종류	개별인장형 (원료성)	제품코드	DKB1212
성상	연한녹황색~황색의 가루				
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관				
유통기한	제조일로부터 36개월				

[작성, 검토 및 승인]

구분	부서	성명	서명	서명 일자
작성자	생산관리팀			2018년 11월 28일
검토자	품질관리팀			2018년 11월 29일
	품질보증팀			2018년 11월 28일
	생산관리팀			2018년 11월 28일
승인자	GMP총괄책임자 (품질관리인)			2018년 11월 28일

[발행 및 제조지시]

발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
DKB1212-001		2018년 12월 03일	BPD181128
제조 일자	2018년 12월 06일	유통 기한	2021년 12월 05일

-----제조완료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조관리책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인)/ 서명일
	2018년 12월 05일
문서보존기	2022년 12월 05일 [해당제품 유통기한 + 1년]


ORIGINAL

양식YBP-302-01(01)

KGC에본(주)케이지씨에본

페이지 1 / 27

구절초주정추출분말 2 lot(BPK190826)제조기록서

	<b>제조지시 및 기록서</b>		제품표준서	-	
			개정 번호	02	
제품명	구절초주정추출분말	제조 번호	BPK190826	제조 단위	-

[제품정보] : 제조라인 D라인

제품명	구절초주정추출분말	제품코드	DKB1212
제조구분	<input type="checkbox"/> 자사제조 <input checked="" type="checkbox"/> 수탁제조(위탁사 : 동국제약 )	용도	
성상	연한복합색~황색의 가루		
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관		
유통기한	제조일로부터 36개월		

[작성, 검토 및 승인]

구분	부서	성명	서명	서명 일자
작성자	생산부			2019년 08월 16일
검토자	품질관리팀			2019년 08월 16일
	품질보증팀			2019년 08월 16일
	생산부			2019년 08월 16일
승인자	GMP총괄책임자 (품질관리인)			2019년 08월 16일

[발행 및 제조지시]

발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
DKB1212-001		/ 2019년 08월 23일	BPK190826
제조 일자	2019년 08월 26일	유통 기한	2022년 08월 25일

-----제조원료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조관리책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인)/ 서명일
	/ 2019년 09월 04일
문서보존기	2023년 08월 25일 [해당제품 유통기한 + 1년]

ORIGINAL

양식YFP-302-01(01)

KGC 예본 (주)케이지씨예본



페이지 1 / 27

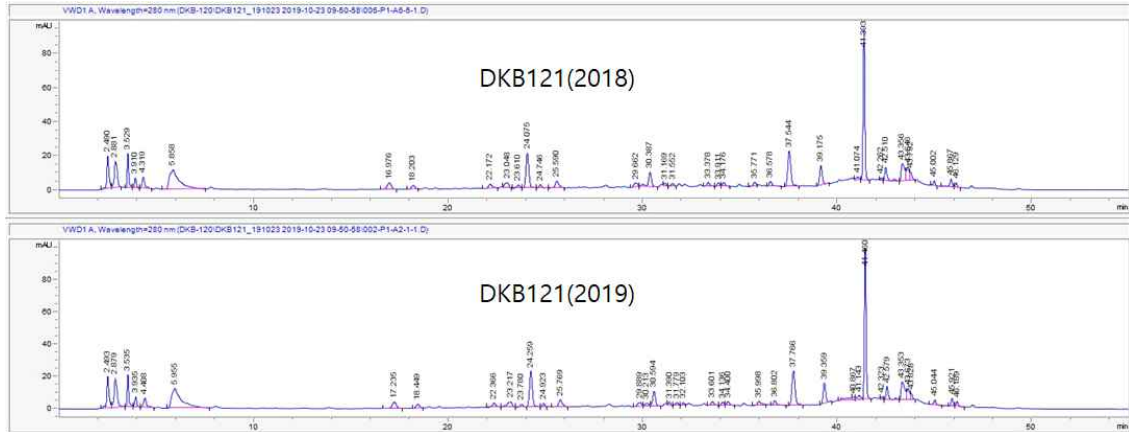
(마) 맥아구절초추출복합물(기능성 원료) 생산 공정 확립

- ① 맥아구절초추출복합물의 제조 재현성을 평가하기 위해 2018년 제조 2 batch와 2019년 제조 1 batch간 동일 조건하에서 HPLC Pattern 분석을 수행하였고 PEARSON 값을 통

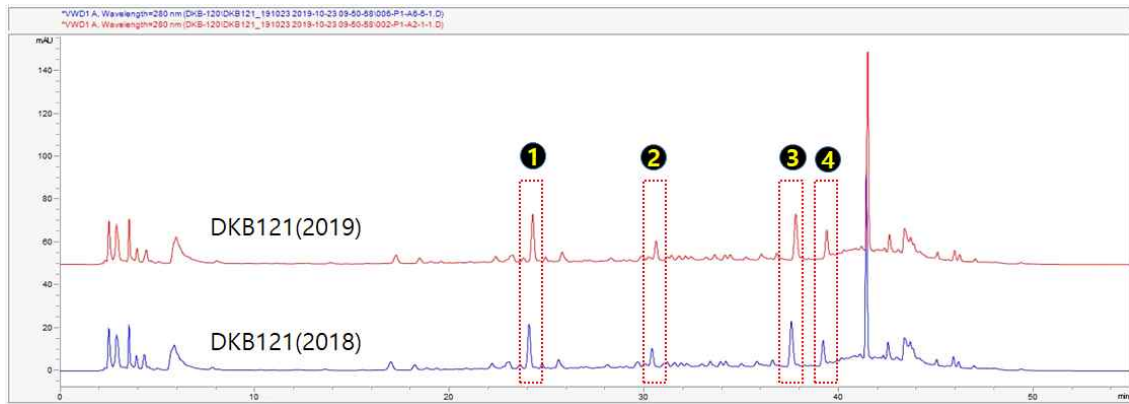
한 각 batch 별 peak area값의 유사도를 평가한 결과 유사도가 0.9 이상으로 확보됨에 따라 제조 재현성이 있음을 확인함

제조 연도	Batch No.
2018년 11월	BPD181130-1
	BPD181130-2
2019년 9월	BPK190917

HPLC pattern 분석을 통한 재현성 확인




유사도 평가를 통한 제조 재현성 확인



Batch	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	유사도
bGMP DKB121_2018	219.2	104.6	236.6	117.0	0.990
bGMP DKB121_2019	229.5	96	244.1	122.8	0.999
성분프로파일	224.35	100.30	240.35	119.90	

맥아구절초추출복합물 1 lot(BPD181130-1)제조기록서

	<b>제조지시 및 기록서</b>		제품표준서	-	
			개정 번호	01	
제 품 명	맥아구절초추출복합물	제조 번호	BPD181130-1	제조 단위	-

【제품정보】 : 제조라인 D라인

제 품 명	맥아구절초추출복합물	제품의 종류	개별인정형 (원료성)	제품코드	DKB0121
성 상	연한갈색~갈색의 분말				
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관				
유통기한	제조일로부터 36개월				

【작성, 검토 및 승인】

구 분	부 서	성 명	서 명	서명 일자
작 성 자	생산관리팀			2018년 11월 28일
검 토 자	품질관리팀			2018년 11월 28일
	품질보증팀			2018년 11월 28일
	생산관리팀			2018년 11월 28일
승 인 자	GMP총괄책임자 (품질관리인)			2018년 11월 28일

【발행 및 제조지시】


발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
DKB0121-001		2018년 12월 13일	BPD181130-1
제조 일자	2018년 12월 17일	유통 기한	2021년 12월 16일

-----제조완료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조관리책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인)/ 서명일
	2018년 12월 17일
문 서 보 존 기 한	2022년 12월 16일 [해당제품 유통기한 + 1년]


**ORIGINAL**  
당사자 BPD1302-0100

KGC  (주)케이씨에본



페이지 1 / 9



	<b>제조지시 및 기록서</b>		제품표준서	-	
			개정 번호	01	
제 품 명	맥아구절초추출복합물	제조 번호	BPD181130-2	제조 단위	-

【제품정보】 : 제조라인 D라인

제 품 명	맥아구절초추출복합물	제품의 종류	개발인정형 (원료성)	제품코드	DKB0121
성 상	연한갈색~갈색의 분말				
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관				
유통기한	제조일로부터 36개월				

【작성, 검토 및 승인】

구 분	부 서	성 명	서 명	서명 일자
작 성 자	생산관리팀			2018년 11월 28일
검 토 자	품질관리팀			2018년 11월 28일
	품질보증팀			2018년 11월 28일
	생산관리팀			2018년 11월 28일
승 인 자	GMP총괄책임자 (품질관리인)			2018년 11월 28일

【발행 및 제조지시】

발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
DKB0121-02		2018년 12월 13일	BPD181130-2
제조 일자	2018년 12월 17일	유통 기한	2021년 12월 16일

-----제조완료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조관리책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인)/ 서명일
	2018년 12월 19일
문 서 보 존 기 한	2022년 12월 16일 [해당제품 유통기한 + 1년]

ORIGINAL

KGC  (주)케이지씨에본



페이지 1 / 9

맥아구절초추출복합물 3 lot(BPK190917)제조기록서

KGC 예본	제조지시 및 기록서		제품표준서	-	
			개정 번호	02	
재 품 명	맥아구절초추출복합물	제조 번호	BPK190917	제조 단위	-

【제품정보】 : 제조라인 D라인

재 품 명	맥아구절초추출복합물	제품코드	DKB0121
제조구분	<input type="checkbox"/> 자사제조 <input checked="" type="checkbox"/> 수탁제조(위탁사 : 동국제약 )	용도	-
성 상	연한갈색~갈색의 분말		
보관방법	기밀용기, 실온(1~30℃)보관		
유통기한	제조일로부터 36개월		

【작성, 검토 및 승인】

구 분	부 서	성 명	서 명	서명 일자
작 성 자	생산관리팀			2019년 09월 02일
검 토 자	품질관리팀			2019년 09월 02일
	품질보증팀			2019년 09월 02일
	생산관리팀			2019년 09월 02일
승 인 자	GMP총괄책임자 (품질관리인)			2019년 09월 02일

【발행 및 제조지시】

발행 번호	발행자[부서]/ 발행일자	제조지시자/ 제조지시일자	제조번호
DKB0121-001		/ 2019년 09월 11일	BPK190917
제조 일자	2019년 09월 17일	유통 기한	2022년 09월 16일

-----제조완료 후 기재란-----

본 제품은 우수건강기능식품제조기준을 준수하여 제조하고 기록함을 확인함

제조관리책임자 / 서명일	GMP총괄책임자(품질관리인)/ 서명일
	/ 2019년 09월 02일
문 서 보 존 기 한	2023년 09월 16일 [해당제품 유통기한 + 1년]

ORIGINAL



양식YFP-302-01(01)

KGC 예본 (주)케이씨예본

페이지 1 / 9

(바) 맥아구절초추출복합물(기능성 원료)의 최종 제조공정 확립

- ① bGMP 제조 3 batch 자료를 근거로 맥아구절초추출복합물의 제조공정을 확립함 (식약처 제출 자료)

제조공정	공정 및 식품, 식품첨가물	기능/지표성분 함량변화(mg/g)	중량(kg)
<b>(맥아주정추출분말)</b>		Tricin	
원재료(맥아)	원재료: 맥아 학명: <i>Hordeum vulgare</i> L 사용부위: 씨앗	0.0299	192 kg
↓			
추출/여과	50 % 주정 1,920 L 65~75 °C, 5 시간 80 mesh	0.0031	1,761 L
↓			
농축	40~60 °C 90 kpa 6~12 Brix	0.0269	62 L
↓			
살균	80~90 °C, 1 시간 냉각온도 55 °C		
↓			
동결건조	건조온도 -40~30 °C 콜드트랩 -70 °C 진공 800 torr 미만 건조시간 120 시간	0.3049	5.63 kg
↓			
분쇄/포장	4,200 rpm		
↓			
맥아주정추출분말		0.3050	5.28 kg (수율 2.75%)
<b>(구절초주정추출분말)</b>		Chlorogenic acid	
원재료(구절초)	원재료: 구절초 학명: <i>Chrysanthemum zawadskii</i> Herbach var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitamura/ <i>Chrysanthemum zawadskii</i> var. <i>coreanum</i> 사용부위: 전초	2.3934	192 kg
↓			
추출/여과	70 % 주정 1,920 L 65~75 °C, 5 시간 80 mesh	0.1506	1,418 L
↓			
농축	40~60 °C 100 kpa 16~22 Brix	1.3602	83 L
↓			
살균	80~90 °C, 1 시간 냉각온도 55 °C		
↓			
동결건조	건조온도 -40~35 °C 콜드트랩 -70 °C 진공 900 torr 미만 건조시간 16 시간	7.132	15.97 kg
↓			
분쇄/포장	4,200 rpm		
↓			
구절초주정추출분말		7.124	15.52 kg (수율 8.08 %)
<b>(맥아구절초추출복합물)</b>			
혼합/포장	맥아주정추출분말 : 구절초주정추출분말 =50:50		8.90 kg
↓			
맥아구절초추출복합물		Tricin : 0.1794 Chlorogenic acid : 3.4009	8.52 kg (수율 95.7%)

#### (4) 결론

##### (가) 맥아주정추출분말의 생산 공정 확립

- ① 맥아주정추출분말의 생산 공정을 확립하기 위해 lab scale(원재료 100g 규모), Pilot scale(원재료 2kg)에서 원재료 투입량, 추출용매 투입량, 추출 온도, 여과 조건, 농축 조건 및 건조 조건을 설정하였음
- ② 설정된 제조 공정에 따라 제조 후, 각 batch별 HPLC Pattern 분석을 통해 생산 batch의 재현성을 검증하였음
- ③ 확립된 제조 공정도를 기반으로 원재료 규모 192~200kg의 bGMP 공장에서 대량 생산(3회 생산)하여 최종 제조 공정을 확립하고 맥아주정추출분말을 확보하였음

##### (나) 구절초주정추출분말의 생산 공정 확립

- ① 구절초주정추출분말의 생산 공정을 확립하기 위해 Pilot scale(원재료 2kg)에서 원재료 투입량, 추출용매 투입량, 추출 온도, 여과 조건, 농축 조건 및 건조 조건을 설정하였음
- ② 설정된 제조 공정에 따라 제조 후, 각 batch별 HPLC Pattern 분석을 통해 생산 batch의 재현성을 검증하였음
- ③ 확립된 제조 공정도를 기반으로 원재료 규모 192~200kg의 bGMP 공장에서 대량 생산(2회 생산)하여 최종 제조 공정을 확립하고 구절초주정추출분말을 확보하였음

##### (다) 맥아구절초추출복합물의 최종 제조 공정 확립

- ① bGMP에서 확립된 제조 공정을 기반으로 하여 맥아주정추출분말 (맥아 50% 주정추출물)과 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물)의 1:1 혼합물인 맥아구절초추출복합물의 제조공정을 최종 확립하고, 시험분석 (기능성, 안전성, 원료 규격 설정 등)을 위한 원료를 확보함

### 사. 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말 원료의 지표성분 설정 연구

#### (1) 연구방법

- (가) 기존 lab / pilot scale 생산 원료의 성분 분석 연구를 바탕으로 bGMP 기관에서 대량 생산된 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 최적 지표성분을 설정하고자 하였음
- (나) 맥아와 구절초 원료에서 각각 설정된 지표성분의 시험법을 확립하여 함량을 분석하고 규격화 하여 공인기관에서 최종 인증을 받고자 하였음

#### (2) 재료 및 방법

##### (가) 실험 재료

- ① GMP 대량 생산 원료: 맥아주정추출분말, 구절초주정추출분말
- ② HPLC 분석 용매 및 각 주요성분의 표준품

##### (나) 실험방법

- ① 맥아주정추출분말 (맥아 50% 주정추출물) 지표성분 설정 연구
  - 유통 판매되고 있는 맥아로부터 1차 lab scale 추출에 따른 hordenine 시험법 확립 및 함량 분석
  - 표준화된 맥아의 lab scale 추출물로부터 LC-MS 분석을 통한 주요성분 확보
  - 표준화된 맥아의 대량생산 원료 (맥아주정추출분말)로부터 주요성분 분리에 따른 시험법 확립 및 함량 분석
  - 최종 지표성분 설정에 따른 시험법 구축 및 함량 분석
- ② 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물) 지표성분 설정 연구
  - 유통 판매되고 있는 구절초로부터 1차 lab scale 추출에 따른 주요성분 분석법 확립 및

함량 분석

- 표준화된 구절초의 lab scale 추출물로부터 LC-MS 분석을 통한 주요성분 확보
- 표준화된 구절초의 대량생산 원료 (구절초주정추출분말)로부터 최종 지표성분 설정에 따른 시험법 구축 및 함량 분석

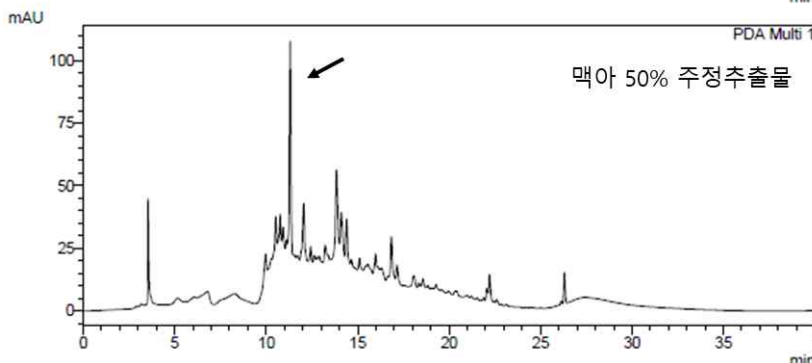
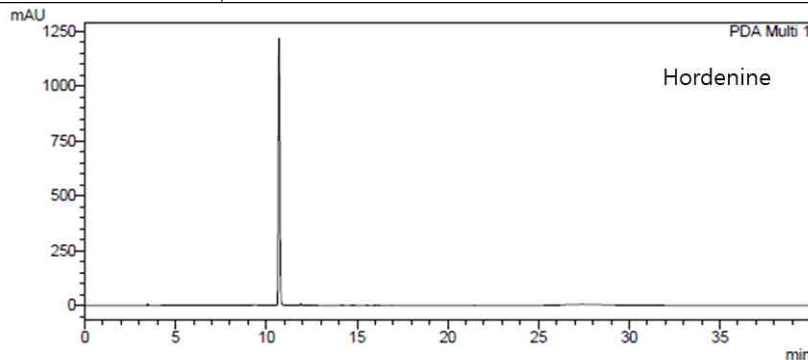
(3) 연구결과

(가) 맥아주정추출분말 (맥아 50% 주정추출물) 지표성분 설정 및 함량분석

① 유통 맥아로부터 lab scale 추출물 제조에 따른 지표성분 연구

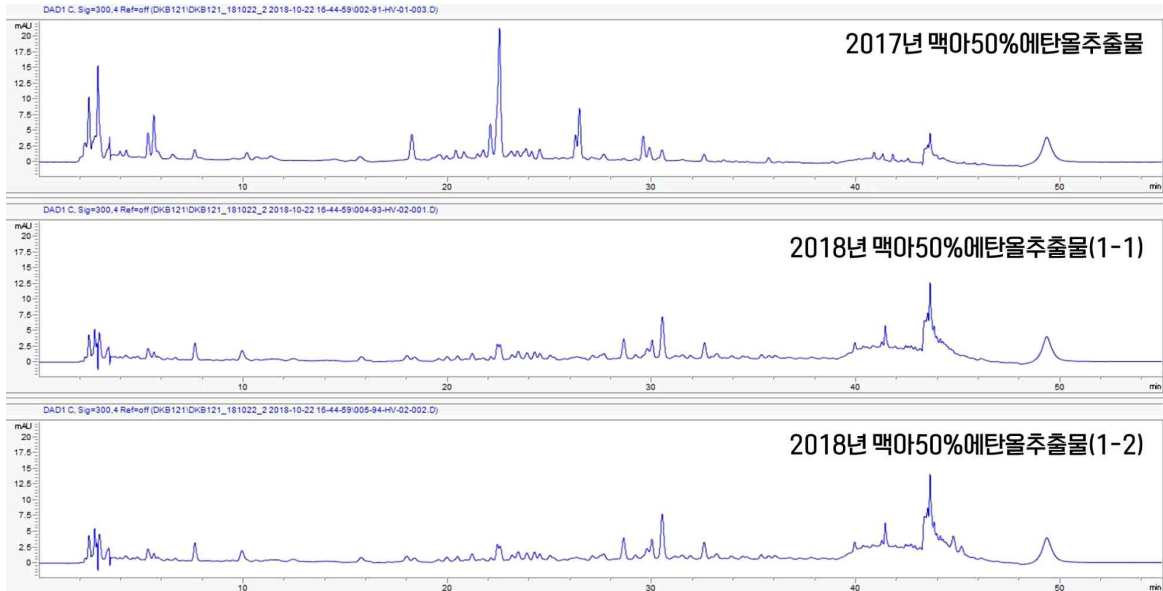
- 문헌 조사 및 prolactin 분비 억제 평가를 통해 1차 유효성분/지표성분으로 hordenine을 설정하였으며, HPLC 분석법 확립에 따른 성분 함량 분석을 실시한 결과 약 13.4±1.42 mg/g의 함량을 나타내는 것으로 분석되었음
- HPLC 분석조건 확립

Detector	PDA detector	
column	Skypak C18 (250 * 4.6mm)	
mobile phase	(A)0.05% Trifluoroacetic acid in water, (B) Methanol	
Time (min)	Solvent A(%)	Solvent B(%)
0	5	95
20	100	0
40	5	95
Flow rate	1.0 mL/min	
UV Wavelength	275 nm	
Injection volume	10µL	
Column Temp.	40°C	



② 표준화된 맥아로부터 lab scale 추출물 제조에 따른 지표성분 연구

- 맥아 원재료 표준화 후 prolactin 분비 억제 효능에는 변화가 없음을 확인하였으나, 1차 선정한 유효/지표성분인 hordenine이 검출되지 않았으며, 이에 유통 맥아의 추출물과 직접 발아시킨 맥아의 추출물의 HPLC pattern을 비교 분석함
- 그 결과 pattern의 상이함이 발견되었으며, 최종 맥아 원재료의 표준화를 확립하여 지표 성분 선정 연구를 진행하고자 하였음



- 최종적으로 확립된 발아 기준을 바탕으로 신규 원료 (2018년 2차 제조)를 제조하였으며, 해당 원재료로 pilot scale 및 대량생산 원료를 제조함 (바. 생리전증후군 완화 복합원료의 제조공정 확립 및 bGMP 대량 생산에 사용)
- 최종 표준화된 맥아 원재료 (겉보리 → 발아 (25℃, 4일, 순 2 cm) → 건조 (50℃, 48시간)) 추출물을 기존 맥아 50% 주정추출물과 성분 pattern을 비교 분석함

항목	2017년 제조	2018년 1차 제조	2018년 2차 제조
원재료 성상			
맥아 50% 주정추출물 성상			
맥아50%에탄올추출물 HPLC pattern 비교			

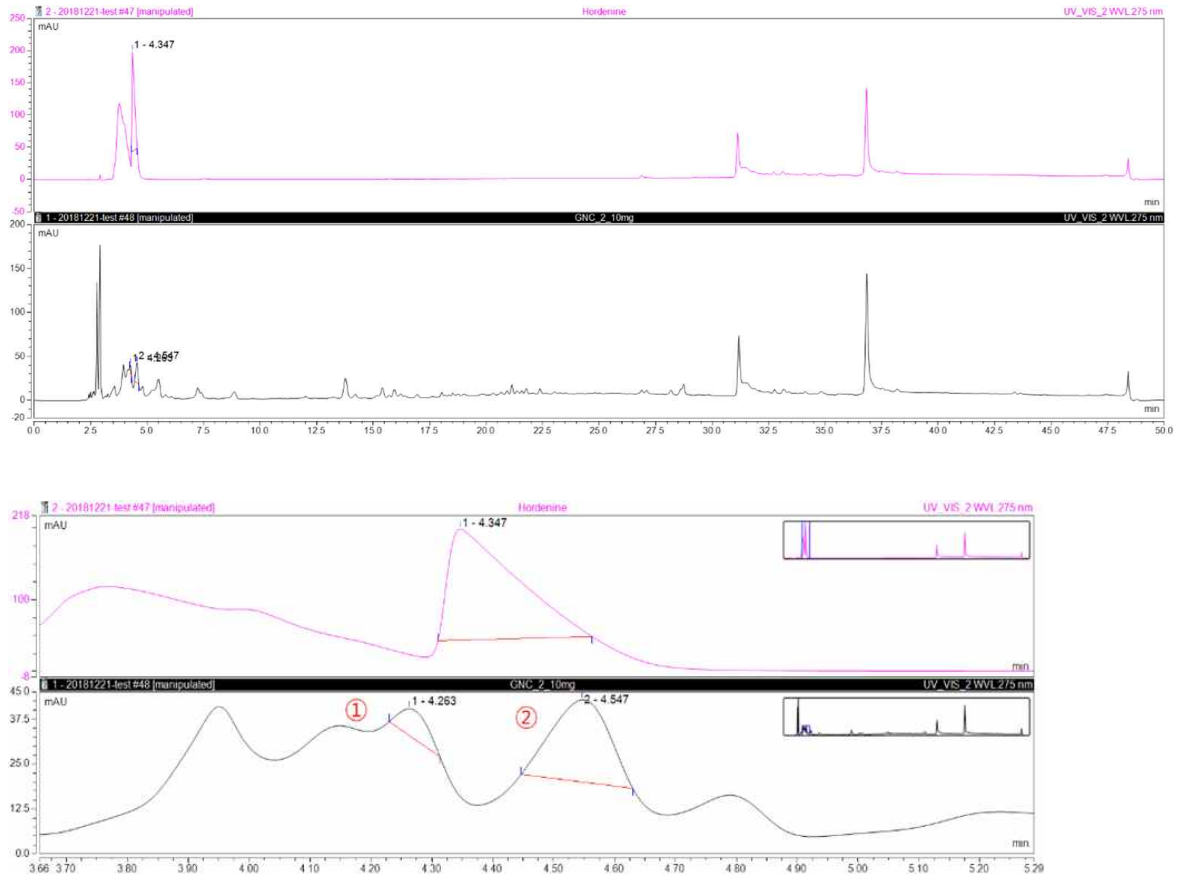
③ GMP 대량생산 맥아주정추출분말의 지표성분 연구

- 표준화된 맥아 원재료를 사용한 bGMP 대량생산 원료 맥아주정추출분말에 hordenine이 함유되어 있는지 UV chromatogram과 spectrum을 비교 분석한 결과 맥아주정추출분말에는 hordenine이 함유되지 않는 것으로 확인되었음

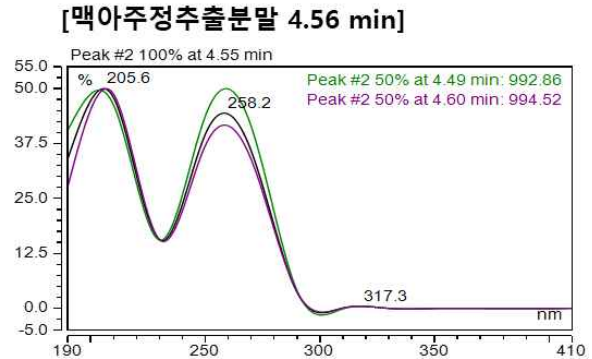
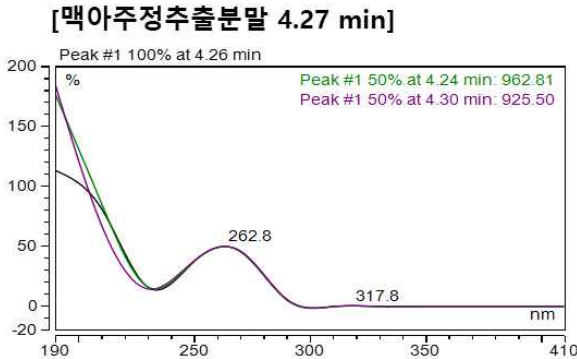
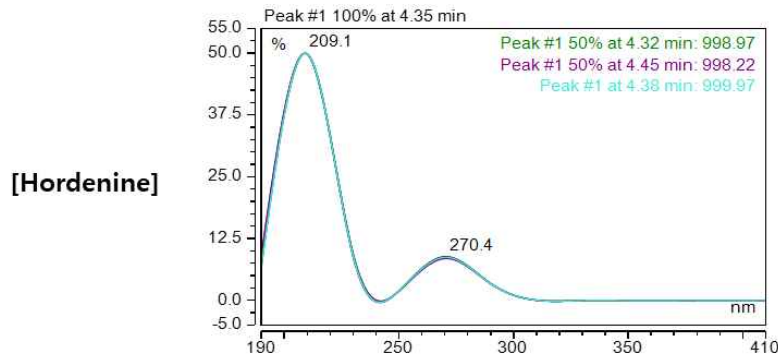
· HPLC 분석조건

Time (min)	0	3	13	28	40	45	45.1	50
A	90	90	75	20	5	5	90	90
B	10	10	25	80	95	95	10	10
분석조건	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Column: INNO column C18 (4.6×250 mm, 5 μm)</li> <li>· Flow rate: 1.0 mL/min</li> <li>· Wavelength: 275, 310 nm</li> <li>· Column oven: 40°C</li> <li>· Injection volume: 10 μL</li> <li>· Mobile phase: Water (A, 0.2% formic acid), MeOH (B)</li> </ul>							

· UV 크로마토그램

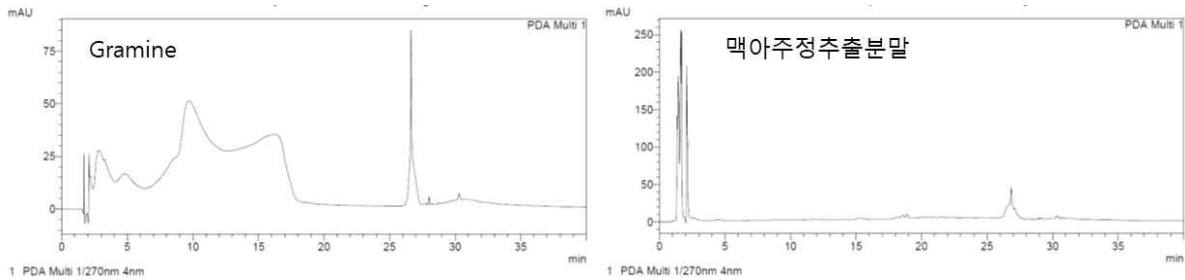


· UV spectrum

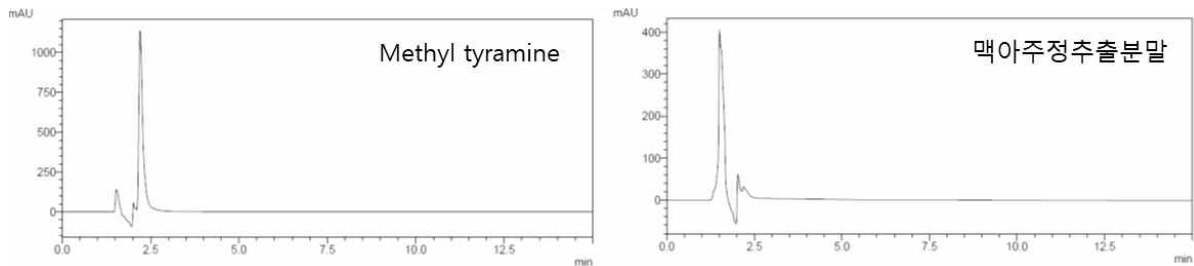


- 최종 대량생산된 맥아주정추출분말 원료에서 기 설정하였던 hordenine의 함량이 분석되지 않음에 따라 신규 지표성분 설정을 위한 연구를 진행하였으나, 후보물질로 지정한 gramine과 methyl thramine 또한 매우 낮은 검출량으로 인해 LC-MS 분석을 실시하기로 결정함

· 지표성분 후보물질 Gramine 분석 : 검출량이 매우 낮게 측정됨



· 지표성분 후보물질 Methyl tyramine 분석 : 검출량이 미비함



- 맥아 지표성분 후보물질들이 대량생산 시 검출되지 않음에 따라 맥아주정추출분말의 지표성분 설정을 위한 물질 내 함유 성분들을 확인하고자 Q/TOF-MS 분석을 진행하였으며, 분석된 성분 중 지표성분으로써 맥아에 특이적인 성분이면서 일정량 검출이 된 Hordatine A, B를 지표성분으로 설정하고자 추가 분석 연구를 진행함

- 전처리  
 · 맥아주정추출분말과 Hordenine을 각각 1,000 µg/mL과 100 µg/mL의 농도가 되도록 50% MeOH에 용해하고 여과하여 분석에 사용함



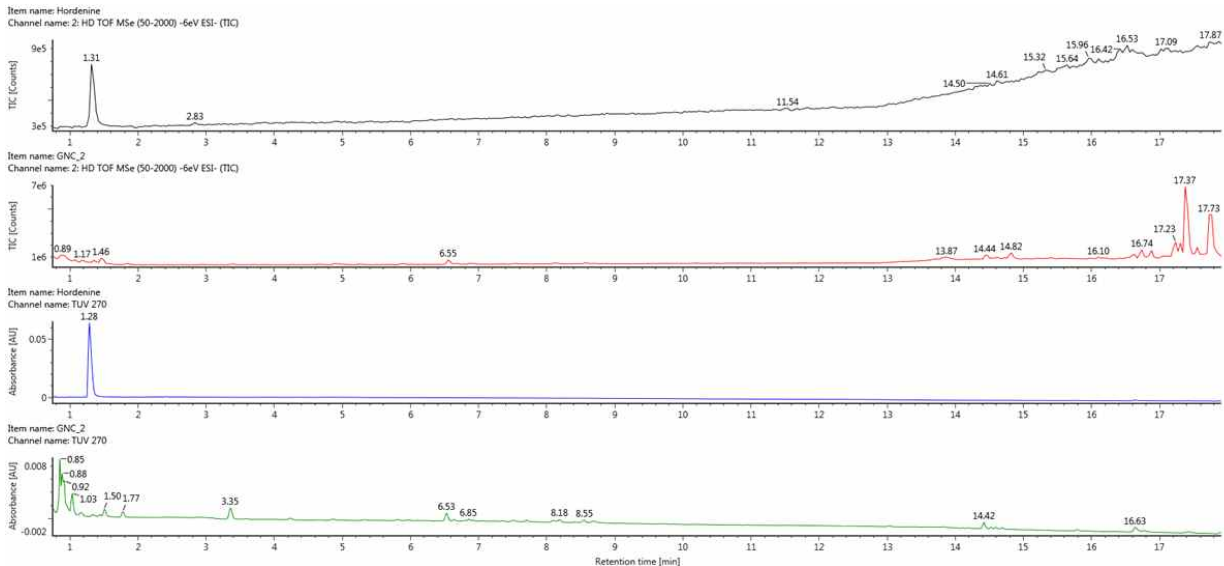
- 분석조건 (Waters ACQUITY I-CLASS UPLC, VIONIMS Qtof)

UPLC	Qtof
Column: Waters, HSS T3 (1.8 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100 mm)	Ion Source: ESI negative/positive ion mode
Flow rate: 0.4 mL/min	Mass range: $m/z$ 100~1,000
Wavelength: 270 nm	Capillary voltage(kV): 3.0/3.5
Column oven: 45°C	Collision energy(eV): 6, 20~40
Injection volume: 1 $\mu$ L	Cone gas(L/h): 50/50
	Desolvation gas(L/h): 800/800
	Source Temp.: 150/150°C
	Desolvation Temp.: 350/350°C

· Mobile phase: Water (A, 0.2% formic acid), ACN (B)

Time (min)	0	1	5	12	18	20	21
A	95	95	90	75	20	5	5
B	5	5	10	25	80	95	95

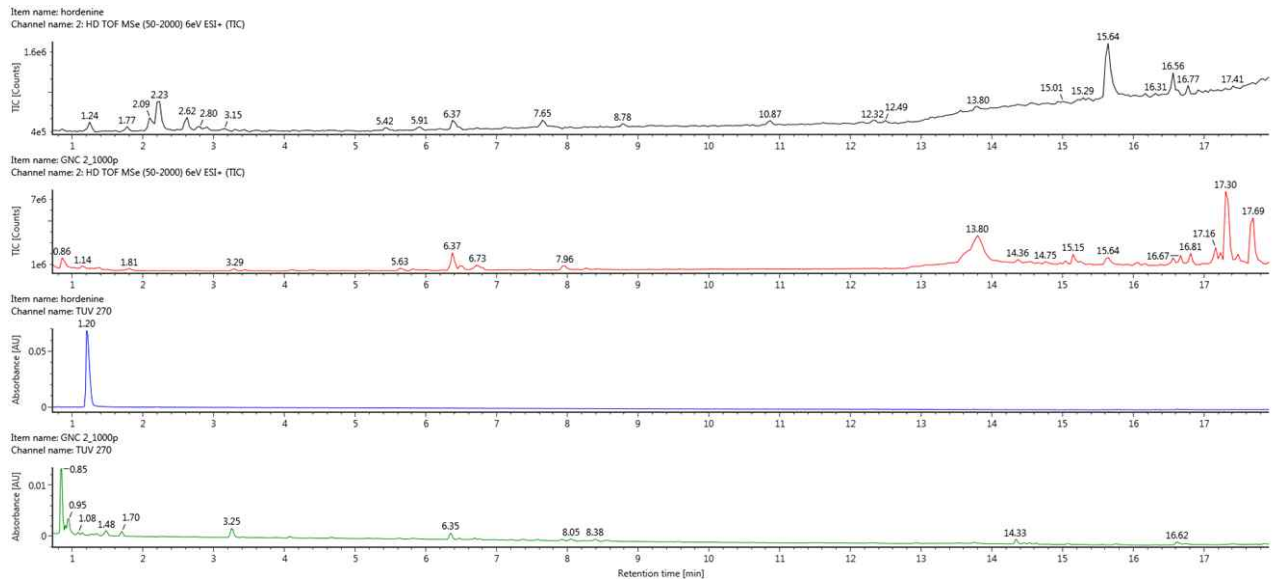
· Negative ion mode 분석결과



Observed RT (min)	Component name	Formula	Neutral mass (Da)	Observed m/z	Observed drift (ms)	Observed CCS ( $\text{\AA}^2$ )	Response
0.87	ethyl N-succinimidoxacetate	C8H11NO5	201.06372	200.0562	5.3	159.32	2923
0.88	Citric acid	C6H8O7	192.027	191.0195	9.11	264.13	774
0.89	2-Furoic acid	C5H4O3	112.01604	111.0089	3.9	129.82	1414
0.93	Candidate Mass 310.9974	C19H4O5	312.00587	310.9974	5.28	157.01	1382
1.19	Adenosine	C10H13N5O4	267.09675	266.0894	5.26	157.02	1856
1.86	2,2'-Oxydi(9,10-anthraquinone)	C28H14O5	430.08412	429.0761	6.9	197.55	1009
1.86	Candidate Mass 220.0067	C2H3N7O6	221.01448	220.0067	5.28	158.3	574
1.86	Candidate Mass 263.9971	C3H3N7O8	265.00431	263.9971	5.3	157.83	1703
1.86	Courmaric acid	C9H8O2	148.05243	147.0456	4.38	138.76	422
1.87	Phenylpropionic acid	C9H11NO2	165.07898	164.0719	4.37	137.86	316
3.4	Candidate Mass 303.0076	C21H4O3	304.01604	303.0076	5.7	167.39	1067
3.4	Tryptophane	C11H12N2O2	204.08988	203.0832	4.89	149.04	1556
6.56	L-alpha-Aspartyl-3-(2-naphthyl)-L-alanyl-L-asparaginyl-L-alanyl-L-isoleucyl-N-(3-hydroxypropyl)glycinamide	C35H50N8O10	742.36499	741.3571	10.08	286.31	2477
6.56	Hordatine B	C29H40N8O5	580.31217	579.3045	8.78	248.76	1317
6.57	Hordatine A	C28H38N8O4	550.3016	549.2943	8.46	239.82	741

6.56	Candidate Mass 787.3624	C34H60O20	788.36779	787.3624	10.13	287.96	24645
6.58	Candidate Mass 757.3521	C51H50O6	758.36074	757.3521	9.85	279.65	15203
6.67	Candidate Mass 903.4095	C39H68O23	904.41514	903.4095	10.47	298.53	1611
6.89	3-{N-[(3R,4S,5S,6R)-5-Methoxy-4-[(2S,3R)-2-methyl-3-(3-methyl-2-buten-1-yl)-2-oxiranyl]-1-oxaspiro[2.5]oct-6-yl]oxy}carbonyl]glycyl-N-5~-(diaminomethylene)-L-ornithylglycyl-L-alpha-aspartyl}pyridine	C36H52N8O11	772.37555	817.3743	10.36	294.88	10254
6.89	3-{N-[(3R,4S,5S,6R)-5-Methoxy-4-[(2S,3R)-2-methyl-3-(3-methyl-2-buten-1-yl)-2-oxiranyl]-1-oxaspiro[2.5]oct-6-yl]oxy}carbonyl]glycyl-N-5~-(diaminomethylene)-L-ornithylglycyl-L-alpha-aspartyl}pyridine	C36H52N8O11	772.37555	771.3683	10.25	291.43	613
6.95	Candidate Mass 933.4198	C40H70O24	934.4257	933.4198	10.69	305.09	562
6.95	Candidate Mass 979.4253	C40H70O24	934.4257	979.4253	10.74	306.79	3689
8.12	Hordatine B	C29H40N8O5	580.31217	579.3049	8.99	254.52	7009
8.45	Candidate Mass 609.3150	C46H42O	610.32357	609.315	9.36	265.26	2514
8.57	Kaempferol-3-O-beta-D-glucopyranoside	C21H20O11	448.10056	447.0934	7.13	203.78	1189
8.59	Apiin	C26H28O14	564.14791	563.141	8.13	230.61	8985
8.71	Isoscoparin-3''-O-glucopyranoside	C28H32O16	624.16903	623.1615	8.94	253.3	3160
14.47	Isosilybin	C26H24O10	496.13695	495.1294	7.92	224.77	6546
14.57	Physalin P	C28H30O10	526.1839	525.1771	8.3	235.2	347
14.64	Isosilybin	C26H24O10	496.13695	495.1294	7.89	223.92	8493
14.74	Physalin P	C28H30O10	526.1839	525.1764	8.21	232.87	365
14.82	Sanleng acid	C18H34O5	330.24062	329.2332	6.43	185.92	67830
17.39	Candidate Mass 564.3317	C18H47N9O11	565.3395	564.3317	11.84	339.14	4168
17.73	Coronaric acid	C18H32O3	296.23514	295.2281	6.29	182.55	57775
17.76	Ginsenoside Rb1	C54H92O23	1108.60294	1107.5934	12.05	347.16	13070
17.76	Candidate Mass 1035.6621	C57H96O16	1036.66984	1035.6621	11.87	341.45	47475
17.77	N-[[[(8S,9S)-6-[(2R)-1-hydroxypropan-2-yl]-8-methyl-5-oxo-10-oxa-1,6,14,15-tetrazabicyclo[10.3.0]pentadeca-1,2,14-dien-9-yl]methyl]-N-methyl-4-(4-methyl-1-piperazinyl)benzamide	C28H43N7O4	541.33765	540.3311	8.67	245.57	268042

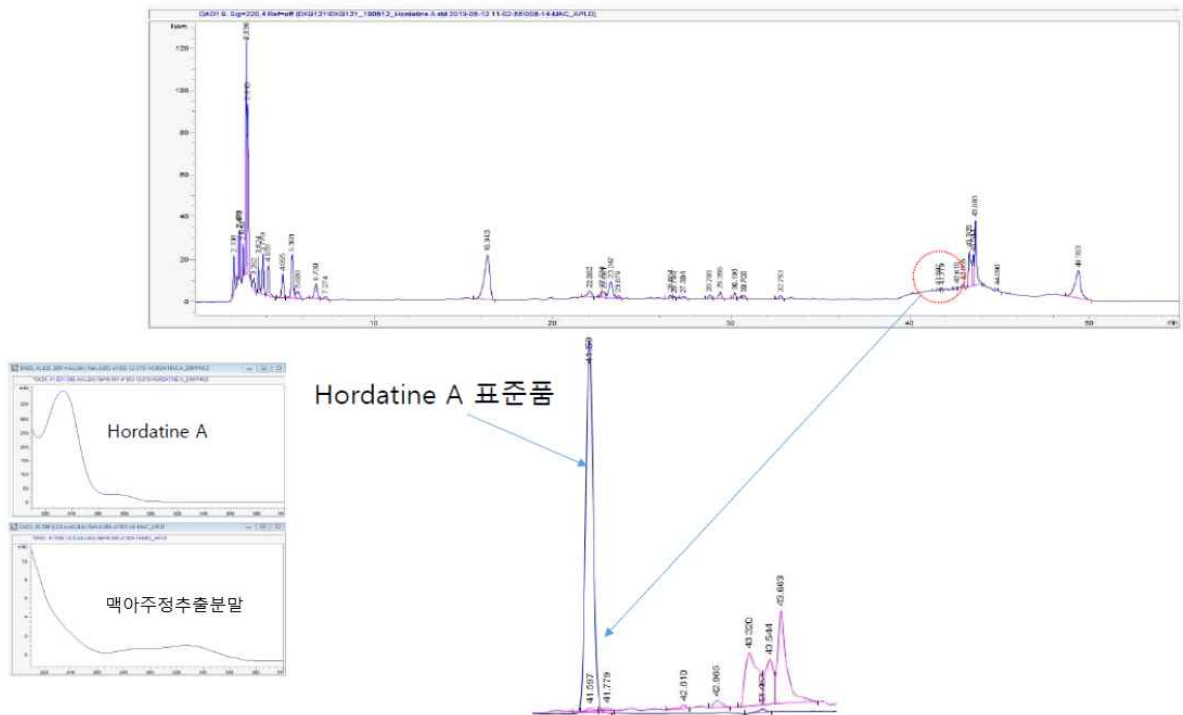
## · Positive ion mode 분석결과



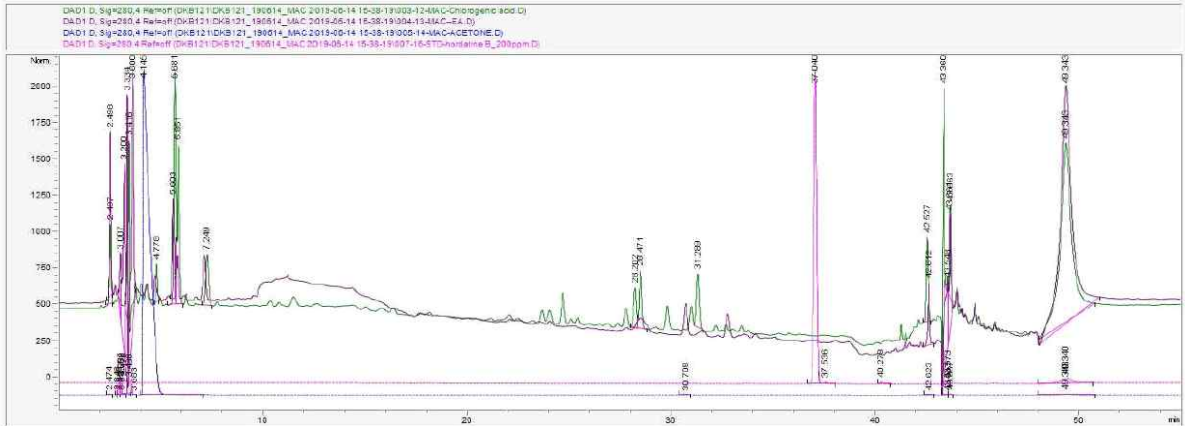
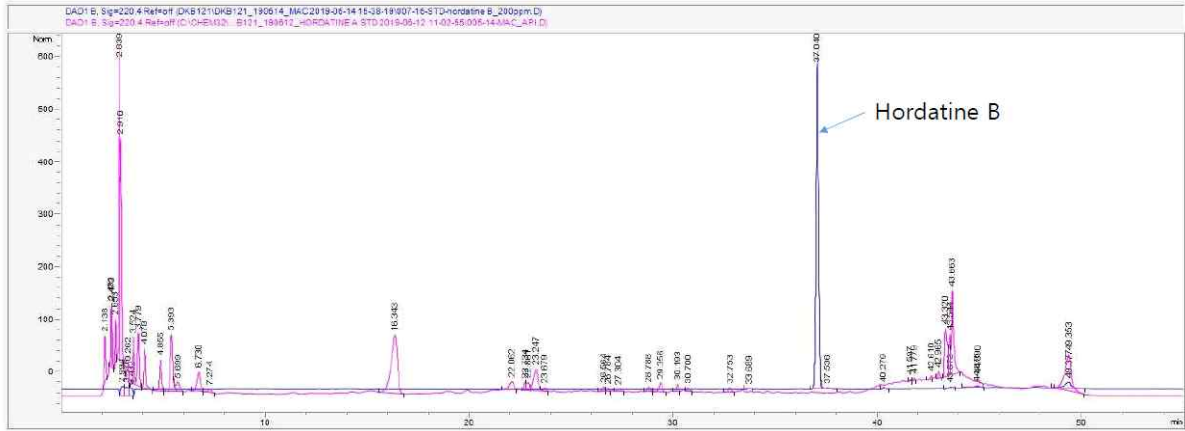
Observed RT (min)	Component name	Formula	Neutral mass (Da)	Observed m/z	Observed drift (ms)	Observed CCS (Å²)	Response
0.87	11-Aminoundecanoic acid	C11H23NO2	201.17288	202.1803	4.65	145.28	2506
0.89	Adenosine	C10H13N5O4	267.09675	268.1042	5.18	156.88	4707
1.16	2-([(2-Methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl)amino)heptanedioic acid	C12H21NO6	275.13689	276.1441	5.62	167.77	11427
1.16	(3aR,6aR)-5-([(2-Methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl]tetrahydro-1H-furo[3,4-c]pyrrole-3a(3H)-carboxylic acid	C12H19NO5	257.12632	258.1333	5.57	166.79	8130

1.82	1-(2,3-Dihydro-1,4-benzodioxin-2-ylcarbonyl)-4-piperidinecarboxylic acid	C15H17NO5	291.11067	292.1179	5.74	170.64	3715
1.82	esculamine	C15H19NO6	309.12124	310.1286	5.8	171.95	7950
3.3	(2Z)-3-Hydroxy-2-phenylacrylonitrile	C9H7NO	145.05276	146.0599	4.41	141.99	4205
3.3	3-Indoleacrylic acid	C11H9NO2	187.06333	188.0706	4.42	140.36	2393
6.38	N,O-Bis[[2-(methyl-2-propanyloxy) carbonyl]tyrosyl-L-alanylglycylhistidylprolinamide	C35H50N8O10	742.36499	743.3728	10.24	294.61	3568
6.38	1-[[4-(3-Methoxypropyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]methyl]-3-[4-(2-methyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl]urea	C16H21N9O2	371.18182	372.1903	5.7	168.97	96143
6.39	N-(4-[[5-[[2-(2Z)-3-[Acetyl(7-ethoxy-7-oxoheptyl)amino]-2-methyl-2-propen-1-yl]-2-amino-4-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-6-pteridiny]methyl]amino]benzoyl]glutamic acid	C34H48N8O9	712.35443	713.3615	9.93	285.21	2662
6.39	(2E)-1-(4-Biphenyl)-3-(4-butoxyphenyl)-2-propen-1-one	C25H24O2	356.17763	357.185	5.48	163.54	60958
6.72	L-Tyrosyl-L-seryl-L-prolyl-L-prolyl-L-asparaginyl-L-valyl-L-proline	C36H52N8O11	772.37555	773.3829	10.32	297.3	879
7.98	Formyltanshinone	C18H10O4	290.05791	291.0657	4.93	150.48	717
8.15	Hordatine B	C29H40N8O5	580.31217	581.3197	9.01	258.19	209
8.27	L-Tyrosyl-N-[(2S,3R)-4-[[2(2S)-1-amino-5-carbamimidamido-1-oxo-2-pentanyl]amino]-3-hydroxy-4-oxo-1-phenyl-2-butanyl]-L-prolinamide	C30H42N8O6	610.32273	611.3301	9.15	262.08	1022
8.28	Anisodamine	C17H23NO4	305.16271	306.1688	5.21	157.07	9932
14.38	Quercetin-3,3'-dimethyl-ether	C17H14O7	330.07395	331.0817	5.98	176.26	27039
14.4	Isosilybin	C26H24O10	496.13695	497.1443	7.74	222.3	5749
17.16	3-[[1-(1-Cyclopentyl-1H-tetrazol-5-yl)cyclopropyl][3-(4-morpholinyl)propyl]amino]methyl-8-methyl-2(1H)-quinolinone	C29H41N7O2	519.33217	520.3404	8.16	233.96	136084
17.33	Candidate Mass 1039.6742	C47H82N20O7	1038.66754	1039.6742	11.66	339.69	73519
17.33	Pseudohypericin	C30H16O9	520.07943	521.0879	8.16	233.99	5265
17.69	Candidate Mass 496.3412	C16H41N13O5	495.33536	496.3412	8.27	237.14	

- 맥아주정추출분말의 지표성분 설정을 위한 Hordatine A의 함량 분석을 HPLC로 분석한 결과 hordatine A는 검출되지 않았음



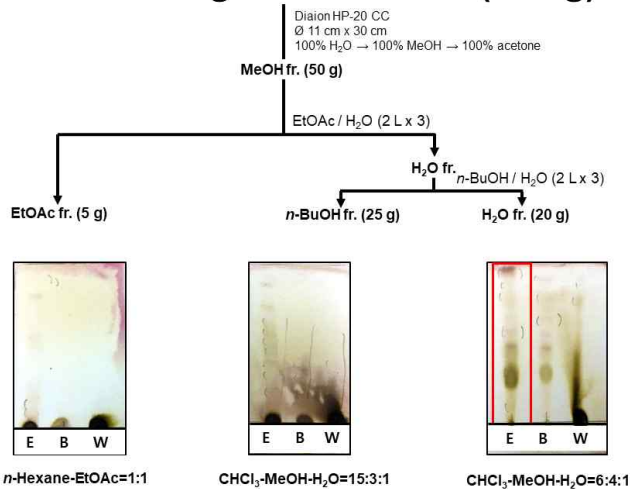
- 50% MeOH로 맥아주정추출분말, chloroform 분획물, acetone 분획물, EtOAc 분획물, hordatine B를 용해한 후 HPLC로 분석한 결과 hordatine B 또한 검출되지 않았음



■ 맥아주정추출물 Chloroform 분획물   
 ■ 맥아주정추출물 Acetone 분획물  
■ 맥아주정추출물 EA 분획물           
 ■ 표준품 : Hordatine B

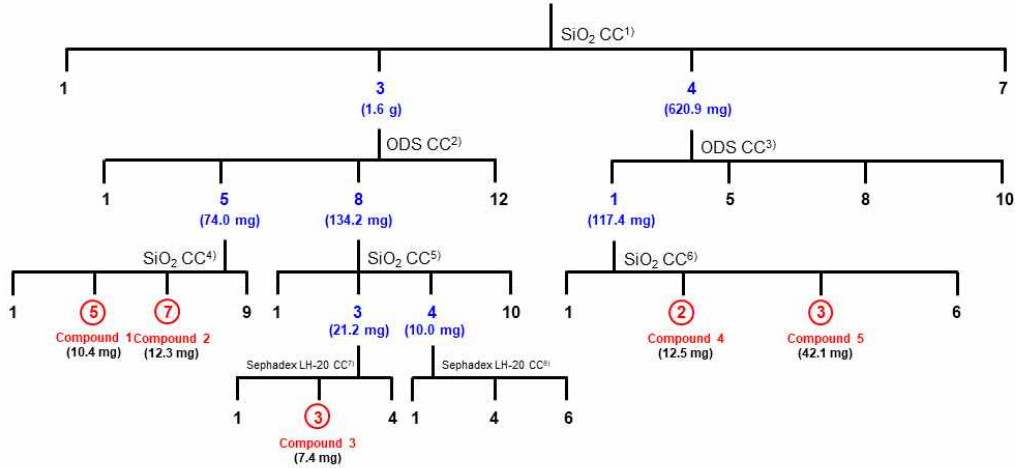
- 지표성분으로 설정하고자 하였던 후보물질들이 모두 검출되지 않거나 검출량이 미비하여 신규의 지표성분을 설정하기 위해 맥아주정추출분말의 물질분리를 진행하였으며, 총 5개의 물질을 분리하고 2개의 물질에 대한 성분 규명을 진행함
  - 맥아주정추출분말을 TLC로 분석한 결과, 당 제거가 필요하다고 판단하여 Diaion HP-20 column chromatography (Ø 11 cm × 30 cm, 100% H<sub>2</sub>O → 100% MeOH → 100% acetone)을 통하여 당을 제거하고, MeOH 분획 50 g을 얻었음
  - MeOH 분획물 50 g을 용매간의 극성차를 이용하여 EtOAc, *n*-BuOH, H<sub>2</sub>O 층으로 분획한 후 EtOAc 분획 (5 g), *n*-BuOH 분획 (25 g), H<sub>2</sub>O 분획 (20 g)을 얻었으며, 이 중 지표성분으로 가능성이 있는 물질들이 다량 포함되어 있을 것으로 예상되는 EtOAc 분획물로 물질분리를 진행함

### Hordeum vulgare L. Extract (250 g)



- 맥아주정추출분말 EtOAc 분획 (5 g)을 순상 Silica gel (SiO<sub>2</sub>), 역상 Octadecyl silica gel (ODS), 그리고 분자량의 차이에 따라 물질을 분리하는 Sephadex LH-20 column chromatography를 반복수행하여 총 5가지의 물질 [1: HVE-3-5-5 (10.4 mg), 2: HVE-3-5-7 (12.3 mg), 3: HVE-3-8-3-3 (7.4 mg), 4: HVE-4-1-2 (12.5 mg), 5: HVE-4-1-3 (42.1 mg)]을 분리 및 정제함

### The EtOAc fraction from the *Hordeum vulgare* L. (5 g)

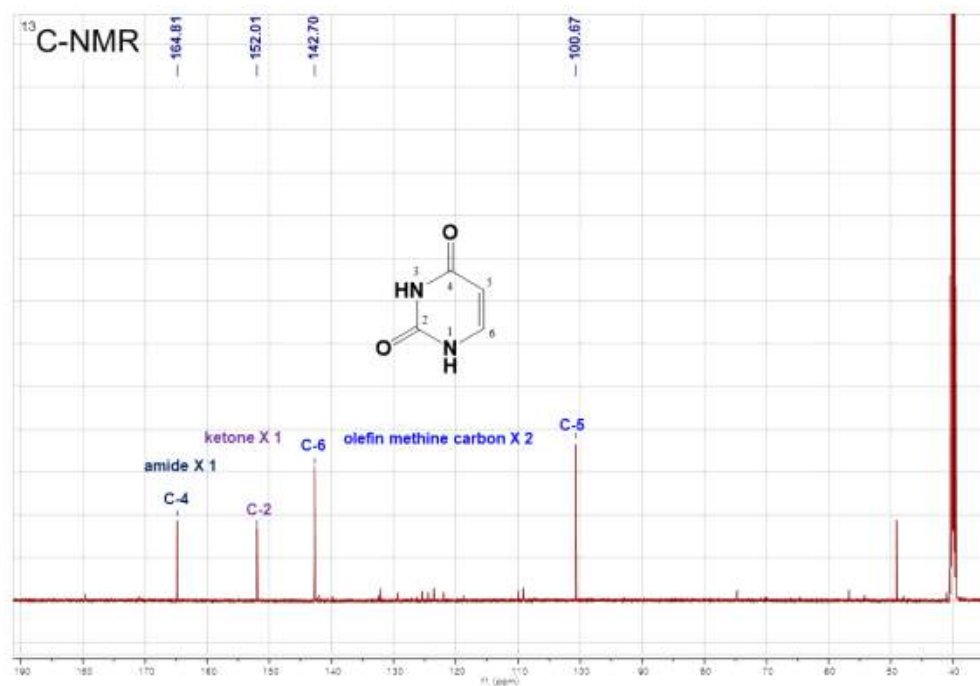
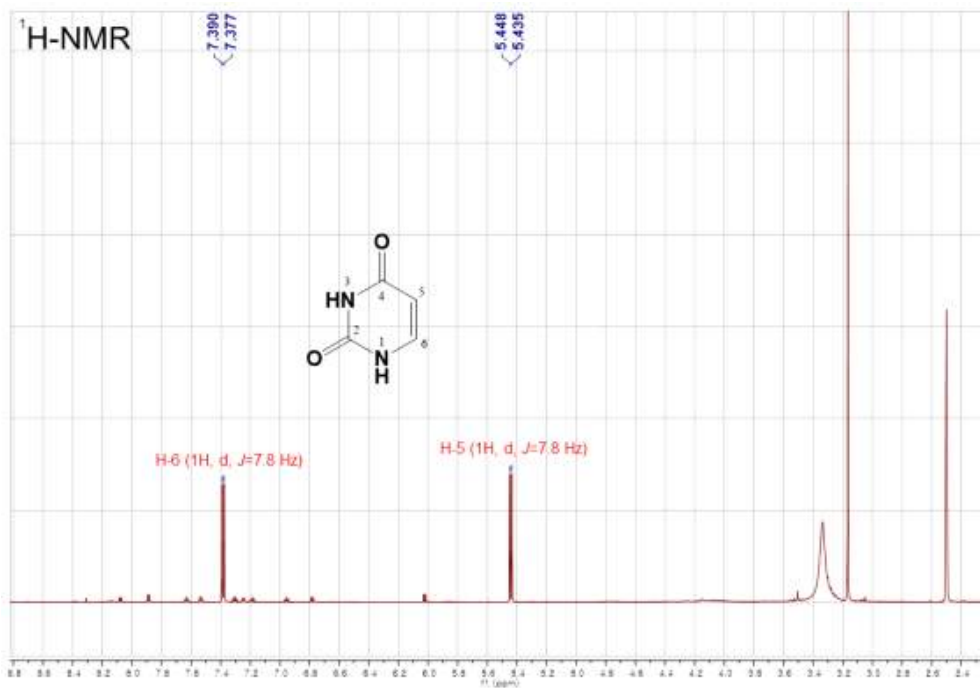


- 1) Ø 5 x 15 cm, *n*-Hexane:EtOAc=1:1
- 2) Ø 4 x 7 cm, acetone:H<sub>2</sub>O=1:3
- 3) Ø 3 x 10 cm, acetone:H<sub>2</sub>O=1:3
- 4) Ø 2 x 13.5 cm, CHCl<sub>3</sub>:MeOH=15:1
- 5) Ø 1.5 x 15 cm, CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O=35:3:1
- 6) Ø 3 x 13 cm, CHCl<sub>3</sub>:MeOH=15:1
- 7) Ø 1 x 55 cm, 100% MeOH
- 8) Ø 1 x 55 cm, 100% MeOH

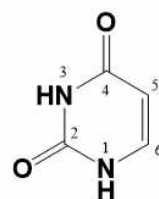
- 이 중 HVE-4-1-3과 HVE-3-8-3-3의 성분동정을 위해 NMR 분석을 진행함

#### ■ HVE-4-1-3의 구조 결정

HVE-4-1-3 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>H</sub>)에서 aromatic proton signal 이 각각 7.39 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-6), 5.44 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-5)와 같이 관측되어 위에서 나타난 <sup>1</sup>H-NMR data로부터 2개의 carbonyl 과 이중결합 1개를 가진 1개의 고리로 이루어진 heterocycle 화합물로 추정되었음. <sup>13</sup>C-NMR (150MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ<sub>C</sub>) 데이터에서는 4개의 signal 이 관측되었으며, 2개의 4급 탄소가 δ<sub>C</sub> 164.81 과 δ<sub>C</sub> 152.01 에서 나타났는데, 전자는 amide 탄소이며, 후자는 매우 고자장인 점으로부터 amine 과 amine 사이에 위치한 ketone 탄소가 추정되었음. 또한 2개의 olefine methine 탄소가 δ<sub>C</sub> 142.70 과 δ<sub>C</sub> 100.67 에서 나타났으며, 위 NMR data의 결과를 바탕으로 핵산의 pyrimidine 염기 중의 하나인 uracil 로 구조 동정하였음



	Ref <sup>1)</sup> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	HVE-3-8-3-3 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	D
C-2	152.0	152.0	0
C-4	164.8	164.8	0
C-5	100.6	100.6	0
C-6	142.7	142.7	0



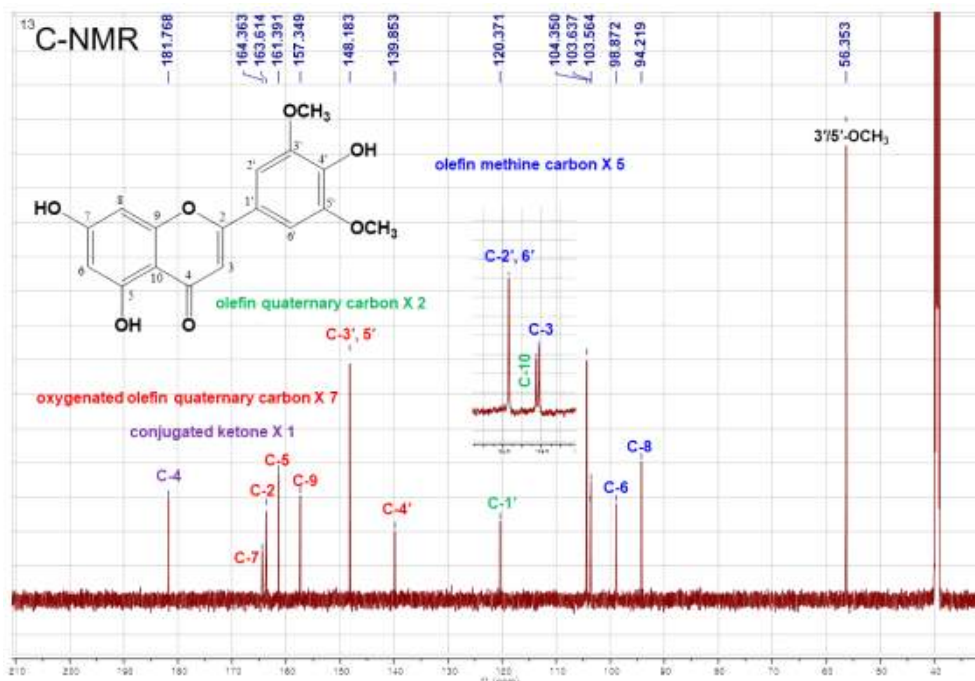
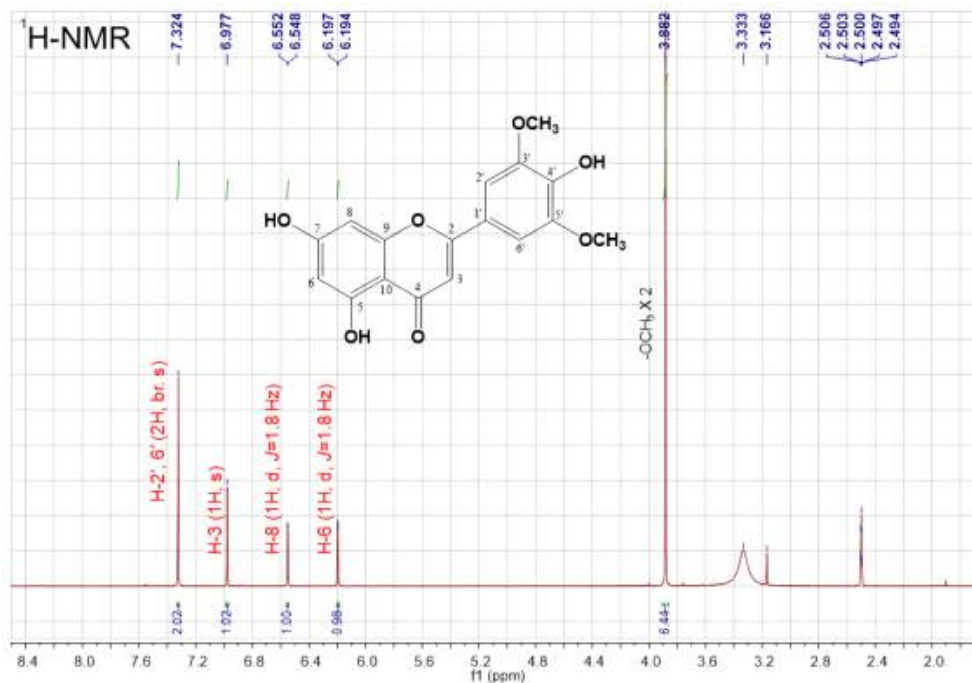
uracil

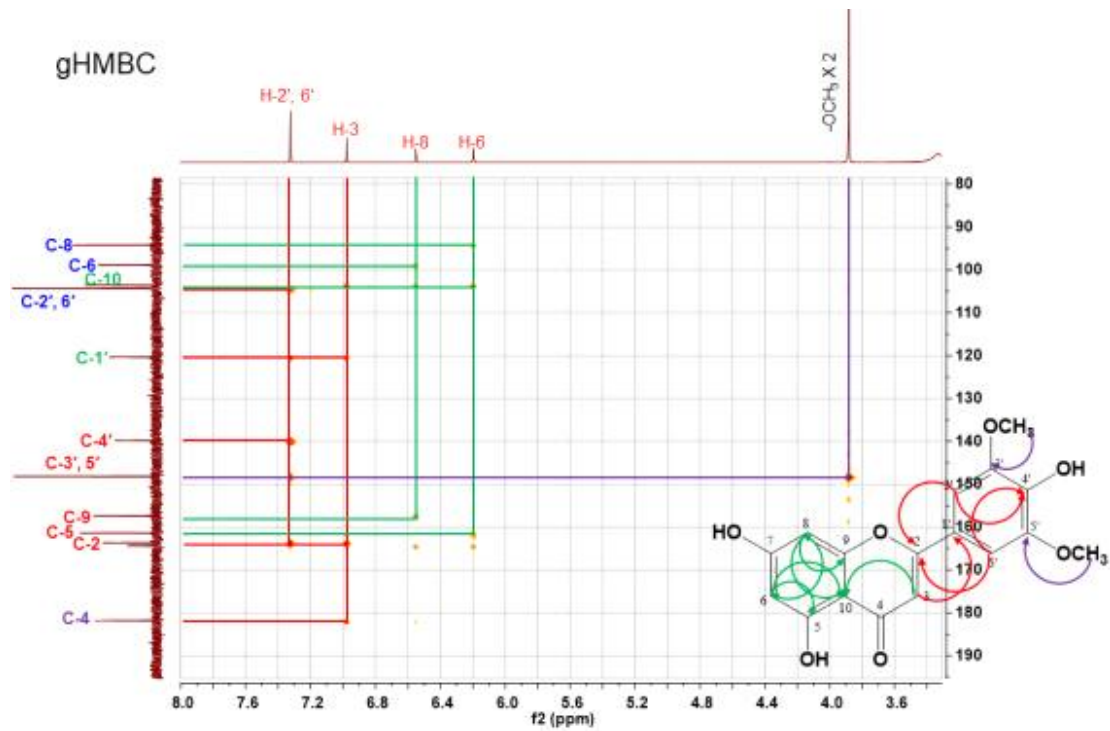
Ref)

1) Ding ZG, Zhao JY, Yang PW, Li MG, Huang R, Cui XL, Wen ML. *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 366–370.

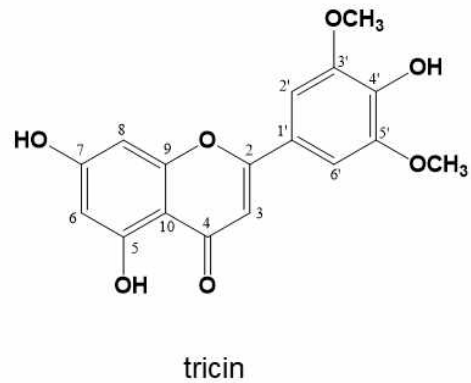
■ HVE-3-8-3-3 의 구조 결정

HVE-3-8-3-3  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta_{\text{H}}$ )의 aromatic 영역에서 olefin methine proton signal 7.32 (2H, br. s, H-2', 6'), 6.55 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-8), 6.19 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-6)의 시그널로부터 1,2,3,5-4치환 benzene이 두 개 존재함을 예상하였으며, 6.97 (1H, s, H-3)의 시그널로부터 olefin methine이 하나 존재 하는 것을 예상하였음. 산소가 치환된 영역에서 2개의 methoxy proton signal 3.88 (6H, s,  $-\text{OCH}_3$ )을 관측하였으며,  $^{13}\text{C-NMR}$  (150MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta_{\text{C}}$ ) 데이터에서 메톡시 시그널을 제외한 총 카본의 개수는 15개로 이 화합물을 flavonoid로 예상 할 수 있었음. gHMBC 스펙트럼에서 methoxy proton signal  $\delta_{\text{H}}$  3.88 ( $-\text{OCH}_3$ )과 olefin quaternary carbon signal C-3' 및 C-5' 과의  $^3J$  correlation 이 관측됨에 따라 flavonoid 3', 5' 에 methoxy가 결합하고 있음을 확인하였으며, 결과를 종합하였을 때 이 화합물은 tricinin으로 구조 동정되었음.





	Ref <sup>1)</sup> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	HVE-3-8-3-3 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	D
C-2	163.6	163.6	0
C-3	103.5	103.5	0
C-4	181.7	181.7	0
C-5	161.3	161.3	0
C-6	98.8	98.8	0
C-7	164.4	164.4	0
C-8	94.1	94.1	0
C-9	157.3	157.3	0
C-10	103.6	103.6	0
C-1'	120.3	120.3	0
C-2'	104.3	104.3	0
C-3'	148.1	148.1	0
C-4'	139.8	139.8	0
C-5'	148.1	148.1	0
C-6'	104.3	104.3	0
3'-OCH <sub>3</sub>	56.3	56.3	0
5'-OCH <sub>3</sub>	56.3	56.3	0



Ref)

1) Kuwabara H, Mouri K, Otsuka H, Kasai R, Yamasaki K. *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 1273-1275.

#### ④ 맥아주정추출분말의 지표성분 설정

- 분리된 성분 중 uracil은 핵산의 일종으로 지표성분으로는 설정하기 어렵다고 판단하였으며, 상기 물질 분리 결과를 바탕으로 최종 triclin을 지표성분으로 설정하기 위해 함량 검증을 실시함

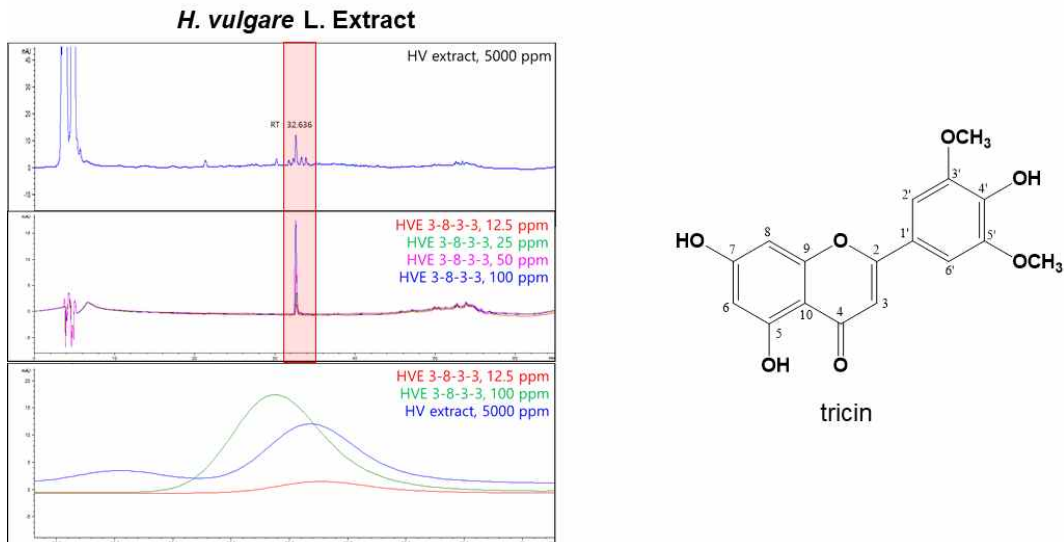
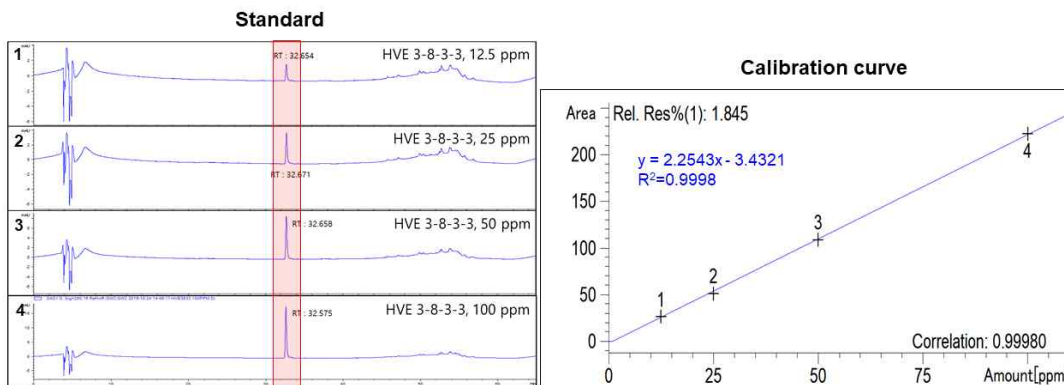


· HPLC 분석 조건

- System : Agilent Technologies 1200 Series
- Column type : YMC basic – Pack ODS-AM (250 X 4.6 mm ,5 μm)
- Column oven temperature : 28°C
- Mobile phase : A) Water + 1% formic acid (v/v), B) ACN
- Injection vol : 10 μL
- Flow rate: 0.7 ml/min
- UV absorbance : 280 nm

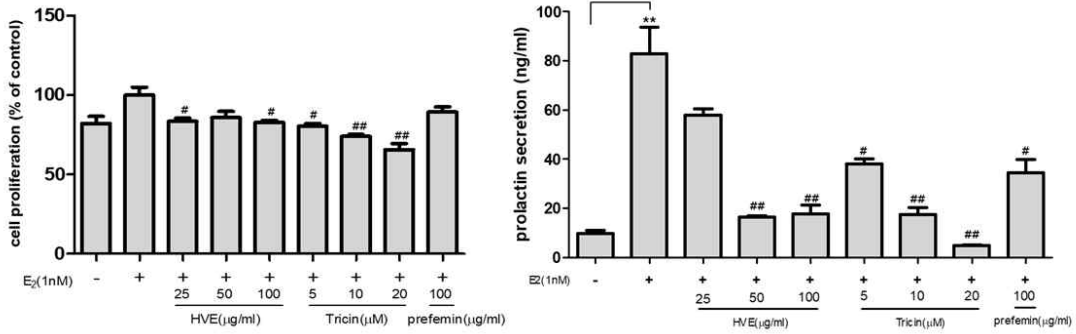
Time	Flow(ml/min)	A (%)	B (%)
	0.7	90	10
28	0.7	60	40
39	0.7	40	60
50	0.7	90	10
65	0.7	90	10

- Tricin을 농도별로 분석한 결과, RT (Retention Time)=32.6 분에서 peak를 확인하였으며, 맥아주정추출분말에서 동일한 피크임을 확인함



⑤ Tricin의 prolactin 분비 억제 효과 검증

- 맥아주정추출분말의 지표성분으로 설정하고자 한 tricin이 유효성분으로써 활용이 가능한지 검토하기 위해 GH3 세포에서 prolactin 분비 억제 효능을 측정 한 결과, tricin은 농도의존적으로 매우 우수한 prolactin 분비 억제 효능을 나타내었으며, 이에 본 연구개발의 맥아구절추출복합물 중 맥아의 지표/유효성분으로 tricin을 설정하였음



(나) 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물) 지표성분 설정 및 함량분석

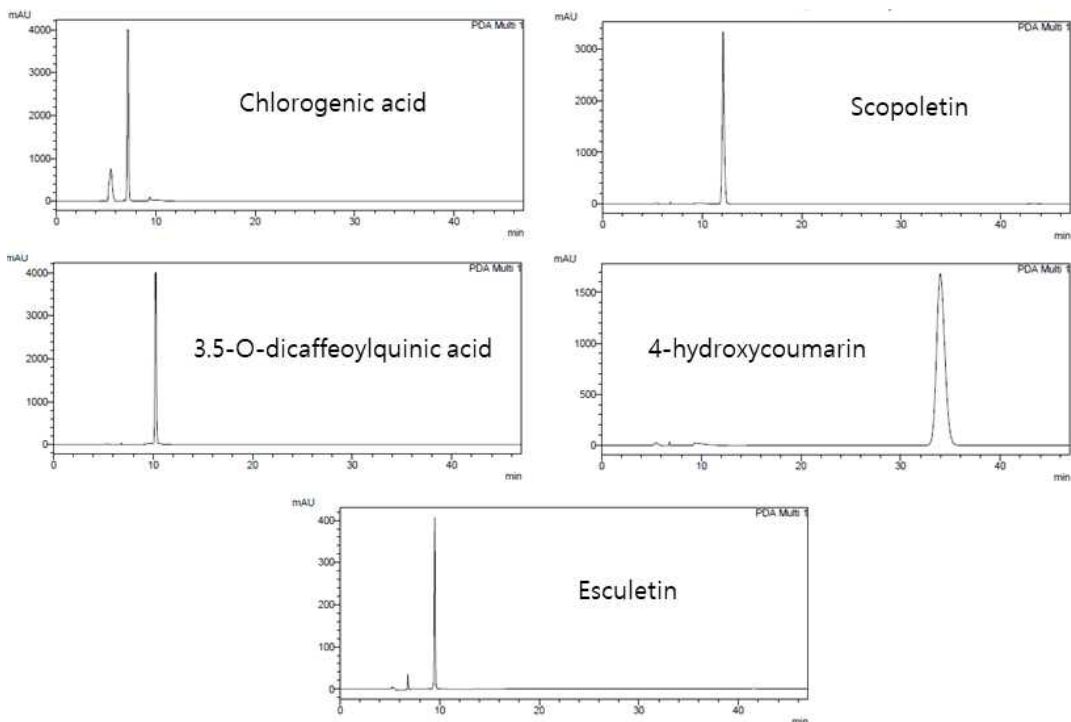
① 유통 구절초로부터 lab scale 추출물 제조에 따른 지표성분 연구

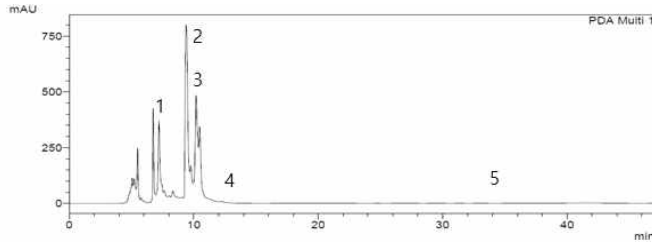
- 문헌 조사 및 prolactin 분비 억제 평가를 통해 1차 유효성분/지표성분 후보물질로 chlorogenic acid, esculetin, 3,5-O-dicaffeoylquinic acid, scopoletin, 4-hydroxycoumarin 총 5종을 설정하였으며, HPLC 분석법 확립에 따른 성분 함량 분석을 실시한 결과 가장 함량이 높은 esculetin ( $43.7 \pm 5.66$  mg/g)을 1차 지표성분으로 설정하고자 하였음

· 구절초 70% 주정추출물의 성분함량 분석을 위한 HPLC 분석 조건

Detector	PDA detector	
column	Skypak C18(250 * 4.6mm)	
mobile phase	(A)Acetonitrile (B)0.05 % Trifluoacetic acid in Water	
Time (min)	Solvent A(%)	Solvent B(%)
0	15	85
47	23	77
Flow rate	0.5 mL/min	
UV Wavelength	254nm	
Injection volume	10 μL	
Column Temp.	35°C	

· 구절초 지표성분의 표준품 분석 및 추출물 내 함량 분석





번호	성분명
1	Chlorogenic acid
2	Esculetin
3	3,5-O-dicaffeoylquinic acid
4	Scopoletin
5	4-hydroxycoumarin

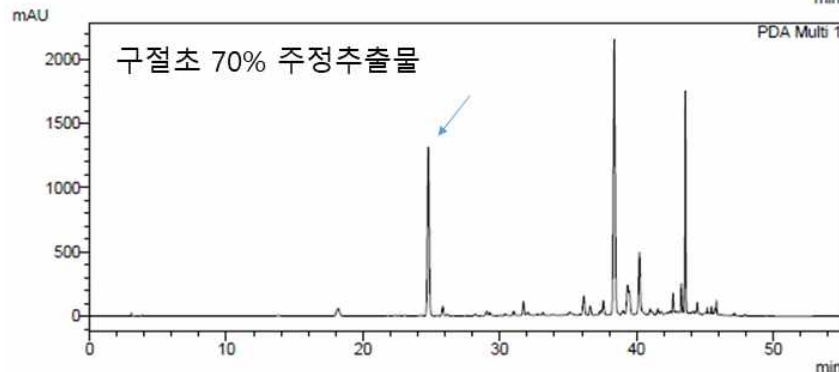
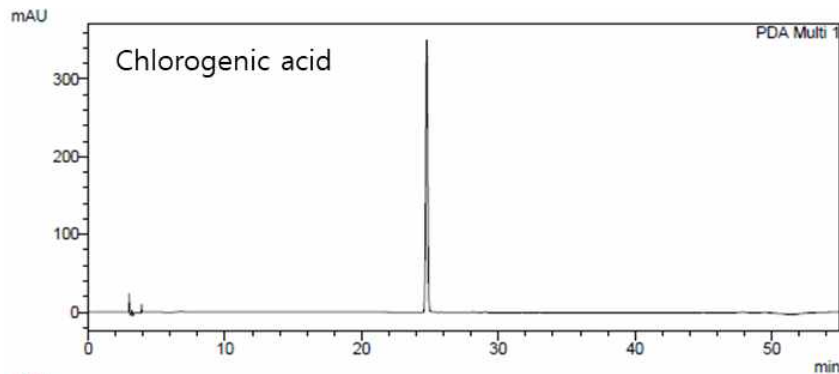
② 표준화된 구절초 추출물의 지표성분 설정 및 분석법 확립

- 원재료 표준화 (진구절초 사용) 후 esculetin이 검출되지 않아 prolactin 분비 억제 효능이 esculetin과 유사하였던 chlorogenic acid를 지표성분으로 재설정하여 함량분석을 실시한 결과 약 34.7 mg/g의 함량이 분석되었음

· Chlorogenic acid 분석조건

Detector	PDA detector	
column	Skypak C18(250 * 4.6mm)	
mobile phase	(A)0.1 % phosphoric acid in water, (B)Acetonitrile	
Time (min)	Solvent A(%)	Solvent B(%)
0.1	95	5
10.0	95	5
35.0	75	25
40.0	55	45
40.1	40	60
45.0	40	60
45.1	95	5
55.0	95	5
Flow rate	0.5 mL/min	
UV Wavelength	325nm	
Injection volume	10 µL	
Column Temp.	35°C	

· 구절초 70% 주정추출물 내 chlorogenic acid 분석



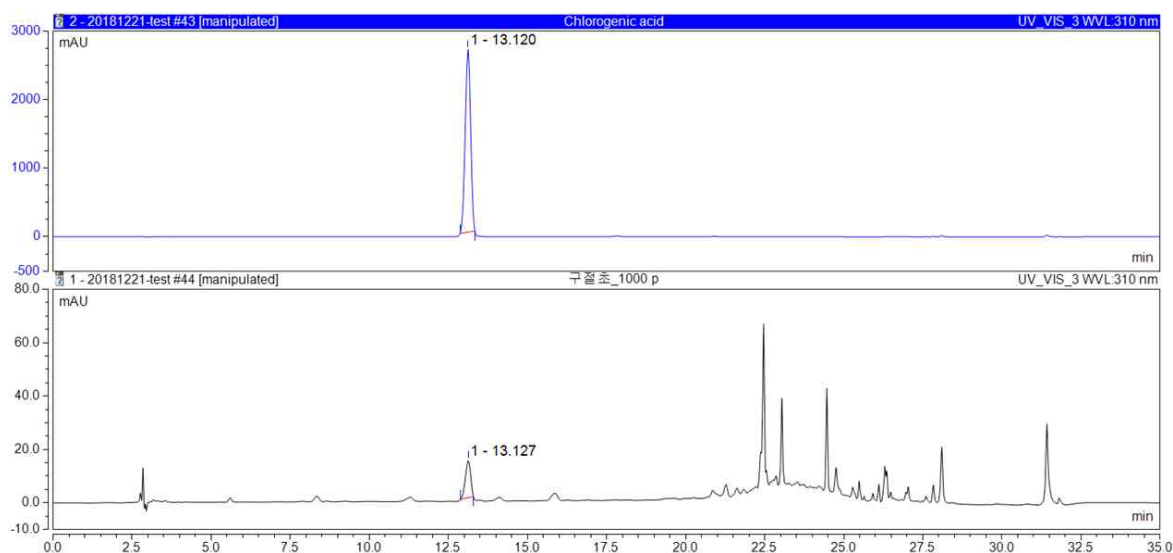
③ GMP 대량생산 원료 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물)에서의 지표성분 chlorogenic acid 함량 검증

- 표준화된 구절초 원재료 (진구절초)를 사용한 bGMP 대량생산 원료 구절초주정추출분말에 chlorogenic acid가 함유되어 있는지 UV chromatogram과 spectrum을 비교 분석한 결과 구절초주정추출분말에는 chlorogenic acid가 함유되어 있는 것으로 확인되었음

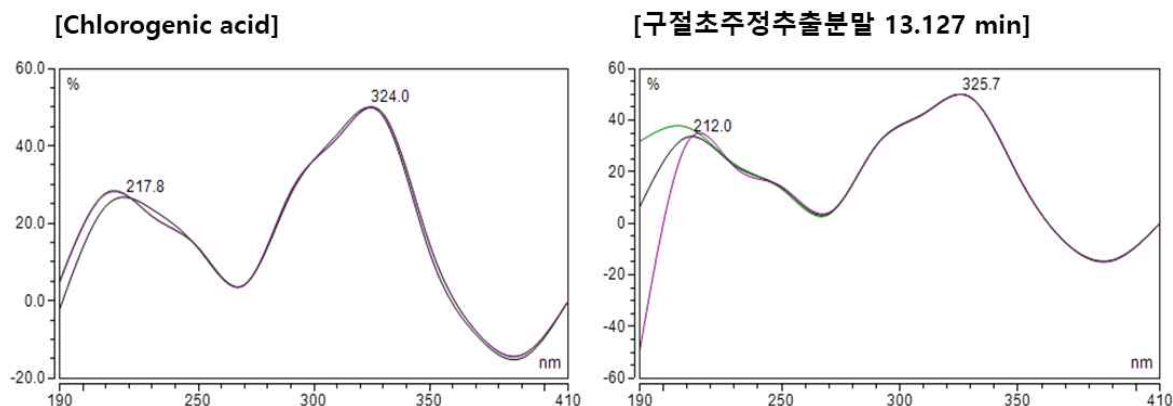
· HPLC 분석조건

Time (min)	0	15	18	23	28	28.1	35	50
A	85	70	60	5	5	85	85	90
B	15	30	40	95	95	15	15	10
분석조건	· Column: INNO column C18 (4.6×250 mm, 5 μm) · Flow rate: 1.0 mL/min · Wavelength: 275, 310 nm · Column oven: 40°C · Injection volume: 10 μL · Mobile phase: Water (A, 0.2% formic acid), MeOH (B)							

· UV 크로마토그램



· UV spectrum



④ 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물)의 주요성분 조사를 위한 LC-MS 분석

- 구절초주정추출분말에서의 chlorogenic acid의 지표성분 설정 가능성과 물질 내 함유 성분들을 확인하고자 Q/TOF-MS 분석을 진행하였으며, 다른 성분에 비해 chlorogenic acid의 함량이 우수함을 확인함

- 전처리

- 구절초주정추출분말과 chlorogenic acid를 각각 200 µg/mL과 100 µg/mL의 농도가 되도록 50% MeOH에 용해하고 여과하여 분석에 사용함
- 분석조건 (Waters ACQUITY I-CLASS UPLC, VIONIMS Qtof)

UPLC	Qtof
Column: Waters, HSS T3 (1.8 µm, 2.1 × 100 mm)	Ion Source: ESI negative/positive ion mode
Flow rate: 0.4 mL/min	Mass range: <i>m/z</i> 100~1,000
Wavelength: 320 nm	Capillary voltage(kV): 3.0/3.5
Column oven: 45°C	Collision energy(eV): 6, 20~40
Injection volume: 1 µL	Cone gas(L/h): 50/50
	Desolvation gas(L/h): 800/800
	Source Temp.: 150/150°C
	Desolvation Temp.: 400/350°C

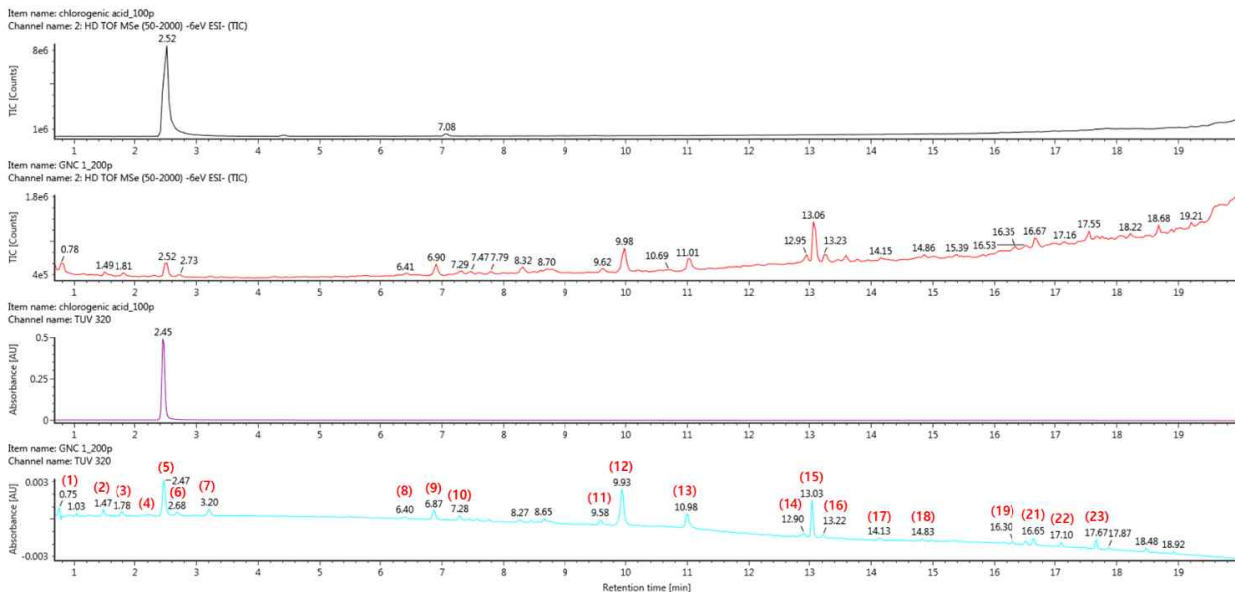
- Mobile phase: Water (A, 0.2% formic acid), ACN (B)
- Negative ion mode

Time (min)	0	3	10	15	20	21
A	90	90	80	60	5	5
B	10	10	20	40	95	95

- Positive ion mode

Time (min)	0	10	15	20	21
A	90	75	60	5	5
B	10	25	40	95	95

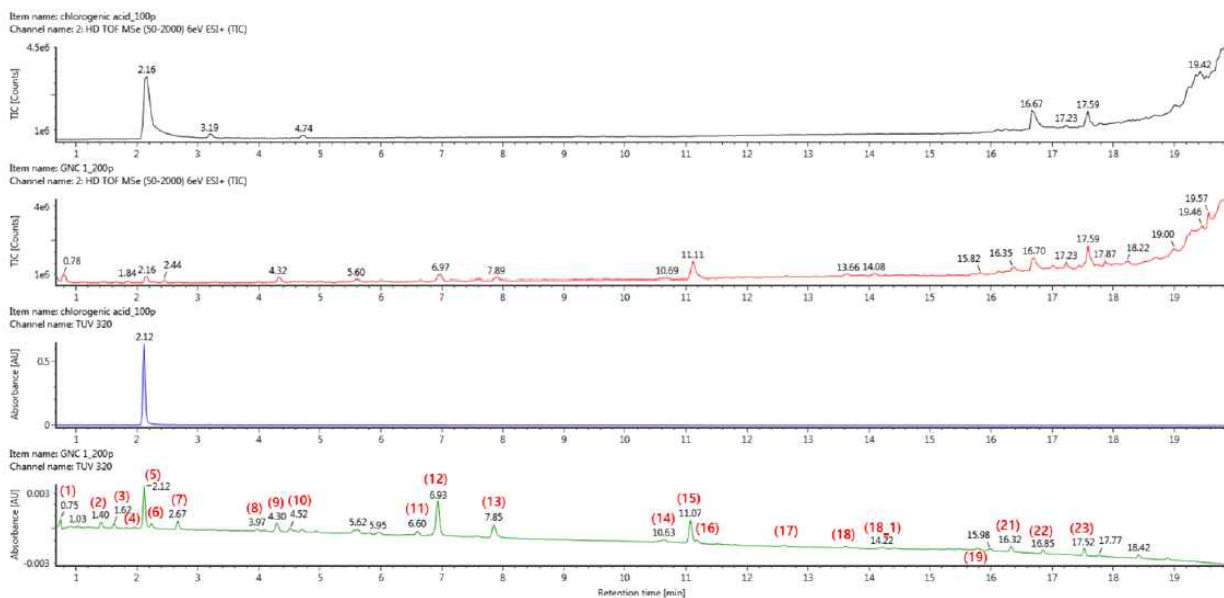
- Negative ion mode 분석결과



Peak No.	Observed RT (min)	Component name	Formula	Neutral mass (Da)	Observed <i>m/z</i>	Observed drift (ms)	Observed CCS (Å²)	Response
2	1.51	4-O-Caffeoylquinic acid_1	C16H18O9	354.09508	353.0874	5.9	172.14	2708
5	2.51	Chlorogenic acid	C16H18O9	354.09508	353.0877	6.19	179.42	4003
6	2.74	4-O-Caffeoylquinic acid_1	C16H18O9	354.09508	353.0876	6.4	185.01	1703
8	6.44	Apiin	C26H28O14	564.14791	563.141	8.15	231.26	7343
9	6.91	Apiin	C26H28O14	564.14791	563.1403	8.13	230.7	29301
10	7.3	Isoschaftoside	C26H28O14	564.14791	563.1409	8.25	234.01	1792

	7.47	Shionoside B	C22H38O10	462.2465	461.2389	7.23	206.34	2947
	7.49	1,3-Dihydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone-3-O-β-D-xylopyranose(1→6)-β-D-glucopyranoside	C26H28O14	564.14791	563.1411	8.14	230.79	2943
	7.81	1,3-Dihydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone-3-O-β-D-xylopyranose(1→6)-β-D-glucopyranoside	C26H28O14	564.14791	563.141	8.18	232.11	5343
	8.31	3,5,7,2', 6'-Hydroxy-flavone 5-2'-O-β-D-glucopyranoside	C21H20O12	464.09548	463.0879	7.46	212.52	11994
	8.61	3,5,7,2', 6'-Hydroxy-flavone 5-2'-O-β-D-glucopyranoside	C21H20O12	464.09548	463.0882	7.09	202.58	3008
	8.73	Kaempferol 3-α-L-dirhamnosyl-(1→4)-β-D-glucopyranoside	C27H30O15	594.15847	593.1515	8.17	231.74	1688
11	9.63	3,5-Dicaffeoylquinic acid	C25H24O12	516.12678	515.1195	7.56	215.06	7870
12	9.98	3,5-Dicaffeoylquinic acid	C25H24O12	516.12678	515.1196	7.46	212.39	24736
12	9.98	4-O-Caffeoylquinic acid_1	C16H18O9	354.09508	353.0877	7.41	211.49	19221
13	11.04	7-O-[4'-O-(3'',4''-Dihydroxycinnamyl)-β-D-glucopyranosyl]-6-methoxycoumarin	C25H24O12	516.12678	515.1195	7.53	214.25	29367
14	12.96	5,7,2',5'-Tetrahydroxy-flavone	C15H10O6	286.04774	285.0407	5.36	159.2	19631
15	13.08	Kaempferide-3-O-α-L-rhamnosyl-7-O-α-L-rhamnoside	C28H32O14	592.17921	591.1724	8.51	241.24	43168
16	13.26	Isorhamnetin	C16H12O7	316.0583	315.0514	5.7	167.35	17926
	13.46	Viscidulin III	C17H14O8	346.06887	345.0617	6.09	177.1	3345
17	14.18	Apigenol	C15H10O5	270.05282	269.0456	5.22	155.84	6159
18	14.87	5,3',4'-Trihydroxy-6,7-dimethoxy-flavone	C17H14O7	330.07395	329.0667	6.01	175.03	6297
18	14.88	5,3',5'-Trihydroxy-6,7,4'-trimethoxy flavone	C18H16O8	360.08452	359.0772	6.39	184.56	2142
19	16.35	1,3,5-Trihydroxy-2-ethoxymethyl-6-methoxy-anthraquinone	C18H16O7	344.0896	343.0829	6.42	185.44	5797
21	16.69	Denbinobin	C16H12O5	284.06847	283.0612	5.62	165.56	22834
	13.6	2-[(2R,4aS,8aR)-7-(β-D-Glucopyranosyloxy)-4a,8-dimethyl-6-oxo-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-2-naphthalenyl]-2-propanyl β-D-glucopyranoside	C27H44O13	576.27819	575.2713	8.19	232.27	11595

- Positive ion mode 분석결과



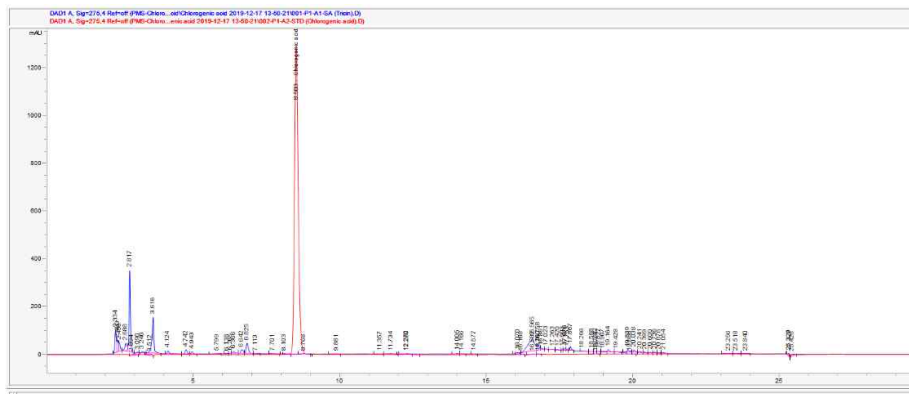
Peak No.	Observed RT (min)	Component name	Formula	Neutral mass (Da)	Observed m/z	Observed drift (ms)	Observed CCS (Å²)	Response
1	0.74	Chelidonic acid	C7H4O6	184.00079	185.0085	4.22	135.49	5059
3	1.66	Skimmin	C15H16O8	324.08452	325.0928	8.08	232.94	229
4	1.86	Ethyl 3-[(4-acetamidobutanoyl)oxy]octanoate	C16H29NO5	315.20457	316.2122	5.76	170.74	8438

5	2.16	Chlorogenic acid	C16H18O9	354.09508	377.0844	6.74	195.71	732
5	2.17	Umbelliferone	C9H6O3	162.03169	163.0395	6.38	191.6	932
6	2.27	Quercimeritrin	C21H20O12	464.09548	465.1029	8.71	249.61	315
8	4.01	Apiin	C26H28O14	564.14791	565.1551	8.14	233.35	3773
9	4.34	Apiin	C26H28O14	564.14791	565.1555	8.13	232.9	17676
	4.98	Apiin	C26H28O14	564.14791	565.1555	8.11	232.39	2552
	4.98	7-Hydroxy-5-methoxycoumarin	C10H8O4	192.04226	193.0503	4.19	134.62	396
	5.61	Quercetin	C15H10O7	302.04265	303.0503	7.31	211.81	2091
	5.61	Kaempferol-3-glucuronide	C21H20O12	464.09548	465.1027	7.33	211.19	4150
	5.85	Quercetin	C15H10O7	302.04265	303.0503	5.54	165.39	731
	6	Luteolin-7-O-glucuronide	C21H18O12	462.07983	463.0881	7.28	209.66	4989
	6.02	5,7,2',5'-Tetrahydroxy-flavone	C15H10O6	286.04774	287.0558	7.26	210.77	1537
11	6.67	Viscumneoside II	C25H26O13	534.13734	535.1432	7.81	224.06	505
12	6.97	3,4-Dicaffeoylquinic acid lactone	C25H22O11	498.11621	499.12325	8.19	234.84	23217
13	7.9	(1R,3R,4R,5R)-1-Hydroxy-7-oxo-6-oxabicyclo[3.2.1]octane-3,4-diyl(2E,2'E)bis[3-(3,4-dihydroxyphenyl)acrylate]	C25H22O11	498.11621	499.1232	8.17	234.07	6131
14	10.7	5,7,2',5'-Tetrahydroxy-flavone	C15H10O6	286.04774	287.0555	5.4	162.17	8254
15	11.12	Acacatin-7-galactoside	C22H22O10	446.1213	447.1287	8.43	241.71	17412
15	11.12	Kaempferide-3-O- $\alpha$ -L-rhamnosyl-7-O- $\alpha$ -L-rhamnoside	C28H32O14	592.17921	593.1868	8.44	241.88	71205
16	11.22	Acacatin-7-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)-[2-O-acetyl glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranoside	C36H44O20	796.24259	797.2501	9.78	281.06	4532
16	11.23	Capillarisin	C16H12O7	316.0583	317.0662	5.67	168.6	8323
17	12.66	Galangin (Norizalpinin)	C15H10O5	270.05282	271.0602	5.22	157.95	4682
18	13.67	Quercetin-3,3'-dimethyl-ether	C17H14O7	330.07395	331.0814	5.87	173.54	7507
18_1	14.29	Nootkatone	C15H22O	218.16707	219.1748	5.11	156.1	1057
19	15.83	Santin	C18H16O7	344.0896	345.0968	6.1	179.15	11935
21	16.38	5,7-Dihydroxy-2'-methoxyflavone	C16H12O5	284.06847	285.076	5.37	161.28	23233
23	17.59	Bufotalin	C24H30O6	414.20424	415.2126	7.04	203.58	15484
23	17.59	Bufotalin	C24H30O6	414.20424	437.1927	10.02	288.56	1258
23	17.61	L-Leucyl-L-alpha-glutamyl-N-[(2S)-1-carboxy-3-oxo-2-propanyl]-L-histidinamide	C21H32N6O8	496.22816	497.2351	7.69	220.93	9640
23	17.61	3-(3-Methylbutoxy)cholest-5-ene	C32H56O	456.43312	457.4408	7.32	210.92	1236

(다) 맥아구절초추출복합물의 지표성분 설정에 따른 교차 분석 연구

① 맥아주정추출분말에서 구절초의 지표성분 chlorogenic acid 검출 여부 확인

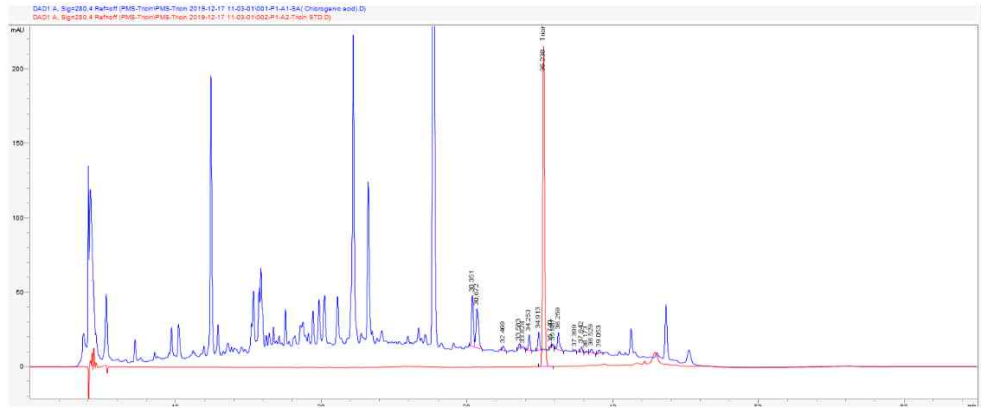
- 복합원료인 맥아구절초추출복합물의 지표성분을 최종 확립하고자 맥아주정추출분말에서 구절초 지표성분인 chlorogenic acid가 검출되는지 확인하였으며, 맥아주정추출분말에서 chlorogenic acid (붉은색 피크)는 검출되지 않음을 확인함



② 구절초주정추출분말에서 맥아의 지표성분 triclin 검출 여부 확인

- 반대로 구절초주정추출분말에서 맥아 지표성분인 triclin이 검출되는지 확인하였으며, 구

절초주정추출분말에서 tricin (붉은색 피크)은 검출되지 않음을 확인함



(4) 결론

(가) 맥아주정추출분말의 지표성분 설정

- ① 맥아 원재료 표준화 전 지표/유효성분 후보물질로 hordenin을 선정하였으나, 원재료 표준화 후 hordenine이 검출되지 않아 추가 분석연구를 실시함
- ② 표준화 후 생산된 맥아 50% 주정추출물에서 유사한 prolactin 분비 억제 효능을 보여 추가 성분연구를 위해 GMP 생산 원료 맥아주정추출분말의 LC-MS 분석 및 물질 분리를 진행하였으며, 최종 tricin을 맥아주정추출분말의 지표/유효성분으로 설정함

(나) 구절초주정추출분말의 지표성분 설정

- ① 구절초 원재료 표준화 전 지표/유효성분 후보물질로 총 5개의 성분을 선정하였으며, 그 중 esculetin의 함량이 가장 높아 1차 지표/유효성분 후보물질로 선정하였으나, 원재료 표준화 (진구절초 사용) 후 성분이 검출되지 않아 prolactin 분비 효능이 유사한 chlorogenic acid를 추가 분석함
- ② 표준화 후 GMP에서 생산된 원료 구절초주정추출분말에서 chlorogenic acid가 검출되었으며, LC-MS 분석 후 최종 chlorogenic acid를 최종 지표/유효성분으로 설정함

(다) 맥아구절초추출복합물에서의 최종 지표성분 설정

- ① 맥아와 구절초의 각 지표성분이 서로 다른 원료에 간섭을 일으키지 않는지 확인하기 위해 교차분석을 실시한 결과 각 지표성분은 서로 다른 원료에 간섭을 일으키지 않았으며, 이에 최종적으로 맥아구절초추출복합물의 지표성분으로 tricin과 chlorogenic acid를 선정함

아. 맥아구절초추출복합물의 원료 표준화 및 공인기관 인증

(1) 연구방법

- (가) 맥아구절초추출복합물의 지표성분 설정에 따른 시험법 밸리데이션과 이에 따른 지표성분의 함량분석을 통해 최종 복합원료의 규격을 설정하고자 하였음
- (나) 맥아구절초추출복합물의 성상, 지표성분 함량, 유해물질 및 영양성분 분석을 공인기관 (한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원) 인증을 통해 검증함

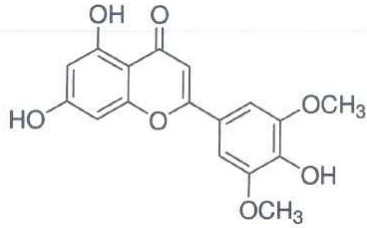
(2) 재료 및 방법

(가) 실험 재료

- ① 맥아주정추출분말, 구절초주정추출분말, 맥아구절초추출복합물 3 batch 원료
- ② HPLC 분석 용매 및 tricin, chlorogenic acid 등의 표준품

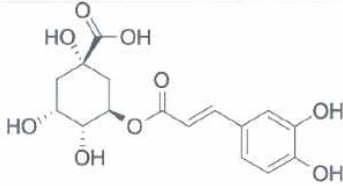


- Tricin



CAS Number : 520-32-1  
 Molecular formula : C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>  
 Molecular weight : 330.29 g/mol

- Chlorogenic acid



CAS Number : 327-97-9  
 Molecular formula : C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>  
 Molecular weight : 354.31 g/mol

(나) 실험방법

① 맥아주정추출분말 지표성분 tricin의 분석법 밸리데이션

- 맥아구절초추출복합물에서 맥아주정추출분말 지표성분 tricin의 1차 분석법 밸리데이션 연구

· 기기분석 조건

<b>Instrument</b>	Agilent HPLC system		
<b>Detector</b>	DAD		
<b>Wavelength</b>	280 nm		
<b>Column</b>	Young Jin Biochrom INNO C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)		
	A: 1 % Formic acid in D.W. B: Acetonitrile		
<b>Mobile phase</b>		A (%)	B (%)
	0	90	10
	28	60	40
	39	40	60
	50	90	10
	65	90	10
<b>Flow rate</b>	0.7 mL/min		
<b>Injection volume</b>	5 μL		
<b>Oven temperature</b>	28 °C		

- 맥아구절초추출복합물에서 tricin의 2차 분석법 밸리데이션 연구를 통한 시험법 변경

- Tricin 대체 성분 검토 (총 7종)

지표성분			
1	Catechin	5	Ellagic acid
2	Vanilic acid	6	γ-Orizanol
3	Saponarin	7	Cinnamic acid
4	Ferulic acid	-	-

- 맥아구절초추출복합물에서 tricin의 3차 분석법 밸리데이션 연구를 통한 시험법 변경

- 맥아구절초추출복합물에서 맥아주정추출분말 지표성분 tricin의 최종 시험법 검증

② 구절초주정추출분말 지표성분 chlorogenic acid의 분석법 밸리데이션

- 맥아구절초추출복합물에서 구절초주정추출분말 지표성분 chlorogenic acid의 1차 분석

법 밸리테이션 연구

· 기기분석 조건

<b>Instrument</b>	Agilent HPLC system		
<b>Detector</b>	DAD		
<b>Wavelength</b>	275 nm		
<b>Column</b>	Young Jin Biochrom INNO C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)		
	A: 10 % Acetonitrile (0.1 % Formic acid)		
	B: Acetonitrile		
<b>Mobile phase</b>		A (%)	B (%)
	0	100	0
	12	90	10
	16	5	95
	22	5	95
	22.5	100	0
	30	100	0
<b>Flow rate</b>	1.0 mL/min		
<b>Injection volume</b>	10 μL		
<b>Oven temperature</b>	40 °C		

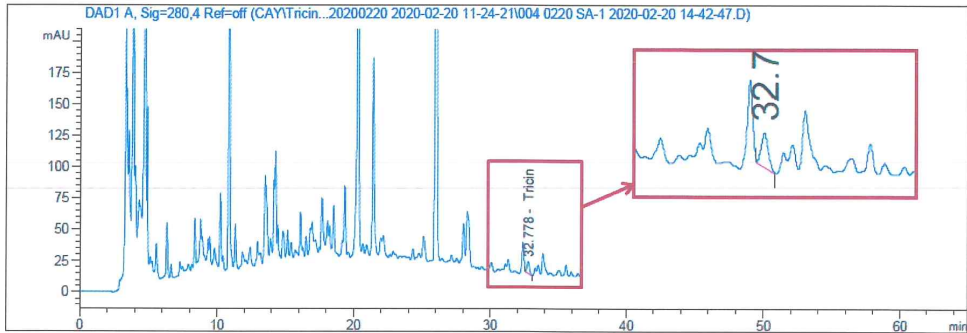
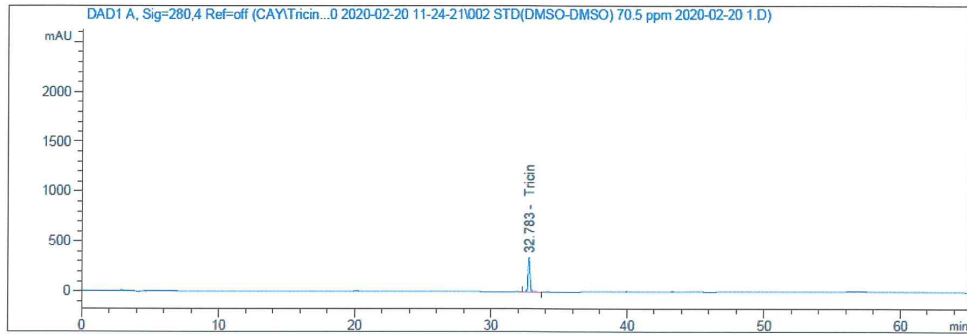
- 맥아구절초추출복합물에서 chlorogenic acid의 2차 분석법 밸리테이션 연구를 통한 시험법 변경
- 맥아구절초추출복합물에서 chlorogenic acid의 3차 분석법 밸리테이션 연구를 통한 시험법 변경
- 맥아구절초추출복합물에서 구절초주정추출분말 지표성분 chlorogenic acid의 최종 시험법 검증

- ③ 맥아구절초추출복합물 3 batch 원료의 정상, 지표성분 함량, 유해물질 및 영양성분 분석
- 공인 인증 기관 한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원을 통해 맥아구절초추출복합물 3 batch 원료의 정상, 지표성분 함량, 중금속, 대장균군, 총아플라톡신, 곰팡이독서 3종, 잔류농약, 영양성분의 분석을 실시함
  - 시험은 한국기능식품연구원에서 식품공전-제8일반시험법 등의 시험법을 근거로 분석함

(3) 연구결과

(가) 맥아구절초추출복합물에서 맥아 지표성분 tricinin의 분석법 밸리테이션

- ① 맥아구절초추출복합물에서 tricinin의 1차 분석법 밸리테이션 연구
- 연구결과 표준용액 tricinin과 맥아구절초추출복합물의 크로마토그램에서 tricinin peak의 머무름 시간이 동일하게 약 32.7분대인 것으로 확인되었으나, 정량에는 무리가 있는 것으로 판단되어 peak 분리도를 높이기 위한 분석법 검토가 필요하였음



시료정보	표준용액 피크면적	시험용액 피크면적	검체 채취량 (mg)	표준물질 채취량 (mg)	표준물질 순도(%)	Tricin 함량 (mg/g)
맥아구절초추출복합물	6534.50781	113.11307	107.5	1.41	95	0.22

② 맥아구절초추출복합물에서 tricin의 2차 분석법 밸리데이션 연구

- Tricin의 peak 분리도 개선을 위해 추출용액과 컬럼, 이동상 및 파장을 검토하였음

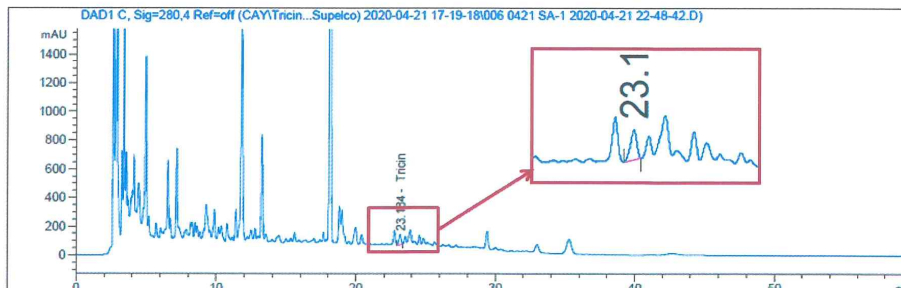
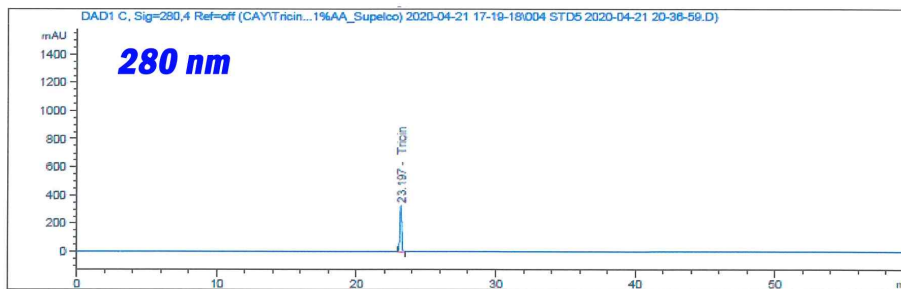
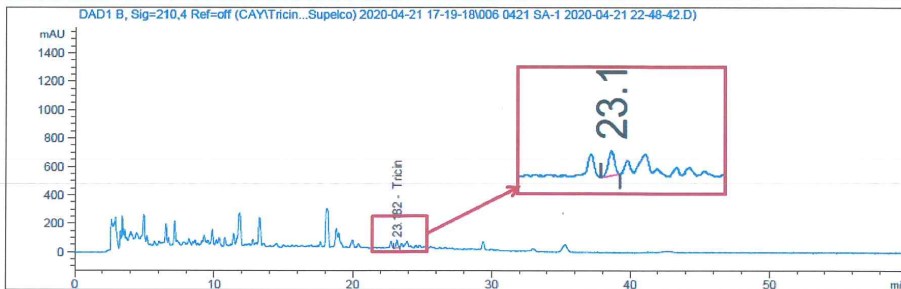
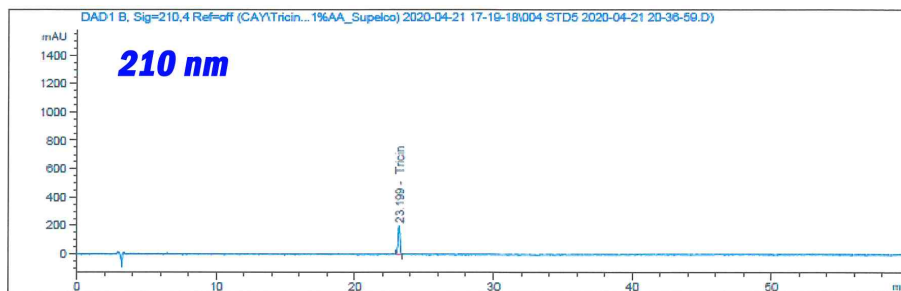
검토내역	변경 전	변경 후
추출용액	DMSO	1 % DMSO in MeOH
컬럼	INNO C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Supelco C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)
이동상	1 % Formic acid	1 % Acetic acid
파장	280 nm	210, 280, 330 nm

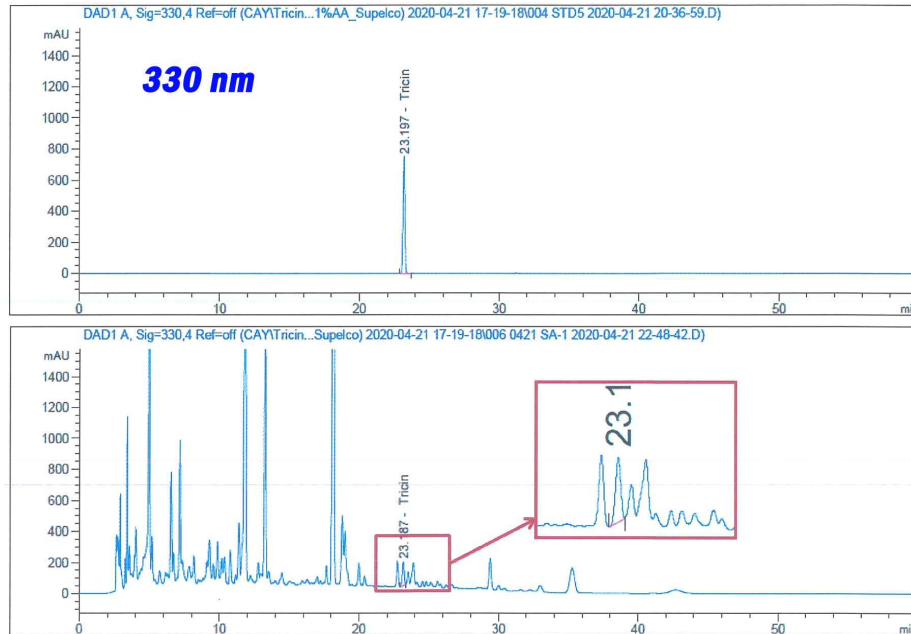
- 기기분석 조건

<b>Instrument</b>	Agilent HPLC system		
<b>Detector</b>	DAD		
<b>Wavelength</b>	210, 280, 330 nm		
<b>Column</b>	Supelco C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)		
	A: 1 % Acetic acid in D.W. B: Acetonitrile		
<b>Mobile phase</b>		A (%)	B (%)
	0	15	85
	25	40	40
	60	15	85
<b>Flow rate</b>	1.0 mL/min		
<b>Injection volume</b>	5 μL		
<b>Oven temperature</b>	25 °C		

- Tricin peak와 주변 peak의 간섭을 최소화하기 위하여 컬럼을 Discovery사 Supelco C18으로, 이동상을 1% acetic acid로, 분석파장을 210, 280, 330 nm로 하여 비교분석한 결과, 파장 330 nm에서 분석 시 가장 안정적인 Tricin 크로마토그램을 확인하였으며, 맥아구절초추출복합물 중 tricin의 함량은 약 0.2 mg/g으로 확인되었음
- 그러나, 맥아구절초추출복합물 중 tricin의 함량분석을 위한 분리도가 명확치 않아 분리도를 더 높이기 위한 검토가 필요하다 판단하였음

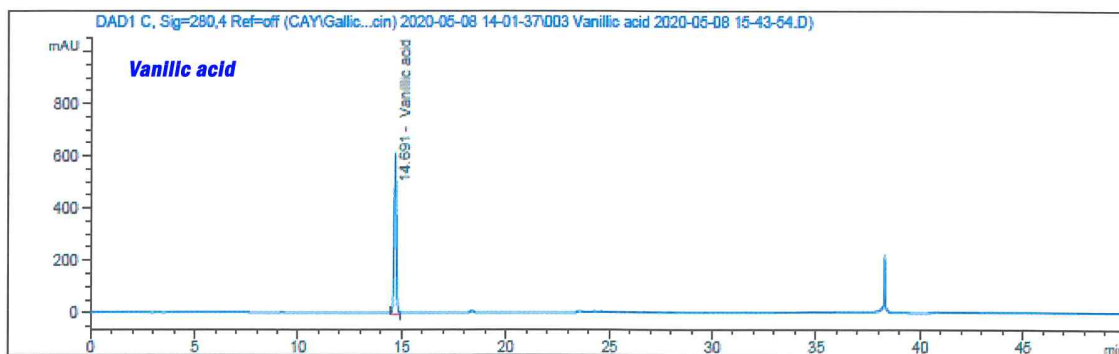
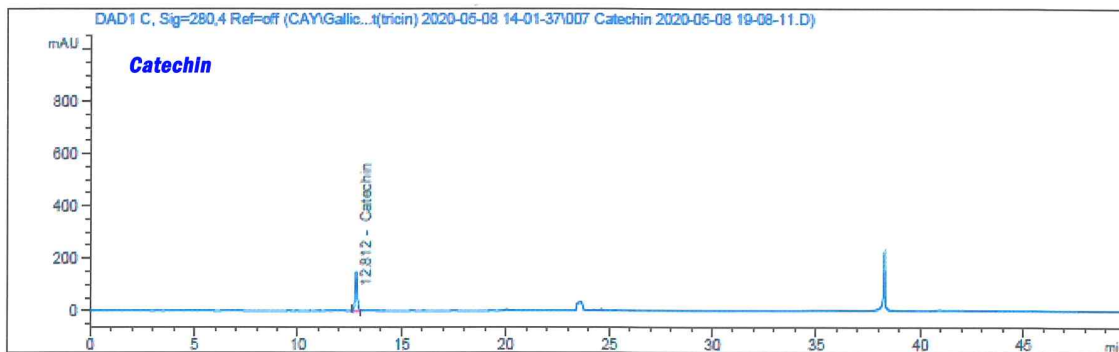
파장(nm)	표준용액 피크면적	시험용액 피크면적	검체 채취량 (mg)	표준물질 채취량 (mg)	표준물질 순도(%)	Tricin 함량 (mg/g)
210	1981.86584	460.62692	2106.6	2.20	95	<b>0.23</b>
280	2900.86523	655.24854				<b>0.22</b>
330	6682.36035	1326.60388				<b>0.20</b>

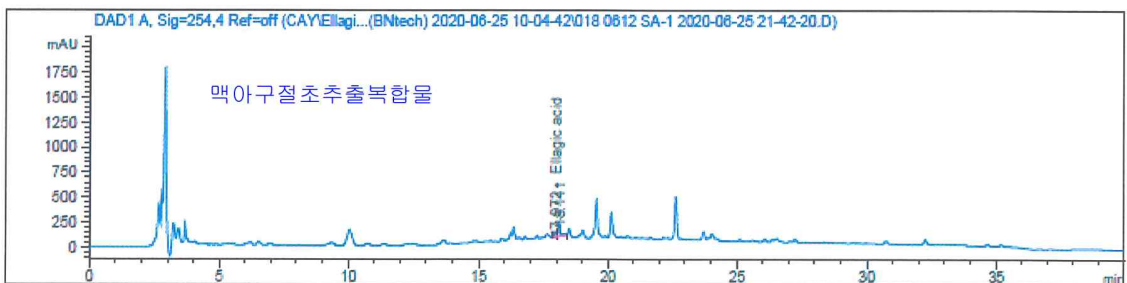
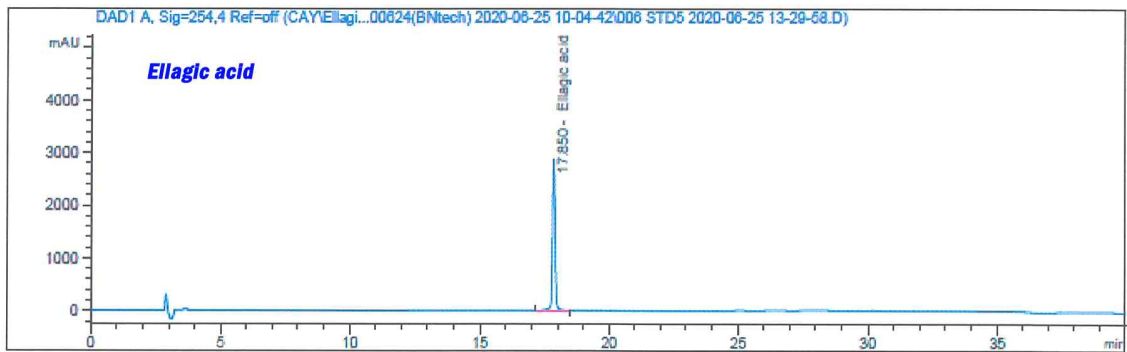
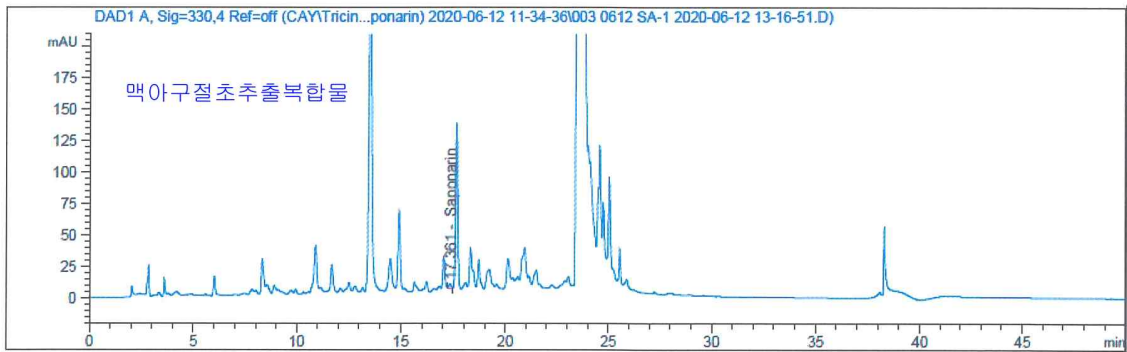
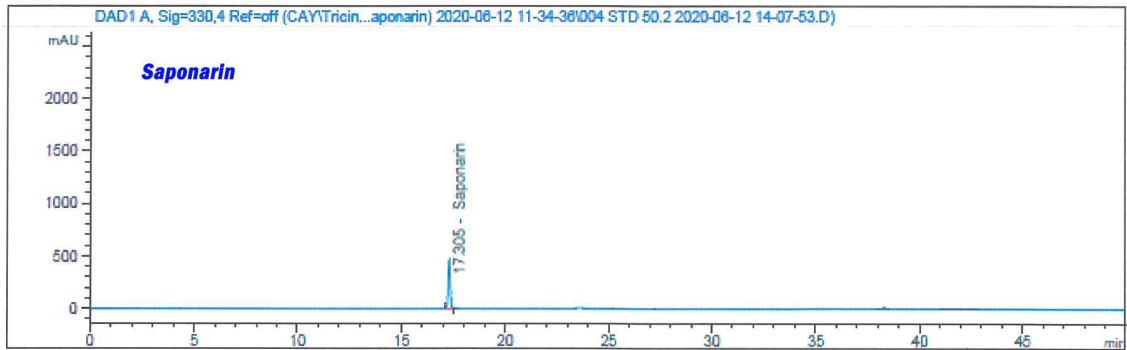
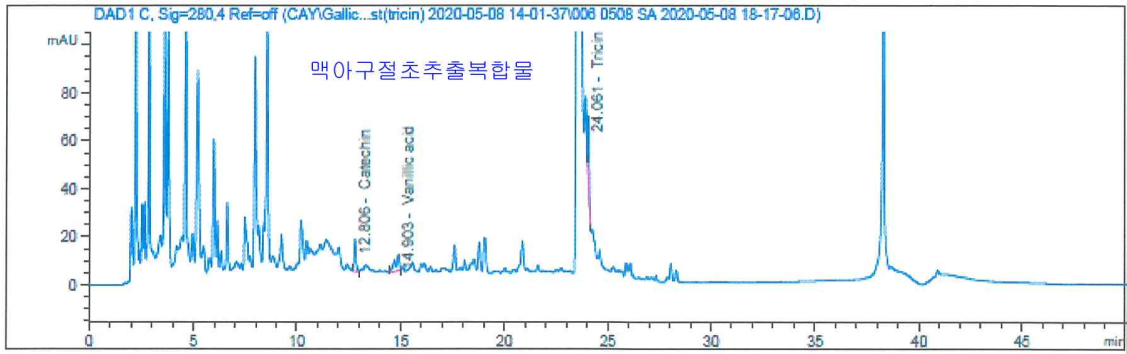


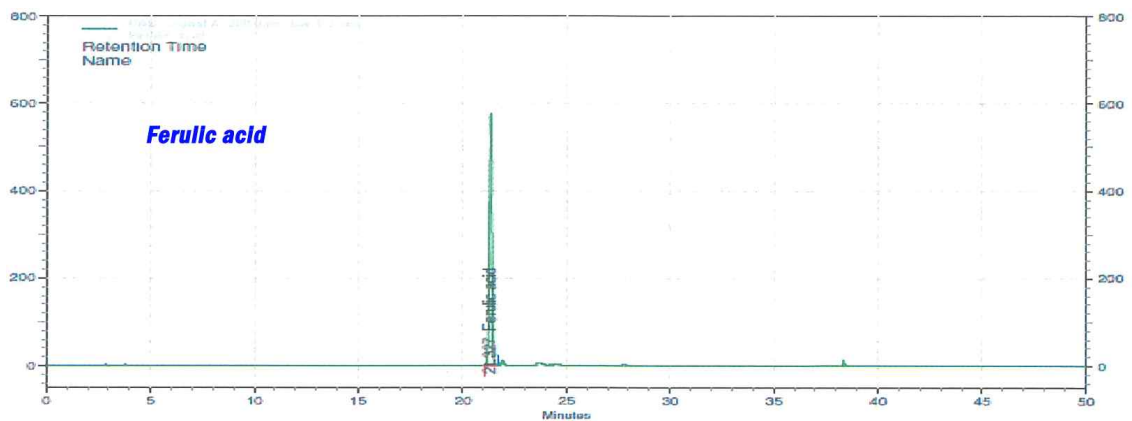
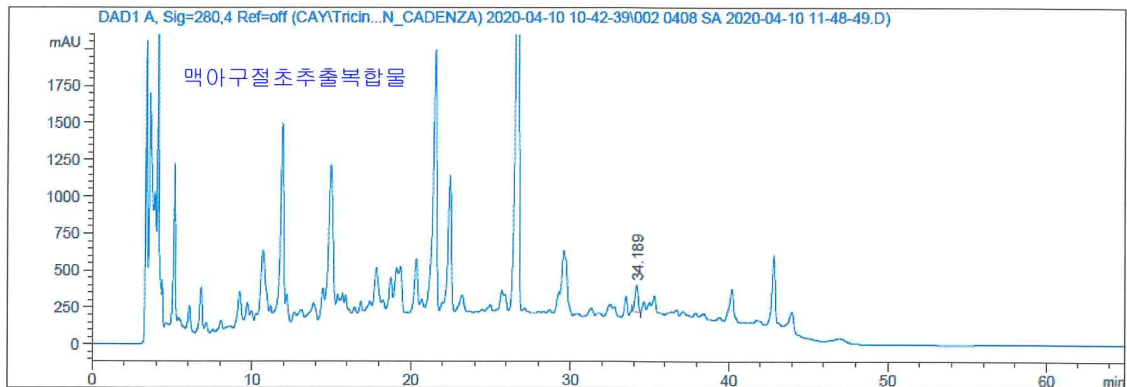
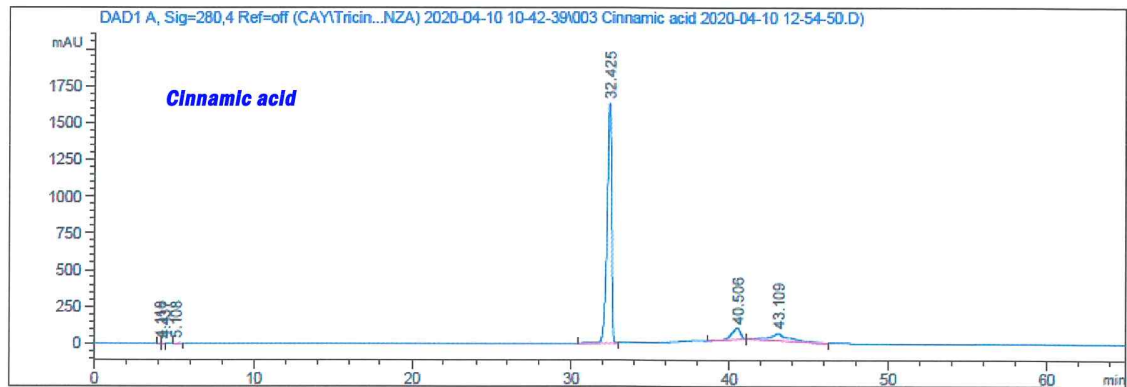
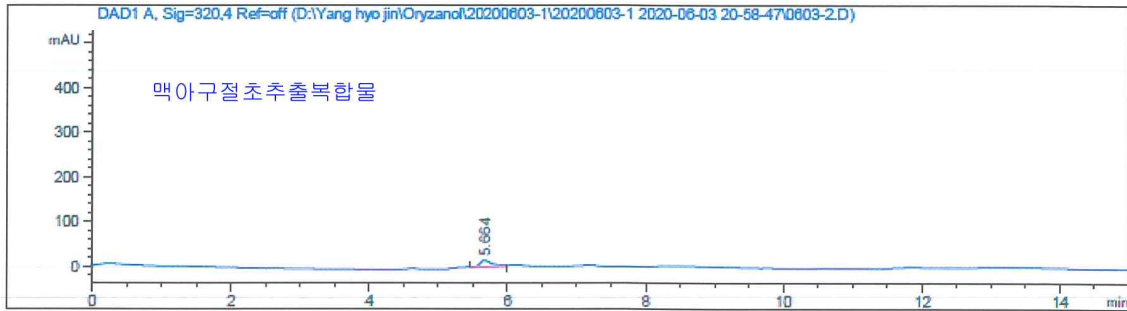
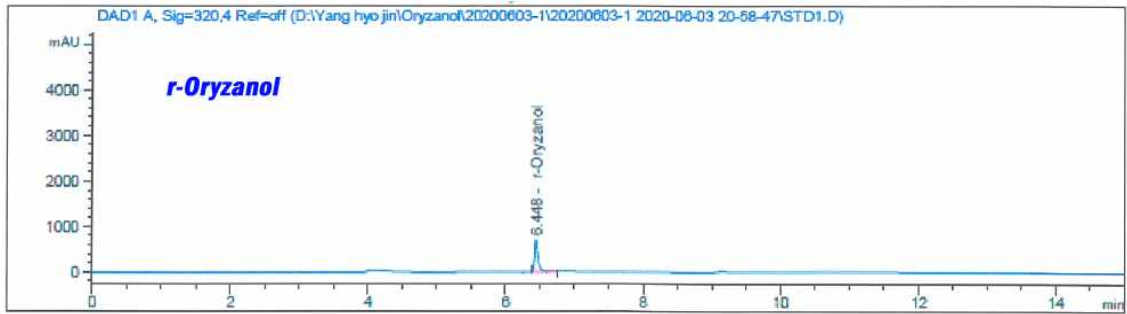


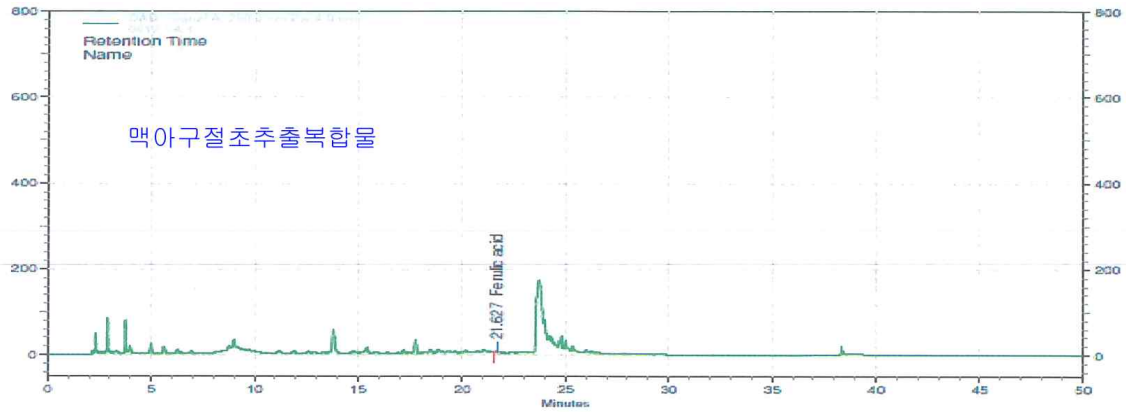
③ 맥아구절초추출복합물에서 맥아 지표성분 tricin의 대체 지표물질 검토

- 맥아구절초추출복합물 중 tricin의 함량이 낮아, 공인인증기관인 한국기능식품연구원과의 미팅과 공동연구를 통해 맥아 지표성분을 대체할 수 있는 성분을 추가로 찾고자 하였으며, catechin, vanillic acid, saponarin, ferulic acid, ellagic acid,  $\gamma$ -orizanol, chnamic acid 총 7종에 대한 추가 분석을 진행함
- 실험결과, 맥아 또는 천연물에 다량 존재하는 것으로 알려진 7가지 성분 중 tricin을 대체할 수 있는 적합한 지표물질이 없었으며, 이에 정량이 용이하게 tricin peak 분리를 위한 검토를 진행하고자 하였음









지표성분	결과
Tricin	0.2 mg/g
Catechin	분석불가
Vanilic acid	분석불가
Saponarin	분석불가
Ferulic acid	분석불가
Ellagic acid	분석불가
$\gamma$ -Orizanol	분석불가
Cinnamic acid	분석불가

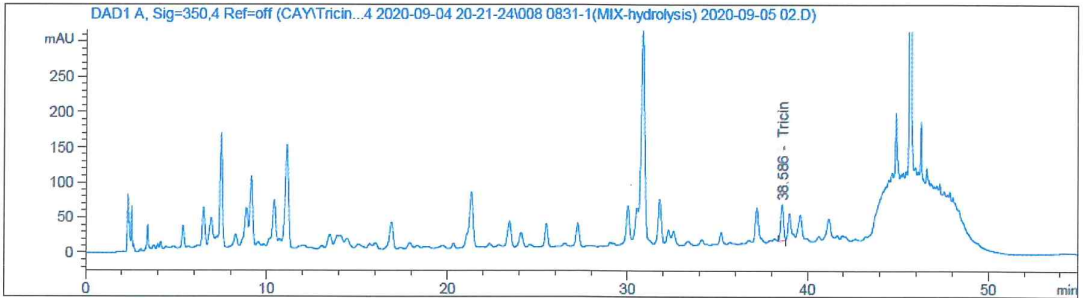
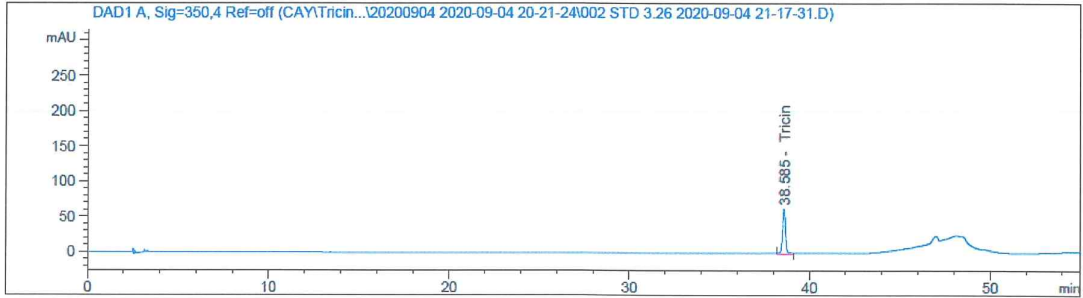
④ 맥아구절초추출복합물에서 triclin의 3차 분석법 밸리데이션 연구

- 맥아구절초추출복합물 중 triclin을 최대로 추출할 수 있는 전처리 조건을 검토하고자 하였음

검토내역	변경 전	변경 후
추출방법	단순추출	산가수분해
추출용액	1 % DMSO in MeOH	10 % DMSO in MeOH 10 % DMSO in 50 % MeOH 1 % DMSO in MeOH 1 % DMSO in 50 % MeOH
파장	330 nm	80 % MeOH 50 % MeOH
		350 nm

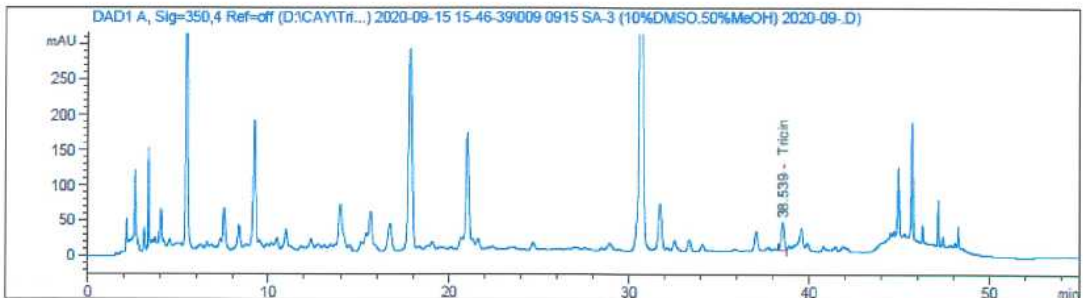
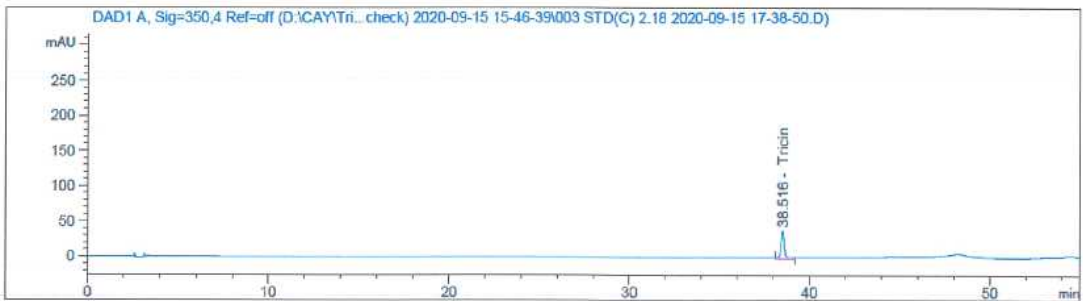
- Tricin peak와 주변 peak의 간섭을 최소화하기 위해 산가수분해 전처리 방법으로 분석한 결과 기존 단순추출과 triclin 함량의 유의적인 차이가 없어 기존 단순추출법으로 진행하기로 함





전처리법	표준용액 피크면적	시험용액 피크면적	검체 채취량 (mg)	표준물질 채취량 (mg)	표준물질 순도(%)	Tricin 함량 (mg/g)
산가수분해	702.91602	542.65350	203.0	0.0652	95	<b>0.24</b>

- 분석과장을 tricin 최대 흡수과장인 350 nm로 하여 분석컬럼을 shiseido사 MGII (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)로 변경하고 이동상 농도구배를 변경하여 tricin peak를 분리시킴



- 추출용액의 조성에 차이를 두어 tricin 함량을 비교분석한 결과, 조성 비율별 유의적인 차이가 발견되지 않았으며, 용해도를 고려하여 전처리 추출용액을 10% DMSO를 함유한 50% MeOH (DMSO:MeOH:DW=1:5:4 (v/v/v)) 혼합액으로 설정하여 최종 시험법 밸리데이션에 대한 공인기관 인증을 받고자 하였음

DMSO MeOH	-	1 % DMSO	10 % DMSO
100 % MeOH	-	0.19	0.20
50 % MeOH	0.19	0.19	<b>0.20</b>
80 % MeOH	0.20	-	-

⑤ 맥아구절초추출복합물에서 tricin의 최종 시험법 검증 (한국기능식품연구원 인증)

- 결과 요약

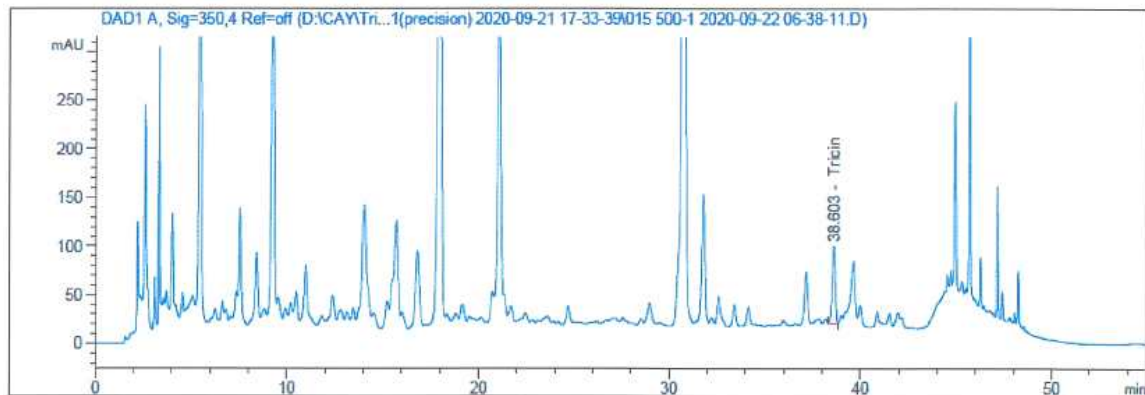
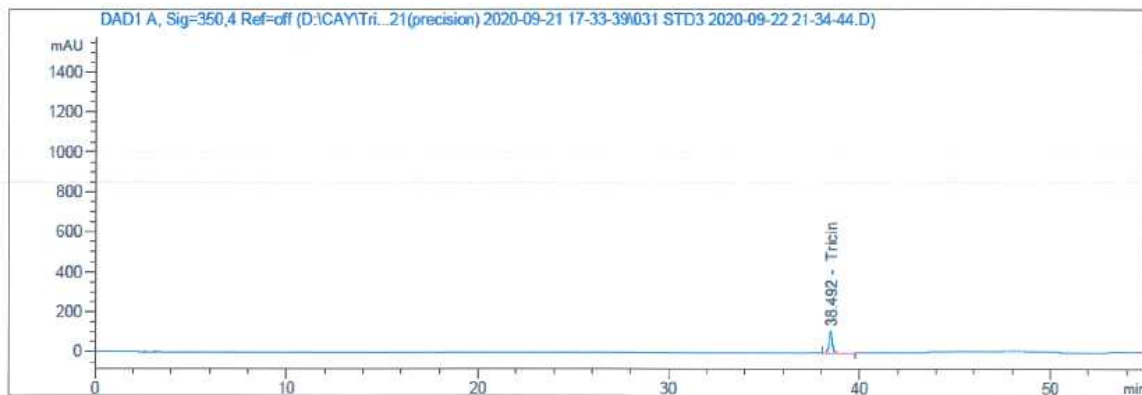
항목	평가방법	설정값
특이성 (Specificity)	HPLC 분석시 검출시간(Retention time으로 검토)	o 검출시간: Tricin 약 38.5 분대에 peak 검출
직선성 (Linearity)	표준물질에 대한 5개 농도로 직선성 확인	o Tricin : 1.4896 ~ 50.3333 µg/mL R <sup>2</sup> =1.0000 이상
정확성 (Accuracy)	3개 농도로 표준물질을 첨가하여 회수율 검토	o Tricin 2.1133~ 8.4533 µg/mL 범위에서 회수율 : 93.18 ~ 95.95 % %RSD : 0.90 ~ 1.21
정밀성 (Precision)	3일간 2명의 시험자가 2종의 기기로 반복재현성, 일간, 기기간, 시험자간 정밀성 평가	o Tricin : 함량 평균 0.20 mg/g, SD 0.005, %RSD 2.50
	시료량을 달리하여 정밀성 평가	o Tricin : 함량 평균 0.19 mg/g, SD 0.005, %RSD 2.63

- 기기분석 조건

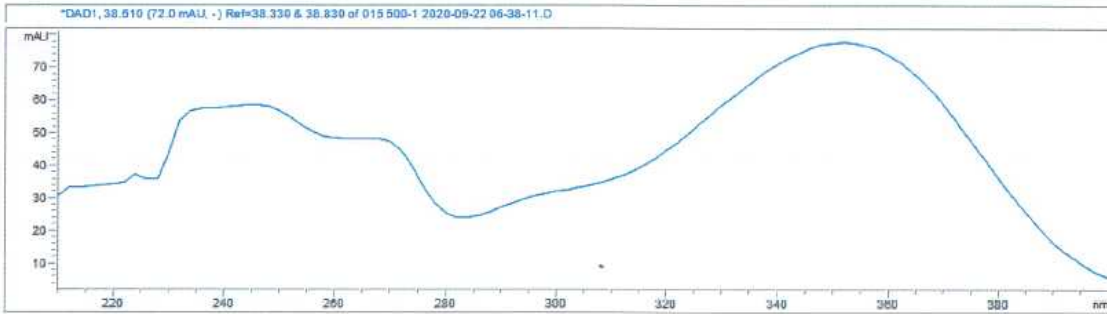
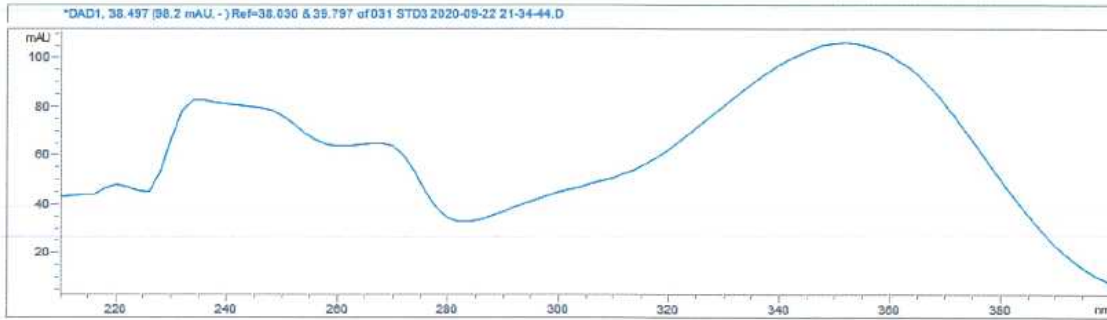
<b>Instrument</b>	Agilent HPLC system		
<b>Detector</b>	DAD		
<b>Wavelength</b>	350 nm		
<b>Column</b>	Shiseido MG II (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)		
	A: 1 % Acetic acid in D.W. B: Acetonitrile		
<b>Mobile phase</b>	min	A (%)	B (%)
	0	85	15
	14	80	20
	30	70	30
	40	60	40
	45	10	90
	50	85	15
	55	85	15
<b>Flow rate</b>	1.0 mL/min		
<b>Injection volume</b>	10 μL		
<b>Oven temperature</b>	40 °C		

- 특이성 (Specificity)

- Tricin peak 머무름 시간 확인



· Tricin 스펙트럼 확인



- 직선성 (Linearity)

· 약 1.4896~50.3333 µg/mL 범위에서 직선성이 나타남 ( $R^2=1.0000$ )

STD level	농도 (µg/mL)	피크면적	검량선
1	1.5729	298.02072	
2	3.1458	599.65173	
3	6.2917	1206.51465	
4	12.5833	2424.40283	
5	25.1667	4873.40723	
6	50.3333	9721.01758	
기울기	193.3710		
y절편	-6.4721		
$R^2$	1.0000		

- 정확도 (Accuracy) 및 회수율 (Recovery)

· 측정결과, 2.1133~8.4533 µg/mL 범위에서 회수율이 93.18~95.95%로 나타났음

표준물질 ( $\mu\text{g/mL}$ )	원료 + 표준물질 ( $\mu\text{g/mL}$ )	시료 채취량(mg)	시험용액 검출농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )	시료 100 mg당 시험용액의 농도		회수율 (%) {[B-A]/[C] *100}	회수율 평균 (%)	표준편차 (SD)	상대표준 편차 (%RSD)
				농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )	평균농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )				
0	-	511.5	4.20196	0.82	0.82				
		508.9	4.14998	0.82					
		508.2	4.17490	0.82					
원료 + 표준물질 ( $\mu\text{g/mL}$ )	시료 채취량 (mg)	채취량 대비 계산농도 ( $\mu\text{g/mL}$ ) [A]	시험용액 검출농도 ( $\mu\text{g/mL}$ ) [B]	추가된 표준물질 검출농도 ( $\mu\text{g/mL}$ ) [B-A]	이론농도 ( $\mu\text{g/mL}$ ) [C]				
시료 + 2.1133	518.2	4.2466	6.25642	2.01	2.1133	95.10	94.50	1.14	1.21
	520.2	4.2630	6.23212	1.97		93.18			
	500.6	4.1024	6.11444	2.01		95.21			
시료 + 4.2267	528.8	4.3335	8.34594	4.01	4.2267	94.93	94.61	0.85	0.90
	504.7	4.1360	8.16226	4.03		95.26			
	522.6	4.2827	8.24120	3.96		93.66			
시료 + 8.4533	516.7	4.2343	12.34514	8.11	8.4533	95.95	95.74	0.31	0.32
	527.7	4.3245	12.43026	8.11		95.89			
	506.8	4.1532	12.21563	8.06		95.38			

- 정밀도

- 재현성 시험을 위해 분석장비 및 분석자, 분석일자를 달리하여 분석한 결과, 함량은 평균 2.0 mg/g, SD는 0.005, %RSD는 2.5로 나타났음

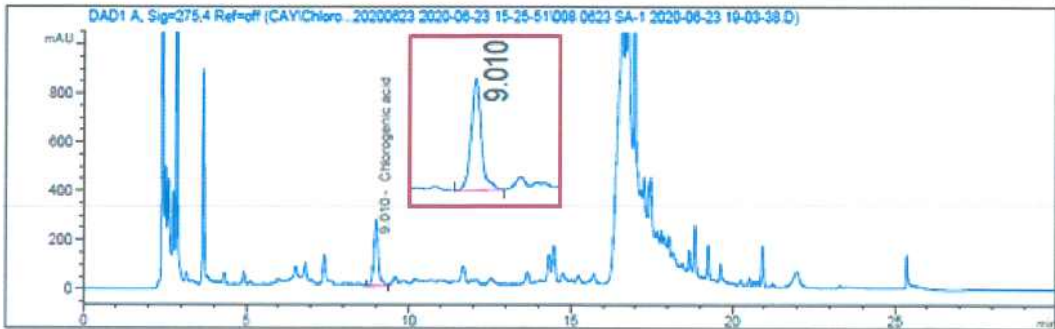
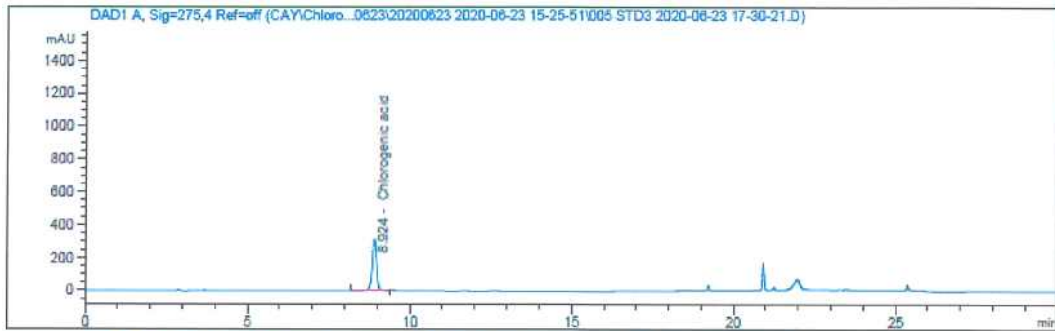
시험자 및 분석일자	사용 기기	Amount (mg/g)	Average (mg/g)	SD	%RSD
1차 (2020-09-23, 분석자 A)	Shimadzu 20A	0.20	0.20	0.005	2.50
		0.20			
		0.20			
		0.20			
		0.20			
2차 (2020-09-25, 분석자 A)	Agilent 1260	0.19			
		0.20			
		0.19			
		0.20			
		0.20			
3차 (2020-09-28, 분석자 B)	Agilent 1260	0.19			
		0.20			
		0.19			
		0.19			
		0.19			

- 반복성 측정 결과, tricin의 전체 함량은 평균 0.19 mg/g, SD는 0.005, %RSD는 2.63으로 나타났음

	함량(mg/g)		
	시료 250 mg	시료 500 mg	시료 750 mg
1	0.19	0.20	0.19
2	0.20	0.20	0.19
3	0.20	0.20	0.19
4	0.20	0.19	0.19
5	0.19	0.19	0.19
6	0.19	0.19	0.19
평균 함량	0.20	0.20	0.19
SD	0.005	0.004	0.002
%RSD	2.50	2.00	1.05
전체 평균 함량	0.19		
전체 SD	0.005		
전체 %RSD	2.63		

(나) 맥아구절초추출복합물에서 구절초 지표성분 chlorogenic acid의 분석법 밸리데이션

- ① 맥아구절초추출복합물에서 구절초주정추출분말 지표성분 chlorogenic acid의 1차 분석법 밸리데이션 연구
- 맥아구절초추출복합물 중 chlorogenic acid peak의 머무름 시간이 약 8.9분대인 것으로 확인되었으나, peak 분리도를 높이기 위한 분석법 검토가 필요하다 판단하였음



시료정보	검출농도 (ug/mL)	최종부피 (mL)	시료 채취량 (mg)	희석 배수	표준품 순도(%)	Chlorogenic acid 함량(mg/g)
맥아구절초추출복합물	41.00927	50	532.6	1	96.138	3.70

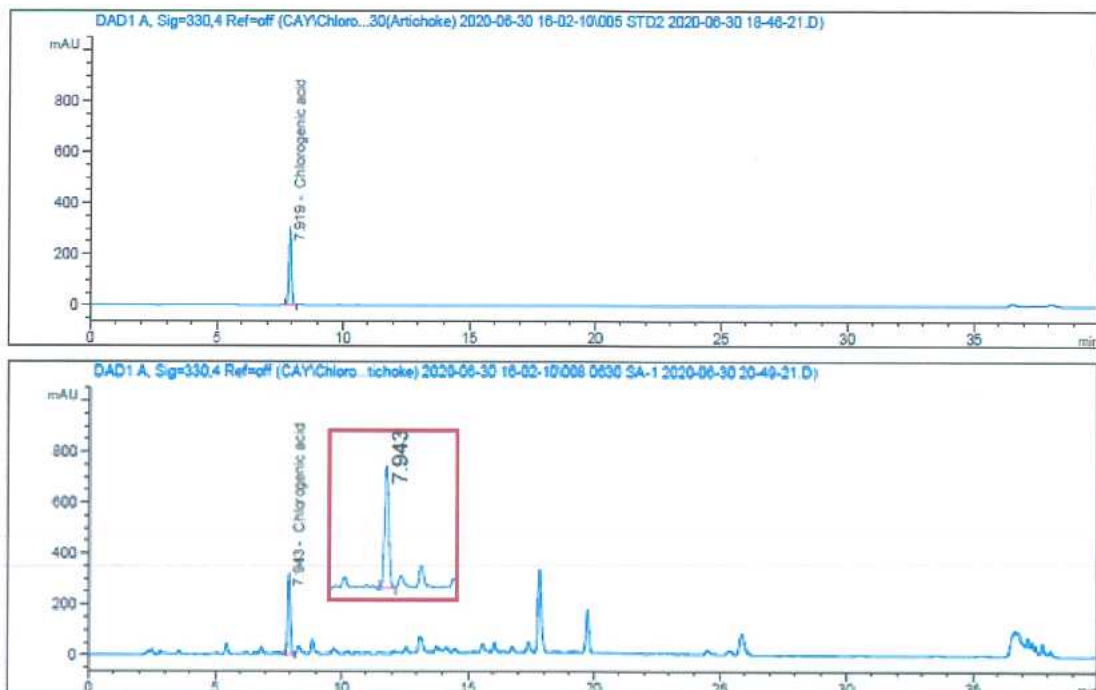
- ② 맥아구절초추출복합물에서 구절초주정추출분말 지표성분 chlorogenic acid의 2차 분석법 밸리데이션 연구
- Chlorogenic acid peak의 분리도를 높이기 위해 컬럼, 과장, 이동상 등을 변경하여 시험법 개선을 위한 검토를 진행하였음

검토내역	변경 전	변경 후
추출용매	50 % MeOH	30 % MeOH
컬럼	INNO C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Supelco C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)
이동상	Formic acid	Phosphoric acid
파장	275 nm	330 nm

- 기기분석 조건

<b>Instrument</b>	Agilent HPLC system		
<b>Detector</b>	DAD		
<b>Wavelength</b>	330 nm		
<b>Column</b>	Supelco C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)		
<b>Mobile phase</b>	A: 0.5 % Phosphoric acid in D.W. B: 0.5 % Phosphoric acid in Acetonitrile		
		A (%)	B (%)
	0	92	8
	1	92	8
	20	75	25
	33	75	25
	35	0	100
	36	92	8
40	92	8	
<b>Flow rate</b>	1.2 mL/min		
<b>Injection volume</b>	5 μL		
<b>Oven temperature</b>	40 °C		

- 분석 결과, 분리도가 개선됨을 확인하였으며, 맥아구절초추출복합물 중 chlorogenic acid의 함량은 3.52 mg/g 인 것으로 확인되었으나 peak 분리도의 개선이 더 필요하다 사료되었음



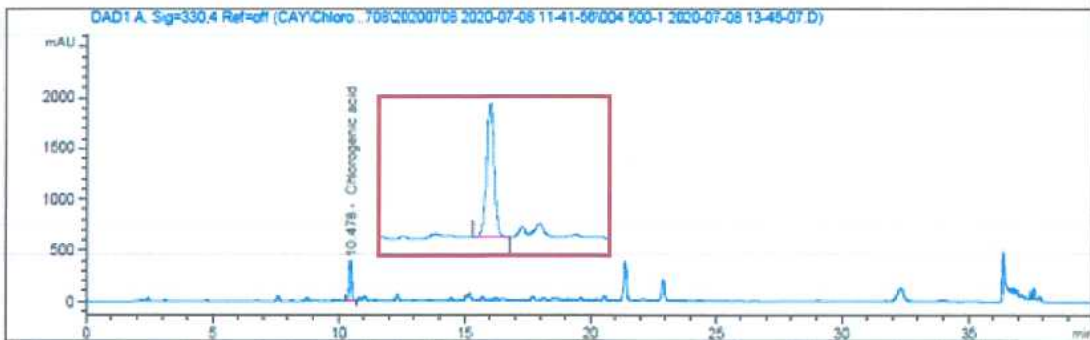
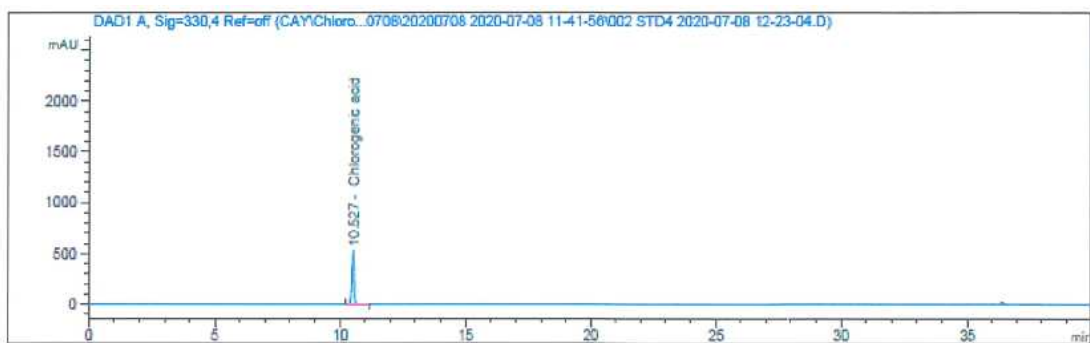
컬럼정보	검출농도 (ug/mL)	최종부피 (mL)	시료 채취량 (mg)	희석배수	표준품 순도(%)	Chlorogenic acid 함량(mg/g)
Supelco C18	38.36862	20	209.7	1	96.138	3.52

③ 맥아구절초추출복합물에서 구절초주정추출분말 지표성분 chlorogenic acid의 3차 분석법 밸리데이션 연구

- Chlorogenic acid의 peak 분리도 개선을 위해 동등 사양의 컬럼과 추출용매를 변경하여 시험법을 검토하고자 하였음

검토내역	변경 전	변경 후
컬럼	Supelco C18	INNO C18
추출용매	30 % MeOH	50 % MeOH

- 분석결과, 기존 분석법에 비해 우수한 분리도 개선을 확인하였으며, 변경된 해당 시험법으로 시험법 검증에 위한 공인기관 인증을 진행함



컬럼정보	검출농도 (ug/mL)	최종부피 (mL)	시료 채취량 (mg)	희석배수	표준품 순도(%)	Chlorogenic acid 함량(mg/g)
INNO C18	35.52639	50	505.9	1	96.138	3.38



④ 맥아구절초추출복합물에서 chlorogenic acid의 최종 시험법 검증 (한국기능식품연구원 인증)

- 결과 요약

항목	평가방법	설정값
특이성 (Specificity)	HPLC 분석시 검출시간(Retention time으로 검토)	o 검출시간: Chlorogenic acid 약 10.4 분대에 peak 검출
직선성 (Linearity)	표준물질에 대한 5개 농도로 직선성 확인	o Chlorogenic acid : 4.0938 ~ 195.0000 µg/mL R <sup>2</sup> =0.9995 이상
정확성 (Accuracy)	3개 농도로 표준물질을 첨가하여 회수율 검토	o Chlorogenic acid 14.9375 ~ 59.75 µg/mL 범위에서 회수율 : 96.17 ~ 101.01 % %RSD : 0.94 ~ 2.46
정밀성 (Precision)	3일간 2명의 시험자가 2종의 기기로 반복재현성, 일간, 기기간, 시험자간 정밀성 평가	o Chlorogenic acid : 함량 평균 3.48 mg/g, SD 0.06, %RSD 1.72
	시료량을 달리하여 정밀성 평가	o Chlorogenic acid : 함량 평균 3.53 mg/g, SD 0.042, %RSD 1.19

- 기기분석 조건

<b>Instrument</b>	Agilent HPLC system
<b>Detector</b>	DAD
<b>Wavelength</b>	330 nm
<b>Column</b>	Young Jin Biochrom INNO C18 column (250 mm × 4.6 mm, 5 µm)

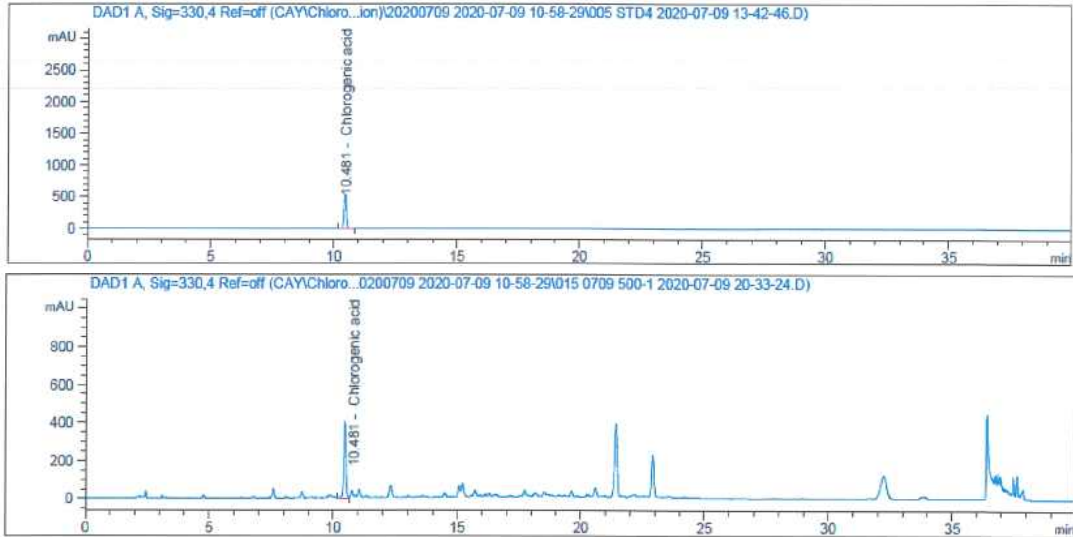
A: 0.5 % Phosphoric acid in D.W.  
B: 0.5 % Phosphoric acid in Acetonitrile

Mobile phase	min	A (%)	B (%)
	0	92	8
	1	92	8
	20	75	25
	33	75	25
	35	0	100
	36	92	8
	40	92	8

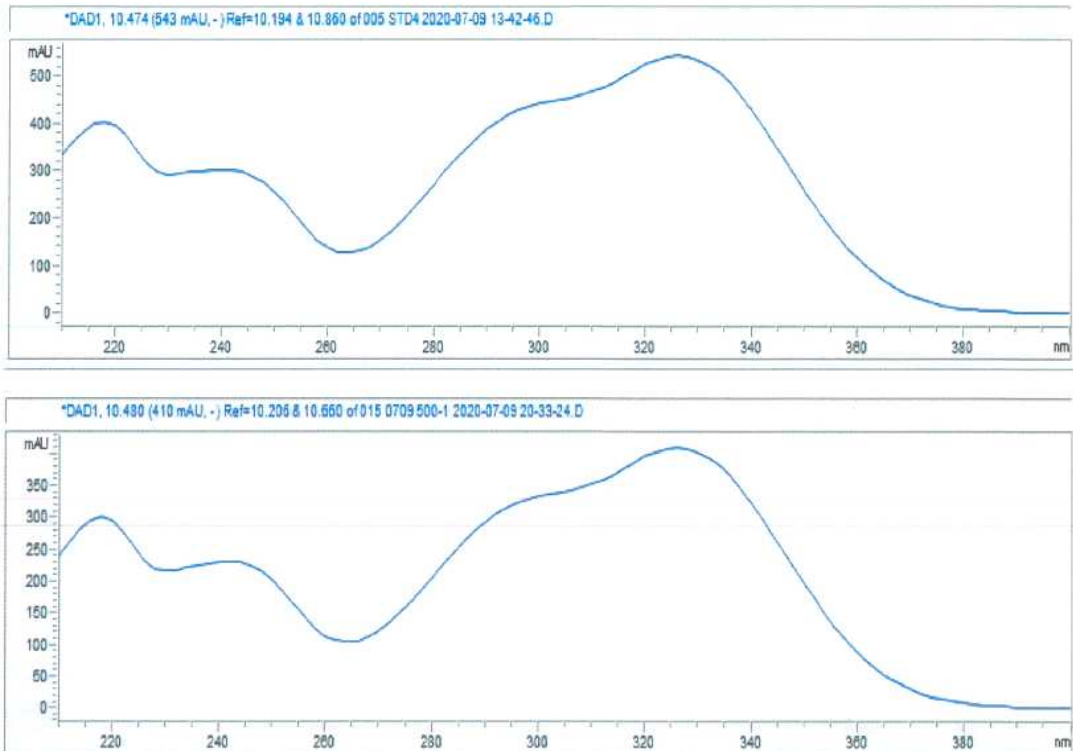
<b>Flow rate</b>	1.2 mL/min
<b>Injection volume</b>	5 µL
<b>Oven temperature</b>	40 °C

- 특이성 (Specificity)

- Chlorogenic acid peak 머무름 시간 확인



- Tricin 스펙트럼 확인



- 직선성 (Linearity)

- 약 4.0938~195.0000 µg/mL 범위에서 직선성이 나타남 ( $R^2=0.9995\sim 1.0000$ )

STD level	농도 (µg/mL)	피크면적	검량선
1	6.0938	360.34995	<p>Chlorogenic acid</p> <p><math>y = 67.9096x - 41.0507</math></p> <p><math>R^2 = 0.9999</math></p>
2	12.1875	747.97986	
3	24.3750	1591.57666	
4	48.7500	3310.78076	
5	97.5000	6654.43701	
6	195.0000	13159.5000	
기울기	67.9096		
y절편	41.0507		
$R^2$	1.0000		

- 정확도 (Accuracy) 및 회수율 (Recovery)

· 측정결과, 14.9375~59.75 µg/mL 범위에서 회수율이 96.17~101.01%로 나타났음

표준물질 (µg/mL)	원료 + 표준물질 (µg/mL)	시료 채취량(mg)	시험용액 검출농도 (µg/mL)	시료 100 mg당 시험용액의 농도		이론농도 (µg/mL) [C]	회수율 (%) {[B-A]/[C] *100}	회수율 평균 (%)	표준편차 (SD)	상대표준 편차 (%RSD)
				농도 (µg/mL)	평균농도 (µg/mL)					
0	-	208.2	39.061	18.28	18.34	14.9375	98.73	2.43	2.46	
		202.9	37.406	18.44						
		204.5	37.409	18.29						
원료 + 표준물질 (µg/mL)	시료 채취량 (mg)	채취량 대비 계산농도 (µg/mL) [A]	시험용액 검출농도 (µg/mL) [B]	추가된 표준물질 검출농도 (µg/mL) [B-A]	이론농도 (µg/mL) [C]	회수율 (%) {[B-A]/[C] *100}	회수율 평균 (%)	표준편차 (SD)	상대표준 편차 (%RSD)	
시료 + 14.9375	200.9	36.8381	51.926	15.09	14.9375	101.01	98.73	2.43	2.46	
	205.9	37.7549	52.545	14.79		99.01				
	212.2	38.9101	53.276	14.37		96.17				
시료 + 29.875	208.9	38.3050	67.244	28.94	29.875	96.87	97.78	1.90	1.94	
	211.1	38.7084	67.541	28.83		96.51				
	212.3	38.9284	68.791	29.86		99.96				
시료 + 59.75	202.5	37.1315	95.823	58.69	59.75	98.23	97.17	0.92	0.94	
	220.2	40.3770	98.081	57.70		96.58				
	209.5	38.4150	96.203	57.79		96.72				

- 정밀도

· 재현성 시험을 위해 분석장비 및 분석자, 분석일자를 달리하여 분석한 결과, 함량은 평균 3.48 mg/g, SD는 0.06, %RSD는 1.72로 나타났음

시험자 및 분석일자	사용 기기	Amount (mg/g)	Average (mg/g)	SD	%RSD
1차 (2020-07-13, 분석자 A)	Shimadzu 20A	3.55	3.48	0.06	1.72
		3.52			
		3.55			
		3.52			
		3.53			
		3.55			
2차 (2020-07-27, 분석자 B)	Agilent 1260	3.53			
		3.52			
		3.52			
		3.51			
		3.46			
		3.49			
3차 (2020-08-03, 분석자 A)	Agilent 1260	3.40			
		3.40			
		3.40			
		3.37			
		3.44			
		3.44			

· 반복성 측정 결과, chlorogenic acid의 전체 함량은 평균 3.53 mg/g, SD는 0.042, %RSD는 1.19로 나타났음

	함량(mg/g)		
	시료 250 mg	시료 500 mg	시료 750 mg
1	3.54	3.49	3.49
2	3.58	3.52	3.64
3	3.58	3.53	3.53
4	3.55	3.56	3.47
5	3.54	3.49	3.51
6	3.55	3.50	3.49
평균 함량	3.56	3.51	3.52
SD	0.019	0.028	0.061
%RSD	0.53	0.79	1.73
전체 평균 함량	3.53		
전체 SD	0.042		
전체 %RSD	1.19		

(다) 맥아구절초추출복합물 3 batch 원료의 성상, 지표성분 함량, 유해물질 및 영양성분 분석

① 한국기능식품연구원의 분석자료를 근거로 한 맥아구절초추출복합물의 기준규격 설정

- 기능/지표성분의 규격은 분석오차를 고려하여 표시하고자 하는 값에 대한 하한치와 상한치를 백분율로 설정하며, 일반적으로 표시량의 80~120%를 설정함
- 맥아구절초추출복합물의 기준규격 설정을 위하여 3 lot를 각각 3반복 분석한 결과 tricin은 0.18 mg/g, chlorogenic acid는 3.43의 함량을 나타내어 1차적으로 그 범위를 tricin은 0.144~0.216 mg/g, chlorogenic acid는 2.744~4.116으로 설정하였음


		Lot 1	Lot 2	Lot 3	평균
Tricin 함량 (mg/g)	1	0.19	0.18	0.18	0.18 ±0.01
	2	0.19	0.18	0.18	
	3	0.19	0.18	0.18	
	평균	0.19	0.18	0.18	


Tricin 함량 범위 (mg/g)	
전체평균 ± 표준편차	0.18 ± 0.01
평균의 80 % ~ 120 %	0.144 ~ 0.216
각 Lot 별 최소값 ~ 최대값	0.18 ~ 0.19

		Lot 1	Lot 2	Lot 3	평균
Chlorogenic acid 함량 (mg/g)	1	3.46	3.35	3.38	3.43 ±0.06
	2	3.48	3.36	3.41	
	3	3.50	3.46	3.46	
	평균	3.48	3.39	3.42	

Chlorogenic acid 함량 범위 (mg/g)

전체평균 ± 표준편차	3.43 ± 0.06
평균의 80 % ~ 120 %	2.744 ~ 4.116
각 Lot 별 최소값 ~ 최대값	3.35 ~ 3.50

제 L2020090203 호 문서확인 R5RS-9MGT-N175									
<b>시험·검사성적서</b>									
제품명	맥아구절초추출복합물	제조일자 (유통기한)	2018-12-17						
의뢰인	업체명 주식회사 제민셀	성 명	정용준						
	주 소 경기도 용인시 기흥구 풍덕중앙로 120, 301호 (영덕동, UTOWER)								
제조번호	BFD181130-1	검수년월일	2020-09-29						
검사의뢰목적	제출용	검수번호	L2020090203						
<p>귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 완료일: 2020-10-07                  시험·검사 책임자: 김영경                  검사관련 총 책임자: 김천희</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>시험·검사항목</th> <th>시험·검사 결과</th> <th>시험·검사원</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Tricin(mg/g)</td> <td>0.19 mg/g (0.19, 0.19, 0.19)</td> <td>조아영</td> </tr> </tbody> </table> <p>분석법-업체제공</p>				시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원	Tricin(mg/g)	0.19 mg/g (0.19, 0.19, 0.19)	조아영
시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원							
Tricin(mg/g)	0.19 mg/g (0.19, 0.19, 0.19)	조아영							
<p>※ 위 판정은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.                  ※ 분석적치는 광고용 실적서입니다. 시험·검사결과는 시험·검사목적 이외의 광고 및 홍보 등에 이용할 수 없으며, 자가품질검사 또는 정부기관 외 제출 용도로 활용할 수 없습니다.                  ※ 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인정과 관련이 없습니다.                  ※ 지면이 부족할 경우 시험·검사 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.</p> <p style="text-align: center;">2020년 10월 07일</p> <p style="text-align: center;">한국기능식품연구원 </p> <p style="text-align: center;">(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khsi.re.kr 전화번호 (031)628-0400-1</p>									

제 L2020090024 호 문서확인 1PVK-3H39-X6XU									
<b>시험·검사성적서</b>									
제품명	맥아구절초추출복합물	제조일자 (유통기한)	2018-12-17						
의뢰인	업체명 주식회사 제민셀	성 명	정용준						
	주 소 경기도 용인시 기흥구 풍덕중앙로 120, 301호 (영덕동, UTOWER)								
제조번호	BFD181130-1	검수년월일	2020-09-04						
검사의뢰목적	제출용	검수번호	L2020090024						
<p>귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 완료일: 2020-09-11                  시험·검사 책임자: 김영경                  검사관련 총 책임자: 김천희</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>시험·검사항목</th> <th>시험·검사 결과</th> <th>시험·검사원</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Chlorogenic acid(mg/g)</td> <td>3.48 mg/g (3.46, 3.48, 3.50)</td> <td>조아영</td> </tr> </tbody> </table> <p>분석법-업체제공</p>				시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원	Chlorogenic acid(mg/g)	3.48 mg/g (3.46, 3.48, 3.50)	조아영
시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원							
Chlorogenic acid(mg/g)	3.48 mg/g (3.46, 3.48, 3.50)	조아영							
<p>※ 위 판정은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.                  ※ 분석적치는 광고용 실적서입니다. 시험·검사결과는 시험·검사목적 이외의 광고 및 홍보 등에 이용할 수 없으며, 자가품질검사 또는 정부기관 외 제출 용도로 활용할 수 없습니다.                  ※ 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인정과 관련이 없습니다.                  ※ 지면이 부족할 경우 시험·검사 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.</p> <p style="text-align: center;">2020년 09월 11일</p> <p style="text-align: center;">한국기능식품연구원 </p> <p style="text-align: center;">(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khsi.re.kr 전화번호 (031)628-0400-1</p>									

② 맥아구절초추출복합물 3 batch 원료의 성상, 유해물질 및 영양성분 분석  
· 요약표

제안 기준 및 규격	시험항목	제안 기준 및 규격	실측치 (시험성적서)			
규격항목	성상	이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 탁한 황갈색 분말	이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 탁한 황갈색 분말			
	중금속 (mg/kg)	납	1 이하	0.0437	0.0436	0.0451
		총비소	1 이하	0.2621	0.2637	0.2550
		카드뮴	1 이하	0.0239	0.0285	0.0266
		총수은	1 이하	불검출	불검출	불검출
	미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성
	곰팡이 독소	총 아플라톡신 (B1, B2, G1 및 G2의 합)	15.0 µg/kg, 단, B1은 10.0 이하	불검출	불검출	불검출
		오크라톡신 A	5.0 µg/kg 이하	불검출	불검출	불검출
		제랄레논	100 µg/kg 이하	0.4487	0.3146	0.1991
		데옥시니발레놀	1 mg/kg 이하	0.3295	0.3167	0.3574
규격 미설정 항목	잔류농약	69 종	-	5 종 미량검출 외 64 종 불검출		
		5 종	-	불검출 (2종 중복 제외)		
	이산화황	30 ppm 이하	불검출			

· 성상 및 대장균군, 총아플라톡신 시험 성적서 (대표 1 batch 원료)

제 D2019011237 호  
문서확인 OUBA-525G-EPA7

### 시험·검사성적서

제품명	떡아구절초추출복합물	제조일자 (유통기한)	2018-12-17
의뢰인	업체명	주식회사 제넥셀	성명
	주소	경기도 용인시 기흥구 흥덕중앙로 120, 2201호 (영덕동, UTOWER)	
제조번호	BPD181130-1	접수년월일	2019-01-16
검사의뢰목적	제출용	접수번호	D2019011237

귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.  
 시험·검사 완료일: 2019-01-28  
 시험·검사 책임자: 이현영, 강정순  
 검사관련 총 책임자: 김천희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원
성상	이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 탁한 황갈색 분말	장혜진
대장균군	음성, 음성, 음성	이경미

2019년 01월 28일

한국기능식품연구원

(사)한국건강기능식품협회 부산 한국기능식품연구원 http://www.khsti.re.kr 전화번호 (031)628-0400-1

제 L2020090033 호  
문서확인 NY32-9PNO-1125

### 시험·검사성적서

제품명	떡아구절초추출복합물	제조일자 (유통기한)	2018-12-17
의뢰인	업체명	주식회사 제넥셀	성명
	주소	경기도 용인시 기흥구 흥덕중앙로 120, 301호 (영덕동, UTOWER)	
제조번호	BPD181130-1	접수년월일	2020-09-04
검사의뢰목적	제출용	접수번호	L2020090033

귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.  
 시험·검사 완료일: 2020-09-09  
 시험·검사 책임자: 이현영  
 검사관련 총 책임자: 김천희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원
총아플라톡신(µg/kg)	불검출	연주혜

2020년 09월 09일

한국기능식품연구원

(사)한국건강기능식품협회 부산 한국기능식품연구원 http://www.khsti.re.kr 전화번호 (031)628-0400-1

· 잔류농약 74종 (2중 중복시험) 시험 성적서

제 L2020090126 호  
문서확인 I7X9-N7ZJ-PLVZ

### 시험·검사성적서

제품명	떡아구절초추출복합물	제조일자 (유통기한)	2019-09-17
의뢰인	업체명	주식회사 제넥셀	성명
	주소	경기도 용인시 기흥구 흥덕중앙로 120, 301호 (영덕동, UTOWER)	
제조번호	BPK190917	접수년월일	2020-09-17
검사의뢰목적	제출용	접수번호	L2020090126

귀하가 우리 연구원에 시험·검사의뢰한 결과는 다음과 같습니다.  
 시험·검사 완료일: 2020-09-29  
 시험·검사 책임자: 이경구  
 검사관련 총 책임자: 김천희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원
Diazinon(mg/kg)	불검출	김용수
DDT(mg/kg)	불검출	김용수
Dicofol(mg/kg)	불검출	김용수
Dichlorvos(mg/kg)	불검출	김용수
Malathion(mg/kg)	불검출	김용수
Methomy(mg/kg)	불검출	가유미
Methidathion(mg/kg)	불검출	김용수
BHC(mg/kg)	불검출	김용수
Bifenthrin(mg/kg)	불검출	김용수
Cypermethrin(mg/kg)	불검출	김용수
Cyprodinil(mg/kg)	불검출	김용수
Boscalid(mg/kg)	불검출	가유미
Methoxyfenozide(mg/kg)	불검출	가유미
Cyhalothrin(mg/kg)	불검출	김용수
Acetamiprid(mg/kg)	0.0301 mg/kg	가유미
Azoxystrobin(mg/kg)	불검출	가유미
Atrazine(mg/kg)	불검출	김용수
Ethion(mg/kg)	불검출	김용수
Endosulfan(mg/kg)	불검출	김용수
Imazalil(mg/kg)	불검출	김용수

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원
Isoprothiolane(mg/kg)	불검출	김용수
Iprodione(mg/kg)	불검출	김용수
Carbaryl(mg/kg)	불검출	가유미
Carbofuran(mg/kg)	불검출	가유미
Captan(mg/kg)	불검출	김용수
Chlorothalonil(mg/kg)	불검출	김용수
Chlorpyrifos(mg/kg)	불검출	김용수
Chlorfenapyr(mg/kg)	불검출	김용수
Triadimefon(mg/kg)	불검출	김용수
Triazophos(mg/kg)	불검출	김용수
Triflumuron(mg/kg)	불검출	김용수
Thiamethoxam(mg/kg)	불검출	가유미
Paclotbrazo(mg/kg)	불검출	김용수
Permethrin(mg/kg)	불검출	김용수
Fenitrothion(mg/kg)	0.0548 mg/kg	김용수
Fenvalerate(mg/kg)	0.0306 mg/kg	김용수
Phenthoate(mg/kg)	불검출	김용수
Fenpropathrin(mg/kg)	불검출	김용수
Fenhexamid(mg/kg)	불검출	가유미
Phosmet(mg/kg)	불검출	김용수
Procymidone(mg/kg)	불검출	김용수
Prochloraz(mg/kg)	불검출	김용수
Profenofos(mg/kg)	불검출	김용수
Flubendiamide(mg/kg)	불검출	가유미
Pyraclostrobin(mg/kg)	불검출	가유미
Pyrimethanil(mg/kg)	불검출	가유미
Pirimiphos-methyl(mg/kg)	불검출	김용수
Fludioxonil(mg/kg)	불검출	김용수
Dimethoate(mg/kg)	불검출	김용수
Chlorantraniliprole(mg/kg)	0.0225 mg/kg	가유미
Chlorobenzuron(mg/kg)	불검출	가유미
Fipronil(mg/kg)	불검출	김용수
Lufenuron(mg/kg)	불검출	가유미



· 곰팡이독소 및 이산화황 시험 성적서 (대표 1 batch 원료)

제 D2021120741 호 분서확인 USTM-HE3G-U57N				<b>참고용 시험성적서</b>													
본 성적서는 식품의약품안전처 『식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률』에 따른 것이 아닙니다.																	
제품명	맥아구절초추출복합물	제조일자 (유통기한)	(2021-12-16)														
의뢰인	업체인	주식회사제넌셀	성명	정용준,이성호													
	주소	경기도 용인시 기흥구 용덕중앙로 120, 301호 (영덕동, UTOWER)															
제조번호	BFD181130-2	검수년월일	2021-12-07														
시험목적	제출용	검수번호	D2021120741														
<p>귀하가 우리 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 원료일: 2021-12-13                  시험·검사 책임자: 이정구                  시험관련 총 책임자: 김진희</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>시험 항목</th> <th>시험 결과</th> <th>시험·검사원</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>오크라톡신A(µg/kg)</td> <td>불검출</td> <td>연주혜</td> </tr> <tr> <td>제할렌(µg/kg)</td> <td>0.3146 µg/kg</td> <td>연주혜</td> </tr> <tr> <td>테옥시니발레놀(mg/kg)</td> <td>0.3167 mg/kg</td> <td>연주혜</td> </tr> </tbody> </table> <p>끝.</p> <p>※ 위 결과는 의뢰된 시험 항목만을 대상으로 한 것입니다.                  ※ 본 성적서는 참고용 성적서입니다. 시험 결과는 시험 목적 이외의 광고 및 홍보, 자가품질검사를 등에 사용할 수 없습니다.                  ※ 법적 효력이 없으며, 정부기관 제출용으로만 사용할 수 있습니다.                  ※ 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인정과 관련이 없습니다.                  ※ 지면이 부족한 경우 시험 및 결과원은 별지로 작성 가능합니다.</p> <p style="text-align: center;">2021년 12월 13일</p> <p style="text-align: center;"><b>한국기능식품연구원</b></p> <p style="text-align: center;">(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 <a href="http://www.khssi.re.kr">http://www.khssi.re.kr</a> 전화번호 (031)628-0400-1</p>						시험 항목	시험 결과	시험·검사원	오크라톡신A(µg/kg)	불검출	연주혜	제할렌(µg/kg)	0.3146 µg/kg	연주혜	테옥시니발레놀(mg/kg)	0.3167 mg/kg	연주혜
시험 항목	시험 결과	시험·검사원															
오크라톡신A(µg/kg)	불검출	연주혜															
제할렌(µg/kg)	0.3146 µg/kg	연주혜															
테옥시니발레놀(mg/kg)	0.3167 mg/kg	연주혜															

제 D2021120739 호 분서확인 R3T3-245C-4H69				<b>참고용 시험성적서</b>							
본 성적서는 식품의약품안전처 『식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률』에 따른 것이 아닙니다.											
제품명	맥아구절초추출복합물	제조일자 (유통기한)	(2021-12-16)								
의뢰인	업체인	주식회사제넌셀	성명	정용준,이성호							
	주소	경기도 용인시 기흥구 용덕중앙로 120, 301호 (영덕동, UTOWER)									
제조번호	BFD181130-1	검수년월일	2021-12-07								
시험목적	제출용	검수번호	D2021120739								
<p>귀하가 우리 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.</p> <p>시험·검사 원료일: 2021-12-16                  시험·검사 책임자: 가미현                  시험관련 총 책임자: 김진희</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>시험 항목</th> <th>시험 결과</th> <th>시험·검사원</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>이산화황(g/kg)</td> <td>불검출</td> <td>장대원</td> </tr> </tbody> </table> <p>끝.</p> <p>※ 위 결과는 의뢰된 시험 항목만을 대상으로 한 것입니다.                  ※ 본 성적서는 참고용 성적서입니다. 시험 결과는 시험 목적 이외의 광고 및 홍보, 자가품질검사를 등에 사용할 수 없습니다.                  ※ 법적 효력이 없으며, 정부기관 제출용으로만 사용할 수 있습니다.                  ※ 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인정과 관련이 없습니다.                  ※ 지면이 부족한 경우 시험 및 결과원은 별지로 작성 가능합니다.</p> <p style="text-align: center;">2021년 12월 16일</p> <p style="text-align: center;"><b>한국기능식품연구원</b></p> <p style="text-align: center;">(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 <a href="http://www.khssi.re.kr">http://www.khssi.re.kr</a> 전화번호 (031)628-0400-1</p>						시험 항목	시험 결과	시험·검사원	이산화황(g/kg)	불검출	장대원
시험 항목	시험 결과	시험·검사원									
이산화황(g/kg)	불검출	장대원									

(4) 결론

(가) 맥아구절초추출복합물에서의 지표성분 시험법 밸리데이션

① 맥아 지표성분 tricin과 구절초 지표성분 chlorogenic acid의 시험법은 맥아구절초추출복합물 내에서 타당성이 입증됨 (공인기관 인증)

(나) 맥아구절초추출복합물의 지표성분 규격 설정

① 일반적으로 지표성분 표시량의 80~120%를 설정함에 따라 tricin은 0.18 mg/g, chlorogenic acid는 3.43의 함량을 나타내어 기준 규격 범위를 tricin은 0.144~0.216 mg/g, chlorogenic acid는 2.744~4.116으로 설정함

(다) 맥아구절초추출복합물의 영양성분 및 유해성분 등 시험 분석

① 성상 및 영양성분을 분석하였으며, 중금속, 미생물, 곰팡이독소, 잔류농약 등은 불검출 또는 음성이거나 기준치 미달인 것을 확인함 (공인기관 인증)

자. 개발원료의 in vitro 기능성 평가 및 작용점 분석

(1) 연구방법

(가) 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 기초생리활성 조사 (항염증, 항산화 등)

(나) 17β-estradiol (E2)를 활용한 prolactin 분비 억제 시험법 확립

(다) 맥아구절초추출복합물, 맥아 및 구절초주정추출분말의 in vitro 기능성 검증

(2) 재료 및 방법

(가) 실험 재료

① 맥아 용매별 주정추출물 및 맥아주정추출분말, 구절초 용매별 주정추출물 및 구절초주



정추출분말, 맥아구절초추출복합물, 프리페민정

② GH3 및 PC12, Raw264.7 cell line

(나) 실험방법

① 맥아 및 구절초 용매별 (EtOH 30, 50, 70%) 추출물의 항염증 및 prolactin 분비 억제 효과 측정

- 최적 추출용매를 선정하기 위해 맥아 및 구절초 각 30, 50, 70% 주정 추출물을 대상으로 항염증 및 prolactin 분비 억제 효과를 측정함
- 항염증 평가는 Raw 264.7 대식세포에 LPS 1µg/ml을 처리하여 염증 유도 후, 추출물 25, 50, 100 µg/ml 농도로 처리하고, 양성대조군으로는 프리페민을 100 µg/ml 처리
- Prolactin 분비 억제 효과 측정을 위해 prolactin 분비를 증가시키는 E2를 처리하여 시험법을 확립하였으며, (참조: Chao 등, 2014) 각 용매별 추출물의 효능을 재검증함

② 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 in vitro 기능성 검증

- 각 원료의 ORAC assay를 통한 항산화 효과 측정
- 각 원료의 항염증 효과 검증 (NO 및 염증성 사이토카인 분석)
- 각 원료의 prolactin 분비 억제 효과 검증 및 기존 보고된 작용점 연구

③ 맥아구절초추출복합물의 영문명 확정 및 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말과의 in vitro 기능성 비교 검증

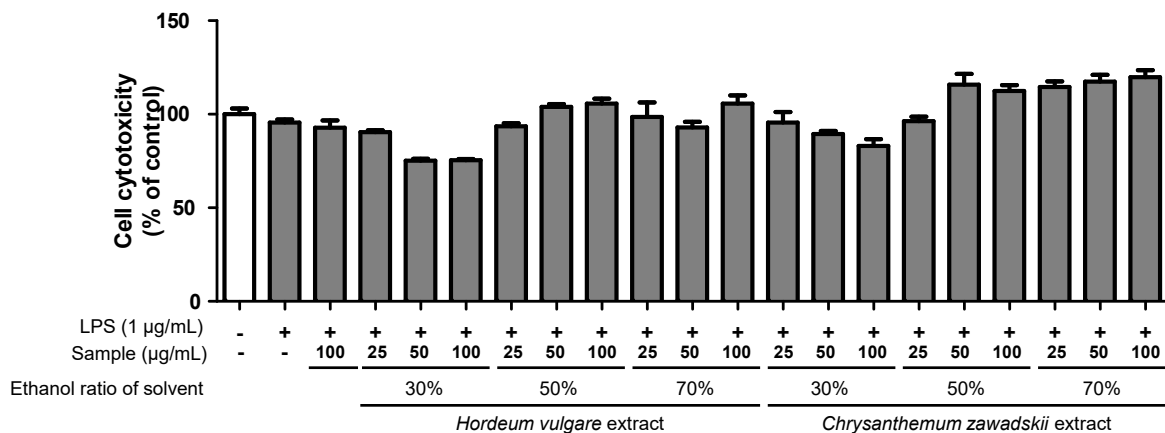
- 개발원료명: (국문) 맥아구절초추출복합물, (영문) Lomens-P0
- 맥아구절초추출복합물의 NO 생성 억제 효과, GH3 및 PC12 cell 세포독성, prolactin 분비 억제 효과, 기존 보고된 작용점 연구 등을 수행

(3) 연구결과

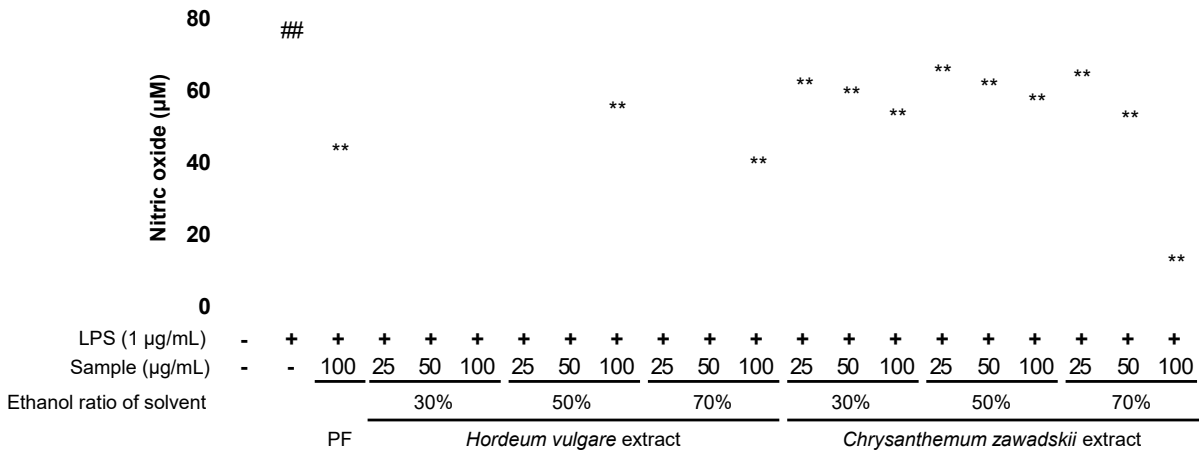
(가) 맥아 및 구절초 용매별 추출물의 항염증 및 prolactin 분비 억제 효능 평가

① 용매별 추출물의 in vitro 항염증 효과 분석

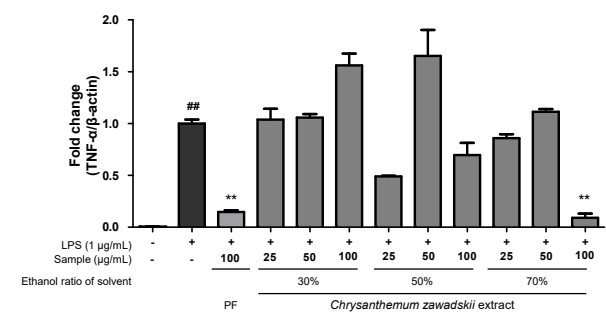
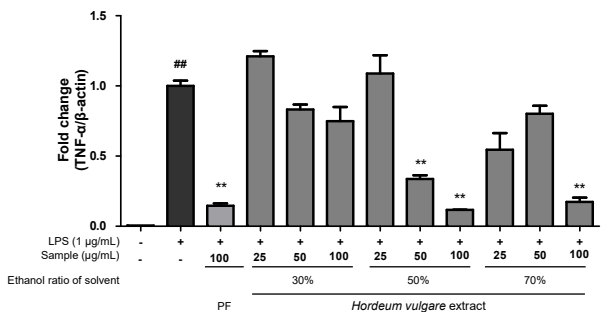
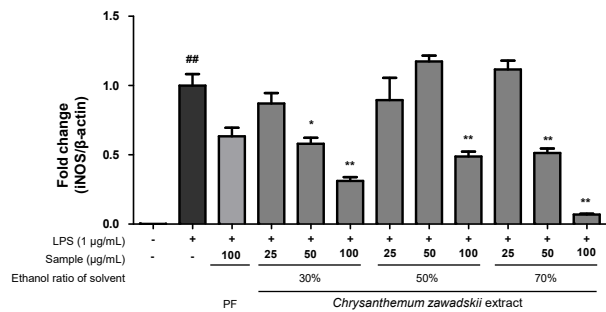
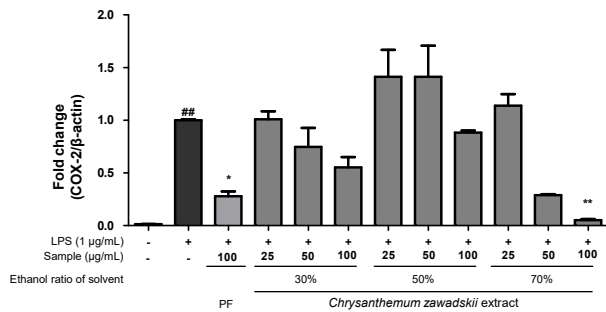
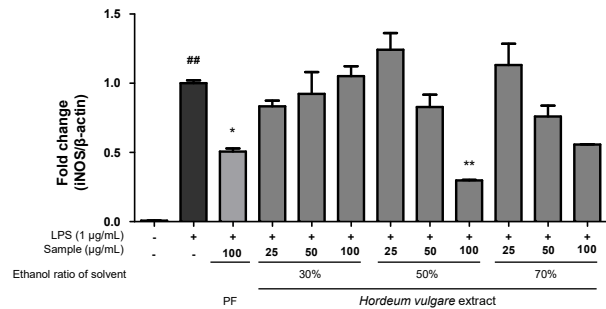
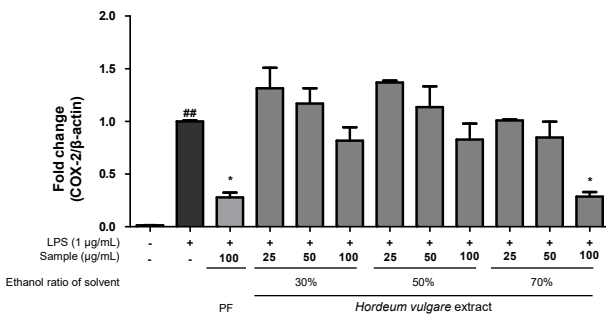
- 염증과 생리전증후군과의 연관성 (2016년 <Women's Health>에 '생리전증후군(PMS) 중증도와 염증 간의 연관성'에 관한 논문이 게재)이 보고됨에 따라 본 연구소재의 염증 억제 효과를 확인하기 위하여 대식세포주인 Raw 264.7 cell을 이용하여 항염증 효능을 평가하였음
- 그 결과 대부분의 추출물에서 세포 독성은 관찰되지 않았음



- NO 생성 억제 효과에서 구절초 (*Chrysanthemum zawadskii* extract)는 모든 용매조건의 추출물에서 염증 완화 효능을 보이고, 70% 주정 추출물에서 가장 우수한 염증완화 효능을 보였으며, 맥아 (*Hordeum vulgare* extract)는 50%, 70% 주정추출물 100 µg/ml 농도에서 NO 생성을 억제시키는 것을 확인하였음

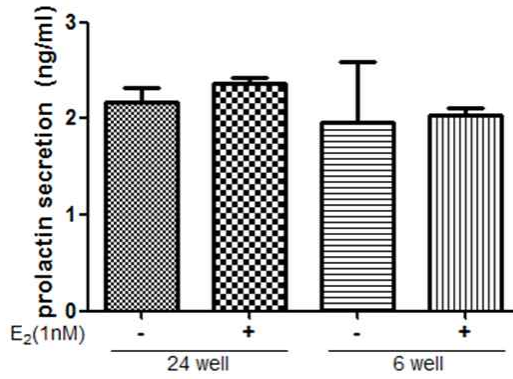


- Raw264.7 세포에서 염증성 사이토카인 (TNF- $\alpha$ , iNOS, COX-2)의 mRNA 발현양상을 qRT-PCR로 분석한 결과, 맥아 50% 주정추출물은 TNF- $\alpha$ 와 iNOS의 발현을 억제하였으며, 구절초 70% 주정추출물은 모든 염증성 사이토카인의 발현을 유의성 있게 억제하였음

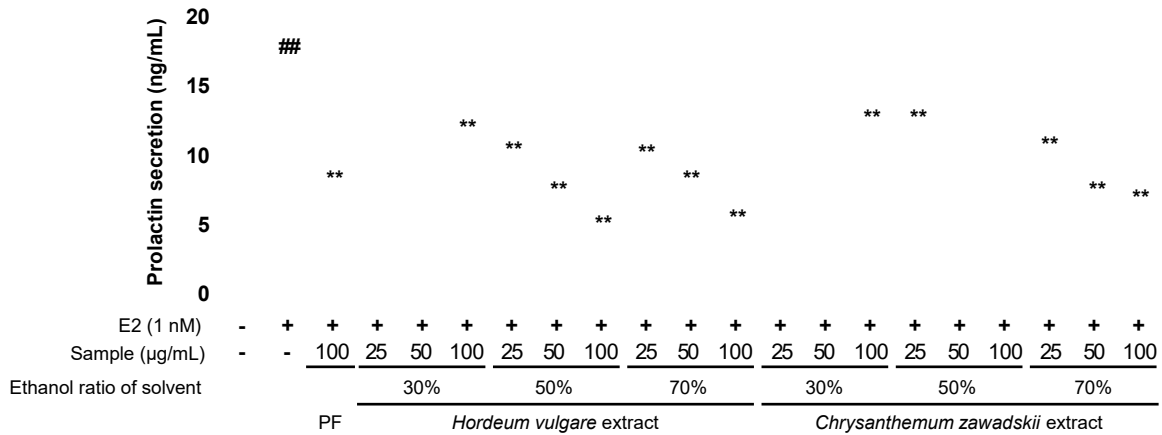
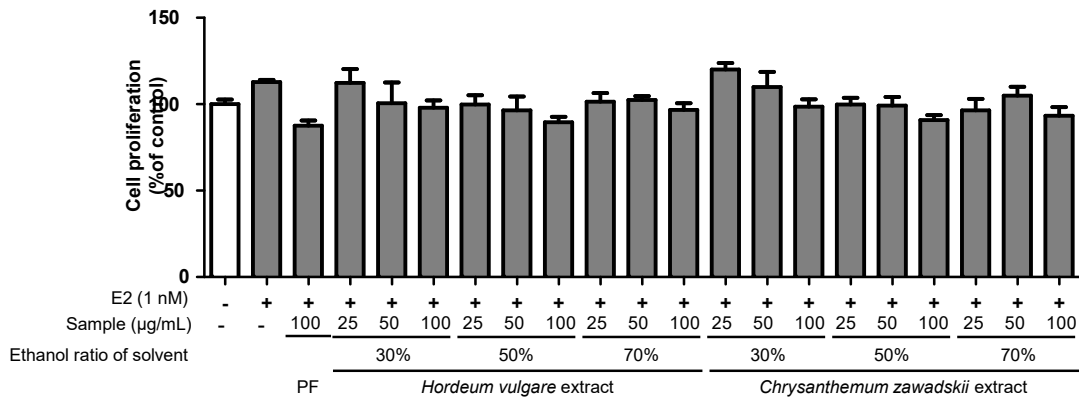


② 용매별 추출물의 prolactin 분비 억제 효과 분석

- Screening 시 측정하였던 prolactin 분비 억제 평가 시험법과 다르게 prolactin의 분비를 증가시킨다고 알려진 17 $\beta$ -estradiol (E2)를 GH3 세포 배양 후 1 nM로 처리하여 prolactin의 분비가 증가하는지 확인하였으며, 그 결과 약 10% 이상 증가하는 것을 확인하여 추가 검증 시험에서 대조군으로 E2 1 nM을 사용함



- 상기의 시험법으로 GH3 세포에서 용매별 추출물의 세포독성과 prolactin 분비 억제 시험을 진행한 결과, 모든 추출물에서 세포독성은 관찰되지 않았으며, E2처리군에서 prolactin 분비가 증가하였고, 구절초 (*Chrysanthemum zawadskii* extract)는 70% 주정에서, 맥아 (*Hordeum vulgare* extract)는 50% 주정추출물에서 prolactin 분비 억제 효능을 가장 우수하게 나타내었음



(나) 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 in vitro 기능성 검증

① 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 항산화 효과 측정

- ORAC assay를 이용한 항산화 효능 분석에서 대조군인 trolox에는 미치지 못하지만 맥아주정추출분말 (HVE)과 구절초주정추출분말 (CZE) 모두 100 µg/mL 농도에서 약간의 효능이 관찰됨

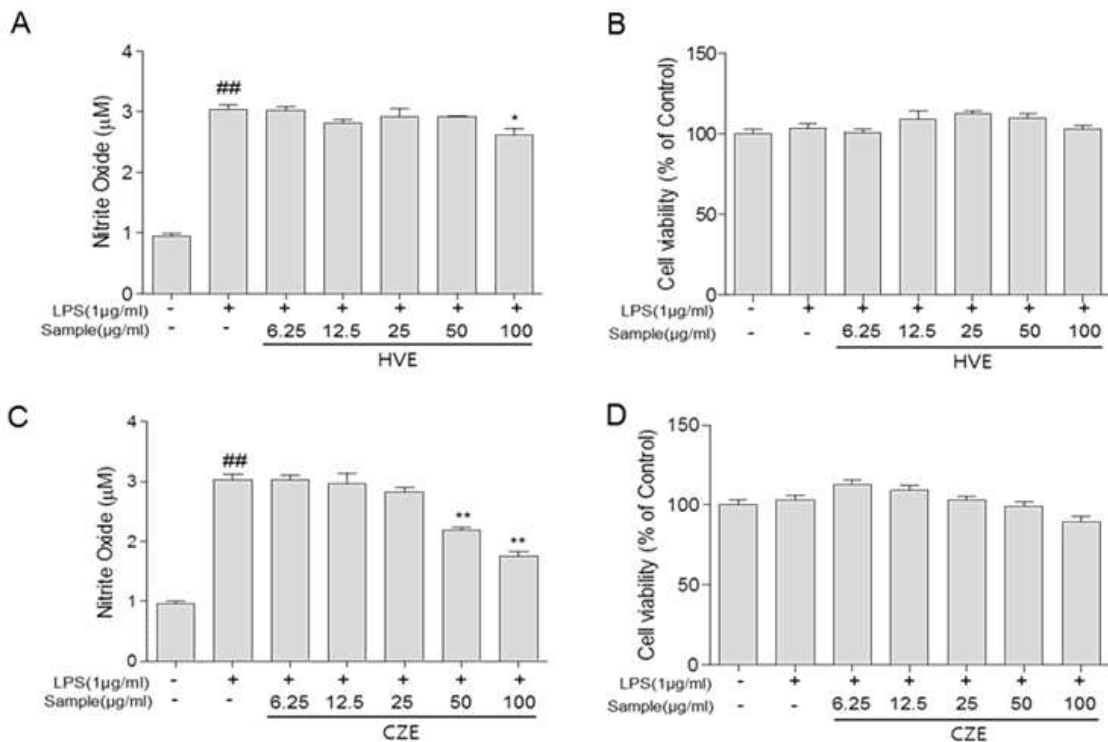
## ORAC Assay

Trolox: 1

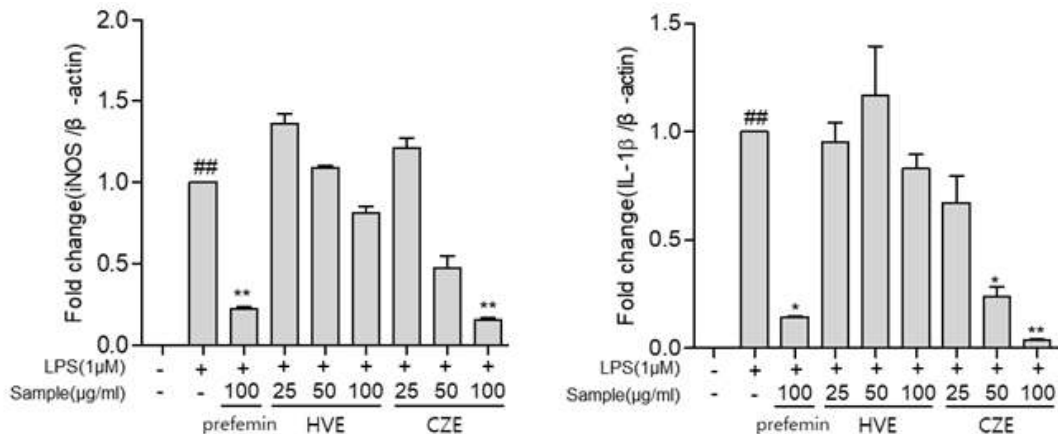
μg/ml	HVE	CZE
6.25	0.160±0.010	0.412±0.017
12.5	0.212±0.005	0.475±0.007
25	0.337±0.014	0.560±0.004
50	0.470±0.022	0.611±0.002
100	0.736±0.019	0.693±0.003

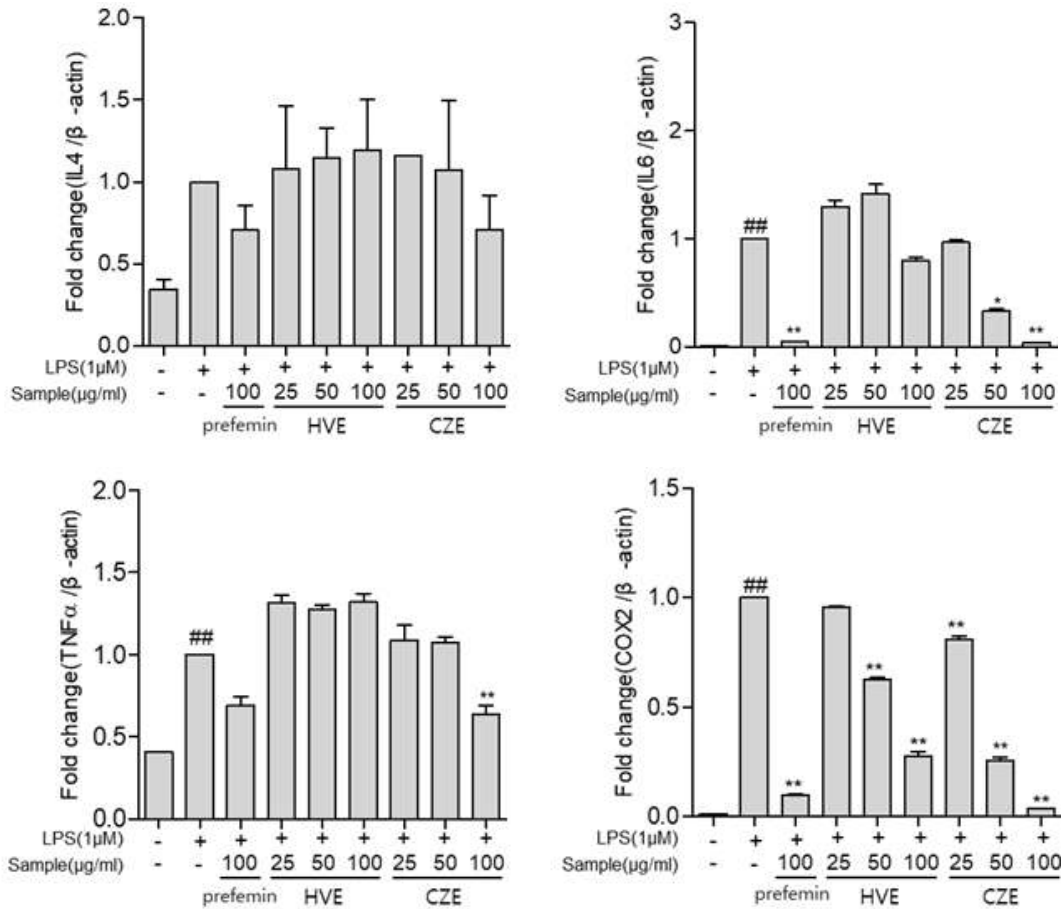
② 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 항염증 효과 검증

- 대식세포 (Raw264.7)에서 NO의 생성 억제효과를 측정 한 결과 맥아주정추출분말 (A, HVE)에서는 효능이 관찰되지 않았으나 구절초주정추출분말 (C, CZE)에서는 농도 의존적으로 유의하게 NO 생성을 감소시킴을 확인함



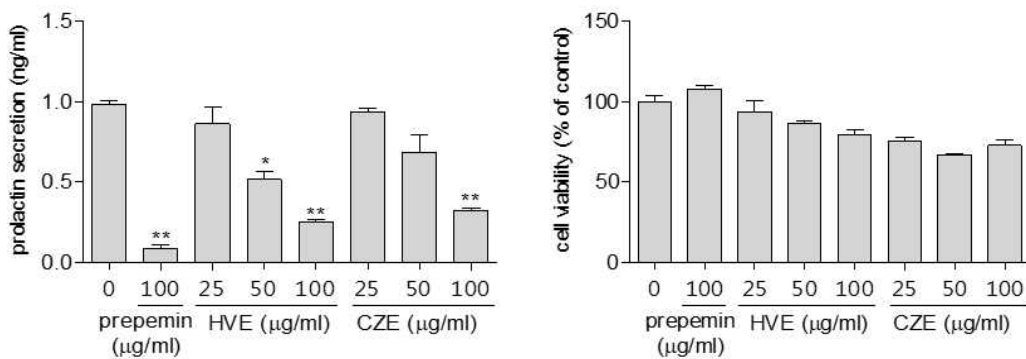
- 또한, Raw264.7 세포에서 염증성 사이토카인 (TNF-α, IL-1β, IL-4, IL-6, iNOS, COX-2)의 mRNA 발현양상을 qRT-PCR로 분석한 결과 맥아주정추출분말 (HVE)은 IL-6와 COX-2의 발현을 억제하였으며, 구절초주정추출분말 (CZE)은 모든 염증성 사이토카인을 유의성 있게 억제하였음



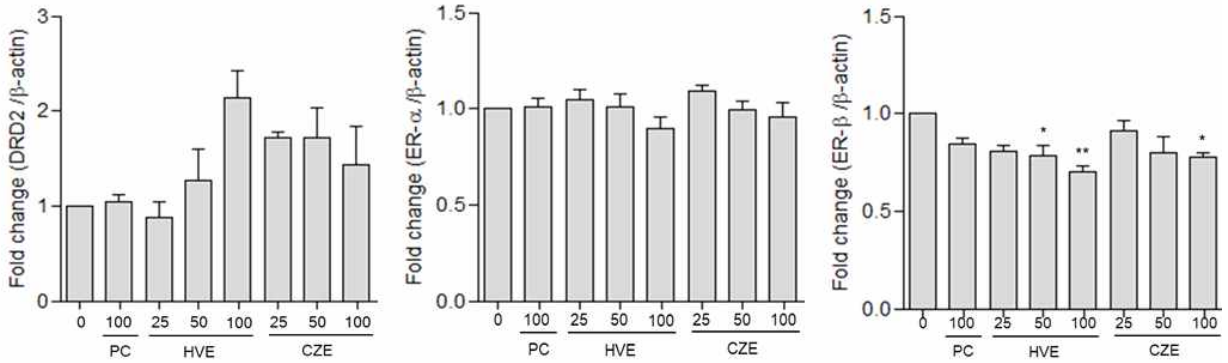


③ 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 prolactin 분비 억제 효과 검증 및 기존 보고된 작용점 연구

- 원재료 표준화에 따른 최종 원료 (맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말)에 대하여 GH3 세포에서의 prolactin 분비 억제 효과를 검증하고자 하였으며, 그 결과, 맥아주정추출분말 (HVE)과 구절초주정추출분말 (CZE) 모두 농도 의존적으로 유의성 있게 prolactin 분비를 억제함을 확인함



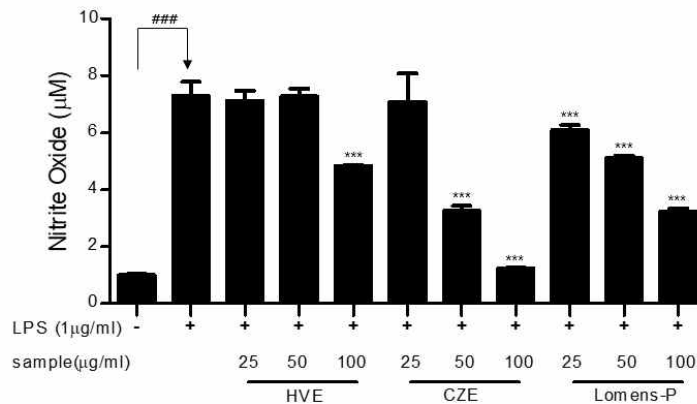
- 기존 알려진 문헌에 의하면 prolactin은 dopamine에 의해 억제되며, 여성호르몬인 estrogen에 의해 촉진된다고 알려져 있으므로 본 연구에서는 GH3 및 PC12 세포를 활용한 맥아주정추출분말 및 구절초주정추출분말의 dopamine과 estrogen의 receptor 발현 양상을 측정하여 작용점을 연구하였음
- 그 결과, 맥아주정추출분말 (HVE)의 경우 특히 dopamine receptor D2의 발현을 크게 증가시키는 물론 ER의 발현을 감소시켰으며, 구절초주정추출분말 (CZE)의 경우 맥아보다는 다소 낮았지만 조절 효능을 나타내었음



(나) 맥아구절초추출복합물의 in vitro 기능성 비교 검증 및 작용점 연구

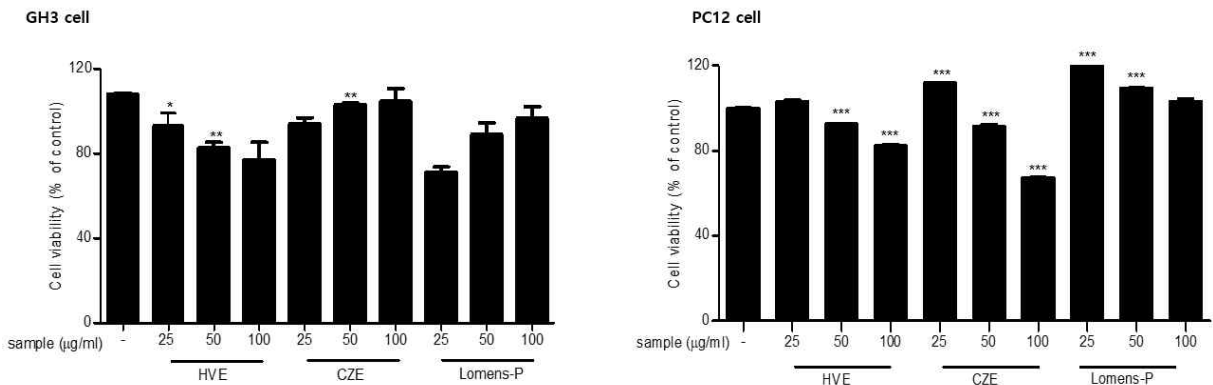
① 개발원료 맥아구절초추출복합물의 항염증 효능 검증

- 맥아주정추출분말 (50% 주정추출물, HVE), 구절초주정추출분말 (70% 주정추출물, CZE)과 이들의 1:1 혼합물인 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P)의 NO 생성 억제 효과를 대식세포인 Raw264.7 cell에서 측정된 결과, HVE는 100μg/mL 농도에서, CZE와 Lomens-P는 농도 의존적으로 NO 생성을 감소시키는 것을 확인하였음



② 개발원료 맥아구절초추출복합물의 뇌하수체 세포 증식 효능 검증

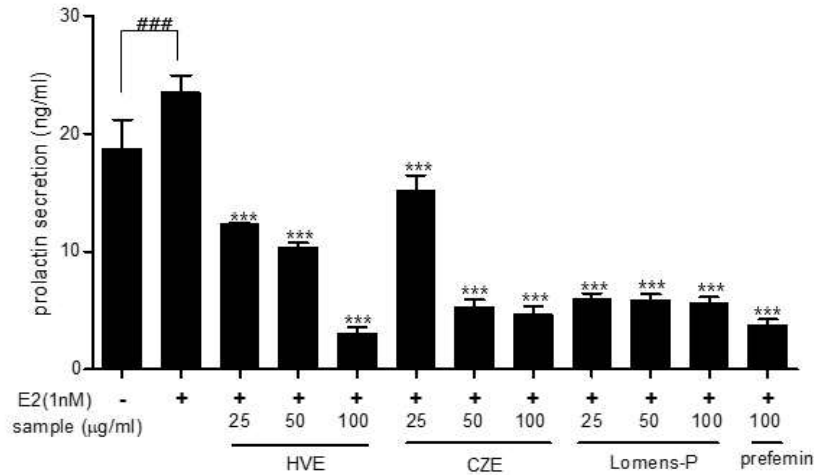
- GH3 cell에서 세포증식 효능은 HVE의 경우 다소 농도 의존적으로 세포생장율이 감소하였으나, CZE와 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P)의 경우 농도 의존적으로 증가하는 양상을 나타내었으며, 특히 CZE의 세포 성장율 증가로 인해 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P) 또한 농도 의존적으로 세포생장율이 증가함을 확인하였음
- PC12 cell에서는 CZE 100 μg/mL에서 약간의 성장율 감소가 나타나나 맥아구절초추출복합물(Lomens-P)에서는 대조군에 비해 세포 성장율이 증가함을 확인하였음



③ 개발원료 맥아구절초추출복합물의 prolactin 분비 억제 효능 검증

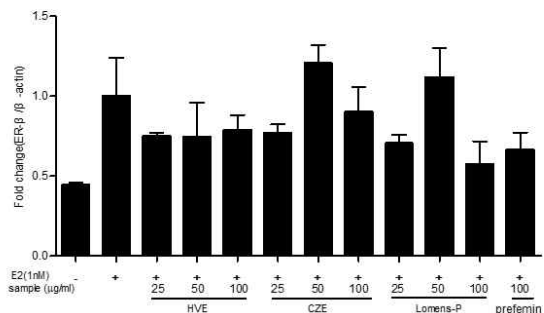
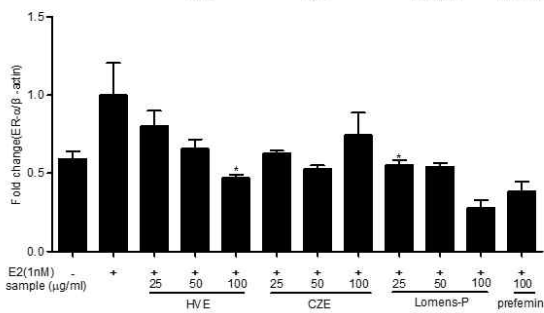
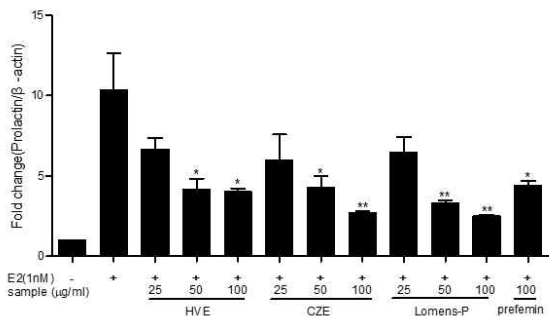
- GH3 세포에 E2를 처리하여 prolactin의 분비를 증가 시킨 후 맥아주정추출분말 (HVE), 구절초주정추출분말 (CZE), 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P)을 농도별로 처리했을

때, HVE, CZE, 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P) 모두 농도 의존적으로 prolactin 분비를 억제하였으며, 특히 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P)은 저 농도인 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서도 prolactin의 분비를 강하게 억제하였음

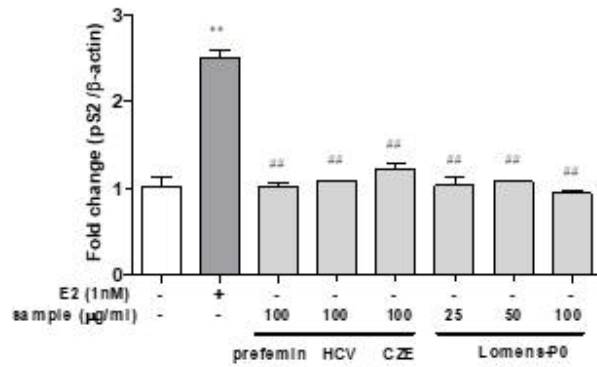


#### ④ 개발원료 맥아구절초추출복합물의 작용점 분석

- GH3 뇌하수체 세포에서 맥아주정추출분말 (HVE), 구절초추출분말 (CZE), 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P)에 의해 prolactin mRNA 발현이 모두 농도 의존적으로 감소하였음
- Estrogen receptor 인 ER- $\alpha$ 는 HVE, 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P)에 의해 농도 의존적으로 감소하였으며, ER- $\beta$ 의 경우 고농도인 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 처리한 군에서 발현 억제가 확인되었음



- 유방암 세포주 MCF-7에서 발현되는 pS2는 유방암 세포를 증식시키는 유전자로 에스트로겐에 의해 조절되는데, 개발 원료가 pS2 발현에 영향을 미치는지 평가하기 위해 실험을 진행한 결과 개발 원료 처리군에서 pS2가 감소하는 것을 관찰할 수 있었으며, 따라서 개발 원료는 에스트로겐에 의해 발현이 증가한 pS2를 감소시킨다고 볼 수 있음



(4) 결론

- (가) 맥아 및 구절초 용매별 추출물 중 맥아 50% 주정추출물과 구절초 70% 주정추출물에서 우수한 항염증 및 prolactin 분비 억제 효과를 나타냄
- (나) GMP 대량생산 원료인 맥아주정추출분말과 구절초주정추출분말에서 우수한 항염증 효과와 prolactin 분비 억제 효과를 검증하였으며, 맥아주정추출분말의 경우 특히 dopamine receptor D2의 발현을 크게 증가시킨 것은 물론 ER의 발현을 감소시켰으며, 구절초주정추출분말의 경우 맥아 보다는 다소 낮았지만 조절 효능을 나타내었음
- (다) 최종 개발원료인 맥아구절초추출복합물도 우수한 항염증 및 prolactin 분비 억제 효과를 나타내었으며, 우수한 ER 조절 효과 또한 나타내었음

차. 동물모델에서 맥아구절초추출복합물의 생리전증후군 완화 기능성 검증

(1) 연구방법

- (가) 마우스 및 랫드에서 metoclopramide (MCP) 유도 고프로락틴 혈증 동물모델을 구축 (참고문헌: Amaral 등, 2013; 2014; Wolff 등, 2015)
- (나) MCP 유도 고프로락틴 혈증 동물모델에서 개발원료인 맥아주정추출분말, 구절초주정추출분말, 맥아구절초추출복합물의 생리전증후군 완화 효능을 측정하고자 하였음 (동물실험윤리위원회 승인번호: KHUASP-18-003)

(2) 재료 및 방법

(가) 실험 재료

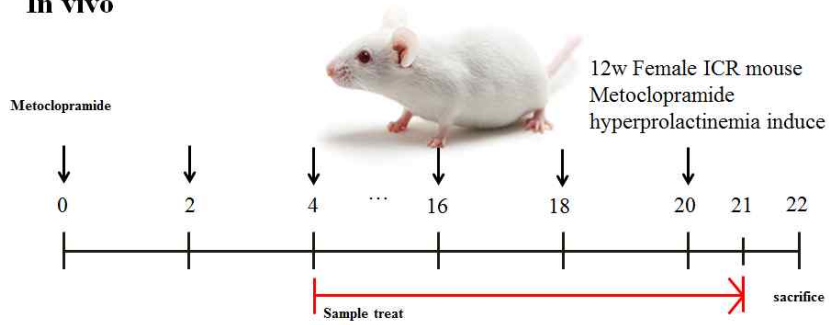
- ① 맥아주정추출분말, 구절초주정추출분말, 맥아구절초추출복합물, 프리페민정, GLA, metoclopramide (MCP)
- ② 12주령 암컷 ICR mice, 7주령 암컷 wistar rats

(나) 실험방법

- ① MCP 유도 고프로락틴 혈증 마우스 동물모델 구축 및 개발원료의 생리전증후군 완화 효과 검증
  - 12주령 암컷 ICR mouse에 dopamine receptor 억제제이자 고프로락틴 혈증 유도 물질인 MCP 20 mg/kg를 처리하여 시험모델을 구축하였으며, 3주 동안 시험물질을 투여하였음



**In vivo**



군		투여물질
-		생리식염수 (Normal control)
고프로락틴 혈증 유도군	MCP20	생리식염수 (Control)
	Prefemin	Prefemin 100 mg/kg (Positive control)
	HVE100	맥아주정추출분말 100 mg/kg
	HVE200	맥아주정추출분말 200 mg/kg
	CZE100	구절초주정추출분말 100 mg/kg
	CZE200	구절초주정추출분말 200 mg/kg
	HCE50	맥아구절초추출복합물 50 mg/kg
	HCE100	맥아구절초추출복합물 100 mg/kg
	HCE200	맥아구절초추출복합물 200 mg/kg

- 시험기간 동안의 체중, 시험종료 후 독성학적 조직변화 관찰, 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 분석, 자궁조직에서의 염증성 사이토카인 발현양상 분석을 실시함

② MCP 유도 고프로락틴 혈증 랫드 동물모델 구축 및 개발원료의 1차 생리전증후군 완화 효과 검증

- 7주령 암컷 wistar rat에 고프로락틴 혈증 유도 물질인 MCP를 50 mg/kg로 처리하여 시험모델을 구축하고, 맥아구절초추출복합물을 3주간 투여하였음

시험군		투여물질
-		생리식염수 (Normal control)
고프로락틴 혈증유도군 (MCP)	MCP 50	생리식염수 (control)
	HVE 100	맥아주정추출분말 100 mg/kg
	CZE 100	구절초주정추출분말 100 mg/kg
	Lomens-p 50	맥아구절초추출복합물 50 mg/kg
	Lomens-p 100	맥아구절초추출복합물 100 mg/kg
	Lomens-p 200	맥아구절초추출복합물 200 mg/kg
	Prefemin	Prefemin 100 mg/kg (양성대조군)
	GLA	감마리놀렌산 100 mg/kg (양성대조군)

- 비교군으로 맥아주정추출분말과 구절초주정추출분말을 사용하였으며, 양성대조군으로 프리페민정과 월경전 상태개선 기능성 원료 (고시형)인 감마리놀렌산을 투여하여 결과를 비교분석 하였음

- 시험기간 동안의 체중, 시험종료 후 독성학적 조직변화 관찰, 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 분석, 자궁조직에서의 염증성 사이토카인 발현양상, 뇌하수체 조직에서 도파민

수용체 활성화 및 프로락틴 발현 양상을 측정함

- ③ MCP 유도 고프로락틴 혈증 랫드 동물모델 구축 및 개발원료의 2차 생리전증후군 완화 효과 검증 (시험방법 변경)
- 7주령 암컷 wistar rat에 고프로락틴 혈증 유도 물질인 MCP를 150 mg/kg로 용량을 올려 2주간 처리한 후 맥아구절추출복합물 등의 시험물질을 3주간 투여하였음

시험군		투여물질
-		생리식염수 (Normal control)
고프로락틴 혈증유도군 (MCP)	MCP 150	생리식염수 (control)
	HVE 100	맥아주정추출분말 100 mg/kg
	CZE 100	구절초주정추출분말 100 mg/kg
	Lomens-p 50	맥아구절초추출복합물 50 mg/kg
	Lomens-p 100	맥아구절초추출복합물 100 mg/kg
	Lomens-p 200	맥아구절초추출복합물 200 mg/kg
	Prefemin	Prefemin 100 mg/kg (양성대조군)

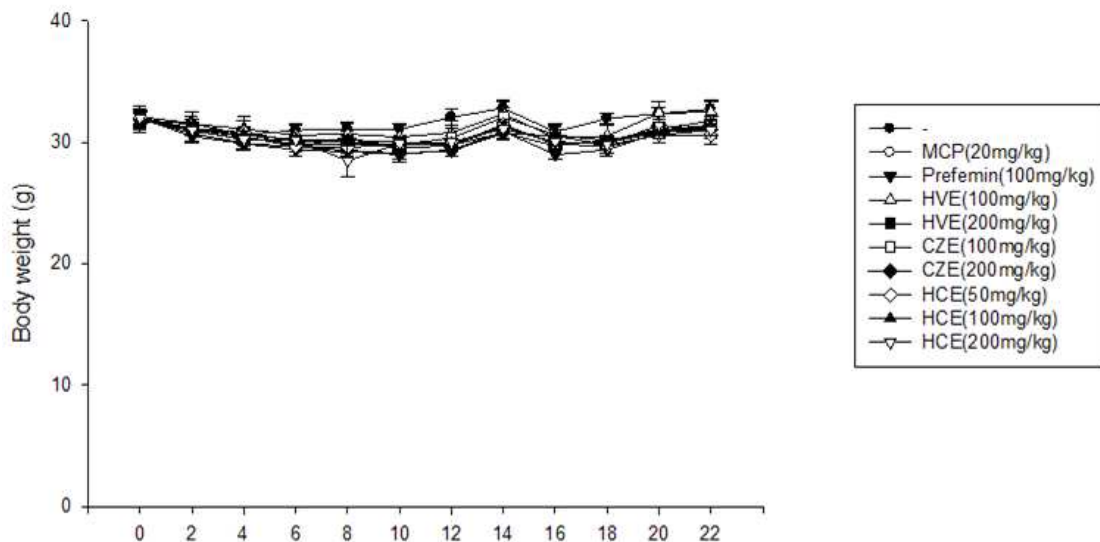
- 시험기간 동안의 체중, 시험종료 후 독성학적 조직변화 관찰, 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 및 신경전달물질 분석, 자궁조직에서의 염증성 사이토카인 발현양상, 뇌 조직에서 도파민 수용체 활성화 및 프로락틴 발현 양상을 측정함

(3) 연구결과

(가) MCP 유도 고프로락틴 혈증 유도 마우스 동물모델 구축 및 개발원료의 생리전증후군 완화 효과 검증

① 체중변화

- 3주간의 시험기간 동안 각 군의 체중변화를 관찰한 결과, 고프로락틴 혈증 및 시험물질 처리에 의한 체중변화는 관찰되지 않음



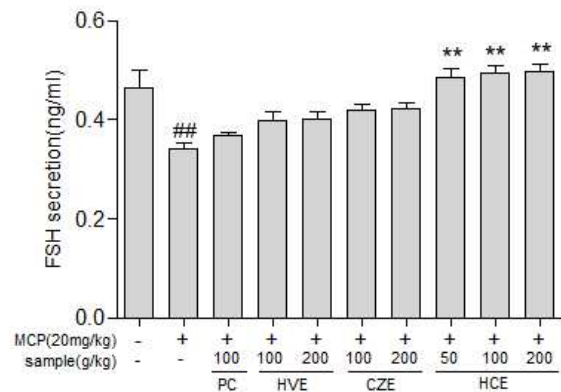
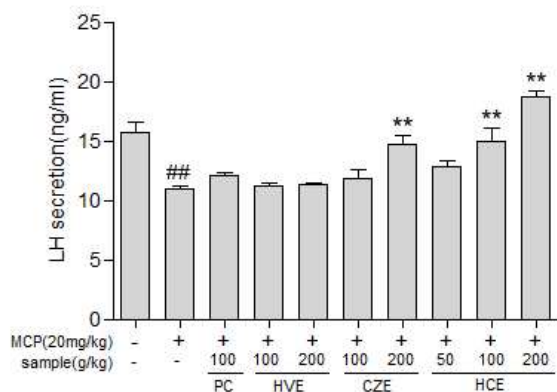
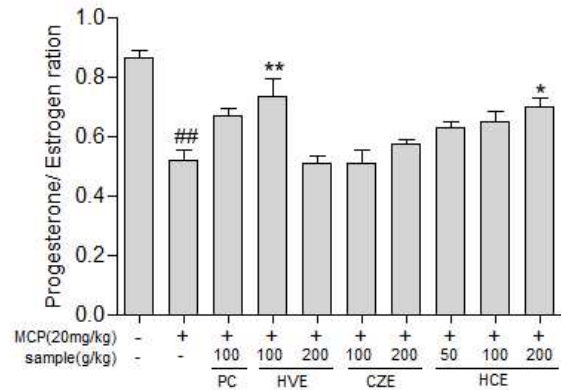
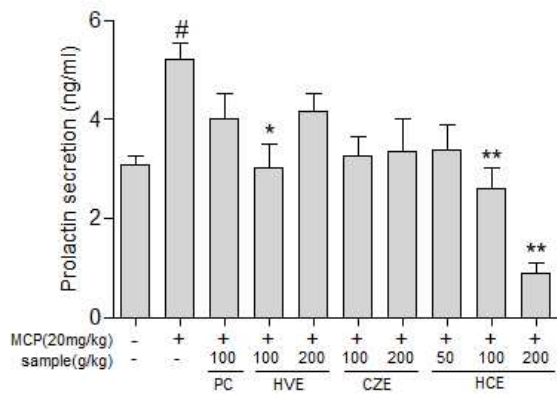
② 조직의 독성학적 변화 관찰

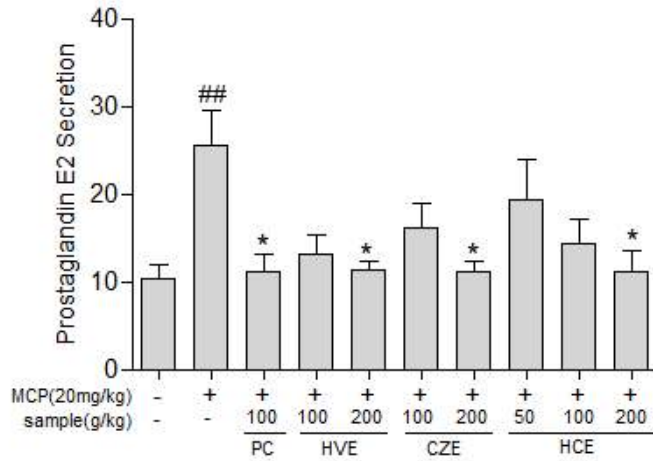
- 시험 종료 후 시험동물의 간, 신장, 비장 및 자궁의 무게를 측정함 결과 MCP에 의해 신장과 비장, 자궁의 무게가 증가하였으며, 양성대조군인 prefemin의 경우 변화가 없었지만, 본 연구개발의 맥아주정추출분말 (HVE), 구절초주정추출분말 (CZE), 맥아구절초추출복합물 (HCE)의 경우 MCP유도에 의해 증가된 신장, 비장, 자궁의 무게를 회복시켰음

Groups	g/g	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Uterine (g)
-		3.24±0.07	0.98±0.04	0.27±0.01	0.37±0.03
MCP 20		3.06±0.09 <sup>##</sup>	1.02±0.04	0.33±0.01	0.51±0.08
Prefemin		3.50±0.10	1.02±0.04	0.35±0.01	0.53±0.11
HVE 100		3.11±0.12 <sup>**</sup>	0.98±0.04	0.30±0.03	0.45±0.06
HVE 200		2.84±0.19 <sup>**</sup>	0.95±0.04	0.29±0.02	0.45±0.06
CZE 100		3.21±0.13	1.02±0.07	0.29±0.01	0.50±0.09
CZE 200		3.48±0.12	0.96±0.02	0.28±0.01	0.38±0.09 <sup>*</sup>
HCE 50		3.30±0.12	1.00±0.03	0.27±0.02 <sup>*</sup>	0.40±0.05
HCE 100		3.27±0.11	0.99±0.01	0.27±0.01 <sup>**</sup>	0.40±0.04
HCE 200		3.25±0.07	0.98±0.02	0.27±0.01 <sup>**</sup>	0.37±0.05

③ 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 분석

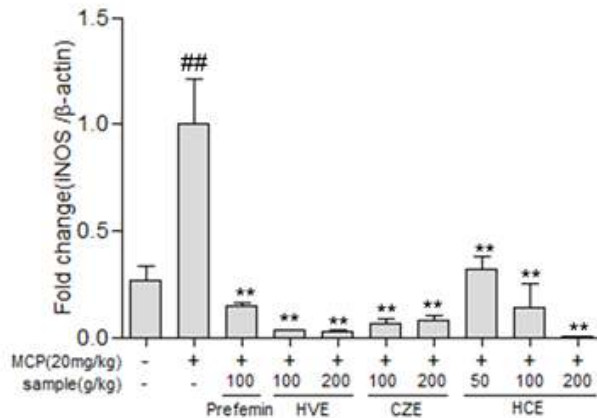
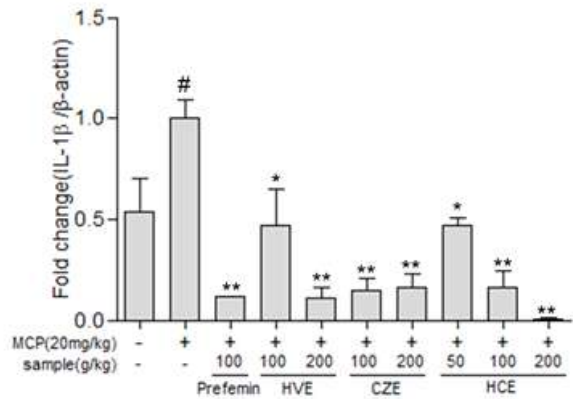
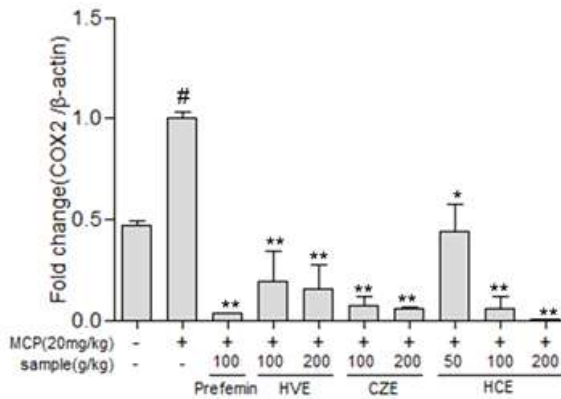
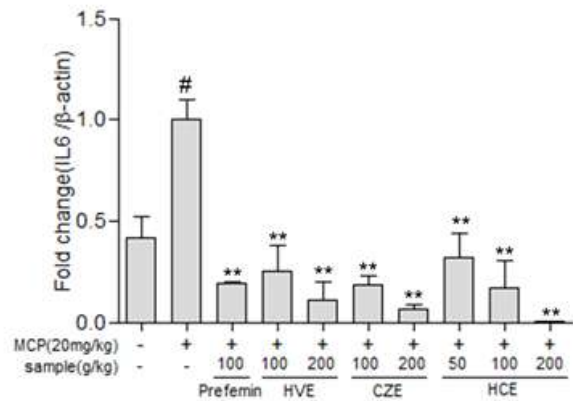
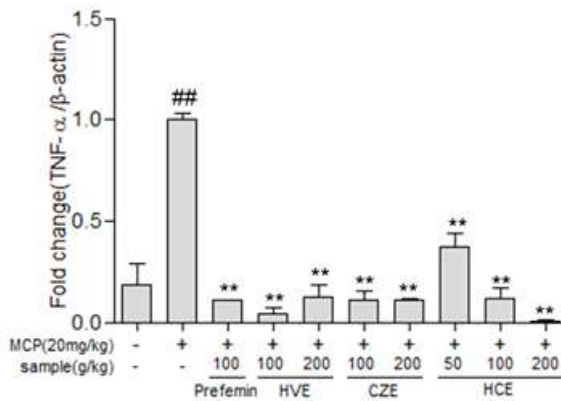
- 시험종료 후 실험동물의 혈액을 채취하여 각 군의 생리전증후군과 관련된 호르몬인 prolactin, progesterone, estrogen, 황체형성호르몬 (LH), 여포자극호르몬 (FSH)의 분비 양상을 측정하였음
- 맥아구절초추출복합물 (HCE)에서 가장 우수한 prolactin 분비 억제와 estrogen 대비 progesterone의 함량, 여포자극호르몬과 황체형성호르몬의 분비 조절 효과를 나타내었으며, 식약처 월경전 상태개선 기능성 평가 가이드라인의 바이오마커인 prostaglandin E2 농도를 효과적으로 억제하는 것을 확인함





④ 자궁조직에서의 염증성 사이토카인 발현 양상 분석

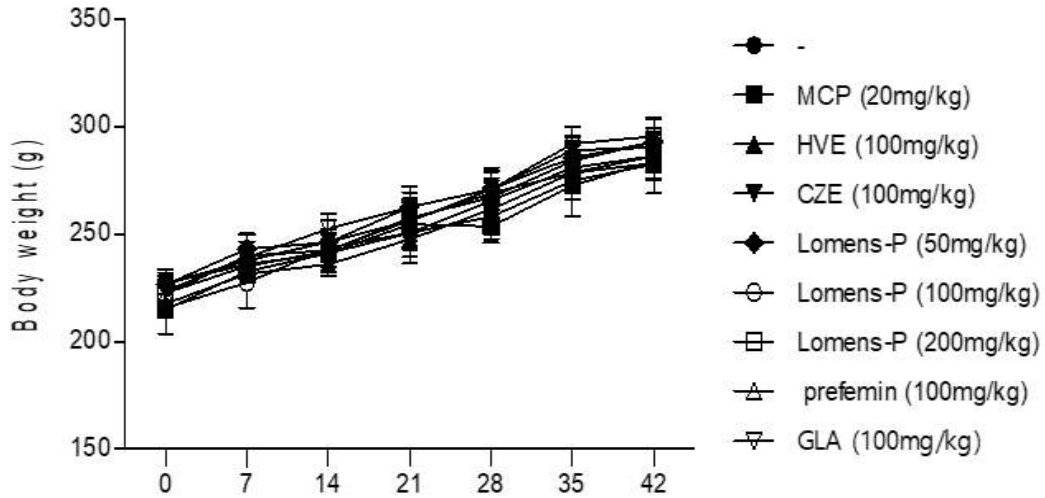
- 생리전증후군 증상의 심화 정도를 측정하기 위해 자궁조직을 시험 종료 후 회수하여 염증성 사이토카인의 발현양상을 측정하였으며, 맥아구절초추출복합물 (HCE) 고농도 투여군의 경우 단독 추출분말 및 양성대조군에 비해 매우 우수한 억제효과를 나타내었음



(가) MCP 유도 고프로락틴 혈증 유도 랫드 동물모델 구축 및 개발원료의 1차 생리전증후군 완화 효과 검증

① 시험물질 투여에 따른 체중 변화 관찰

- 시험물질 투여에 따른 체중 변화를 관찰한 결과 유의미한 변화는 관찰되지 않았음



② 시험물질 투여에 따른 주요 조직의 독성학적 변화 관찰

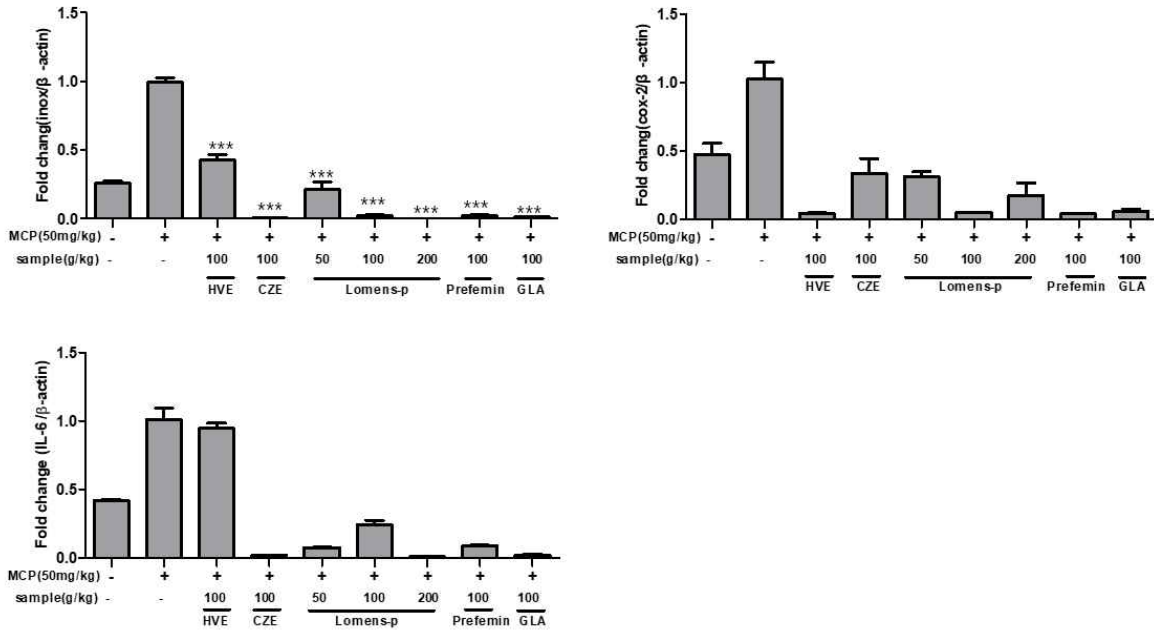
- 시험물질 투여에 따른 조직의 독성학적 변화를 관찰하고자 각 조직 (간, 신장, 비장, 자궁, 흉선)을 적출하여 무게를 측정된 결과 시험물질 투여에 의한 변화는 관찰되지 않았음

mg/kg	g/g	liver	kidney	spleen	Uterine	Thymus
-		28.08±0.99	6.99±0.29	2.35±0.12	2.65±0.32	1.24±0.13
MCP 50		27.25±0.22	6.06±0.22	2.28±0.07	2.07±0.26	1.17±0.07
Prefemin		26.06±0.72	6.04±0.27	2.06±0.07	2.04±0.19	1.04±0.12
GLA		26.50±1.25	5.77±0.29	2.36±0.73	2.07±0.15	1.05±0.08
HVE 100		26.76±0.65	10.09±4.24	2.81±0.02	1.96±0.16	1.06±0.06
CZE 100		27.92±1.26	6.03±0.17	2.25±0.10	1.99±0.17	1.07±0.10
Lomens-P 50		25.80±0.38	5.71±0.33	2.07±0.08	2.08±0.12	0.95±0.04
Lomens-P 100		27.08±1.52	5.91±0.19	2.34±0.09	2.06±0.26	1.19±0.12
Lomens-P 200		26.30±0.79	6.02±0.27	2.29±0.09	2.19±0.21	1.08±0.15

③ 자궁조직에서의 염증성 사이토카인 발현 양상 분석

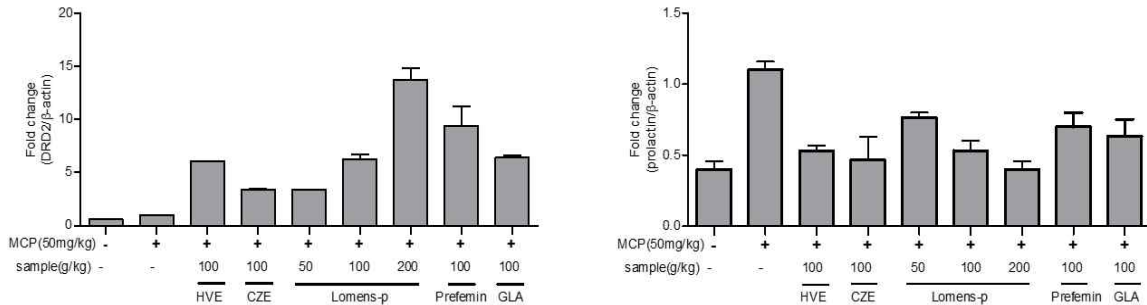
- 생리전증후군 후 순차적으로 진행되는 여성 생리통에 대한 연결 효능을 관찰하기 위해 (마케팅 홍보용) 자궁 조직을 이용하여 염증관련 유전자 발현을 확인하고자 하였으며, 시험 종료 후 자궁을 적출하여 염증성 사이토카인 iNOS, Cox-2, IL-6을 분석한 결과, 모든 시료에서 우수한 항염증 효과를 나타내었고, 특히 맥아구절초추출복합물

(Lomens-P)은 고농도에서 매우 우수한 염증성 사이토카인 억제효과를 나타내었음

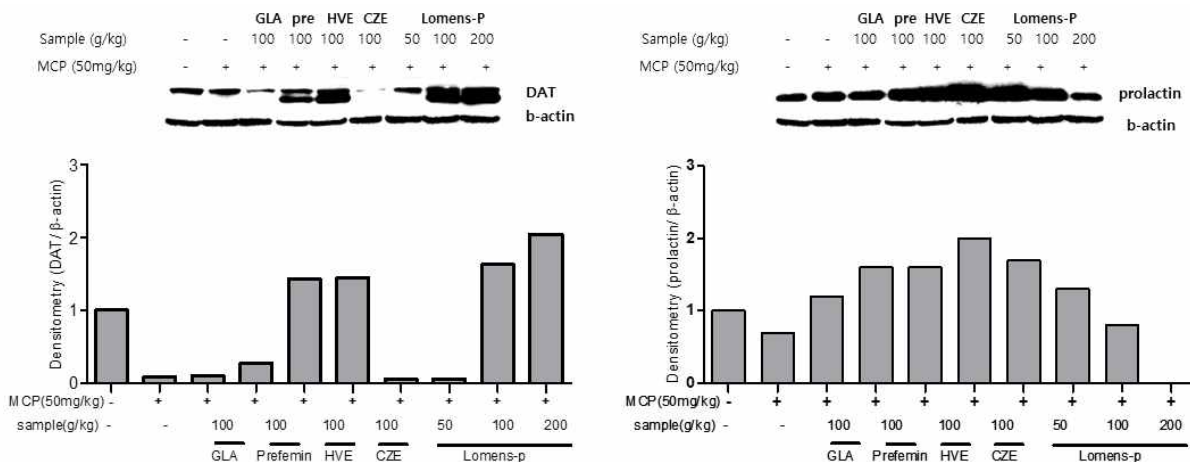


④ 뇌 조직에서 도파민 수용체 활성화 및 프로락틴 발현 양상 측정

- 프로락틴 분비 억제 효과의 기전을 분석하기 위해 시험 종료 후 실험동물로부터 뇌 조직을 적출하여 도파민 수용체 (DRD2)의 활성화와 prolactin 억제 효과를 확인하고자 하였으며, 그 결과 맥아구절추출복합물은 매우 우수한 도파민 수용체 활성화 효과와 프로락틴 분비 억제 효과를 나타내었음

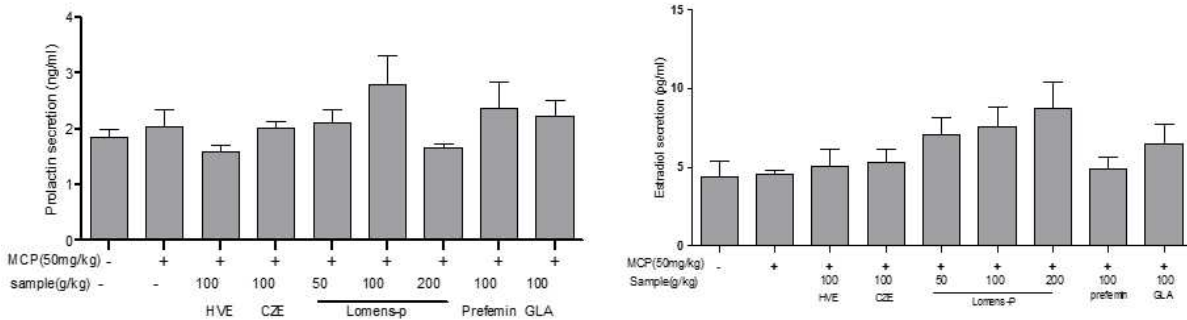


- 또한, 도파민 수용체 (DRD2) 관련 pathway의 규명을 위하여 시험 종료 후 동물모델에서 뇌 조직을 적출하여 단백질 수준의 prolactin과 dopamine transporter (DAT) 양상을 확인하고자 하였으며, 그 결과, 뇌조직의 mRNA level 분석결과와 유사하게 protein level에서도 맥아구절추출복합물 투여 시 DAT가 증가하고, prolactin이 억제되는 것을 확인하였음



⑤ 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 분석

- 시험종료 후 실험동물의 혈액을 채취하여 각 군의 생리전증후군과 관련된 호르몬인 prolactin과 estrogen의 분비양상을 측정하였으며, 그 결과, 고프로락틴 혈증 유도 물질인 metoclopramide (MCP) 에서 prolactin과 estrogen 분비가 증가할 것으로 예상했으나 증가가 미미 했으며, 개체 간에 값 차이를 보임

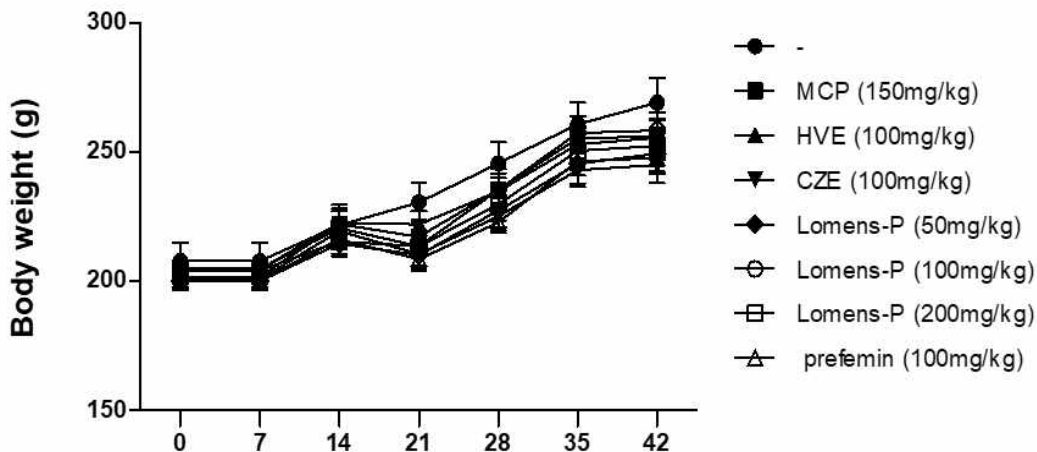


- 이에 생리전 증후군 관련 호르몬인 progesterone, LH, FSH를 측정하는 것이 의미 없다고 판단하였으며, 이에 대한 재시험이 요구되었음
- 아래의 동물 재실험은 고프로락틴 유도 물질인 metoclopramide (MCP)를 기존 실험 보다 좀 더 용량을 높여서 실험 진행하였으며, 생리전 증후군 관련 호르몬인 prolactin, estrogen, progesterone, LH, FSH를 측정하였음

(다) MCP 유도 고프로락틴 혈증 유도 랫드 동물모델 구축 및 개발원료의 2차 생리전증후군 완화 효과 검증 (MCT 투여 방법 및 용량 변경)

① 체중변화

- 체중은 MCP 투여군이 미투여군 보다 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 시험물질 투여에 따른 체중의 큰 변화는 관찰되지 않았음



② 조직 무게 변화

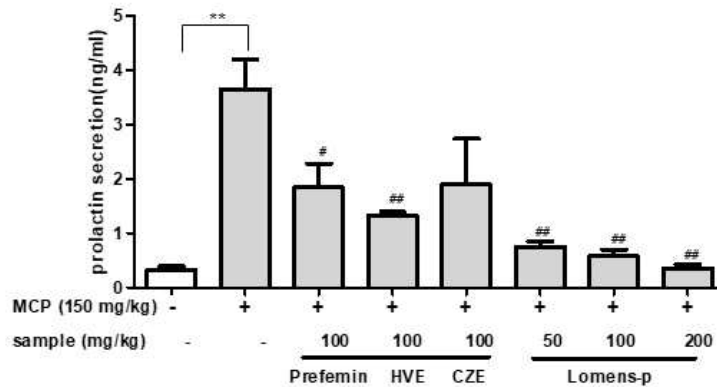
- 고프로락틴 혈증 유도 동물모델에서 시험물질 투여에 따른 조직의 독성학적 변화를 관찰하고자 각 조직 (간, 신장, 부신, 비장, 자궁, 흉선)을 적출하여 무게를 측정하고 상대정량한 (g/g, %) 결과, 대부분의 장기는 변화가 없었으나, MCT 유도 대조군에서 자궁 무게가 현저히 증가하였으며, 시험물질 처리 시 정상군과 유사하게 회복되는 것을 확인하였음

	Liver	Kidney	Adrenal gland	Spleen	Uterine	Thymus
-	2.74±0.05	0.61±0.02	0.03±0.01	0.23±0.01	0.24±0.01	0.15±0.02

MCP 150	2.90±0.16	0.65±0.03	0.03±0.02	0.25±0.02	0.36±0.02	0.14±0.01
Prefemin	3.06±0.06	0.67±0.02	0.03±0.01	0.25±0.01	0.22±0.01	0.13±0.01
HVE 100	2.97±0.08	0.61±0.02	0.03±0.01	0.26±0.01	0.22±0.02	0.16±0.01
CZE 100	3.09±0.12	0.64±0.02	0.03±0.01	0.23±0.01	0.23±0.02	0.17±0.01
Lomens-P 50	3.02±0.09	0.69±0.01	0.03±0.01	0.25±0.01	0.23±0.01	0.16±0.02
Lomens-P 100	3.13±0.11	0.68±0.02	0.03±0.01	0.25±0.01	0.24±0.01	0.16±0.02
Lomens-P 200	2.84±0.10	0.65±0.03	0.03±0.01	0.24±0.02	0.23±0.01	0.17±0.03

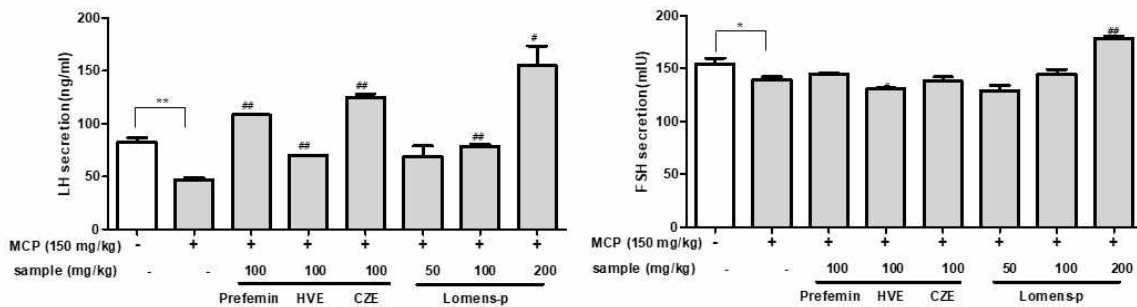
③ 혈중 prolactin 분비 감소 효과

- 시험 종료 후 혈청에서 생리전 증후군의 바이오마커인 prolactin 분비량을 조사한 결과, MCP 유도에 의하여 prolactin의 분비량이 유의적으로 증가하였으며, 각각의 시험물질 투여에 의해 증가된 prolactin이 억제됨을 확인하였음
- 또한, 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P) 투여군에서는 prolactin 분비량이 농도의존적으로 감소하였으며, 일반대조군과 유사한 수준으로 회복된 것을 확인하였음



④ 혈중 LH 및 FSH 분비 조절 효과

- Prolactin과 연계하여 생리전 증후군과 관련된 호르몬인 황체형성호르몬 (LH)와 여포자극호르몬 (FSH)의 혈중 분비량을 조사하였으며, 그 결과, MCP 유도군에서 LH와 FSH의 분비가 감소하였고 맥아구절초추출복합물 투여 시 LH와 FSH 호르몬의 분비를 농도의존적으로 증가시킴을 확인하였음

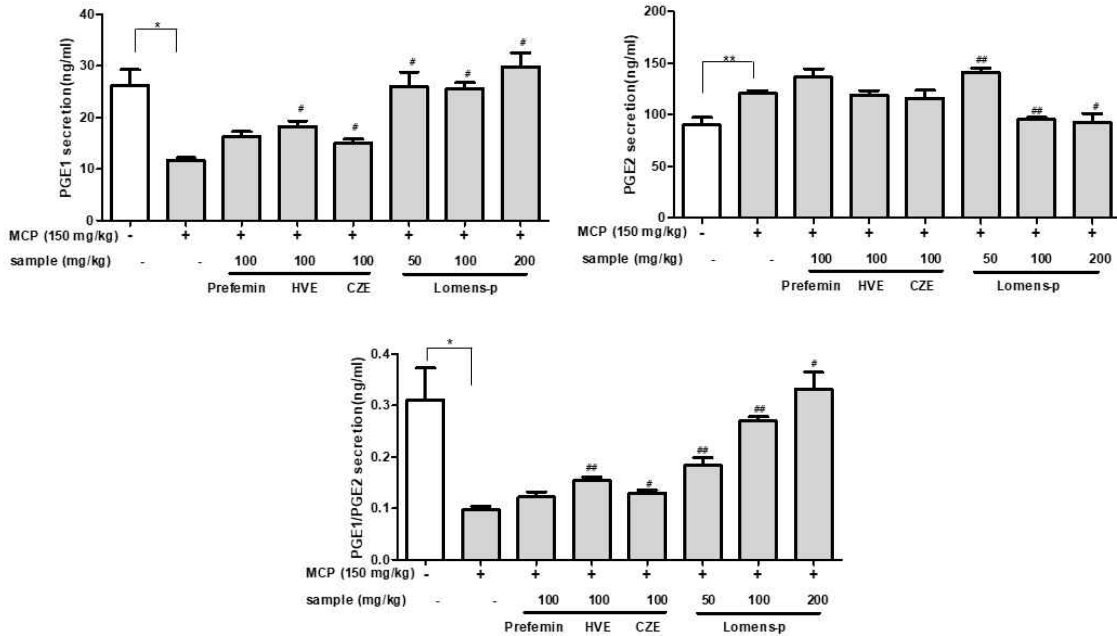


④ 혈중 prostaglandin 조절 효과

- 식약처의 월경전 상태개선 기능성평가 가이드라인에 따르면 혈중 prostaglandin은 중추신경계, 수분- 전해질 균형, 소화기계 기능 및 자궁의 수축 등 다양한 생리기능을 조절하는 물질로 설명하고 있으며, 이러한 혈중 prostaglandin 조절에 문제가 생기면 정동 장애, 두통, 유방통, 복부 팽만 및 복통, 부종 및 체중 증가 등의 월경전 증후군의 증상이 나타나게 된다고 제시되어 있음
- 특히 prostaglandin E1 (PGE1)의 농도가 낮으면 prolactin에 대한 과민 반응을 유발하게

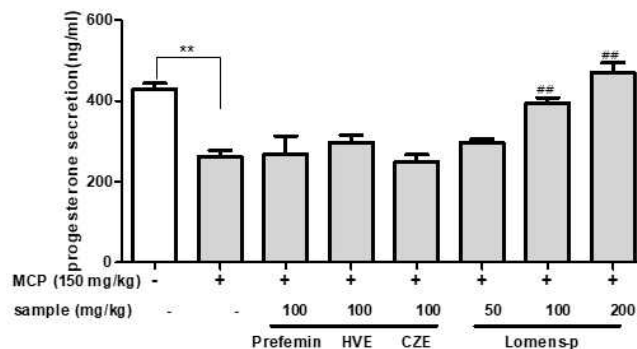


- 되므로 혈 중 PGE1의 증가는 생리전증후군에 있어 중요한 요소라 설명하고 있음
- 따라서 본 연구에서는 혈중 PGE1의 분비 양상을 측정하였으며, 맥아구절초추출복합물 투여 시 유의하게 PGE1이 증가하고, PGE2 분비가 감소하는 것을 확인함



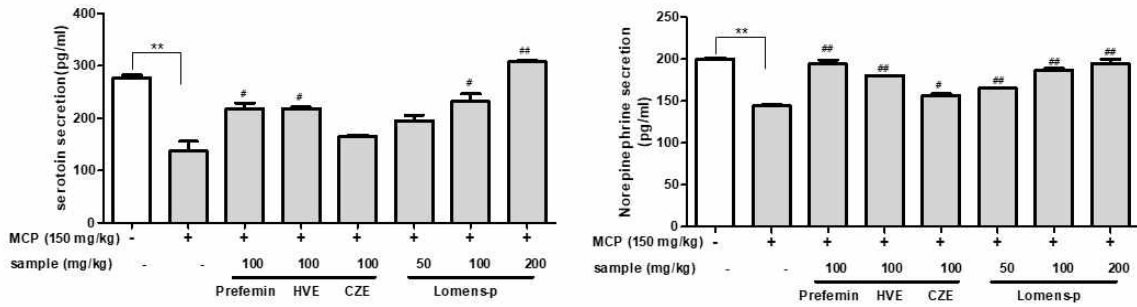
#### ⑤ 혈중 progesterone 조절 효과

- 생리전증후군은 황체기에 progesterone과 estrogen의 역전 현상으로 인해 발생한다고 알려져 있으며, 낮은 progesterone의 농도를 회복시킬 경우 생리전증후군 개선에 도움을 줄 수 있다고 알려져 있음
- 따라서 본 연구에서는 혈중 progesterone의 분비량을 측정하였으며, MCP에 의해 낮아진 progesterone의 분비량이 맥아구절초추출복합물 투여 시 회복되는 것을 확인하였음



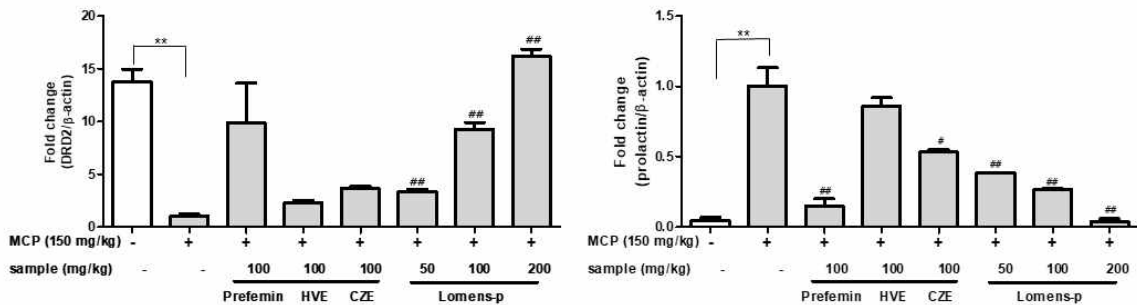
#### ⑥ 혈중 신경전달물질 조절 효과

- 생리전증후군은 호르몬의 주기적 변동에 대한 민감성에 의해 증상이 유발된다고 알려져 있으며, serotonin, GABA, norepinephrine 등의 여러 신경전달물질과 각종 미네랄 및 비타민 등이 생리전증후군과 관련이 있음이 밝혀짐에 따라 본 연구에서는 혈중 serotonin과 norepinephrine의 분비량을 조사하여 생리전증후군 개선 효과를 측정하고자 하였음
- 그 결과, MCP에 의해 상대적으로 낮아진 신경전달물질 분비량이 맥아구절초추출복합물 투여 시 회복됨을 확인하였음



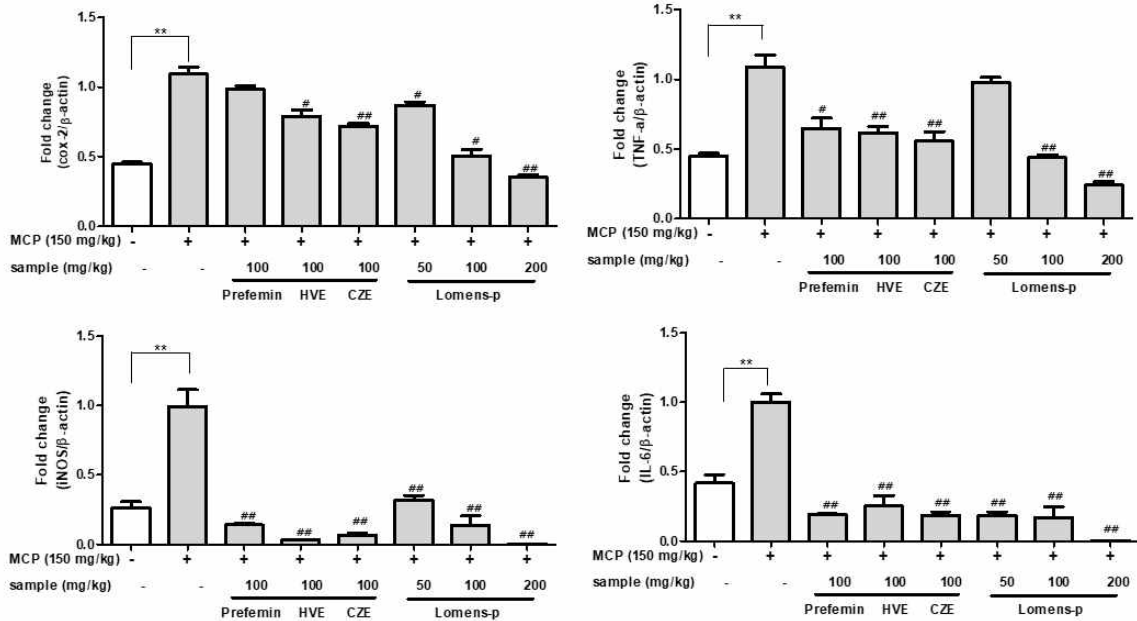
⑦ 뇌 조직에서의 작용기전 예측 및 검증

- 생리전 증후군 치료제인 프리페민에서 증명된 바와 같이 prolactin은 dopamine의 감소로 증가되어지며, dopamine 수용체의 활성화는 생리전증후군의 원인인 prolactin의 분비를 감소시킬 수 있음
- 연구를 통해 맥아 및 구절초 추출물은 dopamine receptor의 활성화를 통해 prolactin의 분비를 억제한다고 예측하였으며, 해당 기전의 검증을 위해 고프로락틴 혈증 동물모델의 뇌 조직을 분리하여 dopamine receptor와 prolactin의 발현량을 측정하였음
- 그 결과, MCP를 투여한 군은 뇌 조직에서 dopamine receptor (DRD2)의 발현 수준이 낮았으나, 양성대조군인 프리페민을 투여한 군과 맥아구절초추출복합물을 투여한 군에서는 DRD2의 발현량이 증가하였으며, 해당 기전에 의거하여 prolactin의 발현량은 대조적인 양상을 나타내어 in vitro 연구에서 예측한 기전과 동일함을 확인하였음



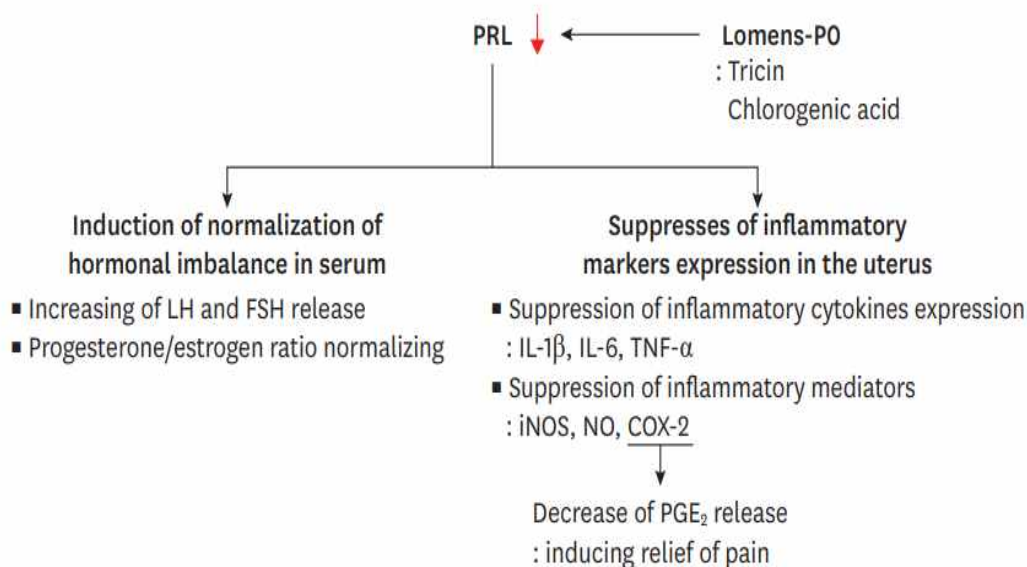
⑧ 자궁조직에서의 염증 개선 효과

- 생리전증후군은 호르몬의 변화로 인해 자궁내막 내 염증반응과 근육자극 등으로 인해 발생한다고 알려져 있으며, 고프로락틴혈증 유도 mouse 동물모델에서 맥아구절초추출복합물이 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 효과가 있음을 확인한 바 있음
- 따라서, 본 시험의 고프로락틴 혈증 유도 rat model에서도 자궁조직을 분리하여 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 조절 효과를 검증하고자 하였으며, 시험결과, MCP 투여에 의해 증가한 염증성 사이토카인의 발현이 맥아구절초추출복합물 투여 시 농도의존적으로 감소함을 확인하였음



#### (4) 결론

- (가) MCP 유도 고프로락틴 혈증 마우스 동물모델을 구축하였으며, 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물이 해당 모델에서 주요 조직 무게 회복, 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 (prolactin, progesterone, estrogen, LH, FSH)의 분비 조절, 자궁조직 내 염증성 사이토카인 분비 조절에 효능이 있음을 확인함
- (나) MCP 유도 고프로락틴 혈증 랫드 동물모델을 구축하였으며, 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물의 효능을 측정하였으나, 낮은 MCP 투여 농도로 혈중 생리전증후군 관련 호르몬의 조절효과를 측정할 수 없어 MCP 농도를 3배 올려 재실험함
- (다) MCP 150 mg/kg 투여에 따른 고프로락틴 혈증 랫드 동물모델을 구축하여 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물의 효능을 측정한 결과 매우 우수한 생리전증후군 완화 효과를 나타냄
  - ① 체중의 큰 변화는 없었으며, MCT 투여에 따른 증가된 자궁 무게를 정상군과 유사하게 회복시켰음
  - ② MCT 투여에 의해 변화된 혈중 prolactin, LH, FSH, prostaglandin, progesterone, serotonin, GABA, norepinephrine을 정상군과 유사하게 회복시켰음
  - ③ 뇌 조직에서 dopamine receptor와 prolactin의 발현량을 측정한 결과 생리전증후군 치료제인 프리페민과 유사한 기전을 나타내었음
  - ④ 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 발현량을 분석한 결과 증가된 염증성 사이토카인의 발현량을 정상군과 유사하게 회복시켰으며, 이 효과는 생리전증후군 후 연속적으로 발생하는 생리통에도 주요한 영향을 미칠 것으로 판단되고 있음



### 카. Back-up 소재 목향 추출물의 생리전증후군 완화 기능성 검증

#### (1) 연구방법

(가) 맥아구절초추출복합물이 산업적인 개발이 어려울 경우를 대비하여 prolactin 분비 억제 효능이 우수하였던 목향을 back-up 소재로 선정하여 추가 연구개발을 진행함

(나) 목향은 단독 추출물로서 추가 연구개발에 따른 추가적인 사업화 또는 기술이전도 가능할 것으로 사료되어 in vitro / in vivo 시험, 기능성분 분리 등의 연구를 수행하였으며 연구 개발 및 사업화 준비를 위한 기반을 확보하였음

※ 국내 특허등록 완료 (등록번호: 10-2145347), PCT 출원 (PCT/KR2019/012938)에 따른 미국 (출원번호: 17/298,745) 및 일본 (출원번호: 2021-532472) 해외 특허출원 완료

#### (2) 재료 및 방법

##### (가) 실험 재료

- ① 국내산 및 수입산 (중국) 목향, 추출 및 물질분리 용매 등
- ② GH3 및 PC12 세포
- ③ 12주령 암컷 ICR mice, 7주령 암컷 wistar rats

##### (나) 실험방법

##### ① 목향의 추출조건 확립 및 in vitro 효능 평가

- 국산 및 중국산 목향을 구입하여 각 30%, 50%, 70% EtOH 추출물을 제조한 후 prolactin 분비 억제 효능 및 항산화 효과를 측정함
- 1차 선정된 30% EtOH 추출물과 문헌조사를 통해 확보한 주요성분 2종 (costunolide, dehydrocostus lactone)의 prolactin 분비 억제 시험과, dopamine receptor 활성화를 측정함

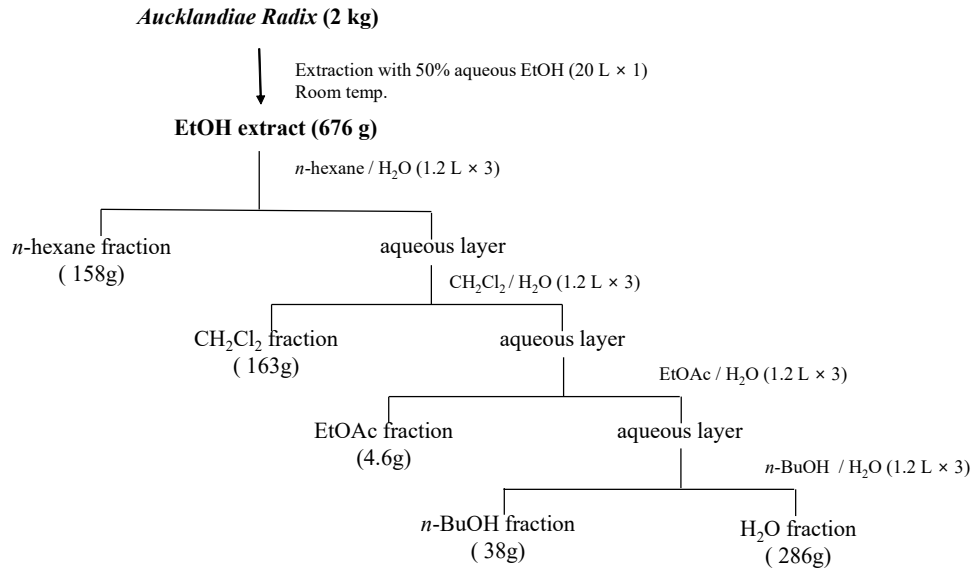
##### ② MCP 유도 고프로락틴 혈증 유도 마우스 동물모델에서 목향 30% 주정추출물의 생리전증후군 완화 효과 검증 (예비 시험)

- 12주령 암컷 ICR mouse에 dopamine receptor 억제제이자 고프로락틴 혈증 유도 물질인 MCP 20 mg/kg를 처리하여 3주 동안 목향 추출물 투여
- 시험종료 후 조직변화 관찰, 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 분석을 실시함

##### ③ 목향 50% EtOH 추출물의 기능/지표성분 설정을 위한 물질분리

- 추출수율이 높고 효능이 유사한 목향 50% EtOH 추출물로 변경하여 in vitro 효능 및 물질분리를 실시함

- 용매의 극성에 따라 *n*-hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Ethyl acetate, *n*-BuOH을 이용하여 순차적으로 분획한 후 prolactin 분비 억제 효능을 기반으로 한 activity-guided fractionation을 실시함



- ④ MCP 유도 고프로락틴 혈증 유도 랫드 동물모델에서 목향 50% EtOH 추출물의 생리전증후군 완화 효과 검증
- 7주령 암컷 wistar rat에 고프로락틴 혈증 유도 물질인 MCP를 150 mg/kg로 용량을 올려 2주간 처리한 후 목향 50% EtOH 추출물 등 시험물질을 3주간 투여하였음

군		투여물질
MCP 미투여군	-	생리식염수 (Normal control)
고프로락틴 혈증유도군 (MCP 투여군)	MCP 150	Metoclopramide 150mg/kg (Control)
	prefemin	Prefemin 100 mg/kg (양성대조군)
	ARE 25	50% EtOH 목향 추출물 25 mg/kg
	ARE 50	50% EtOH 목향 추출물 50 mg/kg

- 시험기간 동안의 체중, 시험종료 후 독성학적 조직변화 관찰, 혈증 생리전증후군 관련 호르몬 분석, 자궁조직에서의 염증성 사이토카인 발현양상을 측정함

### (3) 연구결과

(가) 목향의 추출조건 확립 및 in vitro 효능 평가

① Back-up 소재인 목향의 추출조건 확인

- 목향의 추가 연구를 통해 사업화 가능성이 있는지 확인하고자, 국내산 및 수입산 목향의 추출용매별 원료를 생산하였으며, 30%와 50% 추출물에서 높은 수율을 나타냄

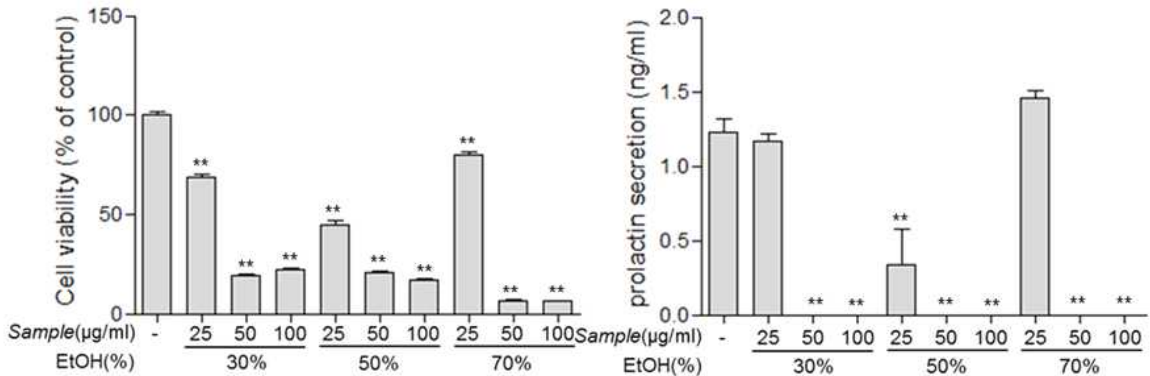
소재	원산지	추출 조건	수율 (%)
목향	중국	가열 30% EtOH 100g(1:10)	31.5%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	33.2%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	31.3%
목향	국산	가열 30% EtOH 100g(1:10)	30.3%
		가열 50% EtOH 100g(1:10)	32.6%
		가열 70% EtOH 100g(1:10)	29.1%

② 목향 용매별 추출물의 prolactin 분비 억제 효능 확인

- GH3 뇌하수체 세포에서 목향 용매별 추출물의 prolactin 분비 양상을 측정한 결과, 모든

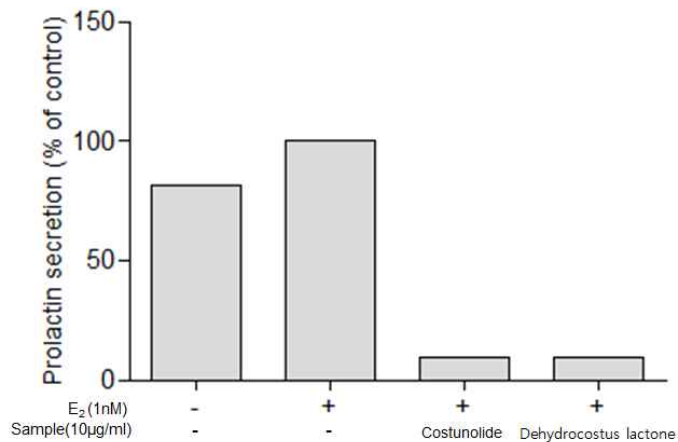
추출물에서 세포독성과 유사하게 prolactin 분비 억제 효과를 나타내었으므로 최저 용매 추출물인 30% 주정추출물을 선택하여 추가연구를 진행하였음

- 2차 실험에서 30% 주정추출물은 6.25, 12.5 µg/mL 농도에서 세포독성이 없으면서 prolactin 분비 억제 효능을 나타냄

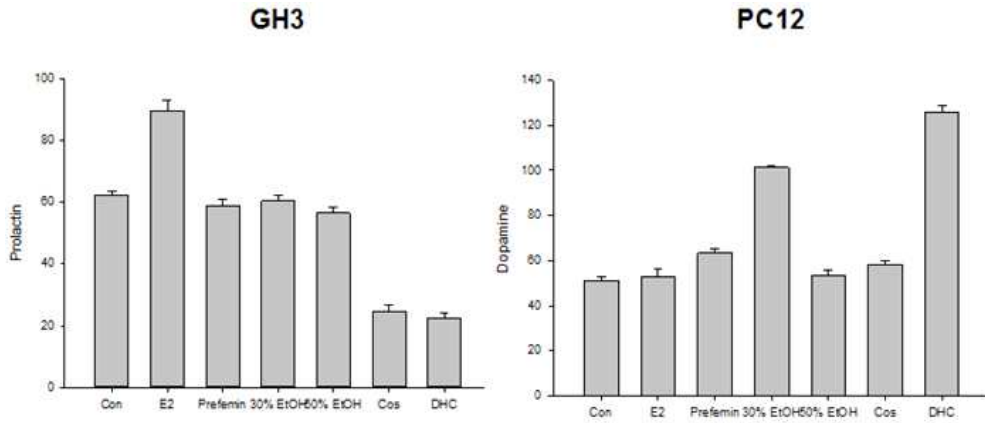


sample	NC	목향 30% EtOH (ug/ml)			
		6.25	12.5	25	50
prolactin secretion (ng/ml)	0.403±0.130	0.351±0.061	0.240±0.232	0.221±0.135	0.084±0.127
Cell viability (% of control)	100.0±4.27	99.50±6.39	95.25±6.34	80.93±1.34	63.30±3.52

- 문헌조사를 통해 목향의 주요성분을 이용하여 prolactin 분비 억제 효능을 측정하였으며, 그 결과 costunolide와 dehydrocostus lactone에서 유효한 효능이 측정된 것을 확인함



- 목향의 30%와 50% EtOH 추출물 및 주요성분을 이용하여 dopamine receptor의 발현양상을 PC12 세포를 이용하여 분석하였으며, 그 결과 30% 주정추출물 및 dehydrocostus lactone (DHC)의 경우 매우 우수한 dopamine receptor의 활성화를 유도하였음



- 목향 30%, 50%, 70% EtOH 추출물의 항산화 효과를 ORAC assay를 이용하여 측정하였으며, 그 결과 모두 우수한 항산화 효능을 나타냄

µg/ml	30%	50%	70%
6.25	0.150±0.01	0.125±0.01	0.304±0.02
12.5	0.223±0.02	0.364±0.02	0.425±0.02
25	0.313±0.04	0.471±0.02	0.506±0.01
50	0.532±0.02	0.611±0.02	0.687±0.03
100	0.825±0.02	0.863±0.03	0.921±0.05

(나) MCP 유도 고프로락틴 혈증 유도 마우스 동물모델에서 목향 30% EtOH 추출물의 생리전증후군 완화 효과 예비 검증

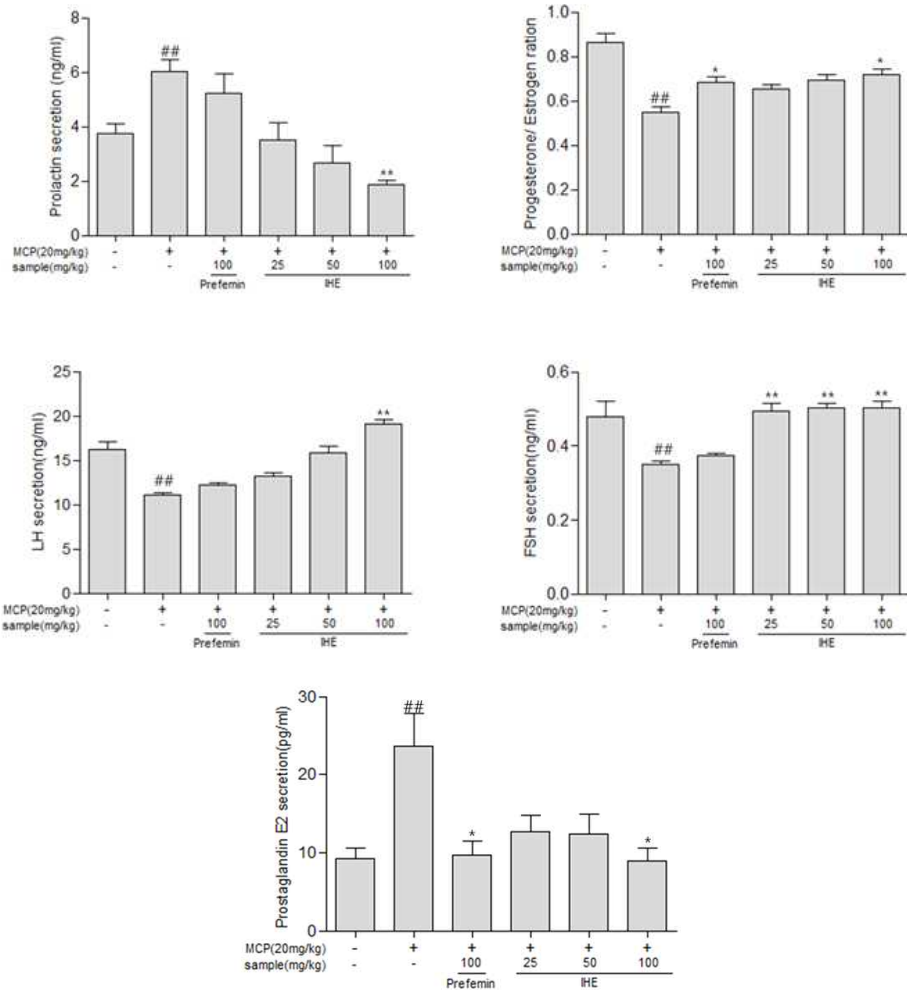
① 조직변화 관찰

- 시험종료 후 시험동물의 간, 신장, 비장 및 자궁의 무게를 측정한 결과 본 연구개발의 목향 30% 주정추출물 (IHE)의 경우 증가된 간, 신장, 비장, 자궁의 무게를 감소시켰음

mg/kg	g/g	liver	kidney	spleen	uterine
-		3.24±0.07	0.98±0.04	0.27±0.01	0.37±0.03
MCP 20		3.60±0.09#	1.02±0.04	0.33±0.01#	0.51±0.08#
Prefemin		3.50±0.10	1.02±0.04	0.35±0.01	0.53±0.11
IHE 25		3.41±0.11	0.99±0.02	0.27±0.01*	0.42±0.07
IHE 50		3.38±0.12	0.99±0.01	0.27±0.01*	0.39±0.05*
IHE 100		3.27±0.14*	0.98±0.05	0.30±0.01	0.38±0.02*

② 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 분석

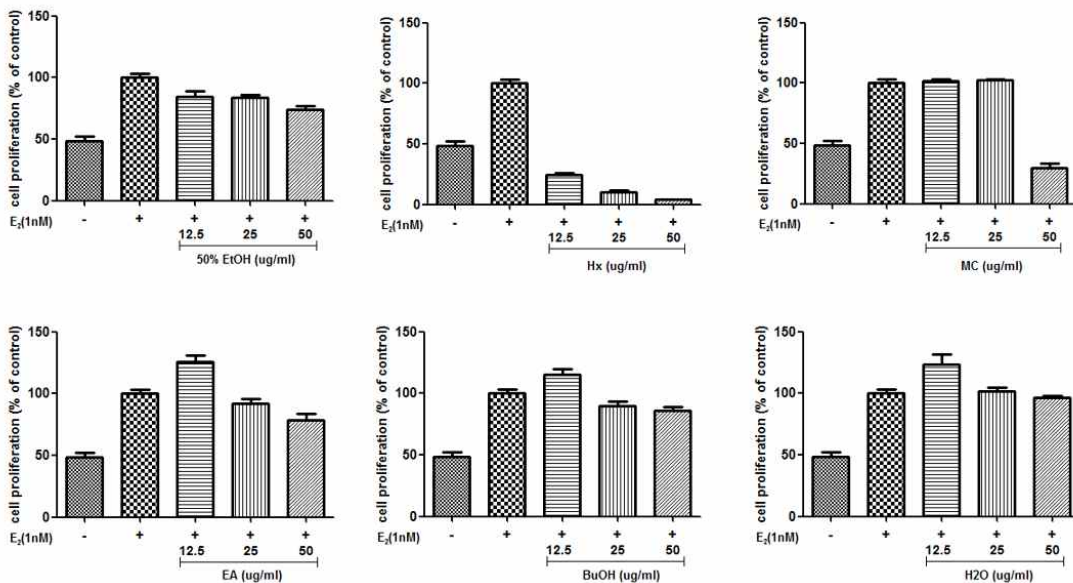
- 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 prolactin, progesterone, estrogen, LH, FSH, prostaglandin을 분석한 결과 목향 30% 주정추출물 (IHE)은 우수하게 생리전증후군 관련 호르몬의 분비를 조절하였음



(다) 목향 50% EtOH 추출물의 기능/지표성분 설정을 위한 물질분리

① 목향 50% EtOH 추출물의 분획물 제조 및 세포독성 측정

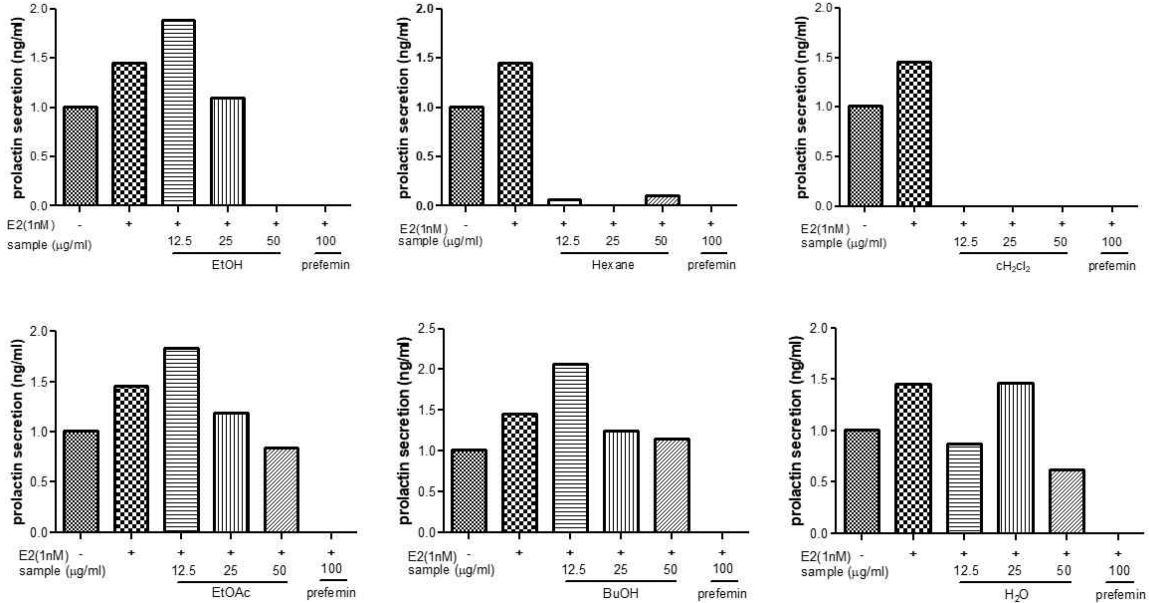
- 추출수율이 가장 높으면서 효능이 유사한 목향 50% EtOH 추출물로 변경하여 in vitro 효능 및 물질분리를 실시함
- 용매의 극성에 따라 *n*-hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Ethyl acetate, *n*-BuOH을 이용하여 순차적으로 분획한 후 GH3 세포에서 목향 50% EtOH 추출물과 분획물의 세포독성을 확인함
- 그 결과, 목향 *n*-hexane과 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획물에서 세포 독성이 매우 강하게 나타나는 것을 확인하였음



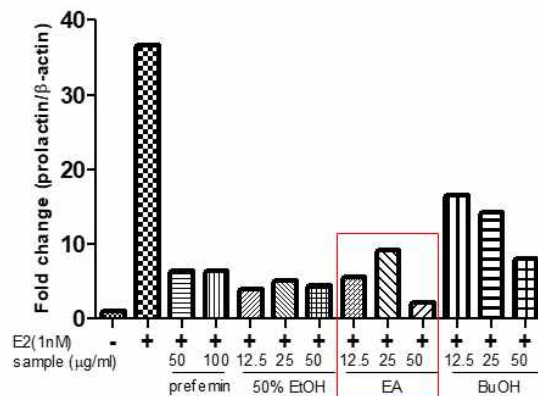


② 목향 50% EtOH 추출물 및 분획물의 prolactin 분비 억제 효능 측정

- GH3 뇌하수체 세포에서 prolactin 분비 억제 양상을 목향 50% EtOH 추출물 및 분획물을 이용하여 측정한 결과, 추출물은 이전 결과와 유사한 양상을 보였으며, *n*-hexane과 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획물은 prolactin 분비를 강하게 억제하였으나 이들은 강한 세포독성에 의한 효능으로 보이므로 EtOAc와 BuOH 분획물을 이용한 성분 연구가 진행되어야 할 것으로 판단하였음

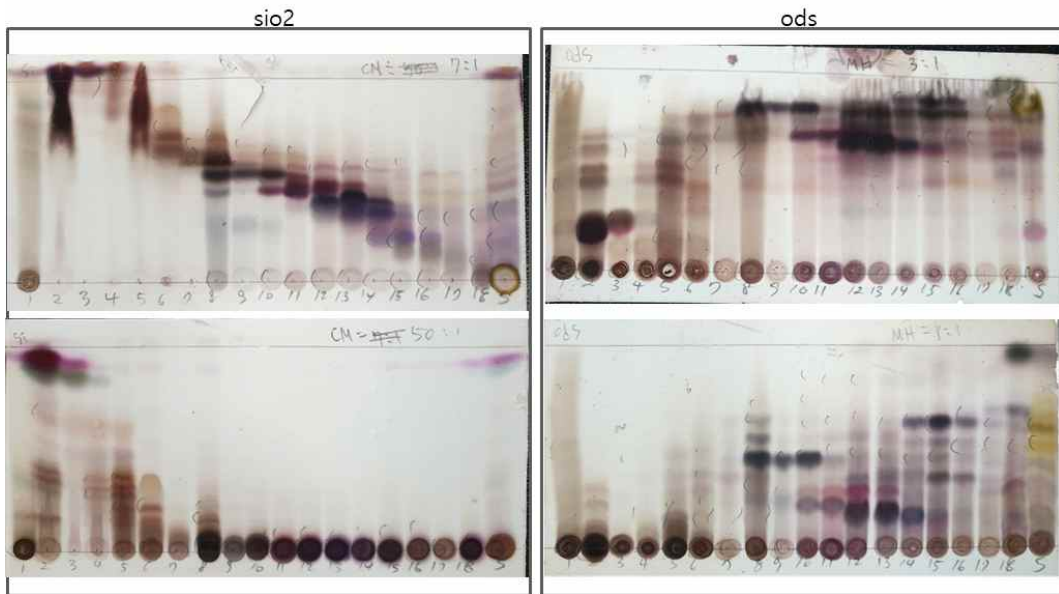
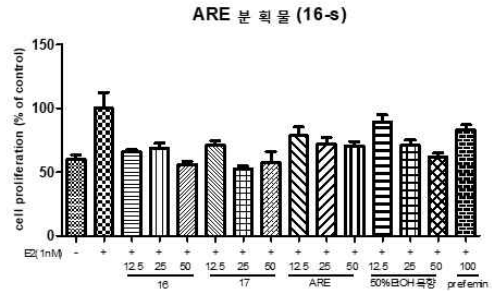
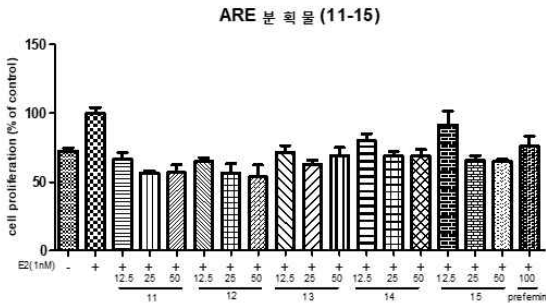
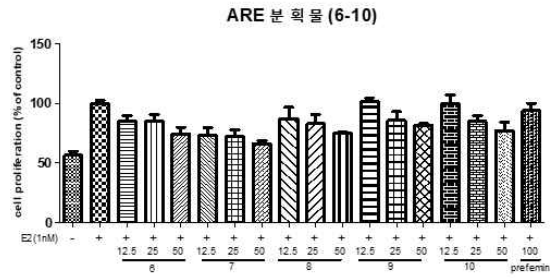
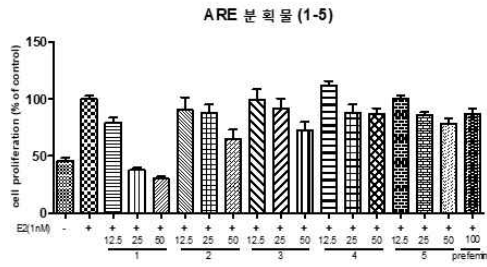


- 또한, EtOAc 분획물과 BuOH 분획물을 이용하여 prolactin 분비 억제 효능을 재확인한 결과, EtOAc 분획물 50 µg/mL에서 매우 우수한 prolactin 분비 억제효과를 나타내었으므로 추후 성분 연구는 EtOAc 분획물로 진행하고자 하였음



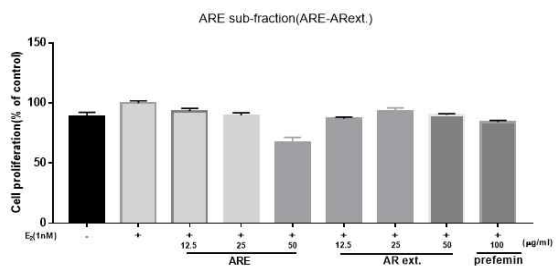
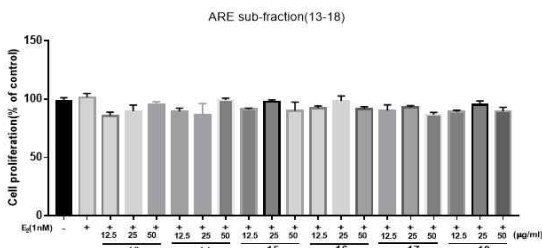
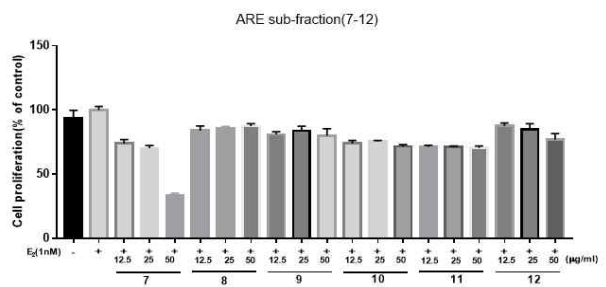
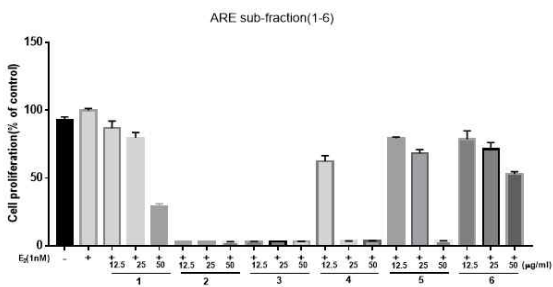
③ 목향 EtOAc 소분획을 통한 세포보호 효과 측정

- 목향 EtOAc 분획물에서 column으로 17개의 sub-fraction을 얻었고, GH3 뇌하수체 세포에 E2를 처리한 후 17개의 fraction을 처리하여 세포보호 효과를 측정하였음
- 해당 분획물로부터 세포독성이 나타나지 않는 sub-fraction을 선별하여 prolactin 분비 억제 효능을 조사 완료하였으며, 억제 효능이 좋은 것으로 선정된 sub-fraction의 2차 O.C.C.를 수행하기에는 시료량이 부족하여, 동일하게 추출, 분획, O.C.C.를 수행하여 부족한 양을 확보하였음



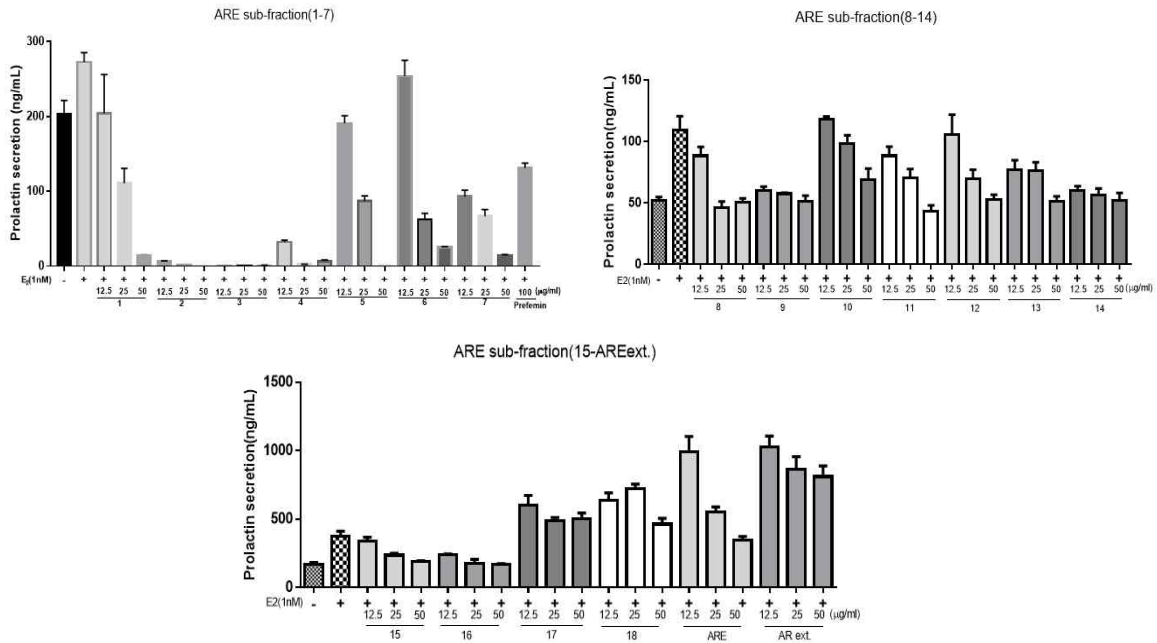
④ 목향 EtOAc 소분획의 세포보호 효과 측정

- 2차로 수행하여 확보한 18개의 sub-fraction이 1차 진행했던 sub-fraction과 활성이 동일한지 확인하기 위하여 GH3 세포주를 이용하여 세포증식 억제능을 측정하였으며, 2, 3, 4번 fraction에서 강한 세포독성을 확인함



⑤ 목향 EtOAc 소분획의 prolactin 분비 억제 효과 측정

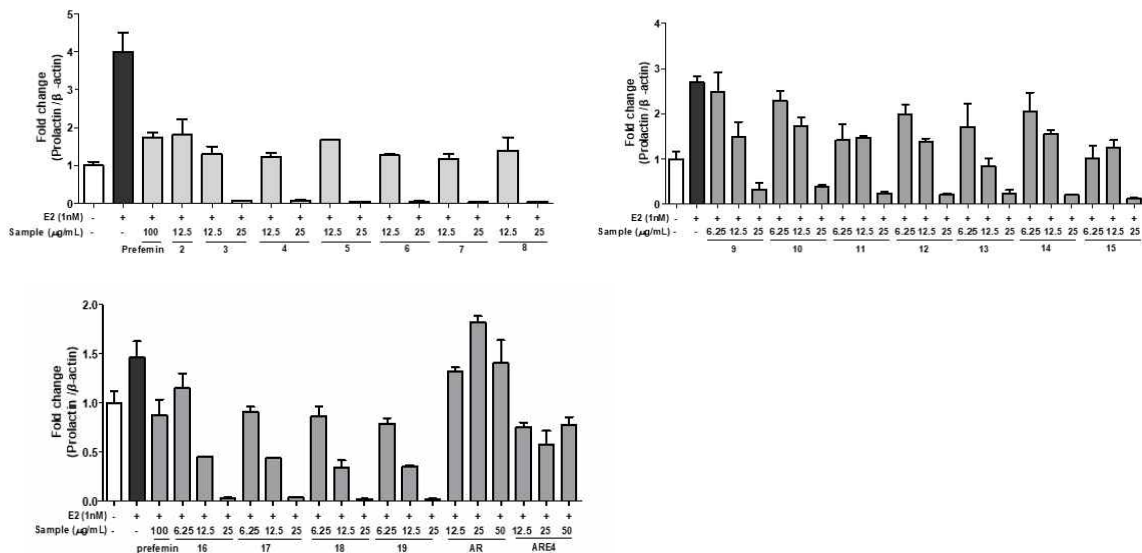
- 18개의 sub-fraction을 이용하여 GH3 세포주에서 prolactin 분비억제 효과를 측정하였으며, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 sub-fraction에서 강한 prolactin 억제능이 확인되었고, 이외에도 17-18번 sub-fraction을 제외한 나머지 sub-fraction에서 prolactin 분비 억제가 확인되었음



- 상기 결과들을 근거로 하여, 2차 O.C.C. 분획물 중 세포 독성이 없으면서 prolactin 분비 억제능이 우수한 5-7번(ARE2), 10-14번(ARE3), 15-16번(ARE4) sub-fraction을 각각 합친 후, ARE2, ARE3, ARE4의 소분획을 진행함

⑥ 목향 EtOAc 소분획의 ARE4(15-16번) sub-fraction의 prolactin 분비 억제 효과 측정

- 19개의 sub-fraction을 이용하여 GH3 세포주에서 prolactin 분비 억제 효과를 측정하였으며, 모든 sub-fraction에서 prolactin 억제효능이 나타남



⑦ 목향 50% EtOH 추출물의 최종 기능/지표성분 동정

- 상기의 자료에서 TLC상으로 4번과 5번이 같은 단일물질로 보여 이를 합친 후, ARE 4-4-2로 명명하였으며 ARE 4-4-2의 구조결정을 하기 위해 NMR 분석을 실시한 결과, 이 화합물은 Syringin으로 구조 동정되었음

# <sup>1</sup>H-NMR

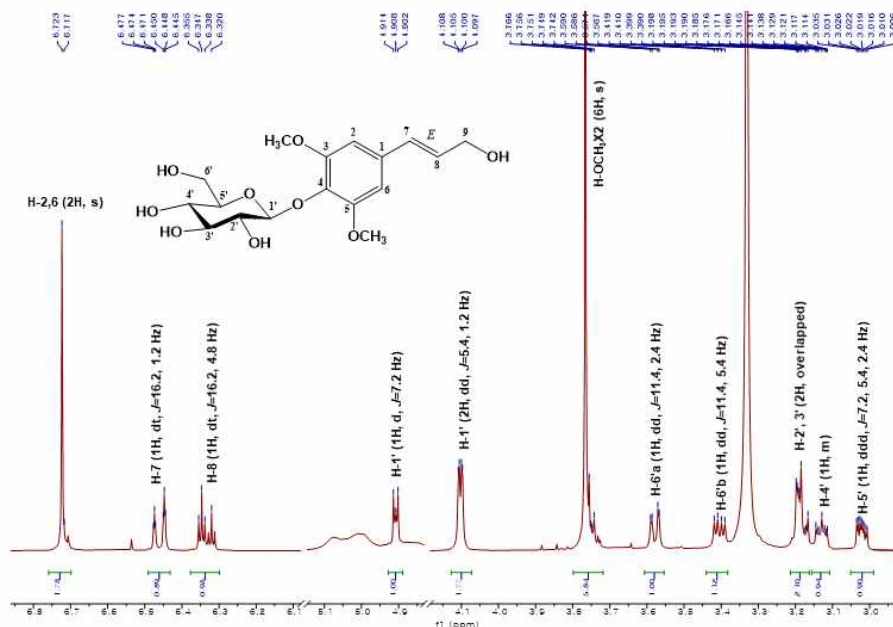


Fig. 1 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz) spectrum of ARE-4-2 from the barks of *Aucklandia lappa* (DMSO-*d*<sub>6</sub>).

# <sup>13</sup>C-NMR

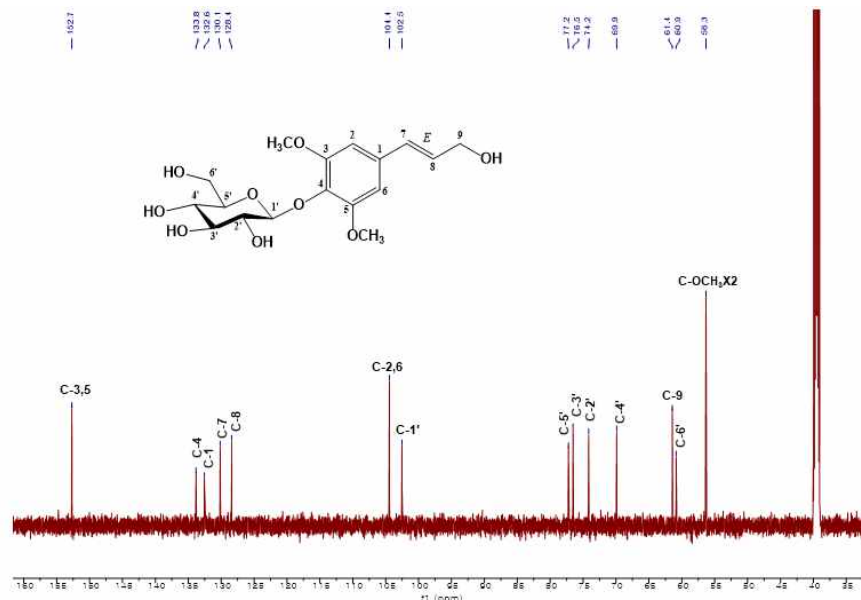


Fig. 6. <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz) spectrum of ARE-4-2 from the barks of *Aucklandia lappa* (DMSO-*d*<sub>6</sub>).

# gHMBC

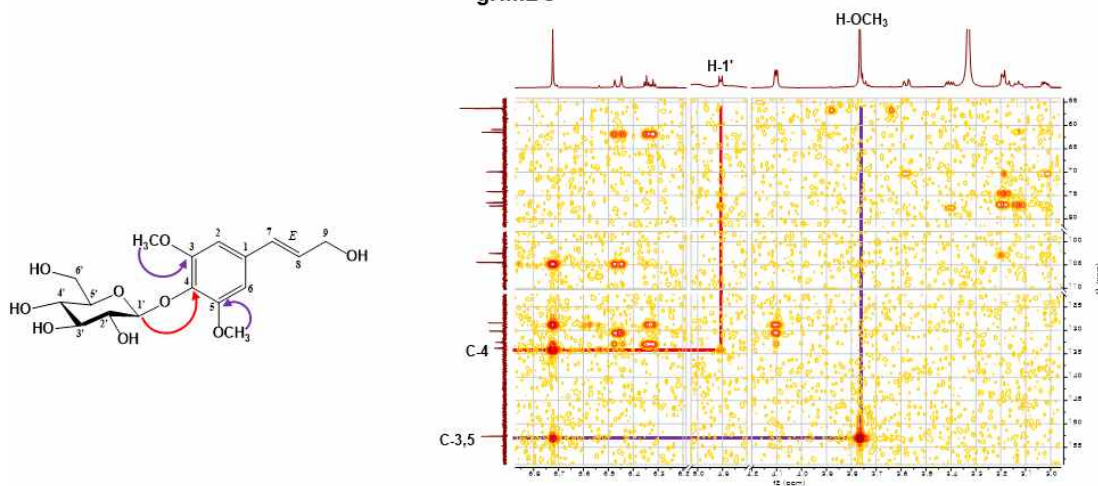
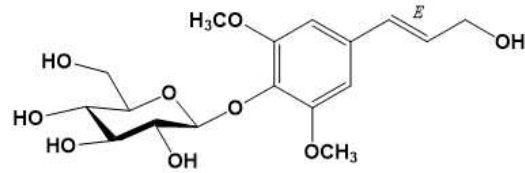


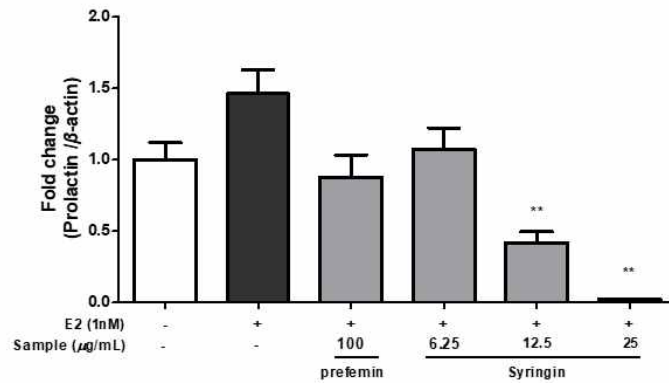
Fig. gHMBC spectrum of ARE-4-2 from the barks of *Aucklandia lappa* (DMSO-*d*<sub>6</sub>).



syringin

⑧ Syringin의 prolactin 분비 억제 효능 평가

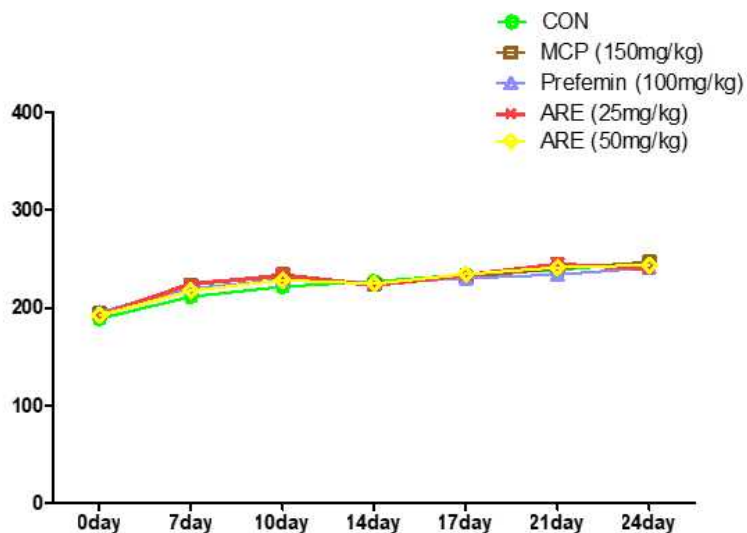
- Syringin이 최종 기능성분인지 확인하기 위해 GH3 뇌하수체 세포에서 prolactin 분비 억제 양상을 측정 한 결과 농도 의존적으로 prolactin 분비가 억제됨을 확인하여 최종 기능/지표성분으로 syringin을 설정함



(라) MCP 유도 고프로락틴 혈증 유도 랫드 동물모델에서 목향 50% EtOH 추출물의 생리전증 후군 완화 효과 검증

① 체중변화

- 체중은 MCP 투여군이 미투여군 보다 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 시험물질 투여에 따른 체중의 큰 변화는 관찰되지 않았음



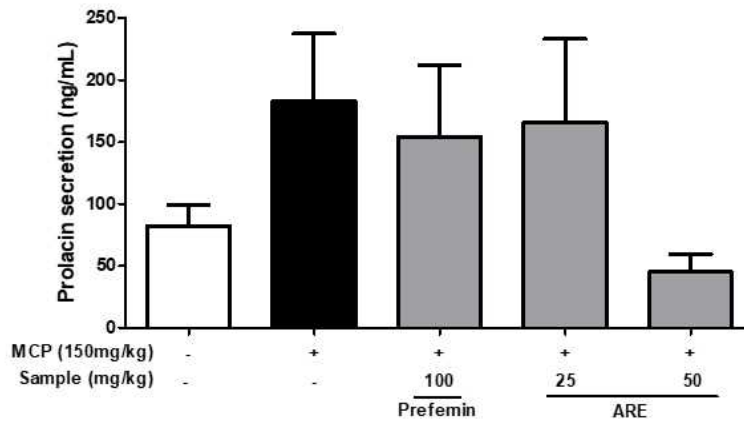
② 조직무게 변화

- 고프로락틴 유도 동물모델에서 시험물질 투여에 따른 조직의 독성학적 변화를 관찰하고 자 각 조직 (간, 신장, 부신, 비장, 자궁, 흉선)을 적출하고 무게를 측정하여 상대 정량한 (mg/kg, %) 결과, 대부분의 장기는 변화가 없는 것을 확인할 수 있었음

mg/kg	Liver	Kidney	Adrenal gland	Spleen	Uterine	Thymus
Normal	28.79±1.30	7.07±0.20	0.31±0.03	2.41±0.09	3.02±0.23	1.51±0.18
MCP 150	28.29±0.86	6.78±0.13	0.40±0.10	2.64±0.16	2.89±0.38	1.41±0.07
Prefemin	30.05±0.28	6.60±0.30	0.25±0.05	2.63±0.05	2.07±0.20	1.89±0.09
MCP 150	31.01±0.67	6.48±0.14	0.30±0.06	2.42±0.25	2.58±0.40	1.77±0.14
ARE 50	33.19±1.47	6.72±0.31	0.31±0.04	2.28±0.11	2.72±0.32	1.47±0.14

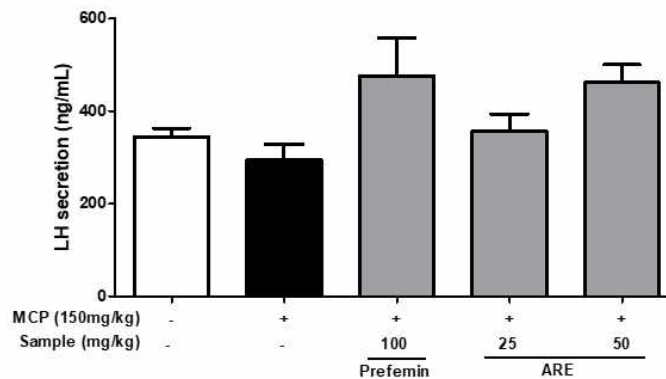
### ③ 혈중 prolactin 분비 감소 효과

- 시험종료 후 생리전 증후군의 바이오마커인 prolactin 분비 증감 여부를 혈청에서 조사한 결과, MCP 투여군은 prolactin의 분비량이 증가하였으며, 목향 50% EtOH 추출물 (ARE) 50 mg/kg 투여 시 일반대조군과 유사하게 prolactin 수치가 감소되는 것을 확인하였음



### ④ 혈중 LH 분비 조절 효과

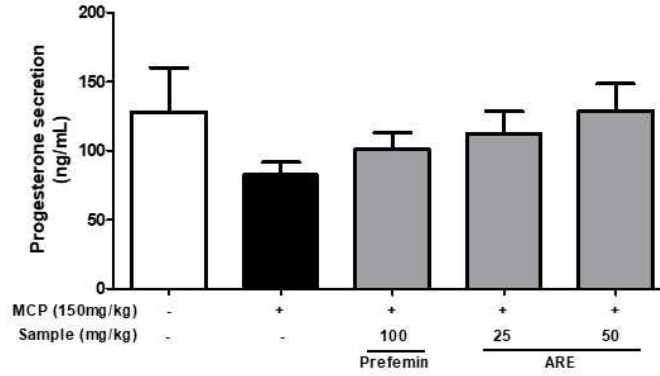
- Prolactin과 연계하여 생리전증후군과 관련된 호르몬인 황체형성호르몬 (LH)의 혈중 분비량을 조사하였으며, 그 결과, MCP 유도군에서 LH의 수치가 감소하였지만, 목향 50% EtOH 추출물 (ARE) 투여 시 농도 의존적으로 증가함을 확인하였음



### ⑤ 혈중 progesterone 조절 효과

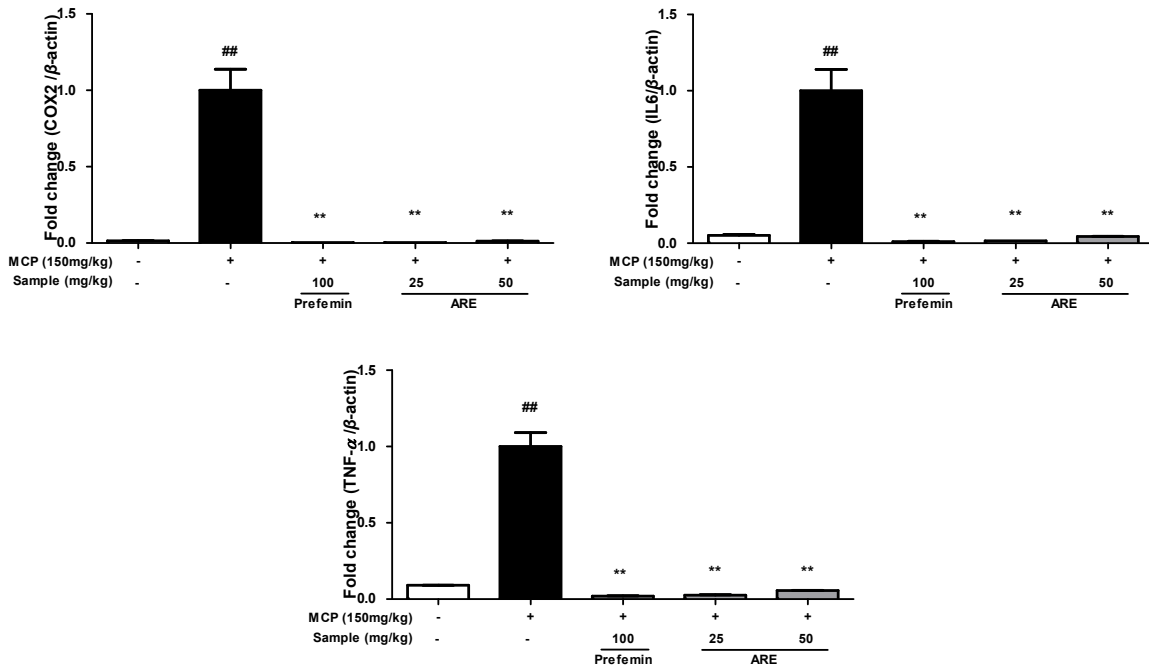
- 혈중 progesterone의 분비량을 측정된 결과, MCP 유도에 의해 낮아진 progesterone의

분비량이 목향 50% EtOH 추출물 (ARE) 투여 시 회복되는 것을 관찰하였음



⑥ 자궁조직에서의 염증 개선 효과

- MCP 투여에 의해 증가한 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 발현이 목향 50% EtOH 추출물 (ARE) 투여시 증가된 염증성 사이토카인의 발현을 감소시켰음



(4) 결론

(가) Back-up 개발 소재로 선정된 목향의 생리전증후군 완화 기능성 원료로써 개발 가능성이 있는지 확인하고자 각 용매별 추출물을 제조하고, prolactin 분비 억제 효과를 측정된 결과, 30%, 50%, 70% EtOH 추출물 모두에서 비슷한 효과를 나타내었으며, 이 중 에탄올 농도가 낮은 30% EtOH 추출물을 1차 선정하여 기능성 평가를 진행함

(나) MCP 유도 고프로락틴 혈증 마우스 동물모델을 통한 예비시험에서 목향 30% EtOH 추출물의 혈중 생리전증후군 관련 호르몬 (prolactin, progesterone, estrogen, LH, FSH)의 조절 효능을 측정된 결과, 우수한 호르몬 조절 효능을 나타내었음

(다) 목향 50% EtOH 추출물의 기능/지표성분 설정을 위한 물질분리

- ① 목향은 추출용매 별 prolactin 분비 억제 효능의 차이가 없었으며, 추후 산업화를 위해 가장 추출수율이 높은 50% EtOH 추출물로 변경하여 시험을 진행함
- ② 목향 50% EtOH 추출물에서 prolactin 분비 억제 효과를 측정하면서 기능/지표성분을 분리·규명 하였으며, 최종 syringin을 목향 소재의 기능/지표성분으로 설정함

(라) MCP 150 mg/kg 투여에 따른 고프로락틴 혈증 랫드 동물모델에서 목향 50% EtOH 추출

물의 효능을 측정한 결과 우수한 생리전증후군 완화 효과를 나타냄

- ① 체중과 조직부게의 큰 변화는 없었음
- ② MCT 투여에 의해 변화된 혈중 prolactin, LH, progesterone을 정상군과 유사하게 회복시켰음
- ③ 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 발현량을 분석한 결과 증가된 염증성 사이토카인의 발현량을 정상군과 유사하게 회복시켰음

#### 타. 맥아구절초추출복합물의 전임상 안전성 검증

##### (1) 연구 목적

- (가) 본 연구개발 원료인 맥아구절초추출복합물은 복합물로서 안전하다는 근거가 확립되지 않아 GLP 기관인 한국건설생활환경시험연구원에서 전임상 안전성 평가를 진행함
- (나) 건강기능식품 개발을 위한 식약처 권고 항목인 설치류 단회, 2주 DRF 및 13주 반복투여 독성시험, 비설치류 단회투여 독성시험, 유전독성 3종 (복귀돌연변이, 소핵시험, 염색체이상시험)에 대한 전임상 안전성 평가를 수행함

##### (2) 시험 목적 및 방법

(가) SD 랫드를 이용한 맥아구절초추출복합물의 단회 경구투여 독성시험 (GT18-00104)

- ① 시험물질 맥아구절초추출복합물을 Sprague-Dawley 랫드에 단회 경구투여하였을 때 나타나는 독성증상과 개략의 치사량(Approximate Lethal Dose, ALD)을 조사하기 위해 실시함
- ② 투여 전 하루 밤 동안 절식시켜 위 내용물을 비운 후 경구투여용 존데를 이용하여 강제 경구투여 하였고, 약 3~4 시간 후 사료를 재공급하였으며 절식중이라도 음수는 공급함
- ③ 시험군

군	성별	동물수 (마리)	동물번호	투여액량 (ml/kg bw)	투여용량 (mg/kg bw)
G1	Male	5	G1-1~G1-5	5	0
	Female	5	G1-21~G1-25		
G2	Male	5	G2-6~G2-10	5	500
	Female	5	G2-26~G2-30		
G3	Male	5	G3-11~G3-15	5	1,000
	Female	5	G3-31~G3-35		
G4	Male	5	G4-16~G4-20	5	2,000
	Female	5	G4-36~G4-40		

G1 : 부형제 대조군, G2~G4 : 시험물질 투여군

(나) SD 랫드를 이용한 맥아구절초추출복합물의 2주 반복 경구투여 용량결정시험 (NT18-00048)

- ① 시험물질 맥아구절초추출복합물을 Sprague-Dawley 랫드에 2주간 반복 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하기 위함
- ② 경구투여, 시험동물의 두경배부 피부를 잡아 보정한 후 경구투여용 존데를 이용하여 강제 경구투여 함 (1 회/일, 7 일/주, 2 주간 매일 오전 중에 투여)
- ③ 시험군



군	성별	동물수 (마리)	동물번호	투여액량 (ml/kg/day)	투여용량 (mg/kg/day)
G1	Male	5	G1-1~G1-5	10	0
	Female	5	G1-21~G1-25		
G2	Male	5	G2-6~G2-10	10	500
	Female	5	G2-26~G2-30		
G3	Male	5	G3-11~G3-15	10	1,000
	Female	5	G3-31~G3-35		
G4	Male	5	G4-16~G4-20	10	2,000
	Female	5	G4-36~G4-40		

G1 : 부형제 대조군, G2~G4 : 시험물질 투여군

(다) SD 랫드를 이용한 맥아구절초추출복합물의 13주 반복 경구투여 독성시험 (GT18-00105)

- ① Sprague-Dawley(SD) 계통 암·수 랫드에 시험물질인 맥아구절초추출복합물을 13 주간 반복 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하여 무독성량 및 표적장기를 알아보기 위하여 실시
- ② 경구투여, 시험동물의 두경배부 피부를 잡아 보정한 후 경구투여용 존데를 이용하여 강제 경구투여 함 (1 회/일, 7 일/주, 13 주간 매일 오전 중에 투여)
- ③ 시험군

군	성별	동물수 (마리)	동물번호	투여액량 (ml/kg/day)	투여용량 (mg/kg/day)
G1	Male	10	G1-01~G1-10	10	0
	Female	10	G1-41~G1-50		
G2	Male	10	G2-11~G2-20	10	500
	Female	10	G2-51~G2-60		
G3	Male	10	G3-21~G3-30	10	1,000
	Female	10	G3-61~G3-70		
G4	Male	10	G4-31~G4-40	10	2,000
	Female	10	G4-71~G4-80		

G1 : 부형제 대조군, G2~G4 : 시험물질 투여군

(라) 비글견을 이용한 맥아구절초추출복합물의 단회용량증가 경구투여 독성시험 (GT19-00007)

- ① 시험물질인 맥아구절초추출복합물을 비설치류인 Beagle dog에 단회용량증가(single dose-escalation) 투여법을 이용하여 단회 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하기 위하여 수행
- ② 경구투여, 투여 전 하룻밤을 절식시킨 후, 동물을 사육상자 내에서 자연스럽게 위치한 상태에서 입을 벌린 후 캡슐을 혀의 안쪽에 넣고 입을 다물게 한 다음, 인후두부를 부드럽게 쓰다듬어 삼키도록 함 (1 회/일, 4 일 간격으로 총 2회 오전 투여)

③ 시험군

1 차 투여(2019 년 03 월 07 일)

군	성별	동물수	동물번호	투여량(mg/kg)
G1	Male	1	007-1	125
	Female	1	007-3	
G2	Male	1	007-2	250
	Female	1	007-4	

2 차 투여(2019 년 03 월 12 일)

군	성별	동물수	동물번호	투여량(mg/kg)
G1	Male	1	007-1	500
	Female	1	007-3	
G2	Male	1	007-2	1,000
	Female	1	007-4	

(마) 맥아구절초추출복합물의 미생물복귀돌연변이 시험 (GT18-00107)

- ① 맥아구절초추출복합물의 박테리아에 대한 돌연변이 유발성 여부를 확인하기 위해 히스 티딘 요구성 균주인 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537과 트립 토판 요구성 균주인 *Escherichia coli* WP2uvrA를 사용하여 직접법과 대사활성법으로 복귀돌연변이시험을 실시

② 시험조건

조 성	균현탁액	0.1 ml
	시험물질용액	0.05 ml
	0.1 M Phosphate buffered saline (직접법의 경우)	0.5 ml
	S9 mix(대사활성법의 경우)	0.5 ml
	Top agar	2.0 ml
Preincubation	온 도	37 °C
	시 간	20 분
Incubation	온 도	37 °C
	시 간	48 시간

② 시험구성

구 분	사용 plate 수	농도단계	양성대조, 용매대조 사용 plate 수
직접법 (S9 mix (-))	3 매	5 단계 62, 185, 556, 1667, 5000 µg/plate	3 매
대사활성법 (S9 mix (+))	3 매	5 단계 62, 185, 556, 1667, 5000 µg/plate	3 매

③ 판정범위

대사활성 효소의 유무	시험물질 농도 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	복 귀 돌 연 변 이 수(colony수/plate)					
		염 기 치 환 형			frameshift 형		
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
S9 Mix(-)	음성대조	57-210	2-24	16-83	1-53	1-20	
S9 Mix(+)	음성대조	61-204	3-29	11-76	7-68	2-27	
양 성 대 조	S9	명칭	AF-2	NaN3	4-NQO	AF-2	9-AA
	Mix를 필요로	농도 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	0.01	0.5	0.25	0.1	80.0
	하지 않는 경우	colony수/ plate	198-832	101-504	101-692	155-682	424-4530
	S9	명칭	2-AA	2-AA	2-AA	BP	2-AA
	Mix를 필요로	농도 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	1.0	2.0	10.0	10.0	2.0
	하는 경우	colony수/ plate	129-3218	101-427	174-836	150-889	102-477

(바) 포유류 배양세포를 이용한 맥아구절초추출복합물의 염색체이상 시험 (GT18-00108)

- ① 맥아구절초추출복합물의 유전독성을 평가하기 위하여 Chinese hamster 유래의 난소유 아세포 (CHO-k1 cell)를 이용하여 대사활성효소계 (S9)를 적용한 대사활성화법 (+S9 mix) 및 적용하지 않은 직접법 (-S9 mix)에서 염색체이상시험을 실시
- ② 세포증식억제시험 (예비시험) 결과를 고려해 최고농도를 결정하여 공비 3의 3 단계로 본시험의 농도를 다음과 같이 설정함
  - 직접법 (-S9 mix, 24 시간 연속처리군) : 61.73, 185.19, 555.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$
  - 직접법 (-S9 mix, 6 시간 처리 18 시간 회복군) : 61.73, 185.19, 555.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$
  - 대사활성법 (+S9 mix, 6 시간 처리 18 시간 회복군) : 61.73, 185.19, 555.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$

(사) ICR 마우스 골수세포를 이용한 맥아구절초추출복합물의 소핵시험 (GT18-00109)

- ① 맥아구절초추출복합물에 대한 발암성 유발 유·무 판단의 기초 자료를 얻기 위하여 유전독성시험 중 ICR 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시
- ② 시험군 설정
  - 예비시험의 결과를 토대로 하여, 최고농도를 2000 mg/kg bw/day으로 하여, 부형제 대조군 1군, 투여군 3 군 (2000 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 500 mg/kg bw/day 투여군) 및 양성대조군(Mitomycin C (MMC) 2.0 mg/kg bw/day)으로 구성함

군	조제농도 (mg/kg)	성별	동물수 (마리)	동물번호	투여액량 (ml/kg)
G1	0	Male	5	1~5	10
G2	500	Male	5	6~10	10
G3	1000	Male	5	11~15	10
G4	2000	Male	5	16~20	10
G5	2	Male	5	21~25	10

G1 : Vehicle Control, G2~G4: 시험물질 투여군, G5 (P.C) : Positive Control

(3) 시험결과

(가) SD 랫드를 이용한 맥아구절초추출복합물의 단회 경구투여 독성시험

① 시험물질 맥아구절초추출복합물은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg 용량으로 실험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교하였으며, 실험기간 동안 사망동물의 발생유무, 일반증상, 체중변화 및 실험종료 시 생존동물의 부검소견을 관찰하였음

- 실험기간 동안 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF MORTALITIES AND CLINICAL SIGNS					
STUDY : GT18-00104		SEX : MALE			
		GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
MORTALITIES	No. of dead animals	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	%	0	0	0	0
CLINICAL SIGNS	No abnormalities detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

		SEX : FEMALE			
		GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
MORTALITIES	No. of dead animals	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	%	0	0	0	0
CLINICAL SIGNS	No abnormalities detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the signs / Number of animals examined

- 체중측정결과, 모든 동물에서 정상적인 체중증가가 관찰되었으며, 시험군간 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았음

SUMMARY OF BODY WEIGHT CHANGES(g)

STUDY : GT18-00104

SEX : MALE

Day	GROUP(mg/kg)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	247.68 ± 8.65 (5)	249.08 ± 9.85 (5)	247.68 ± 10.50 (5)	249.50 ± 7.42 (5)
1	275.45 ± 14.86 (5)	285.71 ± 7.17 (5)	279.72 ± 11.31 (5)	282.75 ± 11.51 (5)
4	309.44 ± 12.99 (5)	316.09 ± 18.70 (5)	314.61 ± 15.19 (5)	324.44 ± 11.15 (5)
7	335.13 ± 12.15 (5)	343.46 ± 10.39 (5)	335.82 ± 16.91 (5)	346.28 ± 17.72 (5)
14	387.58 ± 18.60 (5)	393.58 ± 17.43 (5)	380.22 ± 25.14 (5)	405.48 ± 25.36 (5)
Gain <sup>a</sup>	139.90 ± 10.22 (5)	144.50 ± 13.26 (5)	132.54 ± 20.94 (5)	155.98 ± 19.52 (5)

SEX : FEMALE

Day	GROUP(mg/kg)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	175.25 ± 5.90 (5)	169.93 ± 10.10 (5)	173.27 ± 4.24 (5)	173.63 ± 4.03 (5)
1	196.70 ± 10.40 (5)	195.84 ± 8.35 (5)	194.50 ± 5.78 (5)	197.55 ± 7.95 (5)
4	206.95 ± 12.12 (5)	206.15 ± 7.09 (5)	207.44 ± 5.47 (5)	207.45 ± 7.54 (5)
7	215.96 ± 9.58 (5)	214.34 ± 6.92 (5)	218.05 ± 3.69 (5)	215.83 ± 8.85 (5)
14	236.98 ± 11.51 (5)	232.89 ± 8.54 (5)	232.14 ± 4.57 (5)	229.30 ± 12.41 (5)
Gain	61.74 ± 7.79 (5)	62.96 ± 16.57 (5)	58.87 ± 3.76 (5)	55.67 ± 11.48 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

a : Body weight gains between day 0 and 14

- 실험종료 시 모든 생존동물의 부검결과, 특이한 육안소견은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF GROSS FINDINGS

STUDY : GT18-00104

SEX : MALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross finding detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

SEX : FEMALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross finding detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the signs / Number of animals examined

② 설치류인 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 시험물질을 단회 경구투여한 결과, 사망동물은 관찰되지 않았고, 시험물질 투여와 관련된 특이한 변화는 관찰되지 않았으므로 본 시험조건에서 맥아구절추출복합물의 개략의 치사량(Approximate Lethal Dose, ALD)은 2,000 mg/kg 이상으로 판단되었음

(나) SD 랫드를 이용한 맥아구절초추출복합물의 2주 반복 경구투여 용량결정시험

① 시험물질 맥아구절초추출복합물은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg/day 용량으로 실험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교하였으며, 실험기간 동안 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료섭취량, 음수섭취량, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 및 부검소견을 관찰함

- 실험기간 동안 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았음 (암수 동일)

SUMMARY OF MORTALITIES AND CLINICAL SIGNS					
STUDY : NT18-00048			SEX : MALE		
DAY	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
1	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
2	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
3	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
4	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
5	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
6	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
7	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
8	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
9	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
10	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
11	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
12	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
13	No abnormalities observed	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

- 체중변화, 사료 및 음수섭취량 측정결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF BODY WEIGHT(g)				
STUDY : NT18-00048		SEX : MALE		
WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	205.58 ± 5.03 (5)	204.46 ± 7.67 (5)	203.95 ± 4.98 (5)	202.93 ± 10.79 (5)
1	266.12 ± 11.81 (5)	259.49 ± 13.87 (5)	267.61 ± 8.57 (5)	260.42 ± 19.74 (5)
2	308.61 ± 17.55 (5)	300.54 ± 17.22 (5)	313.59 ± 10.89 (5)	299.69 ± 30.82 (5)
		SEX : FEMALE		
WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	171.22 ± 6.38 (5)	169.97 ± 4.54 (5)	170.61 ± 8.71 (5)	169.67 ± 7.73 (5)
1	193.65 ± 8.50 (5)	195.97 ± 10.67 (5)	198.05 ± 9.41 (5)	200.25 ± 11.25 (5)
2	208.48 ± 12.26 (5)	212.53 ± 6.66 (5)	213.29 ± 4.62 (5)	225.40 ± 12.90 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

SUMMARY OF DAILY MEAN FOOD CONSUMPTION(g)				
STUDY : NT18-00048		SEX : MALE		
WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	25.18 ± 0.86 (5)	25.09 ± 0.01 (5)	25.45 ± 0.04 (5)	23.98 ± 3.78 (5)
1	27.47 ± 1.69 (5)	26.59 ± 1.67 (5)	29.30 ± 0.75 (5)	27.15 ± 5.83 (5)
2	28.72 ± 1.42 (5)	26.58 ± 0.47 (5)	29.20 ± 0.22 (5)	26.20 ± 4.25 (5)
		SEX : FEMALE		
WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	19.27 ± 2.16 (5)	18.73 ± 0.67 (5)	19.11 ± 1.19 (5)	19.23 ± 0.94 (5)
1	18.64 ± 0.03 (5)	19.60 ± 0.41 (5)	21.26 ± 2.51 (5)	19.77 ± 0.70 (5)
2	17.73 ± 2.48 (5)	18.87 ± 1.51 (5)	28.01 ± 12.47 (5)	23.92 ± 2.07 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

SUMMARY OF DAILY MEAN WATER CONSUMPTION(g)

STUDY : NT18-00048

SEX : MALE

WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	28.95 ± 2.66 (5)	27.63 ± 0.47 (5)	31.23 ± 5.77 (5)	34.55 ± 7.62 (5)
1	41.00 ± 0.35 (5)	31.68 ± 4.65 (5)	34.49 ± 3.01 (5)	35.06 ± 7.74 (5)
2	38.73 ± 4.01 (5)	35.83 ± 8.09 (5)	36.97 ± 3.44 (5)	37.36 ± 11.96 (5)

SEX : FEMALE

WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	26.53 ± 0.55 (5)	25.79 ± 3.57 (5)	28.23 ± 2.85 (5)	25.48 ± 0.07 (5)
1	29.38 ± 5.14 (5)	27.69 ± 0.36 (5)	31.64 ± 5.94 (5)	27.93 ± 5.59 (5)
2	25.44 ± 4.39 (5)	31.70 ± 2.11 (5)	29.13 ± 1.74 (5)	34.14 ± 2.04 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

\*: Significant difference compared with control group,  $p < 0.05$

- 요검사 결과, 시험물질과 관련된 변화는 관찰되지 않았음

SUMMARY OF URINALYSIS

STUDY : NT18-00048

SEX : MALE

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day).				
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)	
Glucose	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Bilirubin	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Ketone body	Negative	2 / 5	1 / 5	2 / 5	0 / 5
	Trace	3 / 5	3 / 5	3 / 5	4 / 5
	1+	0 / 5	1 / 5	0 / 5	1 / 5
Specific gravity	1.010	3 / 5	2 / 5	3 / 5	1 / 5
	1.015	1 / 5	1 / 5	2 / 5	4 / 5
	1.020	1 / 5	2 / 5	0 / 5	0 / 5
Occult blood	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
pH	7.5	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5
	8.0	0 / 5	1 / 5	1 / 5	2 / 5
	8.5	5 / 5	3 / 5	4 / 5	3 / 5
Protein	Negative	3 / 5	2 / 5	3 / 5	4 / 5
	Trace	2 / 5	3 / 5	2 / 5	1 / 5
Urobilinogen	0.2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Nitrite	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Leukocyte	Negative	3 / 5	4 / 5	5 / 5	5 / 5
	Trace	2 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5
Color	Straw	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5



TEST ITEM		GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Glucose	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Bilirubin	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Ketone body	Negative	4 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
	Trace	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
Specific gravity*	1.005	0 / 5	2 / 5	0 / 5	0 / 5
	1.010	4 / 5	3 / 5	2 / 5	5 / 5
	1.015	0 / 5	0 / 5	3 / 5	0 / 5
	1.020	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
Occult blood	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
pH	7.0	0 / 5	0 / 5	2 / 5	0 / 5
	7.5	1 / 5	1 / 5	1 / 5	0 / 5
	8.0	3 / 5	2 / 5	0 / 5	1 / 5
	8.5	1 / 5	2 / 5	2 / 5	4 / 5
Protein	Negative	5 / 5	4 / 5	5 / 5	5 / 5
Urobilinogen	0.2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Nitrite	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Leukocyte	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Color	Straw	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

\*: Significant difference compared with control group value,  $p < 0.05$

- 혈액학적 검사 검사결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF HEMATOLOGICAL TESTS

STUDY : NT18-00048

SEX : MALE

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)															
	G1(0)				G2(500)				G3(1,000)				G4(2,000)			
WBC <sup>1</sup> (K/ $\mu$ L)	7.52	±	0.38	(5)	6.14	±	1.41	(5)	7.29	±	2.89	(5)	5.20	±	1.66	(5)
NE <sup>2</sup> (K/ $\mu$ L)	1.15	±	0.13	(5)	0.97	±	0.19	(5)	0.87	±	0.33	(5)	0.86*	±	0.30	(5)
EO <sup>3</sup> (K/ $\mu$ L)	0.05	±	0.02	(5)	0.05	±	0.01	(5)	0.03	±	0.01	(5)	0.05	±	0.02	(5)
BA <sup>4</sup> (K/ $\mu$ L)	0.00	±	0.00	(5)	0.00	±	0.00	(5)	0.00	±	0.00	(5)	0.00	±	0.00	(5)
LY <sup>5</sup> (K/ $\mu$ L)	6.17	±	0.32	(5)	4.98	±	1.25	(5)	6.24	±	2.56	(5)	4.18	±	1.42	(5)
MO <sup>6</sup> (K/ $\mu$ L)	0.12	±	0.03	(5)	0.10	±	0.03	(5)	0.12	±	0.04	(5)	0.09	±	0.04	(5)
LUC <sup>7</sup> (K/ $\mu$ L)	0.03	±	0.01	(5)	0.02	±	0.01	(5)	0.02	±	0.02	(5)	0.02	±	0.01	(5)
NEP <sup>8</sup> (%)	15.4	±	1.6	(5)	16.1	±	2.2	(5)	12.0	±	1.4	(5)	17.1	±	5.7	(5)
EOP <sup>9</sup> (%)	0.7	±	0.2	(5)	0.9	±	0.3	(5)	0.5	±	0.2	(5)	0.9	±	0.2	(5)
BAP <sup>10</sup> (%)	0.0	±	0.0	(5)	0.0	±	0.1	(5)	0.0	±	0.0	(5)	0.0	±	0.1	(5)
LYP <sup>11</sup> (%)	82.1	±	2.1	(5)	80.9	±	2.7	(5)	85.4	±	1.4	(5)	80.0	±	5.6	(5)
MOP <sup>12</sup> (%)	1.6	±	0.4	(5)	1.7	±	0.5	(5)	1.8	±	0.8	(5)	1.6	±	0.4	(5)
LUP <sup>13</sup> (%)	0.3	±	0.1	(5)	0.4	±	0.1	(5)	0.3	±	0.1	(5)	0.4	±	0.1	(5)
RBC <sup>14</sup> (M/ $\mu$ L)	7.54	±	0.49	(5)	6.97	±	0.24	(5)	6.88	±	0.40	(5)	6.93	±	0.32	(5)
Hb <sup>15</sup> (g/dl)	15.3	±	0.6	(5)	14.1	±	0.3	(5)	14.3	±	0.6	(5)	14.1	±	0.6	(5)
RDW <sup>16</sup> (%)	11.9	±	0.5	(5)	12.0	±	0.4	(5)	12.4	±	0.7	(5)	12.1	±	0.7	(5)
HCT <sup>17</sup> (%)	44.4	±	1.6	(5)	41.9	±	0.9	(5)	41.5	±	1.5	(5)	42.1	±	1.4	(5)
MCV <sup>18</sup> (fL)	59.1	±	2.6	(5)	60.2	±	1.7	(5)	60.3	±	1.9	(5)	60.7	±	1.8	(5)
MCH <sup>19</sup> (pg)	20.3	±	0.6	(5)	20.3	±	0.4	(5)	20.8	±	0.6	(5)	20.3	±	0.7	(5)
MCHC <sup>20</sup> (g/dl)	34.3	±	1.0	(5)	33.7	±	0.3	(5)	34.5	±	0.8	(5)	33.5	±	0.5	(5)
Reti <sup>21</sup> (%)	4.13	±	1.42	(5)	4.64	±	0.48	(5)	5.07	±	1.45	(5)	4.56	±	0.72	(5)
PLT <sup>22</sup> (K/ $\mu$ L)	1390	±	157	(5)	1513	±	119	(5)	1335	±	154	(5)	1353	±	127	(5)
MPV <sup>23</sup> (fL)	7.8	±	0.2	(5)	7.9	±	0.2	(5)	7.7	±	0.2	(5)	7.9	±	0.1	(5)

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)											
	G1(0)			G2(500)			G3(1,000)			G4(2,000)		
WBC <sup>1</sup> (K/ $\mu$ L)	6.88	±	1.86 (5)	5.60	±	1.08 (5)	5.93	±	1.13 (5)	5.27	±	0.79 (5)
NE <sup>2</sup> (K/ $\mu$ L)	0.88	±	0.56 (5)	0.54	±	0.19 (5)	0.59	±	0.16 (5)	0.53	±	0.14 (5)
EO <sup>3</sup> (K/ $\mu$ L)	0.07	±	0.01 (5)	0.06	±	0.02 (5)	0.05	±	0.01 (5)	0.04	±	0.01 (5)
BA <sup>4</sup> (K/ $\mu$ L)	0.00	±	0.00 (5)	0.00	±	0.00 (5)	0.00	±	0.00 (5)	0.00	±	0.00 (5)
LY <sup>5</sup> (K/ $\mu$ L)	5.75	±	1.34 (5)	4.88	±	1.09 (5)	5.16	±	1.13 (5)	4.59	±	0.68 (5)
MO <sup>6</sup> (K/ $\mu$ L)	0.13	±	0.11 (5)	0.08	±	0.03 (5)	0.08	±	0.02 (5)	0.08	±	0.03 (5)
LUC <sup>7</sup> (K/ $\mu$ L)	0.05	±	0.03 (5)	0.03	±	0.02 (5)	0.03	±	0.01 (5)	0.02	±	0.02 (5)
NEP <sup>8</sup> (%)	12.0	±	5.3 (5)	9.9	±	3.7 (5)	10.3	±	3.5 (5)	10.1	±	2.1 (5)
EOP <sup>9</sup> (%)	1.1	±	0.5 (5)	1.1	±	0.2 (5)	0.9	±	0.4 (5)	0.8	±	0.1 (5)
BAP <sup>10</sup> (%)	0.0	±	0.1 (5)	0.0	±	0.0 (5)	0.1	±	0.1 (5)	0.0	±	0.1 (5)
LYP <sup>11</sup> (%)	84.3	±	5.5 (5)	86.9	±	3.9 (5)	86.8	±	3.8 (5)	87.2	±	2.0 (5)
MOP <sup>12</sup> (%)	1.8	±	1.1 (5)	1.6	±	0.6 (5)	1.4	±	0.4 (5)	1.5	±	0.4 (5)
LUP <sup>13</sup> (%)	0.7	±	0.2 (5)	0.5	±	0.2 (5)	0.5	±	0.1 (5)	0.5	±	0.2 (5)
RBC <sup>14</sup> (M/ $\mu$ L)	7.03	±	0.36 (5)	7.32	±	0.24 (5)	7.14	±	0.23 (5)	7.32	±	0.26 (5)
Hb <sup>15</sup> (g/dl)	11.7	±	3.8 (5)	13.6	±	0.8 (5)	14.3	±	0.3 (5)	14.6	±	0.4 (5)
RDW <sup>16</sup> (%)	11.0	±	0.5 (5)	10.7	±	0.3 (5)	10.6	±	0.4 (5)	10.6	±	0.3 (5)
HCT <sup>17</sup> (%)	40.2	±	1.6 (5)	41.5	±	1.3 (5)	42.1	±	0.6 (5)	42.2	±	0.9 (5)
MCV <sup>18</sup> (fL)	57.2	±	1.5 (5)	56.7	±	1.1 (5)	59.0	±	1.4 (5)	57.7	±	1.3 (5)
MCH <sup>19</sup> (pg)	16.7	±	5.7 (5)	18.6	±	0.8 (5)	20.0	±	0.5 (5)	20.0	±	0.4 (5)
MCHC <sup>20</sup> (g/dl)	29.1	±	9.7 (5)	32.8	±	2.0 (5)	34.0	±	0.4 (5)	34.7	±	0.5 (5)
Reti <sup>21</sup> (%)	3.01	±	0.42 (5)	2.50	±	0.64 (5)	2.82	±	0.60 (5)	2.71	±	0.77 (5)
PLT <sup>22</sup> (K/ $\mu$ L)	1271	±	141 (5)	1276	±	155 (5)	1491	±	222 (5)	1431	±	214 (5)
MPV <sup>23</sup> (fL)	7.9	±	0.4 (5)	7.7	±	0.3 (5)	8.0	±	0.3 (5)	8.1	±	0.3 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

1: White blood cell, 2: Neutrophil, 3: Lymphocyte, 4: Monocyte, 5: Eosinophil, 6: Basophil, 7: Large unstained cell, 8: Percent of neutrophil, 9: Percent of lymphocyte, 10: Percent of monocyte, 11: Percent of eosinophil, 12: Percent of basophil, 13: Percent of large unstained cell, 14: Red blood cell, 15: Hemoglobin, 16: Red cell distribution width, 17: Hematocrit, 18: Mean corpuscular volume, 19: Mean corpuscular hemoglobin, 20: Mean corpuscular hemoglobin concentration, 21: Reticulocyte, 22: Platelet, 23: Mean platelet volume

- 혈액생화학적 검사결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF SERUM BIOCHEMICAL TESTS

STUDY : NT18-00048

SEX : MALE

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)															
	G1(0)				G2(500)				G3(1,000)				G4(2,000)			
AST <sup>1</sup> (IU/L)	139	±	29	(5)	146	±	14	(5)	140	±	15	(5)	133	±	22	(5)
ALT <sup>2</sup> (IU/L)	36	±	5	(5)	36	±	5	(5)	44	±	3	(5)	34	±	4	(5)
GGT <sup>3</sup> (IU/L)	0.80	±	0.84	(5)	1.20	±	0.45	(5)	0.80	±	0.84	(5)	1.20	±	0.45	(5)
ALP <sup>4</sup> (IU/L)	711	±	154	(5)	731	±	120	(5)	684	±	173	(5)	825	±	132	(5)
BIL <sup>5</sup> (mg/dℓ)	0.02	±	0.01	(5)	0.01	±	0.01	(5)	0.03	±	0.01	(5)	0.03	±	0.01	(5)
BUN <sup>6</sup> (mg/dℓ)	12.8	±	1.2	(5)	13.3	±	2.5	(5)	12.1	±	0.9	(5)	15.0	±	3.7	(5)
CRE <sup>7</sup> (mg/dℓ)	0.46	±	0.01	(5)	0.46	±	0.03	(5)	0.42	±	0.03	(5)	0.45	±	0.07	(5)
UA <sup>8</sup> (mg/dℓ)	1.3	±	0.2	(5)	1.4	±	0.2	(5)	1.4	±	0.3	(5)	1.3	±	0.1	(5)
GLU <sup>9</sup> (mg/dℓ)	118	±	20	(5)	107	±	8	(5)	98	±	13	(5)	96	±	17	(5)
CHO <sup>10</sup> (mg/dℓ)	74	±	10	(5)	63	±	12	(5)	76	±	17	(5)	63	±	12	(5)
TG <sup>11</sup> (mg/dℓ)	49	±	25	(5)	50	±	16	(5)	52	±	18	(5)	48	±	18	(5)
PRO <sup>12</sup> (g/dℓ)	6.0	±	0.2	(5)	5.9	±	0.3	(5)	6.1	±	0.3	(5)	5.9	±	0.1	(5)
ALB <sup>13</sup> (g/dℓ)	2.6	±	0.1	(5)	2.5	±	0.1	(5)	2.6	±	0.1	(5)	2.5	±	0.1	(5)
A/G ratio <sup>14</sup>	0.76	±	0.06	(5)	0.74	±	0.08	(5)	0.72	±	0.06	(5)	0.73	±	0.07	(5)
LDH <sup>15</sup> (IU/L)	1805	±	611	(5)	1842	±	261	(5)	1629	±	428	(5)	1556	±	328	(5)
CPK <sup>16</sup> (U/L)	1010	±	353	(5)	1048	±	95	(5)	991	±	190	(5)	968	±	352	(5)
Ca <sup>17</sup> (mg/dℓ)	9.1	±	0.1	(5)	8.9	±	0.2	(5)	9.1	±	0.3	(5)	9.1	±	0.3	(5)
IP <sup>18</sup> (mg/dℓ)	8.5	±	0.4	(5)	8.7	±	0.3	(5)	8.4	±	0.9	(5)	8.6	±	0.5	(5)
Mg <sup>19</sup> (mg/dℓ)	2.1	±	0.0	(5)	2.1	±	0.0	(5)	2.2	±	0.1	(5)	2.1	±	0.1	(5)
Na <sup>20</sup> (mmol/L)	147	±	1	(5)	148	±	1	(5)	147	±	0	(5)	148	±	1	(5)
K <sup>21</sup> (mmol/L)	4.8	±	0.1	(5)	4.8	±	0.1	(5)	5.0	±	0.4	(5)	4.9	±	0.2	(5)
Cl <sup>22</sup> (mmol/L)	97	±	1	(5)	99	±	1	(5)	98	±	0	(5)	99	±	1	(5)

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)											
	G1(0)			G2(500)			G3(1,000)			G4(2,000)		
AST <sup>1</sup> (IU/L)	99	±	25 (5)	110	±	10 (5)	113	±	23 (5)	113	±	34 (5)
ALT <sup>2</sup> (IU/L)	28	±	8 (5)	27	±	2 (5)	26	±	1 (5)	29	±	4 (5)
GGT <sup>3</sup> (IU/L)	1.60	±	0.55 (5)	1.00	±	0.71 (5)	1.60	±	0.55 (5)	1.40	±	0.89 (5)
ALP <sup>4</sup> (IU/L)	285	±	69 (5)	398*	±	69 (5)	348	±	61 (5)	418*	±	51 (5)
BIL <sup>5</sup> (mg/dℓ)	0.03	±	0.01 (5)	0.03	±	0.02 (5)	0.03	±	0.02 (5)	0.02	±	0.01 (5)
BUN <sup>6</sup> (mg/dℓ)	13.0	±	1.1 (5)	16.8	±	3.5 (5)	14.4	±	2.1 (5)	12.7	±	2.4 (5)
CRE <sup>7</sup> (mg/dℓ)	0.45	±	0.03 (5)	0.53	±	0.05 (5)	0.48	±	0.03 (5)	0.46	±	0.02 (5)
UA <sup>8</sup> (mg/dℓ)	1.4	±	0.1 (5)	1.4	±	0.3 (5)	1.3	±	0.1 (5)	1.4	±	0.3 (5)
GLU <sup>9</sup> (mg/dℓ)	117	±	11 (5)	133	±	16 (5)	118	±	10 (5)	112	±	6 (5)
CHO <sup>10</sup> (mg/dℓ)	75	±	16 (5)	77	±	15 (5)	72	±	13 (5)	76	±	18 (5)
TG <sup>11</sup> (mg/dℓ)	21	±	4 (5)	18	±	7 (5)	17	±	2 (5)	25	±	11 (5)
PRO <sup>12</sup> (g/dℓ)	6.5	±	0.4 (5)	6.4	±	0.4 (5)	6.6	±	0.4 (5)	6.4	±	0.3 (5)
ALB <sup>13</sup> (g/dℓ)	3.0	±	0.2 (5)	2.9	±	0.2 (5)	2.9	±	0.2 (5)	2.9	±	0.2 (5)
A/G ratio <sup>14</sup>	0.86	±	0.07 (5)	0.82	±	0.05 (5)	0.80	±	0.05 (5)	0.80	±	0.06 (5)
LDH <sup>15</sup> (IU/L)	864	±	404 (5)	1167	±	328 (5)	1187	±	655 (5)	1174	±	685 (5)
CPK <sup>16</sup> (U/L)	570	±	252 (5)	678	±	188 (5)	654	±	304 (5)	754	±	397 (5)
Ca <sup>17</sup> (mg/dℓ)	9.9	±	0.8 (5)	9.3	±	0.4 (5)	9.5	±	0.2 (5)	9.4	±	0.4 (5)
IP <sup>18</sup> (mg/dℓ)	7.4	±	0.3 (5)	7.3	±	0.4 (5)	7.5	±	0.2 (5)	7.3	±	0.7 (5)
Mg <sup>19</sup> (mg/dℓ)	2.2	±	0.2 (5)	2.2	±	0.1 (5)	2.3	±	0.2 (5)	2.2	±	0.1 (5)
Na <sup>20</sup> (mmol/L)	146	±	2 (5)	147	±	1 (5)	146	±	1 (5)	148	±	1 (5)
K <sup>21</sup> (mmol/L)	4.6	±	0.1 (5)	4.5	±	0.3 (5)	4.7	±	0.4 (5)	4.6	±	0.2 (5)
Cl <sup>22</sup> (mmol/L)	98	±	2 (5)	99	±	1 (5)	98	±	2 (5)	100	±	2 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

1: Aspartate aminotransferase, 2: Alanine aminotransferase, 3: Gamma(γ)-glutamyl transferase, 4: Alkaline phosphatase, 5: Total bilirubin, 6: Blood urea nitrogen, 7: Creatinine, 8: Uric acid, 9: Glucose, 10: Total cholesterol, 11: Triglyceride, 12: Total protein, 13: Albumin, 14: Albumin/Globulin ratio, 15: Lactate dehydrogenase, 16: Creatine phosphokinase, 17: Calcium, 18: Inorganic phosphorus, 19: Magnesium, 20: Sodium, 21: Potassium, 22: Chloride

\*: Significant difference compared with control group,  $p < 0.05$

- 암·수 모든 시험동물에 대한 부검결과, 시험물질과 관련된 이상소견은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF GROSS FINDINGS					
STUDY : NT18-00048			SEX : MALE		
ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross findings detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

SEX : FEMALE					
STUDY : NT18-00048			SEX : FEMALE		
ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross findings detected	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 절대 및 상대장기중량 측정결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF ABSOLUTE ORGAN WEIGHTS(g)				
STUDY : NT18-00048			SEX : MALE	
ORGANS	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Body weight	205.58 ± 5.03 (5)	204.46 ± 7.67 (5)	203.95 ± 4.98 (5)	202.93 ± 10.79 (5)
Testis(Lt.)	1.4492 ± 0.0953 (5)	1.5289 ± 0.1048 (5)	1.4228 ± 0.0921 (5)	1.5108 ± 0.1646 (5)
Testis(Rt.)	1.4621 ± 0.1009 (5)	1.5522 ± 0.1035 (5)	1.4175 ± 0.1120 (5)	1.4985 ± 0.1633 (5)
Prostate	0.3964 ± 0.0616 (5)	0.3903 ± 0.0283 (5)	0.3866 ± 0.0817 (5)	0.2993 ± 0.1469 (5)
Spleen	0.6590 ± 0.1794 (5)	0.6402 ± 0.0654 (5)	0.7025 ± 0.1473 (5)	0.6507 ± 0.0930 (5)
Liver	8.6481 ± 0.9281 (5)	8.0042 ± 0.7377 (5)	8.8836 ± 0.5992 (5)	8.6564 ± 1.3675 (5)
Adrenal gland(Lt.)	0.0254 ± 0.0034 (5)	0.0237 ± 0.0048 (5)	0.0275 ± 0.0034 (5)	0.0251 ± 0.0043 (5)
Adrenal gland(Rt.)	0.0254 ± 0.0039 (5)	0.0234 ± 0.0046 (5)	0.0264 ± 0.0038 (5)	0.0243 ± 0.0039 (5)
Kidney(Lt.)	1.1658 ± 0.0942 (5)	1.1572 ± 0.0765 (5)	1.3105 ± 0.0482 (5)	1.2713 ± 0.1396 (5)
Kidney(Rt.)	1.2069 ± 0.0697 (5)	1.1763 ± 0.0734 (5)	1.3185 ± 0.0650 (5)	1.2774 ± 0.1139 (5)
Heart	1.1563 ± 0.0851 (5)	1.2126 ± 0.0575 (5)	1.2135 ± 0.0889 (5)	1.1501 ± 0.1253 (5)
Lung	1.2281 ± 0.0805 (5)	1.1927 ± 0.1055 (5)	1.2577 ± 0.0817 (5)	1.2347 ± 0.1808 (5)
Brain	1.9838 ± 0.0781 (5)	1.9999 ± 0.0779 (5)	1.9334 ± 0.0557 (5)	1.9755 ± 0.1014 (5)
Pituitary gland	0.0085 ± 0.0021 (5)	0.0085 ± 0.0020 (5)	0.0109 ± 0.0020 (5)	0.0091 ± 0.0015 (5)
Thymus	0.5895 ± 0.0903 (5)	0.5532 ± 0.1139 (5)	0.5337 ± 0.0550 (5)	0.5266 ± 0.1153 (5)

ORGANS	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Body weight	171.22 ± 6.38 (5)	169.97 ± 4.54 (5)	170.61 ± 8.71 (5)	169.67 ± 7.73 (5)
Ovary(Lt.)	0.0394 ± 0.0099 (5)	0.0354 ± 0.0066 (5)	0.0471 ± 0.0049 (5)	0.0480 ± 0.0031 (5)
Ovary(Rt.)	0.0422 ± 0.0126 (5)	0.0435 ± 0.0070 (5)	0.0491 ± 0.0087 (5)	0.0466 ± 0.0033 (5)
Uterus	0.4838 ± 0.1933 (5)	0.4339 ± 0.1920 (5)	0.4154 ± 0.0560 (5)	0.5063 ± 0.1165 (5)
Spleen	0.4087 ± 0.0334 (5)	0.4824** ± 0.0253 (5)	0.4759** ± 0.0530 (5)	0.5084** ± 0.0469 (5)
Liver	6.1092 ± 0.3410 (5)	6.0605 ± 0.7029 (5)	6.2460 ± 0.2204 (5)	6.8023 ± 0.3324 (5)
Adrenal gland(Rt.)	0.0334 ± 0.0058 (5)	0.0314 ± 0.0045 (5)	0.0296 ± 0.0057 (5)	0.0347 ± 0.0057 (5)
Adrenal gland(Lt.)	0.0329 ± 0.0050 (5)	0.0301 ± 0.0035 (5)	0.0307 ± 0.0038 (5)	0.0324 ± 0.0057 (5)
Kidney(Lt.)	0.8692 ± 0.0580 (5)	0.8155 ± 0.0704 (5)	0.8687 ± 0.0687 (5)	0.9035 ± 0.0484 (5)
Kidney(Rt.)	0.8837 ± 0.0358 (5)	0.8201 ± 0.0859 (5)	0.8850 ± 0.0281 (5)	0.9090 ± 0.0819 (5)
Heart	0.8515 ± 0.0426 (5)	0.8247 ± 0.0586 (5)	0.8588 ± 0.0598 (5)	0.9045 ± 0.0915 (5)
Lung	1.0454 ± 0.0733 (5)	1.0646 ± 0.0758 (5)	1.0707 ± 0.0197 (5)	1.1716 ± 0.1266 (5)
Brain	1.9498 ± 0.0691 (5)	1.8709 ± 0.0636 (5)	1.8024* ± 0.0653 (5)	1.8758 ± 0.0867 (5)
Pituitary gland	0.0150 ± 0.0026 (5)	0.0122 ± 0.0017 (5)	0.0129 ± 0.0045 (5)	0.0125 ± 0.0043 (5)
Thymus	0.5369 ± 0.0699 (5)	0.4859 ± 0.1133 (5)	0.5170 ± 0.1135 (5)	0.5405 ± 0.1269 (5)

Mean±S.D (Number of animals)

Lt.: Left, Rt.: Right

\*: Significant difference compared with control group,  $p<0.05$

\*\* : Significant difference compared with control group,  $p<0.01$

② 본 시험 조건에서 Sprague-Dawley 계통의 암·수 랫드에 시험물질인 맥아구절초추출복합물을 2주 반복 경구투여한 결과, 시험물질에 의한 특이한 이상변화는 관찰되지 않았으므로 13 주 반복시험에서 고용량을 2,000 mg/kg/day로 설정함

(다) SD 랫드를 이용한 맥아구절초추출복합물의 13주 반복 경구투여 독성시험

① 시험물질 맥아구절초추출복합물은 500(저용량군), 1,000(중용량군) 및 2,000(고용량군) mg/kg/day 용량으로 시험군을 설정하여 부형제 대조군과 비교하였고, 실험기간 동안 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료섭취량, 안검사, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액응고시간 검사, 혈액생화학적 검사, 부검소견, 장기중량 및 조직병리학적 소견을 관찰하였음  
- 실험기간 동안 모든 시험군에서 시험물질에 의한 사망개체 및 일반증상은 관찰되지 않

왔음 (암수 동일)

SUMMARY OF MORTALITIES AND CLINICAL SIGNS

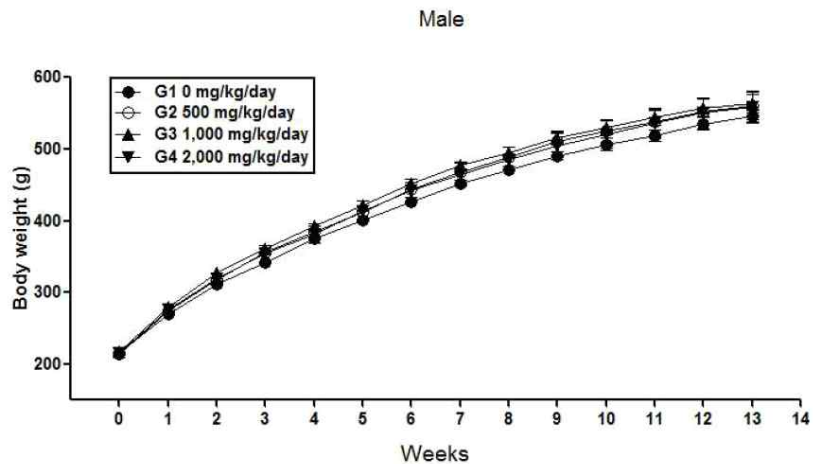
STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

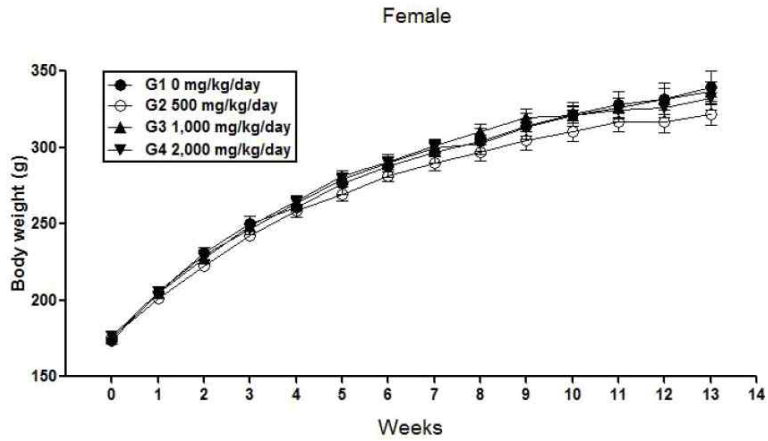
DAY	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
70	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
71	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
72	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
73	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
74	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
75	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
76	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
77	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
78	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
79	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
80	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
81	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
82	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
83	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
84	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
85	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
86	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
87	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
88	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
89	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
90	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10
91	No abnormalities detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 체중 측정결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음







- 사료섭취량 측정결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF DAILY MEAN FOOD CONSUMPTION(g)

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	22.97 ± 1.52 (5)	22.70 ± 1.66 (5)	23.65 ± 0.81 (5)	23.12 ± 1.58 (5)
1	24.73 ± 0.56 (5)	24.32 ± 2.92 (5)	25.86 ± 1.57 (5)	25.64 ± 1.64 (5)
2	25.35 ± 0.96 (5)	26.58 ± 1.93 (5)	27.54 ± 2.57 (5)	25.67 ± 1.60 (5)
3	26.48 ± 0.69 (5)	25.63 ± 2.65 (5)	27.10 ± 0.62 (5)	26.19 ± 2.78 (5)
4	26.27 ± 2.79 (5)	27.64 ± 2.14 (5)	28.71 ± 3.09 (5)	24.49 ± 5.04 (5)
5	27.27 ± 2.04 (5)	27.29 ± 2.06 (5)	28.65 ± 2.68 (5)	27.68 ± 2.08 (5)
6	25.75 ± 2.50 (5)	27.56 ± 3.68 (5)	29.60 ± 1.68 (5)	27.68 ± 2.63 (5)
7	28.47 ± 2.33 (5)	27.23 ± 2.33 (5)	27.94 ± 2.43 (5)	26.27 ± 2.35 (5)
8	27.36 ± 1.56 (5)	28.69 ± 2.08 (5)	27.94 ± 3.07 (5)	28.06 ± 2.47 (5)
9	29.25 ± 1.60 (5)	29.60 ± 2.13 (5)	27.88 ± 2.32 (5)	28.19 ± 4.33 (5)
10	27.90 ± 2.24 (5)	28.18 ± 2.41 (5)	29.27 ± 2.74 (5)	25.81 ± 7.92 (5)
11	25.72 ± 6.25 (5)	28.07 ± 3.29 (5)	28.27 ± 1.58 (5)	25.60 ± 6.56 (5)
12	28.54 ± 0.92 (5)	28.38 ± 3.18 (5)	28.29 ± 1.60 (5)	25.80 ± 6.71 (5)
13	28.42 ± 0.82 (5)	27.90 ± 1.65 (5)	26.73 ± 1.70 (5)	27.35 ± 3.31 (5)

STUDY : GT18-00105

SEX : FEMALE

WEEK	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
0	16.44 ± 1.20 (5)	17.03 ± 2.24 (5)	17.01 ± 1.36 (5)	18.50 ± 1.07 (5)
1	16.16 ± 6.06 (5)	18.59 ± 2.32 (5)	20.36 ± 4.02 (5)	18.11 ± 3.12 (5)
2	20.64 ± 1.62 (5)	18.72 ± 1.07 (5)	19.58 ± 1.70 (5)	21.60 ± 2.00 (5)
3	20.40 ± 4.38 (5)	20.24 ± 2.38 (5)	20.22 ± 1.33 (5)	21.30 ± 1.89 (5)
4	18.73 ± 4.07 (5)	20.11 ± 1.81 (5)	19.44 ± 1.69 (5)	18.91 ± 1.01 (5)
5	19.99 ± 3.78 (5)	18.01 ± 2.24 (5)	19.92 ± 1.66 (5)	19.83 ± 1.55 (5)
6	20.60 ± 3.55 (5)	18.54 ± 0.62 (5)	18.57 ± 0.69 (5)	19.91 ± 1.88 (5)
7	18.86 ± 1.76 (5)	17.74 ± 2.18 (5)	16.84 ± 1.30 (5)	17.55 ± 2.14 (5)
8	18.98 ± 3.61 (5)	19.08 ± 1.93 (5)	18.91 ± 1.04 (5)	17.81 ± 1.59 (5)
9	19.92 ± 3.27 (5)	17.26 ± 0.88 (5)	18.43 ± 2.30 (5)	19.73 ± 2.66 (5)
10	19.21 ± 1.36 (5)	18.70 ± 3.34 (5)	16.98 ± 1.03 (5)	20.67 ± 3.76 (5)
11	20.56 ± 2.76 (5)	18.38 ± 2.97 (5)	17.36 ± 2.20 (5)	17.96 ± 2.56 (5)
12	17.92 ± 4.18 (5)	16.77 ± 3.51 (5)	17.54 ± 1.20 (5)	17.62 ± 0.97 (5)
13	19.49 ± 3.29 (5)	18.22 ± 2.62 (5)	17.34 ± 2.40 (5)	17.90 ± 1.53 (5)

- 안검사 결과, 안검사를 실시한 모든 시험동물에서 시험물질에 의한 이상소견은 관찰되지 않았음

## SUMMARY OF OPHTHALMOLOGICAL EXAMINATION

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)							
		G1(0)		G2(500)		G3(1,000)		G4(2,000)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Right eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100
Left eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100

SEX : FEMALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)							
		G1(0)		G2(500)		G3(1,000)		G4(2,000)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Right eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100
Left eye	No abnormalities observed	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100	5 / 5	100

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 요검사, 요침사 및 요량 검사결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF URINALYSIS					
STUDY : GT18-00105		SEX : MALE			
TEST ITEM		GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Glucose	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Bilirubin	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
	Negative	2 / 5	3 / 5	1 / 5	0 / 5
Ketone body	Trace	3 / 5	2 / 5	2 / 5	2 / 5
	1+	0 / 5	0 / 5	2 / 5	3 / 5
	≤1.010	5 / 5	4 / 5	4 / 5	5 / 5
Specific gravity	1.015	0 / 5	1 / 5	1 / 5	0 / 5
	Negative	4 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Occult blood	Trace	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
	8.0	1 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
pH	8.5	4 / 5	5 / 5	4 / 5	5 / 5
	9.0	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5
	Negative	2 / 5	4 / 5	3 / 5	2 / 5
Protein	Trace	3 / 5	1 / 5	1 / 5	2 / 5
	1+	0 / 5	0 / 5	1 / 5	1 / 5
Urobilinogen	0.2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Nitrite	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
	Negative	5 / 5	5 / 5	3 / 5	3 / 5
Leukocyte	Trace	0 / 5	0 / 5	2 / 5	2 / 5
	Straw	5 / 5	5 / 5	4 / 5	3 / 5
Color	Yellow	0 / 5	0 / 5	1 / 5	2 / 5

TEST ITEM		GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Glucose	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Bilirubin	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Ketone body	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	4 / 5
	Trace	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
Specific gravity	1.005	1 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
	1.01	3 / 5	5 / 5	2 / 5	3 / 5
	1.015	1 / 5	0 / 5	3 / 5	1 / 5
Occult blood	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
pH	7.0	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5
	7.5	2 / 5	0 / 5	1 / 5	1 / 5
	8.0	0 / 5	1 / 5	0 / 5	1 / 5
	8.5	3 / 5	3 / 5	4 / 5	1 / 5
	9.0	0 / 5	0 / 5	0 / 5	2 / 5
Protein	Negative	5 / 5	5 / 5	4 / 5	4 / 5
	Trace	0 / 5	0 / 5	1 / 5	0 / 5
	1+	0 / 5	0 / 5	0 / 5	1 / 5
Urobilinogen	0.2	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Nitrite	Negative	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Leukocyte	Negative	5 / 5	4 / 5	5 / 5	5 / 5
	Trace	0 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5
Color	Straw	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

SUMMARY OF URINE SEDIMENT

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

TEST ITEM		GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
RBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
WBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Epithelial cell	0	3 / 5	4 / 5	5 / 5	3 / 5
	0~1	2 / 5	1 / 5	0 / 5	2 / 5
Casts	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

SEX : FEMALE

TEST ITEM		GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
RBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
WBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Epithelial cell	0	4 / 5	4 / 5	3 / 5	4 / 5
	0~1	1 / 5	1 / 5	2 / 5	1 / 5
Casts	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

SUMMARY OF URINE SEDIMENT

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

TEST ITEM		GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
RBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
WBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Epithelial cell	0	3 / 5	4 / 5	5 / 5	3 / 5
	0~1	2 / 5	1 / 5	0 / 5	2 / 5
Casts	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

SEX : FEMALE

TEST ITEM		GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
RBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
WBC	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Epithelial cell	0	4 / 5	4 / 5	3 / 5	4 / 5
	0~1	1 / 5	1 / 5	2 / 5	1 / 5
Casts	0	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

Number of animals with the sign / Number of animals examined

- 혈액학적 검사 검사결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF HEMATOLOGICAL TESTS

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)											
	G1(0)			G2(500)			G3(1,000)			G4(2,000)		
WBC <sup>1</sup> (K/ $\mu$ L)	6.70	±	0.96 (10)	6.85	±	2.33 (10)	7.70	±	1.53 (10)	7.60	±	1.43 (10)
NE <sup>2</sup> (K/ $\mu$ L)	0.98	±	0.27 (10)	1.01	±	0.38 (10)	1.12	±	0.45 (10)	0.95	±	0.44 (10)
EO <sup>3</sup> (K/ $\mu$ L)	0.09	±	0.01 (10)	0.09	±	0.04 (10)	0.09	±	0.04 (10)	0.08	±	0.02 (10)
BA <sup>4</sup> (K/ $\mu$ L)	0.00	±	0.00 (10)	0.00	±	0.00 (10)	0.00	±	0.00 (10)	0.00	±	0.00 (10)
LY <sup>5</sup> (K/ $\mu$ L)	5.47	±	0.75 (10)	5.57	±	2.20 (10)	6.26	±	1.40 (10)	6.38	±	1.33 (10)
MO <sup>6</sup> (K/ $\mu$ L)	0.11	±	0.04 (10)	0.14	±	0.09 (10)	0.17	±	0.09 (10)	0.14	±	0.07 (10)
LUC <sup>7</sup> (K/ $\mu$ L)	0.04	±	0.03 (10)	0.04	±	0.02 (10)	0.05	±	0.02 (10)	0.05	±	0.04 (10)
NEP <sup>8</sup> (%)	14.5	±	3.1 (10)	15.9	±	7.8 (10)	14.7	±	5.6 (10)	12.6	±	5.5 (10)
EOP <sup>9</sup> (%)	1.4	±	0.2 (10)	1.3	±	0.3 (10)	1.2	±	0.4 (10)	1.1*	±	0.3 (10)
BAP <sup>10</sup> (%)	0.0	±	0.0 (10)	0.0	±	0.0 (10)	0.0	±	0.0 (10)	0.0	±	0.1 (10)
LYP <sup>11</sup> (%)	81.8	±	3.3 (10)	80.3	±	8.2 (10)	81.3	±	6.8 (10)	83.9	±	5.8 (10)
MOP <sup>12</sup> (%)	1.6	±	0.4 (10)	2.1	±	0.9 (10)	2.2	±	1.1 (10)	1.8	±	0.6 (10)
LUP <sup>13</sup> (%)	0.6	±	0.4 (10)	0.5	±	0.2 (10)	0.6	±	0.3 (10)	0.6	±	0.4 (10)
RBC <sup>14</sup> (M/ $\mu$ L)	8.33	±	0.28 (10)	8.39	±	0.32 (10)	8.25	±	0.30 (10)	8.14	±	0.41 (10)
Hb <sup>15</sup> (g/dℓ)	14.6	±	0.4 (10)	14.6	±	0.4 (10)	14.4	±	0.7 (10)	14.3	±	0.5 (10)
RDW <sup>16</sup> (%)	12.9	±	0.7 (10)	12.3	±	0.6 (10)	12.4	±	0.7 (10)	12.4	±	0.5 (10)
HCT <sup>17</sup> (%)	43.8	±	1.2 (10)	44.1	±	1.6 (10)	43.5	±	1.5 (10)	43.4	±	1.5 (10)
MCV <sup>18</sup> (fL)	52.5	±	1.3 (10)	52.6	±	1.3 (10)	52.8	±	1.3 (10)	53.3	±	1.9 (10)
MCH <sup>19</sup> (pg)	17.5	±	0.5 (10)	17.4	±	0.4 (10)	17.5	±	0.6 (10)	17.6	±	0.5 (10)
MCHC <sup>20</sup> (g/dℓ)	33.3	±	0.2 (10)	33.2	±	0.4 (10)	33.1	±	0.5 (10)	33.1	±	0.5 (10)
Reti <sup>21</sup> (%)	2.47	±	0.73 (10)	2.22	±	0.44 (10)	2.31	±	0.35 (10)	2.39	±	0.48 (10)
PLT <sup>22</sup> (K/ $\mu$ L)	1147	±	108 (10)	1090	±	111 (10)	1059	±	144 (10)	1091	±	102 (10)
MPV <sup>23</sup> (fL)	7.8	±	0.4 (10)	8.1	±	0.5 (10)	8.1	±	0.4 (10)	7.6	±	0.7 (10)

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)											
	G1(0)			G2(500)			G3(1,000)			G4(2,000)		
WBC <sup>1</sup> (K/ $\mu$ L)	5.11	±	1.28 (10)	6.16	±	1.41 (10)	5.41	±	1.43 (10)	4.57	±	1.45 (10)
NE <sup>2</sup> (K/ $\mu$ L)	0.67	±	0.21 (10)	0.96	±	0.42 (10)	0.62	±	0.15 (10)	0.57	±	0.17 (10)
EO <sup>3</sup> (K/ $\mu$ L)	0.07	±	0.02 (10)	0.09	±	0.03 (10)	0.07	±	0.02 (10)	0.06	±	0.01 (10)
BA <sup>4</sup> (K/ $\mu$ L)	0.00	±	0.01 (10)	0.00	±	0.00 (10)	0.00	±	0.00 (10)	0.00	±	0.00 (10)
LY <sup>5</sup> (K/ $\mu$ L)	4.21	±	1.08 (10)	4.93	±	1.44 (10)	4.55	±	1.30 (10)	3.80	±	1.36 (10)
MO <sup>6</sup> (K/ $\mu$ L)	0.12	±	0.06 (10)	0.14	±	0.05 (10)	0.14	±	0.04 (10)	0.10	±	0.04 (10)
LUC <sup>7</sup> (K/ $\mu$ L)	0.04	±	0.03 (10)	0.04	±	0.02 (10)	0.03	±	0.02 (10)	0.03	±	0.02 (10)
NEP <sup>8</sup> (%)	13.4	±	4.3 (10)	16.4	±	8.6 (10)	11.7	±	2.5 (10)	13.1	±	4.3 (10)
EOP <sup>9</sup> (%)	1.3	±	0.4 (10)	1.4	±	0.4 (10)	1.3	±	0.2 (10)	1.4	±	0.3 (10)
BAP <sup>10</sup> (%)	0.1	±	0.1 (10)	0.1	±	0.1 (10)	0.0	±	0.0 (10)	0.1	±	0.1 (10)
LYP <sup>11</sup> (%)	82.1	±	4.8 (10)	79.2	±	9.2 (10)	83.7	±	2.9 (10)	82.6	±	4.6 (10)
MOP <sup>12</sup> (%)	2.3	±	0.5 (10)	2.4	±	1.0 (10)	2.6	±	0.9 (10)	2.2	±	0.5 (10)
LUP <sup>13</sup> (%)	0.8	±	0.3 (10)	0.6	±	0.3 (10)	0.6	±	0.3 (10)	0.7	±	0.4 (10)
RBC <sup>14</sup> (M/ $\mu$ L)	7.69	±	0.42 (10)	7.79	±	0.37 (10)	7.60	±	0.20 (10)	7.55	±	0.16 (10)
Hb <sup>15</sup> (g/dl)	14.6	±	0.3 (10)	14.7	±	0.6 (10)	14.4	±	0.5 (10)	14.2	±	0.4 (10)
RDW <sup>16</sup> (%)	11.1	±	0.3 (10)	11.1	±	0.3 (10)	10.9	±	0.6 (10)	11.0	±	0.3 (10)
HCT <sup>17</sup> (%)	42.0	±	2.5 (10)	42.9	±	2.1 (10)	41.9	±	1.4 (10)	41.2	±	1.1 (10)
MCV <sup>18</sup> (fL)	54.6	±	1.5 (10)	55.1	±	1.2 (10)	55.2	±	1.3 (10)	54.7	±	1.1 (10)
MCH <sup>19</sup> (pg)	19.1	±	1.1 (10)	18.9	±	0.5 (10)	19.0	±	0.4 (10)	18.8	±	0.4 (10)
MCHC <sup>20</sup> (g/dl)	35.0	±	2.2 (10)	34.3	±	0.6 (10)	34.4	±	0.3 (10)	34.4	±	0.4 (10)
Reti <sup>21</sup> (%)	2.12	±	0.41 (10)	2.20	±	0.32 (10)	2.10	±	0.41 (10)	2.22	±	0.19 (10)
PLT <sup>22</sup> (K/ $\mu$ L)	1066	±	132 (10)	986	±	142 (10)	1004	±	104 (10)	1086	±	128 (10)
MPV <sup>23</sup> (fL)	7.8	±	0.7 (10)	8.2	±	0.4 (10)	7.9	±	0.8 (10)	8.3	±	0.5 (10)

Mean±S.D (Number of animals)

1: White blood cell, 2: Neutrophil, 3: Eosinophil, 4: Basophil, 5: Lymphocyte, 6: Monocyte, 7: Large unstained cell, 8: Percent of neutrophil, 9: Percent of eosinophil, 10: Percent of basophil, 11: Percent of lymphocyte, 12: Percent of monocyte, 13: Percent of large unstained cell, 14: Red blood cell, 15: Hemoglobin, 16: Red cell distribution width, 17: Hematocrit, 18: Mean corpuscular volume, 19: Mean corpuscular hemoglobin, 20: Mean corpuscular hemoglobin concentration, 21: Reticulocyte, 22: Platelet, 23: Mean platelet volume

- 혈액응고시간 검사결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF PLASMA COAGULATION TIME TESTS(sec)

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
PT <sup>1</sup>	9.58 ± 0.41 (10)	10.02 ± 0.59 (10)	9.88 ± 1.13 (10)	9.90 ± 0.46 (10)
APTT <sup>2</sup>	13.8 ± 1.8 (10)	15.8** ± 1.5 (10)	15.7** ± 1.3 (10)	16.2** ± 1.1 (10)

SEX : FEMALE

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
PT <sup>1</sup>	8.94 ± 0.44 (10)	9.20 ± 0.37 (10)	8.93 ± 0.48 (10)	9.08 ± 0.49 (10)
APTT <sup>2</sup>	15.5 ± 1.9 (10)	16.8 ± 1.1 (10)	17.4* ± 1.2 (10)	16.8 ± 1.5 (10)

Mean±S.D (Number of animals)

1: Prothrombin time, 2: Active partial thromboplastin time

\*: Significant difference compared with the control group value,  $p < 0.05$

\*\* : Significant difference compared with the control group value,  $p < 0.01$



- 혈액생화학적 검사결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF SERUM BIOCHEMICAL TESTS

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)											
	G1(0)			G2(500)			G3(1,000)			G4(2,000)		
AST <sup>1</sup> (IU/L)	109	±	34 (10)	109	±	29 (10)	109	±	32 (10)	101	±	36 (10)
ALT <sup>2</sup> (IU/L)	40	±	10 (10)	37	±	5 (10)	36	±	7 (10)	35	±	8 (10)
GGT <sup>3</sup>	0.0	±	0.0 (10)	0.0	±	0.0 (10)	0.3	±	0.5 (10)	0.2	±	0.4 (10)
ALP <sup>4</sup> (IU/L)	399	±	96 (10)	322	±	84 (10)	371	±	134 (10)	321	±	54 (10)
BIL <sup>5</sup> (mg/dℓ)	0.06	±	0.02 (10)	0.05	±	0.01 (10)	0.05	±	0.01 (10)	0.05	±	0.02 (10)
BUN <sup>6</sup> (mg/dℓ)	18.1	±	2.2 (10)	17.3	±	2.4 (10)	17.8	±	1.7 (10)	16.6	±	1.6 (10)
CRE <sup>7</sup> (mg/dℓ)	0.46	±	0.03 (10)	0.44	±	0.05 (10)	0.48	±	0.04 (10)	0.44	±	0.03 (10)
UA <sup>8</sup> (mg/dℓ)	1.1	±	0.3 (10)	1.0	±	0.3 (10)	1.0	±	0.2 (10)	0.9	±	0.4 (10)
GLU <sup>9</sup> (mg/dℓ)	190	±	27 (10)	180	±	31 (10)	191	±	14 (10)	202	±	35 (10)
CHO <sup>10</sup> (mg/dℓ)	79	±	9 (10)	82	±	16 (10)	78	±	12 (10)	90	±	19 (10)
TG <sup>11</sup> (mg/dℓ)	43	±	19 (10)	47	±	24 (10)	46	±	26 (10)	57	±	23 (10)
PRO <sup>12</sup> (g/dℓ)	6.2	±	0.2 (10)	6.2	±	0.3 (10)	6.2	±	0.3 (10)	6.3	±	0.2 (10)
ALB <sup>13</sup> (g/dℓ)	2.28	±	0.10 (10)	2.37	±	0.09 (10)	2.27	±	0.11 (10)	2.41*	±	0.11 (10)
A/G ratio <sup>14</sup>	0.58	±	0.04 (10)	0.62*	±	0.05 (10)	0.58	±	0.03 (10)	0.63*	±	0.03 (10)
LDH <sup>15</sup> (IU/L)	1237	±	774 (10)	1261	±	680 (10)	1335	±	690 (10)	1178	±	796 (10)
CPK <sup>16</sup> (U/L)	674	±	399 (10)	611	±	314 (10)	636	±	330 (10)	678	±	550 (10)
Ca <sup>17</sup> (mg/dℓ)	9.5	±	0.2 (10)	9.5	±	0.3 (10)	9.5	±	0.2 (10)	9.5	±	0.3 (10)
IP <sup>18</sup> (mg/dℓ)	6.5	±	0.4 (10)	6.6	±	0.7 (10)	6.7	±	0.4 (10)	6.6	±	0.8 (10)
Mg <sup>19</sup> (mg/dℓ)	2.1	±	0.1 (10)	2.0	±	0.1 (10)	2.2	±	0.1 (10)	2.1	±	0.1 (10)
Na <sup>20</sup> (mmol/L)	147	±	1 (10)	150*	±	2 (10)	149*	±	3 (10)	149*	±	1 (10)
K <sup>21</sup> (mmol/L)	5.0	±	0.3 (10)	5.0	±	0.2 (10)	5.0	±	0.3 (10)	5.2	±	0.2 (10)
Cl <sup>22</sup> (mmol/L)	99	±	2 (10)	98	±	2 (10)	98	±	2 (10)	97	±	2 (10)

TEST ITEM	GROUP(mg/kg/day)											
	G1(0)			G2(500)			G3(1,000)			G4(2,000)		
AST <sup>1</sup> (IU/L)	90	±	17 (10)	100	±	23 (10)	102	±	40 (10)	102	±	28 (10)
ALT <sup>2</sup> (IU/L)	31	±	6 (10)	35	±	6 (10)	34	±	10 (10)	37	±	11 (10)
GGT <sup>3</sup>	0.0	±	0.0 (10)	0.0	±	0.0 (10)	0.0	±	0.0 (10)	0.0	±	0.0 (10)
ALP <sup>4</sup> (IU/L)	195	±	82 (10)	218	±	105 (10)	130	±	29 (10)	190	±	65 (10)
BIL <sup>5</sup> (mg/dℓ)	0.08	±	0.03 (10)	0.09	±	0.04 (10)	0.07	±	0.02 (10)	0.08	±	0.03 (10)
BUN <sup>6</sup> (mg/dℓ)	18.2	±	3.6 (10)	19.3	±	3.4 (10)	19.8	±	2.7 (10)	17.5	±	4.2 (10)
CRE <sup>7</sup> (mg/dℓ)	0.51	±	0.04 (10)	0.55	±	0.04 (10)	0.55	±	0.05 (10)	0.53	±	0.04 (10)
UA <sup>8</sup> (mg/dℓ)	0.9	±	0.2 (10)	1.0	±	0.3 (10)	1.1	±	0.4 (10)	0.9	±	0.4 (10)
GLU <sup>9</sup> (mg/dℓ)	176	±	23 (10)	168	±	22 (10)	169	±	24 (10)	176	±	24 (10)
CHO <sup>10</sup> (mg/dℓ)	96	±	26 (10)	88	±	11 (10)	109	±	21 (10)	98	±	20 (10)
TG <sup>11</sup> (mg/dℓ)	64	±	22 (10)	45	±	9 (10)	62	±	17 (10)	57	±	16 (10)
PRO <sup>12</sup> (g/dℓ)	6.9	±	0.4 (10)	6.7	±	0.3 (10)	7.1	±	0.4 (10)	6.9	±	0.3 (10)
ALB <sup>13</sup> (g/dℓ)	2.94	±	0.30 (10)	2.72*	±	0.16 (10)	3.03	±	0.17 (10)	2.92	±	0.12 (10)
A/G ratio <sup>14</sup>	0.74	±	0.07 (10)	0.68	±	0.02 (10)	0.74	±	0.02 (10)	0.73	±	0.06 (10)
LDH <sup>15</sup> (IU/L)	975	±	559 (10)	1212	±	429 (10)	1185	±	741 (10)	1229	±	614 (10)
CPK <sup>16</sup> (U/L)	495	±	269 (10)	582	±	254 (10)	601	±	386 (10)	580	±	260 (10)
Ca <sup>17</sup> (mg/dℓ)	9.9	±	0.3 (10)	9.7	±	0.2 (10)	10.0	±	0.4 (10)	9.7	±	0.5 (10)
IP <sup>18</sup> (mg/dℓ)	5.8	±	0.9 (10)	5.7	±	0.6 (10)	5.3	±	0.6 (10)	5.6	±	0.6 (10)
Mg <sup>19</sup> (mg/dℓ)	2.1	±	0.1 (10)	2.1	±	0.2 (10)	2.3*	±	0.2 (10)	2.3*	±	0.3 (10)
Na <sup>20</sup> (mmol/L)	139	±	2 (10)	138	±	1 (10)	137	±	2 (10)	137	±	2 (10)
K <sup>21</sup> (mmol/L)	4.0	±	0.3 (10)	4.1	±	0.2 (10)	4.2	±	0.1 (10)	4.2	±	0.2 (10)
Cl <sup>22</sup> (mmol/L)	104	±	2 (10)	104	±	2 (10)	103	±	2 (10)	104	±	2 (10)

Mean±S.D (Number of animals)

1: Aspartate aminotransferase, 2: Alanine aminotransferase, 3: alkaline phosphatase, 4: Total bilirubin, 5: Blood urea nitrogen, 6: Creatinine, 7: Uric acid, 8: Glucose, 9: Total cholesterol, 10: Triglyceride, 11: Total protein, 12: Albumin, 13: Albumin/Globulin ratio, 14: Lactate dehydrogenase, 15: Creatine phosphokinase, 16: Calcium, 17: Inorganic phosphorus, 18: Magnesium, 19: Sodium, 20: Potassium, 21: Chloride

\*: Significant difference compared with the control group value,  $p < 0.05$

\*\*: Significant difference compared with the control group value,  $p < 0.01$

- 절대 및 상대장기중량 측정결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았음

SUMMARY OF ABSOLUTE ORGAN WEIGHTS(g)				
STUDY : GT17-00212		SEX : MALE		
ORGANS	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Body weight <sup>a</sup>	527.67 ± 25.03 (10)	541.60 ± 60.55 (10)	546.90 ± 38.07 (10)	538.75 ± 67.91 (10)
Testis(Lt.)	1.8479 ± 0.1245(10)	1.8521 ± 0.1765(10)	1.8744 ± 0.1669(10)	1.8142 ± 0.2159(10)
Testis(Rt.)	1.8393 ± 0.0938(10)	1.8507 ± 0.1943(10)	1.8868 ± 0.1874(10)	1.8470 ± 0.2145(10)
Prostate	0.8001 ± 0.2025(10)	0.6819 ± 0.3376(10)	0.7590 ± 0.1730(10)	0.8662 ± 0.3980(10)
Spleen	0.8627 ± 0.1368(10)	0.8597 ± 0.1392(10)	0.8827 ± 0.0758(10)	0.8498 ± 0.1902(10)
Liver	13.6281 ± 1.0995(10)	14.1171 ± 2.2381(10)	13.9635 ± 1.5656(10)	15.5557 ± 2.1175(10)
Adrenal gland(Lt.)	0.0312 ± 0.0062(10)	0.0278 ± 0.0070(10)	0.0285 ± 0.0062(10)	0.0260 ± 0.0033(10)
Adrenal gland(Rt.)	0.0292 ± 0.0052(10)	0.0265 ± 0.0093(10)	0.0291 ± 0.0057(10)	0.0264 ± 0.0049(10)
Kidney(Lt.)	1.5907 ± 0.1388(10)	1.6231 ± 0.1994(10)	1.5878 ± 0.1635(10)	1.7409 ± 0.2220(10)
Kidney(Rt.)	1.6836 ± 0.1750(10)	1.7256 ± 0.2421(10)	1.6530 ± 0.1785(10)	1.7894 ± 0.2111(10)
Heart	1.5552 ± 0.1086(10)	1.6815 ± 0.1682(10)	1.5952 ± 0.1572(10)	1.6941 ± 0.2032(10)
Lung	1.8195 ± 0.1465(10)	1.8098 ± 0.2107(10)	1.7385 ± 0.2062(10)	1.7639 ± 0.1577(10)
Brain	2.1615 ± 0.0685(10)	2.1505 ± 0.1410(10)	2.1911 ± 0.1332(10)	2.1296 ± 0.0895(10)
Pituitary	0.0135 ± 0.0034(10)	0.0111 ± 0.0026(10)	0.0117 ± 0.0026(10)	0.0098* ± 0.0028(10)
Thymus	0.2472 ± 0.0554(10)	0.3400 ± 0.0913(10)	0.2942 ± 0.0649(10)	0.3250 ± 0.1246(10)

STUDY : GT18-00105

SEX : FEMALE

ORGANS	GROUP(mg/kg/day)			
	G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Body weight <sup>a</sup>	327.38 ± 31.74 (10)	313.58 ± 20.79 (10)	327.85 ± 22.06 (10)	321.56 ± 20.35 (10)
Ovary(Lt.)	0.0500 ± 0.0141(10)	0.0402 ± 0.0103 (9)	0.0482 ± 0.0120(10)	0.0460 ± 0.0060(10)
Ovary(Rt.)	0.0531 ± 0.0131(10)	0.0517 ± 0.0108 (9)	0.0550 ± 0.0157(10)	0.0498 ± 0.0107(10)
Uterus	0.8885 ± 0.4375(10)	0.6316 ± 0.2538(10)	0.7178 ± 0.2566(10)	0.8024 ± 0.2984(10)
Spleen	0.6629 ± 0.1010(10)	0.6928 ± 0.1456(10)	0.7390 ± 0.2022(10)	0.6113 ± 0.0744(10)
Liver	8.3971 ± 1.0029(10)	8.0371 ± 0.6858(10)	8.7091 ± 0.6417(10)	8.7392 ± 0.9776(10)
Adrenal gland(Lt.)	0.0339 ± 0.0087(10)	0.0321 ± 0.0045(10)	0.0330 ± 0.0060(10)	0.0376 ± 0.0062(10)
Adrenal gland(Rt.)	0.0348 ± 0.0038(10)	0.0320 ± 0.0047(10)	0.0328 ± 0.0060(10)	0.0347 ± 0.0054(10)
Kidney(Lt.)	1.0563 ± 0.1225(10)	0.9745 ± 0.0798(10)	1.0621 ± 0.0820(10)	1.0081 ± 0.1161(10)
Kidney(Rt.)	1.0861 ± 0.1113(10)	0.9907 ± 0.0961(10)	1.0420 ± 0.0797(10)	1.0538 ± 0.1176(10)
Heart	1.1117 ± 0.1509(10)	1.0359 ± 0.1091(10)	1.0688 ± 0.0829(10)	1.1156 ± 0.0948(10)
Lung	1.4205 ± 0.1343(10)	1.3782 ± 0.1112(10)	1.3909 ± 0.0984(10)	1.3694 ± 0.0822(10)
Brain	2.0004 ± 0.1066(10)	2.0263 ± 0.0764(10)	1.9997 ± 0.0887(10)	2.0629 ± 0.0674(10)
Pituitary	0.0198 ± 0.0050(10)	0.0160 ± 0.0025(10)	0.0197 ± 0.0027(10)	0.0170 ± 0.0022(10)
Thymus	0.3199 ± 0.0403(10)	0.2710 ± 0.0408(10)	0.2988 ± 0.0590(10)	0.2891 ± 0.0722(10)

Mean±S.D (Number of animals)

Lt.: Left, Rt.: Right

a: At necropsy

- 부검 및 조직병리학적 검사결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 이상병변은 관찰되지 않았음

## SUMMARY OF GROSS FINDINGS

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
Liver	Protrusion, median lobe, into the diaphragm	0 / 10	0 / 10	1 / 10	0 / 10
Other organs	No gross findings detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10

SEX : FEMALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)	G2(500)	G3(1,000)	G4(2,000)
All organs	No gross findings detected	10 / 10	10 / 10	10 / 10	10 / 10

Number of animals with the sign / Number of animals examined

SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)					
		G1(0)		G3(1,000)		G4(2,000)	
		N	%	N	%	N	%
Liver	No remarkable lesions	7 / 10	70			9 / 10	90
	Remarkable lesions	3 / 10	30			1 / 10	10
	- Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal	± 3 / 10	30			1 / 10	10
	- Hepatodiaphragmatic nodule	√ 0 / 10	0	1 / 1	100	0 / 10	0
Kidney	No remarkable lesions	6 / 10	60			8 / 10	80
	Remarkable lesions	4 / 10	40			2 / 10	20
	- Cyst, focal, inner stripe	± 1 / 10	10			0 / 10	0
	- Cell infiltration, mononuclear, focal	± 2 / 10	20			1 / 10	10
	- Basophilic tubules, focal	± 1 / 10	10			2 / 10	20
	- Cortical scar, focal	± 1 / 10	10			0 / 10	0
Adrenal gl.	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Urinary bladder	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Spleen	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Pancreas	No remarkable lesions	9 / 10	90			9 / 10	90
	Remarkable lesions	1 / 10	10			1 / 10	10
	- Cell infiltration, mononuclear, focal	± 1 / 10	10			1 / 10	10
Thymus	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Thyroid	No remarkable lesions	9 / 10	90			9 / 10	90
	Remarkable lesions	1 / 10	10			1 / 10	10
	- Ultimobranchial cyst	√ 1 / 10	10			1 / 10	10
Parathyroid	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Trachea	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Esophagus	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Tongue	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Lung	No remarkable lesions	7 / 10	70			9 / 10	90
	Remarkable lesions	3 / 10	30			1 / 10	10
	- Cell infiltration, inflammatory, multifocal, perivascular/peribronchial	± 2 / 10 + 1 / 10	30 10			0 / 10 1 / 10	10 10
Heart	No remarkable lesions	9 / 10	90			8 / 10	80
	Remarkable lesions	1 / 10	10			2 / 10	20
	- Cell infiltration, mononuclear, focal	± 1 / 10	10			2 / 10	20
Aorta	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Submandibular LN	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Mesenteric LN	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Salivary gl. submandibular	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100
Salivary gl. sublingual	No remarkable lesions	10 / 10	100			10 / 10	100

N: Number of animals with the signs / Number of examined animals

±: minimal, +: mild, √: present, gl.=gland, LN=lymph node

SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY : GT18-00105

SEX : MALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)		G4(2,000)	
		N	%	N	%
Salivary parotid gl.	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Stomach	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Duodenum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Ileum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Jejunum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Cecum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Colon	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Rectum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Skin	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Mammary gl.	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Eye	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Optic nerve	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Harderian gl.	No remarkable lesions	7 / 10	70	10 / 10	100
	Remarkable lesions	3 / 10	30	0 / 10	0
	- Cell infiltration, mononuclear, focal ±	3 / 10	30	0 / 10	0
Brain	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Pituitary	No remarkable lesions	8 / 9	89	10 / 10	100
	Remarkable lesions	1 / 9	11	0 / 10	0
	- Cyst, pars distalis √	1 / 9	11	0 / 10	0
Femur	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Spinal cord	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Skeletal muscle	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Sciatic nerve	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Testis	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Epididymis	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Prostate	No remarkable lesions	10 / 10	100	9 / 10	90
	Remarkable lesions	0 / 10	0	1 / 10	10
	- Cell infiltration, mononuclear, focal ±	0 / 10	0	1 / 10	10
Seminal vesicle	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Coagulating gl.	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Sternum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100

N: Number of animals with the signs / Number of examined animals

±: minimal, √: present gl.=gland

SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY : GT18-00105

SEX : FEMALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)		G4(2,000)	
		N	%	N	%
Liver	No remarkable lesions	6 / 10	60	7 / 10	70
	Remarkable lesions	4 / 10	40	3 / 10	30
	- Cell infiltration, mononuclear, focal/multifocal	± 3 / 10	30	3 / 10	30
	- Necrosis, focal	± 1 / 10	10	0 / 10	0
Kidney	No remarkable lesions	7 / 10	70	6 / 10	60
	Remarkable lesions	3 / 10	30	4 / 10	40
	- Cyst, focal, inner stripe	± 0 / 10	0	1 / 10	10
	- Cell infiltration, mononuclear, focal	± 1 / 10	10	1 / 10	10
	- Basophilic tubules, focal/multifocal	± 1 / 10	10	1 / 10	10
- Mineralization, outer stripe	± 2 / 10	20	1 / 10	10	
Adrenal gl.	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Urinary bladder	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Spleen	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Pancreas	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Thymus	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Thyroid	No remarkable lesions	7 / 10	70	8 / 10	80
	Remarkable lesions	3 / 10	30	2 / 10	20
	- Ultimobranchial cyst	√ 3 / 10	30	2 / 10	20
Parathyroid	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Trachea	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Esophagus	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Tongue	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Lung	No remarkable lesions	5 / 10	50	8 / 10	80
	Remarkable lesions	5 / 10	50	2 / 10	20
	- Cell infiltration, inflammatory, multifocal, perivascular/peribronchial	± 5 / 10	50	2 / 10	20
Heart	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Aorta	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Submandibular LN	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Mesenteric LN	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Salivary gl. submandibular	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100

N: Number of animals with the signs / Number of examined animals

±: minimal, +: mild, +++: severe, gl.=gland, LN=lymph node

SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY : GT18-00105

SEX : FEMALE

ORGANS	SIGNS	GROUP(mg/kg/day)			
		G1(0)		G4(2,000)	
		N	%	N	%
Salivary gl. sublingual	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Salivary gl. parotid	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Stomach	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Duodenum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Ileum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Jejunum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Cecum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Colon	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Rectum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Skin	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Mammary gl.	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Eye	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Optic nerve	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Harderian gl.	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Brain	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Pituitary	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Femur	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Spinal cord	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Skeletal muscle	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Sciatic nerve	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Ovary	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Uterus	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Vagina	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100
Sternum	No remarkable lesions	10 / 10	100	10 / 10	100

N: Number of animals with the signs / Number of examined animals

gl.=gland

② 시험물질인 맥아구절초추출복합물을 설치류인 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 13 주간 반복 경구 투여한 결과, 시험물질에 의한 전신적인 독성학적 변화는 관찰되지 않았으므로 본 시험물질의 무독성량(NOEL, No observed adverse effect level)은 2,000 mg/kg/day로 판단되었고, 표적장기(target organ)는 관찰되지 않았음

(라) 비글견을 이용한 맥아구절초추출복합물의 단회용량증가 경구투여 독성시험

① 시험물질 맥아구절초추출복합물을 비설치류인 Beagle dog에 단회용량증가(single dose-escalation) 투여법을 이용하여 단회 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하기 위하여 수행하였으며, 시험물질을 125 및 250 mg/kg으로 투여하는 시험물질 투여군을



설정하여 군당 암수 각 1 마리에 단회 경구투여(1 차)한 후, 4 일간의 회복기간을 두고, 500 및 1,000 mg/kg으로 재투여(2 차)하였고, 2 차 투여 후 2 주간의 사망률, 일반증상, 체중변화 조사 및 부검소견을 진행하였음

- 시험기간 중 사망동물은 관찰되지 않았으며, 시험물질 투여과 관련된 이상증상은 관찰되지 않았음 (암수 동일)

MORTALITY AND CLINICAL SIGNS			
STUDY : GT19-00007		SEX : MALE	
Groups (mg/kg)	Animal ID	Signs	Observed on
G1 (125)	1	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4
G2 (250)	2	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4
SEX : FEMALE			
G1 (125)	3	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4
G2 (250)	4	Normal	Day 0(0-6 hrs), 1-4

MORTALITY AND CLINICAL SIGNS			
STUDY : GT19-00007		SEX : MALE	
Groups (mg/kg)	Animal ID	Signs	Observed on
G1 (500)	1	Normal Terminal sacrifice	Day 0(0-6 hrs), 1-14 Day 14
G2 (1,000)	2	Normal Vomiting Terminal sacrifice	Day 0(0-6 hrs), 1-14 Day 14
SEX : FEMALE			
G1 (500)	3	Normal Terminal sacrifice	Day 0(0-6 hrs), 1-14 Day 14
G2 (1,000)	4	Normal Vomiting Terminal sacrifice	Day 0(0-6 hrs), 1-14 Day 14

- 체중변화 관찰결과, 시험물질 투여와 관련된 체중변화의 이상은 관찰되지 않았음

BODY WEIGHTS (kg)				
STUDY : GT19-00007			SEX : MALE	
Groups (mg/kg)	Animal ID	Day 0 <sup>a)</sup>	Day 1	Gain <sup>b)</sup>
G1 (125)	1	8.76	8.90	0.14
G2 (250)	2	8.56	8.84	0.28
SEX : FEMALE				
G1 (125)	3	6.72	6.82	0.10
G2 (250)	4	6.12	6.44	0.32

a) Days are those from the 1st dosed day.

b) Weight gains are body weight difference between Day 0 and 1.

BODY WEIGHTS (kg)							
STUDY : GT19-00007				SEX : MALE			
Groups (mg/kg)	Animal ID	Day 0 <sup>a)</sup>	Day 1	Day 3	Day 7	Day 14	Gain <sup>b)</sup>
G1 (500)	1	9.12	9.16	9.20	9.24	9.64	0.52
G2 (1,000)	2	8.90	8.94	8.98	9.02	9.14	0.24
SEX : FEMALE							
G1 (500)	3	6.90	6.92	6.96	6.98	7.08	0.28
G2 (1,000)	4	6.50	6.52	6.54	6.60	6.76	0.26

a) Days are those from the 2nd dosed day.

b) Weight gains are body weight difference between Day 0 and 14.

- 부검소견 관찰결과, 이상소견은 관찰되지 않았음

NECROPSY FINDINGS				
STUDY : GT19-00007			SEX : MALE	
Groups (mg/kg)	Animal ID	Fate	Location	Necropsy findings
G1 (500)	1	Terminal sacrifice		No gross findings
G2 (1,000)	2	Terminal sacrifice		No gross findings
SEX : FEMALE				
G1 (500)	3	Terminal sacrifice		No gross findings
G2 (1,000)	4	Terminal sacrifice		No gross findings

② 본 시험조건 하에서 DE(dose escalation)법을 이용하여 시험물질인 맥아구절초추출복합물을 Beagle dog에 경구투여 하였을 때 시험물질 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았음을 확인함

(마) (유전독성) 맥아구절초추출복합물의 미생물복귀돌연변이 시험

① 맥아구절초추출복합물의 박테리아에 대한 돌연변이 유발성 여부를 확인하기 위해 히스 티딘 요구성 균주인 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537과 트립 토판 요구성 균주인 *Escherichia coli* WP2uvrA를 사용하여 직접법과 대사활성법으로 복귀돌연변이시험을 실시하였으며, 본시험에서의 적용농도의 결정을 위하여 0, 62, 185, 556, 1667, 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  농도로 하여 농도결정시험을 실시하고, 이를 바탕으로 다음의 농도로 본시험을 실시함

- S9 mix (-)의 경우: 0, 62, 185, 556, 1667, 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$

- S9 mix (+)의 경우: 0, 62, 185, 556, 1667, 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$

② 본시험에서 시험물질을 각 농도 별로 처리한 결과, 직접법과 대사활성법의 모든 균주에 서 음성대조군과 비교하여 양성으로 판단할 만한 복귀집락 수의 증가는 관찰되지 않았 으므로 이상의 결과를 통해 시험물질 맥아구절초추출복합물은 본 시험조건 하에서 복귀 돌연변이를 유발하지 않는 것으로 판단되었음

Metabolic activation	Dose ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	Number of colony / plate				
		Base-pair substitution type			Frameshift type	
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
S9Mix(-)	0	114 115 112	12 11 9	30 32 31	19 20 19	8 11 9
	Mean $\pm$ SD	114 $\pm$ 1.5	11 $\pm$ 1.5	31 $\pm$ 1.0	19 $\pm$ 0.6	9 $\pm$ 1.5
	62	111 116 112	12 13 15	30 32 31	19 20 20	9 7 7
	Mean $\pm$ SD	113 $\pm$ 2.6	13 $\pm$ 1.5	31 $\pm$ 1.0	20 $\pm$ 0.6	8 $\pm$ 1.2
	185	105 107 105	12 10 9	25 25 24	30 27 29	10 10 9
	Mean $\pm$ SD	106 $\pm$ 1.2	10 $\pm$ 1.5	25 $\pm$ 0.6	29 $\pm$ 1.5	10 $\pm$ 0.6
	556	112 112 115	9 12 13	25 28 26	30 28 29	10 8 8
	Mean $\pm$ SD	113 $\pm$ 1.7	11 $\pm$ 2.1	26 $\pm$ 1.5	29 $\pm$ 1.0	9 $\pm$ 1.2
	1667	97 93 95	10 12 10	37 40 38	26 25 28	12 8 8
	Mean $\pm$ SD	95 $\pm$ 2.0	11 $\pm$ 1.2	38 $\pm$ 1.5	26 $\pm$ 1.5	9 $\pm$ 2.3
5000	90 90 88	10 10 11	37 36 35	29 30 31	12 12 11	
Mean $\pm$ SD	89 $\pm$ 1.2	10 $\pm$ 0.6	36 $\pm$ 1.0	30 $\pm$ 1.0	12 $\pm$ 0.6	
S9Mix(+)	0	80 80 84	12 11 10	38 38 36	37 37 38	20 14 17
	Mean $\pm$ SD	81 $\pm$ 2.3	11 $\pm$ 1.0	37 $\pm$ 1.2	37 $\pm$ 0.6	17 $\pm$ 3.0
	62	85 87 85	13 8 12	36 39 37	35 36 37	20 20 19
	Mean $\pm$ SD	86 $\pm$ 1.2	11 $\pm$ 2.6	37 $\pm$ 1.5	36 $\pm$ 1.0	20 $\pm$ 0.6
	185	88 85 86	10 13 10	40 39 39	38 36 40	16 14 17
	Mean $\pm$ SD	86 $\pm$ 1.5	11 $\pm$ 1.7	39 $\pm$ 0.6	38 $\pm$ 2.0	16 $\pm$ 1.5
	556	83 84 82	9 12 13	34 32 35	43 42 43	18 13 15
	Mean $\pm$ SD	83 $\pm$ 1.0	11 $\pm$ 2.1	34 $\pm$ 1.5	43 $\pm$ 0.6	15 $\pm$ 2.5
	1667	80 80 78	13 9 12	33 33 32	44 45 46	16 15 16
	Mean $\pm$ SD	79 $\pm$ 1.2	11 $\pm$ 2.1	33 $\pm$ 0.6	45 $\pm$ 1.0	16 $\pm$ 0.6
5000	95 95 98	10 10 7	33 32 33	29 30 30	22 20 22	
Mean $\pm$ SD	96 $\pm$ 1.7	9 $\pm$ 1.7	33 $\pm$ 0.6	30 $\pm$ 0.6	21 $\pm$ 1.2	
Positive controls	Positive	AF-2	NaN <sub>1</sub>	4-NQO	AF-2	9-AA
	Dose	0.01	0.5	0.25	0.1	80.0
	Number of colony	504 412 516	296 292 332	372 292 312	348 424 348	2062 2131 2024
	Mean $\pm$ SD	477 $\pm$ 56.9	307 $\pm$ 22.0	325 $\pm$ 41.6	373 $\pm$ 43.9	2072 $\pm$ 54.2
	Positive	2-AA	2-AA	2-AA	BP	2-AA
	Dose	1.0	2.0	10.0	10.0	2.0
	Number of colony	500 544 496	304 352 228	248 230 292	304 304 368	236 216 280
	Mean $\pm$ SD	513 $\pm$ 26.6	295 $\pm$ 62.5	257 $\pm$ 31.9	325 $\pm$ 37.0	244 $\pm$ 32.7

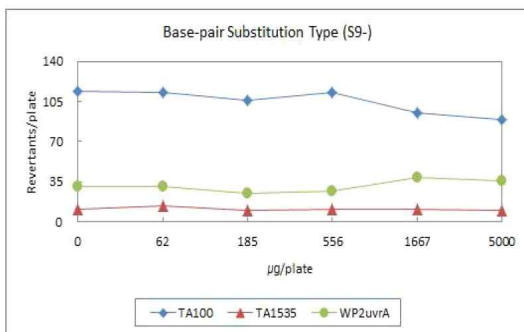


Figure 1. 직접법에서 염기치환형 균주의 용량반응곡선

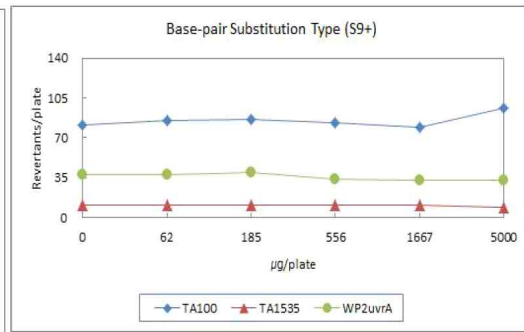


Figure 2. 대사활성법에서 염기치환형 균주의 용량반응곡선

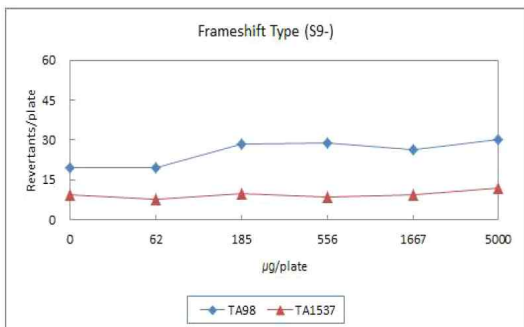


Figure 3. 직접법에서 frameshift형 균주의 용량반응곡선

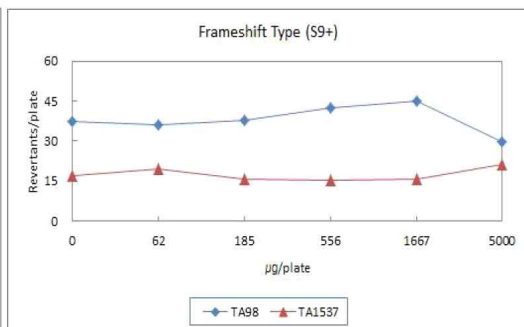


Figure 4. 대사활성법에서 frameshift형 균주의 용량반응곡선

(바) (유전독성) 포유류 배양세포를 이용한 맥아구절초추출복합물의 염색체이상 시험

① 맥아구절초추출복합물의 유전독성을 평가하기 위하여 Chinese hamster 유래의 난소유아세포 (CHO-k1 cell)를 이용하여 대사활성효소계 (S9)를 적용한 대사활성화법 (+S9 mix) 및 적용하지 않은 직접법 (-S9 mix)에서 염색체이상시험을 실시하였으며, 시험물질 최고처리농도를 결정하여 공비 3의 3 단계 농도군으로 다음과 같이 정하였음

- 직접법 (-S9 mix, 24 시간 연속처리군) : 61.73, 185.19, 555.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$
- 직접법 (-S9 mix, 6 시간 처리 18 시간 회복군) : 61.73, 185.19, 555.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$
- 대사활성법 (+S9 mix, 6 시간 처리 18 시간 회복군) : 61.73, 185.19, 555.56  $\mu\text{g}/\text{ml}$

② 본시험 결과 대사활성화를 적용시키지 않은 직접법의 24 시간 연속처리군 및 6 시간 처리 18 시간 회복군의 경우 이상증기상의 빈도가 음성대조군과 비교하여 모든 처리농도에서 통계적으로 유의한 증가를 관찰할 수 없었으며, 대사활성법 (6 시간 처리 18 시간 회복군)의 경우, 모든 처리군에 있어서 이상증기상의 빈도는 음성대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 증가를 관찰할 수 없었고, 직접법 및 대사활성법에 있어서 배수성과 핵내 배화의 빈도 또한 음성대조군에 비해 통계학적으로 유의한 증가를 보이지 않았음

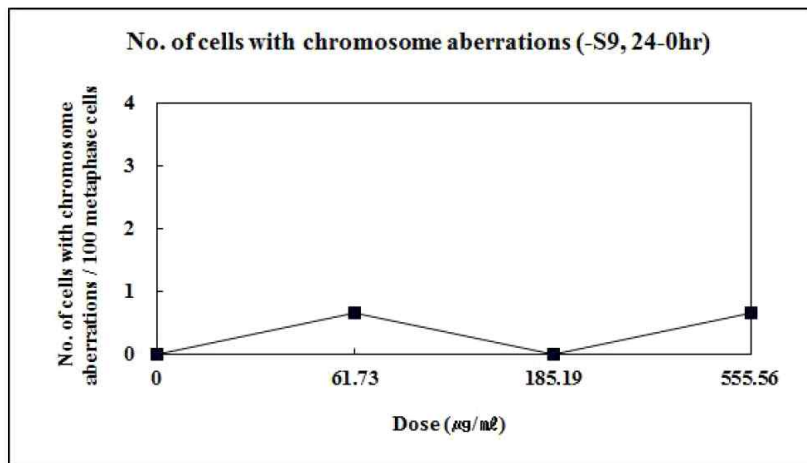


Figure 1. The number of cells with chromosome aberrations in the absence of S9 mix (24 hrs treatment).

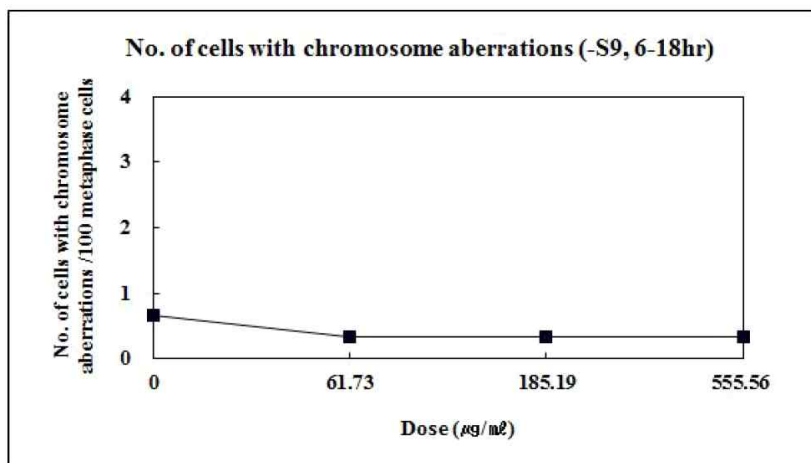


Figure 2. The number of cells with chromosome aberrations in the absence of S9 mix (6 hrs treatment).

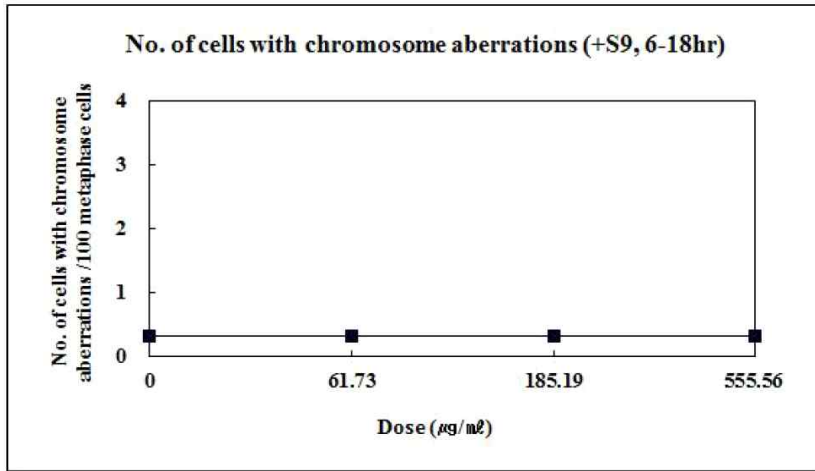


Figure 3. The number of cells with chromosome aberrations in the presence of S9 mix (6 hrs treatment).

Exposure <sup>a)</sup>	S9 mix	Dose (µg/ml)	No. of total chromosome aberrations (Mean)		No. of cells with chromosome aberrations (Mean)		PP+ER (Mean)
			(-)Gap	(+)Gap	(-)Gap	(+)Gap	
24-0	-	Negative control	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	-	61.73	0.67	0.67	0.67	0.67	0.00
	-	185.19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	-	555.56	0.67	0.67	0.67	0.67	0.00
	-	MMC (0.04)	22.00	22.00	22.00*	22.00	0.00
6-18	-	Negative control	0.67	0.67	0.67	0.67	0.00
	-	61.73	0.33	0.33	0.33	0.33	0.00
	-	185.19	0.33	0.33	0.33	0.33	0.00
	-	555.56	0.33	0.33	0.33	0.33	0.00
	-	MMC (0.04)	12.33	12.33	12.33*	12.33	0.00

\* Significantly different from the negative control at  $p < 0.05$

Test substance : 맥아구절초추출복합물

a) Treatment time-recovery time

MMC : Mitomycin C (0.04 µg/ml)

PP : Polyploidy

ER : Endoreduplication

Exposure <sup>a)</sup>	S9 mix	Dose ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ )	No. of total chromosome aberrations (Mean)		No. of cells with chromosome aberrations (Mean)		PP+ER (Mean)
			(-)Gap	(+)Gap	(-)Gap	(+)Gap	
			6-18	+	Negative control	0.33	
	+	61.73	0.33	0.33	0.33	0.33	0.00
	+	185.19	0.33	0.33	0.33	0.33	0.00
	+	555.56	0.33	0.33	0.33	0.33	0.00
	+	CPA (10)	10.33	10.33	10.33*	10.33	0.00

\* Significantly different from the negative control at  $p < 0.05$

Test substance : 맥아구절초추출복합물

a) Treatment time-recovery time

CPA : Cyclophosphamide · H<sub>2</sub>O (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

PP : Polyploidy

ER : Endoreduplication

- ③ 이상의 결과를 종합할 때, 맥아구절초추출복합물은 본 시험 조건하에서 CHO-k1 세포에 대해 염색체이상을 유발하지 않는 것으로 판단됨

(사) (유전독성) ICR 마우스 골수세포를 이용한 맥아구절초추출복합물의 소핵시험

- ① 맥아구절초추출복합물에 대한 발암성 유발 유·무 판단의 기초 자료를 얻기 위하여 유전독성시험 중 ICR 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시하였음
- ② 생후 8 주령의 수컷 마우스에 시험물질 맥아구절초추출복합물을 2000 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 500 mg/kg bw/day의 용량으로 경구 투여하였고, 투여 후 18~24 시간에 골수세포를 채취하여 소핵유발빈도와 세포독성을 평가하였음
  - 본 시험에서 개체 당 약 4000 개의 다염성적혈구 (PCE)를 대상으로 소핵이 관찰되는 다염성적혈구 (MNPCE)의 수를 계수한 결과 모든 시험물질 투여군 (2000 mg/kg bw/day, 1000 mg/kg bw/day, 500 mg/kg bw/day)에서 부형제 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나, 양성대조군의 소핵유발빈도는 부형제 대조군과 비교 시 현저한 증가가 관찰되었음 ( $p < 0.01$ )
  - 세포독성의 지표인 500 개의 적혈구 중 다염성적혈구 (PCE/(PCE+NCE))의 비율은 모든 시험물질 투여군에서 부형제 대조군과 비교 시 뚜렷한 골수세포의 증식억제는 나타나지 않았음

Groups		Dose (mg/kg bw/day)	Animal No.	MNPCE/4000 PCEs (Mean±SD, %)	PCE/(PCE+NCE) (Mean±SD)
Vehicle control	Vehicle	0	1	0.13	0.51
			2	0.15	0.53
			3	0.08	0.52
			4	0.18	0.51
			5	0.15 (0.14 ± 0.04)	0.48 (0.51 ± 0.02)
Test substance	맥아구질초 추출복합물	500	6	0.33	0.55
			7	0.28	0.51
			8	0.08	0.47
			9	0.10	0.48
			10	0.08 (0.17 ± 0.12)	0.52 (0.51 ± 0.03)
		1000	11	0.13	0.52
			12	0.15	0.51
			13	0.13	0.53
			14	0.28	0.55
			15	0.33 (0.20 ± 0.09)	0.60 (0.54 ± 0.04)
2000	16	0.18	0.47		
	17	0.15	0.50		
	18	0.10	0.47		
	19	0.20	0.58		
	20	0.08 (0.14 ± 0.05)	0.50 (0.50 ± 0.05)		
Positive control	MMC	2	21	12.18	0.41
			22	11.28	0.48
			23	10.13	0.40
			24	11.83	0.38
			25	10.35 (11.15 ± 0.90)**	0.44 (0.42 ± 0.04)*

Vehicle : 평균증류수

\* Significantly different from the control at  $p < 0.05$  (One-way ANOVA)

\*\* Significantly different from the control at  $p < 0.01$  (One-way ANOVA)

Abbreviations

MNPCE : Micronucleated polychromatic erythrocytes

PCE : Polychromatic erythrocyte

NCE : Normochromatic erythrocyte

MMC : Mitomycin C

Groups		Dose (mg/kg bw/day)	Animal No.	Body weights (gram, Mean±S.D)	
				Administration	Sacrifice
Vehicle control	Vehicle	0	5	35.93 ± 1.74	37.28 ± 2.29
		500	5	35.99 ± 0.80	36.56 ± 1.12
Test substance	맥아구질초 추출복합물	1000	5	36.06 ± 0.67	37.54 ± 0.67
		2000	5	36.14 ± 1.11	36.93 ± 2.18
Positive control	MMC	2	5	35.85 ± 1.28	37.12 ± 1.36

Vehicle : 평균증류수

MMC : Mitomycin C



Groups	Dose (mg/kg bw/day)	Route	Animal No.	Clinical signs	Days post dosing					
					1st administration		2nd administration		1 Day post dosing	
					post dosing	3 hrs post dosing	post dosing	3 hrs post dosing		
Vehicle control	Vehicle	0	P.O.	5	NAD	5	5	5	5	5
Test substance	맥아구절초 추출복합물	500	P.O.	5	NAD	5	5	5	5	5
		1000	P.O.	5	NAD	5	5	5	5	5
		2000	P.O.	5	NAD	5	5	5	5	5
Positive control	MMC	2	I.P.	5	NAD	5	5	5	5	5

P.O. : Per Os  
I.P. : Intraperitoneal  
MMC : Mitomycin C  
Vehicle : 멸균증류수  
NAD : No Abnormalities Detected

③ 이상의 결과로 본 시험 조건하에서 맥아구절초추출복합물은 마우스 골수세포에 대한 소핵을 유발하지 않는 것으로 판단됨

(4) 결론 및 요약표

(가) 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물은 전임상 안전성 평가에서 안전함을 검증함

시험종류		시험결과
단회 투여	설치류	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음</li> <li>• LD<sub>50</sub> &gt; 2,000 mg/kg</li> </ul>
	비설치류	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음</li> <li>• DE(dose escalation)법을 이용하여 경구투여 하였을 때 시험물질 투여와 관련된 변화 없음</li> </ul>
2주 반복	설치류	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음</li> <li>• 중대한 독성학적 변화 없음</li> <li>• 13주 반복시험 고용량 2,000 mg/kg/day로 설정해도 무방</li> </ul>
90일 반복 투여	설치류	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음</li> <li>• 중대한 독성학적 변화 없음</li> <li>• 무독성량 = 2,000 mg/kg/day</li> </ul>
유전 독성	복귀 돌연변이	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 복귀돌연변이를 유발하지 않음</li> </ul>
	염색체 이상시험	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 염색체 이상을 나타내지 않음</li> </ul>
	소핵시험	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 소핵을 유발하지 않음</li> </ul>

파. 맥아구절초추출복합물의 생리전증후군 (월경전 상태) 개선 인체적용시험

(1) 연구 목적

(가) 맥아구절초추출복합물의 일일섭취량을 기존 문헌 및 제품, 본 연구의 전임상 유효성 평가 결과를 통해 설정하고, 섭취량에 적합한 제형 및 용법을 결정하여 본 연구개발의 인체

적용시험을 수행하고자 하였음

- (나) 인체적용시험 프로토콜은 식약처와의 비대면 상담 (코로나19로 인해 모뎀토의 대체)을 통해 결정하여 최적의 결과를 도출할 수 있도록 작성하고자 하였음
- (다) 월경 전 증후군이 있는 건강인을 대상으로 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P0)의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 평행설계 인체적용시험 수행

(2) 시험 목적 및 방법

(가) 맥아구절초추출복합물 500 mg 함유 인체적용시험약 제조

- ① 개발하고자 하는 기능성 원료는 “월경 전 변화에 의한 불편한 상태 개선”에 도움을 줄 수 있음이며, 주요 target 소비자 층이 여성인 점을 고려하여 정제로 개발
- ② Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers(FDA / CDER, 2005, Pharmacology and Toxicology)에 따라, 동물모델 효력 용량인 100 mg/kg in mouse를 HED(human equivalent dose)로 전환하면 약 487 mg/day에 해당되며, 1일 1회, 1회 1정으로 맥아구절초추출복합물을 500 mg/day로 제조
  - ✓ 100 mg/kg in mouse 투여시 HED 계산
    - $100/12.3 = 8.13 \text{ mg/kg}$
    - 성인 몸무게 60 kg으로 환산시 1일 복용량은 약 0.5 g의 용량이 됨

**Table 1: Human equivalent dose calculation based on body surface area\***

Species	Reference body weight (kg)	Working weight range (kg)	Body surface area (m <sup>2</sup> )	To convert dose in mg/kg to dose in mg/m <sup>2</sup> , multiply by K <sub>m</sub>	To convert animal dose in mg/kg to HED in mg/kg, either	
					Divide animal dose by	Multiply animal dose by
Human	60	-	1.62	37	-	-
Mouse	0.02	0.011-0.034	0.007	3	12.3	0.081
Hamster	0.08	0.047-0.157	0.016	5	7.4	0.135
Rat	0.15	0.08-0.27	0.025	6	6.2	0.162
Ferret	0.30	0.16-0.54	0.043	7	5.3	0.189
Guinea pig	0.40	0.208-0.700	0.05	8	4.6	0.216
Rabbit	1.8	0.90-3.0	0.15	12	3.1	0.324
Dog	10	5-17	0.50	20	1.8	0.541
Monkeys (rhesus)	3	1.4-4.9	0.25	12	3.1	0.324
Marmoset	0.35	0.14-0.72	0.06	6	6.2	0.162
Squirrel monkey	0.60	0.29-0.97	0.09	7	5.3	0.189
Baboon	12	7-23	0.60	20	1.8	0.541
Micro pig	20	10-33	0.74	27	1.4	0.730
Mini pig	40	25-64	1.14	35	1.1	0.946

\*Data obtained from FDA draft guidelines.<sup>71</sup> FDA: Food and Drug Administration, HED: Human equivalent dose

- ③ 최종 제작될 인체적용시험 시제품은 타블렛 (정제) 형태로 맥아구절초추출복합물 (500 mg)과 부형제를 혼합하여 총 중량 1,000 mg으로 제조
- ④ 제조 공정 연구
  - 혼합: 온도(23.7℃), 습도(20%), 메시 사이즈 (20mesh)
  - 타정 조건

타정실/설비	타정 1실 / CB-ME-229
온/습도	23.7℃ / 20%
레일 사이즈(셋팅/실제)	14mm / 8.74mm
피더 속도(10~50RPM)	25 RPM
타정 속도(20~60RPM)	25 RPM

(나) 맥아구절초추출복합물의 월경전 상태개선 인체적용시험

① 1차 인체적용시험 프로토콜 확립에 따른 식약처 자료 검토 및 의견 반영

- 시험식품 섭취 전 후에 여성호르몬 (estrogen, FSH, LH) 측정
- 시험식품 섭취 전 후에 생리주기, 출산여부, 월경량 측정
- 인체적용시험을 수행하는 의사와 의논하여, 각 대상자가 생리 기간 후 방문하도록 권고하고, 설문조사를 통해 마지막 생리일로부터 몇일에 설문에 응하는 지 정보 수집
- 생리전 증후군 증상의 경감을 위해 의약외품이나 보조기구(예, 핫팩 등)를 사용한 자는 대상자에서 제외

- 의견제시 사항에 대한 인체적용시험 프로토콜 시놉시스 수정 (붉은색 표시)

연구제목:	월경전 증후군 증상을 보이는 여성을 대상으로 맥아구절초 추출혼합물(Lomens-P0)의 월경생태 개선 효과 기능성과 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 평행설계 인체적용시험
시험디자인:	무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 평행설계 인체적용시험
대상자수:	N=80 (시험군 40 / 대조군 40)
섭취기간:	84일 (섭취기간 12주로, washout period 최대 2주 및 안전성평가 2주 별도)
목적:	본 인체적용시험은 월경전 증후군 증상을 보이는 여성을 대상으로 맥아구절초 추출혼합물(Lomens-P0)을 12주간 복용했을 때 월경전 증후군 증상의 개선 가능성 및 안전성을 평가하기 위해 계획되었다.

선정기준:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 만 19 ~ 45세 이하 여성</li> <li>2. 월경이 지속되고 있는 여성</li> <li>3. 중등도 이상의 월경전 증후군 증상을 가진 자(DSR ≥ 16점)</li> <li>4. 본 연구에 참여를 동의하고, 서면 동의서에 서명한 자</li> </ol>
제외기준:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 첫 번째 방문 1개월 이내에 월경전 증후군에 영향을 줄 수 있는 약물 및 건강기능식품을 섭취한 경우</li> <li>2. 성호르몬 관련 암 및 자궁관련 암 또는 진단이 되지 않는 이상 질 출혈 등의 과거력이 있는 자</li> <li>3. 첫 번째 방문 1년 이내에 심한 편두통이 있거나, 혈전색전증, 뇌혈관질환, 심근경색, 불안정형 협심증을 진단받았거나 관상동맥 성형술을 시행한 과거력이 있는 자</li> <li>4. 우울증, 불안장애 등의 심한 정신질환이 있거나, 현재 항우울제 등 정신신경계 약물을 복용 중인 자</li> <li>5. 조절되지 않는 고혈압 환자(160/100 mmHg 이상)</li> <li>6. 조절되지 않는 갑상선질환 환자</li> <li>7. 약물 또는 알코올 중독자</li> <li>8. ALT 또는 AST가 정상 상한치의 3배 이상인 자</li> <li>9. Creatinine 이 정상 상한치의 2배를 초과한 자</li> <li>10. 첫 번째 방문 1개월 이내에 다른 임상연구에 참여한 자</li> <li>11. 기타 연구자가 본 연구에 참여하기에 부적절하다고 판단하는 자</li> <li>12. 월경전 증후군 증상의 경감을 위해 의약외품이나 보조기구(예, 핫팩 등)를 사용한 자</li> </ol>

평가	1차 유효성평가:	The Penn State Daily Symptom Report (DSR)
	2차 유효성평가:	The Calendar of Premenstrual Experience (COPE)
	안전성 평가항목	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 이상반응</li> <li>• 혈액검사(hematologic examination, blood chemical test), Urinalysis <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Blood Chemistry: AST(GOT), ALT(GPT), r-GTP, ALP, bilirubin-Total, Total Protein, Albumin, Cholesterol total, TG, HDL-C, LDL-C, BUN, Creatinine, Uric acid, Glucose</li> <li>✓ CBC (Differential Count): WBC, RBC, Haemoglobin, Haematocrit, Platelet, Neutrophils, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophils, Basophils</li> <li>✓ Urinalysis: ph, Protein, Glucose, WBC, RBC, Specific Gravity</li> <li>✓ FSH, LH, Estrogen, Progesterone, Prolactin, Prostaglandin E2</li> </ul> </li> <li>• 활력징후 (맥박, 혈압), 체중</li> </ul>
추가 평가항목	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 월경 이력 설문지 (생리주기, 출산여부, 월경량)</li> </ul>	

· 특히, 시험식품 섭취 전 월경이 지속되고 있는 여성인지, 생리전 증후군의 증상이 명확히 나타나는지에 대한 철저한 검토를 위해 2개월간의 스크리닝 기간을 두어 본 연구의 인체적용시험에 대한 적합한 시험자를 모집하려고 하였음

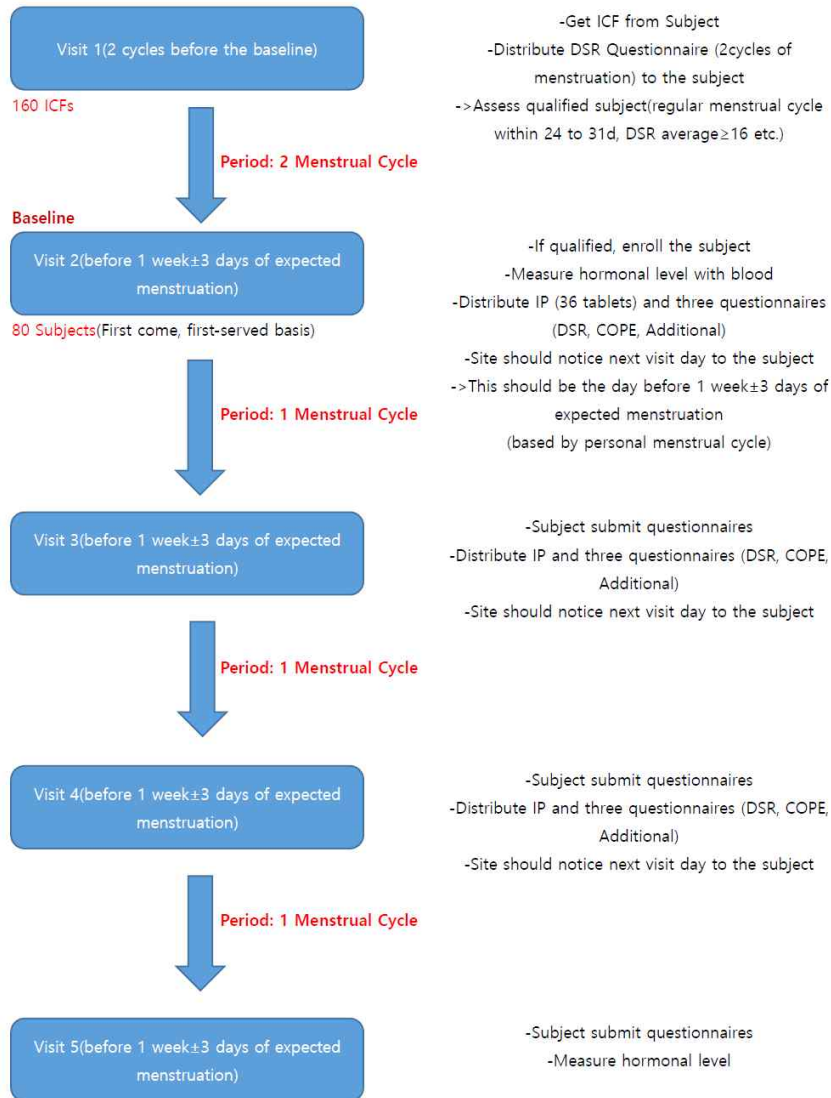
② 최종 인체적용시험 프로토콜 확립 (시놉시스 첨부)

- Protocol number: FT14-0B1

Study Title	A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel study of Lomens-P0 to evaluate the efficacy and safety on healthy subjects with Premenstrual Syndrome (PMS)
Phase	Clinical Validation
Principal Investigator	Dr. V. Narayanaswamy
Site	Single center
Site/country	Vagus Super Speciality Hospital, 18th Cross road, Margose road, Malleshwaram West, Bangalore-560003/ India
Treatment Period	84 days (12 weeks)
Purpose	This study aims to investigate for efficacy and safety of Lomens-P0. When the subjects with PMS will have Lomens-P0 during 12 weeks, the change of their symptoms related to PMS will be assessed.
Design	A 12-week, Randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel study
Sample size	N=80 (Experimental group=40 /Control group=40)
Dosage Regimen	One tablet Orally once daily
Inclusion criteria	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Women aged 19-45 years</li> <li>2. Subject who voluntarily agrees to participate and signs in ICF</li> <li>3. Women who have menstruation</li> <li>4. Menstrual cycle range not longer than 31 or shorter than 24 days for at least last 6 months</li> <li>5. Subject's next approaching menstrual cycle not falling within next 10 days from screening day.</li> </ol> Mild to moderate symptoms of premenstrual syndrome (score $\geq 16$ ), identified by the DSR and Follicular score less than 40 identified by the COPE. The scores will be calculated by averaging the scores of six days before 1 <sup>st</sup> day of menstruation for 2 consecutive menstrual cycle from visit 1 to visit 2.
Exclusion	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Subject who took medicine or health functional food related to</li> </ol>

Criteria	<p>PMS</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. Subject with a history of uterine cancer and sex hormone-related cancer, or undiagnosed uterine bleeding</li> <li>3. Subject with a severe migraine or diagnosed with thromboembolism, cerebrovascular disease, myocardial infarction, unstable angina, or a history of coronary angioplasty within a year</li> <li>4. Subject with severe mental illness, such as depression and anxiety disorder, or who is currently taking neuro-psychotic drug such as antidepressants</li> <li>5. Uncontrolled hypertension disease (160/100 mmHg and above)</li> <li>6. Uncontrolled thyroid disease</li> <li>7. Drug or alcohol abusers</li> <li>8. Participated in another clinical trial within one month of the start of this clinical trial, or plan to participate in another clinical trial during the trial</li> <li>9. Any condition that in the opinion of the investigator does not justify the subject's inclusion for the study</li> <li>10. Subject who uses sanitary aids or extra equipment (e.g. Hot water bottle, Instant hot pack Heating pad (electrical) to abdomen and lumbar, Instant ice pack to limbs) to relieve PMS</li> <li>11. Subject who plans to conceive within 3 months, Breastfeeding women and pregnant woman</li> <li>12. Actual or recent participation in psychotherapy due to premenstrual symptoms</li> <li>13. Allergy with any of the ingredients of the IP</li> <li>14. Women who are surgically sterilised, hysterectomised, or ovariectomised</li> <li>15. Subjects on the treatment of infertility</li> <li>16. Any gynaecological disease like cysts, fibroids, malignancy.</li> <li>17. Woman reaching menopause</li> <li>18. Subjects using hormonal contraception</li> </ol>								
Assessment	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="440 1048 613 1111">Primary Endpoint</td> <td data-bbox="613 1048 1362 1111">The Penn State daily Symptom Report (DSR)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 1111 613 1173">Secondary Endpoint</td> <td data-bbox="613 1111 1362 1173">The Calendar of Premenstrual Experience (COPE)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 1173 613 1592">Safety Assessment</td> <td data-bbox="613 1173 1362 1592"> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Adverse Event</li> <li>- Blood test (hematologic examination, blood chemical test), Urinalysis <ul style="list-style-type: none"> <li>● Blood Chemistry: AST(GOT), ALT(GPT), GGT, ALP, bilirubin-Total, Total Protein, Albumin, Cholesterol total, TG, HDL-C, LDL-C, BUN, Creatinine, Uric acid, Glucose</li> <li>● CBC (Differential Count): WBC (Neutrophils, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophils, Basophils), RBC, Haemoglobin, Haematocrit, Platelet,</li> <li>● Urinalysis: pH, Protein, Glucose, RBC, Specific Gravity</li> <li>● FSH, LH, Estrogen, Prolactin level</li> </ul> </li> <li>- Vital sign (Pulse, Blood pressure), Body weight</li> </ul> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="440 1592 613 1659">Additional Assessment</td> <td data-bbox="613 1592 1362 1659">Pictorial Blood Loss Assessment Chart</td> </tr> </table>	Primary Endpoint	The Penn State daily Symptom Report (DSR)	Secondary Endpoint	The Calendar of Premenstrual Experience (COPE)	Safety Assessment	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adverse Event</li> <li>- Blood test (hematologic examination, blood chemical test), Urinalysis <ul style="list-style-type: none"> <li>● Blood Chemistry: AST(GOT), ALT(GPT), GGT, ALP, bilirubin-Total, Total Protein, Albumin, Cholesterol total, TG, HDL-C, LDL-C, BUN, Creatinine, Uric acid, Glucose</li> <li>● CBC (Differential Count): WBC (Neutrophils, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophils, Basophils), RBC, Haemoglobin, Haematocrit, Platelet,</li> <li>● Urinalysis: pH, Protein, Glucose, RBC, Specific Gravity</li> <li>● FSH, LH, Estrogen, Prolactin level</li> </ul> </li> <li>- Vital sign (Pulse, Blood pressure), Body weight</li> </ul>	Additional Assessment	Pictorial Blood Loss Assessment Chart
Primary Endpoint	The Penn State daily Symptom Report (DSR)								
Secondary Endpoint	The Calendar of Premenstrual Experience (COPE)								
Safety Assessment	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adverse Event</li> <li>- Blood test (hematologic examination, blood chemical test), Urinalysis <ul style="list-style-type: none"> <li>● Blood Chemistry: AST(GOT), ALT(GPT), GGT, ALP, bilirubin-Total, Total Protein, Albumin, Cholesterol total, TG, HDL-C, LDL-C, BUN, Creatinine, Uric acid, Glucose</li> <li>● CBC (Differential Count): WBC (Neutrophils, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophils, Basophils), RBC, Haemoglobin, Haematocrit, Platelet,</li> <li>● Urinalysis: pH, Protein, Glucose, RBC, Specific Gravity</li> <li>● FSH, LH, Estrogen, Prolactin level</li> </ul> </li> <li>- Vital sign (Pulse, Blood pressure), Body weight</li> </ul>								
Additional Assessment	Pictorial Blood Loss Assessment Chart								

- 인체적용시험 프로토콜 모식도



③ 인체적용시험 수행

원료명	맥아구절초추출복합물
연구제목	월경 전 증후군이 있는 건강인을 대상으로 Lomens-P0의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 평행설계 인체적용시험
시험책임자	Dr. V. Narayanaswamy
인체적용시험 실시기관	Vagus Super Speciality Hospital

· 통계학적 방법

: 기저점 대비 시점별 각 군의 통계적 평균, 표준편차, 중앙값, 범위를 계산하며, 인구학적 특징과 기저점에서의 차이는 ITT, PP로 분석함 (CRAN R software version 4.0.4)

- 인체적용시험 IRB 승인 letter (첫페이지 첨부)



**Dr. Shanmukhananda. P.**  
MBBS, MD (Pharmacology)  
Chairperson  
9845045425

**Ms. Sonika Handae**  
MSC (Biotechnology)  
Member Secretary  
8971832402

**MEMBERS :**

**Dr. Narayan Swamy V**  
MBBS, MD  
Member

**Dr. G.K Prakash**  
MBBS, MD, FICA  
(Community Medicine)  
Member

**Dr. Shwetha H**  
MBBS, MD  
(Pharmacology)  
Member

**Adv. Harish**  
B.A., LLB (Lawyer)  
Member

**Mr Somashekar**  
BA, MSW  
(Social Worker)  
Member

**Srivatsa G.S**  
B.Sc., M.Sc., CR  
(Scientific Person)  
Conveyer

**Prem Kumar S**  
D. Pharma (Pharmacist)  
Member

**Santosh V Rao**  
B.E. Civil (Lay Person)  
Member

Confidential

EC Registration Number: ECR/1181/Inst/KA,2019

Date: 14-May-2020

**Dr. V. Narayanaswamy**

**Consultant**

**Dept. of Obstetrics and Gynaccology, Vagus Superspeciality Hospital,  
18<sup>th</sup> Cross Rd. Margosa Road, Malleshwaram,  
Bengaluru, 560003  
Karnataka, India.**

**Subject: Ethics Committee approval for the conduct of the referenced study.**

**Reference: Study Code: FT14-0B1**

**Study Title: A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel study of Lomens-P0 to evaluate the efficacy and safety on healthy subjects with Premenstrual Syndrome (PMS)**

**Dear V. Narayanaswamy**

We have received from you the following documents:

Your letter dated 04<sup>th</sup> May 2020, with regards to the proposal of carrying out the referenced study at Vagus Superspeciality Hospital. The Vagus Institutional ethica committee reviewed and discussed your application to conduct the clinical trial entitled "A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel study of Lomens-P0 to evaluate the efficacy and safety on healthy subjects with Premenstrual Syndrome (PMS)" on 12 May 2020.



(3) 연구결과

(가) 인체적용시험용 시험식품 (주약) 및 대조식품 (위약) 제조

- ① 고프로락틴혈증 유도 mouse 동물모델에서 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P0, DKB-121)은 100 mg/kg에서 유효농도를 나타내었으며, 따라서, 인체적용시험의 섭취량을 500 mg/day로 결정하여 인체적용시험식품과 대조식품을 제조하였음

인체적용시험 시제품 생산 제형 연구(시험식품)

## 인체적용시험 시제품 생산 제형 연구(주약)

【제형】	제피정제	【내용량】	1000 mg	【크기,모양】	AP장방형
【색상】		【섭취량】	1일1회 1회1정	【유형】	
Code	원료명	배합비	단위중량	표시량 (mg/1일)	
<b>【배합비율】-내용물</b>					
	제공원료 DKB-121	50.0000 %	500.0000 mg	500mg/1정	
100000577	유당	30.0000 %	300.0000 mg		
100001586	결정셀룰로스(102D)	14.4552 %	144.5520 mg		
100001395	스테아린산마그네슘	1.0000 %	10.0000 mg		
100000595	이산화규소	1.5000 %	15.0000 mg	969.5520	
<b>【코팅】 - 초록색</b>					
100000645	HPMC(히드록시프로필메틸셀룰로스)	2.0000 %	20.0000 mg		
100001270	글리세린지방산에스테르	0.2000 %	2.0000 mg		
100000761	이산화티타늄	0.4921 %	4.9210 mg		
100001096	치자황색소(치자황색600(#M4015))	0.1448 %	1.4480 mg		
100000122	치자청색소(치자블루에스비#M1637)	0.2079 %	2.0790 mg		
100000563	주정	25.0600 %	250.6000 mg		
합계		100.0000 %	1000.0000 mg		

## 인체적용시험 시제품 생산 제형 연구(대조식품)

### 인체적용시험 시제품 생산 제형 연구(위약)

【제형】	제피정제	【내용량】	1000 mg	【크기,모양】	AP장방형
【색상】		【섭취량】	1일1회 1회1정	【유형】	
Code	원료명	배합비	단위중량	표시량 (mg/1일)	
<b>【배합비율】-내용물</b>					
100001586	결정셀룰로스(102D)	57.8972 %	578.9720 mg		
100000780	분말카라멜색소(#8423)	2.0000 %	20.0000 mg		
100001733	식용색소 적색40호	0.0080 %	0.0800 mg		
100000194	식용색소 황색4호	0.0500 %	0.5000 mg		
100000577	유당	35.0000 %	350.0000 mg		
100000595	이산화규소	1.0000 %	10.0000 mg		
100001395	스테아린산마그네슘	1.0000 %	10.0000 mg	969.5520	
<b>【코팅】 - 초록색</b>					
100000645	HPMC(히드록시프로필메틸셀룰로스)	2.0000 %	20.0000 mg		
100001270	글리세린지방산에스테르	0.2000 %	2.0000 mg		
100000761	이산화티타늄	0.4921 %	4.9210 mg		
100001096	치자황색소(치자황색600(#M4015))	0.1448 %	1.4480 mg		
100000122	치자청색소(치자블루에스비#M1637)	0.2079 %	2.0790 mg		
100000563	주정	25.0600 %	250.6000 mg		
합계		100.0000 %	1000.0000 mg		

<주약>



<위약>



### ② 인체적용시험용 시제품 생산/포장

- 인체적용시험 시제품 (시험군 및 위약군) 생산량 확정
  - 인체적용시험 예상 피험자 수 : 100 명(시험군 1군 50명, 대조군 1군 50명)
  - 인체적용시험용 식품 섭취 방법 : 1일 1회, 1회 1정 섭취(복합원료로써 500mg/day)
  - 섭취기간 : 12 주
  - 인체적용시험 시험식품 및 위약군 정제 생산량



산출 항목	시험식품	위약
피험자 모집 인원	50 명	50 명
1차 분출 복용 가능일	54 일	54 일
2차 분출 복용 가능일	54 일	54 일
총 복용일	108 일	108 일
섭취 방법	1일 1정	1일 1정
실 필요 정 수	5,400 정	5,400 정
포장 단위 1 PTP(6정 포장)	900 PTP	900 PTP
생산 정수(실 필요량의 1.5배)	8,100 정	8,100 정
생산 포장 단위 PTP(실 필요량의 1.5배)	1,350 PTP	1,350 PTP

→ 건강기능식품 OEM 전문업체인 (주)코스맥스바이오에서 위탁생산 완료(시험약 및 위약을 균별 약 8,100 정)

- 시생산 기록서(코스맥스바이오)
- 시험 식품 최종 타정 규격

항목	규격	결과
경도 (Kgf)	14~17	14~17
두께 (mm)	6.85 ~6.94	5.9~6.1
중량 (mg)	969.5±3%	963~973
마손도 (%)	1.0% 이하	0.1% 이하
붕해 (분)	60분 이내	25분

- 대조 식품 최종 타정 규격

항목	규격	결과
경도 (Kgf)	18~19	19~21
두께 (mm)	6.8 ~6.9	5.9~6.1
중량 (mg)	969.5±3%	884~889
마손도 (%)	1.0% 이하	0.01% 이하
붕해 (분)	60분 이내	20분

(나) 월경전 상태개선 인체적용시험 개요 및 결과 요약

연구제목	월경전 증후군이 있는 건강인을 대상으로 Lomens-P0 (맥아구절초추출복합물)의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 평행설계 인체적용시험
시험 원료명	맥아구절초추출복합물 (Lomens-P0)
기능성	월경전증후군 (Premenstrual syndrome, PMS)
연구방법	본 연구는 월경전 증후군이 있는 건강인을 대상으로 Lomens-P0를 12주간 복용 후 유효성과 안전성을 평가하기 위한 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 평행설계 연구였다. 등록된 대상자는 1:1 비율로 두 군에 무작위 배정되어 12주간 연구에 참여했다. 경증에서 중등도의 월경전 증후군 증상이 있는 19 세 이상 45 세 이하의 건강한 여성을 대상으로 대상자 서면 동의를 획득한 후 적합성을 평가하고 연구에 모집하였다. 연구 대상자(n=80)는 두 군(40:40)에 동일하게 무작위 배정되었다. <ul style="list-style-type: none"> <li>• 시험군: 하루 한 알의 정제를 물과 함께 경구 섭취 (1,000mg/일, Lomens-P0 로서 500 mg/일)</li> <li>• 대조군: 하루 한 알의 정제를 물과 함께 경구 섭취</li> </ul>

	(1,000mg/일, Lomens-P0 로서 0 mg/일)
의뢰자	(주)제넨셀 (경기도 용인시 기흥구)
인체적용시험 계획서 번호 및 CTRI 등록번호	FT14-0B1, CTRI/2020/06/025609
연구단계	기능성 원료 인체적용시험
연구일자	첫 대상자 등록일: 2020년 06월 11일 마지막 대상자 완료일: 2021년 03월 04일
인체적용시험 실시기관	인도 Vagus Super Speciality Hospital
시험 책임자	Dr. V. Narayanaswamy
의뢰자 대행사	(주)리서치멘토
GCP 성명	본 연구는 근거문서의 보관을 포함하여 ICH-GCP를 준수하며 진행되었다.
연구목적	1) 1차목적: Penn State Daily Symptom Report (DSR)을 사용하여 Lomens-P0와 그 대조약의 PMS 증상 개선에 대해 유효성을 비교평가하기 위함 2) 2차목적: Calendar of Premenstrual Experience (COPE)를 사용하여 Lomens-P0와 그 대조약의 PMS 증상 개선에 대해 유효성을 비교평가하기 위함
연구방법	본 연구는 월경 전 증후군 증상을 가진 건강한 대상자를 대상으로 12주간 Lomens-P0를 섭취했을 때 유효성과 안전성을 평가하기 위한 12주, 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 평행 설계 인체적용 시험이었다. 등록된 대상자는 2개의 군에 1:1 비율로 무작위 배정되어 12주간 하루 1알의 정제를 섭취했다. 스크리닝 방문일에 대상자는 DSR과 COPE 설문지를 제공받아 다음 2번의 연속된 월경주기 동안 설문지를 작성하였으며, 이후에 DSR (점수 16점 이상), COPE(점수 40점 미만)인지를 포함하여 모든 선정/제외기준을 평가했다. 2회의 연속된 주기의 평균으로 적격성을 판단하였으며 DSR 월경 전 점수와 COPE 여포기 점수는 방문 2에 수집했다. 이 두 달의 기간 동안, 각 대상자별로 두 개의 설문지를 작성하도록 전화로 추적관찰을 진행했다. DSR과 COPE로 적격성을 만족하는 대상자만 모집되어 2개의 군에 무작위 배정되었다. 모집된 대상자는 무작위 배정표에 따라 인체적용시험용 식품을 제공받아 12주 동안 매일 1,000mg 의 정제를 섭취했다. Lomens-P0의 유효성 평가를 목적으로, 기저점의 DSR 점수는 3차 월경주기 시작 이전 6일의 총점으로, COPE 점수는 2차 월경주기의 마지막 7일의 총점으로 설정했다. 섭취 종료 시점의 DSR 점수는 7차 월경주기 시작 이전 6일의 총점으로, COPE 점수는 6차 월경주기의 마지막 7일의 총점으로 설정했다. 추가 분석으로 PBAC을 작성하고 기저점 및 섭취종료 시점에서 월경혈량의 변화를 확인했다. 안전성 분석을 위해 혈액화학적 검사, 뇨검사, 여포자극호르몬 (FSH), 황체형성호르몬(LH), 에스트로겐, 프로락틴, 생체징후 측정이 방문 2와 방문 5에 진행되었으며 분석되었다.
대상자 수	계획된 대상자 수: 80명 / 분석한 대상자 수: 80명
선정에 대한 진단 및 주요 기준	지난 6 개월 간 월경주기가 24 일에서 31 일 사이인 19 세~45 세, 스크리닝 방문일을 기준으로 월경주기가 10 일 초과, DSR 월경 전 점수로 평가 시 경증 및 중증의 월경 전 증상을 보유(16 점 이상), COPE 여포기 점수가 40 점 미만인 여성이 연구에 참여했다. 적격성에 대한 DSR 과 COPE 점수를 식별하기 위해 연속된 2 회의 월경주기 점수의 평균을 측정했다.

인체적용시험용 식품의 용법 및 용량	하루 한 알의 정제를 Lomens-P0 로서 500 mg/일, 경구 섭취
기간	12주 중재
평가기준	<p>1) 1차 유효성 평가 다음 지표에 대해 기저점 대비 섭취 종료 시점에서의 임상적으로 유의한 양의 변화 - The Penn State Daily Symptom Report (DSR)</p> <p>2) 2차 유효성 평가 다음 지표에 대해 기저점 대비 섭취 종료 시점에서의 임상적으로 유의한 양의 변화 - The Calendar of Premenstrual Experience (COPE) scores</p> <p>3) 안전성 평가 1. 이상반응 2. 혈액화학적 검사: Aspartate aminotransferase (AST), alanine transaminase (ALT), gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, total protein, albumin, total cholesterol, triglyceride, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), blood urea nitrogen (BUN), creatinine, uric acid, and glucose 3. 일반혈액검사 (Differential Count): white blood cell (WBC) (neutrophils, lymphocyte, monocyte, eosinophils, and basophils), red blood cell (RBC), hemoglobin, hematocrit, and platelets 4. 뇨검사: pH, protein, glucose, RBC, and specific Gravity. 5. Follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estrogen, and prolactin level 6. Vital signs (pulse and blood pressure), and Body weight</p> <p>4) 추가 측정 Pictorial blood loss assessment chart (PBAC)</p>
통계학적 방법	<p>모든 자료는 각 군에 따라 요약되었으며, 필요한 경우, 자료는 각 군에 방문별로 나누어 요약했다.</p> <p>안전성 평가지표는 안전성 분석군으로 요약했다. 점수에 대해서, 기저점 대비 시점 별 각 군의 통계적 평균, 표준편차, 중앙값, 범위(최소와 최대값)를 계산하여 요약했다. 인구학적 특징과 기저점에서의 차이는 intention-to-treat (ITT), per protocol (PP), 안전성 평가 분석군으로 요약했다.</p> <p>유효성 평가지표는 ITT와 PP를 사용하여 분석하여 요약했다. 안전성 평가지표는 안전성 평가 분석군으로 요약했다. 적어도 한번 이상의 이상반응이 있었던 대상자의 수를 수와 백분율로 표로 요약했다. 각 이벤트가 발생한 대상자의 수(%)와 이벤트 수를 나타냈다.</p> <p>CRAN R software version 4.0.4가 통계분석에 사용되었다.</p>
결과/결론 요약	<p>&lt;유효성 결과&gt;</p> <p>DSR 월경전 점수와 COPE 황체기 점수에 대해 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화를 두 개의 군에서 분석했다. 경도 및 중등도의 월경전 증후군이 있는 대상자가 Lomens-P0를 섭취했을 때 섭취 12주 후에 임상적, 통계적으로 유의미한 개선이 확인되었다. Lomens-P0 군에서 DSR과 COPE에 대해 기저점 대비 섭취 종료 시점에 월경전 증후군 증상의 경감을 의미하는 통계적으로 유의미한 개선이 확인되었다. Lomens-P0군에서 섭취 종료시점에 월경전 증후군의 정도가 감소한 것을 관찰할 수 있었다.</p> <p>대조군에서는 통계적으로 유의미한 긍정적 변화가 관찰되지 않았으며 연구 기간동안 월경전 증후군 증상이 지속되는 것을 관찰할 수 있었다.</p> <p>DSR은 군내 비교 결과, ITT set 중 시험군에서 12주 섭취 후 월경전 증후군 개선의 차이가 나타났지만(p&lt;.001), 대조군에서는 나타나</p>

지 않았다. 또한, PP set 중 시험군에서 통계적으로 유의한 시점별 차이가 나타났지만( $p < .001$ ), 대조군에서는 나타나지 않았다. COPE는 군내 비교 결과, ITT set 중 시험군에서 섭취 전후로 통계적으로 유의한 차이가 나타났지만( $p < .001$ ), 대조군에서는 나타나지 않았다. 또한, PP set 중 시험군에서 통계적으로 유의한 시점별 차이가 나타났지만( $p < .001$ ), 대조군에서는 나타나지 않았다.

군간 비교 결과, ITT set 중 DSR에서 시험군과 대조군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났으며( $p < .040$ ), COPE 또한 시험군과 대조군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났다( $< .039$ ). PP set 중 DSR은 시험군과 대조군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났으며( $p < .029$ ), COPE 또한 시험군과 대조군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났다( $< .049$ ).

Population set	Parameter	Change from baseline(Mean(p-value))	
		Lomens-P0	Placebo
Intention-to-treat (ITT)	DSR(N=39)	-1.872(< 0.001)	-0.625(0.145)
	COPE(N=40)	-1.625(< 0.001)	-0.500(0.235)
Per protocol (PP)	DSR(N=39)	-1.872(< 0.001)	-0.514(0.248)
	COPE(N=37)	-1.625(< 0.001)	-0.514(0.257)

DSR: Penn State daily Symptom Report  
COPE: The Calendar of Premenstrual Experience

Population set	Parameter	Lomens-P0	Placebo	p-value
Intention-to-treat (ITT)	DSR(N=39)	-1.872	-0.625	0.040
	COPE(N=40)	-1.625	-0.500	0.039
Per protocol (PP)	DSR(N=39)	-1.872	-0.514	0.029
	COPE(N=37)	-1.625	-0.514	0.049

<안전성 결과>

Lomens-P0 군의 2 명의 대상자에서 이상반응이 보고되었다. 이상반응은 연구자에 의해 평가되었으며 대상자가 섭취한 인체적용시험용 식품과는 관련이 없는 것으로 밝혀졌다. 이상반응의 정도는 경도였다. 상태 관리를 위해서 취한 조치는 없으며, 자연적으로 치유되었다.

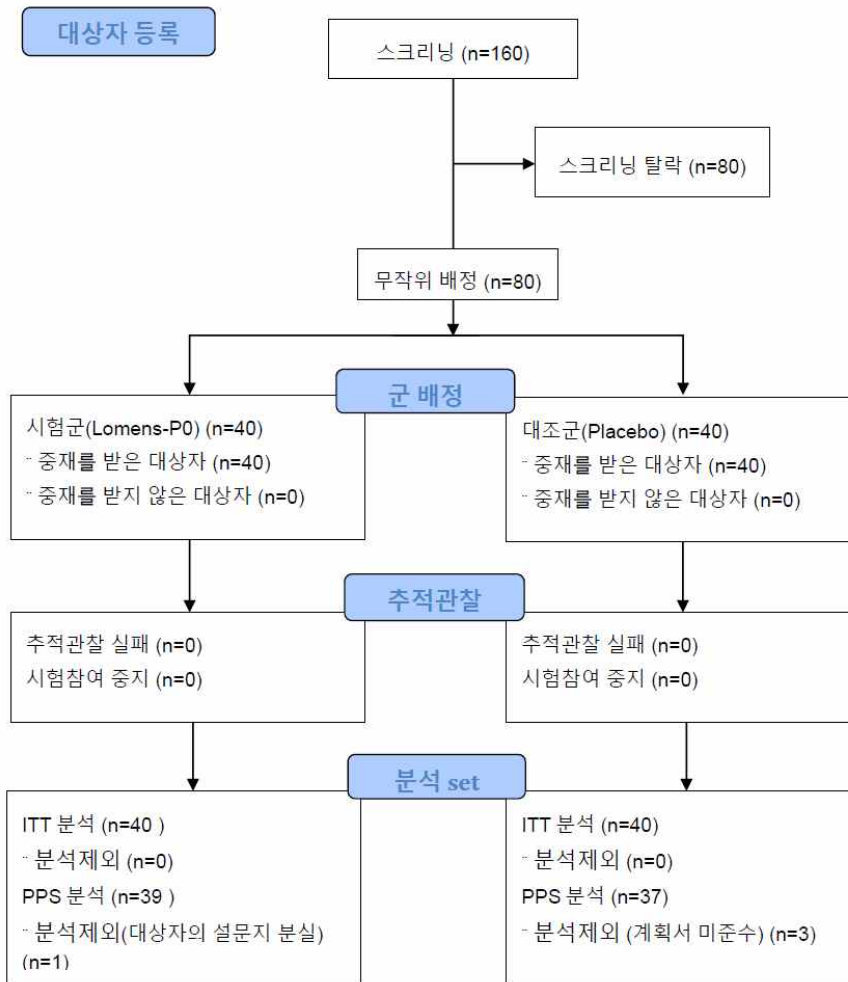
사망, 중대한 이상반응 또는 연구참여 종료를 야기하는 이상반응은 보고되지 않았으며, 실험실적 검사의 이상수치는 보고되지 않았다. 임상적으로 유의미한 생체징후와 이학적 검사결과는 없었으며, 연구자로부터 이상반응으로 보고된 것도 없었다.

따라서, Lomens-P0의 섭취는 월경전 증후군이 있는 성인 여성 대상자에게 안전하다 할 수 있다.

(다) 월경전 상태개선 인체적용시험 시험 결과

① 인체적용시험 대상자의 특성 및 결과 적용 현황

- 총 160명의 대상자가 스크리닝을 하였으며, 이 중 80명의 대상자가 무작위 배정을 받아 본 연구에 등록됨
- 시험군 40명의 연령의 중앙값은 35세(범위:23세~42세) 여성이며, 80%가 기혼이었고 20%는 미혼이었음
- 대조군 40명의 연령의 중앙값은 31세(범위:18세~45세) 여성이며, 77.5%가 기혼이었고 22.5%는 미혼이었음
- 프로토콜 위반 (분석제외 인원) 4명: 대조군 3명, 시험군 1명 (선정기준 위반 1명, 방문 일정 위반 2명, DSR 설문지 분실 1명)



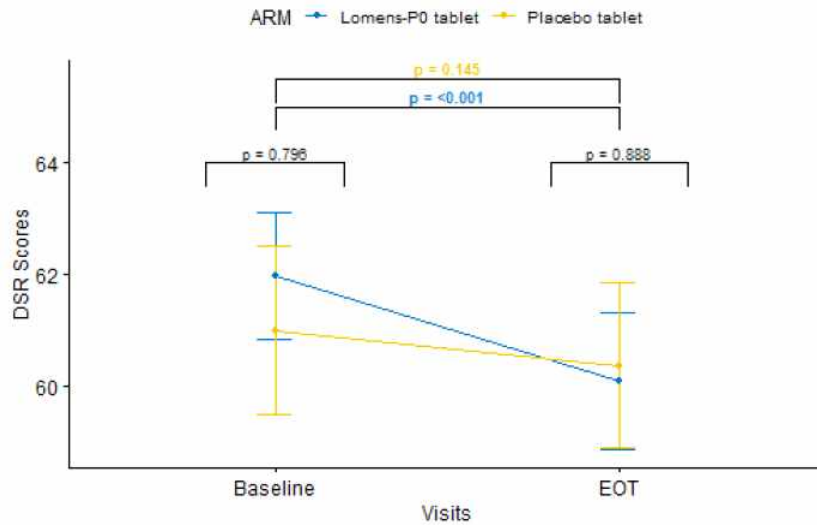
② 1차 유효성 평가 결과

- ITT 분석 결과 시험군은 대조군 대비 우수한 감소 효과가 나타남

**Table 19: Summary and change from baseline for The Penn State daily Symptom Report (DSR) between treatment groups [ITT population] – Independent t-test**

	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline Scores</b>			0.796
N	40	40	
Mean (SD)	61.500 (7.669)	61.000 (9.479)	
Median	63.000	62.000	
Minimum	43.000	42.000	
Maximum	80.000	79.000	
<b>EOT Scores</b>			0.888
N	39	40	
Mean (SD)	60.103 (7.670)	60.375 (9.347)	
Median	60.000	60.000	
Minimum	45.000	39.000	
Maximum	80.000	78.000	
<b>Change from baseline</b>			0.040
N	39	40	
Mean (SD)	-1.872 (2.638)	-0.625 (2.657)	
Median	-3.000	-1.000	
Minimum	-7.000	-5.000	
Maximum	3.000	5.000	

Line-plot - Penn State daily Symptom Report (DSR) - ITT population

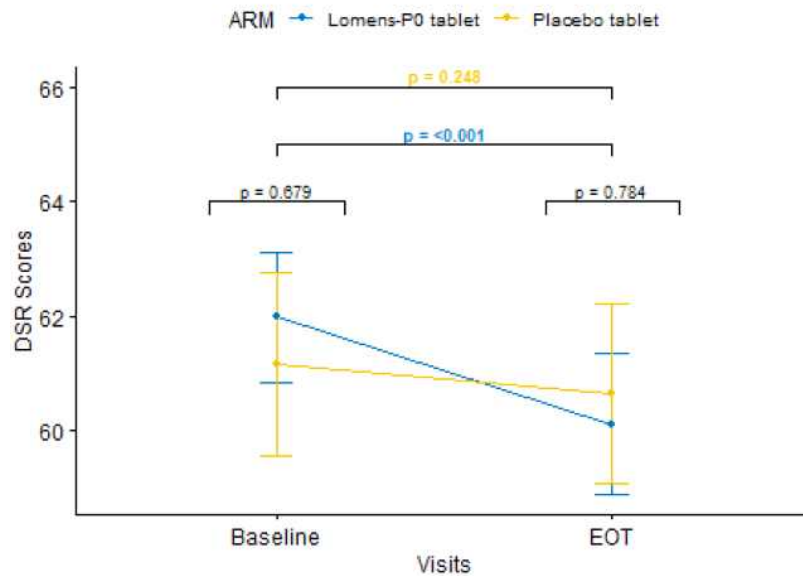


- DSR 점수의 군간 비교 결과, 기저점과 섭취 종료시점 p-value는 0.05 보다 높아 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않은 반면 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화량에서 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났음( $p < .040$ )
- DSR 점수의 군내 비교 결과, 시험군은 기저점 대비 섭취 종료시점에서 군내 통계적으로 유의한 차이가 나타난 반면( $p < .001$ ), 대조군에서는 기저점 대비 섭취 종료시점에서 군내 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았음

- PPS 분석 결과 또한 ITT 분석 결과와 유사함

	Lomens-P0 tablet (N=39)	Placebo tablet (N=37)	p value
<b>Baseline Scores</b>			<b>0.679</b>
N	39	37	
Mean (SD)	61.974 (7.151)	61.162 (9.743)	
Median	63.000	62.000	
Minimum	48.000	42.000	
Maximum	80.000	79.000	
<b>EOT Scores</b>			<b>0.784</b>
N	39	37	
Mean (SD)	60.103 (7.670)	60.649 (9.586)	
Median	60.000	60.000	
Minimum	45.000	39.000	
Maximum	80.000	78.000	
<b>Change from baseline</b>			<b>0.029</b>
N	39	37	
Mean (SD)	-1.872 (2.638)	-0.514 (2.663)	
Median	-3.000	-1.000	
Minimum	-7.000	-4.000	
Maximum	3.000	5.000	

Line-plot - Penn State daily Symptom Report (DSR) - PP populati



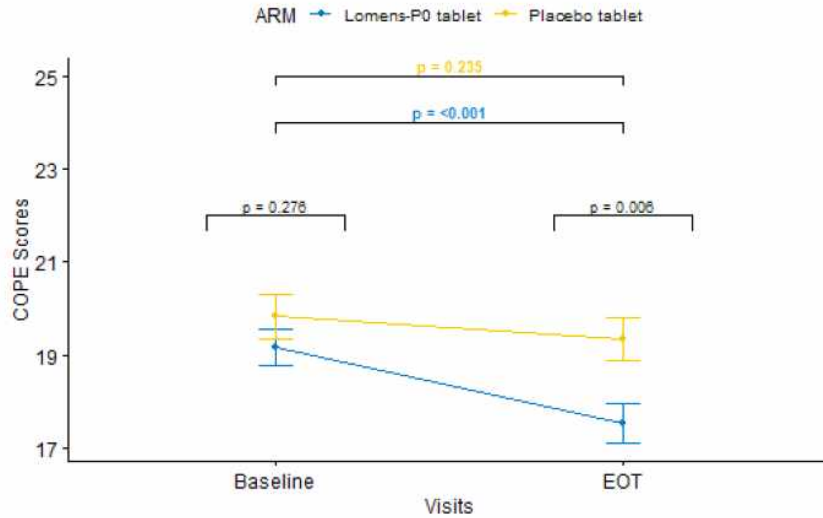
- DSR 점수의 군간 비교 결과, 기저점과 섭취 종료시점 p-value는 0.05 보다 높아 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않은 반면 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화량에서 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났음(p < .029)
- DSR 점수의 군내 비교 결과, 시험군은 기저점 대비 섭취 종료시점에서 군내 통계적으로 유의한 차이가 나타난 반면(p < .001), 대조군에서는 기저점 대비 섭취 종료시점에서 군내 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았음

③ 2차 유효성 평가 결과

- ITT 분석 결과 시험군은 대조군 대비 우수한 감소 효과가 나타냄

	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline Scores</b>			0.276
N	40	40	
Mean (SD)	19.150 (2.445)	19.825 (3.029)	
Median	19.000	20.000	
Minimum	12.000	11.000	
Maximum	24.000	30.000	
<b>EOT Scores</b>			0.006
N	40	40	
Mean (SD)	17.525 (2.708)	19.325 (2.930)	
Median	17.000	19.000	
Minimum	11.000	15.000	
Maximum	25.000	31.000	
<b>Change from baseline</b>			0.039
N	40	40	
Mean (SD)	-1.625 (2.145)	-0.500 (2.621)	
Median	-2.000	-1.000	
Minimum	-6.000	-5.000	
Maximum	3.000	9.000	

Line-plot - Calendar of Premenstrual Experience (COPE) - ITT population



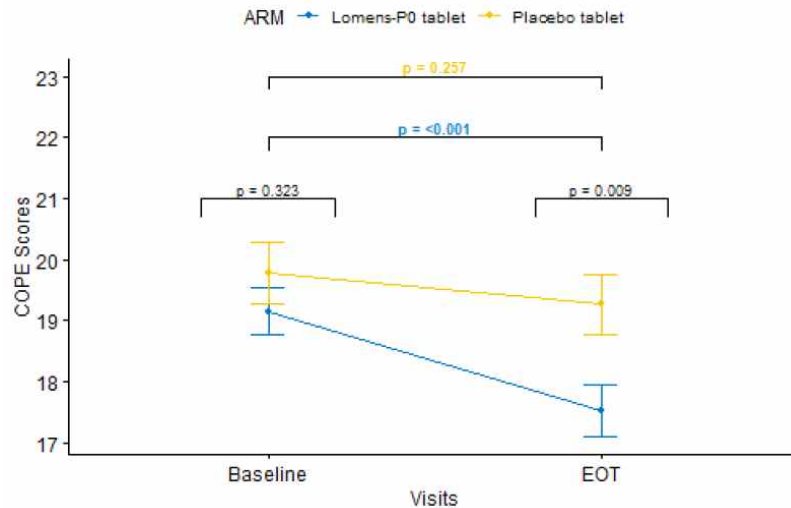
- COPE 점수의 군간 비교 결과, 기저점의 p-value는 0.05 보다 높아 군간 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않은 반면 섭취 종료시점에서는 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났으며(p < .006), 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화량에서도 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났음(p < .039)
- COPE 점수의 군내 비교 결과, 시험군은 기저점 대비 섭취 종료시점에서 통계적으로 유의한 차이가 나타난 (p < .001). 반면 대조군에서는 기저점 대비 섭취 종료시점에서 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았음

- PPS 분석 결과 또한 ITT 분석 결과와 유사함

<b>Table 25: Summary and change from baseline for The Calendar of Premenstrual Experience (COPE) between treatment groups [PP population] - Independent t-test</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=37)	p value
<b>Baseline Scores</b>			0.323
N	40	37	
Mean (SD)	19.150 (2.445)	19.784 (3.128)	
Median	19.000	20.000	
Minimum	12.000	11.000	
Maximum	24.000	30.000	
<b>EOT Scores</b>			0.009
N	40	37	
Mean (SD)	17.525 (2.708)	19.270 (3.015)	
Median	17.000	19.000	
Minimum	11.000	15.000	
Maximum	25.000	31.000	
<b>Change from baseline</b>			0.049
N	40	37	
Mean (SD)	-1.625 (2.145)	-0.514 (2.714)	
Median	-2.000	-1.000	
Minimum	-6.000	-5.000	
Maximum	3.000	9.000	



Line-plot - Calendar of Premenstrual Experience (COPE) - PP population



- COPE 점수의 군간 비교 결과, 기저점의 p-value는 0.05 보다 높아 통계적으로 유의한 군간 차이는 나타나지 않은 반면 섭취 종료시점에서 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타났으며(p < .009), 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화량에서도 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타남(p < .049)
- COPE 점수의 군내 비교 결과, 시험군은 기저점 대비 섭취 종료시점에서 통계적으로 유의한 차이가 나타난 (p < .001), 반면, 대조군에서는 기저점 대비 섭취 종료시점에서 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았음

④ 추가 유효성 평가 지표 분석 결과

- Pictorial Blood Loss Assessment Chart (PBAC)는 생리로 인한 혈액 손실의 지표로 군간, 군내 비교 결과 유의적 차이는 나타내지 않았으나 대조군 대비 혈액 손실 감소를 나타냈으며, Lomens-P0 섭취로 인한 혈액 손실의 양이 적은 것으로 판단되었음

Table 27: Summary and change from baseline for Pictorial Blood Loss Assessment Chart (PBAC) between treatment groups - Wilcoxon's rank sum test			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline Scores</b>			0.551
N	40	40	
Mean (SD)	100.450 (31.887)	108.425 (45.422)	
Median	94.500	95.000	
Minimum	63.000	60.000	
Maximum	180.000	260.000	
<b>EOT Scores</b>			0.522
N	40	40	
Mean (SD)	100.500 (31.503)	108.750 (45.142)	
Median	95.000	96.500	
Minimum	62.000	61.000	
Maximum	180.000	258.000	
<b>Change from baseline</b>			0.536
N	40	40	
Mean (SD)	0.050 (2.075)	0.325 (2.280)	
Median	0.000	1.000	
Minimum	-3.000	-4.000	
Maximum	4.000	4.000	

⑤ 안전성 평가 결과

- 이상반응
  - 이상반응은 2건으로 경미한 발열 및 오한이 있었으나 인체적용시험 참여에는 영향이 없었으며, 약물 치료 없이 자연 치유되었고, 그 외 중대한 이상반응은 없었음

Table 30: Subject wise details of adverse event					
Subject id	Visit	Adverse event	Severity	Action taken	Related to drug
PMSVH102	Visit 3	Fever and cold	Mild	None	Unrelated
PMSVH112	Visit 5	Fever	Mild	None	Unrelated

- 혈액화학적 검사 (AST)
  - AST의 군간, 군내 비교 결과, 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화량 ( $p=0.022$ )과 대조군 내( $p=0.006$ )에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나, 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

Table 31: Summary and change from baseline for AST (IU/L) between treatment groups - SAS population			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.415
N	40	40	
Mean (SD)	26.878 (6.939)	26.000 (8.124)	
Median	25.500	24.000	
Minimum	15.000	12.000	
Maximum	44.100	58.000	
<b>EOT</b>			0.333
N	40	40	
Mean (SD)	26.325 (5.432)	27.400 (5.812)	
Median	25.000	28.000	
Minimum	18.000	14.000	
Maximum	40.000	35.000	
<b>Change from baseline</b>			0.022
N	40	40	
Mean (SD)	-0.552 (5.341)	1.400 (8.755)	
Median	1.000	3.000	
Minimum	-15.000	-44.000	
Maximum	7.000	10.000	

- 혈액화학적 검사 (ALT)
  - ALT의 군간, 군내 비교 결과, 대조군 내에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나 ( $p=0.008$ ), 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

Table 33: Summary and change from baseline for ALT (IU/L) between treatment groups - SAS population			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.839
N	40	40	
Mean (SD)	26.427 (8.115)	25.525 (6.504)	
Median	25.000	25.000	
Minimum	15.000	17.000	
Maximum	48.100	44.000	
<b>EOT</b>			0.083
N	40	40	
Mean (SD)	26.375 (6.543)	28.775 (6.108)	
Median	25.000	28.000	
Minimum	14.000	16.000	
Maximum	38.000	40.000	
<b>Change from baseline</b>			0.119
N	40	40	
Mean (SD)	-0.053 (8.322)	3.250 (7.818)	
Median	1.000	3.000	
Minimum	-26.000	-17.000	
Maximum	18.000	21.000	

- 혈액화학적 검사 (GGT)

- GGT는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 35: Summary and change from baseline for GGT (IU/L) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.485
N	40	40	
Mean (SD)	21.427 (6.249)	20.497 (6.473)	
Median	22.000	21.900	
Minimum	12.000	3.200	
Maximum	38.000	34.000	
<b>EOT</b>			0.438
N	40	40	
Mean (SD)	19.710 (4.407)	20.540 (4.537)	
Median	19.900	20.250	
Minimum	12.200	12.600	
Maximum	31.000	32.000	
<b>Change from baseline</b>			0.341
N	40	40	
Mean (SD)	-1.718 (6.432)	0.043 (6.161)	
Median	-1.000	1.000	
Minimum	-25.200	-12.700	
Maximum	8.200	16.100	

- 혈액화학적 검사 (ALP)

- ALP의 군간, 군내 비교 결과, 대조군 내에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나 ( $p < 0.001$ ), 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 37: Summary and change from baseline for ALP (IU/L) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.272
N	40	40	
Mean (SD)	171.150 (44.187)	158.750 (45.852)	
Median	185.000	164.000	
Minimum	84.000	86.000	
Maximum	254.000	256.000	
<b>EOT</b>			0.479
N	40	40	
Mean (SD)	184.825 (36.562)	189.150 (33.465)	
Median	194.000	196.500	
Minimum	97.000	108.000	
Maximum	254.000	230.000	
<b>Change from baseline</b>			0.088
N	40	40	
Mean (SD)	13.675 (48.236)	30.400 (45.709)	
Median	9.000	14.500	
Minimum	-75.000	-66.000	
Maximum	156.000	136.000	

- 혈액화학적 검사 (Bilirubin)

- Bilirubin은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 39: Summary and change from baseline for bilirubin (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.514
N	40	40	
Mean (SD)	0.729 (0.118)	0.737 (0.127)	
Median	0.705	0.750	
Minimum	0.400	0.500	
Maximum	1.100	1.000	
<b>EOT</b>			0.758
N	40	40	
Mean (SD)	0.738 (0.116)	0.712 (0.134)	
Median	0.700	0.700	
Minimum	0.500	0.200	
Maximum	1.000	1.000	
<b>Change from baseline</b>			0.358
N	40	40	
Mean (SD)	0.008 (0.088)	-0.026 (0.163)	
Median	0.015	0.000	
Minimum	-0.100	-0.800	
Maximum	0.200	0.300	

- 혈액화학적 검사 (Total protein)

- Total-protein의 군간, 군내 비교 결과, 기저점 ( $p=0.027$ ), 섭취 종료시점 ( $p=0.035$ )에서 통계적으로 유의한 결과를 나타냈으나, 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 41: Summary and change from baseline for total protein (g/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.027
N	40	40	
Mean (SD)	6.630 (0.528)	6.780 (0.502)	
Median	6.600	6.800	
Minimum	4.500	4.600	
Maximum	8.000	7.500	
<b>EOT</b>			0.035
N	40	40	
Mean (SD)	6.605 (0.306)	6.742 (0.248)	
Median	6.600	6.800	
Minimum	6.000	6.200	
Maximum	7.200	7.400	
<b>Change from baseline</b>			0.896
N	40	40	
Mean (SD)	-0.025 (0.527)	-0.038 (0.458)	
Median	-0.050	-0.050	
Minimum	-1.300	-1.300	
Maximum	2.200	1.900	

- 혈액화학적 검사 (Albumin)

- Albumin은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 43: Summary and change from baseline for albumin (g/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.649
N	40	40	
Mean (SD)	3.760 (0.192)	3.750 (0.538)	
Median	3.800	3.800	
Minimum	3.500	0.900	
Maximum	4.200	4.700	
<b>EOT</b>			0.423
N	40	40	
Mean (SD)	3.820 (0.278)	3.850 (0.274)	
Median	3.800	3.800	
Minimum	3.500	3.400	
Maximum	4.800	4.800	
<b>Change from baseline</b>			0.563
N	40	40	
Mean (SD)	0.060 (0.235)	0.100 (0.523)	
Median	0.100	0.000	
Minimum	-0.400	-0.900	
Maximum	0.700	2.700	

- 혈액화학적 검사 (Total-cholesterol)

- Total-cholesterol의 군간, 군내 비교 결과, 대조군 내에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나 ( $p=0.006$ ), 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 45: Summary and change from baseline for total cholesterol (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.862
N	40	40	
Mean (SD)	147.775 (22.272)	147.950 (15.574)	
Median	150.000	148.500	
Minimum	89.000	109.000	
Maximum	188.000	171.000	
<b>EOT</b>			0.143
N	40	40	
Mean (SD)	151.725 (12.802)	155.850 (15.677)	
Median	150.500	158.500	
Minimum	120.000	102.000	
Maximum	182.000	189.000	
<b>Change from baseline</b>			0.381
N	40	40	
Mean (SD)	3.950 (16.776)	7.900 (15.961)	
Median	5.000	7.000	
Minimum	-43.000	-23.000	
Maximum	43.000	47.000	

- 혈액화학적 검사 (Triglycerides)

- Triglycerides의 군간, 군내 비교 결과, 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화량 ( $p=0.034$ ) 과 대조군 내 ( $p=0.001$ )에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나, 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 47: Summary and change from baseline for triglycerides (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.977

N	40	40	
Mean (SD)	100.207 (22.754)	97.380 (26.514)	
Median	99.500	100.000	
Minimum	55.000	25.000	
Maximum	149.000	130.000	
<b>EOT</b>			0.209
N	40	40	
Mean (SD)	104.475 (18.274)	110.612 (16.292)	
Median	101.500	112.000	
Minimum	55.000	82.000	
Maximum	140.000	150.000	
<b>Change from baseline</b>			0.034
N	40	40	
Mean (SD)	4.268 (20.460)	13.232 (27.965)	
Median	1.000	4.500	
Minimum	-32.000	-43.000	
Maximum	75.000	98.000	

- 혈액화학적 검사 (HDL-cholesterol)

- HDL-cholesterol은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 49: Summary and change from baseline for HDL-C (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.950
N	40	40	
Mean (SD)	51.490 (11.096)	49.822 (7.246)	
Median	49.000	49.000	
Minimum	40.000	39.000	
Maximum	88.000	78.000	
<b>EOT</b>			0.816
N	40	40	
Mean (SD)	49.410 (7.675)	48.502 (3.833)	
Median	49.000	49.000	
Minimum	40.000	42.000	
Maximum	89.400	55.000	
<b>Change from baseline</b>			0.881
N	40	40	
Mean (SD)	-2.080 (12.873)	-1.320 (6.802)	
Median	0.500	0.000	
Minimum	-37.000	-24.000	
Maximum	44.400	10.000	

- 혈액화학적 검사 (LDL-cholesterol)

- LDL-cholesterol의 군간, 군내 비교 결과, 시험군 내 ( $p=0.044$ )와 대조군 내 ( $p=0.009$ ) 모두 기저점 대비 섭취 종료시점에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나, 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 51: Summary and change from baseline for LDL-C (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.810
N	40	40	
Mean (SD)	76.245 (18.237)	78.647 (14.446)	
Median	81.300	78.600	
Minimum	37.200	51.100	
Maximum	107.100	106.400	
<b>EOT</b>			0.070
N	40	40	
Mean (SD)	81.420 (12.039)	85.228 (12.808)	
Median	82.900	87.000	
Minimum	42.000	41.600	
Maximum	106.200	106.400	
<b>Change from baseline</b>			0.733
N	40	40	
Mean (SD)	5.175 (17.601)	6.580 (14.406)	
Median	5.150	6.000	
Minimum	-53.400	-29.800	
Maximum	39.400	42.800	

- 혈액화학적 검사 (BUN)

- BUN의 군간, 군내 비교 결과, 시험군 내 ( $p=0.011$ )에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나, 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 53: Summary and change from baseline for BUN (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.877
N	40	40	
Mean (SD)	13.072 (3.176)	13.295 (2.658)	
Median	13.300	13.550	
Minimum	5.700	5.200	
Maximum	20.000	18.000	
<b>EOT</b>			0.276
N	40	40	
Mean (SD)	14.303 (2.295)	13.672 (2.040)	
Median	14.000	13.900	
Minimum	9.200	8.400	
Maximum	18.300	16.800	
<b>Change from baseline</b>			0.378
N	40	40	
Mean (SD)	1.230 (3.304)	0.378 (2.791)	
Median	0.900	0.700	
Minimum	-7.500	-7.200	
Maximum	10.000	9.300	

- 혈액화학적 검사 (Creatinine)

- Creatinine은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 55: Summary and change from baseline for creatinine (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.778
N	40	40	
Mean (SD)	0.816 (0.090)	0.820 (0.088)	
Median	0.800	0.805	
Minimum	0.600	0.650	
Maximum	1.000	1.000	
<b>EOT</b>			0.369
N	40	40	
Mean (SD)	0.821 (0.085)	0.812 (0.090)	
Median	0.810	0.800	
Minimum	0.600	0.700	
Maximum	1.000	1.000	
<b>Change from baseline</b>			0.716
N	40	40	
Mean (SD)	0.005 (0.097)	-0.007 (0.074)	
Median	0.000	0.000	
Minimum	-0.200	-0.120	
Maximum	0.250	0.130	

- 혈액화학적 검사 (Uric acid)

- Uric acid는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 57: Summary and change from baseline for uric acid (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.696
N	40	40	
Mean (SD)	4.594 (0.772)	4.508 (0.797)	
Median	4.500	4.305	
Minimum	3.200	2.800	
Maximum	6.400	5.800	
<b>EOT</b>			0.619
N	40	40	
Mean (SD)	4.630 (0.645)	4.478 (0.570)	
Median	4.605	4.300	
Minimum	3.500	2.800	
Maximum	6.500	5.890	
<b>Change from baseline</b>			0.640
N	40	40	
Mean (SD)	0.036 (0.706)	-0.030 (0.815)	
Median	0.200	0.300	
Minimum	-2.300	-2.700	
Maximum	1.000	1.390	

- 혈액화학적 검사 (Blood glucose)

- Blood glucose의 군간, 군내 비교 결과, 대조군 내에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나 ( $p=0.014$ ), 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음



<b>Table 59: Summary and change from baseline for glucose (mg/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.091
N	40	40	
Mean (SD)	109.463 (16.204)	103.100 (15.835)	
Median	118.000	101.500	
Minimum	75.000	76.000	
Maximum	132.000	129.000	
<b>EOT</b>			0.262
N	40	40	
Mean (SD)	111.850 (14.109)	109.100 (12.632)	
Median	114.000	110.000	
Minimum	82.000	85.000	
Maximum	146.000	135.000	
<b>Change from baseline</b>			0.197
N	40	40	
Mean (SD)	2.388 (18.090)	6.000 (14.306)	
Median	1.500	8.500	
Minimum	-50.000	-28.000	
Maximum	58.000	34.000	

- 혈액학적 검사 (RBC)

- RBC의 군간, 군내 비교 결과, 시험군 내 ( $p=0.021$ )와 대조군 내 ( $p=0.002$ ) 모두 기저점 대비 섭취 종료시점에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나, 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 61: Summary and change from baseline for RBC (mill/cumm) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.786
N	40	40	
Mean (SD)	4.216 (0.231)	4.236 (0.239)	
Median	4.200	4.215	
Minimum	3.800	3.800	
Maximum	4.900	5.100	
<b>EOT</b>			0.425
N	40	40	
Mean (SD)	4.333 (0.242)	4.370 (0.206)	
Median	4.300	4.400	
Minimum	3.800	4.000	
Maximum	4.800	4.830	
<b>Change from baseline</b>			0.718
N	40	40	
Mean (SD)	0.117 (0.308)	0.134 (0.276)	
Median	0.100	0.150	
Minimum	-0.700	-0.700	
Maximum	0.730	0.830	

- 혈액학적 검사 (WBC)

- WBC는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 63: Summary and change from baseline for WBC (cells/mcL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.082
N	40	40	
Mean (SD)	7620.000 (1149.626)	7105.000 (1388.589)	
Median	7600.000	6850.000	
Minimum	5500.000	4500.000	
Maximum	10500.000	9900.000	
<b>EOT</b>			0.130
N	40	40	
Mean (SD)	7587.500 (961.353)	7230.000 (1216.173)	
Median	7550.000	7200.000	
Minimum	5600.000	5100.000	
Maximum	9200.000	10400.000	
<b>Change from baseline</b>			0.606
N	40	40	
Mean (SD)	-32.500 (1079.028)	125.000 (1326.022)	
Median	0.000	100.000	
Minimum	-1800.000	-2700.000	
Maximum	3400.000	4900.000	

- 혈액학적 검사 (Lymphocyte)

- Lymphocyte는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 65: Summary and change from baseline for lymphocyte (%) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.148
N	40	40	
Mean (SD)	31.200 (7.356)	28.725 (5.822)	
Median	31.000	30.000	
Minimum	20.000	20.000	
Maximum	50.000	42.000	
<b>EOT</b>			0.503
N	40	40	
Mean (SD)	30.450 (5.354)	29.475 (5.634)	
Median	30.000	30.000	
Minimum	20.000	20.000	
Maximum	42.000	40.000	
<b>Change from baseline</b>			0.114
N	40	40	
Mean (SD)	-0.750 (5.123)	0.750 (6.721)	
Median	-1.500	0.500	
Minimum	-11.000	-17.000	
Maximum	9.000	14.000	

- 혈액학적 검사 (Monocyte)

- Monocyte는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 67: Summary and change from baseline for monocyte (%) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.952
N	40	40	
Mean (SD)	3.430 (1.674)	3.475 (1.811)	
Median	3.000	3.000	
Minimum	2.000	1.000	
Maximum	8.000	8.000	
<b>EOT</b>			0.615
N	40	40	
Mean (SD)	3.150 (1.424)	3.025 (1.459)	
Median	3.000	2.000	
Minimum	2.000	2.000	
Maximum	6.000	7.000	
<b>Change from baseline</b>			0.941
N	40	40	
Mean (SD)	-0.280 (2.070)	-0.450 (2.171)	
Median	0.000	0.000	
Minimum	-4.000	-5.000	
Maximum	4.000	4.000	

- 혈액학적 검사 (Basophils)
- Basophils는 측정값이 0으로 확인되었음

<b>Table 69: Summary and change from baseline for basophils (%) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			
N	40	40	
Mean (SD)	0 (0)	0 (0)	
Median	0	0	
Minimum	0	0	
Maximum	0	0	
<b>EOT</b>			NaN
N	40	40	
Mean (SD)	0 (0)	0 (0)	
Median	0	0	
Minimum	0	0	
Maximum	0	0	
<b>Change from baseline</b>			NaN
N	40	40	
Mean (SD)	0 (0)	0 (0)	
Median	0	0	
Minimum	0	0	
Maximum	0	0	

- 혈액학적 검사 (Eosinophils)
- Eosinophils는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 71: Summary and change from baseline for eosinophils (%) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.385
N	40	40	
Mean (SD)	3.587 (1.102)	3.388 (1.065)	
Median	3.000	3.000	
Minimum	2.000	2.000	
Maximum	6.000	6.000	
<b>EOT</b>			0.702
N	40	40	
Mean (SD)	3.200 (0.823)	3.150 (0.802)	
Median	3.000	3.000	
Minimum	2.000	2.000	
Maximum	5.000	6.000	
<b>Change from baseline</b>			0.620
N	40	40	
Mean (SD)	-0.388 (1.204)	-0.237 (1.240)	
Median	0.000	0.000	
Minimum	-3.000	-3.000	
Maximum	2.000	3.000	

- 혈액학적 검사 (Neutrophils)
  - Neutrophils는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 73: Summary and change from baseline for neutrophils (%) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.125
N	40	40	
Mean (SD)	60.775 (7.378)	63.350 (6.620)	
Median	60.000	65.000	
Minimum	45.000	44.000	
Maximum	75.000	75.000	
<b>EOT</b>			0.526
N	40	40	
Mean (SD)	63.200 (5.992)	64.350 (5.628)	
Median	65.000	65.000	
Minimum	49.000	55.000	
Maximum	75.000	75.000	
<b>Change from baseline</b>			0.235
N	40	40	
Mean (SD)	2.425 (6.755)	1.000 (6.202)	
Median	3.500	0.500	
Minimum	-13.000	-10.000	
Maximum	19.000	15.000	

- 혈액학적 검사 (Platelet)
  - Platelet의 군간, 군내 비교 결과, 대조군 내에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나 ( $p=0.028$ ), 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 75: Summary and change from baseline for platelet (Lakh/cumm) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.893
N	40	40	
Mean (SD)	2.592 (0.431)	2.676 (0.554)	
Median	2.620	2.620	
Minimum	1.800	1.800	
Maximum	3.300	4.200	
<b>EOT</b>			0.116
N	40	40	
Mean (SD)	2.698 (0.435)	2.842 (0.487)	
Median	2.600	2.765	
Minimum	1.950	1.850	
Maximum	4.020	4.010	
<b>Change from baseline</b>			0.346
N	40	40	
Mean (SD)	0.106 (0.620)	0.166 (0.608)	
Median	0.090	0.100	
Minimum	-1.350	-1.840	
Maximum	2.220	1.920	

- 혈액학적 검사 (Haematocrit)

- Haematocrit는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 임상적으로도 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 77: Summary and change from baseline for haematocrit (%) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.298
N	40	40	
Mean (SD)	39.733 (2.519)	39.167 (1.889)	
Median	38.950	38.650	
Minimum	34.600	36.600	
Maximum	45.100	44.000	
<b>EOT</b>			0.762
N	40	40	
Mean (SD)	39.530 (1.851)	38.570 (6.007)	
Median	39.600	39.300	
Minimum	36.400	4.200	
Maximum	43.200	44.200	
<b>Change from baseline</b>			0.470
N	40	40	
Mean (SD)	-0.202 (2.481)	-0.598 (5.883)	
Median	0.200	0.700	
Minimum	-5.400	-33.600	
Maximum	6.000	6.700	

- 혈액학적 검사 (Haemoglobin)

- Haemoglobin의 군간, 군내 비교 결과, 대조군 내에서 통계학적 유의한 결과를 나타냈으나 ( $p=0.002$ ), 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 79: Summary and change from baseline for haemoglobin (g/dL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.805
N	40	40	
Mean (SD)	12.842 (0.565)	12.885 (0.597)	
Median	12.800	12.800	
Minimum	11.900	11.800	
Maximum	14.500	15.000	
<b>EOT</b>			0.377
N	40	40	
Mean (SD)	13.723 (4.344)	13.178 (0.489)	
Median	13.050	13.150	
Minimum	11.800	12.100	
Maximum	40.300	14.500	
<b>Change from baseline</b>			0.394
N	40	40	
Mean (SD)	0.880 (4.461)	0.292 (0.649)	
Median	0.200	0.400	
Minimum	-1.300	-1.900	
Maximum	28.100	2.000	

- 뇨 검사 (pH)

- pH는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음

<b>Table 81: Summary and change from baseline for pH between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.429
N	40	40	
Mean (SD)	6.000 (0.392)	5.902 (0.489)	
Median	6.000	6.000	
Minimum	5.000	4.600	
Maximum	6.500	6.500	
<b>EOT</b>			0.228
N	40	40	
Mean (SD)	5.912 (0.374)	6.000 (0.340)	
Median	6.000	6.000	
Minimum	5.000	5.000	
Maximum	6.500	6.500	
<b>Change from baseline</b>			0.069
N	40	40	
Mean (SD)	-0.087 (0.505)	0.098 (0.476)	
Median	0.000	0.000	
Minimum	-1.000	-1.000	
Maximum	1.500	1.400	

- 뇨 검사 (Protein / Glucose)

- Protein과 Glucose는 빈도와 비율로 요약되었으며, 모두 뇨에서 검출되지 않았음

- 뇨 검사 (RBCs)

- RBCs는 빈도와 비율로 요약되었으며, 군간에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음

<b>Table 85: Summary and change from baseline for RBC between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.841
1-2	1 (2.5%)	2 (5.0%)	
2-3	1 (2.5%)	1 (2.5%)	
Nil	38 (95.0%)	37 (92.5%)	
<b>EOT</b>			1.000
Nil	40 (100.0%)	40 (100.0%)	

- 뇨 검사 (Specific gravity)

- Specific gravity는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음

<b>Table 86: Summary and change from baseline for specific gravity between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.413
N	40	40	
Mean (SD)	1.013 (0.004)	1.012 (0.004)	
Median	1.015	1.015	
Minimum	1.005	1.005	
Maximum	1.020	1.020	
<b>EOT</b>			0.302
N	40	40	
Mean (SD)	1.012 (0.005)	1.011 (0.005)	
Median	1.015	1.010	
Minimum	1.005	1.005	
Maximum	1.020	1.020	
<b>Change from baseline</b>			0.779
N	40	40	
Mean (SD)	-0.001 (0.006)	-0.001 (0.006)	
Median	0.000	0.000	
Minimum	-0.010	-0.015	
Maximum	0.010	0.015	

- 호르몬 (Estrogen)

- Estrogen은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 시험군에서 증가함을 확인하였음

<b>Table 88: Summary and change from baseline for estrogen (pg/mL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.266
N	40	40	
Mean (SD)	90.823 (33.372)	99.260 (25.828)	
Median	89.150	89.600	
Minimum	13.400	14.000	
Maximum	145.000	164.000	
<b>EOT</b>			0.427
N	40	40	
Mean (SD)	94.053 (17.997)	96.582 (19.533)	
Median	90.800	92.700	
Minimum	50.600	54.300	
Maximum	138.200	146.000	
<b>Change from baseline</b>			0.973
N	40	40	
Mean (SD)	3.230 (31.595)	-2.678 (26.703)	
Median	1.900	2.000	
Minimum	-65.700	-87.100	
Maximum	98.200	42.000	

- 호르몬 (FSH)

- FSH는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 시험군에서 증가함을 확인하였음

<b>Table 90: Summary and change from baseline for FSH (μIU/mL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.371
N	40	40	
Mean (SD)	7.548 (1.658)	7.901 (1.807)	
Median	7.350	7.900	
Minimum	4.800	4.600	
Maximum	10.600	10.890	
<b>EOT</b>			0.973
N	40	40	
Mean (SD)	7.831 (1.309)	7.827 (1.233)	
Median	7.760	8.005	
Minimum	5.500	4.960	
Maximum	11.200	11.200	
<b>Change from baseline</b>			0.583
N	40	40	
Mean (SD)	0.283 (1.862)	-0.074 (1.835)	
Median	0.660	0.330	
Minimum	-3.790	-4.600	
Maximum	3.700	3.500	

- 호르몬 (LH)

- LH는 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 시험군에서 기저치 대비 증가함을 확인하였음

<b>Table 92: Summary and change from baseline for LH (μIU/mL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.623
N	40	40	
Mean (SD)	8.746 (2.965)	9.288 (3.257)	
Median	9.500	9.735	
Minimum	0.800	0.800	
Maximum	15.800	18.000	
<b>EOT</b>			0.927
N	40	40	
Mean (SD)	9.588 (1.452)	9.513 (1.675)	
Median	9.800	10.035	
Minimum	6.300	5.120	
Maximum	11.500	12.300	
<b>Change from baseline</b>			0.441
N	40	40	
Mean (SD)	0.842 (3.134)	0.225 (3.353)	
Median	0.855	0.530	
Minimum	-7.060	-7.440	
Maximum	9.600	9.700	

- 호르몬 (Prolactin)

- Prolactin의 군간, 군내 비교 결과, 기저점 대비 섭취 종료시점의 변화량은 통계학적 유의한 결과를 나타냈으며 ( $p=0.047$ ), 이는 정상범위에 속하긴 하나, 대조군 대비 우수한 감소효과를 나타내어 본 연구의 기능성 측정 지표와 일치함을 확인하였음



<b>Table 94: Summary and change from baseline for prolactin (ng/mL) between treatment groups - SAS population</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Baseline</b>			0.397
N	40	40	
Mean (SD)	15.978 (4.348)	15.246 (3.168)	
Median	15.700	15.500	
Minimum	4.500	9.120	
Maximum	25.900	24.200	
<b>EOT</b>			0.758
N	40	40	
Mean (SD)	15.752 (3.841)	16.102 (3.546)	
Median	15.750	15.350	
Minimum	4.500	8.920	
Maximum	23.400	24.600	
<b>Change from baseline</b>			0.047
N	40	40	
Mean (SD)	-0.226 (3.675)	0.856 (3.810)	
Median	-0.750	1.300	
Minimum	-7.400	-9.600	
Maximum	11.480	8.800	

- 활력징후 (이완기 혈압)
  - 이완기 혈압은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음

<b>Table 11: Summary and change from baseline for SBP (mmHg) within treatment groups - SAS population</b>						
	Visit 2 (N=80)	Visit 3 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Visit 5 (N=80)	Visit 6 (N=80)	P value
<b>Lomens-P0 tablet</b>						0.926
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	121.6 (5.2)	121.8 (5.1)	121.7 (4.3)	121.4 (5.9)	121.2 (4.8)	
Median	120.0	120.0	120.0	120.0	121.0	
Minimum	104.0	114.0	110.0	102.0	110.0	
Maximum	134.0	132.0	132.0	132.0	131.0	
<b>Placebo tablet</b>						0.728
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	123.0 (4.6)	121.9 (5.0)	122.0 (5.0)	122.6 (4.2)	121.5 (4.2)	
Median	121.0	121.0	120.0	121.0	120.0	
Minimum	117.0	110.0	110.0	115.0	108.0	
Maximum	134.0	132.0	131.0	131.0	134.0	

- 활력징후 (수축기 혈압)
  - 수축기 혈압의 군간, 군내 비교 결과, 기저점 대비 Visit 6에서 군간 통계적으로 유의한 차이를 나타냈으나 ( $p=0.017$ ), 이는 정상범위 내의 변화이며, 임상적으로 유의미한 결과는 나타나지 않았음

<b>Table 13: Summary and change from baseline for DBP (mmHg) within treatment groups - SAS population</b>						
	Visit 2 (N=80)	Visit 3 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Visit 5 (N=80)	Visit 6 (N=80)	P value
<b>Lomens-P0 tablet</b>						0.304
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	79.7 (2.6)	80.2 (3.0)	79.3 (4.3)	79.0 (3.8)	80.2 (3.9)	
Median	80.0	80.0	80.0	79.5	80.0	
Minimum	72.0	72.0	70.0	70.0	70.0	
Maximum	88.0	90.0	90.0	90.0	92.0	
<b>Placebo tablet</b>						0.375
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	80.8 (3.2)	79.4 (3.4)	80.3 (3.5)	79.9 (3.2)	79.2 (2.6)	
Median	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0	
Minimum	75.0	70.0	70.0	70.0	70.0	
Maximum	90.0	88.0	92.0	89.0	86.0	

- 활력징후 (체온)

- 체온은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음

<b>Table 15: Summary and change from baseline for body temperature (°C) within treatment groups - SAS population</b>						
	Visit 2 (N=80)	Visit 3 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Visit 5 (N=80)	Visit 6 (N=80)	P value
<b>Lomens-P0 tablet</b>						0.226
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	36.5 (0.4)	36.5 (0.6)	36.6 (0.5)	36.7 (0.5)	36.6 (0.4)	
Median	36.5	36.7	36.6	36.8	36.8	
Minimum	35.7	34.7	35.2	34.5	35.7	
Maximum	37.4	37.8	37.4	37.2	37.2	
<b>Placebo tablet</b>						0.063
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	36.5 (0.5)	36.8 (0.4)	36.7 (0.5)	36.8 (0.4)	36.7 (0.4)	
Median	36.4	37.0	36.8	36.9	36.8	
Minimum	35.2	35.4	35.2	35.7	36.0	
Maximum	37.2	37.4	37.6	37.4	37.4	

- 활력징후 (맥박)

- 체온은 군간, 군내에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음

<b>Table 17: Summary and change from baseline for pulse (BPM) within treatment groups - SAS population</b>						
	Visit 2 (N=80)	Visit 3 (N=80)	Visit 4 (N=80)	Visit 5 (N=80)	Visit 6 (N=80)	P value
<b>Lomens-P0 tablet</b>						0.599
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	76.0 (4.7)	76.2 (5.8)	76.5 (6.4)	76.8 (5.2)	76.2 (5.1)	
Median	76.0	78.0	78.0	76.5	78.0	
Minimum	70.0	66.0	62.0	66.0	64.0	
Maximum	88.0	92.0	89.0	92.0	84.0	
<b>Placebo tablet</b>						0.315
N	40	40	40	40	40	
Mean (SD)	74.8 (5.3)	75.5 (6.8)	75.9 (5.0)	76.6 (5.3)	76.5 (5.9)	
Median	74.0	74.0	75.0	78.0	76.0	
Minimum	66.0	66.0	67.0	66.0	62.0	
Maximum	88.0	98.0	88.0	92.0	91.0	

- 시험대상자의 순응도 평가
- 무작위 배정된 대상자들의 순응도는 아래와 같이 계산되었음

$$\text{순응도(\%)} = \frac{\text{복용한 IP 수}}{\text{불출된 IP 수}} \times 100$$

- 모든 대상자는 80% 이상의 순응도가 나타났으며, 군간 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았음

<b>Table 18: Descriptive statistics of Treatment Compliance (%) - Wilcoxon's rank sum test</b>			
	Lomens-P0 tablet (N=40)	Placebo tablet (N=40)	p value
<b>Treatment compliance (%)</b>			0.437
N	40	40	
Mean (SD)	97.389 (2.972)	97.972 (2.332)	
Median	97.778	98.889	
Minimum	88.889	91.111	
Maximum	100.000	100.000	

#### (4) 고찰 및 결론

(가) 본 연구는 월경전 증후군이 있는 건강인을 대상으로 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P0)을 12주간 복용한 후 유효성과 안전성을 평가하기 위한 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 평행설계 연구였으며, 등록된 대상자는 1:1 비율로 두 군에 무작위 배정되어 12주간 연구에 참여했음

- 건강한 19~45 세의 경증에서 중등증의 월경전 증후군이 있는 여성에 대해 동의서를 획득하고 적합성을 평가한 후 연구에 등록함
- 연구 대상자는 (n=80) 두 개의 군에 균등하게(40:40) 무작위 배정되었음
- 시험군은 하루 한 알의 정제 (1,000 mg/일, Lomens-P0로서 500 mg/일)를 물과 함께 섭취하였으며, 대조군은 하루 한 알의 정제(1,000mg/일, Lomens-P0로서 0 mg/일)를 물과 함께 섭취함
- 인구통계학적 특성(나이, 성별, 혼인여부, 음주력 및 흡연력)은 두 개의 군에서 측정됨

(나) Lomens-P0 의 유효성을 평가할 목적으로, 기저점에서 3번째 월경주기의 이전 6일간의 점수를 합산하여 DSR 점수로 고려되었으며, 2번째 월경주기의 마지막 7일간의 점수의

합산이 COPE 점수로 고려되었음. 섭취 종료시점에서 7번째 월경주기의 이전 6일간의 점수의 합산이 DSR점수로 고려되었으며, 6번째 월경주기의 마지막 7일간의 점수의 합산이 COPE 점수로 고려되었음

- (다) 추가 분석으로, Pictorial Blood Loss Assessment Chart를 기저점 대비 섭취 종료시점에서 월경 혈량의 변화량을 확인하기 위해 진행되었으며, 안전성 분석을 위해, 혈액화학적 검사, 뇨검사, FSH, LH, Estrogen, Prolactin, 생체징후를 방문 2와 방문 5에 측정하고 분석하였음
- (라) DSR 척도는 임상 및 1차 진료 방향 설정을 위해 월경전 증상을 평가하는데 있어 신뢰할 수 있고, 비교적 간결하고 적절한 설문지로 본 평가에서 1차 유효성 평가변수로 진행함
- 설문지는 17 개의 항목으로 구성되어 있음
  - 10개의 행동적 항목과 7개의 신체적 항목이 각각 0-4 의 척도로 평가되며 한 가지 항목은 감정 기복을 구체적으로 평가함
  - 0에서 4까지 척도에 따라 증상의 정도가 평가됨 (0점: '증상이 전혀 존재하지 않음'; 1점: '경미, 약간의 증상이 있음'; 2점: '보통, 증상을 알고 있지만 일상 활동에는 전혀 영향을 미치지 않음'. 3점: '심함, 지속적인 증상으로 괴로움'; 4점: '매우 심함, 증상이 매우 심함 및/또는 일상 활동을 방해함')
  - 신체적 요소 또는 증상을 평가하는 항목에는 피로, 협응 장애, 두통 및 통증, 부기/팽창/체중 증가, 경련 및 유방 압통이 포함되며, 행동적 요소를 평가하는 항목에는 패배감, 절망감, 불안, 과민성, 감정 기복, 식욕, 무기력, 우울증, 불면증/과다수면 및 집중 장애가 포함됨
- (마) COPE 척도는 황체기 동안 행동적 및 신체적 증상의 변화를 판단하는 신뢰할 수 있는 도구로 월경전 증상과 경험을 평가하는 데 사용되는 설문지이며, 본 평가에서 2차 유효성 평가변수로 진행함
- 22개의 행동적 및 신체적 증상 문항으로 구성되어 있으며, 각각 0-3 점으로 평가됨 (0점: '증상 없음'; 1점: '경미 - 증상이 약간 있지만 번거롭지 않음'; 2점: 보통 - '정상적인 활동을 방해'; 3점: '심함 - 참을 수 없으며 정상적인 활동을 수행할 수 없음')
  - 신체적 증상 문항으로는 여드름, 팽만감, 유방 압통, 현기증, 피로, 두통, 안면 홍조, 메스꺼움, 설사, 변비, 두근거림, 부기(손, 발목, 유방)가 있으며, 행동 증상 문항은 분노표출, 말다툼, 폭력적인 경향, 불안, 긴장, 신경질, 혼란, 집중 장애, 쉽게 움, 우울증, 음식 갈망, 건망증, 과민성, 식욕 증가, 감정 기복, 지나친 민감성, 외로움이 있음
- (바) PBAC은 월경 출혈의 평가를 위한 반정량적 방법으로 종류별 생리대의 개수, 침습도, 혈전의 개수 및 크기를 기록하는 차트로 본 연구에서는 추가 분석으로 진행되었음
- (사) 기저점 대비 섭취 종료시점의 DSR 월경전 점수와 COPE 황체기 점수의 변화량을 두 군에서 분석하였음
- 경증 및 중증의 월경전 증후군을 가진 대상자가 Lomens-P0를 섭취했을 때, 12주 섭취 종료시점에 임상적 및 통계적으로 유의미한 개선이 있었음
  - 시험군에서 기저점 대비 섭취 종료시점에 월경전 증후군 증상의 감소를 나타내는 DSR 및 COPE 점수가 통계적으로 유의미한 긍정적 변화를 나타내었음
  - 시험군에서 섭취 종료시점에 월경전 증후군 증상의 정도가 감소한 것으로 관찰되었으나, 대조군에서는 통계적으로 유의미한 긍정적 변화가 관찰되지 않았으며, 월경전 증후군 증상도 연구 기간동안 지속되었음
  - DSR과 COPE의 군간 비교에서 통계적으로 유의한 긍정적 변화가 관찰되었으며, 시험군의 군내 비교에서도 통계적으로 유의한 긍정적 변화가 관찰되었음

- PBAC에 대해 추가분석이 진행되었으며, 기저점 대비 섭취종료 시점의 월경 혈량이 시험군과 대조군 모두에서 통계적으로 유의미한 변화가 관찰되지 않았음
  - 따라서 유효성 분석은 기저점 대비 섭취종료 시점에 Lomens-P0를 섭취한 대상자에게 월경 혈량의 변화가 없이 월경 전 증후군 증상이 감소하였음을 보여줌
- (아) 주요 안전성 평가항목(혈액화학적 검사, CBC, 뇨검사, FSH, LH, Estrogen, Prolactin, 생체징후)을 기저점 대비 섭취종료시점에서 군내 및 군간 비교를 진행하였음
- 대부분의 안전성 평가항목에서 통계적으로 유의미한 변화는 관찰되지 않았음
  - 섭취종료시점에 아래 안전성 평가항목의 군내 비교에서 통계적으로 유의미한 변화가 관찰되었으나, 정상범위 내에서의 변화로 임상적으로 유의하지 않음을 확인하였음
    - 대조군의 군내 비교에서 AST, ALT, ALP, Total Cholesterol, triglyceride, RBC, latelet, Hemoglobin
    - 시험군의 군내 비교에서 BUN
    - 시험군 및 대조군의 군내비교에서 LDL, RBC
    - 군간 비교에서 Prolactin
  - 시험군 2 명의 대상자에게 경미한 이상반응이 나타났으나, 인체적용시험용 식품과는 관련이 없는 것으로 밝혀졌으며, 자연 치유되었음
  - 사망, 중대한 이상반응 또는 대상자의 연구참여 종료를 야기하는 이상반응은 발생하지 않았으며, 실험실적 검사의 이상수치도 발생하지 않았음
  - 따라서, Lomens-P0의 섭취는 월경전 증후군이 있는 성인 여성에게 안전하다고 판단되었음

#### 하. 맥아구절초추출복합물 및 시제품의 안정성 평가

##### (1) 연구 목적

- (가) 개별인정형 기능성 원료 신청 시 제출 항목은 아니나 본 연구개발의 원료와 제품이 안정성 부분에서 문제점이 발생할 가능성이 있는지 파악하기 위해 실시함
- (나) 개발 원료 맥아구절초추출복합물과 제품이 장기보존 및 가속 조건에서 안정한 지 파악하는데 목적이 있음

##### (2) 연구 재료 및 시험 조건

###### (가) 맥아구절초추출복합물의 안정성 평가 연구

- ① GMP 대량생산 원료의 안정성 평가 연구
  - 장기보존시험: 총 36개월 중 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24개월 수행
- ② Pilot scale 3 batch 원료의 안정성 평가 연구
  - 지표성분에 대한 분석법 밸리데이션 및 지표성분 규격 설정 확립에 따른 보완 시험으로 6개월까지 수행
  - 장기보존시험: 0, 3, 6개월 수행
  - 가속시험: 0, 1, 3, 6개월 수행

기능성 원료		제조처	제조일	제조 형태(용도)
안정성 연구 1	맥아구절초추출복합물 (BPD181130-1)	KGC예본	2018. 11. 30	분말 (bGMP)
안정성 연구 2	맥아구절초추출복합물 (P317, P318, P319)	KGC예본	2021. 04. 22	분말 (Pilot scale)

###### (나) 맥아구절초추출복합물 500 mg 함유 제품의 안정성 평가 연구

- ① 장기보존시험: 총 36개월 중 0, 3, 6, 9, 12, 18개월 수행

② 가속시험: 0, 3, 6개월 수행

(다) 시험조건

① 장기보존시험

- 온도/습도: 25±2°C, 60±5% RH

② 가속 안정성 시험

- 온도/습도: 40±2°C, 75±5% RH

(3) 연구 결과

(가) 맥아구절초추출복합물의 안정성 평가 연구 I

① 장기보존시험 (총 36개월 중 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24개월) 예비 평가

- 본 연구는 개발 복합원료의 안정성을 예비 평가하기 위한 연구로 본 GMP 생산 원료는 규격설정 및 표준화 이전에 제조되어 구절초 지표성분인 chlorogenic acid만을 분석하였으며, 36개월 안정성에 대한 지표자료로 삼기 위해 수행되었음

- 안정성 평가는 기능성 원료 추출 자료에는 포함되지 않는 항목으로 추후 기능성 원료 인정 후 정식 생산 때 규격에 맞춰 시험을 진행할 예정이며, 본 연구에서는 6개월의 장기보존시험과 가속시험을 맥아구절초추출복합물의 안정성 평가 연구II에서 추가로 보완 시험하여 맥아 및 구절초 지표성분의 함량을 분석하였음

② 장기보존시험 평가 결과 (온도/습도: 25±2°C, 60±5% RH)

시험항목		기준 및 규격	초기	3개월	6개월	9개월	12개월	18개월	24개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	좌동	좌동	좌동	좌동	좌동	좌동	좌동
Chlorogenic acid (mg/g)		-	3.921	4.29	4.25	3.75	4.28	3.88	3.84
중금속(mg/kg)	납	1.0 이하	0	-	-	-	-	-	-
	총비소	1.0 이하	0	-	-	-	-	-	-
	카드뮴	0.5 이하	0.1	-	-	-	-	-	-
	총수은	0.5 이하	0	-	-	-	-	-	-
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

(나) 맥아구절초추출복합물의 안정성 평가 연구II

① 장기보존시험 (0, 3, 6개월)

- 21년 신규 제조한 맥아구절초추출복합물 3 batch (P317, P318, P319)의 원료를 장기보존 시험조건(25±2 °C, 60±5 % RH)으로 0, 3, 6개월 안정성 평가를 수행하여, 기능성 원료의 장기보존시 안정성을 확보함 (1차 연구 보완 시험)

- P317

시험항목		기준 및 규격	초기	3개월	6개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	적합	적합	적합
함량 (mg/g)	Chlorogenic acid	2.744~4.116	3.389	3.333	3.351
	Tricin	0.144~0.216	0.184	0.177	0.179
잔류 용매 (ppm)	에탄올	5,000ppm 이하	0	-	0

미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성
-----	------	----	----	----	----

KGC에본		안정성 종합 시험성적서					결재			
0012	품명	맥아구절초추출복합물	제조번호	P317	제조일자	2021.04.22	사용기간	N/A	시험기간	6개월
			포장형태	기밀	검체수량	20g	시험구분 및시험조건	<input checked="" type="checkbox"/> 장기보존 (25±2℃ / 60±5%) <input type="checkbox"/> 가속 (40±2℃ / 75±5%)		
No.	시험항목	시험기준	시험개시	3개월	6개월	개월	개월	개월	개월	개월
			시험일자	2021.07.26 ~ 2021.07.30	2021.10.26 ~ 2021.11.05					
1	성상	연한 갈색 ~ 갈색의 분말	적합	적합	적합					
2	정량									
	1) Tricin	0.144 ~ 0.216 mg/g	0.184 mg/g	0.177 mg/g	0.179 mg/g					
	2) Chlorogenic acid	2.744 ~ 4.116 mg/g	3.389 mg/g	3.333 mg/g	3.351 mg/g					
3	미생물한도									
	1) 대장균군	음성	음성	음성	음성					
4	잔류용매									
	1) 에탄올	5,000 ppm 이하	0 ppm	0 ppm	0 ppm					
	시험자	-	도건표, 권다혜, 권광태	도건표, 권다혜	도건표, 권다혜, 권광태					
	확인자	-	도건표	도건표	도건표					
※ 비고 ※ 1) 시험주기 : 장기보존시험(3.6 개월) 2) 시험항목 : ① 전항목 : 성상, 정량, 미생물한도, 잔류용매 ② 기본항목 : 성상, 정량, 미생물한도										

- P318

시험항목		기준 및 규격	초기	3개월	6개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	적합	적합	적합
함량 (mg/g)	Chlorogenic acid	2.744~4.116	3.421	3.408	3.427
	Tricin	0.144~0.216	0.177	0.183	0.175
잔류 용매 (ppm)	에탄올	5,000ppm 이하	0	-	0
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성

KGC에본		안정성 종합 시험성적서					결재			
0012	품명	맥아구절초추출복합물	제조번호	P318	제조일자	2021.04.22	사용기간	N/A	시험기간	6개월
			포장형태	기밀	검체수량	20g	시험구분 및시험조건	<input checked="" type="checkbox"/> 장기보존 (25±2℃ / 60±5%) <input type="checkbox"/> 가속 (40±2℃ / 75±5%)		
No.	시험항목	시험기준	시험개시	3개월	6개월	개월	개월	개월	개월	개월
			시험일자	2021.07.26 ~ 2021.07.30	2021.10.26 ~ 2021.11.05					
1	성상	연한 갈색 ~ 갈색의 분말	적합	적합	적합					
2	정량									
	1) Tricin	0.144 ~ 0.216 mg/g	0.177 mg/g	0.183 mg/g	0.175 mg/g					
	2) Chlorogenic acid	2.744 ~ 4.116 mg/g	3.421 mg/g	3.408 mg/g	3.427 mg/g					
3	미생물한도									
	1) 대장균군	음성	음성	음성	음성					
4	잔류용매									
	1) 에탄올	5,000 ppm 이하	0 ppm	0 ppm	0 ppm					
	시험자	-	도건표, 권다혜, 권광태	도건표, 권다혜	도건표, 권다혜, 권광태					
	확인자	-	도건표	도건표	도건표					
※ 비고 ※ 1) 시험주기 : 장기보존시험(3.6 개월) 2) 시험항목 : ① 전항목 : 성상, 정량, 미생물한도, 잔류용매 ② 기본항목 : 성상, 정량, 미생물한도										

- P319

시험항목		기준 및 규격	초기	3개월	6개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	적합	적합	적합
함량 (mg/g)	Chlorogenic acid	2.744~4.116	3.392	3.368	3.406
	Tricin	0.144~0.216	0.180	0.180	0.171
잔류 용매 (ppm)	에탄올	5,000ppm 이하	0	-	0
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성

안정성 종합 시험성적서							결재	담당자	확인자	책임자				
KGC예본		맥아구절초추출복합물					제조번호	P319	제조일자	2021.04.22	사용기간	N/A	시험기간	6개월
0012		포장형태		기밀	검체수량	20g	시험구분 및 시험조건	<input checked="" type="checkbox"/> 장기보존 (25±2℃ / 60±5%) <input type="checkbox"/> 가속 (40±2℃ / 75±5%)						
No.	시험항목	시험기준	시험개시	3개월	6개월	개월	개월	개월	개월	개월				
			시험일자	2021.07.28 ~ 2021.07.30	2021.10.26 ~ 2021.11.05									
1	성상	연한 갈색 - 갈색의 분말	적합	적합	적합									
2	정량													
	1) Tricin	0.144 - 0.216 mg/g	0.180 mg/g	0.80 mg/g	0.171 mg/g									
	2) Chlorogenic acid	2.744 - 4.116 mg/g	3.392 mg/g	3.368 mg/g	3.406 mg/g									
3	미생물한도													
	1) 대장균군	음성	음성	음성	음성									
4	잔류용매													
	1) 에탄올	5,000 ppm 이하	0 ppm		0 ppm									
시행자		-	도건표, 권다혜 권광태	도건표, 권다혜	도건표, 권다혜 권광태									
확인자		-	도건표	도건표	도건표									
<b>※ 비고 ※</b> 1) 시험주기 : 장기보존시험(3.6 개월) 2) 시험항목 : ① 전항목 : 성상, 정량, 미생물한도, 잔류용매 ② 기본항목 : 성상, 정량, 미생물한도														

② 가속시험 (0, 1, 3, 6개월)

- 21년 신규 제조한 맥아구절초추출복합물 3 batch (P317, P318, P319)의 원료를 가속시험 조건(40±2 °C, 75±5 % RH)으로 0, 1, 3, 6개월 안정성 평가를 수행하여, 기능성 원료의 가속보관 조건하에서 안정성을 확보함

- P317

시험항목		기준 및 규격	초기	1개월	3개월	6개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	적합	적합	적합	적합
함량 (mg/g)	Chlorogenic acid	2.744~4.116	3.389	3.433	3.368	3.351
	Tricin	0.144~0.216	0.184	0.179	0.182	0.179
잔류 용매 (ppm)	에탄올	5,000ppm 이하	0	-	-	0
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성



안정성 종합 시험성적서							담당자	확인자	책임자	
3012 품 명	맥아구질초추출복합물		제조번호	P317	제조일자	2021.04.22	사용기간	N/A	시험기간	6개월
			포장형태	기밀	검체수량	30g	시험구분 및시험조건	□ 장기보존 (25±2℃ / 60±5%) ■ 가속 (40±2℃ / 75±5%)		
No.	시험항목	시험기준	시험개시	1개월	3개월	6개월	개월	개월	개월	개월
			시험일자	2021.06.26 ~ 2021.06.04	2021.07.26 ~ 2021.07.30	2021.10.26 ~ 2021.11.05				
1	성상	연한 갈색 - 갈색의 분말	적합	적합	적합	적합				
2	정량									
	1) Tricin	0.144 - 0.216 mg/g	0.184 mg/g	0.179 mg/g	0.182 mg/g	0.179 mg/g				
	2) Chlorogenic acid	2.744 - 4.116 mg/g	3.389 mg/g	3.433 mg/g	3.368 mg/g	3.351 mg/g				
3	미생물한도									
	1) 대장균군	음성	음성	음성	음성	음성				
4	잔류용매									
	1) 에탄올	5,000 ppm 이하	0 ppm			0 ppm				
	시 험 자	-	도검표, 권디에 검량표	도검표, 권디에	도검표, 권디에	도검표, 권디에 검량표				
	확 인 자	-	도검표	도검표	도검표	도검표				

※ 비 고 ※  
1) 시험주기 : 가속시험(1,3,6 개월)  
2) 시험항목 : ① 전항목 : 성상, 정량, 미생물한도, 잔류용매  
② 기본항목 : 성상, 정량, 미생물한도

- P318

시험항목		기준 및 규격	초기	1개월	3개월	6개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	적합	적합	적합	적합
함량 (mg/g)	Chlorogenic acid	2.744~4.116	3.421	3.396	3.349	3.427
	Tricin	0.144~0.216	0.177	0.188	0.182	0.175
잔류 용매 (ppm)	에탄올	5,000ppm 이하	0	-	-	0
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성

안정성 종합 시험성적서							담당자	확인자	책임자	
3012 품 명	맥아구질초추출복합물		제조번호	P318	제조일자	2021.04.22	사용기간	N/A	시험기간	6개월
			포장형태	기밀	검체수량	30g	시험구분 및시험조건	□ 장기보존 (25±2℃ / 60±5%) ■ 가속 (40±2℃ / 75±5%)		
No.	시험항목	시험기준	시험개시	2개월	4개월	6개월	개월	개월	개월	개월
			시험일자	2021.05.26 ~ 2021.06.04	2021.07.26 ~ 2021.07.30	2021.10.26 ~ 2021.11.05				
1	성상	연한 갈색 - 갈색의 분말	적합	적합	적합	적합				
2	정량									
	1) Tricin	0.144 - 0.216 mg/g	0.177 mg/g	0.188 mg/g	0.182 mg/g	0.175 mg/g				
	2) Chlorogenic acid	2.744 - 4.116 mg/g	3.421 mg/g	3.396 mg/g	3.349 mg/g	3.427 mg/g				
3	미생물한도									
	1) 대장균군	음성	음성	음성	음성	음성				
4	잔류용매									
	1) 에탄올	5,000 ppm 이하	0 ppm			0 ppm				
	시 험 자	-	도검표, 권디에 검량표	도검표, 권디에	도검표, 권디에	도검표, 권디에 검량표				
	확 인 자	-	도검표	도검표	도검표	도검표				

※ 비 고 ※  
1) 시험주기 : 가속시험(1,3,6 개월)  
2) 시험항목 : ① 전항목 : 성상, 정량, 미생물한도, 잔류용매  
② 기본항목 : 성상, 정량, 미생물한도

시험항목		기준 및 규격	초기	1개월	3개월	6개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	적합	적합	적합	적합
함량 (mg/g)	Chlorogenic acid	2.744~4.116	3.392	3.401	3.389	3.406
	Tricin	0.144~0.216	0.180	0.177	0.175	0.171
잔류 용매 (ppm)	에탄올	5,000ppm 이하	0	-	-	0
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성

안정성 종합 시험성적서							담당자	확인자	책임자
KGC에본		P319				2021.04.22	N/A		
품명		맥아구조초추출물함출				30g	<input type="checkbox"/> 장기보존 (25±2℃ / 60±5%) <input checked="" type="checkbox"/> 가속 (40±2℃ / 75±5%)		
No.	시험항목	시험기준	시험개시	2개월	4개월	6개월	개월	개월	개월
			시행일자	2021.05.26 ~ 2021.06.04	2021.07.26 ~ 2021.07.30	2021.10.26 ~ 2021.11.05			
1	성상	연한 갈색 ~ 갈색의 분말	적합	적합	적합	적합			
2	정량								
	1) Tricin	0.144 ~ 0.216 mg/g	0.180 mg/g	0.177 mg/g	0.175 mg/g	0.171 mg/g			
	2) Chlorogenic acid	2.744 ~ 4.116 mg/g	3.392 mg/g	3.401 mg/g	3.389 mg/g	3.406 mg/g			
3	미생물한도								
	1) 대장균군	음성	음성	음성	음성	음성			
4	잔류용매								
	1) 에탄올	5,000 ppm 이하	0 ppm			0 ppm			
시행자			-	도건표, 권다혜, 김유미	도건표, 권다혜	도건표, 권다혜	도건표, 권다혜, 강경태		
확인자			-	도건표	도건표	도건표	도건표		
※ 비고 ※ 1) 시험주기 : 가속시험(1,3,6 개월) 2) 시험항목 : ① 전항목 : 성상, 정량, 미생물한도, 잔류용매 ② 기본항목 : 성장, 정량, 미생물한도									

(다) 시제품의 안정성 평가 연구

① 장기보존시험 (36개월 중 0, 3, 6, 9, 12, 18개월)

- 시제품은 장기보존시험조건(25±2 °C, 60±5 % RH)으로 최초, 3, 6, 9, 12 및 18개월의 안정성 평가를 완료하였으며, 18개월의 장기보존시 안정함을 확인함

시험항목		기준 및 규격	초기	3개월	6개월	9개월	12개월	18개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	좌동	좌동	좌동	좌동	좌동	좌동
Chlorogenic acid(mg/g)		-	3.921	4.030	3.760	3.580	3.84	3.87
중금속(mg/kg)	납	1.0 이하	0	-	-	-	-	-
	총비소	1.0 이하	0	-	-	-	-	-
	카드뮴	0.5 이하	0.1	-	-	-	-	-
	총수은	0.5 이하	0	-	-	-	-	-
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성

② 가속시험 (0, 3, 6개월)

- 시제품은 가속시험조건(40±2 °C, 75±5 % RH)으로 최초, 3개월 및 6개월의 안정성 평가를 완료하였으며, 6개월의 가속보관 조건하에서 안정함을 확인함

시험항목		기준 및 규격	초기	3개월	6개월
성상		이미, 이취가 없는 갈색 분말	좌동	좌동	좌동
Chlorogenic acid(mg/g)		-	3.921	3.970	3.890
중금속(mg/kg)	납	1.0 이하	0	-	-
	총비소	1.0 이하	0	-	-
	카드뮴	0.5 이하	0.1	-	-
	총수은	0.5 이하	0	-	-
미생물	대장균군	음성	음성	음성	음성

(4) 고찰 및 결론

(가) 기능성 원료(맥아구절초추출복합물)의 안정성 시험

- ① 1~4차년도에 걸쳐 진행되던 기능성원료의 안정성 시험(장기, 가속)은 함량 관련 시험법 확립 및 기준 규격 확립이 4차년도에 완료됨에 따라 5차년도 신규 기능성원료 제조 하여 안정성 평가를 재수행 보완하였음
  - 기존 안정성 시험에서는 구절초 지표성분인 chlorogenic acid 함량 분석과 LC 패턴 분석, 유사도 평가로 안정성 시험을 진행하였으며, 최종 시험법 확립(MV) 및 지표물질(맥아 tricrin) 설정완료에 따른 규격 확립으로 신규 안정성 수행하였음
- ② 안정성 시험을 위해 pilot scale 3 batch를 제조하였으며, 장기, 가속 안정성 시험을 수행한 결과, 이에 대한 6개월 안정성을 확보하여 원료에 대한 관리기준이 정립됨
- ③ 기능성 원료는 현재 식품의약품안전처에 허가 진행 중에 있으며, 개별인정형 원료 인정 후 품목허가를 위하여 시제품 제형 연구 및 안정성 연구를 수행중에 있음

**A. 맥아구절초추출복합물 함유 시제품 제형 연구 및 제작**

(1) 연구 목적

- (가) 개별인정형 기능성 원료 인정 후 제품화를 위한 사전 연구로 제형 및 제조공정 확립 후 시제품을 생산하여 제품 컨셉을 확정하고자 하였음
- (나) 컨셉 시제품 제조 3건 확립

(2) 연구 재료 및 방법

(가) 연구 재료

- ① 맥아구절초추출복합물
- ② 제조형태: 정제 등

(나) 시제품 제조 조건

- ① 혼합: 15분간 혼합, 40mesh 통과 후 추가 혼합
- ② 타정 조건

항목	실제 결과 값
질량	491.4 mg

본압	5.90 mm
예압	7.0 mm
AGI 속도	62.5 rpm
속도	25 rpm

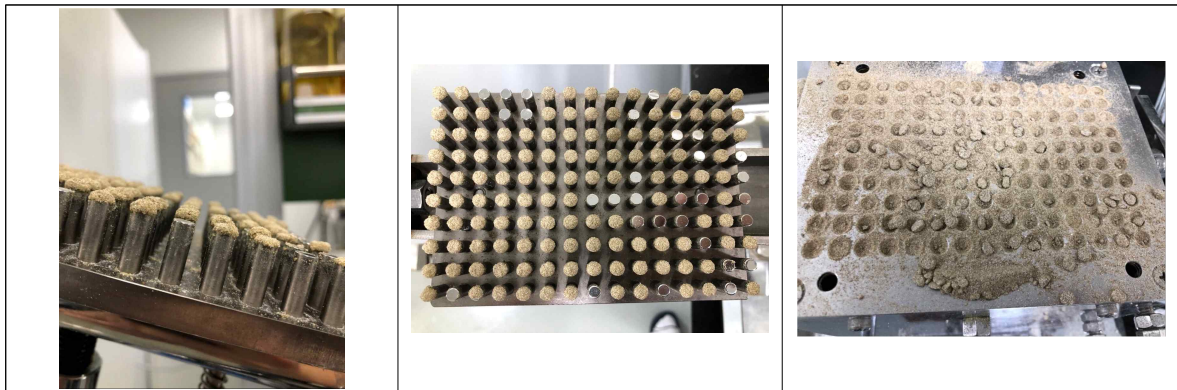
③ 코팅 조건

구분	Setting
열풍 온도	40~60℃
배기 온도	30~50℃
spray 액량	100~1,000 mL/분
atom 압력	2~3 bar
Pan rpm	2 rpm

(3) 연구결과

(가) 시제품 제형 연구(정제/캡슐) / 컨셉 확정

- ① 복합원료(맥아구철초추출복합물)에 대하여 경질 캡슐 제형으로 연구를 진행하였음
  - 복합원료에 대하여 캡슐제형으로 연구를 진행한 결과 캡슐 시료 충전기에 달라붙는 현상 등이 발생하여 제형 변경 진행
  - 습기에 취약한 원료에 부형제 처방을 추가: 정제 제형으로 결정함



(나) 벤치마킹 제품 조사

- ① 개발하고자 하는 기능성 원료는 “월경 전 변화에 의한 불편한 상태 개선”에 도움을 줄 수 있음이며, PMS와 함께 야기되는 긴장, 스트레스, 뼈 건강 등 다른 기능성을 추가하여 시제품 제조하였음 (시중에 유통되고 있는 제품 벤치마킹)

		
<ul style="list-style-type: none"> <li>- 제품명: 마이니 혈행케어 징코&amp;보라지</li> <li>- 주성분: 감마리놀렌산, 은행잎 추출분말 등</li> <li>- 기능성: PMS, 혈행 개선</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 제품명: 감마리놀렌산 보라지유</li> <li>- 주성분: 감마리놀렌산, 비타민 D, 보라지유</li> <li>- 기능성: 혈중 콜레스테롤 개선, 골다공증 발생 위험 감소, PMS</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 제품명: 프림로즈</li> <li>- 주성분: 감마리놀렌산, 보라지종자유, 달맞이꽃 종자유</li> <li>- 기능성: PMS, 혈행개선, 면역과민반응으로 인한 피부상태 개선</li> </ul>

(다) 컨셉 시제품 제조 (3건)

① 컨셉 1: 월경전 불편감 개선/긴장완화/혈행개선

- 용법 및 용량: 맥아구절초추출복합물 250 mg/정 (총 중량 500 mg/정), 일일 2정 섭취

No	원료명	원료코드 배합비율	함량(mg)
1	맥아구절초추출복합물 (DKB121)	35.714%	250.000
2	은행잎추출분말	8.333%	58.333
3	L-테아닌	15.198%	106.386
4	산화마그네슘	0.100%	0.700
5	석류추출물분말	0.11%	0.700
6	해조분말(TG Type)	30.755%	215.284
7	가교카복시메틸셀룰로스나트륨	3.000%	21.000
8	스테아린산	3.000%	21.000
9	이산화규소	1.800%	12.600
10	스테아린산마그네슘	2.000%	14.000
11	발효주정		105.00
	원재료비 계	100.0000%	

- 물성

- 봉해: 20.3~25분
- 경도: 11.82 kp
- 수율: 91.17%



### 제조지시 및 기록서 (타정)

제품명	DKB121+은행잎+테아닌	고객명	동국제약	제조번호	Y
정제성상	복합색의 제피정제	제조단위	7,000정	품목 코드	RP3-SAM-BC

No.	필요 시설	규격, 모델명	청소 SCP No.	청소자	점검상태	생산책임자 확인
1	로타리 타정기	P4205	2180TB-060		0	
2	금속검출기	THS1PH2E	2180TB-051		0	

**지시사항**

1. 시험타정된 최소분(기름들이 묻어 재사용 불가능한 것)은 '불량품'라벨을 붙여 보관하였다가 LOT정산 끝나면 폐기하고 질량 조절분은 분석하여 재타정한다.

2. 타정기를 멈추었다가 재타정할 때(예:기계수리후, 날파변결동)에도 시험타정과 같이 공정 관리한다.

공정명	작업공정	기록사항	작업일시	작업자	확인자
-----	------	------	------	-----	-----

1. 점검사항	1) 작업실의 온도는 19-25℃, 습도 70%RH 이하를 유지하는가? 2) 작업복장 및 필요한 보호구는 적절한 상태로 착용하였는가? 3) 작업실 및 기계시설은 청결하여 정리, 정돈 되어있는가? 4) 반제품의 재품명, 제조번호는 제조지시서와 일치하는가?	온도(22.2)℃ 습도(27.1)%RH ( 0 ) ( 0 ) ( 0 )	10/22		
---------	--	---	-------	--	--

2. 기계설정	각 정제기별 기계설정 범위를 확인후 우측에 기록한다. 정제기명: P4205      편치코드: RP-OBL3	0	10/22		
---------	---	---	-------	--	--

3. 시험타정	로타리 타정기를 이용하여 기준질량으로 하기 시험타정 조건에 따라 타정기를 조절하여 시험타정하고 그 결과를 시험타정기록서에 기록한다. <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 5px;"> <tr><th>항목</th><th>기준</th><th>실제</th></tr> <tr><td>질량</td><td>mg</td><td>691.0 mg</td></tr> <tr><td>분압</td><td>mm</td><td>6.00 mm</td></tr> <tr><td>예압</td><td>mm</td><td>7.00 mm</td></tr> <tr><td>AGI 속도</td><td>rpm</td><td>60 rpm</td></tr> <tr><td>속도</td><td>rpm</td><td>20 rpm</td></tr> </table> 제품의 성상을 확인한다.(모양: 원형 상: 무 하: 무)	항목	기준	실제	질량	mg	691.0 mg	분압	mm	6.00 mm	예압	mm	7.00 mm	AGI 속도	rpm	60 rpm	속도	rpm	20 rpm	1정 질량: 692.3 mg	10/22		
항목	기준	실제																					
질량	mg	691.0 mg																					
분압	mm	6.00 mm																					
예압	mm	7.00 mm																					
AGI 속도	rpm	60 rpm																					
속도	rpm	20 rpm																					

4. 금속검출기 설치	시험 타정이 완료되면 탈분기와 금속검출기를 설치한다. 금속검출기는 테스트피스를 이용하여 작업시작 전 5회 측정하여 점검표에 기입한다.	91/부	10/22		
-------------	--	------	-------	--	--

5. 타정	1) 시험타정 결과가 적합하면 생산책임자의 확인을 받아 타정한다. 2) 타정중 규정된 공정검사를 실시하고 그 내용을 타정공정관리기록서에 기록하여 첨부한다. 3) 타정작업중 타정된 정제는 탈분기로 분진을 제거하면서 일정량씩 용기에 받는다. 4) 타정: 타정작업중 불량정제를 선별하여 재생 가능한 것은 분석하여 재타정하고 재생이 불가능한 것은 '불량품'에 따로 보관하였다가 타정작업이 끝나면 질량을 확인한 후 폐기한다. 5) 타정된 양품 정제는 비닐봉투에 넣고 인습도지 않도록 잘 뒤은후 내용물 무게를 달아 확인 한 후 반제품표시라벨을 부착하여 반제품 보관실로 옮겨 대기한다. 용기1) 4.410 kg      용기2) 7 kg      용기3) 7 kg 용기4) 7 kg      용기5) 7 kg      용기6) 7 kg 용기7) 7 kg      용기8) 7 kg      용기9) 7 kg 용기10) 7 kg      용기11) 7 kg      용기12) 7 kg 6) 불량율이 3.0% 이상이면 불량수량의 내용 및 조치사항을 기록하고 보고한다.	1정 평균 질량: ( 691.0 mg/T)  총 정제 수량: ( 6,382 T)  총 정제 무게: ( 4.410 kg) 불량수량: ( 552 T) 불량율: ( 7.89 %)	10/22		
-------	--	---	-------	--	--

6. 공정검사	1) 상기 반제품에 대하여 Q.C에 시험의뢰한다. 검채량: T				
---------	---------------------------------------	--	--	--	--

7. 수율정산	정제(타정)에 대한 확인이 끝나면 수율을 계산한다. 수율(%) = $\frac{6,382(정)}{7,000정} \times 100 = ( 91.17 )\%$	0	10/22		
---------	--	---	-------	--	--

8. 인수인계	다음 공정으로 인계한다.	정제무게 확인: ( 4.410 kg)	10/22		
---------	---------------	-------------------------	-------	--	--

**특기사항**

② 컨셉 2: 월경전 불편감 개선/활성산소 제거

- 용법 및 용량: 맥아구절초추출복합물 250 mg/정 (총 중량 500 mg/정), 일일 2정 섭취

No	원료명	원료코드 배합비율	함량(mg)
1	DKB-121	50.000%	250.000
2	비타민B1질산염	7.716%	38.580
3	당귀추출물분말	0.100%	0.500
4	해조분말(TG Type)	33.2830%	156.415
5	가교카복시메틸셀룰로스나트륨	3.000%	15.000
6	스테아린산	3.000%	15.000
7	이산화규소	1.800%	9.000
8	스테아린산마그네슘	2.000%	10.000
9	히드록시프로필메틸셀룰로스	1.0000	5.00
10	당귀추출물분말	0.1000	0.500
11	글리세린지방산에스테르	0.1000	0.500
12	발효주정	-	66.680
13	정제수	-	0.01667g
	원재료비 계	100.0000%	500

- 물성

- 붕해: 20분
- 경도: 11.2 kp
- 수율: 91.89%







③ 컨셉 3: 월경전 불편감 개선/뼈건강

- 용법 및 용량: 맥아구절초추출복합물 250 mg/정 (총 중량 500 mg/정), 일일 2정 섭취

No	원료명	원료코드 배합비율	함량(mg)
1	DKB-121	50.000%	250.000
2	대두이소플라본	10.000%	50.000
3	콜레칼시페롤 0.1miu/g	7.1430%	35.715
4	해조분말(TG Type)	21.8570%	109.285
5	가교카복시메틸셀룰로스나트륨	3.000%	15.000
6	스테아린산	3.000%	15.000
7	이산화규소	1.800%	9.000
8	스테아린산마그네슘	2.000%	10.000
9	히드록시프로필메틸셀룰로스	1.000%	5.000
10	당귀추출분말	0.1000%	0.500
11	글리세린지방산에스테르	0.1000%	0.500
12	식품용주정에탄올	처방 외	66.6800
13	정제수	처방 외	0.01667g
	원재료비 계	100.0000%	500

- 물성

- 붕해: 18분
- 경도: 11 kp
- 수율: 88.12%



## 제조지시 및 기록서 (타정)

제 품 명	DKB121+대두이소플라본	고 객 명	동국제약	제 조 번 호	X
정제성상	복합성의 제표정제	제 조 단 위	10,000정	품 목 코 드	RP3-SAM-BC

No.	필요 시설	규격, 모델명	청소 SCP No.	정소자	정결상태	생산책임자 확인
1	로타리 타정기	P4205	H201B-060		0	
2	금속검출기	THS/PH21E	H201B-051		0	

**지시사항**

1. 시험타정한 최소분(기름등이 묻어 재사용 불가능한 것)은 "불량품"라벨을 붙여 보관하였다가 LOT정산 끝나면 폐기하고 질량 조절분은 분쇄하여 재타정한다.

2. 타정기를 멈추었다가 재타정할 때(예:기계수리후, 날파변경등)에도 시험타정과 같이 공정 관리한다.

공정명	작업공정	기록사항	작업일시	작업자	확인자																		
1. 점검 사항	1) 작업실의 온도는 19-25℃, 습도 70%RH 이하를 유지하는가? 2) 작업복장 및 필요한 보호구는 청결한 상태로 착용하였는가? 3) 작업실 및 기계시설은 청결하며 정리, 정돈 되어있는가? 4) 반제품의 제품명, 제조번호는 제조지시서와 일치하는가?	온도( 23.4 )℃ 습도( 40.1 )%RH ( 0 ) ( 0 ) ( 0 )	09/24																				
2. 기계 설정	각 정제기별 기계설정 범위를 확인후 우측에 기록한다. <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 50%;">정제기명</th> <th style="width: 50%;">핀치코드</th> </tr> <tr> <td>P4205</td> <td>RP-OBL4</td> </tr> </table>	정제기명	핀치코드	P4205	RP-OBL4	0	09/24																
정제기명	핀치코드																						
P4205	RP-OBL4																						
3. 시험 타정	로타리 타정기를 이용하여 기준질량으로 하기 시험타정 조건에 따라 타정기를 조절하여 시험타정하고 그 결과를 시험타정기록서에 기록한다. <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>기준</th> <th>실제</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>질량</td> <td>mg</td> <td>491.4 mg</td> </tr> <tr> <td>분압</td> <td>mm</td> <td>5.90 mm</td> </tr> <tr> <td>예압</td> <td>mm</td> <td>7.00 mm</td> </tr> <tr> <td>AGI 속도</td> <td>rpm</td> <td>12.5 rpm</td> </tr> <tr> <td>속도</td> <td>rpm</td> <td>25 rpm</td> </tr> </tbody> </table> 제품의 성상을 확인한다.(모양 : 원형 상 : 무 하 : 무)	항목	기준	실제	질량	mg	491.4 mg	분압	mm	5.90 mm	예압	mm	7.00 mm	AGI 속도	rpm	12.5 rpm	속도	rpm	25 rpm	1정 질량: 494.5 mg  모양: <u>강봉형</u> 상부: <u>목</u> 하부: <u>목</u>	09/24		
항목	기준	실제																					
질량	mg	491.4 mg																					
분압	mm	5.90 mm																					
예압	mm	7.00 mm																					
AGI 속도	rpm	12.5 rpm																					
속도	rpm	25 rpm																					
4. 금속 검출기 설치	시험 타정이 완료되면 탈분기와 금속검출기를 설치한다. 금속검출기는 테스트피스를 이용하여 작업시작 전 5회 측정하여 점검표에 기입한다.	( )부	09/24																				
5. 타정	1) 시험타정 결과가 적합하면 생산책임자의 확인을 받아 타정한다. 2) 타정중 규정한 공정검사를 실시하고 그 내용을 타정공정관리기록서에 기록하여 첨부한다. 3) 타정작업중 타정된 정제는 탈분기로 분진을 제거하면서 일정량씩 용기에 받는다. 4) 타정: 타정작업중 불량정제를 선별하여 재생 가능한 것은 분쇄하여 재타정하고 재생이 불가능한 것은 "불량품"에 따로 보관하였다가 타정작업이 끝나면 질량을 확인한 후 폐기한다. 5) 타정된 양품 정제는 비닐봉투에 넣고 인습되지 않도록 잘 묶은후 내용을 무게를 달아 확인 한 후 반제품표시라벨을 부착하여 반제품 보관실로 옮겨 대기한다. 용기1) 4.330 kg    용기2) 7 kg    용기3) 7 kg 용기4) 7 kg    용기5) 7 kg    용기6) 7 kg 용기7) 7 kg    용기8) 7 kg    용기9) 7 kg 용기10) 7 kg    용기11) 7 kg    용기12) 7 kg 6) 불량율이 3.0% 이상이면 불량수량의 내용 및 조치사항을 기록하고 보고한다.	1정 평균 질량: ( 491.4 mg/T )  총 정제 수량: ( 8.812 T )  총 정제 무게: ( 4.330 kg ) 불량수량: ( 1.036 T ) 불량율: ( 10.36 % )	09/24																				
6. 공정 검사	1) 상기 반제품에 대하여 Q.C에 시험의뢰한다. 검사량: T																						
7. 수율 정산	정제(타정)에 대한 확인이 끝나면 수율을 계산한다. 수율(%) = $\frac{8.812 \text{ (정)}}{10,000\text{정}} \times 100 = ( 88.12 )\%$	0	09/24																				
8. 인수 인계	다음 공정으로 인계한다.	정제무게 확인: ( 4.330 kg )	09/24																				

**특기사항**

㈜알피바이오

(4) 결론

(가) 시제품 제형 연구 (정제/캡슐)

- ① 복합원료(맥아구철초추출복합물)에 대하여 경질 캡슐 제형으로 선행 연구를 진행하였으며, 연구 진행 결과 복합원료가 습기에 취약하여 충전기에 달라붙는 현상이 발생함
- ② 제형 형태를 정제로 변환하여 연구 진행하였으며, 복합원료의 인습을 개선하기 위하여 정제 처방을 신규 연구하여 확립하였음
- ③ 향후 개별인정형 원료 인정 후 다양한 제품군 출시를 위해서는 기능성 원료의 성상 개

선을 위한 신규 연구가 필요할 것으로 판단됨

(나) 컨셉 시제품 제조

- ① “월경 전 변화에 의한 불편한 상태 개선”의 기능성과 시너지 효과를 낼 수 있는 긴장 완화, 스트레스 개선, 뼈건강의 기능성을 추가하여 시제품 연구를 수행하였음
- ② 현재 출시되어 있는 제품들은 혈행 개선, 콜레스테롤 개선, 면역 개선 등의 효과가 있는 보라지유, 은행잎 추출물, 비타민D 기능성원료와 혼합하여 판매되고 있음
- ③ 향후 맥아구절초추출복합물의 기능성원료 인정 후 제품 출시 시 위의 기능성뿐만 아니라, 피부 건강, 장기능 개선 등 여성 고객의 needs를 충족시킬 수 있는 소재를 혼합하여 기존 제품과의 차별성을 강조해야 할 것으로 판단됨
  - 특히 본 연구개발의 1차 후보 소재인 알로에동결건조 분말을 활용하여 피부 트러블 등을 예방할 수 있는 제품을 개발할 예정임

## B. 마케팅 전략 수립

(1) 연구 목적

- (가) 마케팅 기획 제품 개요 확립 및 차별성 확보
- (나) 월경전 상태 개선에 도움을 주는 관련 산업 및 시장 진입
- (다) 월경전 상태 개선 건강기능식품 경쟁제품 현황 확보
- (라) 기획 제품 마케팅 전략 수립에 따른 사업화 준비

(2) 마케팅 전략 확립 방법

(가) 마케팅 기획제품 개요 및 차별성

① 마케팅 기획 제품의 필요성

- 2015년 이후 여성 인구가 대폭 증가하여 남녀 비율이 역전되는 현상이 벌어졌음에도 가임기 여성의 80%가 겪는 PMS에 대한 적극적인 대처가 미비하며, 2005년 발표된 논문에 의하면 PMS로 인한 결근과 생산성 저하로 인해 재정적 손실은 1인당 약 4천 3백만 달러에 달한다고 보고됨
- 국내 PMS 관련 기능성 원료(월경전 상태 개선)는 감마리놀렌산이 유일하나 그 효과가 미비하여 상품성이 부족하며, 2017년 7월 고시형 원료로 전환되어 전문성이 떨어질 것으로 사료되어 이를 대체할 수 있는 신규의 월경전 상태 개선 기능성 원료의 개발이 필요함

② 월경 전 증후군 개선을 위한 건강기능식품 기획

- 기존 연구를 통해 PMS 개선 효능이 증명된 dopamine 수용체 활성화를 통한 prolactin 분비 억제 기전을 활용하여 천연자원 기반의 여성 PMS 완화 소재를 개발하고자 함
- 선행연구를 통해 뇌하수체 세포 증식 효능을 나타내는 소재인 계지, 육계, 금전초, 노회외 4종과 prolactin 분비 억제 소재인 구절초, 맥아, 목향의 3종을 선별하여 후보 소재로 연구개발을 진행하였음
- 후보 소재 7종 중, 문헌 조사를 통해 효능이 우수하면서도 식품 원재료로 등재되어 있고, 표준화가 원활한 소재로 다음의 2종을 최종 후보 소재로 도출하였으며 해당 혼합물(Lomens-P0)의 인체적용시험을 통해 기능성을 입증함

✓ 맥아(Hordei Fructus Germinatus)

✓ 구절초(*C.zawadskii Herbich var. latilobum*)

③ 마케팅 기획 제품의 차별성

- 뇌하수체 세포에서 prolactin 분비 억제 소재 탐색
- PMS 완화 후보 소재(Lomens-P0; 기능성 원료 맥아주정추출분말:구절초주정추출분말)의 인체적용시험에서 유의성 확보

- 2020년 6월 11일부터 2021년 3월 4일까지 Vagus Super Speciality Hospital(인도) 주관하에 진행된 인체적용시험을 통해 PMS 완화 후보 소재(Lomens-P0)의 유효성과 안전성을 검증하였음
- 그 결과 MS 완화 후보 소재(Lomens-P0)의 월경전 증후군의 정도가 유의미하게 개선되었음을 확인하였으며 안전성 부문에서도 섭취에 따른 유의미한 이상반응은 없어 그 안전성을 입증하였음

(나) 월경전 상태 개선에 도움을 주는 관련 산업 및 시장 현황

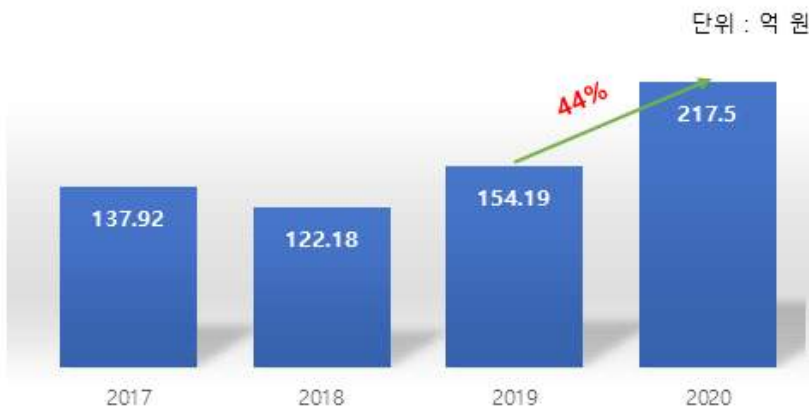
① 월경전 상태 개선 건강기능식품 시장은 크게 두 가지 관점으로 볼 수 있으며 첫 번째는 월경전 상태 개선 기능성에 사용되는 고시형 원료로서 사용되는 감마리놀렌산 함유 유지에 대한 시장, 두 번째로 월경전 상태 개선 기능성 제품에 대한 시장 등이 있음

② 국내 감마리놀렌산 함유 유지 원료 시장 현황

- 국내 감마리놀렌산함유유지 원료 시장<sup>1)</sup>은 2020년 224억 5,000만원 규모로 전년대비 약 44% 성장하였으며 이는 국내 원료 수입확대 보다는 국내 원료 생산업체의 매출 확대에 의한 것으로 보임

항목	2017년	2018년	2019년	2020년	단위
매출액	69.2	67.4	89.6	155.0	억 원
수입액	6,181	5,326	5,673	5,721	천 달러
수입액 환산	69.8	58.6	66.1	67.5	억 원
수출액	1.1	3.8	1.5	5.0	억 원
시장규모	137.9	122.2	154.2	217.5	억 원

## 국내 감마리놀렌산함유유지 원료 시장 현황



③ 국내 월경전 상태 개선 기능성 매출액 현황<sup>2)</sup>

- 2020년 국내 월경전 상태 개선 건강기능식품 매출액은 155억원 규모로 2019년 89억 6,000만원 규모 대비 약 73%가량 증가하였으며, 2018년부터 2020년까지 매출액 연평균 성장률은 약 53%로 향후 매출액 규모가 크게 확대될 것으로 전망됨

항목	2018년	2019년	2020년	단위
매출액	67.4	89.6	155.0	억 원

1) 자료 : 식품의약품안전처, 수입액 환산시 환율 : 1,130원(2017), 1,101원(2018), 1,166원(2019), 1,180원(2020) 적용

2) 자료 : 식품의약품안전처

성장률(전년대비)	-	32.9	72.9	%
-----------	---	------	------	---

## 국내 월경전 상태 개선 기능성 매출액 현황

단위 : 억 원



### (다) 월경전 상태 개선 건강기능식품 경쟁제품 현황

- ① 국내 최근 1년간 월경전 상태 개선 건강기능식품에 주원료로 포함되는 감마리놀렌산 함유 유지를 포함하며 여성 관련 제품으로 특정되는 제품 20건에서 실질적으로 국내에서 통신판매가 이루어지는 제품 5건을 경쟁제품으로 선별하였음
- ② 경쟁제품 모두 감마리놀렌산의 원재료로 감마리놀렌산 함유량이 20% 이상인 보라지유를 사용하고 있으며 원산지 모두 중국산이 아닌 네덜란드산을 수입하여 사용하고 있음
  - 제조사가 노바렉스 및 코스맥스바이오의 경우 보라지유를 저온압착 공법으로 추출함
  - 용량대비 판매가가 저렴한 제품은 (주)프롬바이오에서 판매하는 ‘여성건강엔 감마리놀렌산’이며 용량대비 판매가가 비싼 제품은 (주)뉴트리원에서 판매하는 ‘감마리놀렌산 레이디 블룸’임

제품명	제조원	판매사	GLA 원산지	용량	판매가 <sup>3)</sup>
여성건강엔 감마리놀렌산	주식회사 노바렉스	(주)프롬바이오	보라지유 (네덜란드)	800mg x 60캡슐 x 2박스	59,000원
디어우먼	주식회사 노바렉스	대상라이프사 이연수(주)	보라지유 (네덜란드)	800mg x 120캡슐	79,000원
감마리놀렌산 레이디 블룸	주식회사 노바렉스	(주)뉴트리원	보라지유 (네덜란드)	700mg x 60캡슐	72,000원
아임오 그날 전 보라지유 100%	코스맥스바이오(주)	(주)아이엠오	보라지유 (네덜란드)	600mg x 60캡슐	32,000원
우먼밸런스	(주)아모레퍼시픽	-	보라지유 (네덜란드) 달맞이꽃종자유 (독일)	500mg x 112캡슐	55,000원

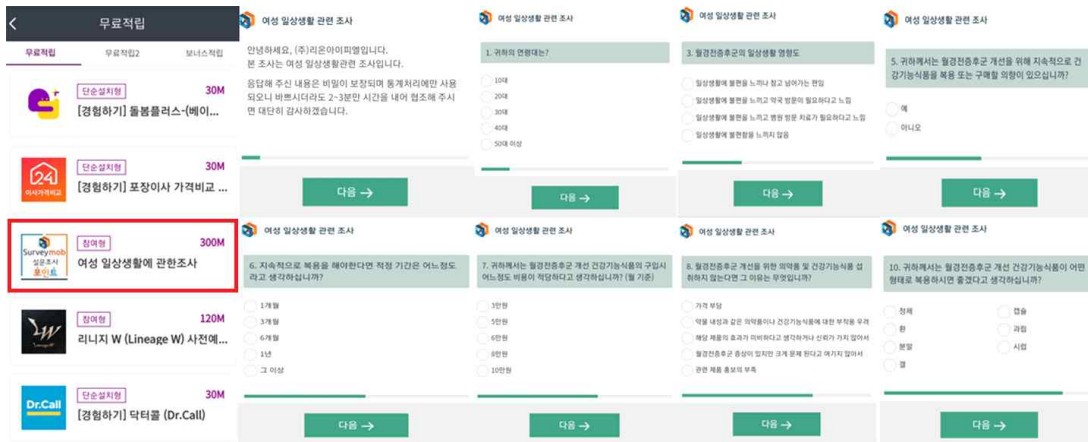
### (라) 기획 제품 마케팅 전략 수립

- ① 선호도 설문조사를 통한 고객타겟팅
- ② 설문조사 개요
  - 마케팅 전략 수립을 위하여 국내 일반인들을 대상으로 여성 생리전증후군 완화 건강 기능식품에 대한 선호도 설문조사를 모바일터미니 앱을 이용하여 진행함

3) 2021.10.14. 판매사 자사몰 통신판매 가격 기준

- 설문조사의 주요 목적은 여성 생리전증후군 완화 건강기능식품에 대한 주요 소비자층 파악 및 향후 출시될 제품에 대한 가격, 제형 및 추가 기능성 성분 설정 등을 참고하기 위함임
- 모바일터머니 설문참여자의 마일리지 무료적립 방식을 통하여 적극적인 설문조사 참여를 유도하였으며 주요 설문조사 대상은 여성 10~50대 1,001명을 대상으로 설문조사를 진행함

항목	세부내용
조사지역	전국
자료 수집 방법	구조화된 설문지를 모바일 터머니 앱을 통해 자료를 수집하였으며 설문조사를 완료시 1,000마일리지를 지급함
표본 수	1,001명
표본 추출 방법	모바일 터머니 플랫폼 회원 중 여성 10~50대 이상 타겟
표본 오차	±3.1%p (95% 신뢰수준)
조사 기간	2021년 9월 30일 ~ 10월 7일



㉞ 설문 문항 구성

- 설문 문항의 구성은 크게 대상자의 상태(연령대, 건강기능식품 지출 비용, 여성 생리전 증후군 증상정도 등)와 대상자의 여성 생리전 증후군 완화 건강기능식품에 대한 선호도(비구매사유, 가격, 기능성, 복용가능기간 및 희망제형)로 나뉘어지며 1번 문항부터 4번 문항까지는 대상자의 상태에 대한 설문으로 구성되어 있으며 5번부터 10번까지는 여성 생리전 증후군 완화 건강기능식품에 대한 선호도에 대한 설문으로 구성되어 있음

1	귀하의 연령대는?				
	① 10대	② 20대	③ 30대	④ 40대	⑤ 50대 이상
2	귀하께서 월간 지출하는 건강기능식품 비용은 대략 얼마정도입니까?				
	① 3만원대	② 5만원대	③ 10만원대	④ 15만원대	⑤ 그 이상

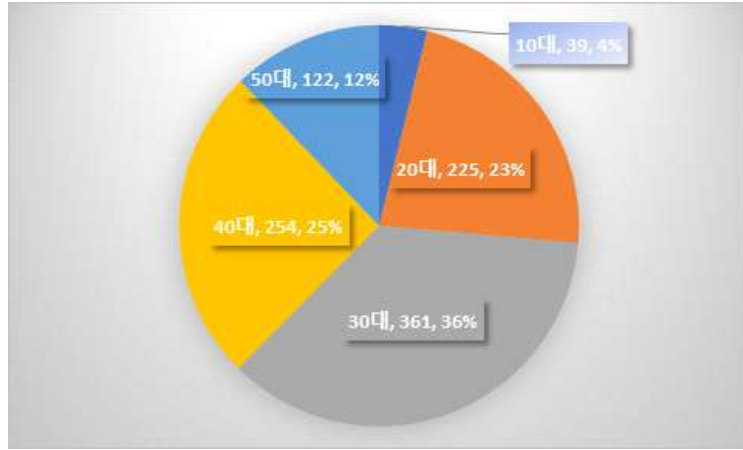
3	<b>월경전증후군의 일상생활 영향도</b>							
	① 일상생활에 불편을 느끼나 참고 넘어가는 편임							
	② 일상생활에 불편을 느끼고 약국 방문이 필요하다고 느낌							
	③ 일상생활에 불편을 느끼고 병원 방문 치료가 필요하다고 느낌							
4	④ 일상생활에 불편함을 느끼지 않음							
	<b>월경전증후군의 정도</b>							
	① 유방에 통증이 있음							
	② 배에 가스가 차거나 불편한 느낌이 있음							
	③ 두통이 있음							
④ 손이나 발이 부음								
⑤ 신체적 증상은 적으나 정서적 증상이 있음.(신경과민, 우울증, 분노 등)								
5	<b>귀하께서는 월경전증후군 개선을 위해 지속적으로 건강기능식품을 복용 또는 구매할 의향이 있으십니까?</b>							
	① 예		② 아니오					
6	<b>지속적으로 복용을 해야한다면 적정 기간은 어느정도라고 생각하십니까?</b>							
	① 1개월	② 3개월	③ 6개월	④ 1년	⑤ 그 이상			
7	<b>귀하께서는 월경전증후군 개선 건강기능식품의 구입시 어느정도 비용이 적당하다고 생각하십니까? (월 기준)</b>							
	① 3만원	② 5만원	③ 6만원	④ 8만원	⑤ 10만원			
8	<b>월경전증후군 개선을 위한 의약품 및 건강기능식품 섭취하지 않는다면 그 이유는 무엇입니까?</b>							
	① 가격 부담							
	② 약물 내성과 같은 의약품이나 건강기능식품에 대한 부작용 우려							
	③ 해당 제품의 효과가 미비하다고 생각하거나 신뢰가 가지 않아서							
	④ 월경전증후군 증상이 있지만 크게 문제 된다고 여기지 않아서							
⑤ 관련 제품 홍보의 부족								
9	<b>귀하께서는 월경전증후군 개선 기능성과 함께 복합적으로 어떤 기능이 있으면 좋겠다고 생각하십니까?</b>							
	① 면역과민 피부 개선	② 혈행 개선	③ 관절 뼈 건강	④ 피로개선	⑤ 수면질 개선			
	⑥ 피부건강	⑦ 긴장완화	⑧ 장건강	⑨ 질내 유익균 증식, 유해균 억제	⑩ 희망하는 기능성 직접 기재			
10	<b>귀하께서는 월경전증후군 개선 건강기능식품이 어떤 형태로 복용하시면 좋겠다고 생각하십니까?</b>							
	① 정제	② 캡슐	③ 환	④ 과립	⑤ 분말	⑥ 시럽	⑦ 겔	⑧ 젤리

(3) 설문조사 결과를 통한 마케팅 전략 수립

(가) 설문조사 대상 결과

① 설문조사 대상 연령대 구성

- 설문조사 대상 인원은 총 1,001명으로 10대부터 50대까지의 여성으로 구성되어 있으며 연령대는 10대 39명, 20대 225명, 30대 361명, 40대 이상 254명 50대 122명으로 나타남



(나) 교차 통계표 결과

① Q.2 귀하께서 월간 지출하는 건강기능식품 비용은 대략 얼마정도입니까?

구분	설문인원	3만원대	5만원대	10만원대	15만원대	그 이상
전체	1,001	29.6	29.2	27.8	9.9	3.6
연령	10대	39	64.1	35.9	0.0	0.0
	20대	225	37.3	35.1	17.8	6.2
	30대	361	29.9	24.4	32.4	8.3
	40대	254	19.7	31.5	31.5	15.7
	50대	122	23.8	25.4	33.6	12.3

- 전체 설문인원에서 3만원대, 5만원대 및 10만원대 응답비율은 각각 29.6%, 29.2% 및 27.8%로 나타나고 있어 금액대에 따른 응답비율이 크게 차이나지 않는 것으로 나타나고 있음
- 40대 이상 연령대에서 15만원대 응답비율이 타 연령대 보다 높은 것으로 나타나고 있으며 반대로 10대에서 3만원대 응답비율이 타 연령대 보다 높은 것으로 나타나고 있음

② Q.3 월경전증후군의 일상생활 영향도

구분	설문인원	일상생활에 불편을 느끼나 참고 넘어가는 편임	일상생활에 불편을 느끼고 약국 방문이 필요하다고 느낌	일상생활에 불편을 느끼고 병원 방문 치료가 필요하다고 느낌	일상생활에 불편함을 느끼지 않음	
전체	1,001	40.6	31.6	11.3	16.6	
연령	10대	39	41.0	33.3	5.1	20.5
	20대	225	48.9	28.0	9.8	13.3
	30대	361	34.9	40.4	11.1	13.6
	40대	254	37.0	30.3	13.4	19.3
	50대	122	49.2	13.9	12.3	24.6

- 전체인원의 83.5%가 일상생활에서 불편을 느끼고 있는 것으로 나타나고 있으며 약국 방문의 필요하다고 응답한 비율이 30대에서 가장 높게 나타나고 있음
- 병원 방문 치료가 필요하다고 응답한 비율의 경우 40대 및 50대에서 높게 나타나고 있음
- 반대로 불편함을 느끼나 참고 넘어간다고 응답한 비율의 경우 10대 및 20대에서 가장 높게 나타나고 있으며 연령대가 증가함에 따라 약물복용 및 치료에 대한 니즈가 증가하고 있는 것으로 나타남



③ Q.4 월경전증후군의 정도

구분	설문인원	유방에 통증이 있음	배에 가스가 차거나 불편한 느낌이 있음	두통이 있음	손이나 발이 부음	신체적 증상은 적으나 정서적 증상이 있음 <sup>4)</sup>	
전체	1,001	19.2	36.1	16.9	7.4	20.5	
연령	10대	39	25.6	38.5	25.6	0.0	10.3
	20대	225	16.0	38.7	19.6	3.1	22.7
	30대	361	20.2	38.2	13.6	8.9	19.1
	40대	254	19.3	33.5	17.7	9.1	20.5
	50대	122	19.7	29.5	17.2	9.8	23.8

- 전 연령대에서 ‘배에 가스가 차거나 불편한 느낌이 있음’ 증상에 대한 응답비율이 가장 높게 나타나고 있음
- ‘유방에 통증이 있음’ 및 ‘두통’ 증상의 경우 10대에서 비중이 높게 나타나고 있으며 ‘손이나 발이 부음’ 증상의 경우 30~50대에서 비중이 높게 나타나고 있음

④ Q.5 귀하께서는 월경전증후군 개선을 위해 지속적으로 건강기능식품을 복용 또는 구매할 의향이 있으십니까?

구분	설문인원	예	아니오	
전체	1,001	73.7	26.3	
연령	10대	39	74.4	25.6
	20대	225	67.1	32.9
	30대	361	76.2	23.8
	40대	254	80.7	19.3
	50대	122	63.9	36.1

- 10대, 30대 및 40대 연령대에서 구매의사 비중이 높은 것으로 나타나고 있으며, 30대 및 40대 일부의 경우 경제적 여유에 따른 구매 비중이 높은 것으로 볼 수 있으나, 10대의 경우 경제적 여유에 상관없이 증상 개선을 위한 니즈가 강한 것으로 볼 수 있음

⑤ Q.6 지속적으로 복용을 해야 한다면 적정 기간은 어느정도라고 생각하십니까?

구분	설문인원	1개월	3개월	6개월	1년	그 이상	
전체	1,001	16.5	25.4	29.1	12.0	17.1	
연령	10대	39	33.3	25.6	15.4	0.0	25.6
	20대	225	20.0	30.7	26.7	5.8	16.9
	30대	361	16.9	22.2	28.3	13.9	18.8
	40대	254	9.8	29.5	30.7	14.2	15.7
	50대	122	17.2	16.4	36.9	17.2	12.3

- 설문인원의 약 58.2%는 월경전증후군 완화를 위해서 6개월, 1년, 그 이상의복용이 필요할 것으로 생각하고 있으며, 이는 월경전증후군 완화 건강기능식품이 단기간 섭취로 인한 효과가 나타나는 것보다는 장기간에 섭취에 따른 점진적이며 지속적인 효과가 나타나는 것을 희망하고 있는 것으로 볼 수 있음

4) 신경과민, 우울증, 분노 등

- 연령대별로는 10대의 경우 단기간 섭취에 따른 즉각적인 효과가 나타나길 희망하고 있으며, 이와는 반대로 30~50대의 경우 연령대가 증가함에 따라 장기간 섭취에 따른 점진적이며 지속적인 효과가 나타나길 희망하고 있음

⑥ Q.7 귀하께서는 월경전증후군 개선 건강기능식품의 구입시 어느정도 비용이 적당하다고 생각하십니까? (월 기준)

구분		설문인원	3만원	5만원	6만원	8만원	10만원
전체		1,001	39.7	35.7	12.4	7.0	5.3
연령	10대	39	53.8	38.5	7.7	0.0	0.0
	20대	225	40.4	34.7	12.4	8.4	4.0
	30대	361	39.6	33.0	16.1	6.9	4.4
	40대	254	39.4	38.6	10.6	7.9	3.5
	50대	122	34.4	38.5	6.6	4.9	15.6

- 설문인원의 약 75%가 제시된 설문문항에서 월 3만원 및 5만원의 금액대를 희망하고 있으며, 전체 설문인원의 평균 구매희망 비용은 월 4만 8,190원으로 1년 기준으로는 57만 8,280원에 해당됨
- 2020년 한국농촌경제연구원에서 진행한 건강기능식품 구매 관련 설문조사 자료에 따르면 1년 기준 평균 구매 비용은 25만 3,136원으로 월경전증후군 개선 한가지의 기능성을 추구하기 위한 구매 비용으로 볼 경우 일반 건강기능식품 평균 구매 비용보다는 다소 높은 것으로 볼 수 있음

⑦ Q.8 월경전증후군 개선을 위한 의약품 및 건강기능식품 섭취하지 않는다면 그 이유는 무엇입니까?

구분		설문인원	가격 부담	약물 내성과 같은 의약품이나 건강기능식품에 대한 부작용 우려	해당 제품의 효과가 미비하다고 생각하거나 신뢰가 가지 않아서	월경전증후군 증상이 있지만 크게 문제 된다고 여기지 않아서	관련 제품 홍보의 부족
전체		1,001	26.5	33.0	21.2	13.4	6.0
연령	10대	39	28.2	38.5	20.5	7.7	5.1
	20대	225	30.7	35.6	18.2	11.1	4.4
	30대	361	25.2	33.0	23.3	10.8	7.8
	40대	254	26.8	30.3	26.4	13.4	3.1
	50대	122	21.3	32.0	9.8	27.0	9.8

- 전 연령대에서 부작용에 대한 우려로 구매를 희망하지 않는 경우가 가장 높은 비중을 차지하고 있음
- 연령대가 높아질수록 월경전증후군 증상에 대한 중요성 인식이 낮아짐에 따라 구매를 희망하지 않는 비중이 증가하고 있으며, 10대 및 20대의 경우 타 연령대에 비해 가격 부담으로 인하여 구매를 희망하지 않는 비중이 높은 것으로 나타남

⑧ Q.9 귀하께서는 월경전증후군 개선 기능성과 함께 복합적으로 어떤 기능이 있으면 좋겠다고 생각하십니까?

구분	설문인원	면역과민 피부	혈행 개선	관절 뼈 건강	피로 개선	수면 질 개선	피부 건강	긴장 완화	장 건강	질내 유익균	희망하는 기능

		개선								증식, 유해균 억제	성 직접 기재	
전체	1,001	13.1	10.1	9.9	16.7	10.2	12.7	2.9	5.4	17.8	1.3	
연령	10대	39	17.9	0.0	2.6	20.5	7.7	10.3	10.3	20.5	10.3	0.0
	20대	225	5.3	6.7	7.1	22.2	14.2	17.3	2.2	5.3	18.2	1.3
	30대	361	17.5	6.4	10.0	18.6	10.0	10.2	3.3	3.9	19.4	0.8
	40대	254	13.4	16.5	10.2	10.6	8.7	14.2	2.0	5.5	16.1	2.8
	50대	122	12.3	17.2	16.4	12.3	7.4	9.0	2.5	4.9	18.0	0.0

- 월경전증후군 개선 기능성과 함께 가장 복합적으로 희망하는 기능성은 ‘피로개선’, ‘면역 과민 피부개선’ 및 ‘질내 유익균 증식, 유해균 억제’ 인 것으로 나타나고 있음
- 연령대별로 10대는 ‘피로 개선’ 및 ‘장 건강’, 20대는 ‘피로 개선’, 30 및 50대는 ‘질내 유익균 증식, 유해균 억제’, 40대는 ‘혈행 개선’을 가장 복합적으로 희망하는 기능성으로 꼽고 있음

⑨ Q.10 귀하께서는 월경전증후군 개선 건강기능식품이 어떤 형태로 복용하시면 좋겠다고 생각하십니까?

구분	설문인원	정제	캡슐	환	과립	분말	시럽	겔
전체	1,001	13.5	63.1	6.2	3.7	4.8	6.1	2.6
연령	10대	39	12.8	71.8	5.1	0.0	5.1	0.0
	20대	225	13.8	62.7	4.9	3.6	6.2	2.2
	30대	361	13.3	58.7	6.6	2.8	5.3	10.0
	40대	254	12.6	65.7	6.7	5.1	3.9	3.1
	50대	122	15.6	68.9	6.6	4.9	2.5	0.0

- 전 연령대에서 선호도가 가장 높은 제형은 캡슐 제형으로 63%로 나타나고 있으며, 선호도가 가장 낮은 제형은 겔 제형으로 2.6%로 나타나고 있음

(4) 고찰 및 결론

(가) 월경전증후군 개선 건강기능식품에 대한 고객 니즈 분석

① 조사된 월경전증후군 개선 건강기능식품에 대한 선호도 설문에 대한 고객 니즈를 분석하고 핵심 니즈를 도출하였으며, 해당 결과를 바탕으로 제품화 및 사업화에 적용할 계획임

② 결과 요약

핵심니즈 구분	핵심니즈 도출 내용
기존 건강기능식품 월간 구매 비용	- 평균 구매 비용은 3만원 및 5만원대 - 연령대가 증가함에 따라 평균 구매 비용은 증가
월경전증후군 개선 건강기능식품 구매 의사	- 경제력을 갖춘 30~40대의 구매 의사도가 높음 - 10대의 경우에도 구매 의사도가 높으며 이는 경제적 여유와 상관 없이 증상 개선을 위한 니즈가 강하며 이에 대한 필요성을 크게 인식
적정 섭취 기간	- 월경전증후군 개선을 위해서 최소 6개월 이상의 섭취가 필요 - 10대 : 단기간 섭취를 희망 - 40~50대 : 장기간 섭취를 희망

희망 구매 비용	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 전체 설문인원의 평균 구매희망 비용은 4만 8,190원</li> <li>- 월경전증후군 개선이라는 기능성을 추구하기 위한 비용으로 타 기능성 대비 높은 비용으로 평가</li> </ul>
타 기능성 추가 희망 항목	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 10대 : ‘피로개선’ 및 ‘장 건강’</li> <li>- 20대 : ‘피로개선’</li> <li>- 30대 : ‘질내 유익균 증식, 유해균 억제’</li> <li>- 40대 : ‘혈행 개선’</li> <li>- 50대 : ‘질내 유익균 증식, 유해균 억제’</li> </ul>
희망 제형	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 캡슐제형 선호 / 겔제형 비선호</li> </ul>

### 3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

#### 1) 연구수행 결과

##### (1) 정성적 연구개발성과

---

###### 가. 최종목표

- 맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 소재 개발 및 월경전 상태개선 기능성 원료 인허가
  - 뇌하수체 세포 증식 (세포보호, 세포독성 포함) 효능 및 prolactin 분비 억제 효능 소재 탐색에 따른 PMS 완화 후보소재 선정
  - 효능 및 문헌조사를 통한 최종 후보소재 도출 → 맥아, 구절초, (알로에)
  - 후보소재의 원재료 (가공단계 포함) 표준화 확립 3건
  - 후보소재의 PMS 완화 유효성분 규명 및 지표성분 설정 3건 이상
  - 후보소재 혼합비율 설정, 지표성분 분석법 개발 및 함량 분석을 통한 원료 규격 설정 → 복합원료의 표준화를 위한 공인기관 인증 1건
  - 후보소재 및 복합원료, 유효/지표성분의 전임상 유효성 평가 및 작용기전 연구
  - 복합원료의 전임상 안전성 검증을 위한 GLP 기관 시험성적서 자료 확보
  - 복합원료의 PMS 완화 인체적용시험 1건
  - PMS 완화 복합소재의 표준화 및 기능성 자료 확보에 따른 월경전 상태개선 기능성 원료 신청 (기능성 자료, 안전성 자료, 작용기전 확보 자료, 원료 표준화 자료, 인체적용시험 자료 통합 제출)
    - 본 사업을 통하여 특허 등록 3건 이상 (출원 5건 이상), PCT 출원 1건 이상, SCI급 7편 및 KCI급 3편 이상 게재
- 월경전 상태개선 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 산업화
  - 복합원료의 대량생산 기술 및 공정 개발 1건
  - 개별인정형 건강기능식품 제품화를 위한 제형 3건 개발
  - 기능성 원료 인증 후 PMS 완화 고부가가치 기능성 전략 상품 제품화 (종료 1차년도)
  - 본 과제를 통한 고용창출 2명 이상 확보 (사업기간 내 1명, 종료 후 1명)
  - 월경전 상태개선 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 사업화 추진을 통한 누적 매출액 100억원 창출 (사업종료 후 3년 이내)

###### 나. 세부목표

- 맥아 및 구절초 복합원료로부터 월경전 상태개선 기능성 원료 인허가
    - 맥아 및 구절초 복합원료의 PMS 완화 기능성 검증
    - 최종 복합원료: 맥아 50% 주정추출물과 구절초 70% 주정추출물의 1:1 혼합물
      - 맥아구절초추출복합물 (각 소재별 추출공정의 상이함과 사전혼합추출물의 경우 표준화가 어렵다는 점을 감안하여 추출 후 혼합하는 형태의 원료 제조)
    - 표준화: 복합원료의 지표성분 설정 및 분석법 확립 후 공인인증기관 (한국기능식품연구원 등)에서 인증
    - 안전성: GLP 기관 (KCL, 켄온 등)에서 설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복, 유전독성 (복귀돌연변이, 염색체이상, 소핵 시험) 시험을 통한 안전성 검증 (섭취량 근거 미흡으로 인한 식약처 권고사항)
    - 예상 기능성 및 섭취량: 뇌하수체 세포 보호 및 prolactin 분비 억제를 통한 월경전 상태
-

개선에 도움 (예상: 30~50% 추정추출물 300~500 mg/day)

- 5차년도 인체적용시험 종료 후 기능성 원료 신청
- 맥아 및 구절초 복합원료 함유 개별인정형 건강기능식품 사업화 추진 (종료 1차년도)
  - 월경전 상태개선 복합원료 500 mg/day 단독 제품, 비타민 B6 추가함유 제품
    - 타블렛 (고형제), 캡슐, 튜브 (액제) 등의 제형개발의 따른 제품형태 도출
  - 원료 및 제품판매: (주)제넨셀 원료 판매 → 동국제약(주)에서 제품 생산 및 유통라인, 면세점을 통한 국내 판매 → Watsons 및 ONI global을 통한 동남아시아 수출
  - 예상 매출액: 사업종료 후 3년 이내 누적 매출액 100억원 달성 목표
- PMS 완화 기능성 측정마커
  - 월경전 상태개선 기능성 시험법은 식약처 기능성 평가 가이드라인이 없으므로 해당기관이 시험법을 구축하여 검증하여야 함 (2017년 하반기 식약처 기능성 평가 가이드라인 배포 -> 감마리놀렌산 함유 유지 기반의 효능 추가 검증)
  - 알로에 등의 뇌하수체 세포 보호효과 기능성 검증을 통한 부작용 최소화 (컨셉제품 활용)
  - 구절초 및 맥아추출물, 복합원료의 dopamine receptor 활성화를 통한 prolactin 분비 억제 기능성 검증

구분	시험방법	내용
in vitro	GH3 세포에서의 세포보호 효과 및 prolactin 분비억제 효능 탐색	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 세포보호 소재 4종 도출</li> <li>▪ Prolactin 분비억제 소재 3종 도출</li> <li>→ 1차 소재 탐색 완료</li> </ul>
	GH3, PC12 세포에서의 바이오마커 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Prolactin 분비 억제 효능 분석</li> <li>▪ Dopamine (D2) receptor 발현 분석</li> </ul>
in vivo	Hyper Prolactin 모델에서의 효능 검증	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Prolactin, estradiol, progesterone, FSH, LH 등 분석</li> </ul>
인체적용	설문조사 및 바이오마커 분석	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 월경전 불편함에 대한 설문조사 및 전임상 바이오 마커 분석</li> <li>- DSR, COPE 등</li> </ul>

#### 다. 정성적 연구개발 성과

- 뇌하수체 세포 증식 (세포보호, 세포독성 포함) 효능 및 prolactin 분비 억제 효능 소재 탐색에 따른 PMS 완화 후보소재 선정
  - 61종의 한약재 추출물에서 뇌하수체 세포 증식 효능을 나타내는 소재 4종 (계지, 금전초, 노회, 육계)과 prolactin 분비 억제 효능을 나타내는 소재 3종 (맥아, 구절초, 목향) 도출 완료
- 문헌조사 및 효능 검증을 통한 최종 후보소재 도출
  - 후보소재 7종 중 문헌조사를 통해 개발가능성이 높은 3개의 소재 (노회, 구절초, 맥아)를 1차 선별함
  - 후보소재 7종 중 육계와 계지를 계피로 묶어 6종의 소재에 대해 용매별 추출물을 제조하였으며, 각 추출물의 in vitro 효능 평가를 진행하여, 문헌조사와 동일한 3종의 소재 (노회, 구절초, 맥아)를 1차 개발 소재로 선정함
  - 또한, 6종의 소재에 대해 성분조사를 실시하여, 각 소재별 주요성분 총 18종을 확보하고 효능을 측정하여 유효성분을 11종을 선정함
- 후보소재의 원재료 표준화 확립

- 
- 문헌조사와 병행하여 각 1차 선별 소재 3종 (노회, 구절초, 맥아)에 대한 정의, 특징, 확인 시험법, 순도 시험법 기준 등의 규격을 확립
  - 1차 선정 소재의 제조공정 연구 및 혼합비율 설정
    - 노회의 경우 국내 생산이 되지 않으며, 수입 금지 품목으로 지정되어 더 이상 수입되지 않아 노회의 원재료인 알로에를 활용하여 개발을 추진
    - 각 소재의 효능을 기반으로 알로에 30% EtOH, 맥아 50% EtOH, 구절초 70% EtOH로 추출하였으며, 각 lab scale 및 pilot scale 원료의 제조 재현성을 측정한 결과, 각 원료의 유사도가 0.9 이상인 것으로 확인되었음
    - 각 원료의 혼합비율에 따른 효능 (prolactin 분비 억제 및 세포독성 평가)을 측정하여 1차 선정소재 3종의 혼합비율을 설정하고자 하였으며, 그 결과 맥아:구절초=1:1과 맥아:구절초:알로에=2:2:1 또는 2:2:0.5 비율에서 가장 우수한 효능이 나타남을 확인하였음
    - 다만, 알로에 추출물의 경우, 알로에 특유의 수분함유로 인해 그 수율이 1% 미만으로 나오므로, 혼합비율 설정 시 알로에 자체의 효능이 미비하다 사료되어, 산업화를 위한 최종 복합원료 소재 선정에서 알로에는 제외하였음
    - ※ 복합원료로 활용하기 보다는 알로에 겔로써 (고시형 원료, 피부건강) 최종 제품에 부원료로 사용하여 제품의 차별화를 도출할 계획임
  - 최종 복합소재 및 원료의 혼합비율 설정
    - 알로에를 제외한 맥아와 구절초를 복합소재로 최종 선정하고 각각 50%와 70% 주정으로 추출하였으며, 효능을 분석한 후 최종 혼합비율을 설정함 (맥아:구절초=1:1)
    - 최종 원료 명칭: (국문) 맥아구절초추출복합물, (영문) Lomens-P0
  - 최종 복합소재의 가공단계 및 감별법 확립
    - 맥아의 경우 오용/혼용의 가능성이 낮아 발아 및 가공 단계에서의 표준화 추진하여 최종 원재료 표준화를 확립함 (겉보리 4일 발아 후 50℃에서 48시간 건조)
    - 구절초는 유통되고 있는 구절초와 3개의 농가에서 수집한 구절초를 대상으로 DNA 추출 후 ITS 부위를 증폭시켜 sequencing을 진행한 결과, 유통되고 있는 구절초는 가구절초로 감국, 산국 등 인 것으로 확인되었으며, 농가에서 수집한 구절초는 모두 진구절초로 판정되어 현재 2개의 농가 (정읍, 화순 농가)에서 구절초를 수집하여 사업화를 진행하고 자 하고 있음
  - 후보소재의 PMS 완화 유효성분 규명 및 지표성분 설정
    - 1차 선정된 유효성분 11종 중 구절초는 5종 (3,5-O-dicaffeoylquinic acid, 4-hydroxycoumarin, chlorogenic acid, esculetin, scopoletin) 이었으며, 이 중 함량이 높은 esculetin과 chlorogenic acid를 지표성분 후보물질로 선정한 후 효능 및 함량 분석을 통해 최종 chlorogenic acid를 구절초 70% 주정추출물의 지표성분으로 설정함
    - 맥아는 문헌조사와 효능 분석을 통해 1차 hordenine을 유효성분이자 지표성분 후보물질로 선정하였으나, 맥아 원재료 표준화 후 hordenine이 검출되지 않아 (prolactin 분비 억제 효능은 유사) LC-MS 분석, 효능 기반의 물질 분리 등을 통해 최종 tricinin을 맥아 50% 주정추출물의 유효성분이자 지표성분으로 설정함
  - 개발원료의 대량생산 기술 및 공정 개발
    - 맥아 및 구절초 추출물의 lab scale 원료 생산을 통한 제조 및 건조방법 확립 완료
    - 맥아 및 구절초 추출물의 lab 및 pilot scale 생산을 통한 제조공정 확립
    - 맥아주정추출분말 (맥아 50% 주정추출물) 및 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물)의 bGMP 대량생산을 통한 맥아구절초추출복합물 3 batch 대량 생산 완료
-

---

○ 개발원료의 지표성분 분석법 밸리데이션 및 표준화 확립

- 맥아주정추출분말 (맥아 50% 주정추출물)과 구절초주정추출분말 (구절초 70% 주정추출물)의 지표성분을 각각 chlorogenic acid와 tricin으로 선정하고, 이에 대한 분석법 밸리데이션을 최종 개발원료인 맥아구절초추출복합물에서 실시하여 공인기관인 한국기능식품연구원에서 인증함
- 맥아구절초추출복합물 3 batch 원료의 규격 설정 등 표준화 인증 (한국기능식품연구원에서 수행)
  - 지표성분 함량: Tricin 0.18 mg/g, chlorogenic acid 3.43 mg/g (함량 범위는 각 80~120%)
  - 성상: 이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 탁한 황갈색 분말
  - 중금속: 불검출 및 기준치 이하
  - 미생물: 음성
  - 곰팡이 독소: 불검출 및 기준치 이하
  - 잔류농약 74종: 불검출 및 기준치 이하
  - 이산화황: 불검출
  - 영양성분: 탄수화물 57.55%, 조단백질 17.49%, 조지방 5.34%, 수분 9.59%, 회분 10.03%, 나트륨 123.92 mg/100g
- 맥아구절초추출복합물의 안정성 확보 (총 36개월 시험 중 24개월까지 안정성 확보)

○ 개발원료의 전임상 유효성 평가 및 작용기전 연구

- 도출된 1차 후보물질 6종에 대한 prolactin 분비 억제 및 세포독성 또는 뇌하수체 세포 증식 효과를 측정
- 맥아 및 구절초 추출물의 항염증, 항산화, prolactin 분비 억제 효과 및 도파민 수용체 활성화, estrogen 분비 억제 효과 검증
- 개발원료 맥아구절초추출복합물의 항염증, 세포 증식 효과, prolactin 분비 억제 효과, estrogen 분비 억제 효과 검증
- MCP 유도 고프로락틴 혈증 마우스 모델에서 맥아구절초추출복합물의 효능을 검증
  - 증가된 자궁 등의 조직무게를 회복함
  - 혈중 생리전증후군 관련 호르몬인 prolactin과 progesterone, LH, FSH, prostaglandin E2를 정상군 수준으로 회복시켰으며, 혈중 신경전달물질 serotonin과 norepinephrine의 분비를 정상군 수준으로 회복시켰음
  - 또한, 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 발현을 감소시켜 생리전증후군 후 연속적으로 발생하는 생리통에도 개선 효과가 나타날 가능성이 있음을 확인하였음
- MCP 유도 고프로락틴 혈증 랫드 모델에서 맥아구절초추출복합물의 효능을 최종 검증
  - 증가된 자궁 등의 조직무게를 회복함
  - 혈중 생리전증후군 관련 호르몬인 prolactin과 progesterone, estrogen, LH, FSH, prostaglandin E1과 E2를 정상군 수준으로 회복시켰음
  - 또한, 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 발현을 감소시켰으며, 프리페민정의 기전과 유사한지 확인하기 위해 뇌 조직에서 dopamine receptor의 활성화와 prolactin의 분비량을 측정된 결과, 매우 우수한 조절 효과가 나타남을 확인함

○ Back-up 소재 목향 추출물의 유효/지표성분 설정 연구 및 전임상 유효성 평가

- 개발 원료인 맥아구절초추출복합물의 사업화 가능성이 낮을 경우 또는 독성이 관찰될 경우 등 여러 변수를 대처하기 위해 back-up 소재 연구를 동시에 진행하였으며, 실질적으



로 맥아구절초추출복합물의 개발이 원활하게 진행됨에 따라 back-up 소재 연구 자료는 추가 개발 또는 기술이전에 활용할 계획임 (국내 특허 등록 완료, PCT 출원 및 미국, 일본에 해외 특허출원 완료)

- 목향 30, 50, 70% EtOH 추출물 제조 및 prolactin 분비 억제 효과 측정을 통한 추출 용매 선정 (최종 30% 및 50% EtOH 추출물)
  - 문헌조사를 통한 주요 성분 2종 (costunnolide, dehydrocostus lactone)에 대하여 prolactin 분비 억제 효능을 측정한 결과 매우 우수한 억제 효능을 나타냄
  - 목향 추출물에서 효능 기반의 물질 분리를 통해 유효/지표성분 분리 및 규명  
→ 최종 선정된 유효/지표성분: Syringin (Prolactin 분비 억제 효과 매우 우수)
  - MCP 유도 고프로락틴 혈증 마우스 모델에서 목향 30% EtOH 추출물의 효능 검증
    - 증가된 자궁 등의 조직무게를 회복함
    - 혈중 생리전증후군 관련 호르몬인 prolactin과 progesterone, LH, FSH, prostaglandin E2를 정상군 수준으로 회복시켰음
  - MCP 유도 고프로락틴 혈증 랫드 모델에서 목향 50% EtOH 추출물의 효능을 검증
    - 혈중 생리전증후군 관련 호르몬인 prolactin과 progesterone, LH를 정상군 수준으로 회복시켰음
    - 또한, 자궁조직 내 염증성 사이토카인의 발현을 감소시켜 생리전증후군 후 연속적으로 발생하는 생리통에도 개선 효과가 나타날 가능성이 있음을 확인하였음
- 개발원료의 전임상 안전성 검증을 위한 GLP 기관 시험성적서 자료 확보
- 맥아구절초추출복합물의 전임상 안전성 평가는 설치류 단회투여 독성시험, 2주 DRF 및 13주 반복투여 독성시험, 비설치류 단회투여 독성시험, 유전독성시험 3종을 실시하였으며, GLP 기관인 한국건설생활환경시험연구원에서 안전성을 검증하였음

시험종류		시험결과
단회 투여	설치류 (랫드)	· 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음 · LD <sub>50</sub> > 2,000 mg/kg
	비설치류 (비글)	· 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음 · DE(dose escalation)법을 이용하여 경구투여 하였을 때 시험물질 투여와 관련된 변화 없음
2주 반복	설치류 (랫드)	· 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음 · 중대한 독성학적 변화 없음 · 13주 반복시험 고용량 2,000 mg/kg/day로 설정해도 무방
90일 반복 투여	설치류 (랫드)	· 특이한 일반증상, 사망례, 유의한 체중변화 및 육안적 병변 소견 없음 · 중대한 독성학적 변화 없음 · 무독성량 = 2,000 mg/kg/day
유전 독성	복귀 돌연변이	· 복귀돌연변이를 유발하지 않음
	염색체 이상시험	· 염색체 이상을 나타내지 않음
	소핵시험	· 소핵을 유발하지 않음

- 개발원료의 생리전증후군 (월경전 상태) 개선 인체적용시험
- 인체적용시험 프로토콜은 식약처와의 비대면 상담 (코로나19로 인해 모뎀토의 대체)을 통해 결정되었으며, 월경 전 증후군이 있는 건강인을 대상으로 맥아구절초추출복합물 (Lomens-P0)의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약 대조, 평행설계로 인체적용시험을 수행하였음
  - 인체적용시험약은 전임상 효능을 근거로 맥아구절초추출복합물이 500 mg이 포함되게

제조하였으며 (일일섭취량 500 mg/day), 같은 형태의 위약을 제조하여 총 80명에게 (시험약 40명, 위약 40명) 3개월간 섭취시켰음

- 정도 및 중등도의 월경전 증후군이 있는 대상자가 맥아구절초추출복합물을 섭취했을 때 섭취 12주 후에 임상적, 통계적으로 유의미한 개선이 확인되었으며, 특히 시험약 섭취군의 DSR과 COPE 점수가 기저점 대비 섭취종료 시점에 월경전 증후군 증상의 경감을 의미하는 통계적으로 유의한 변화량을 나타냈음

Population set	Parameter	Change from baseline(Mean(p-value))	
		Lomens-P0	Placebo
Intention-to-treat (ITT)	DSR(N=39)	-1.872(< 0.001)	-0.625(0.145)
	COPE(N=40)	-1.625(< 0.001)	-0.500(0.235)
Per protocol (PP)	DSR(N=39)	-1.872(< 0.001)	-0.514(0.248)
	COPE(N=37)	-1.625(< 0.001)	-0.514(0.257)

DSR: Penn State daily Symptom Report  
COPE: The Calendar of Premenstrual Experience

Population set	Parameter	Lomens-P0	Placebo	p- value
Intention-to-treat (ITT)	DSR(N=39)	-1.872	-0.625	0.040
	COPE(N=40)	-1.625	-0.500	0.039
Per protocol (PP)	DSR(N=39)	-1.872	-0.514	0.029
	COPE(N=37)	-1.625	-0.514	0.049

- 즉, 맥아구절초추출복합물 섭취군에서 섭취종료시점에 월경전 증후군의 정도가 감소한 것을 관찰할 수 있었으나, 대조군에서는 통계적으로 유의미한 긍정적 변화가 관찰되지 않았으며, 연구 기간동안 월경전 증후군 증상이 지속되는 것을 관찰할 수 있었음
  - 또한, 안전성은 혈액화학적 검사, CBC, 뇨검사, FSH, LH, Estrogen, Prolactin, 생체징후를 기저점 대비 섭취종료시점에서 군내 및 군간 비교하였으며, 맥아구절초추출복합물은 중대한 이상반응 없이 안전하게 섭취 가능한 것으로 확인되었음
- PMS 완화 복합소재의 표준화 및 기능성 자료 확보에 따른 월경전 상태개선 기능성 원료 신청 (기능성 자료, 안전성 자료, 작용기전 확보 자료, 원료 표준화 자료, 인체적용시험 자료 통합 제출)
- 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물은 “월경전 변화에 의한 불편한 상태 개선에 도움을 줄 수 있음”의 기능성으로 식약처 사전검토를 완료하고, 과제 기간 내 기능성 원료 신청을 완료함 (접수번호: 20210701872, 신청번호: 7704209)
  - 전체 내용 요약

항 목	주요 내용
1. 원료명	맥아구절초추출복합물
2. 원재료	맥아 (학명: <i>Hordeum vulgare</i> L. 사용부위: 열매) 구절초 (학명: <i>Chrysanthemum zawadskii</i> Herbich var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitamura, 사용부위: 전초)
3.기능 (지표)성분	맥아 지표성분: 트리신(Tricin) 구절초 지표성분: 클로로겐산(Chlorogenic acid)
4. 제조 공정	1) 원재료1(맥아) → 주정추출 → 여과 → 농축 → 살균 → 동결건조 → 분쇄 → 원료1 (맥아주정추출분말) 2) 원재료2(구절초) → 주정추출 → 여과 → 농축 → 살균 → 동결건조 → 분쇄 → 원료2 (구절초주정추출분말) 3) 원료1(맥아주정추출분말), 원료2(구절초주정추출분말) → 혼합 → 신청원료(맥아구절초추출분말)
5. 규격 및 시험방법	1) 성상 : 이미, 이취가 없고 고유의 향미가 있는 탁한 황갈색 분말 2) 트리신(mg/g) : 0.18 (표시량의 80~120%) 3) 클로로겐산(mg/g) : 3.44 (표시량의 80~120%)

	<p>4) 납(mg/kg) : 1 ppm 이하  5) 총비소(mg/kg) : 1 ppm 이하  6) 카드뮴(mg/kg) : 1 ppm 이하  7) 총수은(mg/kg) : 1 ppm 이하  8) 대장균군 : 음성  9) 곰팡이독소 : 총아플라톡신 및 B1 : 15 µg/kg 이하  오크라톡신 A : 5 µg/kg 이하  제랄레논 : 100 µg/kg 이하  데옥시니발레놀 : 1 mg/kg 이하</p>
기능(지표)	<input type="checkbox"/> 공인시험방법
성분 시험법	<input checked="" type="checkbox"/> 자사시험방법    밸리데이션 자료(특이성, 정확도, 정밀도, 직선성) ⇒ 적합
규격 외 (잔류농약 등)	<p>신청원료의 원재료인 구절초는 「식품의 기준 및 규격」에 농약의 잔류허용기준이 없고, 보리(맥아)는 「식품의 기준 및 규격」에 농약의 잔류허용기준이 있음</p> <p>하지만 맥아구절초추출복합물(신청원료)로서 「식품의 기준 및 규격」에 농약의 잔류허용기준이 없으므로, 「수입식품등 검사에 관한 규정」 [별표 3] 정밀검사 대상 잔류농약 검사항목에 대하여 분석한 결과 ‘불검출’ 임을 확인함</p> <p>또한 「대한민국약전외한약(생약)규격집」에 맥아 및 구절초에 대한 잔류농약의 허용기준이 있으며, 이에 대하여 분석한 결과 ‘불검출’ 임을 확인함</p> <p>「대한민국약전외한약(생약)규격집」에 신청원료에 대한 이산화황의 허용기준이 있으며, 이에 대하여 분석한 결과 ‘불검출’ 임을 확인함</p>
의사결정도	<p>신청원료는 섭취경험이 있는 맥아(<i>Hordeum vulgare</i> L.)와 구절초 (<i>Chrysanthemum zawadskii</i> Herbich var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitamura)를 주성분으로 각각 추출하여 농축, 건조 및 혼합하여 제조한 것으로, 알려진 부작용이 없고 섭취량이 일상 섭취량보다 증가하지 않았으므로 의사결정도 ‘나’에 해당함. 하지만 신청원료인 맥아구절초추출분말에 대한 섭취경험이 없어 의사결정도 ‘다’로 결정하여 GLP 기관에서 독성시험을 수행함.</p>
6. 안전성	<p>○ 인정현황  [국내]  (보리, 구절초)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 「식품공전」: ‘보리’로 등재 시장명칭은 “맥아”로 등재 (A가084800), ‘구절초’로 등재 (B가001300)</li> <li>- 「대한약전외한약(생약)규격집」: ‘맥아’ ‘구절초’로 등재</li> <li>- 「동의보감」: ‘맥아’ ‘구절초’로 등재</li> <li>- 「본초강목」: ‘맥아’로 등재</li> <li>- 「국가생물종지식정보시스템」: ‘보리’ ‘구절초’로 등재</li> <li>- 「생명자원정보서비스」: ‘구절초’로 등재</li> <li>- 「한약자원연구센터」: ‘맥아’ ‘구절초’로 등재</li> <li>- 「전통의학정보포털」: ‘맥아’ ‘구절초’로 등재</li> </ul> <p>[국외]  (보리)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- FAO/WHO Food Standards CODEX alimentarius에 <i>Hordeum vulgare</i> L 등재</li> <li>- FDA U.S. Food and Drug Administration에 BARLEY 등재</li> <li>- 미농무성 (USDA)에 BARLEY 등재</li> <li>- 유럽 EU Novel food에 <i>Hordeum vulgare</i> 등재</li> <li>- 일본 JSSFA BARLEY 등재</li> <li>- 인도 Ayurvedic Pharmacopoeia에 <i>Hordeum vulgare</i> 등재</li> <li>- 캐나다 Health Canada에 <i>Hordeum vulgare</i> 등재</li> <li>- 호주 Australian Government에 <i>Hordeum vulgare</i> 등재</li> <li>- 중국 Food plants of china에 <i>Hordeum vulgare</i> 등재</li> <li>- Natural Medicines Comprehensive Database에 BARLEY 등재 (구절초)</li> <li>- 미농무성(USDA: <a href="http://www.usda.gov">http://www.usda.gov</a>)에 등재 (ISSN:1756-4646)</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 미국 FDA New Dietary Ingredient(NDI) list 등재</li> <li>○ 사용현황 (신청원료) <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 : 맥아를 사용한 일반식품, 기타음료, 기타가공품 등과 구절초를 사용한 건강기능식품(기능성, 업체)이 유통·판매되고 있음</li> <li>- 국외 : 미국, 인도 등에서 맥아 및 구절초를 사용한 건강보조식품이 유통·판매되고 있음</li> </ul> </li> </ul>
	안전성 정보	○ 안전성 정보 DB 검색 결과 이상반응, 독성, 부작용 사례 등이 보고되지 않음
	섭취량 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 신청원료의 제안 섭취량 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 신청원료로서 500 mg/일</li> <li>(맥아) 원재료로 환산 시 8.9 g/일 (수율 2.8 % 적용)</li> <li>(구절초) 원재료로 환산 시 3.1 g/일 (수율 8.1 % 적용)</li> </ul> </li> <li>○ 전통적 약재로서의 사용량 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 맥아 원재료로서 9~15 g/일</li> <li>· 동의보감 : 10~15 g/일</li> <li>· 국가생물종지식정보시스템 9~15 g/일</li> <li>· 본초강목 : 5.62 g (반해백출천마탕)</li> <li>· 한약자원연구센터 : 10~15 g</li> <li>· 중약대사전 11~19 g</li> </ul> </li> <li>- 구절초 원재료로서 8~80 g/일 <ul style="list-style-type: none"> <li>· 동의보감 : 8~15 g/일 또는 40~80 g/일 (신선한 것)</li> <li>· 국가생물종지식정보시스템 30~60 g/일</li> </ul> </li> <li>○ 국외 유통제품 섭취량 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 맥아추출물로서 300~3,500 mg/일</li> </ul> </li> <li>○ 원재료 섭취량(국민영양통계) : 보리로서 4.4 g/일 (2019년)</li> <li>○ 섭취량 평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 신청원료의 제안 섭취량(맥아구절초추출복합물로서 500 mg/일, 원재료로서 맥아 8,929 mg/일, 구절초 3,086 mg/일)은 일상적으로 섭취하는 원료의 섭취량의 3배 이내임</li> </ul> </li> </ul>
	인체적용시험	○ 19~45세의 여성(80명)을 대상으로 신청원료 500 mg/일을 12주간 섭취시킨 결과, 안전성 지표(활력징후, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 호르몬검사)에서 모두 정상 범위였으며, 신청원료의 이상반응 보고는 없었음
	독성 시험	<p>[신청원료(생산 Lot : BPD181130-1)]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 설치류(SD rat) 단회 및 90일 반복투여시험 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 단회독성시험에서 최소치사량(LD50) 2,000 mg/kg·bw 이상</li> <li>- 90일 반복독성시험에서 무독성량(NOEL) 2,000 mg/kg·bw 이상</li> </ul> </li> <li>○ 비설치류(Beagle dog) 독성시험 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 단회용량증가(125 &amp; 250 mg/kg → 500 &amp; 1,000 mg/kg) 시험에서 이상반응 관찰되지 않음</li> </ul> </li> </ul> <p>[신청원료(생산 Lot : BPD181130-2)]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 유전독성시험(복귀돌연변이, 염색체이상, 소핵시험) <ul style="list-style-type: none"> <li>- 독성이 관찰되지 않았음</li> </ul> </li> </ul>
	기타 사항	-
	섭취 시 주의사항	임신 중에는 사용하지 말 것
7. 기능성	신청 기능성	월경 전 변화에 의한 불편한 상태 개선에 도움을 줄 수 있음
	신청 일일섭취량	맥아구절초추출물로서 500 mg/일
	시험관시험	<p>[신청원료(생산 Lot : BPD181130)]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ GH3 세포, 25, 50, 100 µg/mL 처리 <ul style="list-style-type: none"> <li>- Prolactin 분비 : 유의적 감소(대조군 대비, p&lt;0.01)</li> </ul> </li> <li>○ RAW 264.7 세포, 25, 50, 100 µg/mL 처리</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- NO 생성 : 유의적 감소(대조군 대비, p&lt;0.01)</li> <li>- 염증성 사이토카인 발현 : COX-2 유의적 감소(대조군 대비 p&lt;0.01)</li> </ul>
	동물시험	<p>[신청원료(생산 Lot : BPD181130)]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ MCP 투여로 유도된 고프로락틴혈증 암컷 ICR mice, 50, 100, 200 mg/kg, 3주, 경구투여</li> <li>- 호르몬(progesterone/estrogen ratio, LH, FSH) : 유도모델에서 감소된 호르몬 수치가 정상군 수치로 유의적 증가(대조군 대비 p&lt;0.05 &amp; p&lt;0.01)</li> <li>- 호르몬(PGE2) : 유도모델에서 증가된 호르몬 수치가 정상군 수치로 유의적 감소(대조군 대비 p&lt;0.05)</li> <li>- Prolactin 분비 : 유의적 감소(대조군 대비 p&lt;0.01)</li> <li>- 자궁조직의 염증성 사이토카인 : 유의적 감소(대조군 대비 p&lt;0.01)</li> </ul>
	인체적용시험	<p>[신청원료(생산 Lot : BPK190917)]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 건강한 성인(n=80), 500 mg/일, 12주(RCT, DB, Parallel)</li> <li>- DSR 점수 : 유의적 감소(대조군 대비, p&lt;0.05)</li> <li>- COPE 점수 : 유의적 감소(대조군 대비, p&lt;0.05)</li> <li>※ 인체적용시험기관 : Vagus Super Speciality Hospital ('20), 시험책임자 : Dr. V. Narayanaswamy</li> </ul>

- 맥아구절초추출복합물 함유 시제품 제형 연구 및 시제품 제작
  - 맥아구절초추출복합물 500 mg 함유 캡슐 및 정제 제형 연구를 통한 최종 시제품 제형 확립 (정제로 개발)
  - 용법 및 용량: 맥아구절초추출복합물 250 mg/정 (총 중량 500 mg/정), 일일 2정 섭취
  - 수요자 니즈 기반의 제품 컨셉을 활용한 시제품 3건 제작
    - ① 컨셉 1: 월경전 불편감 개선/긴장완화/혈행개선
    - ② 컨셉 2: 월경전 불편감 개선/활성산소 제거
    - ③ 컨셉 3: 월경전 불편감 개선/뼈건강
- 생리전증후군 완화 건강기능식품 개발을 위한 마케팅 전략 수립
  - 원료의 효능, 시장 조사, 경쟁제품 현황 파악을 통한 마케팅 전략 수립
  - 10대부터 50대까지 가임기 여성 1,001명을 대상으로 한 설문조사를 통해 핵심 니즈 도출

핵심니즈 구분	핵심 니즈 도출 내용
기존 건강기능식품 월간 구매 비용	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 평균 구매 비용은 3만원 및 5만원대</li> <li>- 연령대가 증가함에 따라 평균 구매 비용은 증가</li> </ul>
월경전증후군 개선 건강기능식품 구매 의사	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 경제력을 갖춘 30~40대의 구매 의사도가 높음</li> <li>- 10대의 경우에도 구매 의사도가 높으며 이는 경제적 여유와 상관 없이 증상 개선을 위한 니즈가 강하며 이에 대한 필요성을 크게 인식</li> </ul>
적정 섭취 기간	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 월경전증후군 개선을 위해서 최소 6개월 이상의 섭취가 필요</li> <li>- 10대 : 단기간 섭취를 희망</li> <li>- 40~50대 : 장기간 섭취를 희망</li> </ul>
희망 구매 비용	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 전체 설문인원의 평균 구매희망 비용은 4만 8,190원</li> <li>- 월경전증후군 개선이라는 기능성을 추구하기 위한 비용으로 타 기능성 대비 높은 비용으로 평가</li> </ul>
타 기능성 추가 희망 항목	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 10대 : '피로개선' 및 '장 건강'</li> <li>- 20대 : '피로개선'</li> <li>- 30대 : '질내 유익균 증식, 유해균 억제'</li> <li>- 40대 : '혈행 개선'</li> <li>- 50대 : '질내 유익균 증식, 유해균 억제'</li> </ul>
희망 제형	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 캡슐제형 선호 / 겔제형 비선호</li> </ul>

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

가. 정량적 연구개발 성과표

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2017~2021)	가중치 (%)
전담기관 등록· 기탁 지표	특허출원	목표(단계별)	6	5
		실적(누적)	9	
	특허등록	목표(단계별)	3	5
		실적(누적)	4	
	논문 평균 IF	목표(단계별)	3.2	5
		실적(누적)	1.9	
학술발표	목표(단계별)	10	3	
	실적(누적)	10		
연구개발과제 특성 반영 지표	기술실시	목표(단계별)	1	3
		실적(누적)	1	
	제품화	목표(단계별)	3	30
		실적(누적)	4	
	매출액	목표(단계별)	200,000	20
		실적(누적)	0	
	고용창출	목표(단계별)	1	10
		실적(누적)	6	
	기술인증	목표(단계별)	1	5
		실적(누적)	1	
	인력양성	목표(단계별)	4	2
		실적(누적)	6	
	정책활용	목표(단계별)	1	3
		실적(누적)	0	
	홍보전시	목표(단계별)	1	3
		실적(누적)	3	
	기타	목표(단계별)	2	6
		실적(누적)	2	
계		목표(단계별)	36.2 (200,000)	100
		실적(누적)	47.9 (0)	

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Lomens-P0 (mixed extracts of Hordeum vulgare and Chrysanthemum zawadskii) regulate the expression of factors affecting	Nutrition Research and Practice	Yoon Seo Lee	15(6)	대한민국	Korean Nutrition Society and the Korean Society of Community Nutrition	SCIE	2021. 04. 28	pISSN 1976-1457 eISSN 2005-6168	100

	premenstrual syndrome symptoms									
2	Evaluation of the acute, sub-chronic and chronic oral toxicity genetic toxicity, and safety of a Lomens-P0	Toxicol Res.	Yong Joon Jeong	1976	대한민국	The Korean Society Of Toxicology	SCIE	2021. 05. 05	plSSN 1976-8257 eISSN 2234-2753	100

### □ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	The 10th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals & Functional Foods	정용준	2017. 10. 24	군산 새만금 컨벤션센터	대한민국
2	2018 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	정용준	2018. 06. 29	부산 벅스코	대한민국
3	전연물 산업 국제심포지엄 및 2018년 한국자원식물학회 추계학술대회	정용준	2018. 10. 08	제천 한방엑스포공원	대한민국
4	2018 KFN	정용준	2018. 10. 31	부산 벅스코	대한민국
5	2019 KoSFoST	정용준	2019. 06. 27	인천 송도 컨벤시아	대한민국
6	2019 KFN	정용준	2019. 10. 25	제주 컨벤시아	대한민국
7	2020 KSABC	정용준	2020. 08. 20	온라인개최	대한민국
8	2020 KSMCB	정용준	2020. 10. 05	온라인개최	대한민국
9	한국응용생명화학학회	정용준	2021. 08. 23	제주도 라마다호텔	대한민국
10	한국분자세포생물학회 정기학술대회	정용준	2021. 11. 03	온라인개최	대한민국

### [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	등록인	등록일	등록 번호		
1	구절초 추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국	(주)제넨셀	2018. 03. 07	10-2018-0026802				100	활용
2	목향 추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국	(주)제넨셀	2018. 12. 11	10-2018-0159060				100	활용
3	구절초 추출물로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국	(주)제넨셀	2019. 02. 25	10-2019-0021919				100	활용
4	로멘스피 상표출원	대한민국	(주)제넨셀	2019. 07. 26	40-2019-0116373				100	활용
5	구절초 추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	PCT	(주)제넨셀	2019. 09. 03	PCT/KR2019/011306				100	활용
6	목향추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국	(주)제넨셀	2019. 10. 03	PCT/KR2019/012938				100	활용
7	구절초 추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국				(주)제넨셀	2019. 11. 12	10-2045903	100	활용

8	맥아 추출물로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국	(주)제넨셀	2020. 03. 17	10-2020-0032697				100	활용
9	목향 추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국				(주)제넨셀	2020. 08. 11	10-2145347	100	활용
10	맥아 추출물로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국				(주)제넨셀	2020. 11. 30	10-2187335	100	활용
11	목향 추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	미국	(주)제넨셀	2021. 06. 01	17/298,745				100	활용
12	목향 추출물을 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	일본	(주)제넨셀	2021. 06. 08	2021-532472				100	활용
13	구절초 추출물로부터 분리된 화합물을 유효성분으로 포함하는 월경전 증후군 증상 개선용 조성물	대한민국				(주)제넨셀	2021. 11. 22	10-2331317	100	활용

### ○ 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	√		√				√			
2			√	√		√				
3		√								
4	√									
5		√	√							
6		√	√							
7	√		√				√			
8		√								
9			√	√		√				
10		√								
11			√	√		√				
12			√	√		√				
13		√								

### □ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		
1	기타	(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원	기능성 원료 표준화 인증	L2020090024~6 L2020090203~5	2020. 10. 14	대한민국

### [경제적 성과]

### □ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	월경전 불편감개선/ 긴장완화/ 혈향개선 건강기능식품	2020. 10. 30	동국제약(주)	-	건강기능식품 사업화	6개월	-	-
2	월경전 불편감 개선/ 뼈건강 건강기능식품	2020. 10. 30	동국제약(주)	-	건강기능식품 사업화	6개월	-	-
3	월경전	2020. 10.	동국제약(주)	-	건강기능식품	6개월	-	-



	불편감 개선/ 활성산소제거 건강기능식품	30			사업화		
--	-----------------------------	----	--	--	-----	--	--

### □ 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	직접실시	맥아 등 복합소재로부터 생리전증후군 완화 개별인정형 건강기능식품개발	(주)제넨셀	2019. 10. 17	5,390,000원	5,390,000원

\* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

### □ 사업화 현황

번호	사업화 방식 <sup>1)</sup>	사업화 형태 <sup>2)</sup>	지역 <sup>3)</sup>	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	자기실시	신제품 개발	국내	맥아구절초 추출복합물 의 제품화	원료 사업화	(주)제넨셀	-	-	-	7년

\* 1) 기술이전 또는 자기실시

\* 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

\* 3) 국내 또는 국외

### □ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)				합계
			2017년	2018년	2019년	2021년	
1	생리전 증후군 완화 개별인정형 건강기능식품 개발	(주)제넨셀	1	3	1	1	6

### [사회적 성과]

#### □ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	인력양성	2017~2019	2	3	1	0	3	3	6					

#### □ 다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비
1	농림축산식품부	R&D 코디네이터사업	맥아 등 복합소재 원료의 개별인정 및 사업화 컨설팅	정용준	-

#### □ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	전시회 참가	2017 생명산업과학기술대전	생리전 증후군 개발 원료 홍보	2017. 12. 05
2	제품 설명회	The 16th InterBiz Bio-Partnering & Investment Forum 2018	생리전 증후군 완화 개별인정형 건강기능식품 홍보	2018. 07. 06
3	중앙전문지	CEOSCORE DAILY	동국제약-제넨셀, 시장성높은 '월경전증후군' 완화건기식개발	2019. 10. 30

#### □ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	포상	과학기술대상	농림축산식품부	정용준	2021. 09. 08	농림축산식품부

		장관 표창	과제 수행을 통한 건강기능식품 개발 연구 등			
--	--	-------	--------------------------------	--	--	--

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

해당 없음

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

해당 없음

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
<ul style="list-style-type: none"> <li>천원자원 추출물 라이브러리 구축에 따른 PMS 완화 소재 탐색               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차 후보소재 선정 7종</li> </ul> </li> <li>효능검증 및 문헌조사에 따른 복합원료 제조용 최종 후보소재 도출 3종</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>한약재 추출물 61종의 PMS 완화 소재 탐색               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1차 후보소재 7종 선정 완료</li> </ul> </li> <li>유효성 평가 및 문헌조사에 따른 복합원료 소재 3종 도출 (맥아, 구절초, 노회)</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 7종의 최적 추출용매 선정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 각 소재별 0, 30, 50, 70% 주정추출물 제조</li> <li>- in vitro 효능분석을 통한 최적 추출주정 농도 선정 (각 소재별 1건씩)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 7종 중 계지와 유계를 계피로 통합하여 6종 소재에 대한 30, 50, 70% EtOH 추출물 제조               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 각 소재별 최적 추출용매 선정 완료</li> </ul> </li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 원재료 표준화               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 감별마커 구축 3건</li> <li>- 원재료 가공단계 표준화 구축 총 1건</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 맥아, 구절초, 노회(알로에)에 대한 감별마커 및 표준화 방법 구축</li> <li>맥아에 대한 가공단계 표준화 구축</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재의 PMS 완화 유효성분 규명               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 7종의 후보소재에 대한 유효성분 규명 총 7건 이상</li> </ul> </li> <li>복합원료 소재의 지표성분 설정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 복합원료 3종에 대한 지표성분 설정 총 3건</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재에 대한 유효성분 11종 확보 및 각 유효성 평가 진행               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 각 소재별 1개 이상의 유효성분 도출</li> </ul> </li> <li>맥아, 구절초, 노회(알로에)의 지표성분 1차 설정 (각 소재당 1개 성분)</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>혼합비율 설정을 위한 복합원료 제조               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 혼합비율 설정을 위한 최종 후보소재 3종의 비율별 원료 제조 8건</li> </ul> </li> <li>복합원료 최적 혼합비율 설정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 원료제조 8건의 기능성 측정 / 지표성분 분석</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1차 맥아, 구절초, 노회(알로에)의 원료 제조 및 효능 기반의 혼합비율 설정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 총 18개 비율 혼합</li> </ul> </li> <li>최종 복합원료 (맥아, 구절초) 선정에 따른 8개 혼합비율 설정 및 효능 분석               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 최종 맥아:구절초=1:1 선정</li> </ul> </li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>최종 복합원료의 규격 설정               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 지표성분의 분석법 확립 3건 및 함량 분석 3건</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>최종 복합원료 지표성분 2종의 분석법 확립 및 함량 분석</li> <li>Back-up 소재 목향의 지표성분 1종의 분석법 확립 및 함량 분석</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>최종 복합원료의 제조공정 확립               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제조공정 3건에 대한 지표성분 3종 분석</li> <li>- 최적의 복합원료 제조공정 확립 1건</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>맥아 및 구절초 주정추출분말 제조공정 확립 및 제조               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 각각의 지표성분 분석</li> </ul> </li> <li>최종 개발원료인 맥아구절초추출복합물의 제조공정 확립</li> <li>Back-up 소재 목향의 제조공정 확립 및 지표성분 분석</li> </ul>	100

<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료의 대량생산 <ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료 3 batch 대량 생산</li> <li>Scale-up에 따른 지표성분 3종 함량 분석</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>GMP 기관에서의 맥아구절초추출복합물 3 batch 대량 생산</li> <li>lab / pilot scale / GMP 생산 원료의 제조동등성 평가 및 지표성분 함량 분석</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 및 복합원료, 유효성분의 in vitro 효능 검증 <ul style="list-style-type: none"> <li>농도별 기능성 검증 (단독추출물 3건, 복합추출물 1건)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 6종 및 복합원료의 in vitro 효능 검증 완료</li> <li>맥아, 구절초, 목향 및 맥아구절초추출복합물의 농도별 기능성 검증 완료</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 및 복합원료의 전임상 유효성 검증 <ul style="list-style-type: none"> <li>각 7종의 단독추출물 및 최종 복합원료의 전임상 효능 검증</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 6종 중 prolactin 분비 억제에 효과가 있는 맥아, 구절초, 목향 추출물에 대한 전임상 유효성 검증</li> <li>최종 맥아구절초추출복합물의 전임상 시험을 마우스 모델과 랫드 모델에서 검증</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료의 원료 동등성 및 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>대량생산에 따른 지표성분 및 기능성 90% 이상 동등성 확인</li> <li>복합원료의 안정성 (장기보존) 시험 시행</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료의 원료 동등성 및 안정성 평가 완료 <ul style="list-style-type: none"> <li>대량생산에 따른 지표성분 및 기능성 90% 이상 동등성 확인 완료</li> <li>36개월의 복합원료의 안정성 (장기보존) 시험 시행 (현재 24개월까지 완료)</li> </ul> </li> <li>신규 3 batch 생산에 따른 장기보존 및 가속시험 보완 시험 진행 (각 6개월 완료)</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료의 표준화 (유해물질 분석 포함) <ul style="list-style-type: none"> <li>원료특성, 영양성분 분석, 시험방법 밸리데이션, 지표성분 함량</li> <li>중금속, 미생물, 잔류농약 등 분석</li> <li>공인기관 인증</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>맥아구절초추출복합물의 지표성분 시험법 밸리데이션, 원료특성, 영양성분 및 유해성분 (중금속, 곰팡이 독소, 잔류농약), 미생물, 지표성분 함량 분석 완료</li> <li>공인기관인 한국기능식품연구원 인증</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료의 전임상 안전성 평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>설치류/비설치류 단회, 설치류 13주 반복, 유전독성 3건 시험</li> <li>GLP 인증기관 시험보고서 6부 확보</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>맥아구절초추출복합물의 전임상 안전성 평가 완료 <ul style="list-style-type: none"> <li>설치류/비설치류 단회, 설치류 2주 DRF 및 13주 반복, 유전독성 3건 시험</li> </ul> </li> <li>GLP 기관인 한국건설생활환경시험연구원에서 수행</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>PMS 완화 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> <li>후보소재 및 유효성분, 복합원료의 작용기전 규명</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>맥아 및 구절초 추출물, 맥아구절초추출복합물의 작용점 확보 <ul style="list-style-type: none"> <li>도파민 수용체 활성화에 따른 프로락틴 분비 억제 및 생리전증후군 관련 호르몬 조절</li> <li>여성호르몬 조절에 따른 생리전증후군 관련 호르몬 조절</li> </ul> </li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료의 인체적용시험용 시제품 제작 <ul style="list-style-type: none"> <li>시제품 제작용 제형 개발 1건</li> <li>복합원료 250 mg 함유 시험용 제품 제작 (제품화 1건)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>맥아구절초추출복합물 함유 500 mg/정 제형 연구 및 제품 생산 완료 (일일섭취량 = 500 mg)</li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료의 PMS 완화 인체적용시험 <ul style="list-style-type: none"> <li>인체적용시험 프로토콜 작성 1건 및 임상기관 선정</li> <li>IRB 승인 및 시험대상자 모집에 따른 인체적용시험</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>월경전 상태개선 목적의 인체적용시험 완료 <ul style="list-style-type: none"> <li>식약처 상담에 따른 프로토콜 개발</li> <li>대상 시험자 수 총 80명 (시험군 40, 대조군 40명)</li> <li>임상시험기관 IRB 승인 및 시험 수행</li> <li>대조군 대비 1, 2차 평가변수 개선 효능 확인</li> </ul> </li> </ul>	100

<ul style="list-style-type: none"> <li>Back-up 소재의 PMS 완화 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> <li>Back-up 소재 및 유효성분의 작용기전 규명</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Back-up 소재 목향 추출물의 PMS 완화 효능 및 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> <li>in vitro 및 전임상 동물모델에서 목향 추출물의 효능 검증</li> <li>유효성분 3종의 프로락틴 분비 억제 효과 확인</li> <li>생리전 증후군 관련 호르몬 조절효과 확인</li> </ul> </li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>건강기능식품용 제형 개발에 따른 시제품 제작 <ul style="list-style-type: none"> <li>타블렛, 캡슐, 액제 등의 제형개발에 따른 시제품 제작</li> <li>시제품의 안정성 검증 1건</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>맥아구절초추출복합물을 주성분으로 하는 시제품 제형 연구 및 제조 <ul style="list-style-type: none"> <li>제형 연구에 따른 정제 (타블렛) 형태의 제품 제조 3건</li> </ul> </li> <li>인체적용시험용 시제품의 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> <li>총 36개월 중 18개월 완료</li> </ul> </li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>사업화 원재료의 안정적인 공급체계 구축 <ul style="list-style-type: none"> <li>원재료에 대한 재배농가 확보 또는 약재상 확보</li> <li>가공단계 표준화 및 감별법 마커 검증을 통한 안정적 원재료 확보</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>본 연구의 맥아 및 구절초는 표준화의 문제로 유통 약재를 사용할 수 없어 가공 방법 표준화 또는 농가 계약을 통해 진행함 <ul style="list-style-type: none"> <li>맥아: 품종, 발아일, 건조시간 등 표준화를 통한 공급처 확보</li> <li>구절초: 정읍, 화순 농가에서의 친구절초 확보</li> </ul> </li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>월경전 상태개선 기능성 원료 신청 <ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료 표준화, 기능성, 안전성 자료 수집</li> <li>식약처 기능성 원료 신청 (주관 및 2협동 공동 신청)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>인체적용시험 완료 후 5차년도에 맥아구절초추출복합물의 기능성 원료 신청 완료 <ul style="list-style-type: none"> <li>자료 수집 및 보완에 따른 식약처 사전 검토 완료</li> <li>주관기관 및 2협동기관 공동 신청</li> </ul> </li> </ul>	100
<ul style="list-style-type: none"> <li>국내/외 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 사업화 <ul style="list-style-type: none"> <li>기능성 원료 사업화</li> <li>개별인정형 건강기능식품 국내 사업화</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>현재 기능성 원료 심사 중으로 인정 후 추진될 수 있도록 준비 중 <ul style="list-style-type: none"> <li>기능성 원료 사업: 2협동 기관 공급, OEM 기업 회원사에 공급 등</li> <li>기능성 원료 인정 후 개별인정형 건강기능식품 사업 (2협동 기관 등)</li> <li>마케팅 전략 수립</li> </ul> </li> </ul>	30

#### 4. 목표 미달 시 원인분석

##### 1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

가) 전체적인 과제 일정 지연으로 인한 사업화 시기 변경

① 최초 본 과제에서 사업화는 과제 수행 기간에 추진하는 것이 목표였으나, 코로나19, 인체적용시험 시험 일정 증가, 사업비 축소, 기능성 원료 심사 일정 지연 등으로 인해 5차년도 과제 개시 전 평가위원의 수정 요청 사항을 반영하여 연구개발 목표를 변경한 바 있음

② 다만, 정량적 성과의 변경은 어렵다 판단하여 사업화 목표는 변경하지 않았으며, 사업화 및 매출액 2억원의 성과는 과제 종료 후에도 기능성 원료 인정에 따라 바로 추진될 수 있도록 만반의 준비를 할 계획임

○ 코로나바이러스 감염증-19 (COVID-19)로 인한 각 기관과의 소통 미흡

- 2020년 COVID-19 사태로 인해 본 과제의 수행기관 및 외부 연구기관 대부분이 재택근무, 단축근무, 격리 등의 사유로 업무수행이 원활하지 못하였으며, 사회적 거리두기로 인해 각 기관과의 업무관련 회의를 진행하지 못해 체계적인 과제 수행을 진행하는데 어려움이 있었음

○ COVID-19와 인체적용시험 프로토콜 보완에 따른 인체적용시험 연장

- 본 기관은 3차년도에 국내 CRO를 통하여 국내 임상기관에서의 생리전 증후군 개선 인체적용시험에 대한 일정 및 견적을 받은 바 있으며, 국내 임상기관 1 site에서 진행 시 시험기간 18~24개월, 인체적용시험비 약 3억원이 소요됨을 확인하여, 과제 수행 일정 및 연구비에 의거하여 인도 Vagus Super Speciality Hospital에서 인체적용시험을 진행하기로 하였음
- 그러나, COVID-19로 인해 2020년 3월 4일 기준, 인도와의 모든 국제 교류가 차단되었으며, 비자 취소 및 국적 여행 경로 차단, 국제 물류 운송 지연 등의 문제가 발생하여 인체적용시험 일정에 차질이 발생함
  - ※ 국내의 경우도 모든 임상기관 (병원)의 출입이 금지됨에 따라 대부분의 임상시험이 중단/지연되는 사태가 발생하였음 (인체적용시험 개시는 불가능)
- CRO는 인체적용시험 개시 및 관리, 임상 모니터링의 업무를 수행해야 하지만, 인도 비자 취소 등의 사유로 입국에 문제가 생긴 상황에서 해당 업무를 수행하기가 어려웠으며, 인체적용시험 개시 당시 인도의 COVID-19 상황은 나쁜편이 아니었으나, 점차 시간이 지남에 따라 인도의 COVID-19의 환자가 증가하면서, 본 연구의 인체적용시험을 위한 대상자 모집에 차질이 발생하였음 (인체적용시험 기간 중에 발생한 COVID-19 환자는 중도 탈락 시킴)
- 또한, 4차년도 개시 후 전임상 자료 검증 및 인체적용시험 프로토콜 검토를 위한 식약처 모듈토의를 신청하였으나, COVID-19로 인해 비대면 자료 검토 토의로 변경되었으며, 식약처 자료 검토 후 아래와 같이 프로토콜의 변경을 제안 받았음
  - 시험식품 섭취 전 후에 호르몬 (estrogen, FSH, LH) 측정 및 생리주기, 출산여부, 월경량 측정 (2개월의 스크리닝 기간 추가)
  - 인체적용시험을 수행하는 의사와 의논하여, 각 대상자가 생리 기간 후 방문하도록 권고하고, 설문조사를 통해 마지막 생리일로부터 몇일에 설문에 응하는 지 정보 수집
  - 생리전 증후군 증상의 경감을 위해 의약외품이나 보조기구(예, 핫팩 등)를 사용한 자는 대상자에서 제외
- 따라서, 본 연구개발의 인체적용시험에서는 전임상 평가에 준하여, 혈중 호르몬 분석과 월경이력설문 작성을 추가하였으며, 시험대상자 등록 전 생리주기의 규칙성과 생리전 증후군 수치 ( $DSR \geq 16$ )가 명확한지를 파악하기 위한 2달간의 스크리닝 기간을 추가하여, 시험기간이 연장되고 이에 대한 인체적용시험 비용이 증가하였음

○ 4차년도 연구비 축소 및 인체적용시험 프로토콜 변경에 따른 시험비용 증액

- 2020년 고부가가치식품기술개발사업 예산 부족으로 4차년도 정부출연금인 5,300만원 축소되었으며, 인체적용시험 비용은 프로토콜 변경 (호르몬 분석, 설문조사 추가, 2달간 스크리닝 기간 추가)으로 인해 당초 2억원에서 2억 7,500만원으로 증액됨
- 변경된 인체적용시험 비용 지급은 본 연구비 내에서 해결이 불가능할 것으로 사료되어, 2억 7,500만원 중 2,500만원은 기능성 원료 인정 시 주관기관인 (주)제넨셀에서 성과보수 형태로 지급하기로 변경 계약을 진행함 (회사 비용으로 지급)
- 그러나 당초 계약보다 5,000만원이 증액되면서 이에 대한 해결을 위해 부득이 하게 5차년도에 각 협동기관의 연구비를 주관기관으로 편성하였음

나) 논문 실적 미달 사유 및 보완 계획

- ① 본 과제는 사업화 과제로 논문 실적 보다는 기능성 원료 인정 및 사업화에 초점이 맞춰져 있어 실질적으로 과학적인 연구보다는 사업화 연구 (기능성 원료 인정을 위한 연구)에 더

---

큰 비중을 두었음

- ② 총 7편의 SCI 논문 게재 실적 중 현재 2편의 SCI 논문이 게재되었으며, 5편의 논문은 추가적으로 종료 1차년도에 완료하고자 함
- 

## 2) 자체 보완활동

---

가) 사업화 및 매출액 달성에 대한 보완활동

- ① 기능성 원료 사업을 추진할 주관기관은 현재 맥아의 가공방법과 공급기업, 구절초의 국내 농가 2곳을 확보하였으며, 식약처의 기능성 원료 인정 시점을 기준으로 1차 맥아 10톤, 구절초 2톤의 원물을 확보할 계획임 (구절초는 1차 소요 원료량에 따라 종료 2차년도에는 농가 계약 수를 늘릴 계획임)
- ② 주관기관인 (주)제넌셀은 2021년에 “병풀추출분말”의 눈건강 개별인정형 기능성 원료를 인정받은 바 있으며, 해당 노하우를 적극 활용하여 종료 1차년도에 기능성 원료 인정을 받아 인체적용시험 가이드라인을 식약처에 정책으로 활용될 수 있도록 건의할 계획임
- ③ 또한, 주관기관은 생리전 증후군 기능성 원료 인정 및 제품의 사업화를 위한 R&D 코디네이터 사업 (농기평 추진 사업)에 선정되어 해당 전문가로부터 컨설팅 지도를 받은 바 있음
- ④ 2협동기관 동국제약은 시제품 생산을 통해 안정성을 확보하고, 사업화 및 매출 실적 달성을 위해 기능성 원료 인정 2개월 전부터 완제품 생산 준비를 추진하고자 함
  - 과제 기간 내 마케팅 전략 확보, 종료 1차년도에 자사 네트워크를 통한 사업화 준비

나) 논문 실적 보완 계획

- ① 현재 진행 완료한 연구를 추가 보완하여 5편의 SCI 논문을 추가 게재하고자 함
- ② 현재 완료되었거나 추가 보완 시험중인 연구 (총 5건)
  - 생리전 증후군 개선 소재 탐색 (현재 submission 중으로 보완 시험 진행 중)
  - 맥아구절초추출복합물의 Rat 동물모델에서의 효능 및 작용기전 검증 (Phytomedicine (IF. 5.34))에 투고 예정
  - 목향 추출물의 생리전 증후군 개선 효능 및 작용기전 검증 (종료1차년도 투고 예정)
  - 맥아구절초추출복합물의 생리전 증후군 개선 인체적용시험 결과 (종료1차년도 투고 예정, 종료2차년도 게재 예정)
  - Cholorogenic acid / tricin의 생리전 증후군 개선 효능 및 작용기전 검증 (종료2차년도 게재 예정)

다) 복합원료의 기능성 원료 인정 실패 시 대책 확보

- ① Back-up 소재 목향 추출물의 기능성 원료 추가 연구개발
    - 본 연구개발의 복합물은 기존 기능성 원료 인허가 노하우를 활용하여 연구개발 되었으며, 식약처 인허가 시 반려될 사유는 없는 것으로 파악되나, 만에 하나 실패할 경우를 대비하여 back-up 소재에 대한 추가 연구를 실시하였음
    - 목향 추출물은 in vitro prolactin 분비 억제에 따른 생체 내 유효성 검증과 유효물질 분리를 통한 기능/지표성분 설정 연구를 완료하여 복합원료의 기능성 원료 개발 실패 시 대체 소재로 개발될 수 있음
  - ② 고시형 제품 생산을 통한 사업화 추진
    - 본 연구개발의 복합원료 맥아구절초추출복합물은 맥아와 구절초 추출물을 대상으로 개발 되었으며, 본 연구개발 소재들은 모두 식용가능한 소재로 원료 생산 시 건강기능식품의
-

---

부원료로 활용될 수 있음

- 또한, 본 연구개발의 복합원료는 전임상 및 인체적용시험에서 생리전증후군 완화 효능을 검증한 바 현재 고시형 원료로 판매되고 있는 감마리놀렌산 함유 유지에 부원료로 활용하여 사업화를 추진할 수 있음
- 

### 3) 연구개발 과정의 성실성

---

#### 가) 연구개발 과정의 성실성

- ① 사업화가 가능한 최적의 복합원료를 설정하기 위해 철저한 문헌조사를 실시하였으며, 소재 및 최적 추출용매 선정, 원재료 표준화, 지표성분 연구, 원료 및 시제품 생산 등의 연구개발 과정에서 수많은 시행착오를 거치면서 최적의 복합원료를 개발하였다 할 수 있음
- ② 또한, 외부용역으로 수행되는 원료 표준화, 전임상 안전성 시험과 인체적용시험에서도 지속적인 사전 미팅과 철저한 관리 감독하에 유의미한 결과를 도출하였음
- ③ 특히 인체적용시험의 경우 코로나19의 악조건 속에서도 식약처와의 비대면 의견 검토를 통해 CRO와 최적의 프로토콜을 작성하였으며, CRO에서 인도에 1명의 직원을 파견 보내 인체적용시험이 원활하게 이루어질 수 있도록 철저한 관리감독을 수행하도록 하였음
- ④ 주관기관인 (주)제넨셀은 2021년도에 연구개발 인력을 12명 총원 (총 17명)하여 연구개발에 총력을 다하고 있으며, 이 중 개별인정형 건강기능식품 연구개발 및 사업화 연구에 11명을 배치하여 기능성 원료 인정 및 사업화 준비에 만전을 기하고 있음 (1건의 기능성 원료 인정 및 사업화 실적이 있음)

#### 나) 사업화 준비 과정의 성실성

- ① 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물은 사업화를 위해 국내 특허 등록을 완료하였으며, 연구개발 중에 확보한 맥아와 구절초 성분 각각에 대해서도 국내 특허 등록을 완료하였음
  - ② 또한, 해외 사업화를 위해 PCT 출원 후 개별국 진입을 위한 해외 특허 출원 절차 (번역 등)를 진행하고 있음 (2022년 2월 내 완료 예정)
    - 진입 절차를 진행 중인 국가: 미국, 일본, 싱가포르, 말레이시아, 태국, 필리핀, 호주, 캐나다, 유럽 총 9개국
  - ③ Back-up 소재로 개발중인 목향 추출물의 경우도 현재 국내 특허 등록이 완료되었으며, 기술이전 또는 직접 사업화를 위해 PCT 출원 후 일본, 미국에 특허출원을 완료하였음
  - ④ 2협동기관인 동국제약은 기능성 원료 인정 후 사업화를 위해 시제품 제형 연구 및 제작, 안정성 연구, 1,001명의 설문 조사 등의 사전 준비를 완료하였으며, 고객 니즈에 맞는 사업화가 가능하도록 철저한 준비를 하고 있음
-

## 5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

가. 월경전 변화에 의한 불편한 상태 개선 가능성 평가 가이드라인 범위 확대

- 본 연구개발 과제 개시 전에는 생리전 증후군 관련 식약처 기능성 평가 가이드라인이 발표되지 않았으나, 과제 개시 후 식약처에서는 ‘월경전 변화에 의한 불편한 상태 개선’ 기능성을 인정받은 감마리놀렌산 함유 유지 결과를 기반으로 가이드라인을 제시하였음
- 감마리놀렌산은 프로스타글란딘 E1의 전구물질로, 섭취 시 프로스타글란딘 E1의 농도가 높아져 프로락틴에 대한 과민 반응을 감소시킨다고 알려져 있으며, 가이드라인에서의 바이오마커로 지방산 대사 조절 (GLA, DGLA)과 프로스타글란딘 농도 변화가 선정되어 있음
- 본 연구개발에서는 직접적으로 프로락틴의 분비 감소를 일으킬 수 있는 소재를 찾기 위한 screening 방법을 확립하였으며, 해당 기전과 연속적으로 측정할 수 있는 고프로락틴 혈중 유도 동물모델을 마우스와 랫드 2가지 모델로 확립하고 최종 인체적용시험을 통해 검증하였음
- 따라서, 기존 지방산에 대한 가이드라인에 추가적으로 본 연구개발의 시험법과 측정 바이오마커가 신규 기능성 평가 가이드라인으로 제시될 수 있음

나. 본 연구개발 성과 및 기능성 원료의 우월성

- 감마리놀렌산 함유 유지와 맥아구절초추출복합물의 비교 분석

명칭	감마리놀렌산 함유 유지 (달맞이꽃 종자유)	맥아구절초추출복합물 (맥아50%주정:구절초70%주정=1:1)
주요성분	감마리놀렌산	Chlorogenic acid, triclin 등
일일섭취량	감마리놀렌산으로 240 mg	맥아구절초추출복합물로 500 mg
기능성	혈중 콜레스테롤 개선 / 혈행개선 월경전 상태개선에 도움 면역과민반응에 의한 피부상태 개선	월경전 상태개선에 도움
작용점	프로스타글란딘 합성을 통한 프로락틴 분비 감소	도파민 수용체 활성화 및 여성 호르몬 조절에 따른 프로락틴 분비 조절
장점	<ul style="list-style-type: none"> <li>4가지 기능성에 인정을 받은 원료로 다양한 효능 기대</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>복합원료로 2개의 작용점을 가짐</li> <li>생리주기와 관련된 호르몬 안정화</li> <li>월경전 상태개선 개별인정형 기능성 원료 부재 (마케팅적 이점)</li> <li>생리전후 개선 효과 기대</li> </ul>
단점	<ul style="list-style-type: none"> <li>4가지 기능성으로 전문성 결여</li> <li>고시형 원료로 특색 없음</li> <li>생리통 경감 효능 없음</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>생산가가 감마리놀렌산 대비 높음</li> </ul>

- 본 연구개발의 맥아구절초추출복합물은 도파민 수용체 활성화 및 여성 호르몬 분비 조절에 따른 프로락틴 분비 감소 효능을 나타내며, 2차례의 동물시험을 통해 프로스타글란딘, 프로게스테론, FSH, LH의 분비를 정상군과 유사하게 조절함을 확인하여 기존 감마리놀렌산 대비 효능적인 부분에서 더 우월하다 판단할 수 있음
- 특히, 생리전증후군은 경미한 정신적 장애, 더부룩함, 체중증가, 유방압통, 근육통, 집중력 저하, 식욕변화가 월경주기 중 황체기에 나타나는 질환으로, 본 개발 원료는 PMS 치료제인 프리페민의 기전을 활용하였으며, 프리페민은 짜증감, 우울감, 분노, 두통, 유방통 등이 대조군 대비 50% 감소하였다고 알려져 있어 본 연구개발의 원료 또한 생리전증후군의 여러 증상에 매우 효과적일 것이라 기대하고 있음 (다만, 건강기능식품 원료 임을 감안할 때 치료목적이 아니므로 전체적인 증상 완화에 중점을 두고자 함)
- 구절초는 한의약에서 생리불순, 생리통, 불임, 냉증성 염증 질염, 방광염 등 여성질환에 광범위하게 사용되고 있는 소재로 본 연구에서도 자궁조직 무게 정상화 및 자궁조직 내 염증 억



제 효능을 나타내었으며, 이는 생리전 증후군과 연속적으로 나타나는 생리통에도 개선 효능을 나타낼 수 있는 지표로 본 연구개발의 사업화에 매우 유리한 장점으로 작용할 수 있음  
 ※ 생리전 증후군과 생리통을 따로 구별하는 여성은 매우 적고, 생리통에 개선 효과를 나타내지 않으면 효과가 미비하다 판단될 수 있으므로 시장성에 매우 중요한 척도라 할 수 있음

다. 생리전 증후군 개선 제품의 명확한 시장 예측 가능

- 월경전 상태개선 기능성 원료는 감마리놀렌산 함유 유지가 유일하나 2017년 고시형 원료로 전환된 원료로 혈중 콜레스테롤 개선 / 혈행개선에 도움, 월경전 상태개선에 도움, 면역과민 반응에 의한 피부상태 개선에 도움의 4가지 기능성을 표시할 수 있어 실질적인 생리전 증후군 관련 건강기능식품 시장을 예측하기 어려움
- 또한, 생리전 증후군 관련 의약품은 프리페민정 (Zeller, 아그누스카스투스 열매 추출물)이 유일하나, 실질적으로 진통제 섭취가 주된 질환이므로 시장 예측에 어려움이 있었음
- 본 연구에서는 과제 1차년도 수행 실적으로 농업기술실용화재단으로부터 시장특성, 시장환경, 수익창출, 과급효과에 대한 지표분석을 실시한 바 있으며, 이에 대한 보고서를 확보하여 시장규모를 예측하였음

(단위: 억 원)

구분	'10	'11	'12	'13	'14	'15	'16	CAGR ( '10~ '15)
감마리놀렌산 함유유지 건강기능식품 매출액(A)	93	226	153	156	148	128	136	6.6%
PMS 완화 진통제 판매액(B)	1,293	850	1,320	1,394	1,493	1,525	1,576	3.35%
PMS 치료제 매출액(C)	0	0	0	10	22	35	65	87.08%
국내 PMS 개선 원료 및 건기식 시장규모 (D=A+B+C)	1,386	1,076	1,473	1,560	1,663	1,688	1,778	32.34%

- 생리전 증후군 시장은 잠재력이 큰 시장 (가임기 여성 중 50%가 생리전 증후군 증상을 보임)으로 본 연구개발의 원료가 안전성/유효성을 기반으로 시장을 점유할 경우 명확한 시장의 예측이 가능할 것으로 사료됨

라. 국산 원재료를 활용한 제품 개발

- 본 연구개발의 맥아와 구절초는 직접 가공하거나 국내 재배농가에서 수급한 원재료로 이에 대한 부분이 소비자들에게 잘 알려지면 기능성 식품으로 출시되었을 때 소비자들의 선호도를 높일 수 있을 것으로 기대되고 있음
- 특히 근래 급성장하고 있는 기능성 식·의약품 시장은 다양하고 새로운 천연소재의 개발을 필요로 하고 있다는 점에서 경제 산업적 활용 가치가 매우 높다 할 수 있음
- 본 연구는 국내산 약용자원의 개발에 기여할 수 있으며, 국내 원료의 우수한 기능성을 인정 받은 신소재 개발로 개별인정형 원료 개발, 수입대체 및 수출효과 등을 기대할 수 있음

## 6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

### 가. 연구개발 성과 활용 계획표

- 과제 계획서 내 작성된 과제 종료 후 성과 및 미달성 성과에 대해 목표 설정

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내
국외논문	SCIE	종료 1년차 3건, 2년차 2건
	비SCIE	0
	계	5
특허출원	국내	0
	국외	종료 1년차에 9건 (해외 출원 9개 국가 출원)
	계	9
특허등록	국내	0
	국외	종료 3년차에 5건 등록
	계	5
사업화	상품출시	종료 1년차 기능성 원료 인증 후 2건의 상품출시
	기술이전	0
	매출액 (백만원)	누적 매출액 : 7,000
제품개발	시제품개발	2
정책활용		종료 1년차 1건
성과홍보		종료 1년차 1건
정성적 성과 주요 내용		월경전 상태개선 기능성 원료 인정 국내외 사업화 추진 및 매출달성

### 나. 연구개발 성과의 활용분야 및 활용방안

1) 건강기능식품 제품화/산업화 활용방안 : 약 225억원/년 이상 매출 기대 (기술 안정화 시)

가) 월경전 상태개선 개별인정형 건강기능식품의 제품군 : 100억원/년 이상 매출 예상

나) 기능성 원료(원료분말 형태) : 20억원/년 매출 예상 (원료 4톤 분량, 25만 세트(1개월 섭취) 생산)

다) 맥아 및 구절초 원재료 : 약 5억원/년 이상 매출 예상

라) 국내 및 해외 기술이전 및 수출 : 동남아 등 해외 수출 (100억원/년 매출 기대)

2) 본 연구개발 성과의 논문 투고 방안

가) 종료 1차년도 3건

- 생리전 증후군 개선 소재 탐색 연구
- 맥아구절초추출복합물의 Rat 동물모델에서의 효능 및 작용기전 검증
- 맥아구절초추출복합물의 생리전 증후군 개선 인체적용시험 연구

나) 종료 2차년도 2건

- 목향 추출물의 생리전 증후군 개선 효능 및 작용기전 검증
- Cholorogenic acid / tricin의 생리전 증후군 개선 효능 및 작용기전 검증

3) 본 연구개발에서 달성한 특허의 활용 방안

가) 맥아구절초추출복합물의 국내 특허등록에 따른 활용방안

- 맥아 성분에 대한 생리전 증후군 완화 특허 등록 완료

- 구질초 성분에 대한 생리전 증후군 완화 특허 등록 완료
- 특허를 기반으로 기능성 원료 인정 시 국내 독점 사업화 개시

나) 맥아구질초추출복합물의 해외 특허출원에 따른 활용방안

- 본 특허는 PCT 출원 후 건강기능식품 사업화를 진행할 9개 국가에 특허 출원 준비 중으로 현재 각국에 출원할 명세서를 작성하고 있음 (미국, 일본, 싱가포르, 말레이시아, 태국, 필리핀, 호주, 캐나다, 유럽 총 9개국)

다) Back-up 소재 목향 추출물의 국내 특허등록 및 해외 특허 출원에 따른 활용방안

- 현재 추출공정 확립 및 유효성 평가 이외에 연구개발이 추진되고 있지는 않으나, 국내 특허 등록 및 PCT 출원을 완료하였으며, 미국과 일본에 기술이전 또는 직접 사업화를 위해 특허를 출원하여 과제 종료 후 후속 연구 또는 기술이전을 추진하고자 함
- 예상 추가 연구: 원료 표준화, 전임상 안전성 평가, 인체적용시험 등

라) 기타 실적 달성에 따른 활용방안

- 홍보: 연구된 과학적 우수성 및 기능성/안전성, 생리전증후군과 생리통의 차이점 등을 매체, 신문기사, 홈쇼핑 등을 통해 본 연구개발 원료의 차별성을 홍보하고자 함
- 정책활용: 연구개발된 과학적 우수성 및 국내 소재의 활용성 등 본 과제를 통해 확보된 성과를 활용하여 제시하고자 하며, 또한 연구개발 성과, 시험방법, 바이오마커 등 신규로 확보된 결과물을 바탕으로 기능성 평가 가이드라인 정립에 건의하여 정책활용 실적을 달성하고자 함

4) 월경전 상태개선 기능성 원료 인정

가) 종료1차년도에 본 연구결과 및 성과를 활용하여 개별인정형 기능성 원료 인정

- 본 연구개발의 주관기관인 (주)제넨셀은 2021년 12월에 병풀추출분말에 대한 기능성 원료를 인정받은 바 있으며, 해당 기술의 노하우를 본 연구개발 원료에 적용하여 기능성 원료를 신청하였음
- 현재 식약처로부터 수령한 1차 보완결과, 반려 사유는 없으며, 따라서 해당 보완자료를 완성하여 접수할 경우 종료1차년도에 충분히 기능성 원료 인정서를 확보할 수 있음 (종료 1차년도에 기술인증 실적으로 추가달성하고자 함)

건강기능식품 기능성 원료 인정서	국내	수입
	○	
제2021-24호		
대표자 : 정 용 준 업체명 또는 기관명 : 주식회사 제넨셀 소재지 : 경기도 용인시 기흥구 흥덕중앙로 120(U-TOWER 3층 301호 영덕동) 원료명 : 병풀추출분말		
수출국 : 수출국 제조회사명 : 수출국 제조회사 소재지 :		
「건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정」 제10조제1항에 따라 건강기능식품 기능성 원료로 인정합니다. 2021년 12월 29일 식품의약품안전처장		
※ 붙임서류 1. 원료명 2. 제조기준(원재료, 제조방법, 기능성분(또는 지표성분), 제조 시 유의사항) 3. 규격 4. 제품의 요건(기능성 내용, 일일 섭취량, 섭취 시 주의사항, 기타사항) 5. 시험방법		

5) 기능성 평가 가이드라인 범위 확대 및 시장 예측에 활용

가) 전임상 유효성 검증 및 바이오 마커 활용

- 
- 감마리놀렌산을 기준으로 확립되어 있는 식약처 기능성 평가 가이드라인에 본 연구개발 노하우를 건의하여 추가 시험범위 및 바이오마커 확대에 활용하고자 함

나) 생리전 증후군 시장 예측에 활용

- 현재 감마리놀렌산의 경우 4가지 기능성을 포함하고 있고, 진통제 등 섭취하는 품목도 달라 시장예측이 사실상 어려우며, 가임기 여성 중 50% 정도가 생리전 증후군을 경험하고 있는 시장임을 감안할 때 잠재적 시장이 매우 클 것으로 사료됨
- 따라서, 본 연구개발의 기능성과 안전성이 확보된 제품으로 시장 점유 및 이에 대한 시장을 예측하는데 활용할 수 있음

6) 국산 원재료의 우수성 홍보 및 농가 소득에 기여

가) 국산 맥아 및 구절초의 우수성 홍보

- 현재 맥아는 가공 방법이 다양하여 이를 위한 표준화 확립이 필요하며, 구절초는 유통되고 있는 대부분의 구절초가 가구절초임이 확인되어 본 연구개발 결과로 하여금 표준화된 맥아와 구절초 (진구절초)에 대한 우수성을 홍보하고자 함

나) 국산 맥아 및 구절초 재배 농가 소득에 기여

- 본 연구의 결과로 국내 원료의 우수한 기능성을 인정받은 신소재 개발이 이루어질 것이며, 이는 농가의 소득은 물론 수입대체 및 수출효과 까지 기대가 가능함
- 특히, 유통되고 있는 가구절초가 아닌 진구절초를 재배하는 농가의 경우 구절초의 특수성 홍보가 가능하여 재배 농가의 소득 창출에 도움이 될 것으로 예상됨
- 따라서, 1차 현재 거래중인 정읍, 화순 재배농가와와의 계약을 통해 진구절초 10톤을 확보할 계획이며, 추후 기능성 원료 사용증가에 따라 전국적인 농가 활용 및 재배지역 확대를 통해 최종 20톤 이상의 원물을 확보하고자 함 (원료 2톤 생산량)

다. 추가연구의 필요성

1) 원료 생산 공정 개선 (선택적 연구)

- 가) 본 연구개발 원료인 맥아구절초추출복합물은 개별인정형 원료임을 감안하였을 때 원료가 높다고는 할 수 없으나, 수익적인 부분에서 봤을 때 원료가 높을 경우 이익의 수준이 낮아질 것으로 판단되어 맥아의 수율을 높일 수 있는 공정 연구가 필요할 것으로 보임 (해당 연구는 순차적으로 GMP 생산 기업과 의논하여 추진할 계획임)

라. 기업화 추진방안 및 기술이전 계획

1) 사업화 추진전략 및 계획

가) 1단계: '월경전 상태개선 (불편함 개선)에 도움' 개별인정형 기능성 원료 인정

- '월경전 불편감 개선에 도움' 기능성에 단독 개별인정형 원료 인정
- 기능성 원료 인정 후 주관기관 (주제넬셀에서 동국제약(주)와 원료 공급 계약 체결
- 과학적인 효력 입증 및 안전성 확보 등 차별성 홍보
- 기능성 원료 인정 전, 건강기능식품 부원료 판매를 통한 소비자 인지도 증대 및 매출 발생
- 세부 전략: 동국제약(주) 자사 제품에 '맥아구절초추출복합물' 부원료 사용 → 동국제약(주) 브랜드샵 '메이올웨이즈' 유통망을 활용
- 종료1차년도에 과제기간 내 달성하지 못한 매출 2억원 추가 달성
  - 기능성 원료 약 1톤 (50만원/kg) 중 500 kg 판매 (약 2.5억원)
  - 나머지 500 kg과 제품 생산/판매를 통한 종료1차년도 실적 달성
- 1차 컨셉용 제품 개발에 따른 수요 조사 및 사업성 검증
  - 사업기간 내 개발한 시제품 3건에 대해 제품을 생산/판매하여 가임기 여성의 니즈를 1

차 파악하고자 하며, 월경전 상태개선 건강기능식품의 사업성을 검증하고자 함

- 나) 2단계: ‘맥아구절초추출복합물’ 브랜드 노출에 따른 누적 매출액 약 100억원 이상 달성
- 기능성 원료 인정 후 고시형 원료와 복합 기능성 제품을 생산하여 ‘맥아구절초추출복합물’의 원료 인지도 강화
  - 기능성 원료 생산 2톤 생산 및 판매: 약 10억원 매출
  - 개별인정형 건강기능식품 약 14만 set: 약 70억원 매출
    - 1차 개발 기능성: 월경전 상태개선 + 피부건강 (알로에겔 혼합)
    - 2차 개발 기능성: 연구결과를 활용하여 벤치마킹한 제품 3건 생산/판매 (월경전 상태개선 + 긴장완화/혈행개선, 활성산소 제거, 뼈건강)

<월경전 상태개선/긴장완화/혈행개선>				<월경전 상태개선/활성산소 제거>				<월경전 상태개선/뼈건강>			
No	원료명	배합비율	합량(mg)	No	원료명	배합비율	합량(mg)	No	원료명	배합비율	합량(mg)
1	맥아구절초추출복합물	35.714%	250.000	1	맥아구절초추출복합물	50.000%	250.000	1	맥아구절초추출복합물	50.000%	250.000
2	은행잎추출분말	8.333%	58.333	2	비타민B1질산염	7.716%	38.580	2	대두이소플라본	10.000%	50.000
3	L-테아닌	15.198%	106.386	3	당귀추출물분말	0.100%	0.500	3	콜레칼시페롤 0.1miu/g	7.1430%	35.715
4	산화마그네슘	0.100%	0.700	4	해조분말(TG Type)	33.2830%	156.415	4	해조분말(TG Type)	21.8570%	109.285
5	석류추출물분말	0.11%	0.700	5	가오카복시메틸셀룰로스나트륨	3.000%	15.000	5	가오카복시메틸셀룰로스나트륨	3.000%	15.000
6	해조분말	30.755%	215.284	6	스테아린산	3.000%	15.000	6	스테아린산	3.000%	15.000
7	가오카복시메틸셀룰로스나트륨	3.000%	21.000	7	이산화규소	1.800%	9.000	7	이산화규소	1.800%	9.000
8	스테아린산	3.000%	21.000	8	스테아린산마그네슘	2.000%	10.000	8	스테아린산마그네슘	2.000%	10.000
9	이산화규소	1.800%	12.600	9	히드록시프로필메틸셀룰로스	1.000%	5.000	9	히드록시프로필메틸셀룰로스	1.000%	5.000
10	스테아린산마그네슘	2.000%	14.000	10	당귀추출물분말	0.1000%	0.500	10	당귀추출물분말	0.1000%	0.500
11	발효주정		105.000	11	글리세린지방산에스테르	0.1000%	0.500	11	글리세린지방산에스테르	0.1000%	0.500
	원재료비 계	100.0000%		12	발효주정	-	66.680	12	식품용주정에탄올	저방 외	66.6800
				13	정제수	-	0.01667g	13	정제수	저방 외	0.01667g
					원재료비 계	100.0000%	500		원재료비 계	100.0000%	500

- 1차 시장 진입을 위한 단계로 대중적으로 알려진 기능성 원료와 혼합하여 시장 진출
- 복합 기능성 제품 생산 전략



- 소비자 인지도 향상 추진
  - ✓ 여성의 삶의 질 관련 제품의 필요성을 대중적으로 확산(광고, SNS 등 활용)
  - ✓ 목표 고객(10대~40대 여성)이 주로 이용하는 채널 활용(youtube, 인스타그램, facebook, 블로그 등)
  - ✓ 목표 고객에 맞는 콘텐츠 게재 → 반응 모니터링 → 제품 구매 유도

- 다) 3단계: ‘맥아구절초추출복합물’ 맞춤형 시장 창출에 따른 년 매출액 약 154억 달성
- 개인 맞춤형 건강기능식품시장으로 진입, 각 구매 계층이 정기 구매를 하는 단계
  - 2단계에서 확보된 목표 고객 연령별 데이터베이스를 활용하여 맞춤형 제품 판매
    - ✓ 10대: ‘피로개선’ 및 ‘장 건강’ (혼합원료 예시: 홍경천추출물+올리고당 등)
    - ✓ 20대: ‘피로개선’ (혼합원료 예시: 홍경천추출물 또는 헛개나무과병추출분말 등)
    - ✓ 30대: ‘질내 유익균 증식, 유해균 억제’ (혼합원료 예시: UREX 프로바이오틱스 등)
    - ✓ 40대: ‘혈행 개선’ (혼합원료 예시: 은행잎추출물, 홍삼농축액 등)
    - ✓ 50대: ‘질내 유익균 증식, 유해균 억제’ (혼합원료 예시: UREX 프로바이오틱스 등)

- 또한, 1차 후보소재 중 복합원료로 포함되지 않은 ‘알로에 동결건조 분말 (고시형 원료)’을 활용한 컨셉 제품 판매 (피부건강 포함 제품 판매 추진)
- 목표고객
  - ✓ 10대, 30대, 40대 구매 희망 비중이 높은 연성 타겟팅(1,001명의 설문조사 근거)
- 시장 공략: 동국제약(주) 기 확보 유통채널 활용
  - ✓ 대형마트 : 이마트, 홈플러스, 롯데마트, 하나로마트, 롯데슈퍼 등
  - ✓ CVS : CU(구 훼밀리마트),세븐 일레븐을 통한 시장공략
  - ✓ 약국 : 전국 2만여개의 약국 중 10,000개의 약국을 통한 시장 공략
  - ✓ 홈쇼핑 : 롯데홈쇼핑 / 홈앤쇼핑 / CJ O쇼핑 / 현대 홈쇼핑
  - ✓ 인터넷 쇼핑몰(메이올웨이즈\_동국제약 자체 온라인 쇼핑몰, 키워드/배너노출 및 소셜 커머스를 통한 공격적인 마케팅
  - ✓ 면세점 : 롯데 인터넷면세점, 롯데 면세점-코엑스점, 잠실점
  - ✓ 백화점: 30 점포, 현대 14점포, 신세계 6점포



2) 매출 달성 계획

가) 기능성 원료 및 개별인정형 건강기능식품 매출 달성 계획

(단위 : 백만원)

구분	사업화년도			
	(2022년) 과제종료 후 1년	(2023년) 과제종료 후 2년	(~2026년) 과제종료후 3 ~ 5년	
사업화 품목	기능성 원료/건강기능식품	기능성 원료/건강기능식품	기능성 원료/건강기능식품	
투자계획	인건비	200	500	700
	재료비 및 설비투자비	100	700	900
	경상운영비	440	2,380	3,560
	계	740	3,580	5,160
생산계획	기능성 원료 1톤 67,000 set (1달) 캡슐/정제	기능성 원료 2톤 134,000 set (1달) 캡슐/정제	기능성 원료 4톤 이상 268,000 set (1달) 이상 캡슐/정제	
판매계획	국내	3,850	7,700	년 15,400 이상

■ 원료가 50만원/kg, 제품판매가 5만원/set 산정

나) 투자계획

- 신제품출시를 위해서 기존 라인 증축비 10억 투자
- 향후 해외수출 수요를 커버하기 위해 신규공장 신축 또는 기존 업체 인수합병을 위한 투자 예정

---

#### 다) 생산계획

- 국내 시장자료를 토대로 제품화 시 예상매출 대비 생산계획 산정
- 국내의 경우 초기 20%의 시장점유율 시작으로 3년 후 약 154억원 이상의 목표로 산정
- 시장 예측 : 신규 기능성 소재(맥아구절초복합추출분말) 시장 창출 및 소비자 인식 재고 되는 시점인 시장 진출 후 3년 시점부터 매출 급증으로 예상

#### 라) 판매계획

- 제품의 장점과 효능을 적절히 노출시킴으로 소비자와의 접근성을 높일 계획으로 국내 출시 4년 안에 매출 약 154억 원 이상 발생
- 또한 동국제약은 50여 개국의 해외 네트워크가 구축되어 있어 전체 매출의 해외수출비중이 25%에 육박함
- 해외에서 브랜드 인지도 재고를 위한 마케팅 지원을 지속적으로 수행하여 글로벌 헬스케어 회사로 키울 계획임
- 개별국 특허 출원을 진행할 9개국 (미국, 일본, 싱가포르, 말레이시아, 태국, 필리핀, 호주, 캐나다, 유럽)에 집중적인 판매 전략 수립

### 3) 해외 기술이전 계획

#### 가) Back-up 소재 목향추출물의 기술이전 계획

- 현재 관심도가 높은 일본 판매 기업의 요청에 따라 목향 추출물은 미국과 일본에 특허출원 되어 있으며, 이에 대한 기술이전을 계획하고 있음

#### 나) 맥아구절초추출복합물의 해외 기술이전 계획

- 개별국 특허 출원을 진행할 9개국 (미국, 일본, 싱가포르, 말레이시아, 태국, 필리핀, 호주, 캐나다, 유럽)에서 기술이전에 관심 있는 기업을 대상으로 해외 기술이전을 추진할 의향이 있음
  - 특히, 주관기관인 (주)제넨셀은 유럽을 기반으로 하고 있으며 전 세계적으로 컨설팅을 진행중인 유럽의 RDP pharma AG와 인도 인체적용시험 CRO 이자 컨설팅 기업인 Syncorp Health Pvt Ltd와 업무협약을 체결한 바 있어 해외 판매에 강점으로 작용할 수 있음
-

주 의

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