

11-1543000  
-001883-01

발간등록번호  
11-1543000-001883-01

인삼종자오일을 이용한 비알콜성 지방산 개선 건강기능식품 개발 최종보고서

2017

농림축산식품부

# 고부가가치식품기술개발사업 R&D Report

## 인삼종자오일을 이용한 비알콜성 지방산 개선 건강기능식품 개발 최종보고서

2017. 11. 1.

주관연구기관/충북홍삼영농조합법인  
1협동연구기관/세명대학교  
2협동연구기관/경희대학교  
위탁연구기관/세명대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “인삼종자오일을 이용한 비알콜성 지방간 개선 건강기능식품 개발”  
(개발기간 : 2014. 8. ~ 2017. 7.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 11. 1.

주관연구기관명 : 충북홍삼영농조합법인 (대표자) (인)  
1협동연구기관명 : 세명대학교 산학협력단 (대표자) (인)  
2협동연구기관명 : 경희대학교 산학협력단 (대표자) (인)  
위탁연구기관명 : 세명대학교 산학협력단 (대표자) (인)

주관연구책임자 : 남성엽  
1협동연구책임자 : 이동녕  
2협동연구책임자 : 정성현  
위탁연구책임자 : 고성권

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

## 보고서 요약서

과제고유번호	114023-3	해당 단계 연구 기간	2014. 8. ~ 2017. 7.	단계 구분	(해당단계)/ (총 단계)
연구사업명	중사업명	고부가가치식품기술개발사업			
	세부사업명				
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	인삼종자오일을 이용한 비알콜성 지방간 개선 건강기능식품 개발			
연구책임자	남성엽	해당단계 참여 연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
		총 연구기간 참여 연구원 수	총: 31 명 내부: 18 명 외부: 13 명	총 연구개발비	정부: 450,000천원 민간: 150,000천원 계: 600,000천원
연구기관명 및 소속부서명	연구기관명: 충북홍삼영농조합법인			참여기업명: 충북홍삼영농조합법인	
위탁연구	연구기관명: 세명대학교 산학협력단			연구책임자: 고성권	
요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)				보고서 면수  331	

〈 요약 〉

		코드번호	D-01																												
연구의 목적 및 내용	<p>(연구목적) 인삼종자오일을 이용한 알콜성이 아닌 일반 지방간 개선 건강기능식품 개발</p> <p>(연구내용)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 인삼종자오일의 성분 분리 분석</li> <li>○ 불포화지방산 고농도 함유 인삼종자오일 개발</li> <li>○ ginsenoside Re 고농도 함유 인삼종자오일 개발</li> <li>○ prosapogenin 성분 고농도 함유 인삼종자오일 개발</li> <li>○ 인삼종자오일의 비알콜성 지방간 개선 생리활성 시험</li> <li>○ 인삼종자오일의 비알콜성 지방간 인체적용 시험</li> <li>○ 인삼종자오일의 안전성(독성) 시험</li> <li>○ 인삼종자오일의 임상시험을 위한 프로토콜 및 CRF 작성</li> <li>○ 임상시험을 위한 IBR 통과</li> <li>○ 건강기능식품의 제품허가에 필요한 임상시험의 수행 및 결과보고서 완료</li> </ul>																														
연구개발성과	<p>(연구성과 목표대비 실적)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">특허</th> <th colspan="2">논문</th> <th rowspan="2">학술발표</th> <th rowspan="2">교육지도</th> </tr> <tr> <th>출원</th> <th>등록</th> <th>SCI</th> <th>비SCI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>목표</td> <td>2</td> <td>0</td> <td>5</td> <td>0</td> <td>3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>성과</td> <td>1</td> <td>0</td> <td>1</td> <td>4</td> <td>7</td> <td>6</td> </tr> </tbody> </table> <p>(연구개발성과)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Ginsenoside Rg<sub>2</sub> 등의 홍삼 활성 prosapogenin 성분을 고농도로 함유하는 로스팅 및 압출처리 인삼종자오일 조성물 개발 및 대량 추출조건 최적화</li> <li>○ Ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub> 등 분리 화학구조 동정</li> <li>○ 지표성분 (Ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>) 표준화 (밸리데이션)</li> <li>○ 지방간 동물모델에서 로스팅 및 압출처리 인삼종자오일 조성물의 간 보호효과</li> <li>○ 로스팅 및 압출처리 인삼종자오일 조성물의 간기능 개선 인체적용 시험 IRB 승인</li> <li>○ 로스팅 및 압출처리 인삼종자오일 조성물의 간기능 개선 인체적용 시험</li> <li>○ 로스팅 및 압출처리 인삼종자오일 조성물의 안전성(독성)시험[단회독성, 4주 DRF, 유전독성 (염색체이상시험, 복귀돌연변이시험, 소핵시험), 13주 반복독성시험 및 4주 회복시험]</li> <li>○ 로스팅 및 압출처리 인삼종자오일 조성물 시제품 제작</li> </ul>							특허		논문		학술발표	교육지도	출원	등록	SCI	비SCI	목표	2	0	5	0	3	3	성과	1	0	1	4	7	6
	특허		논문		학술발표	교육지도																									
	출원	등록	SCI	비SCI																											
목표	2	0	5	0	3	3																									
성과	1	0	1	4	7	6																									
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 재배 폐기 부산물 활용 기능성 강화 소재 개발</li> <li>○ 신규제품 개발로 신수요 창출</li> <li>○ 인삼제품 수출 증대</li> <li>○ 원가 절감에 의한 인삼식품 제조업의 수익성 향상과 소비 확대</li> <li>○ 인삼 수요 증대와 재배농가 소득 향상</li> <li>○ 인삼종자를 기능성식품 원료로 활용한다는 측면에서 인삼의 용도 확장에 기여</li> </ul>																														
중심어 (5개 이내)	인삼종자오일	지방간	기능성	강화	식품																										

< SUMMARY >

		코드번호	D-02																												
Purpose& Contents	<p>(Purposes of research) Development of functional food for improvement of hepatic protective effect using processed ginseng seed oil extract</p> <p>(Research contents)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Separation and analysis of components from processed ginseng seed oil extract</li> <li>○ Development of processed ginseng seed oil extract containing a high concentration prosapogenin component</li> <li>○ Physiological activity test of liver function improvement for processed ginseng seed oil extract</li> <li>○ Clinical trials of liver function improvement for processed ginseng seed oil extract</li> <li>○ Safety(toxic) test of processed ginseng seed oil extract</li> <li>○ Prototyping of processed ginseng seed oil extract</li> </ul>																														
Results	<p>(Research performance against goals)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">Patent</th> <th colspan="2">Paper</th> <th rowspan="2">Conference</th> <th rowspan="2">Education guide</th> </tr> <tr> <th>Application</th> <th>Enrollment</th> <th>SCI</th> <th>Non-SCI</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Goal</td> <td>2</td> <td>0</td> <td>5</td> <td>0</td> <td>3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>Result</td> <td>1</td> <td>0</td> <td>1</td> <td>4</td> <td>7</td> <td>6</td> </tr> </tbody> </table> <p>(Results of research)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Development of processed ginseng seed oil extract containing a high concentration ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>, and so on and Optimization of mass extraction conditions</li> <li>○ Separation and chemical structure identification of ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub></li> <li>○ Standardization of component indicators (Ginsenoside Rh<sub>1</sub>, Rg<sub>2</sub>) (validation)</li> <li>○ Liver protective effect of processed ginseng seed oil extract on hepatotoxicity model</li> <li>○ IRB approval for clinical trials of liver function improvement for processed ginseng seed oil extract</li> <li>○ Clinical trials of liver function improvement for processed ginseng seed oil extract</li> <li>○ Safety(toxic) test of processed ginseng seed oil extract[single dose toxicity, 4 weeks DRF, genetic toxicity (chromosomal aberration test, reverse mutation test, micronucleus test), 13 weeks repeated toxicity test and 4 weeks recovery test</li> <li>○ Prototyping of processed ginseng seed oil extract(product name : Inpro)</li> </ul>							Patent		Paper		Conference	Education guide	Application	Enrollment	SCI	Non-SCI	Goal	2	0	5	0	3	3	Result	1	0	1	4	7	6
	Patent		Paper		Conference	Education guide																									
	Application	Enrollment	SCI	Non-SCI																											
Goal	2	0	5	0	3	3																									
Result	1	0	1	4	7	6																									
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Development of functional food for improvement of hepatic protective effect using processed ginseng seed oil extract</li> <li>○ Reducing medical costs by improving national public health</li> <li>○ 20-30% expansion expected in the ginseng food market about 1 trillion won</li> </ul>																														
Keywords	ginseng seed oil	fatty liver disease	functional	strengthening	food																										

< Contents >

1. Overview of R & D projects .....	8
2. Status of domestic and international technology developments	14
3. Details and results of study .....	16
4. Goal achievement and contribution to relevant areas .....	324
5. Use Plan of research results .....	326
6. International scientific and technical information collected in the research process .....	327
7. Security clearance of research and development achievements .....	327
8. Equipment Status and research facility registered with the National Science and Technology Information System .....	327
9. Implemented performance of laboratory safety measures .....	328
10. Typical study results of research and development projects ·	329
11. Etc .....	330
12. References .....	331

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요.....	8
2. 국내외 기술개발 현황 .....	14
3. 연구수행 내용 및 결과 .....	16
1) 인삼종자오일의 제조 및 기능성 성분 분석 .....	16
○ 인삼씨 미 발아인삼씨의 지방산 성분 분석 .....	16
○ 인삼 종자 오일 인삼사포닌 성분 분석(HPLC) .....	20
2) 인삼종자오일로부터 기능성 성분 대량 분리 및 동정 .....	24
○ 인삼 종자 오일 추출 조건 별(압출법, 초임계법, 용매추출) 성분 분석(GC) .....	24
○ 인삼종자오일로부터 기능성 성분 대량 분리 및 동정 .....	31
3) 기능성 강화 인삼종자오일 조성물 제조 및 안정성 시험 .....	37
○ 로스팅 및 압출법을 이용한 인삼종자오일의 제조 .....	37
○ 인삼종자오일의 당흡수저해능 및 안정성 시험 .....	38
4) 인삼종자오일 제제를 대상으로 한 비알콜성 지방간 동물모델의 약효 및 기전규명 .....	46
○ In vitro에서 지방대사 관련 유전자 발현에 미치는 영향 확인 .....	46
○ 비알코올성 지방간 동물모델에서 인삼종자오일의 약효 및 기전 평가 .....	48
5) 안전성 평가 [ I ] .....	54
○ 인삼종자오일의 Sprague-Dawley랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험 .....	54
○ 인삼종자오일의 Sprague-Dawley 랫드를 이용한 용량설정 4주 반복 경구투여 독성시험 ..	73
○ 인삼종자오일의 박테리아 균주를 이용한 복귀돌연변이시험 .....	121
○ 인삼종자 오일의 마우스를 이용한 소핵시험 .....	136
○ 인삼종자오일의 포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험 .....	153
6) 안전성 평가 [ II ] .....	165
○ 인삼종자오일의 Sprague-Dawley랫드를 이용한 13주 반복 경구투여 독성시험 및 4주 회복시험	165
7) 인체적용시험 .....	207
○ 인삼종자오일의 인체적용 시험계획 .....	207
○ 인삼종자오일의 인체적용 시험결과 .....	257
8) 시제품 제작 .....	321
○ 인삼종자오일 추출물 정제 시제품 제작 .....	321
○ 제제 안정성 분석 .....	322
○ 시제품의 경제성 분석 .....	323
4. 목표달성도 및 관련분야 기여도 .....	324
5. 연구결과의 활용계획 .....	326

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	327
7. 연구개발결과의 보안등급 .....	327
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황 .....	327
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 .....	328
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적 .....	329
11. 기타사항 .....	330
12. 참고문헌 .....	331

## 1. 연구개발과제의 개요

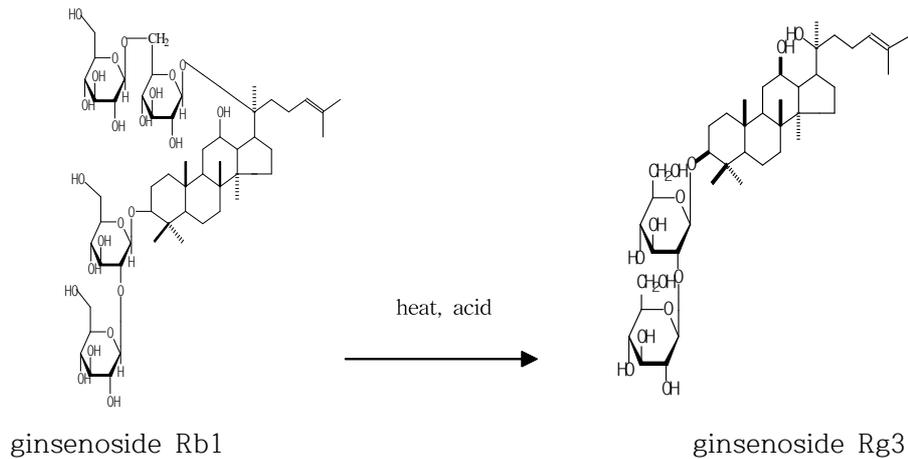
### 1) 연구개발 목적

- 인삼종자오일을 이용한 비알콜성 지방간 개선 건강기능식품 개발

### 2) 연구개발의 필요성

- 우리나라 고려인삼은 해외수출 시장의 성장동력 및 전략 품목으로서 차별성 검비
  - 세계 인삼시장 규모는 '09년 기준 200억불 수준이며, '11년도 고려인삼 수출액은 189백만\$로 농산물 단일품목 중 1위를 차지('12.3월, 인삼산업 중장기 발전대책에 의거 '17년 600백만\$ 수출목표 제시)
  - 반면 아직까지 중국, 홍콩을 비롯한 아시아 시장이 85% 이상으로 편중되어 있고, 상대적으로 부가가치가 낮은 뿌리삼(원형삼)이 50% 이상을 차지
  - 제품류의 경우도 분말, 엑기스, 차, 음료 등 단순가공품이 주를 이루어 미국, 유럽 등 건강기능식품 시장의 진입이 어려운 실정임
- 기능성 소재(의약품 등) 및 관련 제품 시장의 발빠른 변화 및 성장
  - 세계 기능성 식품시장은 '08년 기준 2,697억\$이며, 미국(37%), 유럽(28%), 일본(14%)의 순으로 현지 소비자의 기대에 부응할 수 있는 차별화된 제품 개발이 필요
  - FTA 대응 미국의 경우에는 생체방어관련 비타민, 미네랄류의 시장 점유율이 가장 높으므로, 이를 대체할 수 있는 인삼 소재를 활용한 제품개발이 필요하며, 비만으로 인한 대사증후군 및 당뇨병, 고령화로 인한 뇌인지장애, 암 치료 보조식품 등 생활습관병 기능성 식품의 필요성이 증대되므로, 이에 대응할 수 있는 맞춤형 인삼 기능성 성분 강화 제품 개발이 필요함
- 해외 인삼소비 패턴의 변화와 수출여건의 변화
  - 중국인삼 시장의 확대('09년 기준 10억\$) 및 뿌리삼(절편)보다 제품류 매출이 증가하고 있는 추세
  - 홍콩의 경우 '13년 7월부터 인삼제품류에 대한 '중성약등록제' 시행을 예고하여 수출여건 악화가 예상, 수출시장의 다변화 및 신시장 진입 필요
  - 특히 인삼제품류(뿌리삼 제외) 시장은 미국이 258백만\$, 중국이 137백만\$로 가장 큰 시장을 형성, 미국을 중심으로 하는 북미시장의 개척도 시급
- 인삼의 효능 강화를 위한 특정사포닌 강화 기술
  - 고부가가치 기능성 강화 인삼제품을 개발하기 위해서는 강력한 생리활성을 나타내는 특정성분을 고농도로 함유하게 하는 가공기술과 이와 관련한 생리활성소재의 유효성을 입증한 기능성제품을 개발해야함.
  - 인삼 함유 성분에 있어서 수삼 및 백삼에는 인삼사포닌 배당체(ginsenoside Ra, Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1 등)가 함유되어 있음.
  - 인삼사포닌 배당체는 동맥경화 및 고혈압의 예방, 위 및 간기능 촉진 및 숙취 제거 효과, 항피로 및 항스트레스 작용, 노화방지 작용, 두뇌활동 촉진 작용, 항당뇨작용 등이 보고되어 있음.
  - 홍삼은 수삼 즉 발에서 채굴한 생삼을 수증기로 찌서 건조한 것을 말함. 찌때 열에 의해서 가수분해가 일어나 사환성 triterpenoid 인 Dammarane 기본구조에서 일부분의 당이 유리되어 prosapogenin type의 ginsenoside Rg3, Rg2, Rg5, Rh2, Rh4등의 Artifact 즉 홍삼특유성분이 생성됨.

- 인삼 prosapogenin 즉 홍삼특유성분(ginsenoside Rg3, Rg2, Rh2)은 암전이 억제활성, 항종양작용, 혈압강하, 항산화, 항당뇨, 뇌인지개선 등의 생리활성이 국제저널에 보고됨으로서 기능성 물질로서 세계적인 주목을 받고 있음.
- 이와 같은 인삼 prosapogenin을 고농도로 함유한 제제를 개발하기 위한 생명공학적인 연구가 활발히 진행되고 있음.
- 서울대학교의 박만기 등은 열과 압력을 가하는 물리적인 방법에 의해 인삼사포닌 배당체(ginsenosides)의 당기를 일부분 가수분해하여 인삼 prosapogenin(ginsenoside Rg3, Rg5)을 높은 농도로 함유하는 인삼제품(선삼)을 개발하여 현재 시판 중임.



Transformation of protopanaxadiol saponin ginsenoside Rb1 to ginsenoside Rg3

- 한편, (주) 일화와 (주) 원광제약은 장내미생물이 분비하는 효소를 이용하여 효소 가수분해를 유도하여 얻어지는 인삼 prosapogenin(IH-901, Compound K)을 높은 농도로 함유하는 인삼식품(락토진생, 효삼)을 개발하여 현재 시판 중임.
- 그러나, 본 연구팀은 안전성에 커다란 문제가 없는 초단파와 식용 양조식초를 이용하여 인삼 prosapogenin(ginsenoside Rg3, Rg5, Rk1)을 고농도로 함유하는 인삼제제와 인삼 prosapogenin(ginsenoside Rg2, Rh1, F4)를 고농도로 함유하는 인삼 지상부 조성물을 천연물화학적 접근방법을 통하여 개발하여 국내특허(국내특허 출원번호: 10-2011-0141997, 10-2011-0141998, 10-2011-0141999, 10-2011-0142000, 출원일 : 2011년 12월 26일)를 출원하였음.
- 이와 같은 발명은 현재 개발된 어떤 방법보다 수율이 높고, 빠른 시간에 간단히 인삼 prosapogenin을 대량으로 생산할 수 있는 방법으로 산업계에서 주목을 받고 있음.
- 특히, 공지의 사실인 인삼사포닌 배당체(ginsenoside Rb2, Re)의 항당뇨작용, 뇌인지개선작용, 암 예방작용과 관련하여 기능성식품 개발을 위한 보다 체계적인 접근의 연구개발이 필요함.
- 이와 같이 인삼의 주요 약리 성분으로 알려진 인삼사포닌(ginsenosides)을 물리·화학·생물학적 공정을 적용하여 특정 ginsenoside의 함량을 증가시키는 연구는 국내·외적으로 많은 연구가 이미 진행
- 그러나, 인삼에 함유된 다양한 생리활성 물질들을 조절하여 특정 효능을 강화할 수 있는 제어기술 필요.

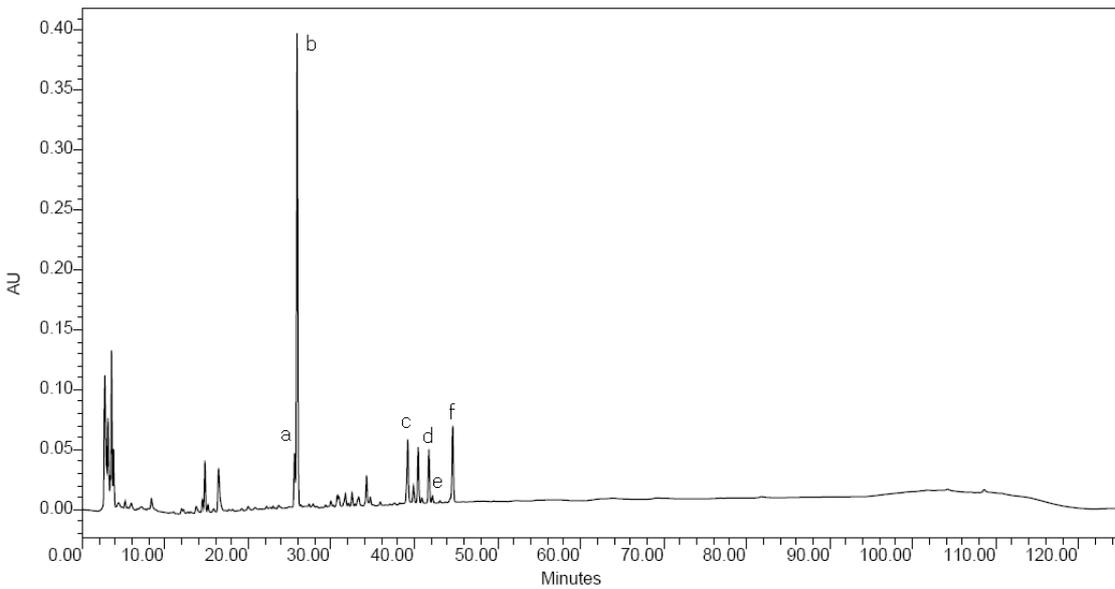
□ 인삼 재배 및 가공 부산 폐기물을 이용한 기능성 강화 제품 개발 필요

- 인삼종자는 파종하여 인삼의 번식에 사용하기 위하여 채종하는데, 인삼재배면적 1,000평당 120kg의

인삼종자가 생산되고 있다. 본 연구의 주관기관인 충북홍삼영농조합법인의 소유 인삼 재배지 10만평에서 인삼종자가 12톤 생산 가능하므로 이를 이용하여 인삼종자유를 생산 공급 가능하며, 폐기되는 부산물 인삼종자 팔푼이를 활용하여 단가를 낮출 수 있음.



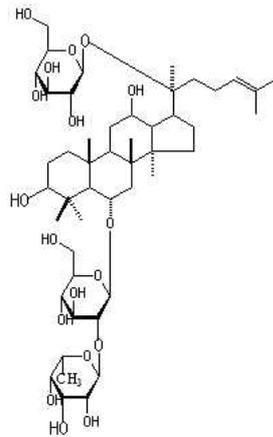
○ 인삼종자에는 항염, 항당뇨, 간기능개선 등 생리활성이 확인된 ginsenoside Re 가 약 1.7%의 높은 농도로 존재하는 것을 확인하였음. [Food Sci. Biotechnol. 17(6), 1379-1382, 2008]



\* a : ginsenoside Rg1, b : ginsenoside Re, c : ginsenoside Rb1, d : ginsenoside Rc, e : ginsenoside Rb2, f : ginsenoside Rd

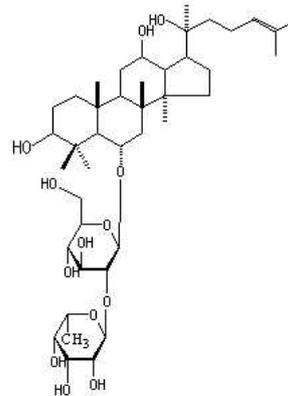
○ 인삼종자의 ginsenoside Re 는 물리화학적 가공에 의해서 ginsenoside Rg2 등 활성 사포닌으로 전환될 수 있음.

### Saponin glycoside



Ginsenoside Re

### prosapogenin



Ginsenoside Rg2

Treatment  
(acid, heat)

- 또한, 인삼종자에는 동맥경화, 고지혈증에 효능이 있는 것으로 알려진 불포화지방산인 oleic acid, linoleic acid 등이 고농도로 함유되어 있는 것이 본 연구진에 의해서 처음으로 확인되어서 특허(출원 번호 10-2012-0122026, 출원일 2012. 10. 31)를 출원하였으며, 이를 이용한 기능성 강화 식품을 개발하고자 함.

### 3) 연구개발 범위

#### 가. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

##### - 연구목표

- 인삼종자오일을 이용한 알콜성이 아닌 일반 지방간 개선 건강기능식품 개발

##### - 연구내용

##### (1세부) 인삼종자오일 생산 및 기능성 강화 인삼종자오일 조성물 개발

- 인삼종자의 수집
- 인삼종자오일의 제조
- 인삼종자오일의 제조공정 표준화
- 불포화지방산 고농도 함유 인삼종자오일 개발
- ginsenoside Re 고농도 함유 인삼종자오일 개발
- prosapogenin 성분 고농도 함유 인삼종자오일 개발
- 인삼종자오일의 안전성(독성) 시험

##### (위탁)

- 인삼종자오일의 추출조건 최적화
- 인삼종자오일의 성분 분리
- 인삼종자오일의 성분 표준화

##### (1협동) 인삼종자오일의 인체적용 시험

- 비알콜성 간손상을 모델로 한 임상시험 실시

##### (2협동) 인삼종자오일의 생리활성 시험

- 인삼종자오일의 비알콜성 지방간 개선 생리활성 시험

나. 과제별(세부.협동) 연구개발의 목표 및 내용

구분	세부과제	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도 (2014)	1세부	- 인삼종자의 수집 - 안전성 시험	○ 전국 인삼재배지로부터 인삼종자의 대량 수집 ○ 독성시험(단회, 4주 투영 DRF시험, 유전독성시험, GLP 독성연구기관 (주) 바이오독스텍 시험의뢰)
	위탁	- 종자별 유효성분과 지표성분의 함량 - 인삼종자오일의 추출 조건 최적화	○ 종자별 유효성분과 지표성분의 함량 ○ 추출 조건 별(압출법, 초임계법, 용매추출) 성분 분석
	2협동	- 비알코올성지방간에 효과가 우수한 인삼종자오일 제제의 세포수준에서 스크리닝	○ 30 mM glucose와 palmitate로 배양한 (비알코올성지방간의 세포모델임) HepG2 human hepatoma cell line을 이용하여 제작된 제제들을 일차 스크리닝함
2차년도 (2015)	1세부	- 인삼종자오일의 제조 - 안정성시험	○ 인삼종자오일의 제조 ○ 인삼종자오일의 안정성시험
	위탁	- 기능성 성분 대량 분리 동정	○ prosapogenin 성분 대량 분리 동정 (Column chromatography법)
	1협동	- 인체시험 준비	○ 자료 검토 및 전략 수립 - 간보호 기능의 규명에 의한 인체 시험 전략 수립 ○ IRB 신청 ○ 피험자 모집 - 60명 기준, 비알코올성 간손상자, 이중맹검법 - AST40~120, ALT45~135, 감마-GTP60~180 IU/L 대상
	2협동	- 1차년도에 선정된 인삼종자오일 제제를 대상으로 비알코올성지방간 동물모델에서 약효 및 기전 규명	○ SD rats에 Orotic acid 투여로 유발된 비알코올성지방간 동물모델을 이용하여 1차년도에 선정된 제제의 약효를 평가하고 (간조직에서 중성지방 축적을 Oil Red O, Hematoxylin staining으로 검증) 작용 기전을 분자수준에서 규명함
3차년도 (2016)	1세부	- 인삼종자오일의 제조 공정 최적화 - 불포화지방산 및 prosapogenin 성분 고농도 함유 인삼종자오일 개발 - 안전성 시험 - 건강기능식품 원료 개별인정 신청	○ 인삼종자오일의 제조공정 표준화 ○ Ultrasonication 과 열 처리 조건에 따른 성분 분석을 통한 최적 불포화지방산 및 prosapogenin 성분 고농도 함유 인삼종자오일 개발 ○ 독성시험(반복독성, GLP 독성연구기관 (주) 바이오독스텍 시험의뢰) ○ 건강기능식품 원료 개별인정 신청
	위탁	- 인삼종자오일의 성분 표준화	○ 인삼종자오일의 성분 표준화
	1협동	- 인체시험 - 건강기능식품 원료 개별인정 서류 작성	○ 인체시험 - 인삼종자오일의 간기능보호 효능평가를 위한 ALT,AST 등의 검사항목 조사 - 안전성 평가를 위한 일반혈액 검사 ○ Data 입력과 통계분석

## 2. 국내외 기술개발 현황

### 1) 국내 기술 수준 및 시장 현황

#### ○ 인삼제품 기술현황

인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 식의약으로 오래전부터 사용하여온 생약으로 인삼사포닌, 단백질, 다당체, 폴리사세칠렌, 페놀성 물질 등을 함유한다. 특히, 인삼사포닌은 주요한 생리활성물질로서 ginsenoside라고 불리우고, 다양한 약리작용이 보고되었다<sup>1-4)</sup>. 또한, 인삼에는 ginsenoside Rb1, Rb2, Rd, Re, Rg1, Rg2 그리고 Rh1<sup>5)</sup>을 함유하고, 항당뇨작용<sup>2)</sup>, 항비만작용<sup>6)</sup>, 항노화작용<sup>7)</sup>, 항스트레스작용<sup>8)</sup>, 항알러지작용<sup>9)</sup>, 항암작용<sup>10)</sup> 등이 보고되었다.

#### ○ 인삼제품 생산현황

우리나라 2014년 인삼생산량은 20,978톤이며 소비형태를 보면, 수삼으로 7,487(35.7%)로 소비되었고 뿌리 삼으로 13,491톤이 가공되었으며, 이 중 홍삼 12,651톤, 백삼 742톤 그리고 태극삼 98톤으로 각각 가공되었다. 총 인삼생산량 중 8,362톤이 인삼제품으로 가공되었으며, 홍삼제품 6,287톤, 백삼제품 291톤으로 각각 가공되었다. 이 중 본삼류 검사실적은 총 772톤으로 홍삼이 443톤으로 전체의 약 57.3%를 차지하고 있으며, 백삼 237톤, 태극삼 79톤, 그리고 흑삼 13톤으로 각각 검사되었다.

한국인삼제품공업협회 자료에 따르면 2013년 인삼 제품류 총 생산량은 34,722M/T이고 총생산액은 200,598백만원이다. 이 중 백삼 제품류 총 생산량은 4,194M/T으로 전체 12.1%를 차지하고 있으며 총 생산액은 15,534백만원으로 전체 7.8%를 차지하고 홍삼 제품류에 비해 상대적으로 적은 점유율을 나타내고 있다. 2013년 홍삼 제품류 생산 총 생산량은 30,528M/T으로 전체 87.9%를 차지하고 있으며 총 생산액은 185,064백만원으로 전체 92.2%를 차지하고 있어 백삼 제품류에 비해 상대적으로 많은 점유율을 나타내고 있다. 이는 2000년대부터 홍삼의 소비가 꾸준히 증가한 결과이다.

우리나라 전체 인삼제품 생산량에 대한 통계 조사가 현실적으로 어렵다. 법으로 금지하고 있지만 본삼류의 미검사품이 유통되고 있고 인삼가공제품에 대해서는 1996년 인삼 전매제 폐지 이후 누구나 홍삼제품을 생산 할 수 있어 현실적으로 전체 생산량을 파악하기가 어렵다. 그러므로 인삼산업 구조와 시장동향 분석에 어려움이 많다.

### 2) 국외 제품생산 및 시장 현황

세계 인삼시장은 2조원, 생산량으로 중국(52,000톤, 67%), 한국(16,000톤, 20%), 캐나다(6,000톤, 7%), 미국(2,100톤, 3%)순이며 호주, 독일 등지에서도 재배하고 있다. 현재 중국, 캐나다 등을 중심으로 인삼 생산량이 급증하고 있는 추세이다.

중국은 연간 2만톤 정도를 생산하여 세계 시장의 67%를 점유하며, 길림성에서 80%를 생산하고 있으며, 흥룡강성, 요령성, 길림성이 주산지이다. 창바이산 인삼'이라는 브랜드로 세계 생산량의 70~80%를 차지한다. 동북 3성을 중심으로 산을 개간하여 재배되고 있으며, 지난해 산지개간 허가제한으로 평지밭 재배 비율도 증가추세다. 80년대 초 서양삼 재배에 성공하여 생산량이 증가추세이며, 중국삼보다 고가이고 선호도

가 높다. 홍콩, 대만, 일본, 미국, 프랑스, 독일 등 화교거주지를 중심으로 40여개국에 수출되고 있으며, 인삼보다 서양삼의 수출액이 많다.

미국은 1870년대 재배 시작되었다. 미국 중서부의 위스콘신 주는 1980년대에 세계 인삼재배 산업의 중심이 되고 있음. 최소한 1300개 이상의 재배농가를 보유하는 Wisconsin주는 미국삼의 최대 생산지이며 Marathon County는 미국삼 생산의 중심지로서 미국 내에서 생산되는 미국삼의 95%를 재배하고 있다. Oregon과 Washington주에서는 수출을 위한 상업적 생산이 수행되고 있다. 생산된 미국삼은 전량 국외로 수출되며 주요 수출지는 홍콩과 동남아 시장이고 미국내에서는 시장이 거의 전무하다.

캐나다는 세계 서양삼 생산의 60%를 차지할 정도로 많은 서양삼이 재배되고 있는 국가이다.해마다 생산량도 10% 이상 증가하면서 가격은 낮아지는 추세다. 주산지로는 온타리오와 브리티시 컬럼비아 지역이 전체 재배면적의 90%를 차지. 연간 생산량은 약 2,500톤 정도이고, 자체 소비량은 200~300톤으로 생산량의 대부분을 홍콩, 중국 등 아시아에 수출하고 있다.

일본은 소량의 인삼을 수출하고 있으나 연작 장애 및 고령화에 의한 국내 생산량 감소와 외국산의 수입 증가로 재배농가, 재배면적, 생산량이 매년 감소하고 있는 추세다. 인삼류 수입 규모는 연간 20억엔을 상회, 대부분 중국과 한국에서 수입되나 기타 홍콩, 북한, 캐나다, 미국 등지에서도 수입이 이뤄지고 있는 실정이다. 중국으로부터는 제약원료용 및 드링크제 제조를 위한 원료삼의 수입이 많고, 한국산은 인삼제품 위주의 수입이 가장 많다. 중국산 홍삼과 백삼의 점유율은 각각 98%, 95%로 대다수를 차지하나 인삼차는 한국산이 90%를, 의약품용은 거의 전량 한국에서 수입되어 전체의 99%를 점유하는 상황이다.

### 3. 연구수행 내용 및 결과

#### 1) 인삼종자오일의 제조 및 기능성 성분 분석

##### ○ 인삼씨 및 발아인삼씨의 지방산 성분 분석

#### 가. 연구필요성 및 목적

인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)의 뿌리는 주로 약으로 이용하며, 인삼의 주요한 생리활성물질은 인삼사포닌(ginsenosides), 폴리아세틸렌(polyacetylenes), 인삼 단백질(proteins), 다당체(polysaccharides), 페놀계 화합물(phenolic compounds)을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다.

인삼사포닌(ginsenoside)은 생화학 및 약리작용을 나타내는 인삼의 유효성분으로 주목 받아왔다. 그러므로 Shibata 등의 연구 시작으로 1960년대 후반부터 인삼에 대한 다양한 연구들이 이루어지고 있다. 그 화학구조가 Shibata 그룹의 연구에 의해 명확히 확인되었다. 또한 화학구조의 특성에 따라 protopanaxadiol(PD)계, protopanaxatriol(PT)계, oleanane계 사포닌으로 구분한다. 현재까지 각각 22종, 13종, 1종의 화합물의 화학구조가 규명되었다.

이러한 인삼사포닌(ginsenoside)의 약리 활성을 보면 항암작용을 비롯하여 항당뇨 작용, 중추신경 억제 작용, 동맥경화 및 고혈압의 예방, 간기능 촉진 및 숙취제거효과, 항피로 및 항스트레스 작용, 항산화작용, 항염활성, 단백질 합성 촉진 작용, 면역증강작용 등이 보고되었다.

한편, 인삼의 지방산에 대한 연구로는 전 등이 홍삼으로부터 myristic acid부터 nervonic acid까지 15종이 분리 확인 되었고 불포화지방산인 linoleic acid가 80%, 포화지방산인 palmitic acid가 10.5% 로 두 지방산이 유리지방산의 90.5%를 차지한다고 발표하였고, Zhang 등<sup>20)</sup>은 인삼속 삼류 생약(*Panax ginseng*, *Panax notoginseng*, *Panax quinquefolium*)으로부터 11종의 지방산(myristic acid, pentadecanoic acid, palmitic acid, palmitoleic acid, heptadecanoic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid,  $\alpha$ -linolenic acid, arachidic acid and eicosadienoic acid)을 GC-MS로 분석 보고하였다. 또한, 고 등은 한국인삼은 linoleic acid(42.62%), oleic acid(12.31%)를 함유한다고 보고하였고, Zhu 등은 한국, 중국, 미국산의 인삼씨유의 지방산 분석을 통하여 oleic acid가 미국삼(87.5%), 한국삼(69.14%), 중국삼(61.19%) 함유한다고 보고하였다.

그러나, 인삼 지하부와 인삼씨유에 대한 인삼사포닌 및 지방산 연구는 다수 이루어졌으나, 인삼씨 및 발아인삼씨에 포함된 지방산에 대한 연구는 아직 체계적으로 이루어지지 않고 있다. 이러한 점을 착안하여, 본 연구에서는 국내산 인삼씨 및 발아인삼씨의 지방산에 관한 성분 분석 연구를 수행함으로써 우리 인삼씨의 성분 정체성의 일부를 확인하고자 한다.

#### 나. 실험재료 및 방법

##### (1) 실험재료

본 연구에 사용한 고려 인삼(*Panax ginseng*)종자는 한국 충북 음성에서 재배(재배자, 남성엽) 5년생 인삼의 종자를 2011년 7월 14일에 채집하였고, 각각의 제품표본은 세명대학교 한방식품연구실에 보관하고 있다.

##### (2) 인삼씨의 발아

인삼종자를 증류수에 적신 탈지면을 넣은 샘플병에 넣고, 4°C의 냉장고안에서 2주간 발아 시켰다.

### (3) 인삼씨 헥산 엑스의 조제

각 인삼종자(인삼종자, 발아인삼종자)를 세말하였다. 시료 각각 100g 씩에 hexane을 10배량 넣고, 소니케이터에서 2시간씩 2회씩 추출하여 여과 후 여액을 합하여 감압 농축하여 헥산(hexane) 엑스를 얻었다.

### (4) GC 분석

인삼종자 및 발아인삼종자 헥산 엑스의 지방산 분석은 식품공전법에 따라서 GC법으로 분석하였다. 지방산 표준품은 Supelco™ 37 Component FAME Mix, 100mg Neat(Catalog No. 18919-1MP)의 37종 100mg을 Isooctane 4ml 녹여서 사용하였다. GC는 Agilent 7890A를 사용하였고, 컬럼은 SP-2560(100m × 0.25mm × 0.2um, Supelco)를 사용하였다. 이동상은 N<sub>2</sub>을 사용하였으며, 이동속도는 0.75mL/min이었다. Injector 온도는 225°C, 오븐의 온도는 100°C(4min)에서 240°C로 1분에 3°C씩 유지하였다. 전개 크로마토그램 프로파일은 FID로 285°C에서 검출하였다.

### (5) 결과 및 고찰

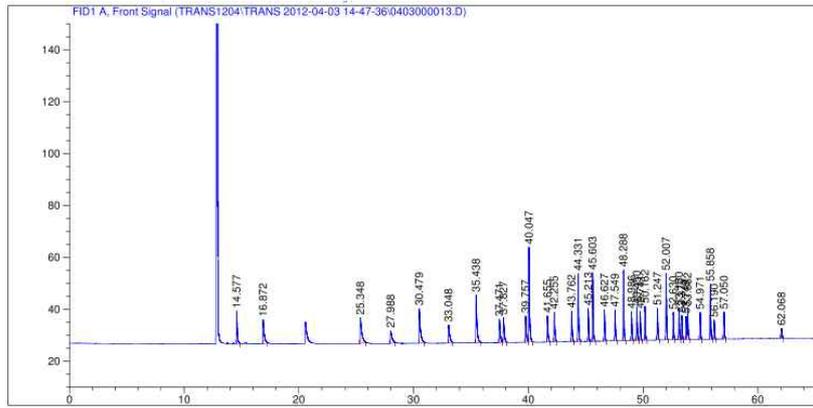
본 연구에서는 현재 우리나라에서 재배되고 있는 고려 인삼종자 및 발아인삼종자를 대상으로 개별 지방산의 함량 분포를 조사 . 비교함으로써 지방산 함유패턴을 중심으로 하는 차이점을 검토하여 인삼씨 성분에 대한 기초정보를 제공하고자 한다.

분석한 지방산은 palmitic acid, palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid 이었으며 이들은 Figure와 같이 GC를 통하여 표품과 직접 비교 . 확인하였다. 각 지방산의 총합인 총지방산 함량에 있어서는 Table I에서 보는 바와 같이 발아인삼종자가 13.0mg으로 인삼씨(11.0mg)보다 높은 함량을 나타냈다.

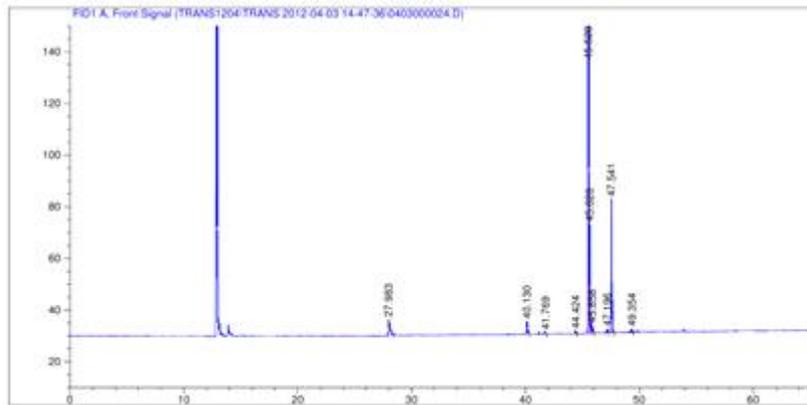
인삼종자의 지방산 함량은 Oleic acid가 69.9%(7.7mg), Linoleic acid가 26.7%(2.9mg), Palmitic acid 3.0%(0.3mg), palmitoleic acid 0.4%(0.0mg) 이었으며, 발아인삼종자에서는 Oleic acid가 63.5%(8.2mg), Linoleic acid가 30.0%(3.9mg), Palmitic acid 4.6%(0.6mg), palmitoleic acid 0.4%(0.0mg) 이었다. 이와 같은 결과로부터 인삼종자의 주요한 지방산 성분은 Oleic acid와 Linoleic acid임을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 Zhu 등의 인삼씨유의 지방산 함량 보고와 같은 경향을 나타내었다.

한편, 홍삼에는 linoleic acid가 80%, 포화지방산인 palmitic acid가 10.5%로 두지방산이 90.5%를 차지한다고 보고<sup>19)</sup> 되었으나, 반면에 본 연구를 통한 인삼종자의 지방산 성분은 Oleic acid가 69.9%, Linoleic acid가 26.7%로서 두지방산이 96.6%를 함유함으로써 불포화 지방산이 주요한 지방산 성분임을 확인할 수 있었다. 또한, 홍삼은 linoleic acid가 주지방산이고, 인삼종자는 Oleic acid가 주지방산임을 확인할 수 있었다.

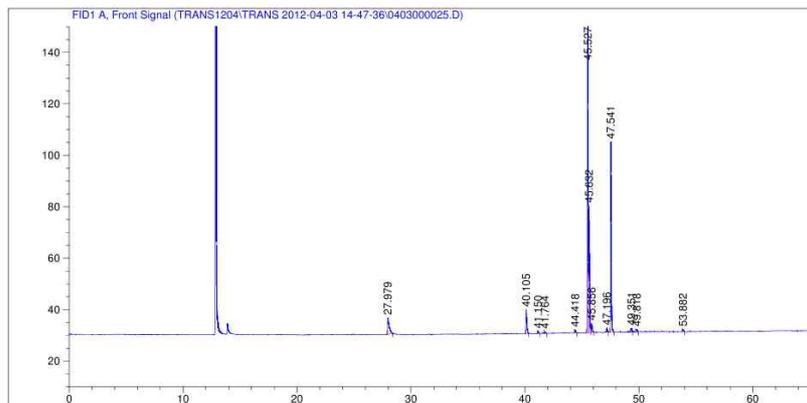
인삼종자의 주지방산인 oleic acid와 linoleic acid는 콜레스테롤 저하작용이 알려져 있다. 따라서, 인삼종자와 발아인삼종자는 콜레스테롤 저하작용 등 기능성 신소재의 가능성을 보여주었다. 이와 같은 결과는 인삼씨와 발아인삼종자가 인삼과는 또 다른 기능성 신소재로서의 규격 설정에 있어서 기초자료가 되리라 사료된다.



(mixed standards)



(GS)



(GGS)

Typical GC chromatogram of fatty acids detected from the ginseng seed(GS), germinated ginseng seed(GGS) and mixed standards determined by GC.

Composition of fatty acids in the ginseng seed(GS) and germinated ginseng seed(GGS)

(% ,w/w)

fatty acids	ginseng seed			
	GS		GGS	
	W <sub>Fai</sub> (mg)	W <sub>Fai</sub> (%)	W <sub>Fai</sub> (mg)	W <sub>Fai</sub> (%)
palmitic acid (C16:0)	0.3	3.0	0.6	4.6
palmitoleic acid (C16:1)	0.0	0.4	0.0	0.4
oleic acid (C18:1n-9,Cis)	7.7	69.9	8.2	63.5
linoleic acid (C18:2n-6,Cis)	2.9	26.7	3.9	30.0
total	11.0	100.0	13.0	100.0

\* GS : ginseng seed, GGS : germinated ginseng seed

## ○ 인삼 종자 오일 인삼사포닌 성분 분석(HPLC)

### 가. 재료 및 방법

#### (1) 실험재료

본 연구에 사용한 고려 인삼(*Panax ginseng*)종자는 한국 충북 음성에서 재배된 5년생 인삼의 종자를 2011년 7월 14일에 채집하였고, 각각의 제품표본은 세명대학교 한방식품연구실에 보관하고 있다.

#### (2) 인삼 종자 오일 추출

##### ① 압출법에 의한 거피 인삼종자 오일 추출

- 인삼종자 60 kg을 거피하여 7.35 kg 의 거피 인삼종자를 얻었다. 얻은 거피 인삼종자를 로스팅 없이 압출하여 1.65 kg (약 2 ℓ)을 얻었다.

##### ② 압출법에 의한 인삼종자 오일 추출

- 거피하지 않은 인삼종자 60 kg을 10분 동안 로스팅하고 압출하여 1.64 kg (약 2 ℓ)을 얻었다.

##### ③ 조 사포닌(crude saponin) 조제

- 인삼종자오일 각 10 g에 디에틸에테르(diethylether) 50 mL를 가하여 현탁하고, 1시간씩 3회 진탕한 후, 원심분리 하여 상등액을 제거한다. 얻은 잔사에 수포화 부탄올(butanol) 50 mL를 가하여 2시간씩 3회 진탕하고, 원심분리 하여 상등 액을 취하여 여과하고, 감압 농축을 하여 조 사포닌을 얻는다.

##### ④ HPLC-ginsenoside의 분석

- 위에서 얻은 엑스를 고 등의 조건을 응용하여 HPLC를 실시하고, 상법에 따라 표품과 직접 비교하여 인삼사포닌의 함량 및 조성을 각 시료당 3회 반복 실험하여 결과의 재현성을 확인하여 분석하였다. 표품은 Chromadex(USA)와 엠보연구소(Korea)로부터 구입한 순도 99% 이상의 ginsenoside를 사용하였다.

사용한 HPLC 장치는 Waters 1525 binary HPLC system(Waters, Milford, MA, USA)이며, 컬럼은 Eurospher 100-5 C18(3x250 mm; Knauer, Germany)을 사용하였다. 이동상은 acetonitrile(HPLC grade; Sigma-Aldrich Chem Co., USA)과 증류수(HPLC급, B&J, USA)이며, acetonitrile의 비율을 17%(0 min)에서 25%(25 min), 40%(50 min), 60%(105 min) 그리고 100%(110 min)로 순차적으로 늘려주고 마지막으로 다시 17%로 조절하였다. 전개온도는 실온, 유속은 분당 0.8 ml, 크로마토그램은 uv/vis Waters 2487 Dual  $\lambda$  Absorbance Detector(Waters, U.S.A.) 검출기를 이용하여 203 nm에서 검출하였다.

## 나. 결과 및 고찰

인삼종자오일의 인삼사포닌 함량 비교 분석을 실시한 결과, 조 사포닌의 양에 있어서는 거피 인삼종자오일이 0.309%로 높은 함량을 나타내었으며, 10분 로스팅 인삼종자오일이 0.27%를 나타내므로써, 거피 인삼종자오일의 조 사포닌 함량이 높게 확인되었다. 각 ginsenoside의 총합인 총 사포닌 (total saponin) 함량에 있어서는 거피 인삼종자오일이 0.008%이었으며 10분 로스팅 인삼종자오일은 0.001%로 거피 인삼종자오일의 총 사포닌이 높은 함량을 보여주었다.

항알러지 및 항암작용이 보고된 ginsenoside Rh1의 함량에 있어서는 거피 인삼종자오일이 1.667%로 높은 함량을 나타내었고, 10분 로스팅 인삼종자오일은 함유되어 있지 않았다. 특히, 인삼종자의 주성분으로 알려진 ginsenoside Re의 함량에 있어서도 거피 인삼종자오일이 0.403%로 높은 함량을 나타내었고, 10분 로스팅 인삼종자오일은 0.085%의 낮은 함량을 나타내었다.

또한, ginsenoside Rc의 함량에 있어서도 거피 인삼종자오일이 0.308%로 높은 함량을 나타내었고, 10분 로스팅 인삼종자오일은 0.027%의 낮은 함량을 나타내었다.

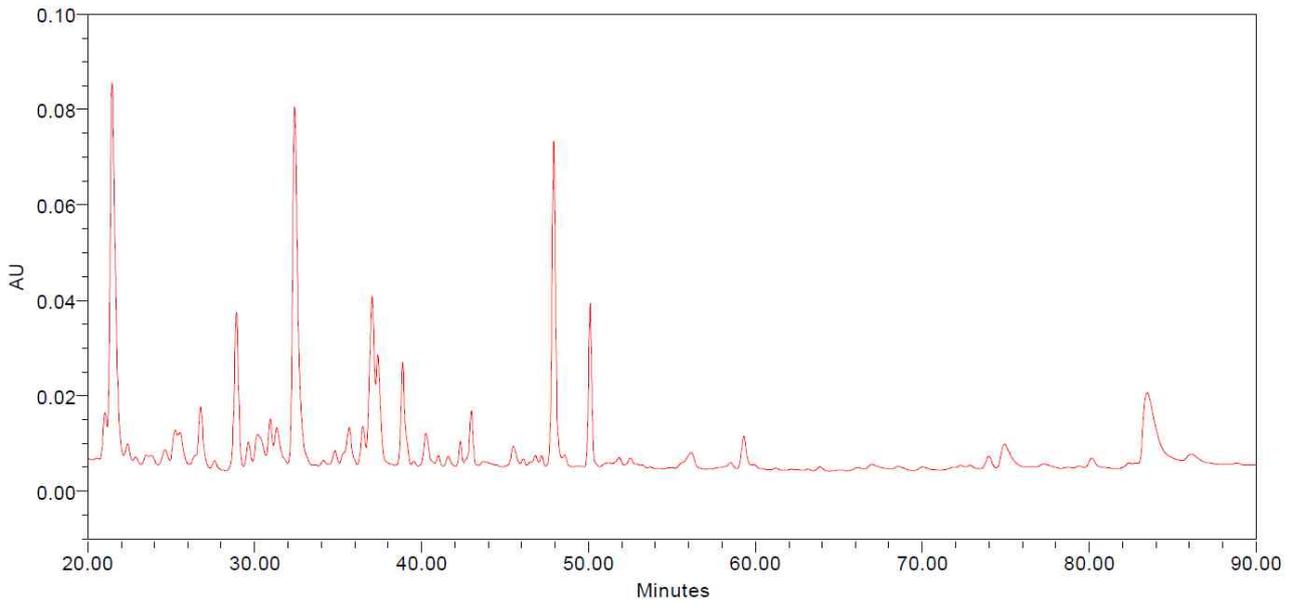
한편, protopanaxadiol group(PD) 사포닌과 protopanaxatriol group(PT) 사포닌의 비율에 있어서 10분 로스팅 인삼종자오일은 PD/PT 비율이 2.407 이었고, 거피 인삼종자오일은 0.204를 나타내어 상이한 비율을 나타내었다.

따라서, 인삼사포닌 고농도 함유 인삼종자오일은 거피하여 로스팅 없이 압출하여 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다. 특히, 열에 의해서 산생되는 홍삼 특유 활성 사포닌인 ginsenoside Rh1을 고농도로 함유함으로써, 향후, 인삼종자오일의 기능성 연구에 기대가 모아지고 있다.

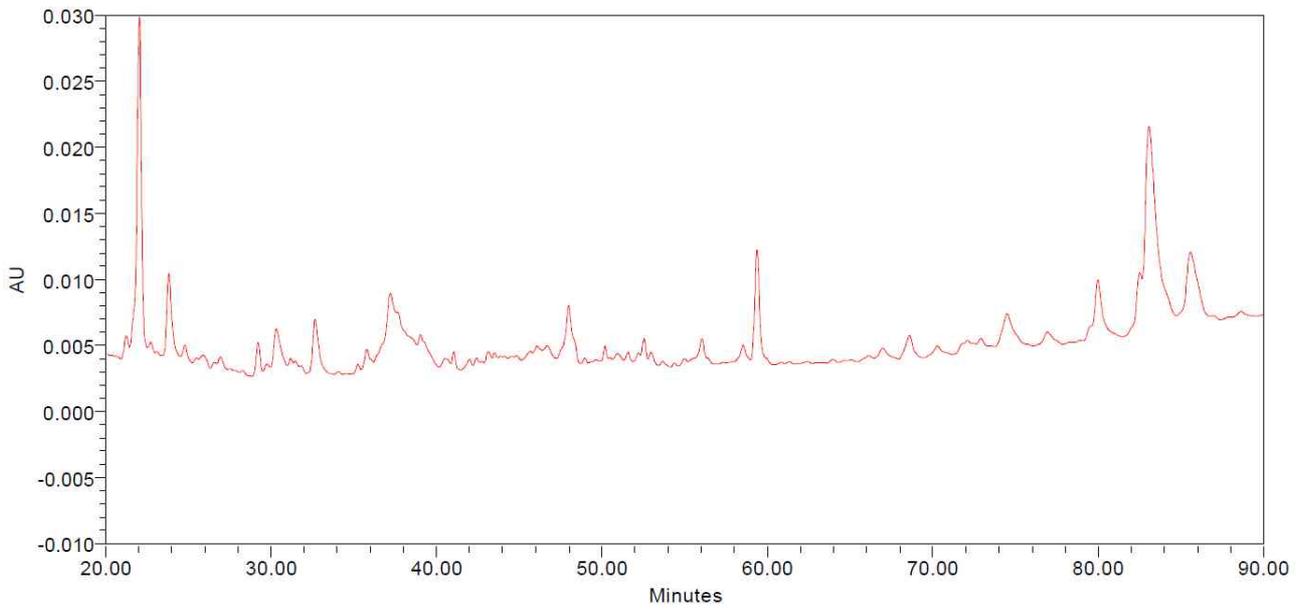
Ginsenoside contents in ginseng seed oil

Ginsenosides	(%w/w)	
	거피 인삼종자오일	10분 로스팅 인삼종자오일
Rb1	-	-
Rb2	0.108±0.033	0.040±0.004
Rc	0.308±0.017	0.027±0.007
Rd	0.037±0.018	-
Re	0.403±0.025	0.085±0.014
Rf	-	0.081±0.011
Rg1	-	-
Rg2	0.067±0.006	-
Rg3-20s	-	-
Rg3-20r	-	-
Rg5-e	-	-
Rg5-z	-	0.079±0.002
Rg6	-	-
Rh1	1.667±0.050	-
Rh2	-	-
Rh4	0.004±0.000	-
Rk1	-	0.019±0.001
Rk3	0.077	0.017
F1	-	-
F4	-	-
compound K	-	-
Total ginsenosides <sup>a</sup>	0.008	0.001
Crude saponin	0.309	0.270
Diol/Triol <sup>b)</sup>	0.204	2.407

(거피 인삼종자오일의 HPLC 시그널)



(10분 로스팅 인삼종자오일의 HPLC 시그널)



HPLC profiles of ginsenosides detected from the ginseng seed oil

## 2) 인삼종자오일로부터 기능성 성분 대량 분리 및 동정

○ 인삼 종자 오일 추출 조건 별(압출법, 초임계법, 용매추출) 성분 분석(GC)

### 가. 실험재료

본 연구에 사용한 고려 인삼(*Panax ginseng*)씨는 한국 충북 음성에서 재배된 5년생 인삼의 씨를 2011년 7월 14일에 채집하였고, 각각의 제품표본은 세명대학교 한방식품연구실에 보관하고 있다.



인삼씨

### 나. GC 법에 의한 인삼 종자 오일 추출 조건 별(압출법, 초임계법, 용매추출) 지방산 분석

#### (1) 압출법에 의한 인삼 종자 오일 지방산 성분 분석

##### ① 인삼 종자 오일 추출

- 압출법에 의한 인삼 종자 오일 추출

인삼 씨 60 kg을 거피하여 7.35 kg 의 거피 인삼씨를 얻었다. 얻은 거피 인삼씨를 압출하여 1.65 kg (약 2 ℓ)을 얻었다.

- 헥산에 의한 인삼 종자 오일 추출

인삼 씨를 세말하여, 100 g에 hexane을 10배량 넣고, 소니케이터에서 2시간씩 2회씩 추출하여 여과 후 여액을 합하여 감압 농축하여 hexane 엑스를 얻었다.



인삼종자의 헥산 분획

- 초임계에 의한 인삼 종자 오일 추출  
거피 인삼 씨 133 g을 초임계 추출하여 42.6 g을 얻었다.



초임계 추출 장치



초임계 추출 종자 오일

## (2) GC 분석

인삼 종자 오일의 지방산 분석은 식품공전법에 따라서 GC법으로 분석하였다. 지방산 표준품은 Supelco™ 37 Component FAME Mix, 100mg Neat(Catalog No. 18919-1MP)를 사용하였다. GC는 Agilent 7890A를 사용하였고, 컬럼은 SPTM-2560, 100m×0.25mm ID, 0.20µm film를 사용하였다. 이동상은 헬륨을 사용하였으며, 이동속도는 20 cm/sec이었다. 오븐의 온도는 140°C(5분)에서 240°C로 1분에 4°C씩 유지하였다. 전개 크로마토그램 프로파일은 FID detector로 285°C에서 검출하였다.

## (3) 결과 및 고찰

본 연구에서는 현재 우리나라에서 재배되고 있는 고려 인삼종자를 대상으로 추출 방법에 따른 개별 지방산의 함량 분포를 조사 . 비교함으로써 지방산 함유패턴을 중심으로 하는 차이점을 검토하여 인삼씨 성분에 대한 기초정보를 제공하고자 한다.

분석한 지방산은 palmitic acid, palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid 이었으며 이들은 Fig. 1 과 같이 GC를 통하여 표준품과 직접 비교 . 확인하였다.

압출 인삼종자오일의 지방산 함량은 Oleic acid가 76.12%, Linoleic acid가 17.33%, Palmitic acid 2.01%, palmitoleic acid 0.25% 이었으며, 인삼종자오일 hexan 엑스의 지방산 함량은 Oleic acid가 69.9%(7.7mg), Linoleic acid가 26.7%(2.9mg), Palmitic acid 3.0%(0.3mg), palmitoleic acid 0.4%(0.0 mg) 이었고, 초임계추출 인삼종자오일의 지방산 함량은 Oleic acid가 (76.24%, 76.84%, 77.43%, 78.87%), Linoleic acid가 (18.12%, 18.71%, 17.99%, 16.80%), Palmitic acid (2.10%, 2.03%, 1.83%, 1.58%), palmitoleic acid (0.27%, 0.3%, 0.26%, 0.19%)을 나타내었다. 이와 같은 결과로부터 인삼종자오일의 주요한 지방산 성분은 Oleic acid와 Linoleic acid 임을 확인할 수 있었다.

한편, 홍삼에는 linoleic acid가 80%, 포화지방산인 palmitic acid가 10.5%로 두지방산이 90.5%를 차지한다고 보고 되었으나, 반면에 본 연구를 통한 인삼씨의 지방산 성분은 Oleic acid가 69.9%, Linoleic acid가 26.7%로서 두지방산이 96.6%를 함유함으로써 불포화 지방산이 주요한 지방산 성분임을 확인할 수 있었다. 또한, 홍삼은 linoleic acid가 주지방산이고, 인삼종자는 Oleic acid가 주지방산임을 확인할 수 있었다.

인삼종자의 주지방산인 oleic acid와 linoleic acid는 콜레스테롤 저하작용이 알려져 있다. 따라서, 인

삼종자는 콜레스테롤 저하작용 등 기능성 신소재의 가능성을 보여주었다. 이와 같은 결과는 인삼종자가 인삼과는 또 다른 기능성 신소재로서의 규격 설정에 있어서 기초자료가 되리라 사료된다.

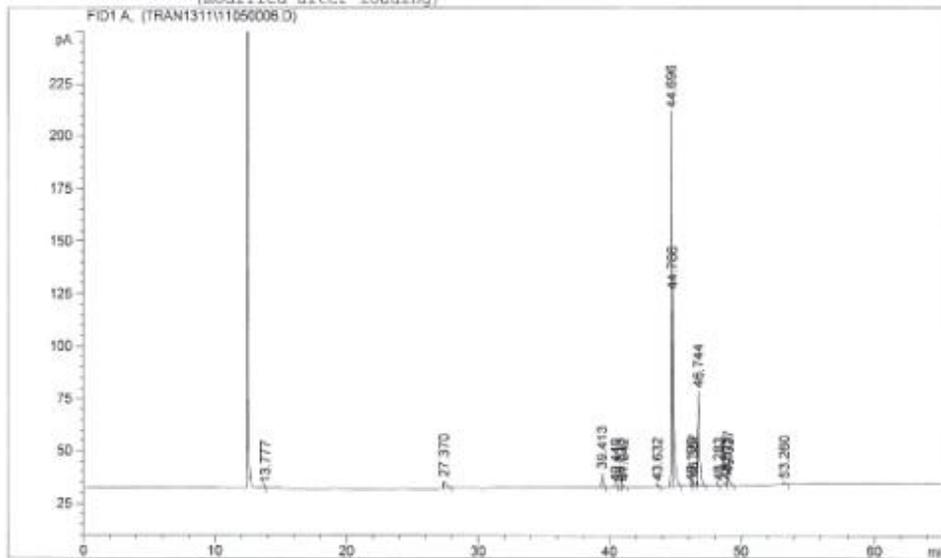
Composition of fatty acids in the ginseng seed oil by various extracting conditions

(%,w/w)

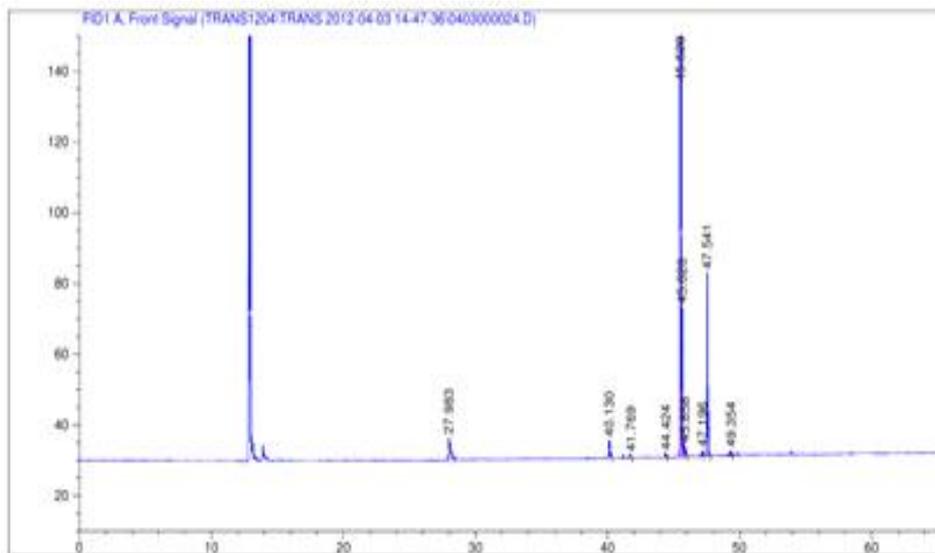
fatty acids	ginseng seed oil					
	pressing out	hexane	supercritical 1	supercritical 2	supercritical 3	supercritical 4
palmitic acid (C16:0)	2.01	3.0	2.10	2.03	1.83	1.58
palmitoleic acid (C16:1)	0.25	0.4	0.27	0.30	0.26	0.19
oleic acid (C18:1n-9,Cis)	76.12	69.9	76.24	76.84	77.43	78.87
linoleic acid (C18:2n-6,Cis)	17.33	26.7	18.12	18.71	17.99	16.80
total	95.71	100.0	96.73	97.88	97.51	97.44

GC chromatogram of fatty acids detected from the ginseng seed oil by various extracting conditions

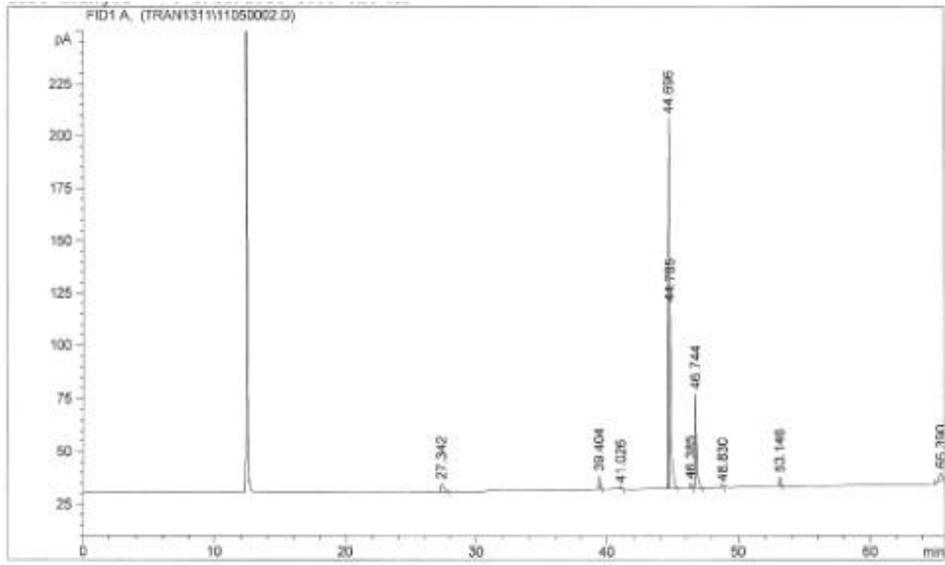
1) 압출 인삼 종자 오일



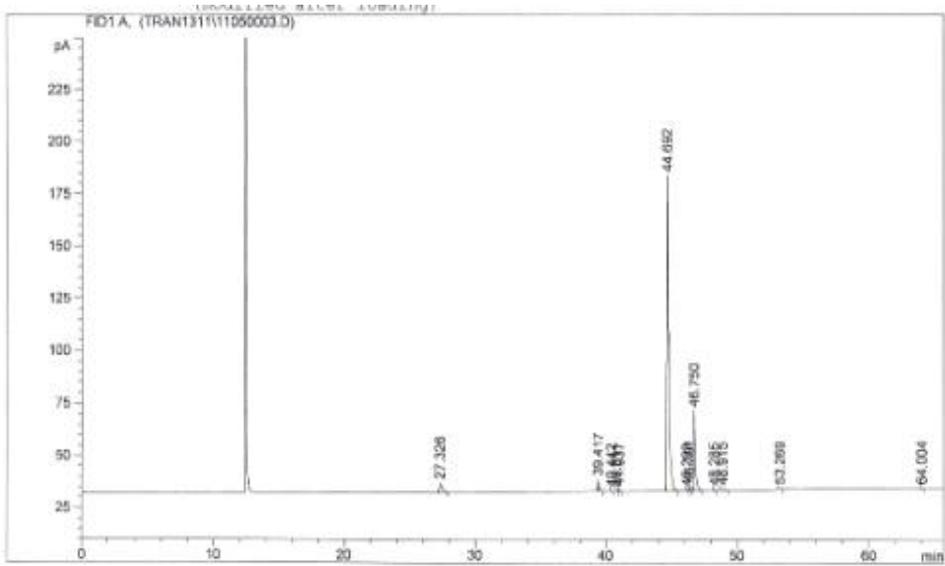
2) 헥산 추출 인삼 종자 오일



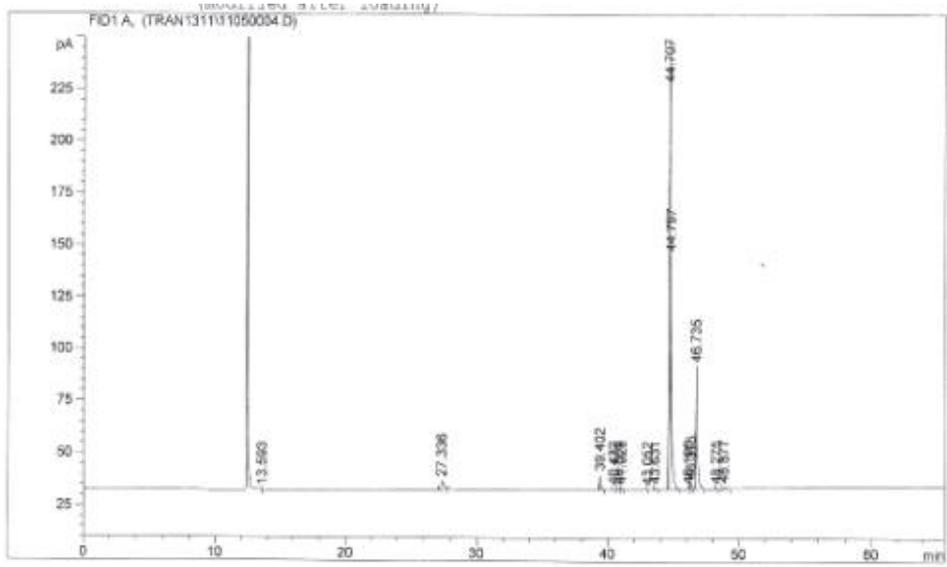
3) 초임계 추출(1) 인삼 종자 오일



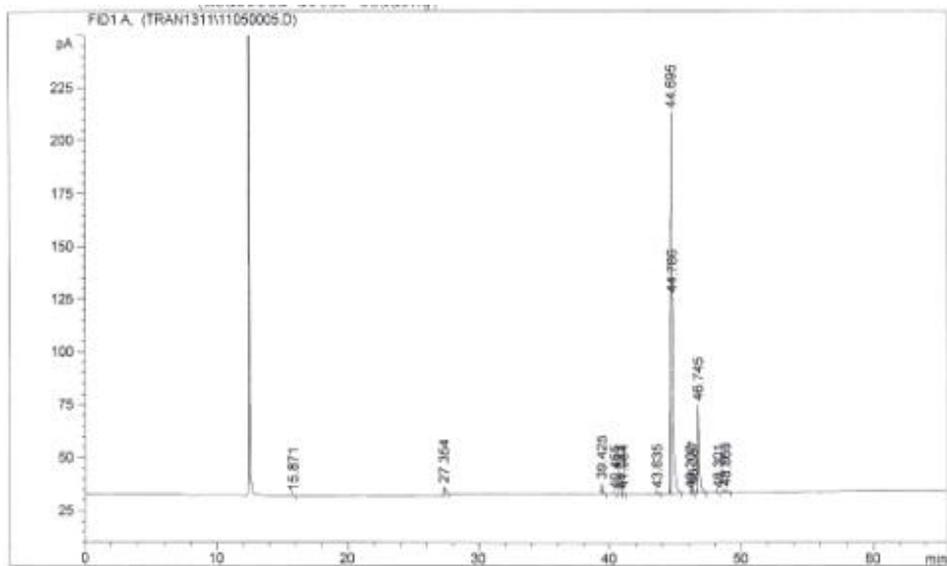
4) 초임계 추출(2) 인삼 종자 오일



5) 초임계 추출(3) 인삼 종자 오일



6) 초임계 추출(4) 인삼 종자 오일



○ 인삼종자오일로부터 기능성 성분 대량 분리 및 동정

가. prosapogenin 성분 대량 분리 동정

(1) 실험 재료 및 엑스의 조제

① 실험 재료

- 본 연구에 사용한 인삼종자(Ginseng flower buds, *Panax ginseng*)는 충청북도 음성에서 2014년 7월 10일에 4년근 인삼종자 10kg을 채집하였고, 각각의 제품표본은 고연 연구실에 보관하고 있다.



ginseng seed



ginseng seed oil (EE)

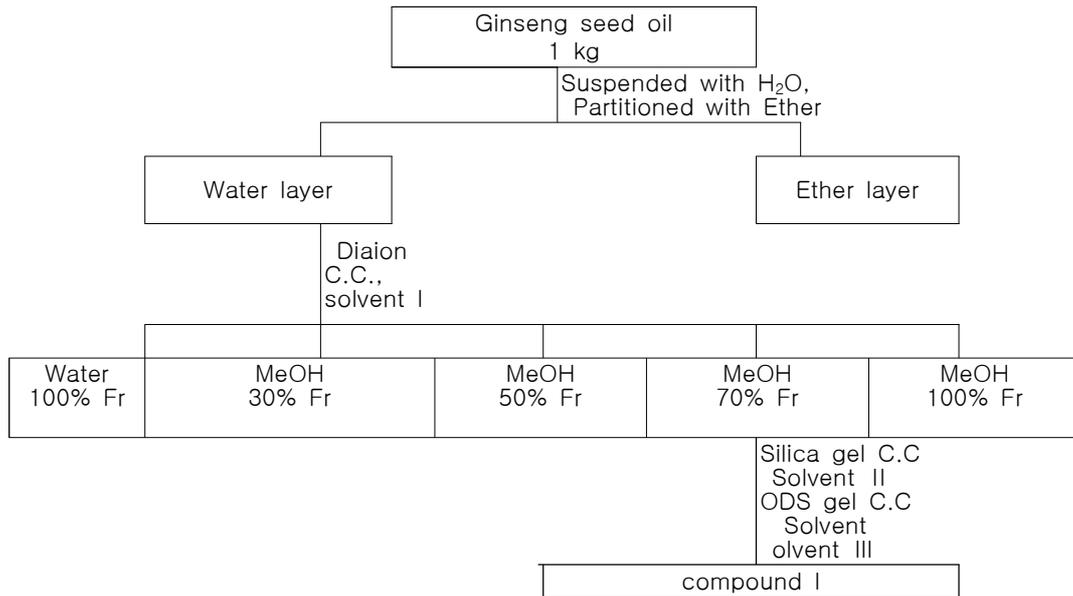
② 인삼 종자 오일 조제

- 인삼 씨 60 kg을 거피하여 7.35 kg 의 거피 인삼씨를 얻었다. 얻은 거피 인삼씨를 압출하여 1.65 kg (약 2 ℓ)을 얻었다.

③ 인삼 종자 오일로부터 주 사포닌의 분리

- 인삼 종자 오일로부터 사포닌 분획의 추출  
인삼 종자 오일 1 kg을 증류수에 현탁하여 분획 깔때기에 넣고 Diethyl Ether넣어 shaking 하여 진탕하고 방치한 후 Ether를 제거한다. 이 방법을 10회 처리하여 Diethyl Ether 분획(1.5 kg), 물 분획(23.5 kg)을 얻었다.
- 인삼 종자 오일로부터 사포닌 분획과 인삼사포닌의 분리  
위의 수가용성 분획을 증류수에 현탁하여 Diaion column에 흡착시킨 후 30% methanol 분획, 50% methanol 분획, 70% methanol 분획, 100% methanol 분획을 하였고, 50% methanol 분

획 10g을 silica gel column에 [CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O = 70:30:4 v/v]로 로딩하여 F1 - F4를 얻었다. 위에서 얻은 70% 분획을 Silica gel column에 전개 용매 CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O = 70:30:4 으로 전개하고, ODS gel column에 전개 용매 70% methanol로 전개하여 Compound I 을 얻었다.



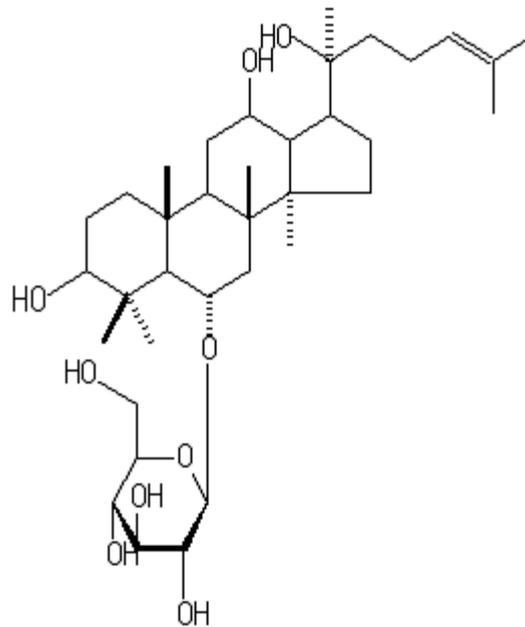
#### Extraction and Isolation ginsenosides from ginseng seed oil

- \*Solvent I : 30% MeOH, 50% MeOH, 70% MeOH, 100% MeOH 순차적으로 치환
- \*Solvent II : CHCl<sub>3</sub> : MeOH : H<sub>2</sub>O = 7:3:1 v/v
- \*Solvent III : 70% MeOH, 100% MeOH 순차적으로 치환

## (2) Compound I 의 화학구조 동정

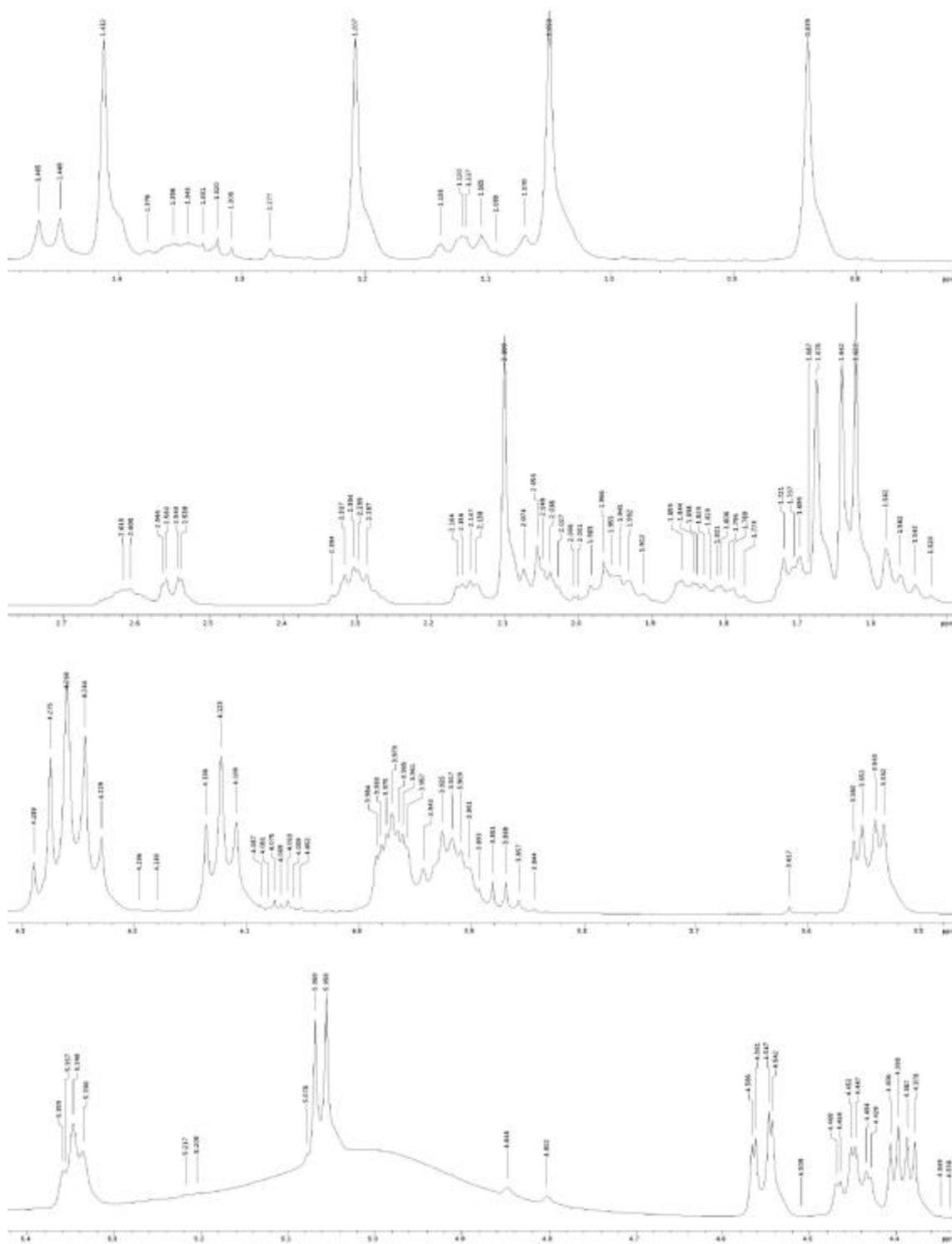
Compound I 의 TLC Rf값은 0.6 (CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O = 70 : 30 : 4/kieselgel 60 F254 Merk)이고, UV 램프(254, 365 nm)하에서 아무 반점을 확인할 수 없었으나, 묶은 황산으로 가열하여 적자색으로 발색됨으로서 인삼사포닌으로 추정할 수 있었으며, <sup>1</sup>H-NMR spectrum에서는 δ 0.839ppm으로부터 δ 2.10ppm까지 8개의 methyl singnal이 나타나고 있으며, δ 3.546ppm에서의 doublet은 H-3의 proton임을 알 수 있었다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서는 C-24와 C-25가 126.355ppm과 130.796ppm의 저자장에서 확인되었으며, 당으로부터 기인하는C-1'가 106.091ppm에서 확인되었다. 이러한 결과들은 인삼(*Panax ginseng*)으로부터 추출 분리되었던 (20S)-ginsenoside Rh1의 문헌 data와 일치하였다. 따라서, Compound I 을 (20S)-ginsenoside Rh1으로 동정하였다.

Chemical structures of compound I

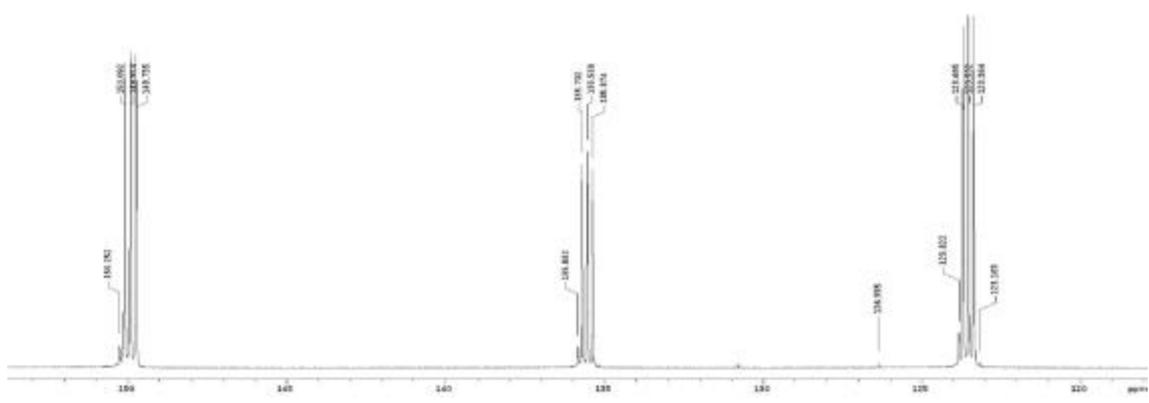
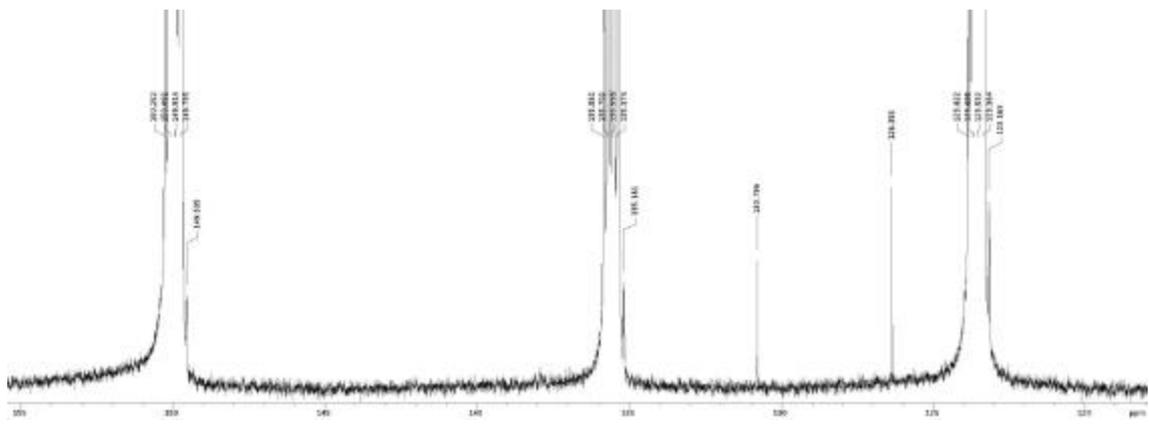
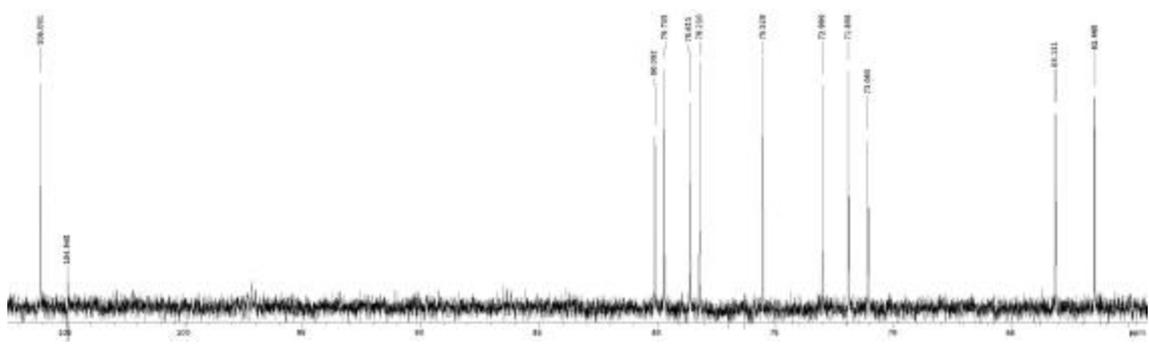
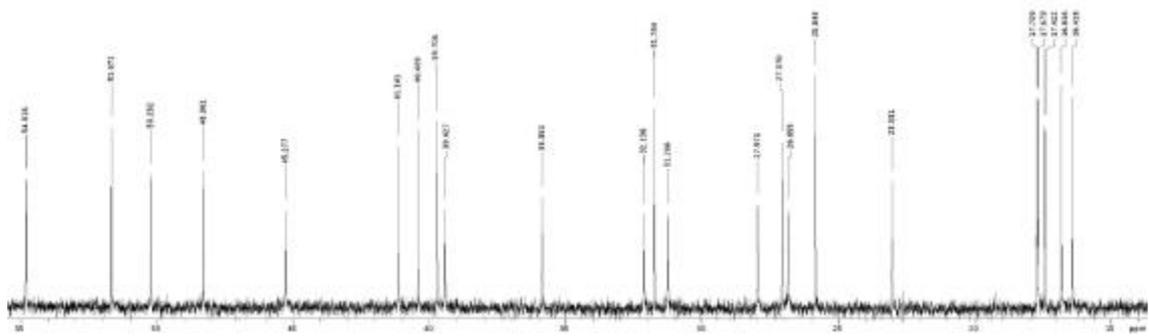


compound I : ginsenoside-Rh1

<sup>1</sup>H-NMR spectra of compound I (d<sub>5</sub>-Py)



$^{13}\text{C}$ -NMR spectra of compound I ( $\text{d}_5$ -Py)



Chemical shifts of compound I in  $^{13}\text{C}$ -NMR

Carbon No.	G-Rh1	Compound I
C-1	39.4	39.427
C-2	27.7	27.971
C-3	78.6	78.611
C-4	40.3	40.409
C-5	61.4	61.465
C-6	78.1	78.210
C-7	45.1	45.277
C-8	41	41.141
C-9	51	51.023
C-10	39.6	39.706
C-11	32.1	32.136
C-12	70.9	71.065
C-13	48.7	48.301
C-14	51.7	51.671
C-15	31.3	31.266
C-16	26.6	26.855
C-17	50.5	50.232
C-18	17.3	17.422
C-19	17.6	17.679
C-20	73	72.999
C-21	22.7	23.031
C-22	43.2	43.213
C-23	22.5	23.031
C-24	126	126.355
C-25	130.7	130.796
C-26	25.8	25.843
C-27	17.7	17.709
C-28	31.5	31.764
C-29	16.4	16.418
C-30	16.8	16.816
6-Glc 1	106	106.091
6-Glc 2	75.4	75.528
6-Glc 3	80	80.092
6-Glc 4	71.9	71.898
6-Glc 5	79.6	79.709
6-Glc 6	63.1	63.131

### 3) 기능성 강화 인삼종자오일 조성물 제조 및 안정성 시험

#### ○ 로스팅 및 압출법을 이용한 인삼종자오일의 제조



인삼열매 수확

#### 가. 압출법에 의한 인삼종자오일 조제

##### (1) 5분 로스팅 후 압출 제조

인삼종자 2kg을 5분 로스팅 후, 압출법으로 착유하여 178ml (158.907g)을 얻었다. 현 시가로 단가를 산정하면, 80,000원이 소요되었다.

##### (2) 10분 로스팅 후 압출 제조

인삼종자 2kg을 10분 로스팅 후, 압출법으로 착유하여 187ml (167.89g)을 얻었다. 60kg(1가마) 압출 처리시 인삼종자오일 1.8kg 수득이 가능하다.

(3) 인삼종자 60kg(1가마)을 거피하면, 거피인삼종자 7.3kg을 얻을 수 있고, 이를 10분 로스팅 후 압출하여 착유하면, 인삼종자오일 1.7kg을 얻을 수 있다. (단가 300만원 소요)



ginseng seed oil

## ○ 인삼종자오일의 당흡수저해능 및 안정성 시험

### 가. 인삼종자오일의 당흡수저해 시험

#### (1) 실험재료 및 방법

##### ① 실험재료

- 본 연구에 사용한 고려 인삼(*Panax ginseng*)씨는 한국 충북 음성에서 재배한 5년생 인삼의 씨를 2014년 7월 14일에 채집하였고, 각각의 제품표본은 세명대학교 한방식품연구실에 보관하고 있다. (Fig. 1. 참조)

##### ② 인삼종자오일 조제

- 삼 종자 60 kg을 거피하여 7.35 kg의 거피 인삼종자를 얻었고, 얻은 거피 인삼종자를 압출하여 1.65 kg(약 2 ℓ)을 얻었다. (Fig. 1. 참조)

##### ③ 당 흡수저해 시험

- **α-Glucosidase 저해활성 측정** - α-Glucosidase(0.35 U/ml)와 pNPG(1.5 mM p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside)는 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하며, 각각의 추출물 50 μl를 0.35 unit/ml α-glucosidase 효소액 100 μl와 혼합하여 37°C에서 10분간 전배양한 후 1.5 mM pNPG 50 μl를 가하여 37°C에서 20분간 반응시킨다. 1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 ml을 가하여 반응을 정지시킨 후 ELISA를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율(%)을 계산하였으며, positive control로 acarbose(sigma, USA)를 사용하였다.

- **α-Amylase 저해활성 측정** - α-amylase 저해활성은 추출물 125 μl에 12 unit/ml pancreatin 기원의 α-amylase 효소액 62.5 μl, 200 mM potassium phosphate buffer(pH 6.8) 62.5 μl와 혼합하여 37°C에서 10분간 전배양한 후 1% starch를 125 μl 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨다. 반응액에 48 mM DNS(3,5-dinitrosalicylic acid and 30% sodium potassium tartrate in 0.5 M NaOH) 발색시약 125 μl를 넣고 100°C에서 15분간 끓여 발색을 시킨 후 충분히 냉각시키고, 이 반응액에 3배량의 증류수를 가한 후 ELISA를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율을 계산하였다.

#### (2) 결과 및 고찰

본 연구에서는 인삼종자오일의 추출방법에 따른 지방산 성분에 미치는 영향과 α-glucosidase 및 α-amylase에 대한 생리활성 연구를 수행함으로써 우리 인삼종자오일의 항당뇨 생리활성의 일부를 확인하고자 하였다.

α-Glucosidase 활성시험에서는 50% 이상의 저해활성을 나타내는 10 및 20 mg/ml의 농도에서 활성을 측정하였으며, α-amylase 저해활성은 50%의 저해활성을 나타내는 1 및 2 mg/ml의 농도에서 활성평가를 실시하였다.

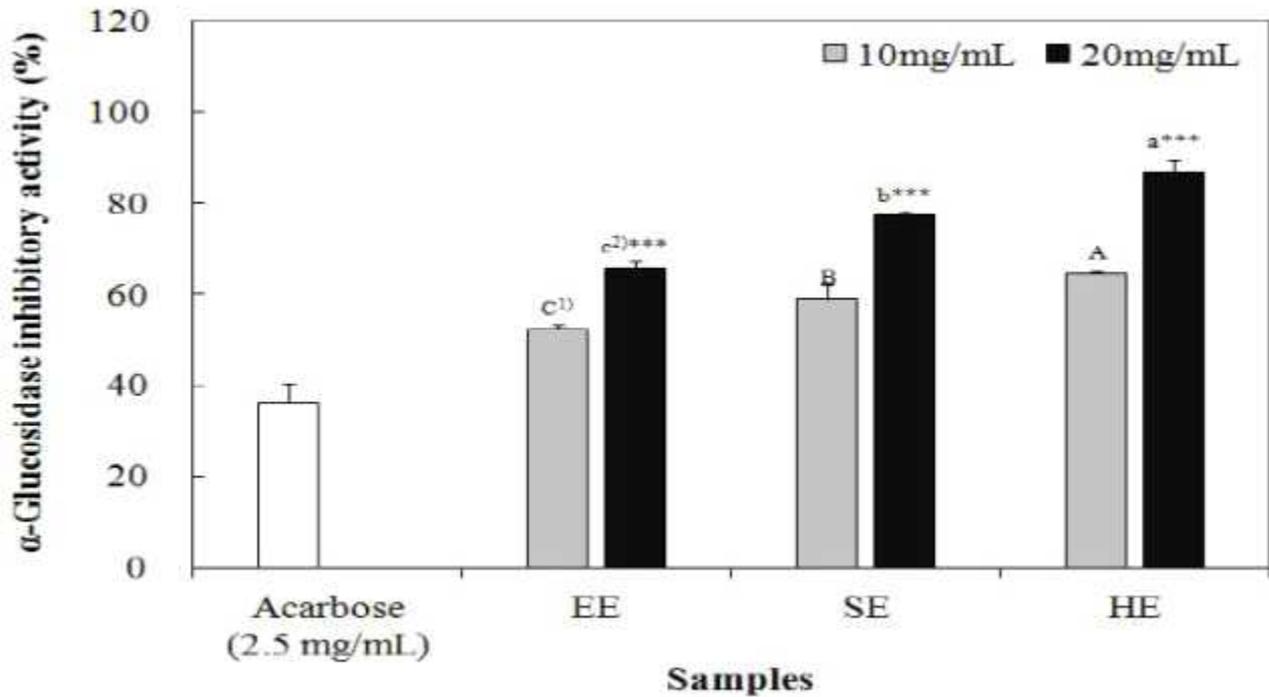
α-Glucosidase 활성시험에서는 Fig. 1에서 보는바와 같이 모든 시료가 유의적인 저해활성을 나타내었으며(p<0.001), 특히, HE는 10 mg/ml의 농도에서 64.39%의 가장 높은 저해활성을 나타내었으며, SE와 EE는 각각 58.82% 및 52.25%의 저해활성을 나타내었다. 20 mg/ml의 농도에서도 HE가 86.92%로

가장 우수한 저해활성을 나타내었으며, SE는 77.13%, EE는 65.83%의 저해활성을 나타내었다. 양성대조물로 사용한 acarbose의 저해활성은 2.5 mg/ml의 농도에서 36.21%이었다.

$\alpha$ -Amylase 활성시험에서는 Fig. 2에서 보는바와 같이 모든 시료가 유의적인 저해활성을 나타내었으며 ( $p < 0.001$ ), 특히, HE는 1 mg/ml의 농도에서 65.39%의 가장 우수한 저해활성을 보여주었으며, SE가 57.25%, EE가 50.36%이었다. 2 mg/ml의 농도에서도 HE가 89.68%로 가장 우수한 활성을 보였으며, SE가 76.99%, EE가 65.70%이었다.

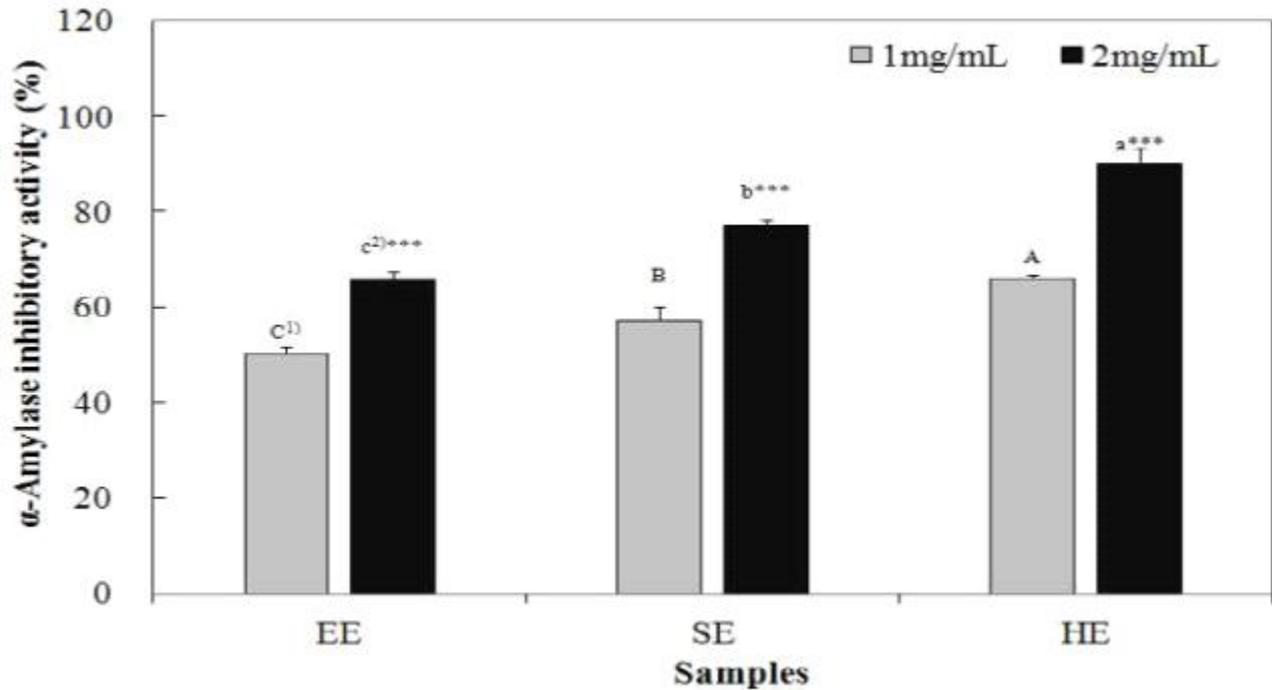
### (3) 결론

$\alpha$ -glucosidase 활성시험에서는 10과 20 mg/ml의 농도에서 저해활성을 나타내었으며, HE는 20 mg/ml의 농도에서 가장 높은 저해활성(86.92%)을 나타내었다.  $\alpha$ -amylase 활성시험 결과, 1과 2 mg/ml의 농도에서 저해활성을 나타내었고, HE는 2 mg/ml의 농도에서 89.68%의 가장 우수한 저해활성을 보여주었다. 이와 같은 결과는 인삼종자오일이  $\alpha$ -glucosidase와  $\alpha$ -amylase 저해활성을 나타내므로 씨, 장에서 당(sugar)의 흡수를 저해하고, 식후 혈당의 상승을 억제할 것으로 사료되며, 향후, 당흡수 저해 항당뇨 건강기능식품의 개발이 기대된다.



\* EE : extruded ginseng seed oil, SE ; supercritical extracted ginseng seed oil, HE : hexene extracted ginseng seed oil, 1) Different alphabets depending on the concentration of the same sample that is significantly different ( $p < 0.05$ ), 2) Different alphabets between different samples of the same concentration that is significantly different ( $p < 0.05$ ), There is a significant difference between the concentration of the same sample. (\*\*\*:  $p < 0.001$ )

Inhibition effect of ginseng seed oil (EE, SE, HE) on  $\alpha$ -glucosidase activity.



\* EE : extruded ginseng seed oil, SE ; supercritical extracted ginseng seed oil, HE : hexene extracted ginseng seed oil, 1) Different alphabets depending on the concentration of the same sample that is significantly different ( $p < 0.05$ ), 2) Different alphabets between different samples of the same concentration that is significantly different ( $p < 0.05$ ), There is a significant difference between the concentration of the same sample. (\*\*\*:  $p < 0.001$ )

Inhibition effect of ginseng seed oil (EE, SE, HE) on  $\alpha$ -amylase activity.

## 나. 인삼종자오일의 안정성시험(원료 및 제제의 안정성 분석 및 확립)

### (1) 저장조건에 따른 안정성 분석

저장 온도와 기간에 따른 인삼종자오일의 상태변화를 알아보기 위한 실험으로 온도조건(-20, 10, 25, 60°C)에서 7개월간 보관하면서 15일 간격으로 수분, 점도, 변색 및 변취, Ginsenoside 함량 분석을 실시하였다.



분석용 샘플 (각각 10 mL씩 분주함)

#### ① 수분함량 변화 측정

- 원료 및 제제화 할 인삼종자오일의 보관에 따른 수분손실량을 측정하기 위하여 수분함량은 수분측정기(ML-50, A&D company Ltd., Japan)로 측정하였다.

#### ② 점도 변화 측정

- 점도 측정은 Brookfield viscometer (Brookfield LV, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA, USA)를 사용하여 측정하였다. T-bar spindle을 사용하였으며 No. 64를 택하여 6 rpm에서 30초간 측정하였다. 기포의 영향을 줄이기 위하여 제조시 탈포하였다. 모든 샘플은 상온으로 온도를 상승 혹은 하강하여 측정하였고, 3회 반복하여 결과 값을 얻었다.

#### ③ 변색 및 변취 관찰

- 인삼종자오일을 각 온도 구간별로 보관하면서 측정 전 상온으로 온도를 보정하여 변색여부 및 이취 등을 육안으로 관찰하였다.

#### ④ Ginsenoside Rg1, Rb1 함량변화 분석

- 각 온도구간에서 보관하는 동안 Major saponin인 Ginsenoside Rg1과 Rb1의 함량을 측정하여 분석하였다. 분석법은 현행 식품의약품안전청 건강기능식품 기준 및 규격 중 '진세노사이드 Rb1과 Rg1'의 분석방법을 응용하여 진행하였다.

#### \* 분석조건

- System : HPLC HP1100 series (Agilent, U.S.A)
- Column : GraceSmart RP 18 5u (250 \* 4.6 mm. 5um, U.S.A)
- Column Temp.: 40 °C

- Detector : UV 203 nm
- Flow rate : 1.2 mL/min
- Gradient condition

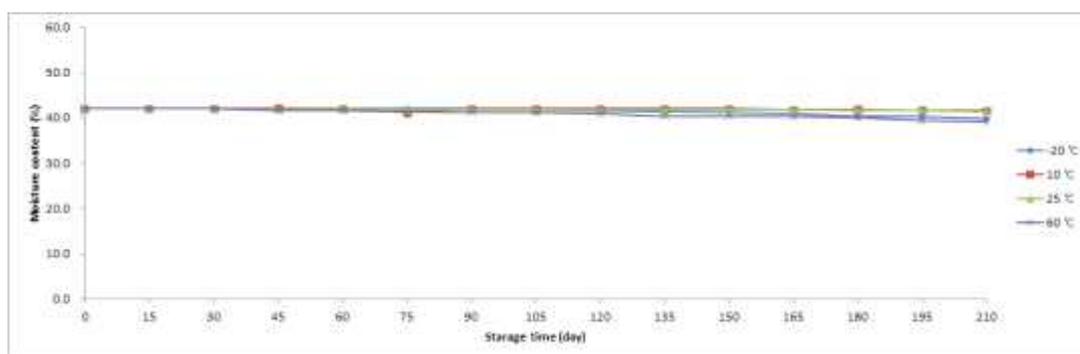
Time	Flow	A% (dH <sub>2</sub> O)	B% (ACN)
0	1.2	80	20
10	1.2	80	20
42	1.2	70	30
67	1.2	60	40
70	1.2	53	47
90	1.2	30	70
95	1.2	30	70
96	1.2	30	20
116	1.2	80	20

## (2) 저장조건에 따른 안정성 분석 결과 및 고찰

\* 실험결과 대부분에 구간 조건에서 유의적으로 큰 차이는 보이지 않았다.

### ① 수분함량 변화 측정

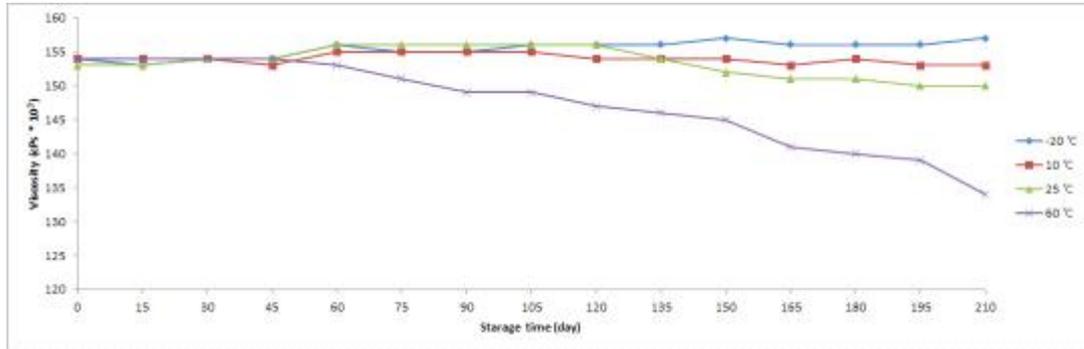
- 총 7개월간 수분함량의 변화를 측정한 결과 -20°C(냉동)에서 보관하는 동안 초기 42.0%의 수분함량이 7개월 후 39.8%로 변화하였다. 10°C(냉장)에서 보관하는 동안 초기 42.0%의 수분함량이 7개월 후 41.6%로 거의 변화하지 않았다. 25°C(상온)에서 보관하는 동안 초기 42.1%의 수분함량이 7개월 후 41.4%로, 10°C(냉장)에서 보관 할때와 마찬가지로 거의 변화하지 않았다. 60°C(가온조건)에서 보관하는 동안 초기 42.1%의 수분함량이 7개월 후 39.1%로 약 1%의 수분함량이 감소하였다. 종합해 보면 온도구간별 수분함량의 변화는 최고 1% 내외의 감소량을 보였으며 거의 변화가 없었다.



Moisture content change of ginseng seed oil according to storage time

### ② 점도 변화 측정

- 각 온도구간별로 초기 점도는 약 154,000 cPs로 시간이 지남에 따라 -20°C 보관에서는 154,000 cPs에서 157,000 cPs로 점도가 증가하였다. 10°C와 25°C 온도구간에서는 다소 감소하였으나 거의 같은 점도를 유지하였다. 하지만, 60°C 온도구간에서는 초기 154,000 cPs에서 7개월 후 134,000 cPs까지 점도가 낮아졌다. 이는 고온으로 인해 이화학적 변성이 일어난 것을 판단된다.



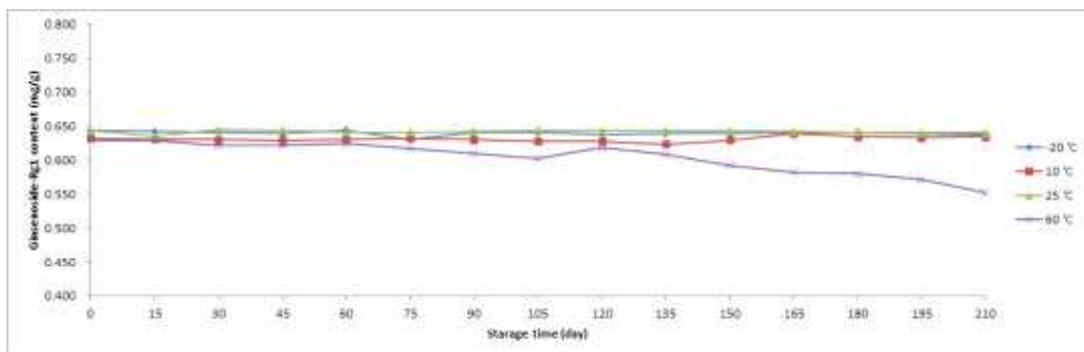
Viscosity change of ginseng seed oil according to storage time

### ③ 변색 및 변취 관찰

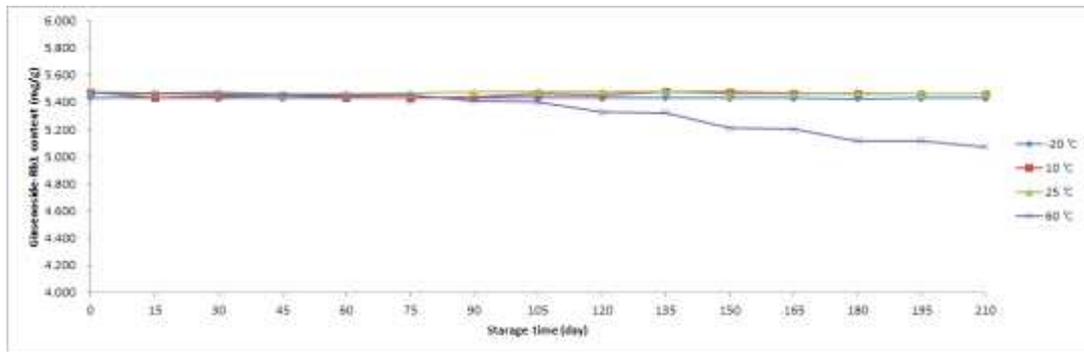
- 각각의 온도구간별로 7개월 210일 동안 색상과 냄새를 관찰한 결과 색상변화 및 특이취는 관찰되지 않았다. 또한 각각의 상태변화 정도를 측정할 때 상온으로 온도를 조정하였을 때 응집과 같은 현상도 일어나지 않았다.

### ④ Ginsenoside Rg1, Rb1 함량변화 분석

- 각 온도구간별로 Major saponin인 Rg1(Protopanaxatriol Group)과 Rb1(Protopaxadiol Group)의 변화정도를 측정하였다. 일반적으로 인삼사포닌은 열 가수분해를 통해 Major saponin이 Minor saponin으로 전환된다고 알려져 있으므로, 품질관리를 위하여 성분 함량의 변화없이 보관하는 온도가 중요하다. 그 결과 Rg1과 Rb1 모두 -20°C(냉동), 10°C(냉장), 25°C(상온) 구간에서는 함량의 변화가 거의 없거나 다소 낮아지는 경향을 보였으나 60°C(가온조건)에서는 Rg1의 경우 초기 0.629 mg/g이 7개월 후 0.552 mg/g으로 약 11.4% 감소하였고, Rb1의 경우에는 초기 5.465 mg/g이 7개월 후 5.072 mg/g으로 약 7.7% 감소하였다. 이는 가온조건에서 Rg1과 Rb1이 일부 열 가수분해되어 그 함량이 낮아진 것으로 판단되며, 보관중 열에 노출되면 그 함량이 변하게 됨을 밝힐 수 있었다.



Ginsenoside Rg1 content change of ginseng seed oil according to storage time



Ginsenoside Rb1 content change of ginseng seed oil according to storage time

#### 4) 인삼종자오일 제제를 대상으로 한 비알콜성 지방간 동물모델의 약효 및 기전규명

○ In vitro에서 지방대사 관련 유전자 발현에 미치는 영향 확인

##### 가. 연구 방법

###### (1) 세포배양 및 지방축적 유도

HepG2 Human hepatoma cell line은 American Type Culture Collection (ATCC)에서 구입하여 사용하였으며, 10% fetal bovine serum (FBS), 100 unit/ml penicillin/streptomycin이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)으로 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 세포 내에 지방 축적을 유도하여 지방간 세포모델을 만들기 위해 HepG2 cell을 6-well plate에 1x10<sup>6</sup> cell/well로 seeding하였다. Seeding 24시간 후 palmitate와 oleate를 1:2 비율로 섞은 유리지방산 (free fatty acid; FFA) mixture를 1 mM로 처리하여 1% BSA-DMEM에 세포를 배양하여 지방 축적을 유도하였다.

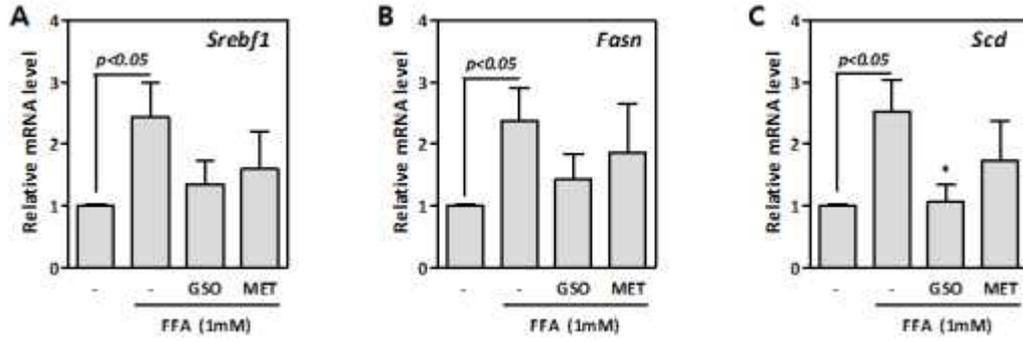
###### (2) Quantitative RT-PCR

Total RNA는 EASY-BLUE total RNA extraction kit (Intron Biotechnology Inc, Seoul, Korea)를 이용하여 분리하였다. Single-strand cDNA는 4 µg RNA, Oligo(15)dT primer, reverse transcriptase를 이용하여 합성하였다. 합성된 cDNA와 SYBR green PCR master mix를 총 볼륨 20 µl로 하여 StepOnePlus™ Real-time PCR (Applied Biosystems, Foster, CA, USA)를 사용하여 타겟 유전자를 증폭시켰다. Primer의 종류 및 서열은 다음과 같다. *Srebf1* (Sterol regulatory element-binding protein)의 주형사 서열은 5'-GCC CCT GTA ACG ACC ACT G-3', 비주형사 서열은 5'-CAG CGA GTC TGC CTT GAT G-3'; *Fasn* (Fatty acid synthase)의 주형사 서열은 5'-AAG GAC CTG TCT AGG TTT GAT GC-3', 비주형사 서열은 5'TGG CTT CAT AGG TGA CTT CCA-3'; *SCD* (Stearoyl-CoA desaturase)의 주형사 서열은 5'-TCT AGC TCC TAT ACC ACC ACC A-3', 비주형사 서열은 5'-TCG TCT CCA ACT TAT CTC CTC C-3'이다. 반응 조건은 95°C 10분 후 40 cycle의 95°C 15초 denaturation, 60°C 1분 annealing/extension으로 하였다. 이때 유전자 발현량은 GAPDH를 housekeeping gene으로 사용하여  $\Delta\Delta Ct$ 법으로 계산하였다.

##### 나. 연구 결과

###### (1) Human hepatoma cell line (HepG2)에서 인삼종자오일이 지방 생합성 관련 유전자 발현에 미치는 영향

인삼종자오일의 유전자 발현에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 HepG2 세포에서 인삼종자오일을 25 µg/ml의 농도와 양성대조군으로 metformin을 2 mM로 2시간 처리 한 후, 24시간 동안 FFA (1 mM) 처리로 지방축적을 유도하였다. 지방 축적이 유도된 HepG2 세포에서 quantitative PCR을 시행한 결과, 중성지방 생성 관련 전사인자 및 타겟 효소인 *Srebf1*, *Fasn*의 발현이 인삼종자오일을 처리하였을 때 통계적 유의성은 나오지 않았지만 억제되는 경향이 있음을 확인하였고, *Scd*의 발현은 유의하게 억제됨을 확인하였다. 이 결과로 인삼종자오일이 지방 합성 유전자 발현 조절을 통해 지방 대사를 조절함을 확인할 수 있었다.



인삼종자오일의 지방 생합성 관련 유전자 발현 억제 효과

## ○ 비알코올성 지방간 동물모델에서 인삼종자오일의 약효 및 기전 평가

### 가. 연구 방법

#### (1) 실험동물의 사육 및 시료 처리

5주령의 C57BL/6J 마우스를 고지방식이 사육으로 지방간을 유도하여 동물모델에서 인삼종자오일의 약효를 평가하였다. 실험동물은 plastic mouse cage에 보관하여 실험동물실에서  $23 \pm 2$  °C, 상대 습도  $50 \pm 10$  %, light/dark cycle (12/12 hr)의 조건하에서 사육하였고, 물과 사료는 자유로이 섭취하도록 하여 실험시작 전 일주일 동안 환경에 적응시킨 후 실험을 진행하였다. 실험군은 일반식이군 (RD)과 고지방식이군 (HFD) 고지방식이에 인삼종자오일을 두 농도로 투여한 그룹, 각 250 mg/kg/day (HFD + GSO250), 500 mg/kg/day (HFD + GSO500), 양성대조군으로 metformin 300 mg/kg/day (HFD + MET300)의 5개 그룹으로 나누었고, 각 그룹당 개체 수는 8마리로 하였다. 투여 시작 후 12주 동안 매 주 식이 섭취량과 몸무게의 변화를 측정하였고, 12주 후 실험동물을 희생하고 간무게를 측정하였다.

#### (2) 조직형태학 분석

간 조직의 형태를 확인하고자 희생 시 적출한 간 조직을 10 % neutral buffered formalin에 고정하고 탈수 및 포매 과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하여 두께 5  $\mu$ m의 관상 절편으로 제작하여 hematoxylin과 eosin (H&E) 염색 후 광학현미경으로 형태학적 관찰을 하였다.

#### (3) 혈액지표 분석

혈액 지표 분석을 위해 실험동물 희생 전 12시간 절식 후 혈액을 채취하여 원심분리로 혈청을 분리한 후 분석에 사용하였다. 혈중 총콜레스테롤, HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, 중성지방과 간 지표지수인 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST)를 측정 키트 (Stanbio Laboratory, Boerne, TX)와 자동분석기 (SMARTLAB, Mannheim, Germany)를 사용하여 측정하였다.

#### (4) 간 내 중성지방 측정

간 조직을 클로로포름과 메틸알코올 2 : 1 비율로 혼합한 용액에서 균질화 시킨 후 50 mM sodium chloride를 넣었다. 4 °C에서 overnight 인큐베이션 후 원심분리하여 지방층을 분리하였다. 지방층을 질소가스로 말린 후 총 지방량을 측정하고 1% Triton X-100 in PBS에 녹여 아산셋트 중성지방 측정용 시액을 이용하여 중성지방량을 측정하였다.

#### (5) Microarray 실험 및 분석

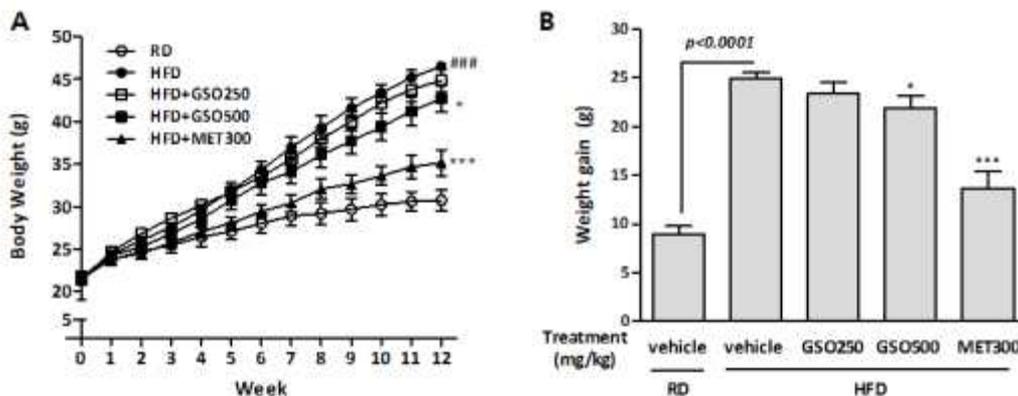
간 조직에서 RNeasy mini kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용하여 RNA를 분리하였다. RNA의 순도는 흡광도 260nm 와 280nm의 비율로 확인 후, Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Palo Alto, USA)로 측정하였다. Microarray 실험은 Affymetrix Whole transcript expression array 방법대로 진행하였다. GeneChip WT (Whole Transcript) Amplification kit를 사용하여 cDNA를 합성 하였고, 5.5  $\mu$ g의 DNA를 Affymetrix GeneChip Mouse 2.0 ST Array에

45 °C에서 16시간 hybridize한 후, GeneChip Fluidics Station 450로 stain하여 Affymetrix GCS3000 Scanner로 스캔하였다. 시그널의 값은 Affymetrix® GeneChip™ Command Console software로 측정하였다. Raw data (.CEL 파일)는 Robust Multi-Average 방법으로 background subtraction, quantile normalization 그리고 summarization을 진행하였다. Differentially Expressed Genes (DEGs) 선별하기 위하여 Rank Product 방법을 적용하였다. pheatmap R package를 이용하여 DEGs의 유전자 발현을 heatmap으로 나타내었고, DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp>)를 이용하여 DEGs의 Gene Ontology (GO) analysis를 하였다 ( $p$  value < 0.01). GO의 Biological Process (BP)에 대하여 up-regulated genes와 down-regulated genes을 구분하여 분석을 진행 하였다. 모든 데이터 분석과 visualization은 R 3.1.2 프로그램을 사용하여 진행하였다.

## 나. 연구 결과

### (1) 인삼종자오일의 고지방식이에 의한 체중증가 억제 효과

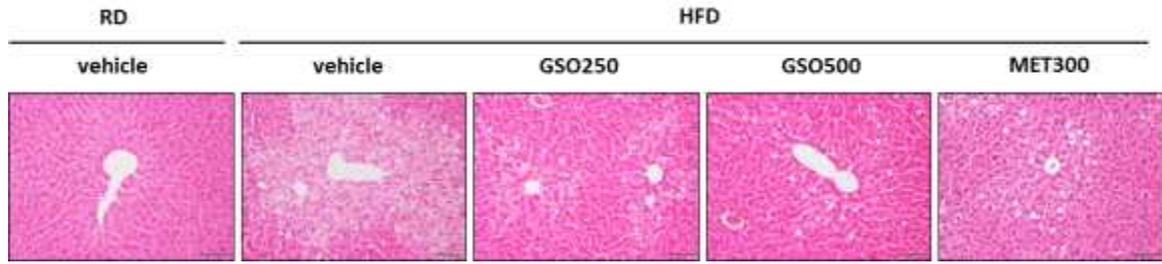
그림은 고지방식이에 의한 체중증가에 미치는 인삼종자오일의 효과를 확인한 결과다. 고지방식사와 인삼종자오일 투여 후 12주 동안의 체중 변화를 그림 2A에 나타내었다. 12주간의 고지방식이 섭취에 의한 무게 증가량을 계산 하였을 때 인삼종자오일을 투여한 그룹에서 고지방식이 대조군에 비해 HFD + GSO250군에서 6.5 %, HFD + GFB500군에서 12.4 %의 유의한 체중 증가 억제를 확인 하였다. 이 결과로 고농도 (500 mg/kg)의 인삼종자오일이 고지방식이에 의한 체중 증가를 통계적으로 유의하게 억제함을 알 수 있었다.



인삼종자오일의 고지방식이에 의한 체중증가 억제 효과

### (2) 간 조직의 형태학적 관찰

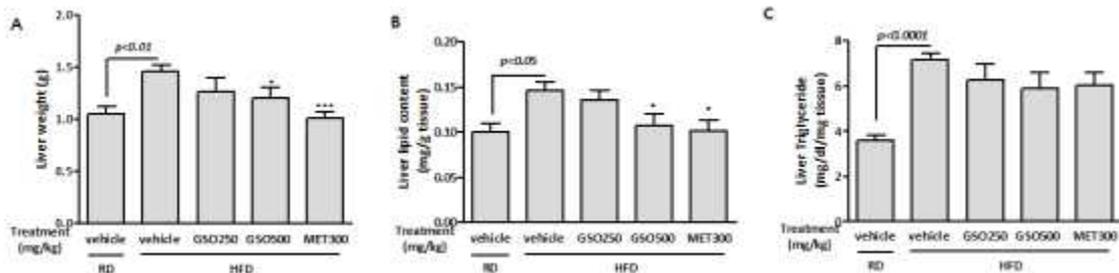
고지방식이에 의한 지방간 형성에 미치는 인삼종자오일의 효과를 확인하기 위해 실험동물 희생 시 간 조직을 적출하여 간 조직의 형태를 H&E 염색을 통해 확인하였다. 일반식이 대조군에 비해 고지방식이 대조군에서 눈에 띄게 많은 지방 축적이 확인 되었으며 이는 인삼종자오일을 투여한 그룹에서 크게 감소되는 것을 확인하였다. 이 결과로부터 인삼종자오일이 고지방식이에 의한 간 내 지방축적을 억제하는 것을 확인하였다.



인삼종자오일 투여에 의한 간 조직의 형태 변화

### (3) 인삼종자오일의 간 내 지방 축적 억제 효과

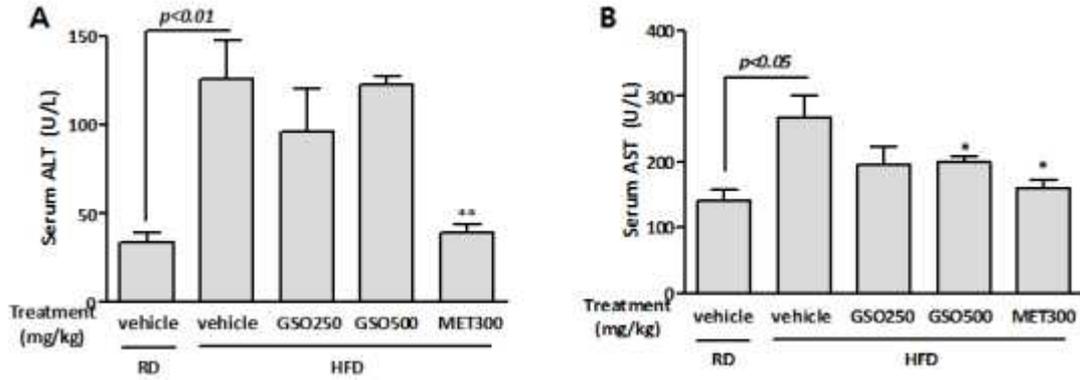
인삼종자오일의 고지방식이에 의한 간 내 지방 축적 억제 효과를 보다 정량적으로 확인하고자 간 내 축적된 지방량을 측정하였다. 고지방식으로 인한 간 내 지방축적에 의해 증가된 간 조직의 무게가 인삼종자오일 투여군에서 용량 의존적으로 줄어들음을 확인하였다. 또한 고지방식이 섭취로 인해 간 조직에 축적된 총 지방량을 측정하였을 때도 고지방식이 대조군 대비 인삼종자오일 500 mg/kg 투여군에서 26.4 %의 유의한 감소를 확인하였다. 간 내 중성지방량을 측정한 결과 통계적 유의성은 보이지 않았지만 고지방식이 대조군 대비 인삼종자오일 250 mg/kg 투여군에서 12.6 %, 500 mg/kg 투여군에서 17.9 %의 감소를 보여 간 내 중성지방 축적을 억제하는 경향을 확인하였다. 따라서 인삼종자오일이 고지방식이에 의한 간 내 지방 축적 억제에 효과가 있다는 것을 확인하였다.



인삼종자오일의 간 내 지방 축적 억제 효과

### (4) 인삼종자오일의 간 기능 개선 효과

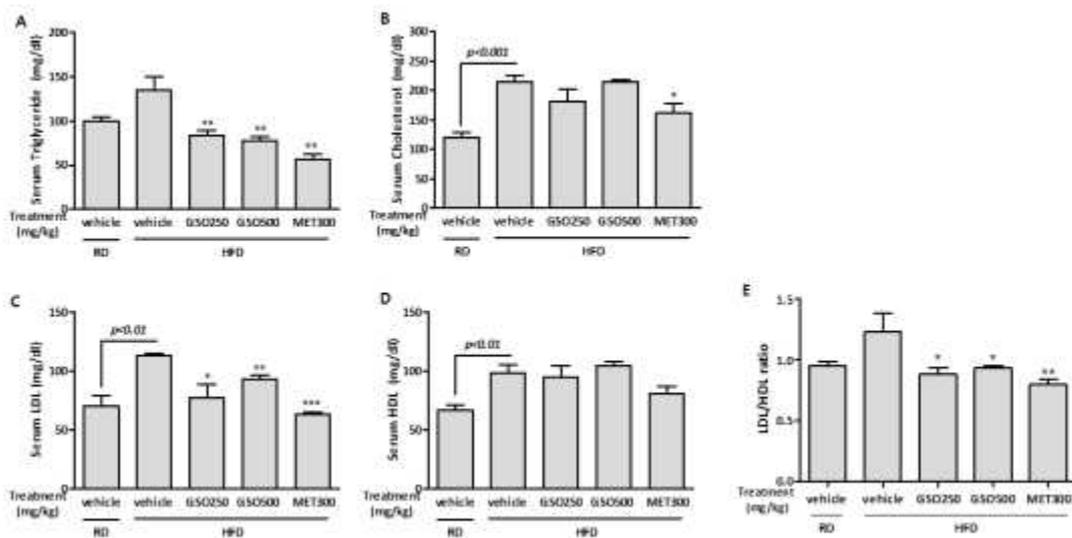
고지방식이에 의한 간 기능 저하에 미치는 인삼종자오일의 효과를 평가하기 위해 간 기능 지표 효소를 혈액에서 측정하였다. 고지방식이 대조군에서 일반식이 대조군에 비해 현저히 증가된 간 지표지수 (ALT, AST)가 인삼종자오일 투여군에서 ALT는 HFD + GSO250에서 23.9 %, HFD + GSO500에서 3.0%의 감소를 보여 유의성은 없었지만 감소하는 경향을 확인하였고, AST는 HFD + GSO250에서 26.8 %, HFD + GSO500에서 25.6 %의 감소를 보였다. 이 결과로부터 인삼종자오일이 간 내 지방축적으로 인한 간 기능 저하를 개선하는 효과가 있다는 것을 알 수 있었다.



인삼종자오일의 간 기능 개선 효과

(5) 혈중 지질 지표 개선 효과

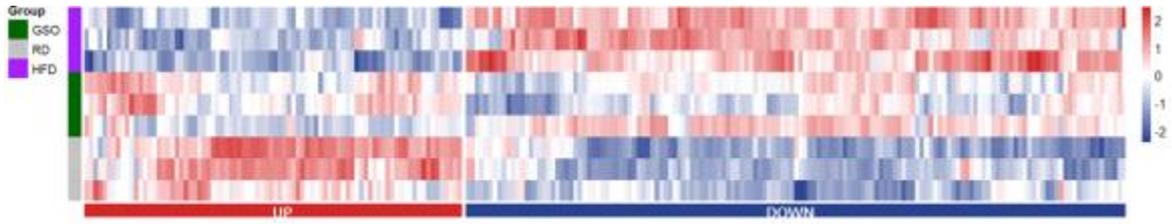
인삼종자오일의 혈중 중성지방과 콜레스테롤 농도를 측정하였다. 그림 5A는 혈중 중성지방량을 측정한 결과이며, 고지방식으로 인한 혈중 중성지방증가가 인삼종자오일 투여군에서 유의하게 감소함을 확인하였다. 고지방식으로 인한 혈중 총 콜레스테롤 증가가 인삼종자오일 투여군에서 유의한 감소는 보이지 않았지만, 흔히 나쁜 콜레스테롤로 불리는 LDL 콜레스테롤의 혈중 농도를 현저히 감소시켜 (그림 6C; HFD vs. HFD + GSO500, 17.6 %) LDL 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤의 비율을 개선함을 확인하였다 (그림 6E). 이 결과로 인삼종자오일이 고지방식에 의한 혈중 중성지방 증가를 억제하고 콜레스테롤 수치 개선에 효과가 있다는 것을 확인하였다.



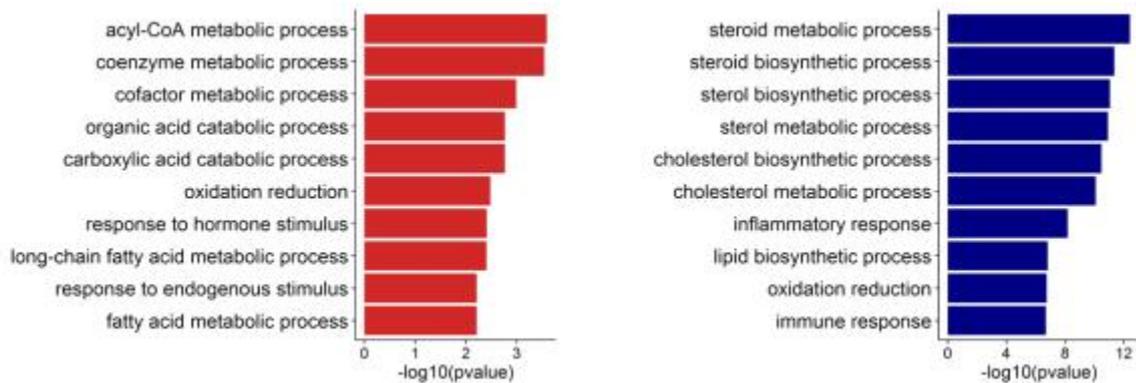
인삼종자오일의 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 증가 억제 효과

(6) Microarray를 통한 인삼종자오일의 유전자 발현에 미치는 영향 검토

인삼종자오일의 타겟 유전자와 기전을 확인하기 위하여 일반식이 대조군, 고지방식이 대조군, 인삼종자오일 500 mg/kg투여군의 간에서 RNA를 분리하여 microarray 실험을 시행하였다. Rank product algorithm ( $p$  value < 0.01)을 적용하여 인삼종자오일 투여군에서 발현 증가된 유전자 126개와 발현 억제된 유전자 215개를 선별하였고, 그 결과를 heatmap으로 나타내었다.



인삼종자오일 투여군의 유전자 발현 패턴 heatmap



인삼종자오일 투여에 의해 증가 혹은 감소 된 유전자의 GO 분석

이 DEGs의 GO 분석을 진행하여 발현 증가된 유전자 (붉은색)와 발현 억제된 유전자 (파란색)의 상위 10개의 GO biological process term ( $p$  value < 0.01)을 그림 8에 바 그래프로 나타내었다. 증가된 유전자 군은 통계적으로 유의하게 acyl-CoA metabolic process를 비롯한 지방산 대사에 관여하는 것을 확인하였고, 감소된 유전자 군은 steroid biosynthetic process와 cholesterol biosynthetic process를 비롯한 지방 생합성 및 inflammatory response 등에 관여하는 것을 확인하여 인삼종자오일이 간에서 지방산 대사 관련 유전자 발현을 증가하고, 염증반응과 콜레스테롤 합성 관련 유전자 발현을 억제함을 확인하였다.

GO term 'fatty acid metabolic process'에 속하는 인삼종자오일 투여에 의해 발현 증가된 유전자 리스트

GO term	Gene	description	FC
fatty acid metabolic process	Acot1	acyl-CoA thioesterase 1	2.6
	Acot3	acyl-CoA thioesterase 3	1.5
	Ehhadh	L-specific multifunctional beta-oxidation protein	2
	Cyp4a31	cytochrome P450 family - fatty acid degradation	2.1
	Cyp4a32	cytochrome P450 family - fatty acid degradation	1.5
	Cyp4a10	long-chain fatty acid omega-monooxygenase	1.5
	Slc27a1	fatty acid transport protein 1	1.7

GO term 'cholesterol biosynthetic process'와 'inflammatory response'에 속하는 인삼종자오일 투여에 의해 발현 억제된 유전자 리스트

GO term	Gene	description	FC
cholesterol biosynthetic process	Dhcr7	7-DHC reductase	-1.6
	Nsdhl	sterol-4-alpha-carboxylate 3-dehydrogenase	-2
	Cyp51	sterol 14-alpha demethylase	-1.7
	Insig1	insulin-induced gene 1 protein	-1.7
	Idi1	Isopentenyl pyrophosphate isomerase 1	-1.8
	Hmgcs1	HMG-CoA synthase	-1.9
	Srebf1	sterol regulatory element-binding protein 1	-1.6
	Fdps	farnesyl pyrophosphate synthase	-1.9
inflammatory response	Ccl2	monocyte chemoattractant protein 1	-1.5
	Cxcl1	C-X-C motif chemokine 1	-1.6
	Cxcl10	C-X-C motif chemokine 10	-1.6
	Cxcl9	C-X-C motif chemokine 9	-1.5
	Cfd	complement factor D	-2.5
	Orm2	orosomucoid-2	-3.8
	Orm3	orosomucoid-3	-3.3
	Pparg	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	-1.6
	Saa1	serum amyloid A-1 protein	-3.2
	Saa2	serum amyloid A-2 protein	-3.9
	Saa3	serum amyloid A-3 protein	-2
	Saa4	serum amyloid A-4 protein	-1.6
	C4a	complement component 4a	-2.1

1협동에서 진행한 인삼종자오일의 함량 분석에 의하면 인삼사포닌 ginsenoside Rh1과 Re가 높은 함량으로 포함되어 있으며, 지방산의 경우 oleic acid, linoleic acid와 같은 불포화 지방산이 주지방산으로 확인되었다. Oleic acid와 linoleic acid는 콜레스테롤 저하작용이 보고되어 있으며 이 결과와 동일하게 본 연구자들이 진행한 microarray 분석에서도 간에서 인삼종자오일 투여에 의해 콜레스테롤 생합성에 관여하는 유전자군의 발현이 유의하게 억제되는 것을 확인하였다. 인삼의 항염 효과는 이미 많은 연구가 진행되어 있으며, 그 중 인삼종자오일의 주 인삼사포닌인 Ginsenoside Rh1과 Re의 항염 효과도 연구되어 있다. 비만으로 야기되는 지방간은 염증과 밀접한 관계가 있음이 밝혀졌으며, 단순 지방간이 보다 심각한 지방간염, 간섬유화, 간경화, 간암으로 발병 하는데에 염증 반응이 관여함이 보고되어있다. Microarray 분석을 통해 인삼종자오일이 간에서 지방산 대사에 관여하는 유전자 발현 증가와 콜레스테롤 합성, 염증 반응에 관여하는 유전자 발현을 억제함으로써 고지방식으로 인한 지방간을 예방 및 치료하는데 효과를 나타냄을 확인하였다.

## 5) 안전성 평가 [ I ]

○ 인삼종자오일의 Sprague-Dawley 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험

### 1. 시험실시의 개요

#### 1) 시험목적

암·수 Sprague-Dawley 계통의 랫드를 이용하여 시험물질 인삼종자오일을 단회 경구투여 했을 때의 독성을 조사하고 개략의 치사량을 구하기 위하여 실시하였다.

#### 2) Good Laboratory Practice

시험의 모든 과정은 다음의 Good Laboratory Practice 규정을 준수한다.

“비임상시험관리기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-67 호 (2014 년 2 월 12 일)

#### 3) 시험기준

본 시험은 다음의 시험기준에 근거하여 실시 하였다.

“의약품등의 독성시험기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-136 호 (2014 년 7 월 30 일)

#### 4) 시험의뢰자

기관명	충북홍삼영농조합법인
주 소	충청북도 음성군 금왕읍 행제리 466-4 369-901

#### 5) 시험기관

기관명	(주)메드빌
주 소	서울특별시 금천구 디지털로 9 길 33, 15 층 (가산동, IT 미래타워) 153-760

## 6) 시험일정

시험개시일	2015년 1월 21일
실험개시일	2015년 1월 21일
동물입수일	2015년 1월 21일
군분리일	2015년 1월 26일
투여일	2015년 1월 27일
부검일	2015년 2월 10일
실험종료일	2015년 2월 10일
시험종료일	2015년 4월 13일

## 7) 시험책임자

성명	
소속	일반독성

## 8) 부문책임자

검역  
병리  
동물관리  
시험물질 관리

## 9) 시험담당자

시험담당  
부검  
시험물질 조계

## 10) 기록 및 자료의 보관

시험기간 중 발생한 모든 기록은 ㈜메드빌의 자료보관실에 보관한다. 보관기간은 최종보고서 승인 후 3년간 보관함을 원칙으로 하며, 그 후 보관에 관해서는 시험기관과 시험의뢰자가 협의하여 결정한다.

시험자료: 시험기초자료, 시험계획서, 최종보고서

## 11) 동물윤리

본 시험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하며, 동물보호법 (법률 제 4379 호, 1991. 5. 31., 제정, 법률 제 13023 호, 2015. 1. 20., 일부개정)에 근거한 ㈜메드빌 동물실험윤리위원회 (IACUC)에 의해 승인되었다.

## 2.재료 및 방법

### 1) 시험물질

- (1) 물질명 인삼종자오일
- (2) Lot No. 정보없음
- (3) 성상 액체
- (4) pH 정보없음
- (5) 제조일 2015년 1월 20일
- (6) 유효기한정보없음
- (7) 입수일 2015년 1월 23일
- (8) 입수량 1246.08 g (용기포함)
- (9) 보관조건냉장 (4.7 - 5.7 °C)
- (10) 공급처 충북홍삼영농조합법인
- (11) 잔여시험물질의 처리 반환

### 2) 부형제

- (1) 명칭 Corn oil
- (2) Lot No. MKBP7039V
- (3) 보관조건 실온
- (4) 제조사 Sigma-Aldrich Inc., U.S.A.
- (5) 부형제 선택이유 부형제 확인 결과 시험물질이 Corn oil에 용해되어 부형제를 Corn oil로 정하였다.

### 3) 시험물질의 조제 및 분석

- (1) 시험물질의 조제  
투여 당일 전자저울 (Explorer Ex224G, OHAUS, U.S.A.)로 시험물질을 칭량 후 부형제를 일부 넣어 Vortex mixer (G56E, Scientific Industries, U.S.A.)를 이용하여 용해 시킨 후, 부형제를 가하여 규정농도로 조제하였다.
- (2) 조제물의 분석  
조제물의 안정성, 균질성 및 농도분석은 실시하지 않았다.

### 4) 시험계

- (1) 종 및 계통 랫드, Sprague-Dawley (CrI:CD(SD)), SPF

(2) 공급원 (주)오리엔트바이오

(3) 시험계 선정 이유

Sprague-Dawley 랫드는 일반 독성시험에 널리 사용되고 있으며, 비교할 기초자료가 풍부하여 선택하였다.

(4) 입수시 성별, 동물수, 주령 및 체중범위

수컷, 22 마리, 8 주령, 225.9 - 250.7 g

암컷, 22 마리, 8 주령, 172.2 - 185.8 g

(5) 투여시 성별, 동물수, 주령 및 체중범위

수컷, 20 마리, 9 주령, 261.5 - 281.8 g

암컷, 20 마리, 9 주령, 182.2 - 196.9 g

(6) 검역 및 순화

반입시 동물의 일반증상 관찰 및 체중측정 후, 개체식별법에 따랐다. 5 일의 순화기간 중 매일 1 회 일반증상을 관찰하고, 순화기간 종료일에 체중 및 일반증상에 이상이 없는 동물을 시험에 사용하였다.

(7) 개체 및 사육상자 식별

순화기간 중에는 입수시에 동물의 꼬리에 청색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하고, 사육상자에는 순화기간 개체식별카드를 부착하였다.

관찰기간 중에는 군분리시에 동물의 꼬리에 적색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하고, 사육상자에는 개체식별카드를 부착하였다.

(8) 군분리

군분리는 순화종료일에 일반증상 및 체중에 이상이 없는 동물 중 암·수 각각 20 마리를 선발하였다. 선발한 동물은 평균체중 및 표준편차를 계산하여 대조군, 저용량군, 중용량군 및 고용량군을 각각 5 마리씩 균일하게 분리하였다.

(9) 잔여동물의 처리

군분리 후 잔여동물은 시험계로부터 제외하여 SOP 에 따라 처리하였다.

## 5) 사육환경조건

(1) 동물실 번호 동물실III

(2) 사육상자 종류 및 크기 Polycarbonate cage, 420W × 270D × 180H (mm)

(3) 사육상자당 수용동물 수 검역·순화기간 2 - 3마리, 관찰기간 1마리

(4) 온도 19.0 - 24.6°C

(5) 상대습도 45.7 - 64.5%

(6) 환기횟수 10 - 20회/시간

(7) 명암주기 (조명시간) 12시간/일 (08:00 - 20:00)

(8) 조도 150 - 300 Lux

## 6) 사료

- (1) 종류 실험동물용 고형사료 (LabDiet 5053)
- (2) Lot No. L80154490
- (3) 제조사 PMI Nutrition International Inc., U.S.A.
- (4) 공급원 (주)오리엔트바이오
- (5) 급이방법 급이기에 고형사료를 넣어 자유섭취 시켰다.
- (6) 사료의 분석 및 확인 제조사에서 제공한 분석자료의 결과가 본사에서 정한 허용범위 내에 속하는지 확인하였다.

## 7) 음수

- (1) 종류 및 급수방법  
서울특별시의 수도물을 UV 멸균 및 필터를 이용하여 여과된 정제수를 Polycarbonate 음수병 (500 mL)에 넣어 자유섭취 시켰다.
- (2) 음수의 분석 및 확인  
“먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙” (환경부령 제 553 호, 2014. 4. 30, 타법개정)의 전 항목에 대하여 서울특별시 보건환경 연구원 (경기도 과천시 장군마을 3길 30)에 의뢰하여 1 회/년 검사를 실시하며, 그 결과가 본사에서 정한 허용범위 내에 속하는지 확인하였다 (2014년 12월 16일).

## 8) 투여

- (1) 투여경로  
경구투여
- (2) 투여경로 선택이유  
임상예정 경로에 따라 경구투여를 선택하였다.
- (3) 투여방법 및 투여횟수  
투여액은 10 mL/kg 으로 하고, 개체별 투여액은 당일 체중측정을 기준으로 산출 하였다. 투여 전 16 시간 이상 절식 후, 투여 당일 경구투여용 위존대를 부착한 일회용 주사기 (3 mL)를 이용하여 1 회 이내 강제 경구투여를 실시하고, 투여 후 약 4 시간에 사료를 급이 하였다.

## 9) 투여용량 및 시험군의 구성

- (1) 투여용량  
본 시험은 의뢰자의 요청에 따라 고용량을 5,000 mg/kg 으로 설정하고, 2,500 및 1,250 mg/kg 을 중간 및 저용량으로 설정 하였다. 또한, 부형제에 대한 영향을 알아보기 위하여 대조군을 설정하였다.

(2) 시험군의 구성

군	투여량 (mL/kg)	투여용량 (mg/kg)	동물수 (동물번호)	
			수컷	암컷
G1	10	0	5 (11001~11005)	5 (21001~21005)
G2	10	1,250	5 (12001~12005)	5 (22001~22005)
G3	10	2,500	5 (13001~13005)	5 (23001~23005)
G4	10	5,000	5 (14001~14005)	5 (24001~24005)

10) 관찰 및 검사

(1) 일반증상관찰

모든 동물에 대하여 부검일까지 매일 1회 이상 일반증상을 관찰하였다. 단, 투여 당일 (0일)에는 투여 후 0.5, 1, 2, 4 및 6시간째에 일반증상 (독성징후의 종류, 발현시기, 회복시기 등)을 관찰하였다.

(2) 빈사 및 사망동물의 처리

관찰기간 중 빈사 및 사망동물은 발견되지 않았다.

(3) 체중측정

모든 동물에 대하여 투여 직전 (0일), 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 측정하였다.

(4) 부검

관찰기간 종료 후, 모든 생존동물에 대해서 CO<sub>2</sub> 마취하에 복대 동·정맥을 절단하여 방혈 치사 후 부검을 실시하였으며, 모든 장기에 대하여 상세한 육안검사를 하였다.

(5) 조직병리학적 검사

부검 시 특이적인 육안소견이 관찰되지 않아 조직병리학적 검사는 실시하지 않았다.

11) 통계학적 분석

통계학적 분석은 체중에 대하여 SPSS program (SPSS 16.0)을 사용하여 실시하였다.

정규성과 등분산성을 만족하면 One-way analysis of variance (ANOVA)을 실시 하였으며, 대조군과의 유의성을 확인하였다. (유의수준: 양측 5%). 정규성이나 등분산성을 만족하지 않으면 Kruskal-Wallis's H-test 를 통하여 대조군과의 유의성을 확인하였다. (유의수준: 양측 5%).

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 사망동물 (Table 1)

시험기간 중 모든 시험군에서 사망동물은 관찰되지 않았다.

#### 2) 일반증상 (Table 2, Appendix 1)

시험기간 중 모든 시험군에서 일반증상은 관찰되지 않았다.

#### 3) 체중 (Figure 1, Figure 2, Table 3, Appendix 2)

시험기간 중 모든 시험군에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

#### 4) 부검 (Table 4, Appendix 3)

실험종료 시 모든 생존동물의 부검 결과 특이한 육안소견은 관찰되지 않았다.

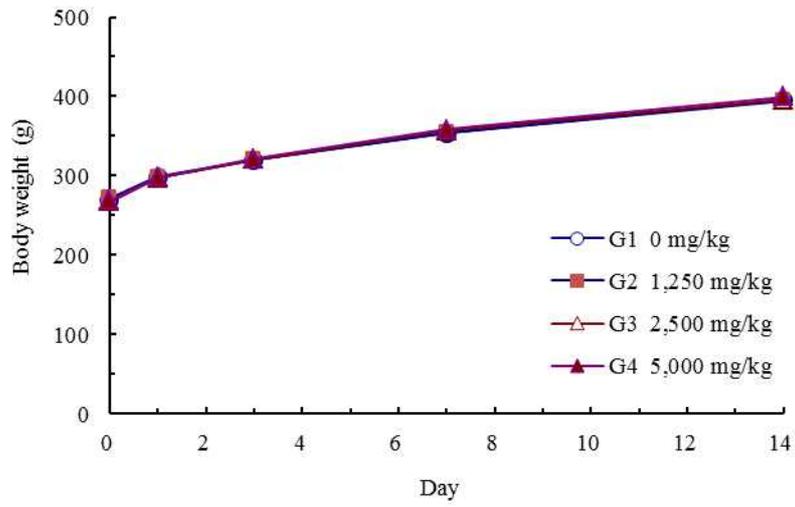
### 4. 결론

본 시험은 Sprague-Dawley 계통의 랫드를 이용하여 시험물질 인삼총자오일을 0, 1250, 2,500 및 5,000 mg/kg 용량으로 단회 경구투여 했을 때의 독성을 조사하고, 개략의 치사량을 구하기 위하여 실시하였다.

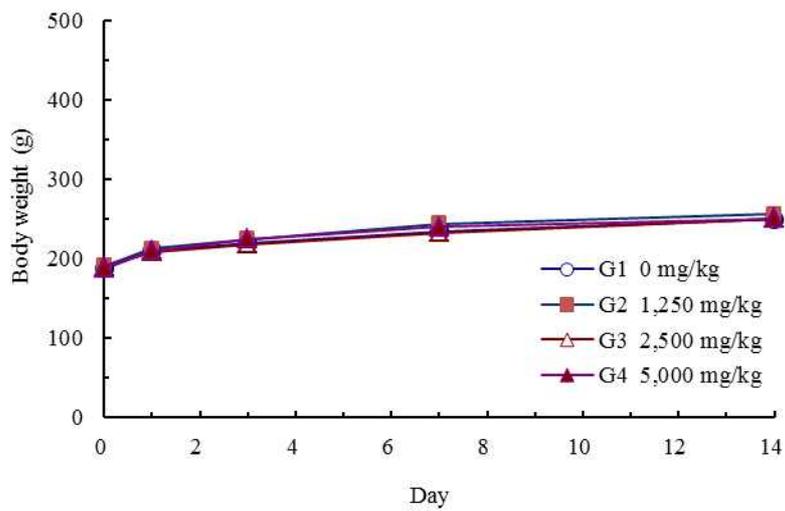
실험기간 동안 암·수 모든 투여군에서 사망동물 및 일반증상은 관찰되지 않았다. 체중은 순조롭게 증가하였으며, 부검 시 특이한 육안소견은 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 시험물질 인삼총자오일의 독성은 인정되지 않았고, 개략의 치사량은 암·수 모두 5,000 mg/kg 이상인 것으로 판단된다.

FIGURES



Mean body weights of male SD rats



Mean body weights of female SD rats

TABLES

Summary of mortality data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Days after dosing														Mortality (dead/total)	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
G2 1,250	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
G3 2,500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
G4 5,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Days after dosing														Mortality (dead/total)	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
G2 1,250	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
G3 2,500	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
G4 5,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%

Summary of clinical signs data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Hours after dosing (Day 0)				
			0.5	1	2	4	6
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Summary of clinical signs data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Hours after dosing (Day 0)				
			0.5	1	2	4	6
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Mean body weights data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Male (g)

Group /Dose (mg/kg)		Days					Final weight gain
		0	1	3	7	14	
G1 0	Mean	268.9	298.1	319.3	353.4	394.5	125.6
	S.D.	7.8	7.0	7.5	8.4	13.1	8.5
	N	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	272.1	298.5	320.4	354.5	395.9	123.8
	S.D.	5.4	8.7	7.6	7.1	9.0	5.0
	N	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	267.1	296.8	320.8	356.7	395.3	128.2
	S.D.	4.8	3.9	8.8	12.3	12.4	9.3
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	268.4	298.1	321.6	358.1	399.1	130.7
	S.D.	7.9	8.0	8.9	12.0	21.3	15.5
	N	5	5	5	5	5	5

S.D.: standard deviation

Sex: Female (g)

Group /Dose (mg/kg)		Days					Final weight gain
		0	1	3	7	14	
G1 0	Mean	188.3	210.2	219.9	235.1	250.2	61.9
	S.D.	5.1	4.4	7.1	14.7	15.6	16.8
	N	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	191.2	212.6	225.0	244.4	256.4	65.1
	S.D.	5.4	3.4	9.9	12.7	12.5	10.3
	N	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	190.4	208.5	218.8	233.3	250.5	60.1
	S.D.	4.8	10.1	5.8	5.7	8.4	7.7
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	189.2	210.3	225.3	240.7	250.8	61.6
	S.D.	5.2	6.5	6.2	8.7	13.4	12.9
	N	5	5	5	5	5	5

S.D.: standard deviation

Summary of necropsy data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Organ*	Findings	No. of animals affected
G1 0	5	All	Unremarkable findings	0
G2 1,250	5	All	Unremarkable findings	0
G3 2,500	5	All	Unremarkable findings	0
G4 5,000	5	All	Unremarkable findings	0

\* External surface and organs in body cavity

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Organ*	Findings	No. of animals affected
G1 0	5	All	Unremarkable findings	0
G2 1,250	5	All	Unremarkable findings	0
G3 2,500	5	All	Unremarkable findings	0
G4 5,000	5	All	Unremarkable findings	0

\* External surface and organs in body cavity

APPENDICES

Individual clinical signs data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Hours after dosing (Day 0)				
		0.5	1	2	4	6
G1 0	11001	N	N	N	N	N
	11002	N	N	N	N	N
	11003	N	N	N	N	N
	11004	N	N	N	N	N
	11005	N	N	N	N	N
G2 1,250	12001	N	N	N	N	N
	12002	N	N	N	N	N
	12003	N	N	N	N	N
	12004	N	N	N	N	N
	12005	N	N	N	N	N
G3 2,500	13001	N	N	N	N	N
	13002	N	N	N	N	N
	13003	N	N	N	N	N
	13004	N	N	N	N	N
	13005	N	N	N	N	N
G4 5,000	14001	N	N	N	N	N
	14002	N	N	N	N	N
	14003	N	N	N	N	N
	14004	N	N	N	N	N
	14005	N	N	N	N	N

N: normal

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Days after dosing													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
G1 0	11001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	11002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	11003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	11004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	11005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G2 1,250	12001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	12002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	12003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	12004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	12005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G3 2,500	13001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	13002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	13003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	13004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	13005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G4 5,000	14001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	14002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	14003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	14004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	14005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

N: normal

Individual clinical signs data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Hours after dosing (Day 0)				
		0.5	1	2	4	6
G1 0	21001	N	N	N	N	N
	21002	N	N	N	N	N
	21003	N	N	N	N	N
	21004	N	N	N	N	N
	21005	N	N	N	N	N
G2 1,250	22001	N	N	N	N	N
	22002	N	N	N	N	N
	22003	N	N	N	N	N
	22004	N	N	N	N	N
	22005	N	N	N	N	N
G3 2,500	23001	N	N	N	N	N
	23002	N	N	N	N	N
	23003	N	N	N	N	N
	23004	N	N	N	N	N
	23005	N	N	N	N	N
G4 5,000	24001	N	N	N	N	N
	24002	N	N	N	N	N
	24003	N	N	N	N	N
	24004	N	N	N	N	N
	24005	N	N	N	N	N

N: normal

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Days after dosing													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
G1 0	21001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	21002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	21003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	21004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	21005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G2 1,250	22001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	22002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	22003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	22004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	22005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G3 2,500	23001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	23002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	23003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	23004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	23005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G4 5,000	24001	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	24002	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	24003	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	24004	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	24005	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

N: normal

Individual body weights data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Male							(g)
Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Days					Final weight gain
		0	1	3	7	14	
G1 0	11001	264.0	293.0	309.9	342.3	377.3	113.3
	11002	265.3	296.8	318.0	349.4	388.5	123.2
	11003	270.4	296.2	317.9	357.1	406.9	136.5
	11004	281.8	310.3	330.7	364.9	408.3	126.5
	11005	262.8	294.0	319.8	353.5	391.4	128.6
	Mean	268.9	298.1	319.3	353.4	394.5	125.6
	S.D.	7.8	7.0	7.5	8.4	13.1	8.5
N	5	5	5	5	5	5	
G2 1,250	12001	263.7	293.3	314.1	345.1	386.9	123.2
	12002	274.9	288.5	312.7	350.2	398.4	123.5
	12003	269.9	296.5	318.8	355.6	385.9	116.0
	12004	277.6	310.7	330.4	363.7	405.6	128.0
	12005	274.2	303.6	326.0	357.9	402.7	128.5
	Mean	272.1	298.5	320.4	354.5	395.9	123.8
	S.D.	5.4	8.7	7.6	7.1	9.0	5.0
N	5	5	5	5	5	5	
G3 2,500	13001	261.6	292.4	308.7	343.2	382.6	121.0
	13002	267.4	298.1	327.4	369.1	409.8	142.4
	13003	265.1	293.0	316.8	344.4	384.4	119.3
	13004	266.9	298.9	320.3	359.2	393.6	126.7
	13005	274.7	301.4	330.9	367.4	406.3	131.6
	Mean	267.1	296.8	320.8	356.7	395.3	128.2
	S.D.	4.8	3.9	8.8	12.3	12.4	9.3
N	5	5	5	5	5	5	
G4 5,000	14001	261.5	299.1	312.8	352.8	383.5	122.0
	14002	264.1	294.1	323.9	355.8	394.5	130.4
	14003	271.2	296.0	319.3	350.2	384.3	113.1
	14004	264.2	290.3	316.2	352.5	397.9	133.7
	14005	281.0	311.2	335.8	379.2	435.5	154.5
	Mean	268.4	298.1	321.6	358.1	399.1	130.7
	S.D.	7.9	8.0	8.9	12.0	21.3	15.5
N	5	5	5	5	5	5	

S.D.: standard deviation

Individual body weights data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Female							(g)
Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Days					Final weight gain
		0	1	3	7	14	
G1 0	21001	183.5	211.8	214.3	226.9	239.8	56.3
	21002	186.9	207.2	216.4	230.5	240.5	53.6
	21003	196.1	217.0	228.0	235.4	252.5	56.4
	21004	190.3	208.7	213.6	222.6	241.7	51.4
	21005	184.8	206.2	227.3	260.1	276.5	91.7
	Mean	188.3	210.2	219.9	235.1	250.2	61.9
	S.D.	5.1	4.4	7.1	14.7	15.6	16.8
	N	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	22001	182.5	207.1	207.4	223.5	242.0	59.5
	22002	194.6	215.4	230.6	247.0	268.0	73.4
	22003	192.7	211.5	227.5	245.0	271.0	78.3
	22004	190.1	213.5	228.3	257.7	251.2	61.1
	22005	196.3	215.3	231.0	249.0	249.7	53.4
	Mean	191.2	212.6	225.0	244.4	256.4	65.1
	S.D.	5.4	3.4	9.9	12.7	12.5	10.3
	N	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	23001	183.7	193.7	210.6	225.9	238.4	54.7
	23002	189.1	213.3	215.2	232.2	255.4	66.3
	23003	191.9	216.0	220.8	234.1	260.4	68.5
	23004	190.4	202.5	222.7	232.4	251.2	60.8
	23005	196.9	217.1	224.9	241.7	247.2	50.3
	Mean	190.4	208.5	218.8	233.3	250.5	60.1
	S.D.	4.8	10.1	5.8	5.7	8.4	7.7
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	24001	196.2	201.0	221.0	236.4	250.7	54.5
	24002	182.2	208.4	218.3	232.3	232.2	50.0
	24003	191.0	219.0	225.7	239.3	252.5	61.5
	24004	186.5	212.4	234.4	255.2	269.9	83.4
	24005	189.9	210.5	227.1	240.3	248.5	58.6
	Mean	189.2	210.3	225.3	240.7	250.8	61.6
	S.D.	5.2	6.5	6.2	8.7	13.4	12.9
	N	5	5	5	5	5	5

S.D.: standard deviation

## Individual necropsy data for single dose toxicity study SD rats

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Organ*	Findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1 0	11001	All	Unremarkable findings	S	14
	11002	All	Unremarkable findings	S	14
	11003	All	Unremarkable findings	S	14
	11004	All	Unremarkable findings	S	14
	11005	All	Unremarkable findings	S	14
G2 1,250	12001	All	Unremarkable findings	S	14
	12002	All	Unremarkable findings	S	14
	12003	All	Unremarkable findings	S	14
	12004	All	Unremarkable findings	S	14
	12005	All	Unremarkable findings	S	14
G3 2,500	13001	All	Unremarkable findings	S	14
	13002	All	Unremarkable findings	S	14
	13003	All	Unremarkable findings	S	14
	13004	All	Unremarkable findings	S	14
	13005	All	Unremarkable findings	S	14
G4 5,000	14001	All	Unremarkable findings	S	14
	14002	All	Unremarkable findings	S	14
	14003	All	Unremarkable findings	S	14
	14004	All	Unremarkable findings	S	14
	14005	All	Unremarkable findings	S	14

\* External surface and organs in body cavity

S: scheduled

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Organ*	Findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1 0	21001	All	Unremarkable findings	S	14
	21002	All	Unremarkable findings	S	14
	21003	All	Unremarkable findings	S	14
	21004	All	Unremarkable findings	S	14
	21005	All	Unremarkable findings	S	14
G2 1,250	22001	All	Unremarkable findings	S	14
	22002	All	Unremarkable findings	S	14
	22003	All	Unremarkable findings	S	14
	22004	All	Unremarkable findings	S	14
	22005	All	Unremarkable findings	S	14
G3 2,500	23001	All	Unremarkable findings	S	14
	23002	All	Unremarkable findings	S	14
	23003	All	Unremarkable findings	S	14
	23004	All	Unremarkable findings	S	14
	23005	All	Unremarkable findings	S	14
G4 5,000	24001	All	Unremarkable findings	S	14
	24002	All	Unremarkable findings	S	14
	24003	All	Unremarkable findings	S	14
	24004	All	Unremarkable findings	S	14
	24005	All	Unremarkable findings	S	14

\* External surface and organs in body cavity

S: scheduled

## ATTACHMENT

### Protocol deviations

시험계획서에는 동물 입수시의 수컷 체중범위가 230.0 - 280.0 g 있으나, 아래와 같이 이탈이 발생하였다.

입수시 동물 중 수컷 1마리 체중에서 실측치가 225.9 g으로 측정됨.

상기 이탈은 검역시 일반증상 관찰 결과 동물의 건강 상태에는 이상이 없음을 확인하였다.

○ 인삼종자오일의 Sprague-Dawley 랫드를 이용한 용량설정 4주 반복 경구투여 독성시험

요 약

본 시험은 암·수 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 시험물질 인삼종자오일을 4주간 반복 경구투여 시 나타나는 독성반응을 평가하였고, 13 주 반복투여 독성시험의 용량설정 근거자료로 이용하기 위하여 실시하였다. 각 군당 암·수 5마리에 0, 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 용량으로 4주 반복 경구투여를 실시하여 일반증상, 사료 섭취량, 임상병리검사, 부검, 장기중량 측정 및 조직병리학적 검사를 실시하였으며, 그 결과는 다음과 같다. 시험기간 중 사망동물은 발생하지 않았고, 일반증상 관찰결과 시험물질 투여 직후 유연 (salivation)이 관찰되었다. 체중변화, 사료 섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 부검, 장기중량 측정 및 조직병리학적 검사 결과 암·수 모든 동물에서 시험물질 투여와 관련된 독성학적인 변화는 관찰되지 않았다. 이상으로, 본 시험조건하에서 인삼종자오일을 4주간 반복 경구 투여한 결과, 5,000 mg/kg/day 투여군에서 독성학적으로 의미 있는 변화는 관찰되지 않았다. 따라서, 13주 반복 경구투여 독성시험에서는 5,000 mg/kg/day를 고용량으로 설정하고, 공비 2로 하여 2,500 및 1,250 mg/kg/day를 중용량 및 저용량으로 설정하는 것이 합당할 것이라 판단한다.

## 1. 시험실시의 개요

### 1) 시험목적

본 시험은 암·수 Sprague-Dawley 계통의 랫드를 이용하여 시험물질 인삼종자오일을 4주간 반복 경구투여시 나타나는 독성을 평가하여 13주 반복 경구투여 독성시험의 용량을 설정하기 위하여 실시하였다.

### 2) Good Laboratory Practices

Non-GLP

### 3) 시험기준

시험의 모든 규정은 다음의 시험기준을 준수하였다.

“의약품등의독성시험기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-136 호 (2014년 7월 30일)

### 4) 의뢰자

기관명      충북홍삼영농조합법인  
주 소      충청북도 음성군 금왕읍 선정로 97번지 55  
                 369-901

### 5) 시험기관

기관명      (주)메드빌  
주 소      서울특별시 금천구 디지털로 9길 33, 15층 (가산동, IT 미래타워)  
                 153-760

### 6) 시험장소

기관명      주식회사 녹십자랩셀  
주 소      경기도 용인시 기흥구 이현로 30번길 107 (보정동)

**7) 시험일정**

시험개시일	2015년 2월 11일
실험개시일	2015년 2월 11일
동물입수일	2015년 2월 11일
군분리일	2015년 2월 16일
투여일	2015년 2월 17일 - 3월 16일
부검일	2015년 3월 17일
실험종료일	2015년 4월 6일
시험종료일	2015년 4월 22일

**8) 시험책임자**

성명  
소속 일반독성

**9) 주임시험자**

성명  
소속 주식회사 녹십자랩셀

**10) 부문책임자**

검역  
병리  
동물관리  
시험물질 관리

**11) 시험담당자**

투여 및 관찰  
부검  
임상병리  
검체제작  
시험물질 조제

## 12) 기록 및 자료의 보관

시험기간 중에 발생한 모든 기록은 (주)메드빌의 자료보관실에 보관한다. 보관기간은 최종보고서 승인 후 3년간 보관함을 원칙으로 하며, 그 후 보관에 관해서는 시험기관과 시험의뢰자가 협의하여 결정한다.

시험자료: 시험계획서, 시험기초자료, 검체, 최종보고서

## 13) 동물윤리

본 시험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하며, 동물보호법 (법률 제 4379 호, 1991. 5. 31., 제정, 법률 제 13023 호, 2015. 1. 20., 일부개정)에 근거한 (주)메드빌 동물실험윤리위원회 (IACUC)에 의해 승인되었다.

## 2. 재료 및 방법

### 1) 시험물질

- (1) 물질명 인삼종자오일
- (2) Lot No. 정보없음
- (3) 성상 액체
- (4) pH 정보없음
- (5) 제조일 2015년 1월 20일
- (6) 유효기한 정보없음
- (7) 입수일 2015년 1월 23일
- (8) 입수량 1,246.08 g (용기포함)
- (9) 보관조건 냉장 (4.4 - 6.8°C)
- (10) 공급처 충북홍삼영농조합법인
- (11) 잔여시험물질의 처리 반환

### 2) 부형제

- (1) 명칭 Corn oil
- (2) Lot No. MKBP7039V
- (3) 보관조건 실온
- (4) 제조사 Sigma-Aldrich., U.S.A.
- (5) 부형제 선택이유 부형제 확인 결과 시험물질이 Corn oil에 현탁되어 부형제를 Corn oil로 정하였다.

### 3) 시험물질의 조제 및 분석

- (1) 시험물질의 조제  
투여 당일 전자저울 (Explorer Ex224G, E12140, OHAUS, U.S.A.)로 시험물질을 칭량하여 부형제를 일부 넣어 stirrer (HSD150-03P, MTOPS®, U.S.A.)를 이용하여 현탁시킨 후, 부형제를 가하여 규정농도로 조제하였다.

- (2) 조제물의 분석  
조제물의 안정성, 균질성 및 농도분석은 실시하지 않았다.

#### 4) 시험계

- (1) 종 및 계통        랫드, Sprague-Dawley (CrI:CD(SD)), SPF
- (2) 공급원        ㈜오리엔트바이오
- (3) 시험계 선정 이유  
Sprague-Dawley 랫드는 일반 독성시험에 널리 사용되고 있으며, 비교할 기초자료가 풍부하여 선택하였다.
- (4) 입수시 성별, 동물수, 주령 및 체중  
수컷, 22 마리, 5 주령, 115.5 - 126.3 g  
암컷, 22 마리, 5 주령, 99.4 - 111.8 g
- (5) 투여시 성별, 동물수, 주령 및 체중  
수컷, 20 마리, 6 주령, 183.1 - 199.3 g  
암컷, 20 마리, 6 주령, 133.7 - 152.1 g
- (6) 검역 및 순화  
반입시 동물의 일반증상을 관찰 및 체중측정을 실시하였다. 5 일의 순화기간 중 매일 1 회 일반 증상을 관찰하였다.  
순화기간 종료일에 체중을 측정하고, 일반증상 및 체중변화를 확인하여 시험에 사용하였다.
- (7) 개체 및 사육상자 식별  
순화기간 중에는 입수시에 동물의 꼬리에 청색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하고, 사육상자에는 순화기간 개체식별카드를 부착하였다.  
관찰기간 중에는 균분리시에 동물의 꼬리에 적색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하고, 사육상자에는 개체식별카드를 부착하였다.
- (8) 균분리  
균분리는 순화종료일에 일반증상 및 체중에 이상이 없는 동물 중 암·수 각각 20 마리를 선발하였다. 선발한 동물은 평균체중 및 표준편차를 계산하여 대조군, 저용량군, 중용량군 및 고용량군으로 각각 5 마리씩 균일하게 분리하였다.
- (9) 잔여동물의 처리  
균분리 후 잔여동물은 시험계로부터 제외시켜 SOP 에 따라 처리하였다.

#### 5) 사육환경조건

- (1) 동물실 번호        동물실 III
- (2) 사육상자 종류 및 크기    Polycarbonate cage, 420W × 270D × 180H (mm)
- (3) 사육상자당 수용동물 수    순화기간 2 - 3 마리, 관찰기간 1 - 2 마리
- (4) 온도        18.9 - 23.9°C
- (5) 상대습도 35.1 - 60.2%
- (6) 환기횟수 10 - 20 회/시간
- (7) 명암주기 (조명시간)        12 시간/일 (08:00 - 20:00)

(8) 조도 150 - 300 Lux

## 6) 사료

- (1) 종류 실험동물용 고형사료 (LabDiet 5053)
- (2) Lot No. L80154492
- (3) 제조사 PMI Nutrition International Inc., U.S.A.
- (4) 공급원 ㈜오리엔트바이오
- (5) 급이방법 급이기에 고형사료를 넣어 자유섭취 시켰다.
- (6) 사료의 분석 및 확인 제조사에서 제공한 분석 자료의 결과가 본사에서 정한 허용범위 내에 속하는지 확인하였다.

## 7) 음수

- (1) 종류 및 급수방법  
서울특별시의 수도물을 UV 멸균 및 필터를 이용하여 여과된 정제수를 Polycarbonate 음수병 (500 mL)에 넣어 자유섭취 시켰다.
- (2) 음수의 분석 및 확인  
“먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙” (환경부령 제 553 호, 2014. 4. 30. 타법개정)의 전 항목에 대하여 서울특별시 보건환경연구원 (경기도 과천시 장군마을 3길 30)에 의뢰하여 1 회/년 검사를 실시하며, 그 결과가 본사에서 정한 허용범위 내에 속하는지 확인하였다 (2014년 12월 16일).

## 8) 투여

- (1) 투여경로  
경구투여
- (2) 투여경로 선택이유  
임상예정 경로에 따라 경구투여를 선택하였다.
- (3) 투여방법 및 투여횟수  
투여액량은 10 mL/kg 으로 하고, 개체별 투여액량은 최근의 체중측정을 기준으로 산출하였다. 위존데를 부착한 일회용 주사기 (3 - 5 mL)를 이용하여 4주간 1일 1회 강제 경구투여를 실시하였다.

## 9) 투여용량 및 시험군의 구성

- (1) 투여용량  
본 시험물질에 대하여 실시한 단회 경구투여 독성시험 (㈜메드빌 시험번호: M15009)을 바탕으로 의뢰자의 요청에 따라 고용량을 5,000 mg/kg 으로 설정하였고, 2,500 및 1,250 mg/kg 을 각각 중용량 및 저용량으로 설정하였다. 부형제에 대한 영향을 알아보기 위하여 대조군을 설정하였다.
- (2) 시험군의 구

군	투여액량 (mL/kg)	투여용량 (mg/kg)	동물수 (개체번호)	
			수컷	암컷
G1	10	0	5 (11001 - 11005)	5 (21001 - 21005)
G2	10	1,250	5 (12001 - 12005)	5 (22001 - 22005)
G3	10	2,500	5 (13001 - 13005)	5 (23001 - 23005)
G4	10	5,000	5 (14001 - 14005)	5 (24001 - 24005)

## 10) 관찰 및 검사

### (1) 일반증상 관찰

모든 동물에 대하여 투여개시로부터 부검 전일까지 매일 1 회 이상 일반증상 관찰하였다.

### (2) 빈사 및 사망동물의 처리

관찰기간 중 빈사 및 사망동물은 관찰되지 않았다.

### (3) 체중측정

모든 동물에 대하여 투여 직전 (0 일), 투여 개시 후 주 1 회, 부검전일 및 부검당일에 체중측정을 실시하였다.

### (4) 사료섭취량 측정

투여개시 후 주 1 회 사육상자 별로 일일 공급량 및 잔량을 측정하여 평균섭취량을 산출하였다.

### (5) 임상병리검사

투여기간 종료 후, 모든 생존동물에 대하여 부검 전 16 시간 이상 절식시킨 동물을 isoflurane 으로 흡입 마취하여 개복한 후, 복대동맥으로부터 채혈하였고, 이를 이용하여 혈액학적 검사, 혈액 생화학적 검사 및 혈액응고 검사를 실시하였다.

#### ■ 혈액학적 검사

부검 전 채혈한 혈액 중 약 1 mL 을 항응고제인 EDTA-2K 가 들어있는 vacutainer tube (BD, U.S.A.)에 주입한 후, 주식회사 녹십자랩셀에 의뢰하여 자동혈액분석기 (XH 9000, SYSMEX, Japan)로 다음 항목을 측정하였다.

#### ■ 일반혈액학적 검사

항 목	단 위	측 정 방 법
WBC (white blood cell count)	10 <sup>3</sup> /μL	Flowcytometry
RBC (red blood cell count)	10 <sup>6</sup> /μL	Flowcytometry, isovolumetry
HGB (hemoglobin conc.)	g/dL	Modified CN met-Hb method
HCT (hematocrit)	%	(RBC×MCV)÷10
MCV (mean corpuscular volume)	fL	Histogram
MCH (mean corpuscular hemoglobin)	Pg	(HGB÷RBC)×10
MCHC (mean corpuscular hemoglobin conc.)	g/dL	[HGB÷(RBC×MCV)]×1000
RDW (red cell distribution width)	%	Histogram
PLT (platelet)	10 <sup>3</sup> /μL	Flowcytometry
MPV (mean platelet volume)	fL	Histogram

#### ■혈액생화학적 검사

부검 전 채혈한 혈액 중 약 3 mL을 clot activator가 들어있는 vacutainer tube (BD, UK)에 주입하고 15 - 20 분간 상온에 방치하여 응고시킨 후, 3,000 rpm에서 15 분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청으로 혈액생화학분석기 (Hitachi 7020, HITACHI, Japan)와 전해질분석기 (PDC-800, FUJIFILM, Japan)를 이용하여 아래 항목에 대하여 측정하였다.

항 목	단 위	측 정 방 법
AST (aspartateaminotransferase)	IU/L	IFCC
ALT (alanine aminotransferase)	IU/L	IFCC
ALP (alkaline phosphatase)	IU/L	P-NPP
BUN (blood urea nitrogen)	mg/dL	Urease-UV
CRE (creatinine)	mg/dL	Jaffe
GLU (glucose)	mg/dL	UV
CHO (total cholesterol)	mg/dL	Enzyme
PRO (total protein)	g/dL	Biuret
CPK (creatine phosphokinase)	IU/L	UV-Rate
ALB (albumin)	g/dL	BCG
BIL (total bilirubin)	mg/dL	Evelyn-Malloy
TG (triglyceride)	mg/dL	Enzyme
IP (inorganic phosphorus)	mg/dL	Enzyme
Ca <sup>2+</sup> (calcium ion)	mg/dL	O-CPC
A/G ratio (albumin/globulin ratio)	ratio	PRO, ALB로 산출
Na <sup>+</sup> (sodium ion)	mmol/L	전극법
K <sup>+</sup> (potassium ion)	mmol/L	전극법
Cl <sup>-</sup> (chloride ion)	mmol/L	전극법

#### ■혈액응고검사

부검 전 채혈한 혈액 중 약 1 mL을 3.2% sodium citrate가 담겨있는 vacutainer tube (BD, UK)에 주입한 후, 3,000 rpm에서 15 분간 원심분리하여 혈액응고분석기 (ACL ELITE PRO, Instrumentation Laboratory, U.S.A.)를 이용하여 다음 항목을 측정하였다.

항 목	단 위	측 정 방 법
PT (prothrombin time)	Sec	Nephelometry
aPTT (activated partial thromboplastin time)	Sec	Nephelometry

(6) 부검

투여가 종료된 후, 모든 생존동물에 대하여 16 시간 이상 절식시킨 다음 육안검사를 진행하며 부검을 실시하였다.

(7) 장기중량 측정

측 정 항 목	
뇌 (brain)	신장 <sup>#</sup> (kidney)
심장 (heart)	폐 (lung)
간 (liver)	비장 (spleen)

모든 동물의 다음 장기에 대한 중량을 측정하고, 절식체중에 대한 상대장기 중량비 (organ to bodyweight)를 산출하였다. 좌·우가 있는 장기(<sup>#</sup>)는 좌·우를 합하여 무게를 측정하였다.

(8)조직고정

측 정 항 목	
뇌 (brain)	신장 (kidney)
심장 (heart)	폐 (lung)
간 (liver)	비장 (spleen)

모든 부검동물에서 적출한 아래의 장기 및 조직에 대하여 10% 중성완충포르말린에 고정하였다.

(9)조직병리학적 검사

고정 장기 및 조직에 대하여 삭정, 파라핀 포매, 조직 절편제작, 박절, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 실시하였다. 잔여 장기·조직은 10% 중성완충포르말린용액에 보존하였다.

조직병리학적 검사는 대조군 및 고용량군에 대하여 실시하였다.

11) 통계학적 분석

통계학적 분석은 체중, 혈액검사 및 장기중량에 대하여 SPSS program (SPSS 16.0)을 사용하여 실시하였다.

정규성과 등분상성을 만족하면 One-way analysis of variance (ANOVA)을 실시하며, 유의성이 인정되면 다중비교방법인 Dunnett t-test 를 통하여 대조군과의 유의성을 확인하였다 (유의수준: 양측 5%). 정규성이나 등분산성을 만족하지 않으면 Kruskal-Wallis's H-test 를 실시하며, 유의성이 인정되면 Bonferroni 방법으로 다중성을 보강한 Mann-Whitney U-test 를 통하여 대조군과의 유의성을 확인하였다 (유의수준: 양측 5%).

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 일반증상

관찰기간 동안, 암·수 대조군 및 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군에서 사망례는 관찰되지 않았다.

유연 (salivation)증상이 투여 직후 일시적으로 수컷 2,500 mg/kg 투여군 1 마리에서 투여 25 일에 단 1 회 관찰되었고, 수컷 5,000 mg/kg 투여군에서는 1 - 2 마리에서 투여 17 일부터 투여 종료 시까지 관찰되었다. 상기 증상은 투여직후 일시적으로 관찰된 후 회복되어 시험물질의 물리화학적 특성에 따른 일시적인 것으로 독성학적 변화는 아닌 것으로 판단되었다.

#### 2) 체중변화

시험기간 중 모든 시험군에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

#### 3) 사료섭취량

시험기간 중 모든 시험군에서 사료섭취량의 변화는 관찰되지 않았다.

#### 4) 혈액학적 검사

암·수 시험물질 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

#### 5) 혈액생화학적 검사

암·수 시험물질 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

그 외, 수컷 1,250 mg/kg 투여군에서 혈액요소질소 (BUN) 수치의 감소 ( $p < 0.05$ ), 2,500 mg/kg 투여군에서 BUN 및 A/G ratio 수치의 감소 ( $p < 0.05$ )가 관찰되었으며 용량상관성이 없었으며, 암컷 5,000 mg/kg 투여군에서 칼슘 ( $Ca^{2+}$ ) 및 나트륨 ( $Na^+$ ) 수치의 감소가 관찰되었으나 경미한 변동으로서 다른 관련된 항목의 변화가 관찰되지 않았으므로 독성학적 의미는 없었다.

#### 6) 혈액응고 검사

암·수 시험물질 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

#### 7) 장기중량

암·수 시험물질 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

그 외, 수컷 5,000 mg/kg 투여군에서 신장의 상대장기 중량의 증가 ( $p < 0.05$ )가 관찰되었으나, 체중감소에 따른 증가로 조직병리학적 검사 결과 특이성이 관찰되지 않아 독성학적 의미는 없었으며, 암컷 1,250 mg/kg 투여군에서 간 및 신장의 절대장기 중량이 증가 ( $p < 0.05$ ) 하였으나 용량의존성이 없는 변화로 독성학적 의미는 없었다.

#### 8) 부검소견

부검에서 암·수 대조군 및 시험물질 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군에서 어떠한 육안소견도 관찰되지 않았다.

#### 9)조직병리학적 검사

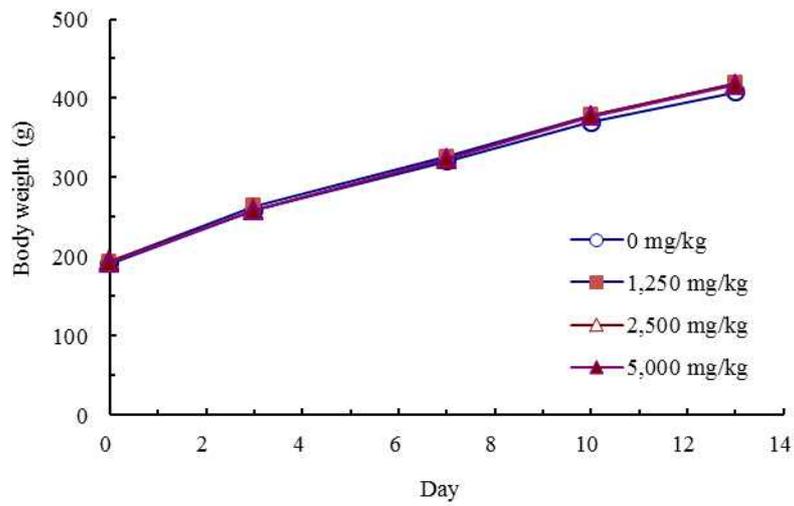
암·수 시험물질 5,000 mg/kg 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

그 외, 암·수 대조군 및 시험물질 5,000 mg/kg 투여군에서 관찰된 소견은 모두 자연발생성으로서 우발적 또는 산발적으로 분포하였으므로 독성학적 의미는 없었다.

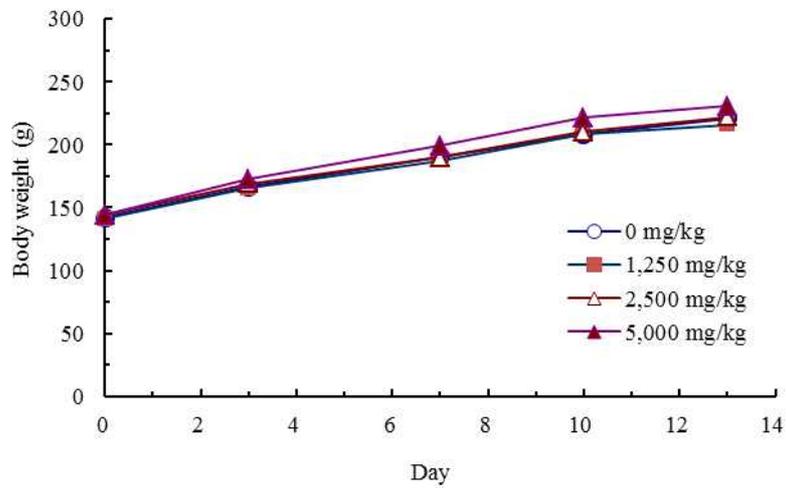
#### 4. 결론

본 시험은 암·수 Sprague-Dawley 랫드를 이용하여 시험물질 인삼종자오일을 0, 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 용량으로 4주간 반복 경구투여 시 나타나는 독성반응을 평가하고, 13주 반복투여 독성시험의 용량설정 근거자료로 이용하기 위하여 임상병리검사, 부검, 장기중량 측정 및 조직병리학적 검사를 실시하였으며, 그 결과는 다음과 같다. 시험기간 중 사망동물은 발생하지 않았고, 일반증상 관찰, 체중변화, 사료 섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 측정, 부검 및 조직병리학적 검사 결과 암·수 모두 시험물질 투여에 의한 독성학적인 변화는 관찰되지 않았다. 따라서, 13주 반복 경구투여 독성시험에서는 5,000 mg/kg/day를 고용량으로 설정하고, 공비 2로 하여 2,500 및 1,250 mg/kg/day를 중용량 및 저용량으로 설정하는 것이 합당할 것으로 판단한다.

FIGURES



Mean body weights of male rats



Mean body weights of female rats

TABLES

Summary of clinical signs

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing														
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing														
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings salivation	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings salivation	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3
						1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing														
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing														
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
G1 0	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	No abnormality findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

## Mean body weights

Sex: Male (g)

Group /Dose (mg/kg)		Weeks					Final weight gain
		0	1	2	3	4	
G1 0	Mean	191.3	258.4	320.3	369.9	407.6	216.2
	S.D.	5.3	2.7	9.2	7.6	11.1	16.0
	N	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	193.4	264.2	326.3	378.5	418.8	225.5
	S.D.	5.5	7.6	7.6	11.8	19.4	20.9
	N	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	194.8	259.0	322.6	377.7	418.0	223.1
	S.D.	5.1	6.8	5.3	12.9	16.3	14.7
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	192.0	257.9	323.9	376.6	416.6	224.6
	S.D.	5.4	6.8	13.2	20.5	26.2	23.4
	N	5	5	5	5	5	5

Sex: Female (g)

Group /Dose (mg/kg)		Weeks					Final weight gain
		0	1	2	3	4	
G1 0	Mean	142.0	166.6	190.3	208.0	220.9	78.9
	S.D.	6.4	5.6	11.2	9.0	10.7	10.5
	N	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	141.3	165.5	187.5	208.4	215.7	74.4
	S.D.	4.5	8.5	8.6	16.6	13.3	10.8
	N	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	143.9	169.1	189.6	210.2	221.7	77.7
	S.D.	6.8	9.6	8.3	7.5	6.9	6.7
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	144.2	172.5	199.2	221.3	230.5	86.3
	S.D.	6.1	9.4	11.1	14.6	19.0	15.1
	N	5	5	5	5	5	5

## Mean food consumption

Sex: Male							(g)
Group /Dose (mg/kg)		Weeks					
		0	1	2	3	4	
G1 0	Mean	20.1	22.3	25.7	24.5	26.0	
	S.D.	1.4	1.6	0.9	1.6	2.5	
	N	5	5	5	5	5	
G2 1,250	Mean	20.0	23.6	25.6	26.0	26.2	
	S.D.	0.9	0.5	0.2	2.8	2.6	
	N	5	5	5	5	5	
G3 2,500	Mean	21.4	21.9	25.9	23.9	26.3	
	S.D.	2.7	1.5	4.0	1.8	1.8	
	N	5	5	5	5	5	
G4 5,000	Mean	20.8	23.6	27.9	25.2	27.0	
	S.D.	0.9	1.1	1.7	3.0	5.2	
	N	5	5	5	5	5	

Sex: Female							(g)
Group /Dose (mg/kg)		Weeks					
		0	1	2	3	4	
G1 0	Mean	14.3	13.7	16.3	15.5	16.7	
	S.D.	1.6	1.8	4.2	1.4	0.7	
	N	5	5	5	5	5	
G2 1,250	Mean	12.5	12.5	14.6	14.7	16.9	
	S.D.	1.1	1.5	0.4	4.6	2.1	
	N	5	5	5	5	5	
G3 2,500	Mean	14.1	13.7	13.8	14.2	15.4	
	S.D.	1.6	0.9	2.2	1.1	0.6	
	N	5	5	5	5	5	
G4 5,000	Mean	14.6	13.5	16.0	14.1	15.3	
	S.D.	1.1	1.3	1.9	3.0	2.1	
	N	5	5	5	5	5	

## Summary of hematological parameters

Sex: Male

Group		WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	MPV
/Dose (mg/kg)		(10 <sup>3</sup> /μL)	(10 <sup>6</sup> /μL)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	(%)	(10 <sup>3</sup> /μL)	(fL)
G1 0	Mean	6.87	7.43	14.6	47.9	64.6	19.7	30.5	11.2	1202	6.8
	S.D.	3.07	0.59	0.7	2.9	1.3	1.3	1.5	0.3	113	0.2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	9.15	7.35	14.8	47.5	64.7	20.2	31.2	10.8	1132	6.6
	S.D.	2.32	0.46	0.8	2.3	1.6	0.7	0.3	0.2	159	0.3
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	7.86	7.22	14.5	46.9	65.0	20.0	30.8	11.0	1109	6.7
	S.D.	2.37	0.06	0.3	1.1	1.9	0.6	0.3	0.3	175	0.2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	7.24	7.47	14.5	47.7	64.0	19.4	30.4	10.8	1224	6.7
	S.D.	2.12	0.52	0.7	3.1	2.0	0.6	0.7	0.1	157	0.4
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Sex: Female

Group		WBC	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT	MPV
/Dose (mg/kg)		(10 <sup>3</sup> /μL)	(10 <sup>6</sup> /μL)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	(%)	(10 <sup>3</sup> /μL)	(fL)
G1 0	Mean	3.16	7.24	14.2	43.8	60.4	19.6	32.5	10.0	1181	6.4
	S.D.	0.65	0.28	0.5	1.8	1.2	0.2	0.5	0.2	107	0.3
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	4.47 *	7.39	14.8	45.5	61.5	19.9 *	32.4	10.3	1086	6.9
	S.D.	0.30	0.16	0.5	1.5	1.1	0.2	0.6	0.3	199	0.7
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.0
G3 2,500	Mean	4.12	7.43	14.5	45.3	60.9	19.4	31.9	10.4	1099	6.7
	S.D.	2.53	0.29	0.6	2.3	1.5	0.4	0.5	0.4	119	0.5
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	5.65 *	7.10	14.5	44.1	62.1	20.4	32.8	10.1	1098	6.7
	S.D.	1.69	0.45	0.4	1.9	2.2	0.8	1.0	0.3	251	0.4
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Significantly different from the control : \*  $p < 0.05$ .

## Summary of serum biochemical values

Sex: Male

Group		AST	ALT	T-BIL	ALP	CK	BUN	GLU	ALB	TP	GGT
/Dose (mg/kg)		(IU/L)	(IU/L)	(mg/mL)	(IU/L)	(IU/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(g/dL)	(g/dL)	(IU/L)
G1 0	Mean	123	33	-	632	434	8	94	3.1	7.5	0
	S.D.	9	5	-	181	158	1	9	0.2	0.1	0
	N	5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	127	34	-	565	491	9	92	3.1	7.5	0
	S.D.	20	3	-	73	127	2	5	0.1	0.3	0
	N	5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	3 ^
G3 2,500	Mean	120	31	-	613	424	9	96	3.0	7.5	0
	S.D.	18	5	-	75	96	2	9	0.1	0.2	1
	N	5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^
G4 5,000	Mean	115	34	-	604	552	8	117	3.1	7.6	1
	S.D.	22	5	-	62	209	2	25	0.1	0.3	1
	N	5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^

Group		A/G	CHO	CRE	TG	IP	Ca <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>
/Dose (mg/kg)		ratio	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mmol/L)	mmol/L	mmol/L
G1 0	Mean	0.59	60	0.50	36	9.54	10.5	140	6.0	98
	S.D.	0.02	6	0.00	13	0.92	0.4	2	1.0	3
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	0.59	58	0.50	45	8.95	10.7	142	5.2	98
	S.D.	0.01	9	0.00	10	0.54	0.4	1	0.3	3
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	0.59	55	0.50	29	9.33	10.7	142	5.6	99
	S.D.	0.01	8	0.00	9	0.61	0.5	1	0.9	4
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	0.60	55	0.54	32	10.24	11.8 *	141	5.9	100
	S.D.	0.02	8	0.05	14	1.51	0.6	1	1.3	2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Significantly different from the control : \* p<0.05.

^ : Values below the level of detection are excluded from statistics.

- : No data

## Summary of serum biochemical values

Sex: Female

Group		AST	ALT	T-BIL	ALP	CK	BUN	GLU	ALB	TP	GGT
/Dose (mg/kg)		(IU/L)	(IU/L)	(mg/mL)	(IU/L)	(IU/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(g/dL)	(g/dL)	(IU/L)
G1 0	Mean	136	82	0.00	438	513	11	85	3.4	7.7	1
	S.D.	31	122	0.00	160	168	3	18	0.1	0.2	1
	N	5	5	3 ^	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	112	26	-	394	453	11	86	3.4	8.0	1
	S.D.	15	3	-	88	166	2	7	0.1	0.4	1
	N	5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^
G3 2,500	Mean	105	39	0.02	461	317	10	92	3.4	7.8	1
	S.D.	13	15	-	87	109	2	11	0.1	0.4	1
	N	5	5	1 ^	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	118	29	-	460	395	13	91	3.3	7.9	1
	S.D.	17	4	-	81	104	4	11	0.2	0.4	1
	N	5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^

Group		A/G	CHO	CRE	TG	IP	Ca <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>
/Dose (mg/kg)		ratio	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	mmol/L	mmol/L	mmol/L
G1 0	Mean	0.56	57	0.60	11	6.92	9.9	142	4.7	103
	S.D.	0.01	9	0.07	3	0.51	0.4	0	0.1	0
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	0.58	68	0.56	18	7.39	10.5	141	4.6	103
	S.D.	0.02	8	0.05	10	0.50	0.6	1	0.4	2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	0.57	63	0.54	17	7.17	9.9	142	4.8	101
	S.D.	0.02	10	0.05	9	0.29	0.3	1	0.4	4
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	0.58	63	0.60	14	7.15	9.9	142	4.6	101
	S.D.	0.01	11	0.00	4	0.58	0.2	1	0.3	2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

^ : Values below the level of detection are excluded from statistics.

- : No data

## Summary of blood chemical values

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)		PT (Sec)	aPTT (Sec)
G1 0	Mean	13.2	25.6
	S.D.	1.6	3.2
	N	5	5
G2 1,250	Mean	12.8	23.9
	S.D.	1.4	0.9
	N	5	5
G3 2,500	Mean	11.8	24.5
	S.D.	0.5	1.6
	N	5	5
G4 5,000	Mean	12.4	24.7
	S.D.	2.0	5.3
	N	5	5

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)		PT (Sec)	aPTT (Sec)
G1 0	Mean	10.2	20.2
	S.D.	0.7	2.9
	N	5	5
G2 1,250	Mean	10.3	23.1
	S.D.	1.0	8.6
	N	5	5
G3 2,500	Mean	11.8	24.5
	S.D.	0.5	1.6
	N	5	5
G4 5,000	Mean	10.1	19.3
	S.D.	0.6	2.0
	N	5	5

Mean absolute organ weights

Sex: Male		(g)						
Group / Dose (mg/kg)		B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney
G1 0	Mean	379.9	1.9664	12.8453	1.7101	0.8153	1.4183	2.9400
	S.D.	13.6	0.0621	1.0729	0.0497	0.1024	0.0638	0.0803
	N	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	389.1	1.9967	12.7925	1.6785	0.7252	1.3356	2.9718
	S.D.	18.4	0.0786	1.1110	0.1197	0.0749	0.0672	0.0292
	N	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	394.8	1.9856	13.1446	1.7220	0.8006	1.4689	2.9260
	S.D.	15.1	0.0782	0.3883	0.1216	0.1026	0.0669	0.2276
	N	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	394.7	1.9597	14.6990 *	1.7279	0.6957	1.4569	3.0871
	S.D.	23.3	0.0867	1.4002	0.2021	0.1888	0.1458	0.2252
	N	5	5	5	5	5	5	5

Sex: Female		(g)						
Group / Dose (mg/kg)		B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney
G1 0	Mean	208.2	1.8035	6.5385	1.1563	0.4510	0.8381	1.6752
	S.D.	9.8	0.0571	0.6515	0.0982	0.0702	0.0646	0.1134
	N	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	200.8	1.7801	6.5536	1.0987	0.4576	0.8325	1.6036
	S.D.	12.0	0.0676	0.6290	0.1482	0.0966	0.1076	0.1794
	N	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	210.5	1.8038	6.6132	1.1001	0.4472	0.8756	1.6406
	S.D.	9.0	0.1319	0.4781	0.0194	0.0921	0.0766	0.1159
	N	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	219.1	1.8043	7.1053	1.1232	0.5056	0.8256	1.6809
	S.D.	18.9	0.0907	0.6705	0.1101	0.0602	0.0744	0.0651
	N	5	5	5	5	5	5	5

Significantly different from the control : \*  $p < 0.05$ .

### Mean relative organ weights

Sex: Male		(g/100g body weight)						
Group / Dose (mg/kg)		B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney
G1 0	Mean	379.9	0.5179	3.3774	0.4507	0.2151	0.3733	0.7749
	S.D.	13.6	0.0182	0.1881	0.0241	0.0315	0.0110	0.0424
	N	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	389.1	0.5142	3.2836	0.4316	0.1865	0.3434 *	0.7654
	S.D.	18.4	0.0335	0.1648	0.0275	0.0180	0.0130	0.0448
	N	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	394.8	0.5030	3.3323	0.4362	0.2023	0.3722	0.7423
	S.D.	15.1	0.0103	0.1306	0.0269	0.0194	0.0138	0.0680
	N	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	394.7	0.4975	3.7206	0.4381	0.1753	0.3686	0.7818
	S.D.	23.3	0.0283	0.2101	0.0468	0.0413	0.0214	0.0219
	N	5	5	5	5	5	5	5

Sex: Female		(g/100g body weight)						
Group / Dose (mg/kg)		B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney
G1 0	Mean	208.2	0.8670	3.1352	0.5550	0.2163	0.4026	0.8049
	S.D.	9.8	0.0336	0.2026	0.0322	0.0291	0.0280	0.0479
	N	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	Mean	200.8	0.8887	3.2612	0.5458	0.2281	0.4146	0.7982
	S.D.	12.0	0.0591	0.2270	0.0524	0.0484	0.0499	0.0736
	N	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	Mean	210.5	0.8561	3.1393	0.5231	0.2120	0.4155	0.7793
	S.D.	9.0	0.0358	0.1402	0.0187	0.0396	0.0242	0.0452
	N	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	219.1	0.8269	3.2442	0.5130	0.2316	0.3773	0.7706
	S.D.	18.9	0.0609	0.1652	0.0290	0.0307	0.0237	0.0557
	N	5	5	5	5	5	5	5

Significantly different from the control : \*  $p < 0.05$ .

## Summary of necropsy findings

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Organ	Necropsy findings	No. of animals affected	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1 0	5	All	Unremarkable findings		S	28
G2 1,250	5	All	Unremarkable findings		S	28
G3 2,500	5	All	Unremarkable findings		S	28
G4 5,000	5	All	Unremarkable findings		S	28

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Organ	Necropsy findings	No. of animals affected	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1 0	5	All	Unremarkable findings		S	28
G2 1,250	5	All	Unremarkable findings		S	28
G3 2,500	5	All	Unremarkable findings		S	28
G4 5,000	5	All	Unremarkable findings		S	28

S: scheduled

### Summary histopathological findings

Organ / Findings	Sex		Female		
	Group	G1	G4	G1	G4
	Dose (mg/kg)	0	5,000	0	5,000
	No. of animals	5	5	5	5
<b>Brain</b>	<b>No. examined</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>Heart</b>	<b>No. examined</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
-Myocarditis, focal		0	2	0	0
<b>Kidney</b>	<b>No. examined</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
-Basophilic tubules, focal		0	1	0	0
-Cell infiltration, lymphocytic, focal, interstitium		2	0	0	1
-Mineralization, CM junction		0	0	4	1
<b>Liver</b>	<b>No. examined</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
-Periportal vacuolation		0	0	0	0
<b>Lung</b>	<b>No. examined</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>Spleen</b>	<b>No. examined</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

APPENDICES

Individual clinical signs

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical signs	Days after dosing													
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
G1 0	11001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G2 1,250	12001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3 2,500	13001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G4 5,000	14001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : no abnormal findings

## Individual clinical signs

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing													
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
G1 0	11001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G2 1,250	12001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3 2,500	13001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
G4 5,000	14001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	14003		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : no abnormal findings

+ : salivation

## Individual clinical signs

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical signs	Days after dosing													
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
G1 0	21001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G2 1,250	22001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3 2,500	23001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G4 5,000	24001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : no abnormal findings

## Individual clinical signs

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical signs	Days after dosing													
			14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
G1 0	21001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G2 1,250	22001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G3 2,500	23001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G4 5,000	24001		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24002		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24003		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24004		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24005		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : no abnormal findings

## Individual body weights

Sex: Male (g)

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Weeks					Final weight gain
		0	1	2	3	4	
G1 0	11001	198.1	260.0	322.4	362.6	391.7	193.6
	11002	194.8	261.7	330.6	373.9	409.9	215.1
	11003	191.3	255.3	305.3	360.6	402.1	210.8
	11004	187.8	259.3	321.0	376.5	413.4	225.6
	11005	184.7	255.9	322.0	375.7	420.7	236.0
	Mean	191.3	258.4	320.3	369.9	407.6	216.2
	S.D.	5.3	2.7	9.2	7.6	11.1	16.0
	N	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	12001	198.9	265.7	330.4	378.9	409.5	210.6
	12002	198.2	272.6	332.4	388.8	426.4	228.2
	12003	192.9	268.5	332.6	388.5	437.1	244.2
	12004	191.2	261.3	319.5	359.8	389.4	198.2
	12005	185.6	252.8	316.8	376.4	431.7	246.1
	Mean	193.4	264.2	326.3	378.5	418.8	225.5
	S.D.	5.5	7.6	7.6	11.8	19.4	20.9
	N	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	13001	198.8	269.4	330.8	379.7	421.0	222.2
	13002	194.6	255.9	324.4	376.0	411.2	216.6
	13003	194.9	257.4	317.4	361.5	399.4	204.5
	13004	199.3	261.0	321.8	397.4	443.5	244.2
	13005	186.6	251.3	318.7	374.1	414.8	228.2
	Mean	194.8	259.0	322.6	377.7	418.0	223.1
	S.D.	5.1	6.8	5.3	12.9	16.3	14.7
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	14001	196.0	264.3	338.4	392.9	441.3	245.3
	14002	192.3	255.9	320.9	386.2	424.9	232.6
	14003	196.6	264.5	336.2	391.7	437.1	240.5
	14004	192.1	256.4	307.2	344.8	379.4	187.3
	14005	183.1	248.2	316.7	367.6	400.4	217.3
	Mean	192.0	257.9	323.9	376.6	416.6	224.6
	S.D.	5.4	6.8	13.2	20.5	26.2	23.4
	N	5	5	5	5	5	5

## Individual body weights

Sex: Female							(g)
Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Weeks					Final weight gain
		0	1	2	3	4	
G1 0	21001	152.1	170.0	208.0	219.4	232.7	80.6
	21002	141.8	157.7	178.5	197.7	205.5	63.7
	21003	142.1	167.5	183.2	201.5	215.6	73.5
	21004	139.3	172.2	191.0	214.5	227.8	88.5
	21005	134.5	165.6	190.6	207.0	222.8	88.3
	Mean	142.0	166.6	190.3	208.0	220.9	78.9
	S.D.	6.4	5.6	11.2	9.0	10.7	10.5
	N	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	22001	145.6	170.8	190.0	208.6	214.0	68.4
	22002	142.1	165.3	187.6	205.9	214.3	72.2
	22003	143.4	174.2	198.6	235.3	236.0	92.6
	22004	141.7	165.2	186.7	202.2	215.5	73.8
	22005	133.7	152.0	174.7	190.0	198.5	64.8
	Mean	141.3	165.5	187.5	208.4	215.7	74.4
	S.D.	4.5	8.5	8.6	16.6	13.3	10.8
	N	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	23001	150.3	182.0	199.0	215.5	229.1	78.8
	23002	150.4	173.5	183.4	205.3	217.4	67.0
	23003	141.7	170.1	189.4	212.9	219.5	77.8
	23004	143.1	163.0	196.8	217.7	228.6	85.5
	23005	134.2	157.1	179.6	199.8	213.8	79.6
	Mean	143.9	169.1	189.6	210.2	221.7	77.7
	S.D.	6.8	9.6	8.3	7.5	6.9	6.7
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	24001	150.4	177.8	202.1	229.0	242.8	92.4
	24002	148.4	185.4	217.3	241.2	251.0	102.6
	24003	144.1	161.7	194.2	222.0	237.9	93.8
	24004	143.3	171.8	191.2	207.5	207.5	64.2
	24005	134.7	166.0	191.1	206.9	213.3	78.6
	Mean	144.2	172.5	199.2	221.3	230.5	86.3
	S.D.	6.1	9.4	11.1	14.6	19.0	15.1
	N	5	5	5	5	5	5

## Individual food consumption

Sex: Male

(g)

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Weeks									
		0		1		2		3		4	
		Total*	Mean**	Total	Mean	Total	Mean	Total	Mean	Total	Mean
G1 0	2	37.1	18.6	42.6	21.3	50.4	25.2	46.6	23.3	48.5	24.3
	2	41.2	20.6	48.3	24.2	53.4	26.7	52.6	26.3	57.7	28.9
	1	21.2	21.2	21.4	21.4	25.1	25.1	24.0	24.0	24.9	24.9
	Mean		20.1		22.3		25.7		24.5		26.0
	S.D.		1.4		1.6		0.9		1.6		2.5
	N		5		5		5		5		5
G2 1,250	2	41.7	20.9	48.2	24.1	51.4	25.7	51.6	25.8	52.6	26.3
	2	40.3	20.2	46.4	23.2	50.8	25.4	46.5	23.3	46.9	23.5
	1	19.1	19.1	23.5	23.5	25.6	25.6	28.8	28.8	28.7	28.7
	Mean		20.0		23.6		25.6		26.0		26.2
	S.D.		0.9		0.5		0.2		2.8		2.6
	N		5		5		5		5		5
G3 2,500	2	43.2	21.6	46.8	23.4	60.8	30.4	51.1	25.6	56.5	28.3
	2	37.3	18.7	43.3	21.7	49.1	24.6	48.1	24.1	51.8	25.9
	1	24.0	24.0	20.5	20.5	22.8	22.8	22.0	22.0	24.7	24.7
	Mean		21.4		21.9		25.9		23.9		26.3
	S.D.		2.7		1.5		4.0		1.8		1.8
	N		5		5		5		5		5
G4 5,000	2	41.2	20.6	49.3	24.7	59.6	29.8	56.6	28.3	65.3	32.7
	2	40.0	20.0	47.1	23.6	54.1	27.1	49.9	25.0	51.7	25.9
	1	21.7	21.7	22.5	22.5	26.7	26.7	22.4	22.4	22.4	22.4
	Mean		20.8		23.6		27.9		25.2		27.0
	S.D.		0.9		1.1		1.7		3.0		5.2
	N		5		5		5		5		5

\*: the sum of weekly food consumption of rats in the cage

\*\* : the average of weekly food consumption of each rats in the cage

## Individual food consumption

Sex: Female

(g)

Group /Dose (mg/kg)	No. of animals	Weeks									
		0		1		2		3		4	
		Total*	Mean**	Total	Mean	Total	Mean	Total	Mean	Total	Mean
G1 0	2	25.8	12.9	23.4	11.7	31.8	15.9	28.5	14.3	32.0	16.0
	2	27.7	13.9	28.7	14.4	24.6	12.3	30.2	15.1	34.7	17.4
	1	16.0	16.0	15.1	15.1	20.7	20.7	17.0	17.0	16.6	16.6
	Mean		14.3		13.7		16.3		15.5		16.7
	S.D.		1.6		1.8		4.2		1.4		0.7
	N		5		5		5		5		5
G2 1,250	2	26.9	13.5	24.8	12.4	30.1	15.1	35.9	18.0	36.7	18.4
	2	25.4	12.7	28.0	14.0	28.4	14.2	33.2	16.6	35.6	17.8
	1	11.2	11.2	11.1	11.1	14.5	14.5	9.4	9.4	14.5	14.5
	Mean		12.5		12.5		14.6		14.7		16.9
	S.D.		1.1		1.5		0.4		4.6		2.1
	N		5		5		5		5		5
G3 2,500	2	31.8	15.9	25.3	12.7	23.5	11.8	26.1	13.1	30.1	15.1
	2	26.1	13.1	28.3	14.2	27.1	13.6	28.3	14.2	30.2	15.1
	1	13.3	13.3	14.4	14.4	16.2	16.2	15.3	15.3	16.1	16.1
	Mean		14.1		13.7		13.8		14.2		15.4
	S.D.		1.6		0.9		2.2		1.1		0.6
	N		5		5		5		5		5
G4 5,000	2	26.9	13.5	29.9	15.0	36.4	18.2	31.6	15.8	33.3	16.7
	2	31.2	15.6	25.4	12.7	29.2	14.6	31.7	15.9	32.7	16.4
	1	14.7	14.7	12.7	12.7	15.2	15.2	10.7	10.7	12.9	12.9
	Mean		14.6		13.5		16.0		14.1		15.3
	S.D.		1.1		1.3		1.9		3.0		2.1
	N		5		5		5		5		5

\*: the sum of weekly food consumption of rats in the cage

\*\* : the average of weekly food consumption of each rats in the cage

## Individual hematological parameters

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	PLT (10 <sup>3</sup> /μL)	MPV (fL)
G1 0	11001	8.79	8.39	14.6	52.2	62.3	17.5	28.0	10.7	1149	6.6
	11002	3.96	7.56	15.7	49.4	65.4	20.7	31.7	11.5	1340	7.0
	11003	4.03	6.91	14.0	45.0	65.2	20.3	31.1	11.4	1149	6.7
	11004	11.04	7.05	14.5	46.2	65.5	20.5	31.3	11.3	1072	7.0
	11005	6.53	7.23	14.2	46.6	64.5	19.7	30.5	11.3	1299	6.9
	Mean	6.87	7.43	14.60	47.88	64.58	19.74	30.52	11.24	1201.80	6.84
	S.D.	3.07	0.59	0.66	2.90	1.33	1.31	1.47	0.31	112.88	0.18
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	12001	7.60	7.31	14.6	47.0	64.3	20.0	31.0	10.8	1060	6.9
	12002	9.13	7.36	14.3	46.6	63.4	19.5	30.8	11.0	1158	6.4
	12003	13.17	7.08	15.0	47.5	67.2	21.2	31.5	10.8	945	6.2
	12004	7.95	8.11	16.1	51.3	63.2	19.8	31.4	10.4	1378	6.5
	12005	7.91	6.90	14.0	45.0	65.2	20.3	31.2	10.8	1120	6.8
	Mean	9.15	7.35	14.8	47.5	64.7	20.2	31.2	10.8	1132	6.6
	S.D.	2.32	0.46	0.8	2.3	1.6	0.7	0.3	0.2	159	0.3
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	13001	9.16	7.21	14.8	47.7	66.2	20.5	31.0	10.6	1258	7.0
	13002	6.02	7.18	14.4	46.3	64.5	20.1	31.1	10.8	961	6.6
	13003	8.39	7.29	13.9	45.3	62.2	19.1	30.7	11.1	1184	6.4
	13004	10.79	7.26	14.6	47.1	64.9	20.1	30.9	11.1	1257	6.7
	13005	4.95	7.15	14.6	48.1	67.3	20.4	30.3	11.3	885	6.9
	Mean	7.86	7.22	14.5	46.9	65.0	20.0	30.8	11.0	1109	6.7
	S.D.	2.37	0.06	0.3	1.1	1.9	0.6	0.3	0.3	175	0.2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	14001	6.88	7.48	14.5	46.8	62.6	19.4	31.1	10.7	1145	6.9
	14002	9.02	7.39	14.4	46.2	62.5	19.4	31.1	10.6	1050	6.2
	14003	9.46	6.65	13.5	44.4	66.8	20.3	30.4	10.9	1264	7.0
	14004	4.16	7.78	14.5	48.7	62.5	18.7	29.8	10.9	1468	6.4
	14005	6.66	8.03	15.5	52.5	65.4	19.3	29.5	10.8	1191	7.2
	Mean	7.24	7.47	14.5	47.7	64.0	19.4	30.4	10.8	1224	6.7
	S.D.	2.12	0.52	0.7	3.1	2.0	0.6	0.7	0.1	157	0.4
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

## Individual hematological parameters

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	WBC ( $10^3/\mu\text{L}$ )	RBC ( $10^6/\mu\text{L}$ )	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	PLT ( $10^3/\mu\text{L}$ )	MPV (fL)
G1 0	21001	4.21	7.59	14.8	45.3	59.7	19.5	32.7	10.2	1086	6.7
	21002	3.13	7.35	14.5	44.3	60.3	19.7	32.7	10.1	1273	6.7
	21003	3.17	6.81	13.4	40.8	59.9	19.7	33.0	10.1	1189	6.0
	21004	2.51	7.19	14.3	45.0	62.5	19.9	31.7	9.7	1299	6.4
	21005	2.77	7.27	14.1	43.5	59.8	19.4	32.3	10.0	1060	6.2
	Mean	3.16	7.24	14.2	43.8	60.4	19.6	32.5	10.0	1181	6.4
	S.D.	0.65	0.28	0.5	1.8	1.2	0.2	0.5	0.2	107	0.3
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	22001	4.60	7.34	14.6	44.1	60.0	20.0	33.2	10.0	1259	6.5
	22002	4.15	7.45	14.8	45.9	61.6	19.8	32.2	10.4	878	7.0
	22003	4.90	7.15	14.1	43.7	61.1	19.7	32.2	10.4	1271	6.2
	22004	4.22	7.43	14.9	46.9	63.0	20.0	31.7	10.7	871	6.7
	22005	4.46	7.58	15.4	46.7	61.6	20.2	32.9	10.2	1153	8.1
	Mean	4.47	7.39	14.8	45.5	61.5	19.9	32.4	10.3	1086	6.9
	S.D.	0.30	0.16	0.5	1.5	1.1	0.2	0.6	0.3	199	0.7
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	23001	2.72	7.71	15.4	48.2	62.5	19.9	31.9	10.3	1185	6.5
	23002	8.22	7.02	13.9	43.0	61.2	19.8	32.4	11.1	1024	7.5
	23003	4.85	7.33	13.9	42.9	58.6	19.0	32.4	10.0	1266	6.0
	23004	2.03	7.71	14.7	46.8	60.6	19.1	31.5	10.1	1018	6.7
	23005	2.76	7.40	14.4	45.6	61.6	19.4	31.5	10.3	1001	6.7
	Mean	4.12	7.43	14.5	45.3	60.9	19.4	31.9	10.4	1099	6.7
	S.D.	2.53	0.29	0.6	2.3	1.5	0.4	0.5	0.4	119	0.5
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	24001	4.27	6.85	14.4	41.9	61.1	21.0	34.4	10.2	1005	7.2
	24002	5.18	7.04	14.4	45.3	64.3	20.4	31.7	10.6	1508	6.5
	24003	3.99	6.54	14.0	42.3	64.6	21.4	33.0	10.0	1146	6.7
	24004	7.00	7.69	15.1	46.2	60.1	19.6	32.6	10.1	968	6.1
	24005	7.82	7.38	14.4	44.6	60.4	19.6	32.4	9.8	861	6.9
	Mean	5.65	7.10	14.5	44.1	62.1	20.4	32.8	10.1	1098	6.7
	S.D.	1.69	0.45	0.4	1.9	2.2	0.8	1.0	0.3	251	0.4
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

## Individual serum biochemical values

Sex: Male

Group	Animal	AST	ALT	T-BIL	ALP	CK	BUN	GLU	ALB	TP	GGT	
/Dose (mg/kg)	ID	(IU/L)	(IU/L)	(mg/mL)	(IU/L)	(IU/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(g/dL)	(g/dL)	(IU/L)	
G1 0	11001	138	36	<0.00	894	390	8	87	3.0	7.4	0	
	11002	123	31	<0.00	655	394	7	91	3.4	7.5	0	
	11003	122	31	<0.00	587	371	7	109	3.0	7.6	0	
	11004	114	41	<0.00	639	307	9	91	3.0	7.4	0	
	11005	118	28	<0.00	386	709	8	93	3.0	7.4	0	
	Mean		123	33	-	632	434	8	94	3.1	7.5	0
	S.D.		9	5	-	181	158	1	9	0.2	0.1	0
N		5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	5	
G2 1,250	12001	100	36	<0.00	608	344	9	92	2.9	7.1	<0.00	
	12002	133	29	<0.00	660	632	9	97	3.1	7.9	0	
	12003	156	35	<0.00	572	564	9	92	3.1	7.5	0	
	12004	127	36	<0.00	486	545	8	84	3.2	7.6	<0.00	
	12005	119	36	<0.00	501	371	12	94	3.0	7.5	0	
	Mean		127	34	-	565	491	9	92	3.1	7.5	0
	S.D.		20	3	-	73	127	2	5	0.1	0.3	0
N		5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	3 ^	
G3 2,500	13001	113	30	<0.00	565	340	12	89	3.0	7.4	0	
	13002	146	39	<0.00	691	547	9	89	3.1	7.6	<0.00	
	13003	130	33	<0.00	690	484	9	95	3.0	7.2	0	
	13004	109	30	<0.00	526	430	8	96	3.0	7.6	1	
	13005	103	25	<0.00	593	319	8	112	3.1	7.6	0	
	Mean		120	31	-	613	424	9	96	3.0	7.5	0
	S.D.		18	5	-	75	96	2	9	0.1	0.2	1
N		5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^	
G4 5,000	14001	114	25	<0.00	561	464	9	94	3.1	7.6	0	
	14002	139	34	<0.00	574	539	7	105	2.9	7.3	1	
	14003	129	39	<0.00	641	515	12	135	3.2	7.7	<0.00	
	14004	111	35	<0.00	548	343	7	100	3.1	7.5	0	
	14005	82	35	<0.00	695	901	7	151	3.0	8.0	2	
	Mean		115	34	-	604	552	8	117	3.1	7.6	1
	S.D.		22	5	-	62	209	2	25	0.1	0.3	1
N		5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^	

<0.00 : Below the level of detection

^ : Values below the level of detection are excluded from statistics.

- : No date

## Individual serum biochemical values

Sex: Male

Group	Animal ID	A/G ratio	CHO (mg/dL)	CRE (mg/dL)	TG (mg/dL)	IP (mg/dL)	Ca <sup>2+</sup> (mg/dL)	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	Cl <sup>-</sup> (mmol/L)
G1 0	11001	0.59	55	0.5	31	10.22	10.4	140	6.0	100
	11002	0.55	52	0.5	34	8.69	10.0	140	5.4	94
	11003	0.61	61	0.5	23	9.61	11.1	143	7.1	97
	11004	0.59	63	0.5	58	8.55	10.7	140	4.6	100
	11005	0.59	68	0.5	36	10.64	10.5	139	6.9	101
	Mean	0.59	60	0.5	36	9.54	10.5	140	6.0	98
	S.D.	0.02	6	0.0	13	0.92	0.4	2	1.0	3
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
G2 1,250	12001	0.59	59	0.5	51	8.38	10.1	141	5.0	96
	12002	0.61	44	0.5	51	9.09	10.6	142	5.4	95
	12003	0.59	66	0.5	49	8.81	11.0	141	5.1	96
	12004	0.58	58	0.5	47	8.66	10.6	142	5.7	101
	12005	0.60	64	0.5	27	9.80	11.0	142	5.0	100
	Mean	0.59	58	0.5	45	8.95	10.7	142	5.2	98
	S.D.	0.01	9	0.0	10	0.54	0.4	1	0.3	3
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
G3 2,500	13001	0.59	52	0.5	23	9.81	10.2	141	7.0	103
	13002	0.59	45	0.5	23	8.44	10.0	141	5.2	100
	13003	0.58	52	0.5	34	9.92	11.0	140	5.8	101
	13004	0.61	61	0.5	43	9.03	10.8	143	4.8	93
	13005	0.59	65	0.5	22	9.47	11.3	143	5.1	96
	Mean	0.59	55	0.5	29	9.33	10.7	142	5.6	99
	S.D.	0.01	8	0.0	9	0.61	0.5	1	0.9	4
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
G4 5,000	14001	0.59	51	0.5	48	9.49	11.6	142	5.0	100
	14002	0.60	57	0.6	34	9.10	11.2	142	4.9	97
	14003	0.58	52	0.6	41	12.05	12.6	140	6.9	100
	14004	0.59	47	0.5	13	8.87	11.3	142	5.0	102
	14005	0.63	67	0.5	22	11.70	12.2	141	7.8	102
	Mean	0.60	55	0.5	32	10.24	11.8	141	5.9	100
	S.D.	0.02	8	0.1	14	1.51	0.6	1	1.3	2
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	

## Individual serum biochemical values

Sex: Female

Group	Animal	AST	ALT	T-BIL	ALP	CK	BUN	GLU	ALB	TP	GGT	
/Dose (mg/kg)	ID	(IU/L)	(IU/L)	(mg/mL)	(IU/L)	(IU/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(g/dL)	(g/dL)	(IU/L)	
G1 0	21001	166	300	0.00	340	731	16	65	3.5	7.9	0	
	21002	172	36	<0.00	609	616	10	74	3.3	7.6	2	
	21003	119	21	0.00	219	481	10	80	3.2	7.5	0	
	21004	104	27	<0.00	463	292	10	108	3.3	7.5	2	
	21005	121	26	0.00	558	444	10	99	3.5	8.0	0	
	Mean		136	82	0.00	438	513	11	85	3.4	7.7	1
	S.D.		31	122	0.00	160	168	3	18	0.1	0.2	1
N		5	5	3 ^	5	5	5	5	5	5	5	
G2 1,250	22001	121	22	<0.00	296	663	11	81	3.3	7.5	1	
	22002	131	28	<0.00	528	448	9	83	3.5	8.3	0	
	22003	108	26	<0.00	351	421	12	97	3.2	7.8	<0.00	
	22004	111	31	<0.00	425	525	14	85	3.5	8.6	1	
	22005	91	25	<0.00	368	207	10	82	3.5	7.9	1	
	Mean		112	26	-	394	453	11	86	3.4	8.0	1
	S.D.		15	3	-	88	166	2	7	0.1	0.4	1
N		5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^	
G3 2,500	23001	101	44	0.02	577	254	9	100	3.5	8.2	1	
	23002	101	62	<0.00	355	286	13	82	3.3	8.1	0	
	23003	116	23	<0.00	454	448	10	92	3.4	7.3	1	
	23004	120	34	<0.00	408	411	11	81	3.2	7.4	0	
	23005	89	33	<0.00	513	188	9	106	3.5	8.0	1	
	Mean		105	39	0.02	461	317	10	92	3.4	7.8	1
	S.D.		13	15	-	87	109	2	11	0.1	0.4	1
N		5	5	1 ^	5	5	5	5	5	5	5	
G4 5,000	24001	144	31	<0.00	534	511	12	86	3.5	8.3	1	
	24002	102	33	<0.00	485	272	13	89	3.2	7.9	1	
	24003	107	28	<0.00	326	337	19	81	3.2	7.4	0	
	24004	124	31	<0.00	503	361	11	92	3.2	7.7	<0.00	
	24005	112	24	<0.00	452	496	10	109	3.5	8.3	0	
	Mean		118	29	-	460	395	13	91	3.3	7.9	1
	S.D.		17	4	-	81	104	4	11	0.2	0.4	1
N		5	5	0 ^	5	5	5	5	5	5	4 ^	

<0.00 : Below the level of detection

^ : Values below the level of detection are excluded from statistics.

- : No data

## Individual serum biochemical values

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	A/G ratio	CHO (mg/dL)	CRE (mg/dL)	TG (mg/dL)	IP (mg/dL)	Ca <sup>2+</sup> (mg/dL)	Na <sup>+</sup> mmol/L	K <sup>+</sup> mmol/L	Cl <sup>-</sup> mmol/L
G1 0	21001	0.56	70	0.7	10	7.60	10.6	142	4.8	103
	21002	0.57	51	0.6	7	7.23	9.6	143	4.5	103
	21003	0.57	56	0.6	16	6.50	9.8	142	4.8	103
	21004	0.56	63	0.5	13	6.37	9.7	142	4.6	103
	21005	0.56	47	0.6	11	6.90	9.6	142	4.7	104
	Mean	0.56	57	0.6	11	6.92	9.9	142	4.7	103
	S.D.	0.01	9	0.1	3	0.51	0.4	0	0.1	0
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
G2 1,250	22001	0.56	73	0.5	12	7.61	10.0	139	4.7	99
	22002	0.58	59	0.5	12	6.83	10.4	141	4.0	102
	22003	0.59	59	0.6	17	6.89	9.8	142	4.4	105
	22004	0.59	74	0.6	12	7.91	11.1	141	5.0	103
	22005	0.56	74	0.6	35	7.72	11.2	143	5.0	105
	Mean	0.58	68	0.6	18	7.39	10.5	141	4.6	103
	S.D.	0.02	8	0.1	10	0.50	0.6	1	0.4	2
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
G3 2,500	23001	0.57	77	0.5	32	7.25	10.4	142	5.0	97
	23002	0.59	67	0.6	17	6.76	9.7	142	4.5	98
	23003	0.53	52	0.6	11	6.98	9.6	141	4.5	104
	23004	0.57	57	0.5	15	7.42	9.9	141	4.6	104
	23005	0.56	64	0.5	10	7.42	9.8	142	5.3	104
	Mean	0.57	63	0.5	17	7.17	9.9	142	4.8	101
	S.D.	0.02	10	0.1	9	0.29	0.3	1	0.4	4
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
G4 5,000	24001	0.58	56	0.6	19	6.29	9.7	142	4.4	100
	24002	0.59	75	0.6	13	7.74	10.1	141	5.0	99
	24003	0.57	72	0.6	17	7.62	10.2	143	4.4	102
	24004	0.58	64	0.6	14	7.04	9.7	141	4.5	103
	24005	0.58	49	0.6	8	7.04	9.9	141	4.8	103
	Mean	0.58	63	0.6	14	7.15	9.9	142	4.6	101
	S.D.	0.01	11	0.0	4	0.58	0.2	1	0.3	2
N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	

## Individual blood coagulation values

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	PT (Sec)	aPTT (Sec)
G1 0	11001	14.1	30.6
	11002	15.1	24.0
	11003	13.5	26.9
	11004	12.0	24.2
	11005	11.1	22.4
	Mean	13.2	25.6
	S.D.	1.6	3.2
	N	5	5
G2 1,250	12001	12.5	23.3
	12002	13.8	24.4
	12003	11.9	22.6
	12004	14.7	24.5
	12005	11.1	24.6
	Mean	12.8	23.9
	S.D.	1.4	0.9
	N	5	5
G3 2,500	13001	11.2	25.0
	13002	11.8	25.1
	13003	11.7	25.5
	13004	12.5	25.4
	13005	11.9	21.7
	Mean	11.8	24.5
	S.D.	0.5	1.6
	N	5	5
G4 5,000	14001	14.5	33.3
	14002	12.5	22.0
	14003	11.8	24.6
	14004	13.9	24.3
	14005	9.3	19.1
	Mean	12.4	24.7
	S.D.	2.0	5.3
	N	5	5

## Individual blood coagulation values

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	PT (Sec)	aPTT (Sec)
G1 0	21001	9.7	22.0
	21002	11.2	24.1
	21003	10.3	17.2
	21004	9.4	17.9
	21005	10.4	19.8
	Mean	10.2	20.2
	S.D.	0.7	2.9
	N	5	5
G2 1,250	22001	9.8	19.4
	22002	9.4	20.7
	22003	10.3	20.3
	22004	11.9	38.3
	22005	10.3	16.9
	Mean	10.3	23.1
	S.D.	1.0	8.6
	N	5	5
G3 2,500	23001	10.0	21.1
	23002	10.5	21.7
	23003	11.2	20.1
	23004	10.9	16.7
	23005	9.6	22.5
	Mean	10.4	20.4
	S.D.	0.7	2.3
	N	5	5
G4 5,000	24001	9.4	18.3
	24002	9.5	17.2
	24003	10.6	18.2
	24004	10.4	22.0
	24005	10.4	20.6
	Mean	10.1	19.3
	S.D.	0.6	2.0
	N	5	5

Individual absolute organ weights

Sex: Male									(g)
Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney	
G1 0	11001	364.4	1.9717	11.5107	1.7509	0.7514	1.4051	2.8928	
	11002	391.8	2.0692	13.6892	1.7660	0.8340	1.4654	2.8953	
	11003	366.1	1.9062	12.3700	1.7141	0.9865	1.3340	3.0634	
	11004	386.1	1.9384	12.4862	1.6590	0.7408	1.3912	2.9783	
	11005	391.3	1.9463	14.1706	1.6605	0.7639	1.4960	2.8700	
	Mean	379.9	1.9664	12.8453	1.7101	0.8153	1.4183	2.9400	
	S.D.	13.6	0.0621	1.0729	0.0497	0.1024	0.0638	0.0803	
	N	5	5	5	5	5	5	5	
G2 1,250	12001	381.5	2.1178	12.9983	1.6551	0.6965	1.3048	2.9828	
	12002	402.8	2.0327	13.9359	1.5556	0.6331	1.4348	2.9700	
	12003	403.0	1.9472	13.1754	1.7675	0.8053	1.3742	2.9411	
	12004	360.2	1.9582	10.9414	1.5805	0.6913	1.2760	3.0149	
	12005	398.0	1.9275	12.9115	1.8340	0.7999	1.2883	2.9500	
	Mean	389.1	1.9967	12.7925	1.6785	0.7252	1.3356	2.9718	
	S.D.	18.4	0.0786	1.1110	0.1197	0.0749	0.0672	0.0292	
	N	5	5	5	5	5	5	5	
G3 2,500	13001	400.8	2.0587	12.7173	1.9073	0.8656	1.5583	2.9623	
	13002	388.3	1.8983	13.5100	1.7412	0.7462	1.4657	3.0078	
	13003	379.2	1.9236	12.7448	1.5731	0.6564	1.3705	2.6618	
	13004	418.1	2.0723	13.4768	1.7132	0.9183	1.4834	2.7554	
	13005	387.6	1.9750	13.2743	1.6750	0.8166	1.4665	3.2427	
	Mean	394.8	1.9856	13.1446	1.7220	0.8006	1.4689	2.9260	
	S.D.	15.1	0.0782	0.3883	0.1216	0.1026	0.0669	0.2276	
	N	5	5	5	5	5	5	5	
G4 5,000	14001	407.0	2.0761	15.7280	1.9691	0.8930	1.4787	3.3342	
	14002	401.8	2.0228	13.6926	1.6087	0.5991	1.3944	3.1064	
	14003	413.4	1.8825	15.9131	1.9064	0.9075	1.6180	3.2261	
	14004	354.4	1.8828	12.7519	1.6610	0.5569	1.2427	2.7430	
	14005	396.8	1.9341	15.4095	1.4942	0.5219	1.5506	3.0257	
	Mean	394.7	1.9597	14.6990	1.7279	0.6957	1.4569	3.0871	
	S.D.	23.3	0.0867	1.4002	0.2021	0.1888	0.1458	0.2252	
	N	5	5	5	5	5	5	5	

## Individual absolute organ weights

Sex: Female									(g)
Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney	
G1 0	21101	217.6	1.8867	6.6693	1.2857	0.5644	0.8200	1.8629	
	21102	194.3	1.7964	5.7191	1.0528	0.3931	0.8136	1.6415	
	21103	202.2	1.7309	6.0211	1.1519	0.4705	0.7609	1.6263	
	21104	215.5	1.8215	7.0577	1.2193	0.4258	0.8620	1.6823	
	21105	211.6	1.7818	7.2255	1.0719	0.4014	0.9341	1.5630	
	Mean	208.2	1.8035	6.5385	1.1563	0.4510	0.8381	1.6752	
	S.D.	9.8	0.0571	0.6515	0.0982	0.0702	0.0646	0.1134	
	N	5	5	5	5	5	5	5	
G2 1,250	22001	195.8	1.8408	6.6224	0.9484	0.3578	0.8245	1.4988	
	22002	200.5	1.8251	7.0963	1.1335	0.6097	0.8153	1.8588	
	22003	219.8	1.7288	6.9541	1.2410	0.4687	0.8286	1.6884	
	22004	201.1	1.8180	6.6003	1.2327	0.3937	0.9979	1.5802	
	22005	187.0	1.6879	5.4950	0.9381	0.4580	0.6961	1.3918	
	Mean	200.8	1.7801	6.5536	1.0987	0.4576	0.8325	1.6036	
	S.D.	12.0	0.0676	0.6290	0.1482	0.0966	0.1076	0.1794	
	N	5	5	5	5	5	5	5	
G3 2,500	23001	221.6	1.9948	7.1210	1.1028	0.4020	0.9299	1.7517	
	23002	207.8	1.8491	6.4980	1.1243	0.4004	0.7976	1.4555	
	23003	207.0	1.7107	6.0088	1.0916	0.4679	0.8444	1.6492	
	23004	217.3	1.8100	7.0765	1.1092	0.5984	0.9803	1.7230	
	23005	199.0	1.6542	6.3616	1.0726	0.3671	0.8258	1.6237	
	Mean	210.5	1.8038	6.6132	1.1001	0.4472	0.8756	1.6406	
	S.D.	9.0	0.1319	0.4781	0.0194	0.0921	0.0766	0.1159	
	N	5	5	5	5	5	5	5	
G4 5,000	24001	229.4	1.9511	7.3150	1.1055	0.4803	0.8407	1.6106	
	24002	244.0	1.8076	8.0148	1.3164	0.5206	0.9393	1.7828	
	24003	221.1	1.7571	7.0593	1.0685	0.5689	0.7687	1.6996	
	24004	201.4	1.7090	6.1508	1.0462	0.4149	0.8292	1.6602	
	24005	199.6	1.7965	6.9868	1.0792	0.5431	0.7500	1.6515	
	Mean	219.1	1.8043	7.1053	1.1232	0.5056	0.8256	1.6809	
	S.D.	18.9	0.0907	0.6705	0.1101	0.0602	0.0744	0.0651	
	N	5	5	5	5	5	5	5	

## Individual relative organ weights

Sex: Male		(g/100g body weight)						
Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney
G1 0	11001	364.4	0.5411	3.1588	0.4805	0.2062	0.3856	0.7939
	11002	391.8	0.5281	3.4939	0.4507	0.2129	0.3740	0.7390
	11003	366.1	0.5207	3.3789	0.4682	0.2695	0.3644	0.8368
	11004	386.1	0.5020	3.2339	0.4297	0.1919	0.3603	0.7714
	11005	391.3	0.4974	3.6214	0.4244	0.1952	0.3823	0.7335
	Mean	379.9	0.5179	3.3774	0.4507	0.2151	0.3733	0.7749
	S.D.	13.6	0.0182	0.1881	0.0241	0.0315	0.0110	0.0424
	N	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	12001	381.5	0.5551	3.4072	0.4338	0.1826	0.3420	0.7819
	12002	402.8	0.5046	3.4598	0.3862	0.1572	0.3562	0.7373
	12003	403.0	0.4832	3.2693	0.4386	0.1998	0.3410	0.7298
	12004	360.2	0.5436	3.0376	0.4388	0.1919	0.3542	0.8370
	12005	398.0	0.4843	3.2441	0.4608	0.2010	0.3237	0.7412
	Mean	389.1	0.5142	3.2836	0.4316	0.1865	0.3434	0.7654
	S.D.	18.4	0.0335	0.1648	0.0275	0.0180	0.0130	0.0448
	N	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	13001	400.8	0.5136	3.1730	0.4759	0.2160	0.3888	0.7391
	13002	388.3	0.4889	3.4793	0.4484	0.1922	0.3775	0.7746
	13003	379.2	0.5073	3.3610	0.4148	0.1731	0.3614	0.7020
	13004	418.1	0.4956	3.2233	0.4098	0.2196	0.3548	0.6590
	13005	387.6	0.5095	3.4247	0.4321	0.2107	0.3784	0.8366
	Mean	394.8	0.5030	3.3323	0.4362	0.2023	0.3722	0.7423
	S.D.	15.1	0.0103	0.1306	0.0269	0.0194	0.0138	0.0680
	N	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	14001	407.0	0.5101	3.8644	0.4838	0.2194	0.3633	0.8192
	14002	401.8	0.5034	3.4078	0.4004	0.1491	0.3470	0.7731
	14003	413.4	0.4554	3.8493	0.4612	0.2195	0.3914	0.7804
	14004	354.4	0.5313	3.5982	0.4687	0.1571	0.3506	0.7740
	14005	396.8	0.4874	3.8834	0.3766	0.1315	0.3908	0.7625
	Mean	394.7	0.4975	3.7206	0.4381	0.1753	0.3686	0.7818
	S.D.	23.3	0.0283	0.2101	0.0468	0.0413	0.0214	0.0219
	N	5	5	5	5	5	5	5

## Individual relative organ weights

Sex: Female		(g/100g body weight)						
Group / Dose (mg/kg)	Animal ID	B.W.	Brain	Liver	Lung	Spleen	Heart	Kidney
G1 0	21101	217.6	0.8670	3.0649	0.5909	0.2594	0.3768	0.8561
	21102	194.3	0.9245	2.9434	0.5418	0.2023	0.4187	0.8448
	21103	202.2	0.8560	2.9778	0.5697	0.2327	0.3763	0.8043
	21104	215.5	0.8452	3.2750	0.5658	0.1976	0.4000	0.7806
	21105	211.6	0.8421	3.4147	0.5066	0.1897	0.4414	0.7387
	Mean	208.2	0.8670	3.1352	0.5550	0.2163	0.4026	0.8049
	S.D.	9.8	0.0336	0.2026	0.0322	0.0291	0.0280	0.0479
	N	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	22001	195.8	0.9401	3.3822	0.4844	0.1827	0.4211	0.7655
	22002	200.5	0.9103	3.5393	0.5653	0.3041	0.4066	0.9271
	22003	219.8	0.7865	3.1638	0.5646	0.2132	0.3770	0.7682
	22004	201.1	0.9040	3.2821	0.6130	0.1958	0.4962	0.7858
	22005	187.0	0.9026	2.9385	0.5017	0.2449	0.3722	0.7443
	Mean	200.8	0.8887	3.2612	0.5458	0.2281	0.4146	0.7982
	S.D.	12.0	0.0591	0.2270	0.0524	0.0484	0.0499	0.0736
	N	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	23001	221.6	0.9002	3.2134	0.4977	0.1814	0.4196	0.7905
	23002	207.8	0.8898	3.1270	0.5410	0.1927	0.3838	0.7004
	23003	207.0	0.8264	2.9028	0.5273	0.2260	0.4079	0.7967
	23004	217.3	0.8329	3.2566	0.5104	0.2754	0.4511	0.7929
	23005	199.0	0.8313	3.1968	0.5390	0.1845	0.4150	0.8159
	Mean	210.5	0.8561	3.1393	0.5231	0.2120	0.4155	0.7793
	S.D.	9.0	0.0358	0.1402	0.0187	0.0396	0.0242	0.0452
	N	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	24001	229.4	0.8505	3.1888	0.4819	0.2094	0.3665	0.7021
	24002	244.0	0.7408	3.2848	0.5395	0.2134	0.3850	0.7307
	24003	221.1	0.7947	3.1928	0.4833	0.2573	0.3477	0.7687
	24004	201.4	0.8486	3.0540	0.5195	0.2060	0.4117	0.8243
	24005	199.6	0.9001	3.5004	0.5407	0.2721	0.3758	0.8274
	Mean	219.1	0.8269	3.2442	0.5130	0.2316	0.3773	0.7706
	S.D.	18.9	0.0609	0.1652	0.0290	0.0307	0.0237	0.0557
	N	5	5	5	5	5	5	5

## Individual necropsy findings

Sex: Male

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Organ	Necropsy findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1	11001	All	Unremarkable findings	S	28
0	11002	All	Unremarkable findings	S	28
	11003	All	Unremarkable findings	S	28
	11004	All	Unremarkable findings	S	28
	11005	All	Unremarkable findings	S	28
	G2	12001	All	Unremarkable findings	S
1,250	12002	All	Unremarkable findings	S	28
	12003	All	Unremarkable findings	S	28
	12004	All	Unremarkable findings	S	28
	12005	All	Unremarkable findings	S	28
G3	13001	All	Unremarkable findings	S	28
2,500	13002	All	Unremarkable findings	S	28
	13003	All	Unremarkable findings	S	28
	13004	All	Unremarkable findings	S	28
	13005	All	Unremarkable findings	S	28
G4	14001	All	Unremarkable findings	S	28
5,000	14002	All	Unremarkable findings	S	28
	14003	All	Unremarkable findings	S	28
	14004	All	Unremarkable findings	S	28
	14005	All	Unremarkable findings	S	28

S: scheduled

## Individual necropsy findings

Sex: Female

Group /Dose (mg/kg)	Animal ID	Organ	Necropsy findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1	21001	All	Unremarkable findings	S	28
0	21002	All	Unremarkable findings	S	28
	21003	All	Unremarkable findings	S	28
	21004	All	Unremarkable findings	S	28
	21005	All	Unremarkable findings	S	28
	G2	22001	All	Unremarkable findings	S
1,250	22002	All	Unremarkable findings	S	28
	22003	All	Unremarkable findings	S	28
	22004	All	Unremarkable findings	S	28
	22005	All	Unremarkable findings	S	28
	G3	23001	All	Unremarkable findings	S
2,500	23002	All	Unremarkable findings	S	28
	23003	All	Unremarkable findings	S	28
	23004	All	Unremarkable findings	S	28
	23005	All	Unremarkable findings	S	28
	G4	24001	All	Unremarkable findings	S
5,000	24002	All	Unremarkable findings	S	28
	24003	All	Unremarkable findings	S	28
	24004	All	Unremarkable findings	S	28
	24005	All	Unremarkable findings	S	28

S: scheduled

### Individual histopathological findings

Group / Dose (mg/kg)	G1 / 0					G4 / 5,000				
Animal ID	11001	11002	11003	11004	11005	14001	14002	14003	14004	14005
Brain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-Myocarditis, focal						±				±
Kidney	-			-	-		-	-	-	-
-Basophilic tubules, focal						±				
-Cell infiltration, lymphocytic, focal, interstitium		±	±							
Liver	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lung	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: normal.

Grade: ±: minimal.

## ATTACHMENTS

### Protocol deviations

1 번

시험계획서에는 동물실의 온도 ( $22.0 \pm 3.0^{\circ}\text{C}$ ) 설정되어 있으나, 온도에서 아래와 같이 이탈이 발생하였다.

이탈내용	날짜(시간)	온도
	2015. 3. 8 (15:00)	18.9°C

상기 이탈은 공조기 이상발생으로 보수작업 실시하였고, 동물의 일반증상 관찰하여 일반증상 관찰결과 건강 상태에 이상이 없었다. 따라서 시험에 미치는 영향은 없었다.

2번

아래 항목을 측정자 실수로 인하여 측정을 하지 못하여 이탈함.

(1) 일반혈액학적검사

항 목
RET (reticulocyte)

(2) 백혈구감별계수

항 목	항 목
NEU (neutrophil)	EOS (eosinophil)
LYM (lymphocyte)	BASO (basophil)
MON (monocyte)	LUC (large unstained cells)

조치 사항: 실험을 실시하기 전 담당자가 시험계획서를 확인하여 측정항목을 체크 할 것을 지시함.

시험에 미치는 영향

망상적혈구 (Reticulocyte)는 적혈구 생성과 빈혈에 관련된 검사로서, 이와 관련된 총적혈구량 (RBC), MCV, RDW, MCHC 등의 검사를 실시하였으며 검사 결과 이상이 없었으므로 시험에 미치는 영향은 없었다.

백혈구감별계수는 염증이 발생하였을 때에는 백혈구 생산이 증가하며 이때 호중구, 림프구, 단핵구 등의 변화에 따라 염증의 진행 정도를 확인할 수 있는 검사로서, 해당 시험에서는 백혈구 변화가 관찰되지 않았으므로 시험에 미치는 영향은 없었다.

## ○ 인삼종자오일의 박테리아 균주를 이용한 복귀돌연변이시험

### 요 약

본 시험은 시험물질 인삼종자오일을 히스티딘 요구성 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) 균주와 트립토판 요구성 *Escherichia coli* (WP2uvrA(pKM101)) 균주를 이용한 복귀돌연변이 시험을 실시하였다. 본시험의 용량을 결정 하기 위해 용량설정시험의 최고용량을 5,000 µg/plate 로 하며, 최고용량을 포함한 공비 4의 7단계 (1,250, 312.5, 78.1, 19.5, 4.88 및 1.22 µg/plate) 용량으로 처리하였다. 그 결과, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 5,000 µg/plate에서 침전이 관찰되었다. 또한, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 전 용량에서 시험물질에 의한 생육저해는 관찰되지 않았다. 따라서 본시험의 최고용량은 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주에서 침전이 관찰된 5,000 µg/plate을 최고용량으로 하여 공비 2의 4단계 (2,500, 1,250, 625 및 312.5 µg/plate)로 희석하고, 시험물질균과 음성대조군, 양성대조군으로 설정하였다. 본시험의 결과, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 5,000 µg/plate에서 침전이 관찰되었다. 또한, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주에서 생육저해는 관찰되지 않았다. 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주에서 음성대조군과 비교하여 복귀돌연변이 콜로니수의 증가가 관찰되지 않았다. 양성대조군의 복귀돌연변이 콜로니수는 음성대조군에 비해 현저하게 증가하여 뚜렷한 복귀돌연변이 양성반응을 나타냈다. 또한, 음성대조군의 복귀돌연변이 콜로니수는 시험방법에 제시한 시험적합성 판정기준의 정상 범위내로 평가되었다. 이상의 결과로부터, 시험물질 인삼종자오일은 본 시험조건에서 복귀돌연변이를 유발하지 않는 것으로 판단된다.

## 1. 시험실시의 개요

### 1) 시험목적

시험물질 인삼종자오일을 히스티딘 요구성 시험균주 (*Salmonella typhimurium*)와 트립토판 요구성 시험균주 (*Escherichia coli*)을 이용하여 유전독성을 평가하였다.

### 2) Good Laboratory Practice

본 시험은 다음의 Good Laboratory Practice 규정을 준수하였다.

“비임상시험관리기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-67 호 (2014년 2월 12일)

### 3) 시험기준

본 시험은 다음의 시험기준에 근거하여 실시하였다.

“의약품등의 독성시험기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-136 호 (2014년 7월 30일)

### 4) 시험의뢰자

기관명	충북홍삼영농조합법인
주소	충청북도 음성군 금왕읍 행제리 466-4 369-901

### 5) 시험기관

기관명	(주)메드빌
주소	서울특별시 금천구 디지털로 9길 33, 15층 (가산동, IT 미래타워) 153-760

### 6) 시험일정

시험개시일	2015년 2월 16일
실험개시일	2015년 2월 24일
실험종료일	2015년 3월 13일
시험종료일	2015년 4월 14일

### 7) 시험책임자

성명	
소속	유전독성

### 8) 부문책임자

세포주관리	
시험물질 관리	

## 9) 시험담당자

시험담당

시험물질 조제

## 10) 시험자료의 보관

시험기간 중에 작성된 모든 자료는 3년간 (주)메드빌 자료보관실에 보관한다. 그 후 보관에 관해서는 시험기관과 시험의뢰자가 협의하여 결정한다.

시험자료: 시험기초자료, 시험계획서, 최종보고서

## 2. 재료 및 방법

### 1) 시험물질

- (1) 물질명 인삼종자오일
- (2) Lot No. 정보없음
- (3) 성상 액체
- (4) pH 정보없음
- (5) 제조일 2015년 1월 20일
- (6) 유효기한 정보없음
- (7) 입수일 2015년 1월 23일
- (8) 입수량 1246.08 g (용기포함)
- (9) 보관조건 냉장 (4.0-7.3°C)
- (10) 공급처 충북홍삼영농조합법인
- (11) 잔여시험물질의 처리 반환

### 2) 부형제

- (1) 명칭 Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- (2) Lot No. BCBM8339V
- (3) 보관조건 실온
- (4) 제조사 SIGMA-ALDRICH, U. S. A.
- (5) 용매선택이유 부형제 확인 결과 시험물질이 DMSO에 현탁되어 부형제를 DMSO로 정하였다.

### 3) 시험물질의 조제 및 분석

- (1) 시험물질의 조제

실험 실시 당일 전자저울 (Explorer Ex224G, OHAUS, U.S.A.)로 시험물질을 칭량한 후, 부형제를 가하여 규정농도로 조제하였다.

- (2) 조제물의 분석

조제물의 안정성, 균질성 및 농도분석은 별도로 실시하지 않았다.

### 4) 양성대조물질

- (1) 양성대조물질의 조제

양성대조물질은 처리농도의 10 배 stock solution 을 조제하였다. Sodium azide (SA, Sigma-Aldrich, U.S.A.)는 주사용수 (Water for injection, 대한멸균증류수, Korea)를 그 외 양성대조 물질 2-Nitrofluorene (2-NF, TCI Co., Ltd., Japan), 9-Aminoacridine (9-AA, TCI Co., Ltd., Japan), 2-Aminoanthracene (2-AA, Sigma-Aldrich, U.S.A.), 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2, Wako, Japan)는 Dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich, U.S.A.)를 부형제로 사용하여 조제하였다. 2-AA 의 경우, 고농도를 칭량하여 조제한 후 이를 희석하여 저농도를 조제하였다. 조제된 양성 대조물질은 갈색튜브에 분주하여 차광하였다. 초저온 냉동고에 보관 하고 사용직전에 해동하여 사용 하였다.

(2) 양성대조물질의 처리농도

S9 mix	균주명	양성대조물질	용량 (µg/plate)
S9 mix (-)	TA98	2-NF	1.0
	TA100	SA	1.0
	TA1535	SA	1.0
	TA1537	9-AA	80.0
	WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	AF-2	0.01
S9 mix (+)	TA98	2-AA	0.5
	TA100	2-AA	1.0
	TA1535	2-AA	2.0
	TA1537	2-AA	2.0
	WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	2-AA	20.0

5) S9 혼합물

(1) 공급원과 보관

동결건조된 S9 (Molecular toxicology, U.S.A., Lot No. 3324, 3388)과 대사 효소 활성화에 필요한 보조인자들을 혼합하여 대사활성계로 사용한다. S9 은 초저온 냉동고에 보관하고 사용직전에 해동하여 사용하였다.

(2) S9 혼합물의 농도

S9 혼합물의 구성	Amount / mL
Rat liver S9	50 µL
0.4M MgCl <sub>2</sub> -1.65 M KCl	20 µL
1 M glucose-6-phosphate	5 µL
0.1 M NADP	40 µL
0.2 M sodium phosphate buffer, pH7.4	500 µL
Sterile distilled H <sub>2</sub> O	385 µL

6) 배지

(1) Nutrient broth 배지

Nutrient broth 와 염화나트륨을 각각 1.6% w/v 와 10% w/v 가 되도록 칭량한 후 증류수를 첨가하였다. stirrer 로 교반하여 용해시킨 후, 고압증기멸균하였다.

(2) 최소 glucose 한천평판배지

최소 glucose 한천평판배지 구성	Amount / L
Bacto agar	15 g
25 X VB salts	40 ml
40% glucose	50 ml
증류수	910 ml

Bacto agar 에 적량의 증류수를 넣고 고압증기 멸균하였다. 멸균 후 25X Vogel-bonner salts (25X VB salts)와 40% glucose 를 첨가하였다. 페트리디쉬에 분주한 후, 실온에서 굳혔다.

(3) Top agar

Bacto agar 와 염화나트륨을 각각 0.6% w/v 와 0.5% w/v 되도록 칭량하고 증류수를 첨가하

여 고압증기멸균하였다. 살모넬라 균주용 top agar 는 0.5 mM L-histidine/D-biotin 혼합액을 10:1 의 비율로 혼합하고, 대장균용 top agar 는 0.5 mM L-tryptophan 용액을 10:1 의 비율로 혼합하여 조제하였다.

## 7) 시험계

### (1) 사용균주의 종

*Salmonella typhimurium* TA98

*Salmonella typhimurium* TA100

*Salmonella typhimurium* TA1535

*Salmonella typhimurium* TA1537

*Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101)

### (2) 공급원

균주는 2012년 10월 31일에 Molecular toxicology (U.S.A.)사에서 구입하였다. 본 연구실에서 유전적형질과 자발복귀돌연변이의 콜로니 수 및 양성대조물질에 대한 감수성을 확인한 후 균주를 계대배양 하였다.

### (3) 선택이유

복귀돌연변이 시험에 광범위하게 사용되고, 가이드라인에서 추천되고 있는 상기 균주를 선택하였다.

## 8) 용량설정시험

- (1) 가이드라인에서 추천하는 5,000 µg/plate을 최고용량으로 설정하였다. 최고용량을 포함한 공비 4의 7단계이상 (1,250, 312.5, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 µg/plate)으로 설정하였다.
- (2) 대사활성계와 비대사활성계를 설정하였다.
- (3) 음성대조군 및 양성대조군을 포함하고, 음성대조군은 부형제를 사용하였다.
- (4) 각 용량당 3매의 플레이트를 사용하였다.

## 9) 본시험

### (1) 본시험의 용량설정에 대한 정의

용량설정시험 결과, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 5,000 µg/plate 용량에서 침전이 관찰되었다. 또한, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 전 용량에서 시험물질에 의한 생육 저해는 관찰되지 않았다.

따라서 본시험의 최고용량은 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주에서 침전이 관찰된 5,000 µg/plate 을 최고용량으로 하여 공비 2의 4단계 (2,500, 1,250, 625 및 312.5 µg/plate)로 희석하고, 시험물질군과 음성대조군, 양성대조군으로 설정하였다.

- (2) 음성대조군 및 양성대조군을 포함하고, 음성대조군은 부형제를 사용하였다.
- (3) 각 용량당 3매의 플레이트를 사용하였다.

## 10) 시험방법

### (1) 균주접종

동결보관된 균주를 해동하여 nutrient broth 에 접종하고 37°C 진탕 배양기에서 200 rpm 으로 전 배양하였다. 전 배양 종료 후 각각의 시험균주를 ELISA reader (EL800, Korea)를 사용하여 흡광도 (650nm)를 측정하였다. 측정결과 균현탁액의 생균수가 시험에 적합한지 확인 후 시험에 사용하였다.

### (2) 처리방법

■대사활성계에서는 각 용량의 시험물질, 음성 및 양성대조물질을 각 0.1 mL씩, 균배양액 0.1 mL, S9 혼합물 0.5 mL을 멸균된 시험관에 넣었다. 살모넬라 균주는 히스티딘과 비오틴을 포함하는 살모넬라용 top agar, 대장균에는 트립토판을 포함하는 대장균용 top agar를 각 2 mL 씩 분주 후 vortexing 하였다. 그 후 최소 glucose 한천평판배지에 고르게 부어 굳혔다.

■비대사활성계는 S9 혼합물을 대신해서 인산완충액 (pH 7.4)을 0.5 mL 첨가하였다. 그 후 대사 활성계와 동일한 방법으로 처리하였다.

### (3) 배양

Top agar 가 굳은 후 plate 를 뒤집어 37°C 배양기에서 약 48 시간 배양하였다.

### (4) 무균검사

잡균에 의한 오염유무를 확인하기 위해 최고용량의 시험물질, S9 혼합물 및 인산완충액을 멸균된 시험관에 넣고 top agar 를 가해서 vortexing 한 후, NB 평판배지에 고르게 부어 굳혔다. Top agar 가 굳은 후 플레이트를 뒤집어서 37°C 배양기에서 약 48 시간 배양한 후, 잡균의 오염으로 인한 콜로니 형성 유무를 확인하였다.

## 11) 관찰 및 계수

### (1) 시험물질의 관찰

육안으로 시험물질의 침전에 대해 관찰하였다.

### (2) 콜로니 계수

육안으로 콜로니의 수를 관찰하였다.

### (3) Background lawn의 관찰

실체현미경으로 background lawn 을 관찰하여 시험물질에 의한 균주의 생육저해 유무를 확인하였다. 생육저해의 판정기준은 background lawn 이 음성대조군과 비교시 줄어들거나 없어져 현저히 감소하는 것으로 하였다.

## 12) 시험적합성의 판정

음성 및 양성대조군의 평균 복귀변이 콜로니수가 historical control data의 범위내에 있으며 양성대조군의 복귀변이 콜로니수가 음성대조군의 2배 이상이였다. 연속하는 4용량 이상에서 생육저해가 관찰되지 않으며 시험물질, S9 혼합물 및 인산완충액의 오염이 없는 것을 확인 후 결과에 사용하였다.

## 13) 시험결과의 판정

대사 의존적으로 증가 하거나 하나 이상의 농도에서 재현성이 있는 증가를 보일 경우 양성으로 판정하였다.

## 14) 시험결과의 처리

복귀돌연변이 콜로니수를 기록하고 평균과 표준편차를 구하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 1) 용량설정시험 (Table 1)

대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 5,000 µg/plate 에서 침전이 관찰되었다. 또한, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 전 용량에서 시험물질에 의한 생육저해는 관찰되지 않았다.

따라서 본시험의 최고용량은 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주에서 침전이 관찰된 5,000 µg/plate 을 최고용량으로 하여 공비 2의 4단계 (1,250, 625, 312.5 및 156.3 µg/plate)로 희석하고, 시험물질군과 음성대조군, 양성대조군으로 설정하였다.

### 2) 본시험 (Figures 1, 2) (Tables 2)

본시험의 결과, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 5,000 µg/plate 에서 침전이 관찰되었다. 또한, 대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주의 전 용량에서 시험물질에 의한 생육저해는 관찰되지 않았다.

대사활성계 및 비대사활성계의 모든 균주에서 음성대조군과 비교하여 복귀돌연변이 콜로니수의 증가가 관찰되지 않았다.

양성대조군의 복귀돌연변이 콜로니수는 음성대조군에 비해 현저하게 증가하여 뚜렷한 복귀돌연변이 양성 반응을 나타냈다. 또한, 음성대조군의 복귀돌연변이 콜로니수는 시험방법에 제시한 시험적합성 판정기준의 정상 범위내로 평가되었다. 음성 및 양성대조군에 대한 history profile을 제시하였다 (Appendix 1).

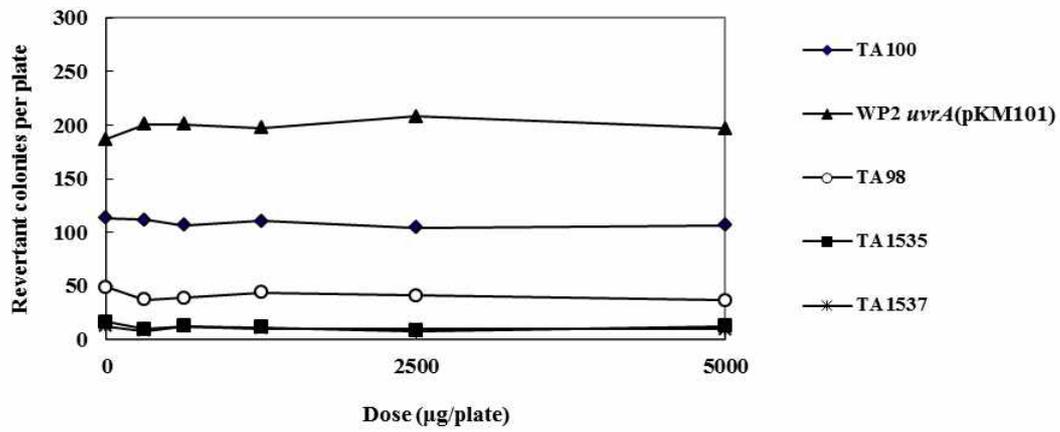
#### 4. 결론

시험의 결과에 따라 시험물질 인삼종자오일은 본 시험조건에서 박테리아 균주의 복귀돌연변이를 유발시키지 않는 것으로 판단된다.

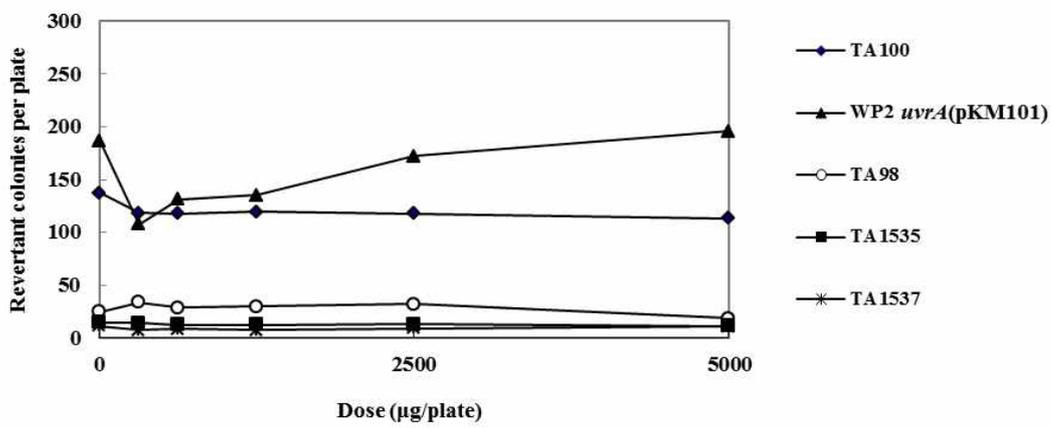
#### 5. 참고문헌

- (1) Ames, B.M., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975): Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test, *Mutat. Res.* 31, 347-364.
- (2) Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983): Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, *Mutat. Res.* 113, 173-275.
- (3) Kim, B. S., Margolin, B. H. (1999): Statistical methods for the Ames Salmonella assay: a review, *Mutat. Res.* 436, 113-122.
- (4) Singer VL, Lawlor TE, Yue S. (1999): Comparison of SYBR Green I nucleic acid gel stain mutagenicity and ethidium bromide mutagenicity in the Salmonella/mammalian microsome reverse mutation assay (Ames test), *Mutat. Res.* 439, 37-47.
- (5) 일본제약공업협회 의약품평가위원회 기초연구부회 편집: 일본후생성의약품독성시험법 변이 원성시험 Q&A p16.

FIGURES



Dose-response curve of revertant colony numbers of differential bacterial strains in the presence of metabolic activation (Main Study)



Dose-response curve of revertant colony numbers of differential bacterial strains in the absence of metabolic activation (Main Study)

TABLES

Dose range-finding study of presence and absence of metabolic activation

Strain	Dose (ug/plate)	Number of revertant colonies/plate presence of metabolic activation					Strain	Dose (ug/plate)	Number of revertant colonies/plate absence of metabolic activation				
		Colony No.			Mean ± S.D				Colony No.			Mean ± S.D	
TA98	#5000	46	47	36	43	± 6	TA98	#5000	33	23	26	27	± 5
	1250	30	28	37	32	± 5		1250	25	31	27	28	± 3
	312.5	52	38	35	42	± 9		312.5	29	32	43	35	± 7
	78.1	38	50	37	42	± 7		78.1	40	25	22	29	± 10
	19.5	32	26	45	34	± 10		19.5	27	31	43	34	± 8
	4.88	40	38	33	37	± 4		4.88	35	33	35	34	± 1
	1.22	51	30	27	36	± 13		1.22	29	36	43	36	± 7
	NC	43	47	35	42	± 6		NC	34	33	46	38	± 7
	PC	410	280	388	359	± 70		PC	482	436	283	400	± 104
TA100	#5000	121	125	107	118	± 9	TA100	#5000	138	121	113	124	± 13
	1250	121	112	120	118	± 5		1250	107	121	124	117	± 9
	312.5	133	140	134	136	± 4		312.5	122	120	110	117	± 6
	78.1	145	161	131	146	± 15		78.1	129	116	125	123	± 7
	19.5	140	157	133	143	± 12		19.5	129	153	140	141	± 12
	4.88	113	140	124	126	± 14		4.88	100	129	129	119	± 17
	1.22	130	133	138	134	± 4		1.22	150	141	154	148	± 7
	NC	134	116	131	127	± 10		NC	131	165	137	144	± 18
	PC	1568	1200	1080	1283	± 254		PC	1128	840	904	957	± 151
TA1535	#5000	14	16	17	16	± 2	TA1535	#5000	18	21	14	18	± 4
	1250	14	17	21	17	± 4		1250	13	3	20	12	± 9
	312.5	8	19	13	13	± 6		312.5	21	12	9	14	± 6
	78.1	11	13	9	11	± 2		78.1	11	12	20	14	± 5
	19.5	8	16	20	15	± 6		19.5	14	13	17	15	± 2
	4.88	19	11	9	13	± 5		4.88	10	13	18	14	± 4
	1.22	10	10	15	12	± 3		1.22	11	13	19	14	± 4
	NC	13	9	14	12	± 3		NC	17	13	15	15	± 2
	PC	230	212	205	216	± 13		PC	380	461	424	422	± 41
TA1537	#5000	11	17	11	13	± 3	TA1537	#5000	10	12	8	10	± 2
	1250	12	14	13	13	± 1		1250	13	7	12	11	± 3
	312.5	15	20	16	17	± 3		312.5	10	14	13	12	± 2
	78.1	14	7	11	11	± 4		78.1	10	9	7	9	± 2
	19.5	10	14	11	12	± 2		19.5	11	12	2	8	± 6
	4.88	12	10	17	13	± 4		4.88	8	18	8	11	± 6
	1.22	16	18	13	16	± 3		1.22	14	12	8	11	± 3
	NC	16	21	15	17	± 3		NC	13	11	9	11	± 2
	PC	416	269	360	348	± 74		PC	944	1016	1280	1080	± 177
WP2 <sub>uvrA</sub> (pKM101)	#5000	211	242	245	233	± 19	WP2 <sub>uvrA</sub> (pKM101)	#5000	235	206	176	206	± 30
	1250	216	256	189	220	± 34		1250	227	210	189	209	± 19
	312.5	214	223	192	210	± 16		312.5	176	213	195	195	± 19
	78.1	223	237	224	228	± 8		78.1	240	209	220	223	± 16
	19.5	203	211	204	206	± 4		19.5	206	200	218	208	± 9
	4.88	199	196	213	203	± 9		4.88	222	189	198	203	± 17
	1.22	221	192	203	205	± 15		1.22	227	209	205	214	± 12
	NC	189	237	192	206	± 27		NC	184	223	204	204	± 20
	PC	1910	1756	1864	1843	± 79		PC	1856	2688	2792	2445	± 513

#: Precipitation

NC: Negative control

PC: Positive control

Revertant colony numbers obtained per plate presence and absence of metabolic activation  
(Main Study)

Strain	Dose (ug/plate)	Number of revertant colonies/plate presence of metabolic activation					Strain	Dose (ug/plate)	Number of revertant colonies/plate absence of metabolic activation				
		Colony No.			Mean ± S.D				Colony No.			Mean ± S.D	
TA98	#5000	38	26	45	36	± 10	TA98	#5000	17	16	23	19	± 4
	2500	41	42	40	41	± 1		2500	43	30	23	32	± 10
	1250	45	44	42	44	± 2		1250	25	40	24	30	± 9
	625	41	33	42	39	± 5		625	20	37	28	28	± 9
	312.5	29	38	43	37	± 7		312.5	32	27	41	33	± 7
	NC	44	57	45	49	± 7		NC	22	20	31	24	± 6
	PC	492	496	520	503	± 15		PC	434	340	328	367	± 58
TA100	#5000	84	113	123	107	± 20	TA100	#5000	119	107	113	113	± 6
	2500	120	94	99	104	± 14		2500	96	125	133	118	± 19
	1250	119	118	94	110	± 14		1250	133	112	113	119	± 12
	625	112	113	94	106	± 11		625	124	118	112	118	± 6
	312.5	119	108	108	112	± 6		312.5	124	111	120	118	± 7
	NC	122	108	110	113	± 8		NC	130	117	165	137	± 25
	PC	840	824	1034	899	± 117		PC	548	604	452	535	± 77
TA1535	#5000	7	16	13	12	± 5	TA1535	#5000	17	9	7	11	± 5
	2500	7	6	11	8	± 3		2500	6	17	15	13	± 6
	1250	15	10	9	11	± 3		1250	13	10	13	12	± 2
	625	9	15	13	12	± 3		625	8	18	10	12	± 5
	312.5	11	11	7	10	± 2		312.5	14	12	16	14	± 2
	NC	16	17	15	16	± 1		NC	13	13	18	15	± 3
	PC	182	217	218	206	± 21		PC	289	310	329	309	± 20
TA1537	#5000	9	9	11	10	± 1	TA1537	#5000	15	6	11	11	± 5
	2500	6	13	9	9	± 4		2500	5	12	9	9	± 4
	1250	8	12	10	10	± 2		1250	4	13	5	7	± 5
	625	12	15	10	12	± 3		625	5	13	7	8	± 4
	312.5	10	7	6	8	± 2		312.5	7	10	4	7	± 3
	NC	15	13	9	12	± 3		NC	11	11	12	11	± 1
	PC	124	160	129	138	± 20		PC	932	1380	760	1024	± 320
WP2 <sup>uvrA</sup> (pKM101)	#5000	165	218	207	197	± 28	WP2 <sup>uvrA</sup> (pKM101)	#5000	190	200	197	196	± 5
	2500	225	212	188	208	± 19		2500	175	180	162	172	± 9
	1250	188	196	208	197	± 10		1250	133	133	139	135	± 3
	625	179	211	212	201	± 19		625	140	120	133	131	± 10
	312.5	229	182	192	201	± 25		312.5	104	104	115	108	± 6
	NC	180	183	198	187	± 10		NC	188	187	186	187	± 1
	PC	2032	2168	2064	2088	± 71		PC	1488	1224	1604	1439	± 195

#: Precipitation

NC: Negative control

PC: Positive control

APPENDICES

History profile of negative and positive control values

**Historical control data (Bacterial reverse mutation assay)**

**Historical negative control values of revertant colonies**

Strain	S9 mix	Mean	±	SD	Range	
					MIN	MAX
TA98	+	50	±	9	19	85
	—	30	±	7	11	63
TA100	+	144	±	28	67	262
	—	134	±	27	43	253
TA1535	+	14	±	3	4	27
	—	14	±	3	2	29
TA1537	+	15	±	6	1	48
	—	11	±	4	1	35
WP2uvrA(pKM101)	+	179	±	39	50	316
	—	158	±	46	40	335

**Historical positive control values of revertant colonies**

Strain	S9 mix	Positive control	Mean	±	SD	Range	
						MIN	MAX
TA98	+	2-AA	631	±	217	224	1394
	—	2-NF	376	±	102	165	732
TA100	+	2-AA	1095	±	433	358	2253
	—	SA	753	±	217	374	1548
TA1535	+	2-AA	181	±	64	76	431
	—	SA	583	±	192	168	1267
TA1537	+	2-AA	408	±	197	144	1400
	—	9-AA	826	±	374	185	2000
WP2uvrA(pKM101)	+	2-AA	1127	±	691	193	3196
	—	AF2	873	±	786	66	2805

SA: Sodium azide

2-AA: 2-Aminoanthracene

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2-NF: 2-Nitrofluorene

9-AA: 9-Aminoacridine

SD: Standard deviation

S9 fraction quality control statement



POST MITOCHONDRIAL SUPERNATANT (S9)  
QUALITY CONTROL & PRODUCTION CERTIFICATE

Animal Information	Part Number Information	
SPECIES: <u>Rat</u>	LOT NO.: <u>3324</u>	PREP: <u>August 30, 2014</u>
STRAIN: <u>Sprague Dawley</u>	PART NO.: <u>11-01L</u>	EXPIRY: <u>August 30, 2016</u>
SEX: <u>Male</u>	VOLUME: <u>2.1 mL</u>	INDUCING AGENT: <u>Aroclor</u>
AGE: <u>5-6 weeks</u>	BUFFER: <u>0.15 M</u>	<u>1254, (Monsanto KL615), 500</u>
WEIGHT: <u>175-199 g</u>	KC/Lyophilization Buffer	<u>mg/kg i.p.</u>
TISSUE: <u>Liver</u>	STORAGE: <u>At or below -20°C</u>	

REFERENCE: Maron, D & Ames, B., *Mutat Res.* **113**: 173, 1983. **For Research Purposes Only**

BIOCHEMISTRY: Assayed according to the method of Lowry et al., *JBC* **193**:265, 1951  
- PROTEIN: 34.3 mg/ml using bovine serum albumin as the standard.

- ALKOXYRESORUFIN-0-DEALKYLASE ACTIVITIES

Activity	P450	Fold - Induction	
BROD	2B1, 2B2	95.4	Assays for ethoxyresorufin-0-deethylase (EROD), pentoxy-, benzyl- and methoxyresorufin-0-dealkylases (PROD, BROD, & MROD) were conducted using a modification of the methods of Burke, et al., <i>Biochem Pharm</i> <b>34</b> :3337, 1985. Fold-inductions were calculated as the ratio of the sample vs. uninduced specific activities (SA's). Control SA's (pmoles/min/ mg protein) were 102.4, 83.4, 38.8, & 42.2 for BROD, EROD, MROD and PROD, respectively.
EROD	1A1, 1A2	124.8	
MROD	1A1, 1A2	85.7	
PROD	2B1, 2B2	50.3	

BIOASSAY:

- TEST FOR THE PRESENCE OF ADVENTITIOUS AGENTS

Samples of S-9 were assayed for the presence of contaminating microflora by plating 1.0 ml volumes on Nutrient Agar and Minimal Glucose (Vogel-Bonner E, supplemented with 0.05 mM L-histidine and D-biotin) media. Duplicate plates were read after 40 - 48 h incubation at 35 ± 2°C. The tested samples met acceptance criteria.

- PROMUTAGEN ACTIVATION

No. His<sup>+</sup> Revertants  
TA98    TA1535  
328.4    1396  
The ability of the sample to activate ethidium (EtBr) and cyclophosphamide (CPA) to intermediates mutagenic to TA98 and TA1535, respectively, was determined according to Lesca, et al., *Mutation Res* **129**: 299, 1984. Data were expressed as revertants per µg EtBr or per mg CPA.

Dilutions of the sample S9, ranging from 0.2 - 10% in S9 mix, were tested for their ability to activate benzo(a)pyrene (BP) and 2-aminoanthracene (2-AA) to intermediates mutagenic to TA100. Assays were conducted as described by Maron & Ames, (*Mutat Res* **113**: 173, 1983).

µl S9 per plate/number his <sup>+</sup> revertants per plate	0	1	5	10	20	50
Promutagen						
BP (5 µg)	96	158	318	463	603	792
2-AA (2.5 µg)	90	293	1308	1541	1689	980

Approved:  09/05/14  
MOLECULAR TOXICOLOGY, INC.

www.moltox.com

(828) 264-9099

S9 fraction quality control statement

**MOLTOX**  
Molecular Toxicology, Inc.

POST MITOCHONDRIAL SUPERNATANT (S9)  
QUALITY CONTROL & PRODUCTION CERTIFICATE

**Animal Information**

SPECIES: Rat  
STRAIN: Sprague Dawley  
SEX: Male  
AGE: 5 - 6 weeks  
WEIGHT: 175 - 199 g  
TISSUE: Liver

**Part Number Information**

LOT NO.: 3388  
PART NO.: 11-01L  
VOLUME: 2.1 mL  
BUFFER: 0.15 M  
KCl/Lyophilization Buffer  
STORAGE: At or below -20°C

PREP: December 19, 2014  
EXPIRY: December 19, 2016  
INDUCING AGENT: Aroclor  
1254, (Monsanto KL615), 500  
mg/kg i.p.

REFERENCE: Maron, D & Ames, B., *Mutat Res*, **113**: 173, 1983.

**For Research Purposes Only**

**BIOCHEMISTRY:**

Assayed according to the method of Lowry et al., *JBC* **193**:265, 1951 using bovine serum albumin as the standard.

- PROTEIN: 34.6 mg/ml

- ALKOXYRESORUFIN-0-DEALKYLASE ACTIVITIES

Activity	P450	Fold - Induction
BROD	2B1, 2B2	29.1
EROD	1A1, 1A2	104.7
MROD	1A1, 1A2	10.1
PROD	2B1, 2B2	110.6

Assays for ethoxyresorufin-0-deethylase (EROD), pentoxy-, benzyl- and methoxyresorufin-0-dealkylases (PROD, BROD, & MROD) were conducted using a modification of the methods of Burke, et al., *Biochem Pharm* **34**:3337, 1985. Fold-inductions were calculated as the ratio of the sample vs. uninduced specific activities (SA's). Control SA's (pmoles/min/ mg protein) were 184, 92.4, 226.7, & 15.5 for BROD, EROD, MROD and PROD, respectively.

**BIOASSAY:**

- TEST FOR THE PRESENCE OF ADVENTITIOUS AGENTS

Samples of S-9 were assayed for the presence of contaminating microflora by plating 1.0 ml volumes on Nutrient Agar and Minimal Glucose (Vogel-Bonner E, supplemented with 0.05 mM L-histidine and D-biotin) media. Duplicate plates were read after 40 - 48 h incubation at 35 ± 2°C. The tested samples met acceptance criteria.

- PROMUTAGEN ACTIVATION

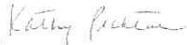
No. His+ Revertants  
TA98    TA1535  
354.8    900

The ability of the sample to activate ethidium (EtBr) and cyclophosphamide (CPA) to intermediates mutagenic to TA98 and TA1535, respectively, was determined according to Lesca, et al., *Mutation Res* **129**: 299, 1984. Data were expressed as revertants per µg EtBr or per mg CPA.

Dilutions of the sample S9, ranging from 0.2 - 10% in S9 mix, were tested for their ability to activate benzo(a)pyrene (BP) and 2-aminoanthracene (2-AA) to intermediates mutagenic to TA100. Assays were conducted as described by Maron & Ames, (*Mutat Res* **113**: 173, 1983).

µl S9 per plate/number his<sup>-</sup> revertants per plate

Promutagen	0	1	5	10	20	50
BP (5 µg)	83	124	266	367	647	852
2-AA (2.5 µg)	98	293	1292	1943	1881	1726

Approved:  12/29/14

MOLECULAR TOXICOLOGY, INC.

www.moltox.com

(828) 264-9099

## ○ 인삼종자 오일의 마우스를 이용한 소핵시험

### 요 약

본 시험은 시험물질인 인삼종자오일의 유전독성을 평가하기 위하여 ICR 마우스의 골수세포를 이용한 소핵유발을 검토하였다. 본시험의 최고용량을 설정하기 위해 암·수의 마우스를 이용하여 1250, 2,500 및 5,000 mg/kg의 용량으로 용량결정시험을 실시한 결과, 암, 수 모두 시험물질 투여 동물에서 일반증상 및 사망동물은 관찰되지 않았다. 따라서 소핵유발시험은 암, 수 모두 5,000 mg/kg을 최고용량으로 하여 24, 48 및 72시간째 골수세포를 채취하여 소핵유발빈도를 관찰하였다. 그 결과, 모든 시간대에서 소핵이 증가되지 않아 24시간을 골수세포채취시간으로 정하였다. 본시험은 용량결정시험 및 소핵유발시험의 결과에 따라 수컷의 5,000, 2500 및 1,250 mg/kg을 설정하였다. 또한 각각 음성대조군은 부형제를, 양성대조군은 Mitomycin C를 설정하여 투여 후 24시간에 소핵유발을 관찰하였다. 본시험 결과, 시험물질군에서는 다염성적혈구 (Polychromatic erythrocyte, PCE) 중 소핵다염성적혈구 (Micronucleated polychromatic erythrocyte, MNPCE)의 출현빈도가 음성대조군과 비교하여 유의한 증가는 관찰되지 않았다 ( $p>0.05$ ). 또한, 양성대조군에서는 다염성적혈구 중 소핵다염성적혈구의 출현빈도가 음성대조군에 비해 현저하게 증가하였다 ( $p<0.05$ ). 그리고 다염성 적혈구의 출현 빈도는 모든 용량군에서 음성대조군과 비교하여 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 이상의 결과로부터 인삼종자오일은 본 시험의 조건하에서 마우스 골수세포의 소핵을 유발하지 않는것으로 판단된다.



## 9) 시험담당자

시험담당자  
동물시험 담당자

시험물질 조제

## 10) 기록 및 자료의 보관

시험기간 중에 발생한 모든 기록과 시험물질은 (주)메드빌의 자료보관실에 보관한다. 보관기간은 최종보고서 작성일 이후 3년간 보관함을 원칙으로 하며, 그 후 보관에 관해서는 시험기관과 시험의뢰자가 협의하여 결정한다.

시험자료: 시험기초자료, 시험계획서, 최종보고서, 검체

## 11) 동물윤리

본 시험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하며, 동물보호법 (법률 제 4379 호, 1991. 5. 31., 제정, 법률 제 13023 호, 2015. 1. 20., 일부개정)에 근거한 (주)메드빌의 동물실험윤리위원회 (IACUC)에 의해 승인되었다.

## 2. 재료 및 방법

### 1) 시험물질

- (1) 물질명 인삼종자오일
- (2) Lot No. 정보없음
- (3) 성상 액체
- (4) pH 정보없음
- (5) 제조일 2015년 1월 20일
- (6) 유효기한 정보없음
- (7) 입수일 2015년 1월 23일
- (8) 입수량 1246.08 g (용기포함)
- (9) 보관조건 냉장 (4.0 - 7.3)
- (10) 공급처 충북홍삼영농조합법인
- (11) 잔여시험물질의 처리 반환

### 2) 부형제

- (1) 명칭 Corn oil
- (2) 보관조건 실온
- (3) Lot No. MKBP7039V
- (4) 제조사 Sigma-Aldrich Inc., U.S.A.
- (5) 부형제 선택이유 부형제 확인 결과 시험물질이 Corn oil에 용해되어 부형제를 Corn oil로 정하였다.

### 3) 시험물질의 조제 및 분석

#### (1) 시험물질의 조제

투여 당일 전자저울 (Explorer Ex224G, OHAUS, U.S.A.)로 측량하여 부형제를 일부 넣어 Vortex mixer 를 이용하여 용해 시킨 후, 부형제를 가하여 규정농도로 조제하였다.

#### (1) 조제물의 분석

조제물의 안정성, 균질성 및 농도분석은 별도로 실시하지 않았다.

### 4) 양성대조물질

#### (1) 양성대조물질의 조제

2mg/vial 의 Mitomycin C(MMC, Sigma- Aldrich)에 주사용수 2mL 을 가하여 vortex mixer 로 용해시킨 후 주사용수로 희석하여 0.2mg/ml 의 solution 을 조제하였다. 조제된 양성대조물질 은 갈색 튜브에 분주하여 초저온냉동고에 동결보관 하고, 처리일에 해동하여 사용하였다.

### 5) 시험계

#### (1) 종 및 계통          마우스, Crlj:Ori:CD1(ICR), SPF

#### (2) 공급원   (주)오리엔트바이오

#### (3) 시험계 선정 이유

ICR 마우스는 설치류로서 소핵시험을 비롯한 안전성시험에 가장 널리 사용되고 있으며 기초자료가 풍부하여 선택하였다.

#### (6) 입수시 성별, 동물수, 주령 및 체중범위

용량결정시험 : 수컷 10 마리, 암컷 10 마리, 7 주령, 수컷 (27.2-30.2 g), 암컷 (21.8-25.2 g)

소핵유발시험 : 수컷 10 마리, 암컷 10 마리, 7 주령, 수컷 (26.6-29.8 g), 암컷 (21.6-24.9 g)

본시험 : 수컷 27 마리, 7 주령, 수컷 (26.2-29.6 g)

#### (7) 검역 및 순화

반입시 동물의 외관 검사를 실시 후 일반증상을 관찰하고 체중을 측정하였다. 약 5-7일의 순화기간 중 검역실에서 순화기간을 거쳐 동물실로 이동하였다. 동물 입수 후 매일 1회 일반증상을 관찰하였다.

순화기간 종료일에 체중을 측정하였다.

#### (8) 개체 및 사육상자 식별

입수시에 동물의 꼬리에 청색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하고, 사육상자에는 순화기간 개체 식별카드를 부착하였다.

관찰기간 중에는 군분리시에 동물의 꼬리에 적색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하고, 사육상자에는 개체식별카드를 부착하였다.

#### (9) 군분리

최종검역일에 일반증상 및 체중에 이상이 없는 동물을 선발하였다. 군분리는 선발한 동물의 평균체중 및 표준편차를 계산하여 구간 균일하게 분리하였다.

#### (10) 잔여동물의 처리

군분리 후 잔여동물은 시험계로부터 제외시켜 SOP 에 따라 처리하였다.

## 6) 사육환경조건

- (1) 동물실 번호 동물실 I
- (2) 사육상자 종류 및 크기 Polycarbonate cage, 270W × 220D × 130H (mm)
- (3) 사육상자당 수용동물 수 3~5마리
- (4) 온도 19.6 - 24.4 °C
- (5) 상대습도 35.7 - 73.4 %
- (6) 환기횟수 10 - 20 회/시간
- (7) 명암주기 (조명시간) 12 시간/일 (08:00 - 20:00)
- (8) 조도 150 - 300 Lux

## 7) 사료

- (1) 종류 실험동물용 고형사료
- (2) Lot No. L80154492
- (3) 제조사 PMI Nutrition International Inc., U.S.A.
- (4) 공급원 (주)오리엔트바이오
- (5) 급이방법 급이기에 고형사료를 넣어 자유섭취 시켰다.
- (6) 사료의 분석 및 확인 공급원에서 제공한 분석 성적서의 결과가 허용범위 내에 속하는지 확인하였다.

## 8) 음수

- (1) 종류 및 급수방법  
서울특별시의 수돗물을 UV 멸균 및 필터를 이용하여 여과시킨 정제수를 Polycarbonate 음수병 (250 mL)에 넣어 자유섭취 시켰다.
- (2) 음수의 분석 및 확인  
“먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙” (환경부령 제 439 호, 2011. 12. 30, 일부개정)의 전 항목에 대하여 서울특별시 보건환경 연구원 (경기도 과천시 장군마을 3 길 30)에 의뢰하여 1 회/년 (2014년 12월 16일) 검사를 실시하며, 그 결과가 허용범위 내에 속하는지를 확인하였다.

## 9) 투여

- (1) 투여경로  
음성대조물질 및 시험물질은 경구투여하고, 양성대조물질은 복강 내 투여하였다.
- (2) 투여경로 선택이유  
사람에 대한 노출 경로 중의 하나로서 경구투여를 선택하였다.
- (3) 투여방법 및 투여회수  
일회용 주사기 (1mL)에 경구용 존데를 이용하여 위 내에 강제 경구투여, 또는 주사침 (26G)을 이용하여 복강내 투여를 1 회 실시하였다.
- (4) 투여액량  
투여액량은 10mL/kg 으로 하고, 개체별 투여량은 당일 측정된 체중을 기준으로 산출하였다.

10) 관찰

(1) 일반증상 관찰

모든 동물에 대하여 매일 1 회 이상 또는 투여 후 일반 상태의 변화, 운동성, 외관등의 일반 증상 및 사망동물 유무를 관찰하였다.

(2) 체중측정

모든 동물에 대하여 투여 전 또는 골수채취 당일에 체중을 측정한다.

11) 용량결정시험

본시험의 용량을 결정하기 위하여 Non-GLP시험으로 실시하였다.

(1) 투여용량의 설정

가이드라인에서 정하고 있는 최고용량은 2,000 mg/kg/day이지만, 건강기능식품임을 고려하여 단회 투여독성시험의 최고용량에 준하는 5,000 mg/kg/day을 최고용량으로 공비 2의 2,500 및 1,250 mg/kg/day의 총 3용량으로 설정하였다.

(2) 시험군의 구성

군	(투여액당) (mL/kg/day)	(투여용량) (mg/kg/day)	동물수 (동물번호)	
			수컷	암컷
G1 저용량군	10	1,250	3 ( <del>11003D</del> )	3 (21001D - 21003D)
G2 중용량군	10	2,500	3 ( <del>12003D</del> )	3 (22001D - 22003D)
G3 고용량군	10	5,000	3 ( <del>13003D</del> )	3 (23001D - 23003D)

(3) 일반증상 및 체중측정

시험물질 투여 직후, 투여 후 2시간, 투여 후 1, 2 및 3일간 동물의 일반증상을 관찰하였다. 그 결과 암, 수 모두 시험물질 투여군에서 일반증상이 나타나지 않았다.

12) 소핵유발시험

본시험의 골수세포 채취시간을 결정하기 위하여 Non-GLP시험으로 실시하였다.

(1) 투여용량의 설정 및 군구성

용량결정시험의 결과에 따라 암, 수 모두 5,000 mg/kg을 최고용량으로 하여 1회 경구투여후 24, 48 및 72시간째 골수세포를 채취하여 소핵유발빈도를 관찰하였다. 각 시간당 동물은 3마리로 한다. 투여경로, 투여횟수 및 투여액량은 용량결정시험과 동일하게 진행하였다.

(2) 일반증상 및 체중측정

시험물질 투여 직후, 투여 후 2시간, 투여 후 1, 2 및 3일에 일반증상을 관찰하였다. 그 결과 암, 수 모두

시험물질 투여군에서 일반증상이 나타나지 않았다.

(3) 검체제작시간의 설정

모든 시간대에서 소핵이 증가되지 않아 24시간을 골수세포채취시간으로 설정하였다.

13) 본시험

본시험은 GLP 시험으로 실시하였다.

(1) 본시험의 용량결정

본시험의 용량은 용량결정시험 및 소핵유발시험의 결과에 따라 수컷의 5,000, 2,500 및 1,250 mg/kg으로 설정하였다.

시간	군	투여액량 (mL/kg)	투여횟수	투여경로	마리수 (개체번호)	
24시간	G1	Corn oil	10	1	경구	5 ( <del>1000</del> ) -
	G2	1,250 mg/kg	10	1	경구	5 ( <del>1200</del> ) -
	G3	2,500 mg/kg	10	1	경구	5 ( <del>3000</del> ) -
	G4	5,000 mg/kg	10	1	경구	5 ( <del>4000</del> ) -
	G5	MMC	10	1	복강내	5 ( <del>5000</del> ) -

(2) 시험군의 구성

(3) 일반증상 및 체중측정

시험물질 투여 직후, 투여 후 2시간, 투여 후 1일에 동물의 일반증상을 관찰하였다. 그 결과 암, 수 모두 시험물질 투여군에서 일반증상이 나타나지 않았다.

14) 골수세포의 채취 및 도말검체 제작

골수세포의 채취는 시험물질의 최종투여 후 24 시간에 경추탈골로 마우스를 안락사 시키고 대퇴골을 적출하여 근육질을 깨끗이 제거한 후, 양 끝단을 가위로 절단하여 우태아 혈청 (Fetal bovine serum, Invitrogen, U.S.A.)을 관류시켜 골수세포를 채취하였다. 골수세포부유액은 1,000 rpm 에서 5 분간 원심분리하고 상층액을 버린 후, 침전된 골수세포를 잘 부유시켜 소량을 슬라이드글라스에 떨어뜨려 도말하였다. 개체당 2 매의 골수도말검체를 제작하였다. 공기중에 충분히 건조시킨 후, 메탄올로 고정하였다. 5% Giemsa 염색액으로 약 30 분간 염색하였다.

15) 검체의 판독

동물개체별로 코드화된 검체를 다염성적혈구 (PCE, Polychromatic erythrocyte)와 정염성적혈구 (NCE, Normochromatic, erythrocyte)의 합이 200 개가 되도록 계수하여 총적혈구 중 다염성적혈구의 비 [PCE/(PCE+NCE)]를 구하였다. 이어서 다염성적혈구가 2000 개가 되도록 계수하여 다염성

적혈구 중 소핵을 가지고있는 (MNPCE, Micronucleated polychromatic erythrocyte) 의 비 (MNPCE/2000PCE)를 구하였다.

#### 16) 결과의 판정

소핵다염성적혈구의 출현빈도는 Kastenbaum and Bowman<sup>2)</sup>의 추정학적 통계 방법을 사용하여 검증하고, 통계학적으로 유의하게 증가할 경우 양성으로 판정하였다.

#### 17) 자료의 통계처리

소핵다염성적혈구의 유발빈도에 대하여 Kastenbaum and Bowman의 통계방법을 이용하여 5% 유의수준에서 검증하였다. 다염성 적혈구의 출현빈도와 체중의 변화는 ANOVA test 를 실시하여 5% 유의수준에서 통계적으로 유의성을 검증하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 용량결정시험 및 소핵유발시험 (Table 1, Table 2, Table 3, Table 4)

본시험의 최고용량을 결정하기 위해 암·수의 마우스를 이용하여 1250, 2,500 및 5,000 mg/kg의 용량으로 용량결정시험을 실시한 결과, 암, 수 모두 시험물질군에서 일반증상 및 사망동물은 관찰되지 않았다.

따라서 소핵유발시험은 암, 수 모두 5,000 mg/kg을 최고용량으로 하여 24, 48 및 72시간째 골수세포를 채취하여 소핵유발빈도를 관찰하였다. 그 결과, 모든 시간대에서 소핵이 증가되지 않아 24시간을 골수세포채취시간으로 정하였다.

#### 2) 본시험

용량결정시험의 결과 수컷과 암컷의 성차가 확인되지 않아 본시험에서는 수컷만 이용하였다. 본시험의 용량은 5,000, 2500 및 1,250 mg/kg으로 설정하였다. 또한 각각 음성대조군은 부형제를, 양성대조군은 Mitomycin C를 설정하였다.

##### (1) 일반증상 및 사망동물 관찰

본시험 결과 수컷 모두 투여 용량에서 일반증상 및 사망동물이 발견되지 않았다.

##### (2) 체중변화 (Table 5)

각 군간의 체중을 음성대조군과 비교한 결과 유의성 있는 체중변화는 관찰되지 않았다 ( $p>0.05$ , ANOVA test).

##### (3) 소핵다염성 적혈 구 및 다염성 적혈구의 출현 빈도 (Table 6)

모든용량의 시험물질군에서 다염성적혈구 중 소핵다염성 적혈구의 출현 빈도는 음성대조군과 비교하여 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 또한 양성대조군의 소핵다염성 적혈구의 출현빈도는 음성대조군에 비해 현저하게 증가 하였다 ( $p<0.05$ , ANOVA test).

총 적혈구에 대한 다염성적혈구의 출현 빈도는 모든 용량군에서 음성대조군과 비교하여 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

### 4. 결론

이상의 결과로부터, 본 시험조건 하에서 시험물질인 인삼종자오일은 마우스의 골수세포에서 소핵을 유발하지 않는 것으로 판단되었다.

Clinical signs results of dose range finding study (Male)

Test article	Route	Dose mg/kg	Animal ID	Clinical sign of days after treatment			
				0hr	2hr	Day 1	Day 2
인삼 종자 오일	P.O.	1,250	11001D	NAD	NAD	NAD	NAD
			11002D	NAD	NAD	NAD	NAD
			11003D	NAD	NAD	NAD	NAD
	P.O.	2,500	12001D	NAD	NAD	NAD	NAD
			12002D	NAD	NAD	NAD	NAD
			12003D	NAD	NAD	NAD	NAD
	P.O.	5,000	13001D	NAD	NAD	NAD	NAD
			13002D	NAD	NAD	NAD	NAD
			13003D	NAD	NAD	NAD	NAD

P.O. : Per Os

NAD : No Abnormalities Detected

Clinical signs results of dose range finding study (Female)

Test article	Route	Dose mg/kg	Animal ID	Clinical sign of days after treatment			
				0hr	2hr	Day 1	Day 2
인삼 종자 오일	P.O.	1,250	21001D	NAD	NAD	NAD	NAD
			21002D	NAD	NAD	NAD	NAD
			21003D	NAD	NAD	NAD	NAD
	P.O.	2,500	22001D	NAD	NAD	NAD	NAD
			22002D	NAD	NAD	NAD	NAD
			22003D	NAD	NAD	NAD	NAD
	P.O.	5,000	23001D	NAD	NAD	NAD	NAD
			23002D	NAD	NAD	NAD	NAD
			23003D	NAD	NAD	NAD	NAD

P.O. : Per Os

AD : No Abnormalities Detected

Result of sampling time study (Male)

Test article	Route	Dose mg/kg	Sex	Hot r after administration	Animal		PCE/ (PCE+NCE)Ratio of PCE	MNPCE /2000PCE				
					ID	NCE			PCE			
인삼 중 자 오 일	P. O.	50	M	ε	24	11001S	96	104	52.0	2	:	2000
						11002S	105	95	47.5	2	:	2000
						11003S	73	127	63.5	0	:	2000
						TOTAL	-	-	-	4		6000
						Mean	-	-	54.3	1.3	:	2000
						S.D.	-	-	8.3	1.2		-
인삼 중 자 오 일	P. O.	50	M	ε	48	12001S	99	101	50.5	2	:	2000
						12002S	88	112	56.0	3	:	2000
						12003S	85	115	57.5	0	:	2000
						TOTAL	-	-	-	5		6000
						Mean	-	-	54.7	1.7	:	2000
						S.D.	-	-	3.7	1.5		-
인삼 중 자 오 일	P. O.	50	M	ε	72	13001S	101	99	49.5	1	:	2000
						13002S	84	116	58.0	2	:	2000
						13003S	84	116	58.0	0	:	2000
						TOTAL	-	-	-	3		6000
						Mean	-	-	55.2	1.0	:	2000
						S.D.	-	-	4.9	1.0		-

P.O.: Per Os, S.D.: Standard Deviation

PCE: Polychromatic erythrocyte,

NCE: Normochromatic erythrocyte,

MNPCE: Micronucleated polychromatic erythrocyte

Table 4. Result of sampling time study (Female)

Test article	Route	Dose mg/kg	Sex	Hours after administration	Animal	NCE	PCE	PCE/(PCE+NCE)Ratio of PCE	MNPCE /2000PCE
					ID				
인삼 중 자 오 일	P. 50 O. 00	Fe ma le	24	24	21001S	102	98	49.0	2 : 2000
					21002S	88	112	56.0	0 : 2000
					21003S	97	103	51.5	0 : 2000
					TOTAL	-	-	-	2 : 6000
					Mean	-	-	52.2	0.7 : 2000
					S.D.	-	-	3.5	1.2 -
인삼 중 자 오 일	P. 50 O. 00	Fe ma le	48	48	22001S	92	108	54.0	0 : 2000
					22002S	87	113	56.5	1 : 2000
					22003S	118	82	41.0	0 : 2000
					TOTAL	-	-	-	1 : 6000
					Mean	-	-	50.5	0.3 : 2000
					S.D.	-	-	8.3	0.6 -
인삼 중 자 오 일	P. 50 O. 00	Fe ma le	72	72	23001S	89	111	55.5	1 : 2000
					23002S	104	96	48.0	1 : 2000
					23003S	77	123	61.5	0 : 2000
					TOTAL	-	-	-	2 : 6000
					Mean	-	-	55.0	0.7 : 2000
					S.D.	-	-	6.8	0.6 -

P.O.: Per Os, S.D.: Standard Deviation

PCE: Polychromatic erythrocyte,

NCE: Normochromatic erythrocyte,

MNPCE: Micronucleated polychromatic erythrocyte

Results of main study in male ICR mice (Male)

Test article	Route	Dose mg/kg	Sex	Clinical signs		Animal ID	Body weight (g)	
				0hr	24hr		0hr	24hr
Corn oil	P.O.	0	Male	NAD	NAD	11001	31.9	31.8
				NAD	NAD	11002	32.7	32.4
				NAD	NAD	11003	33.4	32.6
				NAD	NAD	11004	34.1	33.4
				NAD	NAD	11005	34.7	34.4
				Mean			33.4	32.9
				S.D.			1.1	1.0
인삼종자오일	P.O.	1250	Male	NAD	NAD	12001	31.9	30.5
				NAD	NAD	12002	32.8	31.2
				NAD	NAD	12003	33.5	33.2
				NAD	NAD	12004	34.3	34.2
				NAD	NAD	12005	34.8	34.2
				Mean			33.5	32.7
				S.D.			1.2	1.7
인삼종자오일	P.O.	2500	Male	NAD	NAD	13001	32.3	31.1
				NAD	NAD	13002	32.8	31.4
				NAD	NAD	13003	33.7	32.6
				NAD	NAD	13004	34.4	33.2
				NAD	NAD	13005	34.9	34.1
				Mean			33.6	32.5
				S.D.			1.1	1.2
인삼종자오일	P.O.	5000	Male	NAD	NAD	14001	32.6	32.2
				NAD	NAD	14002	33.3	33.1
				NAD	NAD	14003	34.0	33.9
				NAD	NAD	14004	34.4	33.5
				NAD	NAD	14005	35.0	33.7
				Mean			33.9	33.3
				S.D.			0.9	0.7
MMC	I.P.	2	Male	NAD	NAD	15001	32.6	32.3
				NAD	NAD	15002	33.3	32.6
				NAD	NAD	15003	34.0	32.9
				NAD	NAD	15004	34.7	33.4
				NAD	NAD	15005	35.1	33.2
				Mean			33.9	32.9
				S.D.			1.0	0.4

P.O. : Per Os

I.P.: Intraperitoneal

S.D.: Standard Deviation

MMC : Mitomycin C

NAD : No Abnormalities Detected

Results of main study in male ICR mice

Test article	Route	Dose mg/kg	Sex	Hour after administration	Animal ID	NCE	PCE	PCE/(PCE+NCE)Ratio of PCE	MNPCE/2000PCE	
Corn oil	P.O.	0	Male	24	11001	88	112	56.0	3 : 2000	
					11002	100	100	50.0	2 : 2000	
					11003	99	101	50.5	3 : 2000	
					11004	98	102	51.0	2 : 2000	
					11005	99	101	50.5	1 : 2000	
					TOTAL	-	-	-	11	10000
					Mean	-	-	51.6	2.2	: 2000
S.D.	-	-	2.5	0.8	-					
	P.O.	1250	Male	24	12001	104	96	48.0	2 : 2000	
					12002	97	103	51.5	2 : 2000	
					12003	109	91	45.5	1 : 2000	
					12004	88	112	56.0	2 : 2000	
					12005	98	102	51.0	1 : 2000	
					TOTAL	-	-	-	8	10000
					Mean	-	-	50.4	1.6	: 2000
S.D.	-	-	4.0	0.5	-					
인삼 종자 오일	P.O.	2500	Male	24	13001	101	99	49.5	0 : 2000	
					13002	105	95	47.5	1 : 2000	
					13003	103	97	48.5	1 : 2000	
					13004	92	108	54.0	2 : 2000	
					13005	87	113	56.5	0 : 2000	
					TOTAL	-	-	-	4	10000
					Mean	-	-	51.2	0.8	: 2000
S.D.	-	-	3.9	0.8	-					
	P.O.	5000	Male	24	14001	99	101	50.5	1 : 2000	
					14002	104	96	48.0	0 : 2000	
					14003	88	112	56.0	1 : 2000	
					14004	94	106	53.0	2 : 2000	
					14005	100	100	50.0	1 : 2000	
					TOTAL	-	-	-	5	10000
					Mean	-	-	51.5	1.0	: 2000
S.D.	-	-	3.1	0.7	-					
MMC	I.P.	2	Male	24	15001	105	95	47.5	122 : 2000	
					15002	110	90	45.0	104 : 2000	
					15003	98	102	51.0	112 : 2000	
					15004	105	95	47.5	98 : 2000	
					15005	98	102	51.0	101 : 2000	
					TOTAL	-	-	-	537*	10000
					Mean	-	-	48.4	107.4	: 2000
S.D.	-	-	2.6	9.7	-					

P.O.: Per Os

I.P.: Intraperitoneal

S.D.: Standard Deviation

PCE: Polychromatic erythrocyte

NCE: Normochromatic erythrocyte

MNPCE: Micronucleated polychromatic erythrocyte

MMC: Mtromycin C

\*: Significantly different from mice negative control by Kastenbaum & Bowman ( $p < 0.05$ )

APPENDIX

History profile of negative and positive control value

Historical control data (Micronucleus assay in ICR mice)

Historical control values of micronucleated polychromatic erythrocytes(MNPCE)

Group	Dose (mg/kg)	MNPCE/2000PCE		Range(MNPCE/2000PCE) %	
		Mean±S.D.		MIN	MAX
Negative control	0	1.4	± 1.4	0.0	6.8
Positive control	2	130.1	± 25.9	107.4	183.2

Historical control values of ratio of polychromatic erythrocytes(PCE) to total erythrocytes

Group	Dose (mg/kg)	PCE/NCE+PCE		Range(PCE/NCE+PCE )	
		Mean±S.D.		MIN	MAX
Negative control	0	51.7	± 5.1	38.1	59.0
Positive control	2	48.5	± 3.9	43.3	54.0

Negative control : Including water for injection, corn oil, 0.5% carboxymethylcellulose sodium salt solution

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

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

ATTACHMENT

Protocol deviation

2015년 2월 13일과 2월 26일에 동물이 사육되어 있는 습도가 각각 73.4% 와 70.3%로 시험계획서의 습도 범위인 50.0±20.0 %보다 이탈 되었다. 확인결과 온-습도 센서의 이상으로 확인이 되었으며 동물의 건강상태에는 이상이 없음이 확인 되었다.

따라서, 위의 습도 이탈은 시험에 신뢰성에 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

S9 fraction quality control statement

**MOLTOX**  
Molecular Toxicology, Inc.

POST MITOCHONDRIAL SUPERNATANT (S9)  
QUALITY CONTROL & PRODUCTION CERTIFICATE

**Animal Information**

SPECIES: Rat  
STRAIN: Sprague Dawley  
SEX: Male  
AGE: 5 - 6 weeks  
WEIGHT: 175 - 199 g  
TISSUE: Liver

**Part Number Information**

LOT NO.: 3388  
PART NO.: 11-01L  
VOLUME: 2.1 mL  
BUFFER: 0.15 M  
KCl/Lyophilization Buffer  
STORAGE: At or below -20°C

PREP: December 19, 2014  
EXPIRY: December 19, 2016  
INDUCING AGENT: Aroclor  
1254, (Monsanto KL615), 500  
mg/kg i.p.

REFERENCE: Maron, D & Ames, B., *Mutat Res*, **113**: 173, 1983.

For Research Purposes Only

**BIOCHEMISTRY:**

- PROTEIN: 34.6 mg/ml

Assayed according to the method of Lowry et al., *JBC* **193**:265, 1951 using bovine serum albumin as the standard.

- ALKOXYRESORUFIN-0-DEALKYLASE ACTIVITIES

Activity	P450	Fold - Induction
BROD	2B1, 2B2	29.1
EROD	1A1, 1A2	104.7
MROD	1A1, 1A2	10.1
PROD	2B1, 2B2	110.6

Assays for ethoxyresorufin-0-deethylase (EROD), pentoxy-, benzyl- and methoxyresorufin-0-dealkylases (PROD, BROD, & MROD) were conducted using a modification of the methods of Burke, et al., *Biochem Pharm* **34**:3337, 1985. Fold-inductions were calculated as the ratio of the sample vs. uninduced specific activities (SA's). Control SA's (pmoles/min/ mg protein) were 184, 92.4, 226.7, & 15.5 for BROD, EROD, MROD and PROD, respectively.

**BIOASSAY:**

- TEST FOR THE PRESENCE OF ADVENTITIOUS AGENTS

Samples of S-9 were assayed for the presence of contaminating microflora by plating 1.0 ml volumes on Nutrient Agar and Minimal Glucose (Vogel-Bonner E, supplemented with 0.05 mM L-histidine and D-biotin) media. Duplicate plates were read after 40 - 48 h incubation at 35 ± 2°C. The tested samples met acceptance criteria.

- PROMUTAGEN ACTIVATION

No. His+ Revertants  
TA98    TA1535  
354.8    900

The ability of the sample to activate ethidium (EtBr) and cyclophosphamide (CPA) to intermediates mutagenic to TA98 and TA1535, respectively, was determined according to Lesca, et al., *Mutation Res* **129**: 299, 1984. Data were expressed as revertants per µg EtBr or per mg CPA.

Dilutions of the sample S9, ranging from 0.2 - 10% in S9 mix, were tested for their ability to activate benzo(α)pyrene (BP) and 2-aminoanthracene (2-AA) to intermediates mutagenic to TA100. Assays were conducted as described by Maron & Ames, (*Mutat Res* **113**: 173, 1983).

µl S9 per plate/number	his <sup>-</sup> revertants per plate					
Promutagen	0	1	5	10	20	50
BP (5 µg)	83	124	266	367	647	852
2-AA (2.5 µg)	98	293	1292	1943	1881	1726

Approved:  12/29/14

MOLECULAR TOXICOLOGY, INC.

www.moltox.com

(828) 264-9099

## ○ 인삼종자오일의 포유류 배양세포를 이용한 염색체이상시험

### 요 약

본 시험은 시험물질 인삼종자오일의 염색체이상의 유발유무를 확인하기 위하여 Chinese hamster lung (CHL/IU) 세포를 이용하여 염색체이상시험을 실시하였다. 처리농도결정시험의 결과, 시험물질의 침전은 단시간처리법의 대사활성계 및 비대사활성계와 연속처리법의 비대사활성계 모두 312.5 ~ 5,000 µg/mL의 용량에서 관찰되었다. 또한, 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계 및 연속처리법의 비대사활성계 모두 50% 세포성장억제가 관찰되지 않았다. 따라서 본시험의 최고용량은 단시간처리법의 대사활성계 및 비대사활성계와 연속처리법의 비대사활성계 모두 침전이 나타난 312.5 µg/mL으로 결정하였다. 또한 최고용량을 포함하여 공비 2의 총 3단계 용량으로 설정하였다. 또한, 각각 음성대조군과 양성대조군을 두었다. 본시험 결과, 단시간처리법의 대사활성계 및 비대사활성계와 연속처리법의 비대사활성계에서 염색체이상세포는 음성대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 증가는 나타나지 않았다. 그러나, 양성대조군의 염색체이상세포는 음성대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가되었다. 이상의 결과로부터 본 시험조건하에서 시험물질인 인삼종자오일은 염색체이상을 유발하지 않는 것으로 판단된다.

## 1. 시험실시의 개요

### 1) 시험목적

시험물질 인삼종자오일을 포유동물 세포주인 Chinese hamster lung (CHL/IU) cell line 에 노출시켜 염색체이상 빈도를 측정하여 유전독성 여부를 평가하였다.

### 2) Good Laboratory Practice

시험의 모든 과정은 다음의 Good Laboratory Practice 규정을 준수하였다.

“비임상시험관리기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-67 호 (2014년 2월 12일)

### 3) 시험기준

시험의 모든 규정은 다음의 시험기준을 준수하였다.

“의약품등의 독성시험기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-136 호 (2014년 7월 30일)

### 4) 시험의뢰자

기관명      충북홍삼영농조합법인

주소                      충청북도 음성군 금왕읍 행제리 466-4  
369-901

### 5) 시험기관

기관명      (주)메드빌

주소                      서울특별시 금천구 디지털로 9길 33, 15층 (가산동, IT 미래타워)  
153-760

시험개시일	2015년 3월 2일
실험개시일	2015년 3월 2일
실험종료일	2015년 3월 26일
시험종료일	2015년 4월 22일

### 6) 시험일정

성명

소속

유전독성

### 7) 시험책임자

### 8) 부문책임자

세포주 관리

시험물질 관리

## 9) 시험담당자

담당자

시험물질 조제

## 10) 시험자료의 보관

시험기간 중에 작성된 모든 자료는 3년간 (주)메드빌 자료보관실에 보관한다. 그 후 보관에 관해서는 시험기관과 시험의뢰자가 협의하여 결정한다.

시험자료: 시험기초자료, 시험계획서, 최종보고서

## 2. 재료 및 방법

### 1) 시험물질

- (1) 물질명 인삼종자오일
- (2) Lot No. 정보없음
- (3) 성상 액체
- (4) pH 정보없음
- (5) 제조일 2015년 1월 20일
- (6) 유효기한 정보없음
- (7) 입수일 2015년 1월 23일
- (8) 입수량 1246.08 g (용기포함)
- (9) 보관조건 냉장 (3.6°C ~ 6.8°C)
- (10) 공급처 충북홍삼영농조합법인
- (11) 잔여시험물질의 처리 반환

### 2) 부형제

- (1) 명칭 Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- (2) Lot No. BCBM8339V
- (3) 보관조건 상온
- (4) 제조사 SIGMA-ALDRICH, U. S. A.
- (5) 부형제 선택이유 부형제 확인 결과 시험물질이 DMSO에 현탁되어 부형제를 DMSO로 정하였다.

### 3) 시험물질의 조제 및 분석

- (1) 시험물질의 조제

최고용량인 5,000 µg/mL의 100배 stock을 조제하기 위하여 실험 실시 당일 전자저울 (Explorer Ex224G, OHAUS, U.S.A.)로 시험물질을 칭량한 후, 부형제를 가하여 규정농도로 조제하였다.

- (2) 조제물의 분석

조제물의 안정성, 균질성 및 농도분석은 별도로 실시하지 않았다.

#### 4) 양성대조물질

배양계열	S9 mix	명칭	Stock concentration (µg/mL)	Final concentration (µg/mL)
단시간처리 (6hr)	-	MMC	10	0.1
	+	CP	500	5
연속처리 (24hr)	-	MMC	10	0.1

양성대조물질인 mitomycin C (MMC, Sigma-Aldrich)는 주사용수를 가하여 용해시키고, cyclophosphamide monohydrate (CP, Sigma-Aldrich)는 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich)를 가한 후 용해시켜 stock solution을 조제하였다. 양성대조물질은 갈색 튜브에 분주하여 초저온 냉동고 (-80°C ~ -60°C)에 보관하였다.

#### 5) S9 혼합물

(1) 동결건조된 S9 (Molecular toxicology, Lot No. 3388)과 대사 효소 활성화에 필요한 보조인자들을 혼합하여 대사활성제로 사용하였다. S9은 초저온 냉동고에 보관하고 사용직전에 해동하여 사용하였다.

S9 혼합물의 구성	Amount / µL
Rat liver S9 fraction	582 µL
0.4M MgCl <sub>2</sub> - 1.65M KCl	20 µL
0.1M glucose-6-phosphate	50 µL
0.1M NADP	40 µL
0.2M sodium phosphate buffer, pH 7.4	250 µL
Sterile distilled H <sub>2</sub> O	48 µL

(2) S9 혼합물 농도

#### 6) 시험계

(1) 세포주

Chinese Hamster Lung (CHL/IU) cells

(2) 선택이유

가이드라인에서 추천하고, 체외 염색체이상시험에서 널리 사용되고 있으며 기초자료가 풍부한 CHL/IU 세포주를 선택하였다.

(3) 공급원

American Type Culture Collection (ATCC, U.S.A.)에서 2006년 10월 26일에 구입한 CHL/IU 세포주 (Lot No. 3375917)를 계대 배양하였다.

(4) 세포의 배양

Heat-inactivated fetal bovine serum (FBS, Invitrogen)과 antibiotic 용액 (streptomycin/penicillin, Invitrogen)이 각각 10% 및 1% 첨가된 Eagle's minimal essential medium (EMEM, Invitrogen)을 배양액으로 사용하며, 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 37°C 배양기에서 배양하였다.

(5) 세포의 보존

배양된 세포는 0.05% trypsin-EDTA 용액 (Invitrogen)을 첨가하여 배양 플레이트 바닥으로부터 세포를 분리하고, 분리된 세포는 1000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상등액을 제거한 세포는 FBS로 현탁시켜 DMSO (Sigma-Aldrich)를 최종농도 10% 되도록 넣고 동결보존용 튜브에 일정량 분주하였다. 분주한 세포는 초저온냉동고 (-80 ~ -60°C)에 24시간 동안 보관하고, 그 후에 액체질소에 보관하였다. 마이코플라스마의 오염 유무에 대해 확인하였다.

(6) 계대배양

동결보존된 세포를 항온수조에서 녹인 후, EMEM 배양액에 넣고, 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후, EMEM 배양액으로 현탁시켰다. 세포현탁액은 배양플라스크에 옮겨, 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 37°C 배양기에서 배양하였다. 세포가 배양플라스크 바닥면적에 70 ~ 80% 이상 생육할 때 세포형태를 관찰하고, 0.05% trypsin-EDTA 용액을 첨가하여 배양플라스크 바닥으로부터 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 1,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상등액을 제거한 후, EMEM 배양액에 현탁시켰다. 세포현탁액을 배양플라스크에 옮겨, 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 37°C 배양기에서 배양하였다.

(7) 전배양

염색체이상시험에는 24계대 이하의 세포를 사용하였다.

세포가 배양된 플라스크에 0.05% trypsin-EDTA 용액을 첨가하여 배양 플라스크 바닥으로부터 세포를 분리하고, 분리된 세포는 1,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후, EMEM 배양액에 현탁 시켰다. 세포를 계수하여  $3 \times 10^4$  cells/mL로 60 mm (3 mL/plate, SPL) 플레이트에 분주하여 5% CO<sub>2</sub>가 공급되는 37°C 배양기에서 3일간 배양하였다.

## 7) 시험 농도 결정

처리농도결정시험을 통하여 CHL/IU세포에 시험물질의 처리 농도를 결정하기 위하여 다음과 같이 수행하였다.

(1) 처리농도결정시험

시험물질의 최고용량은 가이드라인에서 추천하고 있는 5,000 µg/mL 으로 설정하였다. 최고용량을 포함하여 공비 2의 7 단계로 설정하며, 최고용량으로 낮은 용량을 순차적으로 희석하였다. 음성대조군은 부형제를 사용하였다.

처리농도결정시험의 결과, 시험물질의 침전은 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계, 연속처리법의 비대사활성계 모두 312.5 ~ 5,000 µg/mL의 용량에서 관찰되었다.

또한, 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계 및 연속처리법의 비대사활성계 모두 50 % 세포성장억제가 관찰되지 않았다.

(2) 본시험

따라서 본시험의 최고용량은 단시간처리법의 대사활성계 및 비대사활성계와 연속처리법의 비대사활성계 모두 침전이 나타난 312.5 µg/mL으로 결정하였다. 또한 최고용량을 포함하여 공비 2의 총 3단계 용량으로 설정하였다. 음성대조는 부형제를 사용하고, 배양액에 시험물질과 동일한 양으로 처리하였다.

시험군은 다음과 같이 설정하였다.

시험법	S9 mix	처리시간	양성대조
단시간처리법	+	단시간처리 (6hr)	CP
	-	단시간처리 (6hr)	MMC
연속처리법	-	연속처리 (24hr)	MMC

8) 시험방법

(1) 처리농도결정시험

대사활성계는 음성대조군 및 시험물질군의 배양액에 S9 혼합물을 첨가하여 6시간 배양하였다. 그 후 phosphate buffer saline (PBS, Invitrogen)로 세척하고 새 배양액으로 교체하여 18시간 배양하였다. 비대사활성계는 S9 혼합물을 첨가하지 않은 음성대조군 및 시험물질 배양액을 단시간처리군과 연속처리군으로 나누었다. 단시간처리법은 시험물질을 6시간 배양한 다음 PBS로 세척하고 새 배양액으로 교체하여 18시간 배양 하였다. 연속처리법은 24시간 연속 배양하였다.

세포에 0.05% trypsin-EDTA 용액을 첨가하여 배양 플레이트 바닥으로부터 세포를 분리 하고, 분리한 세포는 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후 새 배양액으로 세포를 현탁하였다. 그리고 hemacytometer 를 이용하여 세포를 계수하였다.

(2) 본시험

단시간처리법의 대사활성계는 음성대조, 시험물질 및 양성대조 (CP)를 함유한 배양액에 S9 혼합물을 첨가하여 6시간 배양하였다. 그 후 PBS로 세척하고 새 배양액으로 교체하여 18시간 배양 하였다. 단시간처리법의 비대사활성계는 음성대조, 시험물질 및 양성대조물질 (MMC)을 함유한 배양액에 6시간 배양한 다음 PBS로 세척하고 새 배양액으로 교체하여 18시간 배양 하였다. 연속처리법의 비대사활성계는 24시간 연속 배양하였다. 용량당 2개의 plate 를 사용하였다.

9) 슬라이드 제작

(1) 세포 수거 2시간 전에 colcemid (Invitrogen, U.S.A.) 용액을 최종농도가 1 µM 또는 0.25 µg/mL 가 되도록 처리하였다. 배양 종료 후 0.05% trypsin-EDTA 용액을 첨가하여 배양플레이트 바닥으로부터 세포를 분리 하고, 분리된 세포는 1,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 세포를 수거 한 후 0.075 mol/L KCl 수용액을 첨가하여 37°C에서 30분간 방치하였다. 그 후 냉각 고정액 (methanol : acetic acid = 3 : 1)을 첨가하여 1,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 상등액을 제거하여 반고정하였다. 그 후 vortex mixer하면서 3 mL의 냉각 고정액을 첨가하여 2,500 rpm으로 5분간 원심분리하여 세포를 고정하고, 이를 2회 이상 반복하여 각 플레이트당 2매씩 검체를 제작하였다.

(2) 5% Giemsa 용액으로 30분간 염색하여 200개의 분열중기세포에서 염색체 이상을 계수하였다.

**10) 관찰**

단시간처리법에서 연속처리법의 순서로 슬라이드 검체를 관찰하였다.

- (1) 한 용량 당 최소 200개의 분열중기세포를 현미경의 1,000배 배율로 관찰하며, 염색체 구조이상 (structural aberration)과 수적이상 (numerical aberration) 유무를 관찰하였다.

구조이상 (structural aberration)	수적이상 (numerical aberration)
염색분체형 gap (ctg)	배수체 (poly)
염색분체형 절단 (ctb)	핵내변화 (endo)
염색분체형 교환 (cte)	
염색체형 gap (csg)	
염색체형 절단 (csb)	
염색체형 교환 (csc)	
Fragment (frg)	

- (2) 구조이상은 염색분체형 (chromatid type)과 염색체형 (chromosome type)으로 구분하여 계수 하였다.

**11) 시험적합성의 판정**

염색체이상시험은 다음의 판정기준을 만족하여 그 결과가 적합하다고 판정하였다.

- (1) 음성대조군 및 양성대조군의 염색체이상세포수가 historical data 범위 내에 있어야 한다.
- (2) 오염이 없어야 한다.

**12) 평가방법**

- (1) 염색체이상의 분류는 일본환경변이원학회 (JEMS) 포유동물시험분과회 (MMS)판 ‘염색체 이상 아틀라스 (1988)’에 의하였다.
- (2) 각 처리 농도당 200개의 분열중기세포에서 염색체이상의 수를 표시하였다.
- (3) 구조이상은 크게 염색체형과 염색분체형으로 구별해 계수하였다.
- (4) Gap은 염색분체의 폭보다 좁은 결손으로 분류하고 계수하되 염색체이상에 포함시키지 않았다.
- (5) 수적이상은 4배수체 이상인 polyploid 및 endoreduplication만을 평가하였다.
- (6) 구조이상의 종류를 1개 이상 갖는 세포를 양성세포 1개로 계수하고, 양성세포의 출현 빈도를 염색체이상빈도로 하였다.

**13) 자료의 통계처리**

염색체이상을 가지는 세포의 출현빈도는 SAS 프로그램을 사용하며, Fisher’s exact test (Altman, 1993)에 의해 음성대조군과 시험물질군 및 음성대조군과 양성대조군의 유의차 검증을 실시하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 처리농도결정시험 (Figure 1)

처리농도결정시험의 결과, 시험물질의 침전은 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계 및 연속처리법의 비대사활성계 모두 312.5 ~ 5,000 g/mL의 용량에서 관찰되었다.

또한, 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계 및 연속처리법의 비대사활성계 모두 50% 세포성장 억제에 관찰되지 않았다.

따라서 본시험의 최고용량은 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계 및 연속처리법의 비대사활성계 모두 최고용량을 포함하여 공비 2의 총 3단계 용량으로 설정하고, 각각 음성대조군과 양성대조군을 두었다.

#### 2) 본시험 (Table 1)

본시험의 결과, 시험물질의 침전은 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계 및 연속처리법의 비대사활성계 모두 312.5 µg/mL 용량에서 관찰되었다.

단시간처리법의 대사활성계의 경우 78.1, 156.3 및 312.5 µg/mL의 분열중기세포를 관찰한 결과, 염색체의 구조 및 수적 이상빈도는 각각 0.0, 0.0 및 0.0%로 확인되었다. 단시간처리법의 비대사활성계의 경우 78.1, 156.3 및 312.5 µg/mL의 분열중기세포를 관찰한 결과, 염색체의 구조 및 수적 이상빈도는 각각 0.0, 0.0 및 0.0%로 확인되었다. 연속처리법의 비대사활성계의 경우 78.1, 156.3 및 312.5 µg/mL의 분열중기세포를 관찰한 결과, 염색체의 구조 및 수적 이상빈도는 각각 0.5, 0.5 및 0.5%로 확인되었다.

또한, 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계, 연속처리법의 비대사활성계의 양성대조군의 경우 염색체의 구조 및 수적 이상빈도는 각각 11.0, 12.0 및 27.5%로 확인되었다.

따라서, 모든 처리군은 음성대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 반면에 단시간처리법의 대사활성계와 비대사활성계, 연속처리법의 비대사활성계의 양성대조물질은 음성대조군과 비교하여 통계적으로 현저하게 염색체이상을 유발하였다 (Fisher's exact test,  $P < 0.05$ ).

음성대조군 및 양성대조군의 염색체이상을 가진 세포의 출현빈도는 historical control data의 범위 안에 있는 것으로 확인되었다 (Appendix 1).

### 4. 결론

이상의 결과로부터, 본 시험조건 하에서 시험물질 인삼종자오일은 염색체이상을 유발하지 않는다고 판단된다.

Summary of results obtained from chromosome aberration test (main study)

S9 mix	Exposure period (hours)	Dose (µg/mL)	No. of cells analyzed	csg	ctg	csb	ctb	cse	cte	frg	poly	endo	Normal cell	Structure aberrations		Numerical aberrations (%)			
														-gap cell (%)	+gap cell (%)				
+	6	NC	100	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	98	0.0	1.0	0.0		
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100					
		78.1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0.0	0.5	0.0		
			100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	99					
		156.3	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0.0	0.0	0.0		
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100					
		#312.5	100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0.0	0.5	0.0		
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100					
		5 (PC:CP)	100	1	7	0	2	0	12	0	0	0	0	86	11.0*	13.0	0.0		
			100	4	5	0	0	2	9	0	0	0	0	88					
		-	6	NC	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0.0	0.0	0.0
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100			
78.1	100			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0.0	0.0	0.0		
	100			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100					
156.3	100			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0.0	0.5	0.0		
	100			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100					
#312.5	100			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0.0	0.5	0.0		
	100			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	99					
0.1 (PC:MMC)	100			0	4	2	6	0	6	0	0	0	0	87	12.0*	13.0	0.0		
	100			2	2	4	6	1	4	0	0	0	0	87					
-	24			NC	100	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	98	0.0	1.0	0.0
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100			
		78.1	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0.5	1.0	0.0		
			100	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	99					
		156.3	100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0.5	2.0	0.0		
			100	0	2	4	0	0	0	0	0	0	0	97					
		#312.5	100	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	99	0.5	1.0	0.0		
			100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	99					
		0.1 (PC:MMC)	100	1	7	11	8	0	19	0	0	0	0	76	27.5*	31.5	0.0		
			100	1	8	10	13	0	33	0	0	0	0	61					

ctb: chromatid break, cte: chromatid exchange, csb: chromosome break,

cse: chromosome exchange, ctg: chromatid gap, csg: chromosome gap, frg: fragment

poly: polyploid, endo: endoreduplication,

NC:DMSO (Dimethyl sulfoxide)

CP: Cyclophosphamide monohydrate (5 µg/mL), MMC: Mitomycin C (0.1 µg/mL)

\*:  $P < 0.05$ , significant differences between control and treatment group by Fisher's exact test

#: Precipitation

APPENDICES

Historical control data of negative control in chromosome aberration test

CA Historical control  
data

Group	Hour	S9 mix	N	Structural aberration			MIN(%)	MAX(%)
				cells excluding gap%(Mean ± SD)				
Negative control	6h	+	75	0.2	±	0.4	0	<5
		-	75	0.3	±	0.5	0	<5
	24h	-	75	0.3	±	0.4	0	<5
Positive control	6h	+	75	23.6	±	8.1	7*	40*
		-	75	17.6	±	5.5	7*	29*
	24h	-	75	26.1	±	6.9	12*	40*

Group	Hour	S9 mix	N	Numerical aberration			MIN(%)	MAX(%)
				cells (Mean ± SD)				
Negative control	6h	+	75	0.0	±	0.0	0	<5
		-	75	0.0	±	0.0	0	<5
	24h	-	75	0.0	±	0.0	0	<5
Positive control	6h	+	75	0.0	±	0.0	0	0
		-	75	0.0	±	0.1	0	0
	24h	-	75	0.0	±	0.0	0	0

N: chromosome aberration test total number

\* : Mean ± 2SD



Certificate of Analysis for ATCC® CRL-1935™

ATCC® Catalog Number: CRL-1935™  
 Designation: CHL/IU  
 Lot Number: 3375917

Test	Specifications	Results
Post-Freeze Viability	≥ 50% average	92% average (range of 89% to 98%)
Morphology	Fibroblast-like	Fibroblast-like
Mycoplasma Contamination (Hoechst DNA Stain and Direct Culture Methods)	None Detected	None Detected
Post-Freeze Cell Growth	Cells are able to be successfully subcultured for two passages post-freeze	Cells are able to be successfully subcultured for two passages post-freeze
Interspecies Determination (Isoenzyme Analysis)	Hamster, Chinese	Hamster, Chinese
Bacterial and Fungal Contamination	None Detected	None Detected

*Kim Ellis*

Kim Ellis  
 Quality Control Supervisor, BioProduction

06 December 2006

Date

ATCC hereby represents and warrants that the material provided under this certificate has been subjected to the tests and procedures specified and that the results described, along with any other data provided in this certificate, are true and correct to the best of ATCC's knowledge and belief.

This product is intended to be used for research purposes only. It is not to be used for drug or diagnostic purposes nor is it intended for human use. ATCC® products may not be resold, modified for resale, used to provide commercial services or to manufacture commercial products without ATCC's prior written agreement.

© 2006 ATCC. All rights reserved.

The ATCC trademark and trade name and any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection.

American Type Culture Collection  
 P.O. Box 1549  
 Manassas, VA 20108 USA  
 www.atcc.org

800-638-6597 or 703-365-2700  
 Fax: 703-365-2750  
 E-mail: tech@atcc.org  
 or contact your local distributor.

S9 fraction quality control statement

**MOLTOX**  
Molecular Toxicology, Inc.

POST MITOCHONDRIAL SUPERNATANT (S9)  
QUALITY CONTROL & PRODUCTION CERTIFICATE

**Animal Information**

SPECIES: Rat  
STRAIN: Sprague Dawley  
SEX: Male  
AGE: 5 - 6 weeks  
WEIGHT: 175 - 199 g  
TISSUE: Liver

**Part Number Information**

LOT NO.: 3388  
PART NO.: 11-01L  
VOLUME: 2.1 mL  
BUFFER: 0.15 M  
KCl/Lyophilization Buffer  
STORAGE: At or below -20°C

PREP: December 19, 2014  
EXPIRY: December 19, 2016  
INDUCING AGENT: Aroclor  
1254, (Monsanto KL615), 500  
mg/kg i.p.

REFERENCE: Maron, D & Ames, B., *Mutat Res*, **113**: 173, 1983.

For Research Purposes Only

**BIOCHEMISTRY:**

- PROTEIN: 34.6 mg/ml

Assayed according to the method of Lowry et al., *JBC* **193**:265, 1951 using bovine serum albumin as the standard.

- ALKOXYRESORUFIN-0-DEALKYLASE ACTIVITIES

Activity	P450	Fold - Induction
BROD	2B1, 2B2	29.1
EROD	1A1, 1A2	104.7
MROD	1A1, 1A2	10.1
PROD	2B1, 2B2	110.6

Assays for ethoxyresorufin-0-deethylase (EROD), pentoxy-, benzyl- and methoxyresorufin-0-dealkylases (PROD, BROD, & MROD) were conducted using a modification of the methods of Burke, et al., *Biochem Pharm* **34**:3337, 1985. Fold-inductions were calculated as the ratio of the sample vs. uninduced specific activities (SA's). Control SA's (pmoles/min/ mg protein) were 184, 92.4, 226.7, & 15.5 for BROD, EROD, MROD and PROD, respectively.

**BIOASSAY:**

- TEST FOR THE PRESENCE OF ADVENTITIOUS AGENTS

Samples of S-9 were assayed for the presence of contaminating microflora by plating 1.0 ml volumes on Nutrient Agar and Minimal Glucose (Vogel-Bonner E, supplemented with 0.05 mM L-histidine and D-biotin) media. Duplicate plates were read after 40 - 48 h incubation at 35 ± 2°C. The tested samples met acceptance criteria.

- PROMUTAGEN ACTIVATION

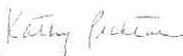
No. His+ Revertants  
TA98    TA1535  
354.8    900

The ability of the sample to activate ethidium (EtBr) and cyclophosphamide (CPA) to intermediates mutagenic to TA98 and TA1535, respectively, was determined according to Lesca, et al., *Mutation Res* **129**: 299, 1984. Data were expressed as revertants per µg EtBr or per mg CPA.

Dilutions of the sample S9, ranging from 0.2 - 10% in S9 mix, were tested for their ability to activate benzo(a)pyrene (BP) and 2-aminoanthracene (2-AA) to intermediates mutagenic to TA100. Assays were conducted as described by Maron & Ames, (*Mutat Res* **113**: 173, 1983).

µl S9 per plate/number *his*<sup>-</sup> revertants per plate

Promutagen	0	1	5	10	20	50
BP (5 µg)	83	124	266	367	647	852
2-AA (2.5 µg)	98	293	1292	1943	1881	1726

Approved:  12/29/14

MOLECULAR TOXICOLOGY, INC.

www.moltox.com

(828) 264-9099

## 6) 안전성 평가 [Ⅱ]

○ 인삼종자오일의 Sprague-Dawley랫드를 이용한 13주 반복 경구투여 독성시험 및 4주 회복시험

### 요 약

본 시험은 암·수 Sprague-Dawley랫드를 이용하여 시험물질인 인삼종자오일을 13주간 반복 경구투여 시 나타나는 독성반응과 안전성을 평가하고, 4주간의 회복군을 설정하여 독성변화의 가역성 여부를 확인하기 위하여 실시하였다. 본 시험의 투여용량은 0, 1250, 2500 및 5000 mg/kg/day로 암·수 각각 10 마리에 13주 반복 경구 투여하였고, 회복군은 0 및 5,000 mg/kg/day 용량으로 암·수 각각 5 마리에 13주 반복 경구 투여한 후 4주간 회복 기간을 두었다. 관찰기간 동안, 일반증상, 체중, 사료 섭취량, 안과학적 검사 및 뇨 검사를 실시하였고, 관찰기간 종료 후 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 측정, 부검 시 육안적 검사 및 조직병리학적 검사를 수행하였다. 관찰기간 동안 암·수 0, 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg/day 투여군에서 시험물질 투여에 기인한 사망례는 관찰되지 않았다. 투여기간 동안, 암·수 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg/day 투여군 전례에서 시험물질 색변 (compound-colored feces)이 지속적으로 관찰되었다. 암·수 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg/day 투여군에서 체중, 사료 섭취량, 음수 섭취량, 혈액생화학적 검사, 장기중량 및 부검소견에 있어서 시험물질 투여에 기인한 독성학적인 변화는 관찰되지 않았다. 조직병리학적 검사결과, 5,000 mg/kg/day투여군에서 시험물질 투여와 관련된 이상소견은 관찰되지 않았다. 이상으로 볼 때, 인삼종자오일을 13주 반복 경구투여 독성시험을 실시한 결과, 무독성량 (NOAEL)은 암·수 모두 5,000 mg/kg/day이상인 것으로 판단된다

## 시험실시의 개요

### 시험목적

본 시험은 암·수 Sprague-Dawley랫드를 이용하여 시험물질인 인삼종자오일을 13주간 반복 경구투여 시 나타나는 독성반응과 안전성을 평가하고, 4주간의 회복군을 설정하여 독성변화의 가역성 여부를 확인하기 위하여 실시하였다.

Good Laboratory Practice Regulations

“비임상시험관리기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-67호 (2014년 2월 12일)

### 시험기준

상기 시험은 다음의 시험기준에 근거하여 실시하였다.

의약품등의 독성시험기준”

식품의약품안전처 고시 제 2014-136호 (2014년 7월 30일)

### 의뢰자

기관명 충북홍삼영농조합법인

주소 충청북도 음성군 금왕읍 행제리 466-4

369-901

### 시험기관

기관명 (주)메드빌

주 소 서울특별시 금천구 디지털로 9길 33, 15층 (가산동, IT미래타워) 08511

연락처 02-2027-5775

### 시험일정

시험개시일	2016년 08월 25일
동물 입수일	2016년 08월 26일
군 분리일	2016년 09월 01일 (수컷), 2016년 09월 02일 (암컷)
투여기간	2016년 09월 02일 ~ 2016년 12월 01일 (수컷) 2016년 09월 03일 ~ 2016년 12월 02일 (암컷)
부검	2016년 12월 02일 ~ 2016년 12월 03일 (주시험군) 2016년 12월 30일 ~ 2016년 12월 31일 (회복군)
실험종료일	2017년 05월 12일
시험종료일	2017년 05월 26일

## 시험책임자

성명

소속

일반독성

## 다지점시험책임자

성명

소속

한국건설생활환경시험연구원

## 부문책임자

검역

시험물질보관

## 시험담당자

조제

부검

병리

통계

## 기록 및 자료의 보관

시험기간 중 발생된 모든 기록과 시험물질은 (주)메드빌의 자료보관실에 보관한다. 보관기간은 최종보고서 승인 후 5년간 보관함을 원칙으로 하며, 그 후 보관에 관해서는 시험기관과 시험의뢰자가 협의하여 결정한다.

## 동물윤리

본 시험은 실험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하며, 동물보호법 (법률 제 4379호, 1991. 5. 31., 법률 제 13023호, 2015. 1. 20., 일부개정)에 근거한 (주)메드빌 동물실험윤리위원회 (IACUC)에 의해 승인되었다 (승인번호 : 15-42).

## 재료 및 방법

### 시험물질

물질명 인삼종자오일  
Lot No. GSO(001)  
성상 액상  
성분 Ginsenosides  
제조일 2016년 07월 22일  
유효기간 2017년 07월 21일 (제조 후 2년)  
입수일 ① 2016년 08월 07일, ② 2016년 08월 20일  
입수량 ① 1105.73 g (용기포함), ② 9274.25 g (용기포함)  
보관조건 실온 (19.6 ~ 26.7 °C), 제습  
취급시 주의사항 인습성  
공급처 고연

잔여시험물질의 처리 시험 종료 후 반환

### 부형제

명칭 멸균증류수 (대한약품공업, Lot No. J5N5K21, P4P1K21)  
멸균증류수 (JW생명과학, Lot No. KAI5068 2B, KAI4029 4B)  
멸균증류수 (Lot No. 15-094, 15-095, 15-096)

보관조건 실온

### 시험물질의 조제 및 분석

#### 시험물질의 조제

투여 당일 전자저울 (Explorer Ex224G, OHAUS, U.S.A.)로 시험물질을 칭량한 후, 부형제를 가하여 규정 농도 (0, 1,250, 2,500, 5,000 mg/mL)로 조제하였다.

#### 조제물의 분석

조제물의 안정성, 균질성 및 농도분석은 별도로 실시하지 않았다.

### 시험계

종 및 계통 랫드, Sprague-Dawley (NTac:SD), SPF

공급원 (주)나라바이오텍

#### 시험계 선정 이유

Sprague-Dawley 랫드는 일반 독성시험에 널리 사용되고 있으며, 비교할 기초자료가 풍부하여 선택하였다.

#### 입수 시 동물 수, 주령 및 체중범위

수컷, 55 마리, 5 주령, 162.3 ~ 184.3 g

암컷, 55 마리, 5 주령, 139.8 ~ 164.9 g

#### 투여개시 시 성별, 동물수, 주령 및 체중

수컷, 50 마리, 6 주령, 218.1 ~ 246.5 g

암컷, 50 마리, 6 주령, 171.7 ~ 215.3 g

## 검역 및 순화

입수 시 동물의 일반증상 관찰 및 체중측정 후, 개체식별법에 따랐다. 5 ~ 6일 이상의 순화기간 중 매일 1 회 일반증상을 관찰하였다. 순화기간 종료일에 체중을 측정하였고, 일반증상 및 체중변화를 확인하여 이상이 없는 동물을 시험에 사용하였다.

## 개체 및 사육상자 식별

순화기간 중에는 입수 시에 동물의 꼬리에 청색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하였고, 사육상자에는 순화기간 사육상자카드를 부착하였다.

관찰기간 중에는 군분리 시에 동물의 꼬리에 적색 유성펜을 이용하여 개체표시를 하였고, 사육상자에는 사육상자카드를 부착하였다.

## 군분리

최종검역은 순화종료일에 일반증상 및 체중에 이상이 없는 동물로 군 평균체중 및 표준편차를 계산하여 대조군 및 실험물질 투여군으로 균일하게 배치하였다..

잔여동물의 처리

군분리 후 잔여동물은 시험계로부터 제외하여 SOP에 따라 처리하였다.

## 사육환경조건

동물실 번호	동물실 III
사육상자 종류 및 크기	Polycarbonate cage, 420W × 270D × 180H (mm)
사육상자당 수용동물 수	검역·순화기간 5 마리, 시험기간 1 ~ 2 마리
온도	19.1 ~ 25.0°C
상대습도	34.3 ~ 69.1%
환기횟수	10 ~ 20 회/시간
명암주기 (조명시간)	12 시간/일 (08:00 - 20:00)
조도	150 ~ 300 Lux
사료	
종류	감마선 멸균된 실험동물용 고형사료 (2918C)
Lot No.	2918C-062215MA
제조사	Harlan Laboratories, Inc.

## 급이방법

급이기에 고형사료를 넣어 자유 섭취시켰다.

## 사료의 분석 및 확인

공급원에서 제공한 분석자료의 결과가 본사에서 정한 허용범위 내에 속하는 것을 확인하였다.

## 음수

종류 및 급수방법

서울특별시의 수도물을 UV 멸균 및 필터를 이용하여 여과된 정제수를 Polycarbonate 음수병 (500 mL)에 넣어 자유섭취 시켰다.

### 음수의 분석 및 확인

“먹는물 수질기준 및 검사 등에 관한 규칙” (환경부령 제 553호, 2014. 4. 30, 일부개정)의 전 항목에 대하여 외부 기관에 의뢰하여 1 회/년 검사를 실시하며, 그 결과가 본사에서 정한 허용범위 내에 속하는지 확인하였다.

### 투여

투여경로 선택이유

임상예정 경로에 따라 경구투여를 선택 하였다.

### 투여방법 및 투여횟수

투여액은 10 mL/kg/day로 하였고, 개체별 투여액은 최근 체중측정을 기준으로 산출하였다. 투여 당일 경구투여용 워존데를 부착한 일회용 주사기 (3~10 mL)를 이용하여 13주간 1일 1회 이내 강제 경구투여를 실시하였다.

### 투여용량 및 시험군의 구성

본 시험은 시험의뢰자의 요청에 따라 5,000 mg/kg/day를 고용량으로 설정하였고, 공비 2를 적용한 2,500 및 1,250 mg/kg/day를 중용량 및 저용량으로 설정하였다. 대조군은 시험물질 투여군과 동일한 액량의 부형제를 투여하였고, 4주간의 회복군을 설정하여 독성변화의 가역성 여부를 확인하였다.

각 단계별 투여용량은 다음과 같이 설정하였다.

군	투여용량 (mg/kg/day)	투여액량 (mL/kg/day)	동물수 (개체번호)	
			수컷	암컷
G1 대조군	0	10	10 (11001 ~ 11010) + 5* (11011 ~ 11015)	10 (21001 ~ 21010) + 5* (21011 ~ 21015)
G2 저용량군	1,250	10	10 (12001 ~ 12010)	10 (22001 ~ 22010)
G3 중용량군	2,500	10	10 (13001 ~ 13010)	10 (23001 ~ 23010)
G4 고용량군	5,000	10	10 (14001 ~ 14010) + 5* (14011 ~ 14015)	10 (24001 ~ 24010) + 5* (24011 ~ 24015)

\*: 회복군

### 관찰 및 검사

이하의 관찰, 측정 및 검사일은 투여개시일을 1일로 하여, 투여개시일부터 7일간을 투여 1주로 계산하였다.

### 일반증상 관찰

모든 동물에 대하여 13주간 매일 1회 일반증상을 관찰하였고, 1일 2회 빈사 및 사망동물의 유무를 확인하였다. 13주 투여 종료 후 회복군에 대하여 4주간 일반증상 관찰을 실시하였다.

### 사망동물의 처리

사망동물은 발견일에 부검하였고, 장기중량의 측정 및 장기 슬라이드 제작을 하였으나 혈액은 채취하지 못하였다 (측정결과는 평가에서 제외하였다).

### 체중측정

모든 동물에 대하여 입수일, 군 분리일, 투여 개시 전, 투여 후 및 회복기간에 주1회, 부검일에 체중을 측정하였다. 단 부검일의 체중은 절식을 실시하였으므로 체중평가에서 제외하였다.

### 사료 섭취량 측정

투여 개시 후 주 1회 사료섭취량을 측정하였다. 측정방법은 사육상자별 급이한 사료량을 측정하고, 익일에 잔량을 측정하여, 개체당 일일 섭취량 (g/rat/day)을 산출하였다.

### 안과학적 검사

각 군 5마리의 동물에 대하여 투여 13주 및 회복 4주에 실시하였다. 검사는 산동제 점안전 육안으로 동공 대광반사 및 전안부를 관찰하고, 점안후 검안경 (binocular indirect ophthalmoscope, HEINE EN 50, HEINE, Germany)으로 전안부, 중간투광체 및 안저에 대한 검사를 실시하였다.

### 뇨검사

각 군당 5마리의 동물에 대하여 투여 후 13주 및 회복4주에 대사케이지를 이용하여 신선뇨 (배설 후 약3 시간 이내의 뇨) 및 축뇨 (배설 후 약 24시간 이내의 뇨)를 채취하여 아래 항목에 대한 검사를 실시하였다.

	항 목	단 위	측 정 방 법
신선뇨	당 (glucose)	mg/dL	뇨 자동분석기 검사 (CTK Status, SIEMENS, U.S.A.)
	빌리루빈 (bilirubin)	mg/dL	
	케톤체 (ketone body)	mg/dL	
	비중 (specific gravity)	-	
	잠혈 (occult blood)	Ery/uL	
	단백 (protein)	mg/dL	
	pH	-	
침사	-	원심 분리 후 현미경 검사	
축뇨	노량	mL	메스실린더 측정
	색조 및 투명도	-	육안관찰

### 혈액학적 검사

부검전 16시간 이상 절식시킨 동물을 isoflurane으로 마취하여 복대동맥으로부터 채혈한 혈액 중 약 1 mL를 항응고제인 EDTA-2K가 들어있는 vacutainer tube (BD, U.S.A.)에 주입한 후 한국건설생활환경시험연구원에 의뢰하여 자동혈액분석기 (ADVIA 2120, SIEMENS, U.S.A.)로 다음 항목을 측정하였다.

항 목	단 위	측 정 방 법
적혈구수 (erythrocyte count, RBC)	$\times 10^6$ cells/ $\mu$ L	Flow cytometry
혈색소량 (hemoglobin, HGB)	g/dL	Flow cytometry, Cyanmethemoglobin
헤마토크리치 (hematocrit, HCT)	%	Calculated
평균적혈구용적 (mean corpuscular volume, MCV)	fL	Flow cytometry
평균적혈구헤모글로빈량 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)	pg	Calculated
평균적혈구헤모글로빈농도 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)	g/dL	Calculated
혈소판수 (platelet, PLT)	$\times 10^3$ cells/ $\mu$ L	Flow cytometry
백혈구수 (leucocyte count, WBC)	$\times 10^3$ cells/ $\mu$ L	
백혈구백분율 (WBC differential counting)		
- 중성호성백혈구 (neutrophil, NEU)		Flow cytometry, Peroxidase stain
- 림프구 (lymphocyte, LYM)		
- 단핵구 (monocyte, MONO)	%	
- 산호성 백혈구 (eosinophil, EOS)		
- 염기호성 백혈구 (basophil, BASO)		
망상적혈구 (reticulocytes, Reti)	%	Flow cytometry, RNA stain

혈액응고검사는 채혈한 혈액 중 약 1 mL를 3.2% sodium citrate가 담겨있는 vacutainer tube (BD, UK)에 주입하여 혈액응고분석기 (ACL ELITE PRO, Instrumentation Laboratory, U.S.A.)를 이용하여 다음 항목을 측정하였다.

항 목	단 위	측 정 방 법
프로트롬빈시간 (prothrombin time, PT)	Sec	Nephelometry
부분활성트롬보플라스틴시간 (activated partial thromboplastin time, APTT)	Sec	Nephelometry

### 혈액생화학적 검사

채혈한 혈액 중 약 3 mL를 clot activator가 들어있는 vacutainer tube (BD, UK)에 주입하고 15 - 20 분간 상온에 응고시킨 후, 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청으로 혈액생화학분석기 (Hitachi 7020, HITACHI, Japan)와 전해질분석기 (PDC-800, FUJIFILM, Japan)를 이용하여 다음 항목을 측정하였다.

항 목	단 위	측 정 방 법
ALT (Alanine aminotransferase)	IU/L	IFCC법
AST (Aspartate aminotransferase)	IU/L	IFCC법
ALP (Alkaline phosphatase)	IU/L	P-NPP법
BUN (Blood urea nitrogen)	mg/dL	Urease-UV법
CRE (Creatinine)	mg/dL	Jaffe법
GLU (Glucose)	mg/dL	UV법
CHO (Total cholesterol)	mg/dL	Enzyme법
TP (Total protein)	g/dL	Biuret법
ALB (Albumin)	g/dL	BCG법
T-BIL (Total bilirubin)	mg/dL	Evelyn-Malloy법
TG (Triglyceride)	mg/dL	Enzyme법
IP (Inorganic phosphorus)	mg/dL	Enzyme법
Ca <sup>2+</sup> (Calcium ion)	mg/dL	O-CPC법
A/G ratio (Albumin/Globulin ratio)	ratio	[ALB/(TP-ALB)] 산출
Cl <sup>-</sup> (Chloride ion)*	mmol/L	전극법
Na <sup>+</sup> (Sodium ion)*	mmol/L	전극법
K <sup>+</sup> (Potassium ion)*	mmol/L	전극법

\* : 전해질 분석기로 측정

### 부검

모든 동물에 대하여 주시험군은 투여 92일, 회복군은 120일에 isoflurane마취 하에 채혈 및 방혈하여 안락사 시키고 부검하였다.

#### 장기중량 측정

모든 동물에 대하여 다음의 장기에 대한 중량을 측정하고, 절식체중에 대한 상대 장기 중량비를 산출하였다. 좌·우가 있는 장기(#)는 좌·우 무게를 합하여 측정하였다.

측 정 항 목	
· 뇌 (brain)	· 뇌하수체 (pituitary)
· 심장 (heart)	· 폐 (lung)
· 간 (liver)	· 비장 (spleen)
· 신장# (kidney)	· 부신# (adrenal)
· 고환# (testis)	· 전립선 (prostate)
· 난소# (ovary)	· 자궁 (uterus)

### 조직병리학적 검사

부검을 실시한 모든 동물에 대하여 다음의 장기·조직을 적출하여 10% 중성완충 포르말린용액 (neutral buffered formalin)에 고정하였고, 고환 및 안구는 Davidson 고정액에 고정하였다.

측 정 항 목	
· 뇌 (brain)	· 뇌하수체 (pituitary)
· 갑상선 및 부갑상선 <sup>a)</sup> (thyroid and parathyroid)	
· 흉선 (thymus)	· 폐 (기관지 포함) (lung including bronchi)
· 기관 (trachea)	· 심장 (heart)
· 간 (liver)	· 비장 (spleen)
· 신장 (kidney)	· 부신 (adrenal)
· 타액선 (악하선, 설하선, 이하선) (salivary gland: submandibular, sublingual and parotid gland)	
· 식도 (esophagus)	· 위 (stomach)
· 십이지장 (duodenum)	· 공장 (jejunum)
· 회장 (ileum)	· 맹장 (cecum)
· 결장 (colon)	· 직장 (rectum)
· 췌장 (pancreas)	· 고환 (testis)
· 부고환 (epididymis)	· 전립선 (prostate)
· 정낭 (seminal vesicle)	· 난소 (ovary)
· 자궁 (uterus)	· 질 (vagina)
· 방광 (urinary bladder)	· 악하 림프절 (submandibular lymph node)
· 장간막 림프절 (mesenteric lymph node)	
· 안구 (시신경 <sup>a)</sup> 포함) 및 하더리안선 (eye including optic nerve and harderian gland)	
· 유선 (서혜부) (mammary gland: inguinal)	· 피부 (서혜부) (skin: inguinal)
· 흉골 (골수 포함) (sternum including bone marrow)	
· 대퇴골 (골수 포함) (femur including bone marrow)	
· 혀 (tongue)	· 척수 (흉부) (spinal cord: thoracic)

<sup>a)</sup> 해당 장기는 조직이 슬라이드에 존재하는 것 만을 검사하였다.

고정된 장기·조직은 삭정, 탈수 및 파라핀 포매 등의 일반적인 조직처리과정을 거쳐 조직절편을 제작하여 박절한 후, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 실시하였다.

조직병리학적 검사는 대조군과 고용량군의 모든 개체의 장기·조직에 대하여 실시하였다.

### 통계학적 분석

통계학적 분석은 체중, 사료 섭취량, 뇨량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기중량에 대하여 SPSS program (SPSS 16.0)을 사용하여 실시하였다.

Levene test를 통하여 등분산성이 인정되면 One-way analysis of variance (ANOVA)을 실시하여 유의성이 인정되면 사후검정으로 Scheffe 검정을 실시하였고, 등분산성이 기각되면 Dunnett's T3 검정을 실시하여 대조군과의 유의성을 확인하였다 (유의수준: 양측 5%).

회복군은 등분산인 경우 Student T 검정을 실시하였다 (유의수준: 양측 5%).

## 결과 및 고찰

### 일반증상

(Table 1, Appendix 1)

회복기간 중 대조군의 1마리 (Animal ID :11015)에서 회복기간 Day 13 에 사망동물이 발생 하였다.

투여기간 동안 암·수 1,250, 2,500, 5,000 mg/kg/day 투여군 전례에서 색변 (compound-colored feces)이 관찰되었다. 시험물질색변은 시험물질에 의한 착색변으로 시험물질에 의한 독성변화에 기인하는 것은 아닌 것으로 판단하였다.

### 체중변화

(Figure 1, Table 2, Appendix 2)

관찰기간 동안, 모든 시험물질 투여군에서 대조군과 비교 시 통계적으로 유의성 있는 체중의 변화는 관찰 되지 않았다.

### 사료 섭취량

(Table 3, Appendix 3)

관찰기간 동안, 수컷 1,250 mg/kg/day투여군에서 투여 후 3, 9, 10, 12주 에 대조군에 비해 유의성 있는 사료섭취량의 감소 또는 감소경향이 관찰되었고, 5,000 mg/kg/day투여군에서 투여 후 2, 3주에 대조군에 비해 유의성 있는 사료섭취량의 감소 또는 감소경향이 관찰되었다. 사료섭취량의 감소는 그 정도가 경미하여 독성학적인 의미는 없는 것으로 사료되었다.

회복기간 동안에는 암컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 회복 3주에 대조군에 비해 유의성 있는 사료섭취량의 일시적 증가 또는 증가경향이 관찰되었다.

### 안과학적 검사

(Figure 4, Appendix 4)

모든 시험물질 투여군에서 투여에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

### 뇨 검사

(Table 5, Appendix 5)

모든 시험물질 투여군에서 투여에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

### 혈액학적 검사

(Table 6, Appendix 6)

주시험군의 암·수 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg/day 투여군과 회복군의 암·수 5,000 mg/kg/day 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

암컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 헤마토크리트치 (HGB)의 수치 감소경향이 관찰되었으나, 경미한 변동으로서, 대부분 배경 데이터 내의 변동이며, 다른 관련 변화가 동반되지 않아 독성학적인 의미는 없는 것으로 판단하였다.

### 혈액생화학적 검사

(Table 7, Appendix 7)

주시험군의 암·수 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg/day 투여군과 회복군의 암·수 5,000 mg/kg/day 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

수컷 1,250 mg/kg/day 투여군에서 크레아티닌 (Crea)의 수치 증가경향이 관찰되었고, 5,000 mg/kg/day 투여군에서 혈당 (Glu)의 수치 감소경향이 관찰되었지만, 경미한 변동으로서, 대부분 배경 데이터 내의 변동이며, 다른 관련 변화가 동반되지 않아 독성학적인 의미는 없는 것으로 판단하였다. 회복군에는 수컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 인 (P)의 수치가 대조군에 비해 유의성 있는 증가경향이 관찰되었고 암컷 5,000 mg/kg/day 투여군에서 염화물 (Cl)의 수치가 대조군에 비해 유의성 있는 증가경향이 관찰되었다

#### **장기중량 측정**

(Table 8, Table 9, Appendix 8, Appendix 9)

주시험군의 암·수 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg/day 투여군과 회복군의 암·수 5,000 mg/kg/day 투여군에서 투여에 의한 영향으로 판단되는 변화는 관찰되지 않았다.

#### **부검소견**

(Table 10, Appendix 10)

주시험군의 암·수 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg/day 투여군과 회복군의 암·수 5,000 mg/kg/day 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 소견은 관찰되지 않았다.

#### **조직병리학적 검사**

(Table 11, Appendix 11)

5,000 mg/kg 투여군 및 회복군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

이 외 관찰된 소견들은 모두 자연발생성으로서 흔히 관찰되는 병변으로 독성학적인 의미는 없었다.

#### **결론**

이상으로 본 시험 조건하에서, 인삼종자오일을 13주 반복 경구투여 독성시험을 실시한 결과, 무독성량 (NOEL)은 암수 모두 5,000 mg/kg/day이상인 것으로 판단된다

FIGURES

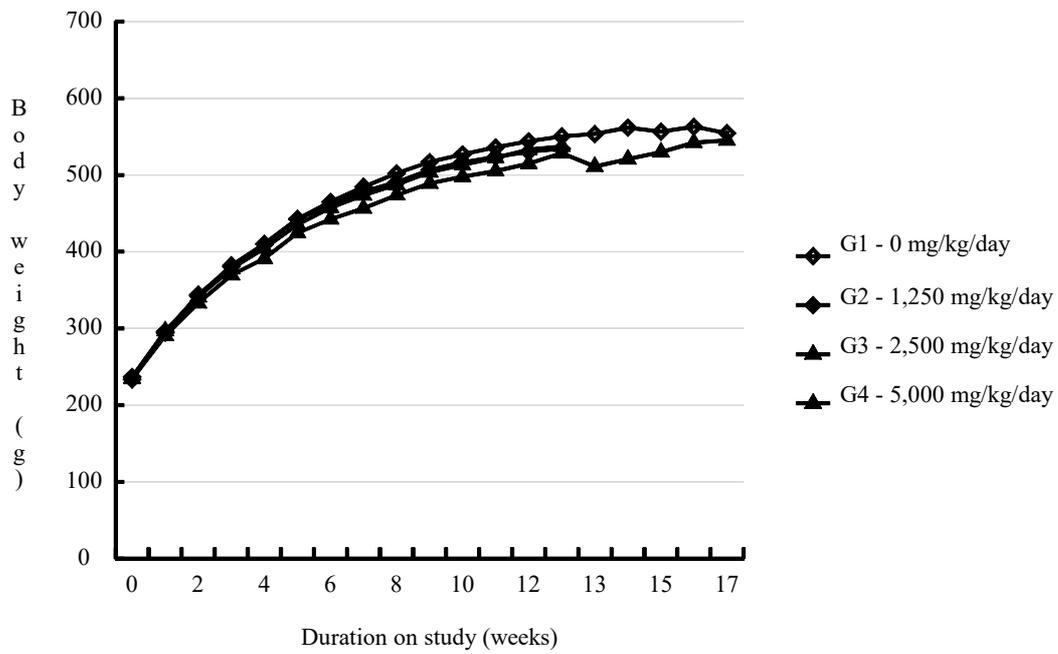


Figure 1. Body weights in male SD rats

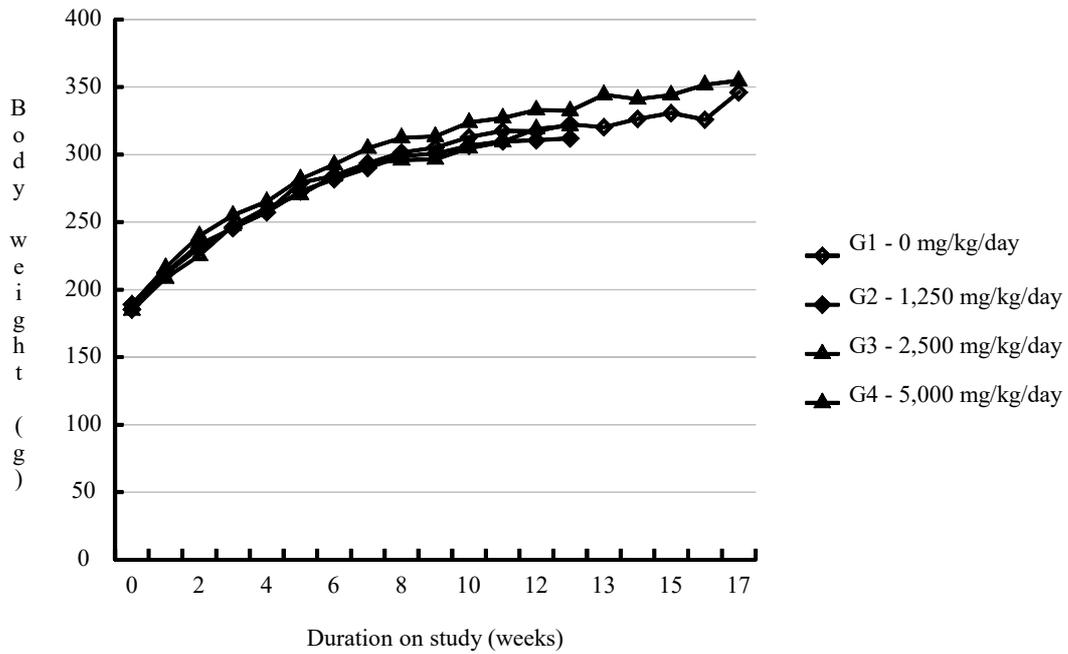


Figure 2. Body weights in female SD rats

TABLES

Table 1-1. Summary of clinical signs (Main Group)

Sex: Male					
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Clinical signs	Days		
			1	2	3~92
G1 0	15	NOA	15	15	15
G2 1,250	10	NOA Compound-colored feces	10 0	8 2	0 10
G3 2,500	10	NOA Compound-colored feces	10 0	2 8	0 10
G4 5,000	15	NOA Compound-colored feces	15 0	0 15	0 15
Sex: Female					
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Clinical signs	Days		
			1	2	3~92
G1 0	15	NOA	15	15	15
G2 1,250	10	NOA Compound-colored feces	10 0	6 4	0 10
G3 2,500	10	NOA Compound-colored feces	10 0	2 8	0 10
G4 5,000	15	NOA Compound-colored feces	15 0	0 15	0 15

NOA: No Observable Abnormality

Table 1-2. Summary of clinical signs (Recovery Group)

Sex: Male							
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Clinical signs	Day				
			92	93	94 ~ 103	104	105~120
G1 0	5	NOA	5	5	5	4	4
		Death	0	0	0	1	0
G4 5,000	5	NOA	0	4	5	5	5
		Compound-colored feces	5	1	0	0	0

Sex: Female							
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Clinical signs	Day				
			92	93	94 ~ 120		
G1 0	5	NOA	5	5	5		
G4 5,000	5	NOA	0	3	5		
		Compound-colored feces	5	2	0		

NOA: No Observable Abnormality

Table 2-1. Summary of body weights (Main Group)

Sex: Male									(g)
Group /		Week							
Dose (mg/kg/day)		0	1	2	3	4	5	6	
G1 0	Mean	236.6	296.0	342.4	382.1	410.4	442.8	464.9	
	S.D.	6.6	11.5	19.7	25.7	30.9	35.8	39.8	
	N	15	15	15	15	15	15	15	
G2 1,250	Mean	233.3	294.6	344.1	380.5	409.6	442.6	461.2	
	S.D.	7.4	9.3	16.2	22.1	23.1	26.7	30.0	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G3 2,500	Mean	235.2	296.7	340.9	377.6	404.4	435.2	457.3	
	S.D.	7.7	10.9	21.4	24.1	28.4	31.2	33.5	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G4 5,000	Mean	234.2	290.5	333.0	369.5	391.0	424.5	442.3	
	S.D.	6.7	18.9	15.7	17.3	19.5	23.2	25.9	
	N	15	15	15	15	15	15	15	

Group /		Week							
Dose (mg/kg/day)		7	8	9	10	11	12	13	
G1 0	Mean	484.6	502.2	516.9	527.0	536.0	544.0	551.4	
	S.D.	46.3	52.2	52.4	56.0	58.2	55.9	53.3	
	N	15	15	15	15	15	15	15	
G2 1,250	Mean	478.4	490.6	506.7	516.6	523.7	530.3	534.5	
	S.D.	32.5	34.7	36.7	38.4	42.2	43.3	43.6	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G3 2,500	Mean	473.5	487.4	503.6	513.2	522.5	533.1	537.3	
	S.D.	36.3	38.9	41.8	43.1	44.4	47.8	46.8	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G4 5,000	Mean	456.8	473.9	489.2	497.9	505.2	514.8	522.8	
	S.D.	28.6	32.1	32.6	37.2	38.1	40.1	41.6	
	N	15	15	15	15	15	15	15	

Table 2-1. (Continued)

Sex: Female									(g)
Group /		Week							
Dose (mg/kg/day)		0	1	2	3	4	5	6	
G1 0	Mean	189.1	212.8	233.3	245.4	257.3	279.3	284.3	
	S.D.	10.1	10.8	14.4	16.5	17.6	18.8	24.4	
	N	15	15	15	15	15	15	15	
G2 1,250	Mean	185.3	211.6	230.9	246.4	257.3	272.8	281.8	
	S.D.	7.4	8.7	13.2	10.1	10.9	13.8	16.9	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G3 2,500	Mean	184.8	208.5	225.2	247.4	260.6	270.4	284.1	
	S.D.	9.2	14.8	18.0	23.4	25.8	28.4	32.3	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G4 5,000	Mean	188.9	216.3	239.9	255.1	265.1	281.9	292.6	
	S.D.	10.9	10.3	15.5	18.4	20.3	22.4	23.3	
	N	15	15	15	15	15	15	15	

Group /		Week							
Dose (mg/kg/day)		7	8	9	10	11	12	13	
G1 0	Mean	293.6	301.5	305.2	313.0	317.6	317.3	321.7	
	S.D.	22.6	26.6	23.2	23.5	28.3	30.6	30.5	
	N	15	15	15	15	15	15	15	
G2 1,250	Mean	290.0	299.1	300.7	306.6	309.8	310.6	312.1	
	S.D.	14.0	16.2	16.3	11.0	13.1	15.0	14.3	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G3 2,500	Mean	293.4	295.9	296.5	304.8	309.4	319.1	321.4	
	S.D.	27.3	28.9	33.2	27.3	28.6	29.6	31.5	
	N	10	10	10	10	10	10	10	
G4 5,000	Mean	304.6	312.5	313.4	323.8	327.0	333.1	336.4	
	S.D.	25.9	27.0	27.2	28.6	31.7	32.9	31.1	
	N	15	15	15	15	15	15	15	

Table 2-2. Summary of body weights (Recovery Group)

Sex: Male							(g)
Group /		Week					
Dose (mg/kg/day)		13	14	15	16	17	
G1 0	Mean	553.5	561.7	556.4	563.0	554.5	
	S.D.	49.3	45.5	14.8	16.2	8.9	
	N	5	5	4	4	4	
G4 5,000	Mean	511.1	520.7	529.7	542.2	545.2	
	S.D.	58.8	67.1	73.5	76.0	75.3	
	N	5	5	5	5	5	

Sex: Female							(g)
Group /		Week					
Dose (mg/kg/day)		13	14	15	16	17	
G1 0	Mean	320.3	326.4	330.8	325.9	346.1	
	S.D.	32.7	34.4	39.2	36.9	27.6	
	N	5	5	5	5	5	
G4 5,000	Mean	344.4	341.0	344.2	351.6	354.8	
	S.D.	32.5	33.9	37.9	37.6	37.7	
	N	5	5	5	5	5	

Table 3-1. Summary of food consumptions (Main Group)

Sex: Male		(g/rat/day)						
Group / Dose (mg/kg/day)		Week						
		1	2	3	4	5	6	7
G1 0	Mean	28.55	30.11	30.15	29.21	29.87	27.90	27.23
	S.D.	1.64	2.60	2.06	2.76	3.17	2.40	1.67
	N	15	15	15	15	15	15	15
G2 1,250	Mean	26.98	29.84	28.08 *	28.70	28.29	27.75	26.05
	S.D.	1.26	2.44	0.98	2.12	1.03	1.86	1.56
	N	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	28.66	29.90	28.26	29.07	28.24	27.64	26.06
	S.D.	2.29	2.40	1.18	2.52	1.91	2.47	2.89
	N	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	26.29	27.65 *	26.95 **	28.21	29.09	26.40	26.54
	S.D.	3.52	1.39	1.92	3.70	2.44	2.52	2.51
	N	15	15	15	15	15	15	15

Group / Dose (mg/kg/day)		Week					
		8	9	10	11	12	13
G1 0	Mean	28.93	25.56	26.95	26.37	25.57	26.64
	S.D.	3.20	2.40	2.61	2.17	2.46	1.65
	N	15	15	15	15	15	0
G2 1,250	Mean	26.99	23.02 ##	24.70 #	23.99	22.50 ##	24.60
	S.D.	0.95	0.27	0.91	1.86	1.58	2.57
	N	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	27.43	24.54	24.71	24.87	24.80	25.64
	S.D.	2.15	1.76	3.53	2.61	1.40	1.48
	N	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	28.40	25.20	25.78	24.41	23.87	25.69
	S.D.	2.40	2.96	2.44	2.73	2.42	2.83
	N	15	15	15	15	15	15

Significantly different from control by Dunnett's T3-test: # p&lt;0.05, ## p&lt;0.01

Significantly different from control by Scheffe test: \* p&lt;0.05, \*\* p&lt;0.01

Table 3-1. (Continued)

Sex: Female		(g/rat/day)						
Group / Dose (mg/kg/day)		Week						
		1	2	3	4	5	6	7
G1 0	Mean	19.37	19.79	19.85	21.49	20.52	19.78	20.08
	S.D.	2.20	1.76	2.06	1.33	2.44	2.95	1.51
	N	15	15	15	15	15	15	15
G2 1,250	Mean	18.72	19.89	18.74	19.62	20.67	19.02	19.01
	S.D.	0.97	2.34	2.18	2.28	3.10	2.67	2.60
	N	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	17.92	19.40	18.81	20.31	21.21	19.75	19.55
	S.D.	1.51	3.06	2.20	2.89	2.34	3.34	3.06
	N	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	19.01	20.11	21.15	21.47	21.35	18.81	22.04
	S.D.	1.74	2.08	2.71	3.48	2.30	3.65	2.60
	N	15	15	15	15	15	15	15

		(g/day)					
Group / Dose (mg/kg/day)		Week					
		8	9	10	11	12	13
G1 0	Mean	21.12	17.89	20.09	19.57	18.95	18.98
	S.D.	2.07	3.03	2.39	1.60	2.38	2.28
	N	15	15	15	15	15	0
G2 1,250	Mean	19.89	18.09	20.17	18.36	17.91	19.30
	S.D.	1.33	0.80	3.24	2.30	2.19	0.37
	N	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	20.67	16.84	19.61	19.17	17.42	19.51
	S.D.	3.45	2.54	3.69	2.48	1.28	2.95
	N	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	21.44	18.30	18.87	20.20	19.27	18.53
	S.D.	2.77	2.56	2.70	2.16	1.79	1.83
	N	15	15	15	15	15	15

Table 3-2. Summary of food consumptions (Recovery Group)

Sex: Male		(g/rat/day)			
Group / Dose (mg/kg/day)		Week			
		14	15	16	17
G1 0	Mean	23.92	28.50	28.05	23.03
	S.D.	1.75	0.46	1.15	2.51
	N	5	4	4	4
G4 5,000	Mean	28.40	28.26	27.20	26.72
	S.D.	5.63	5.15	1.69	3.36
	N	5	5	5	5

Sex: Female		(g/rat/day)			
Group / Dose (mg/kg/day)		Week			
		14	15	16	17
G1 0	Mean	18.46	19.64	18.36	17.40
	S.D.	3.36	3.33	1.75	2.25
	N	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	20.04	22.58	24.06 **	18.34
	S.D.	2.43	3.92	2.81	2.72
	N	5	5	5	5

Significantly different from control by Student t-test: \*\* p<0.01

Table 4-1. Summary of ophthalmological examination (Main Group)

Sex: Male										
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Findings	Right eye				Left eye			
			Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus	Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus
G1 0	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5

Sex: Female										
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Findings	Right eye				Left eye			
			Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus	Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus
G1 0	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
G2 1,250	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
G3 2,500	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 4-2. Summary of ophthalmological examination (Recovery Group)

Sex: Male										
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Findings	Right eye				Left eye			
			Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus	Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus
G1 0	4	Normal	4	4	4	4	4	4	4	4
G4 5,000	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5

Sex: Female										
Group / Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Findings	Right eye				Left eye			
			Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus	Pupil light reflex	Anterior segment	Trans- parent media	Fundus
G1 0	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 5-1. Summary of urinalysis (Main Group)

Sex: Male					
Group / Dose (mg/kg)		G1 / 0	G2 / 1,250	G3 / 2,500	G4 / 5,000
No. of animals		5	5	5	5
Volume (mL)	Mean	11.9	12.7	11.2	12.6
	S.D	1.9	1.8	2.8	2.0
Glucose (mg/dL)	Negative	5	5	5	5
	Trace				
	1+				
	2+				
	3+				
Bilirubin (mg/dL)	Negative	5	5	5	4
	1+				1
	2+				
	3+				
Ketone body (mg/dL)	Negative		1		
	Trace	3	1	1	
	1+	2	2	4	5
	2+		1		
	3+				
Specific gravity	≤1.005				
	1.010		1		
	1.015	4	4	5	5
	1.020	1			
	1.025				
≥1.030					
Occult blood (Ery/uL)	Negative		4	4	5
	Trace intact	1	1		
	Trace lysed	2		1	
	1+	2			
	2+				
	3+				
Protein (mg/dL)	Negative		1		
	Trace				
	1+	4	2	1	
	2+	1	2	4	4
	3+				1
pH	5.0				
	5.5				
	6.0				
	6.5				
	7.0				
	7.5				
	8.0				
	8.5	4	2	2	1
	≥9.0	1	3	3	4

Table 5-1. (Continued)

Sex: Female					
Group / Dose (mg/kg)		G1 / 0	G2 / 1,250	G3 / 2,500	G4 / 5,000
No. of animals		5	5	5	5
Volume (mL)	Mean	9.1	7.5	6.6	12.9
	S.D	5.0	2.1	2.8	6.7
Glucose (mg/dL)	Negative	4	2	4	3
	Trace		3	1	2
	1+	1			
	2+				
	3+				
Bilirubin (mg/dL)	Negative	4	3	1	1
	1+	1	1	4	2
	2+		1		2
	3+				
Ketone body (mg/dL)	Negative	1			
	Trace	1	1		1
	1+	2	2	5	3
	2+	1	2		1
	3+				
Specific gravity	≤1.005				
	1.010		1	3	2
	1.015		2	2	2
	1.020	4	1		1
	1.025	1			
	≥1.030		1		
Occult blood (Ery/uL)	Negative		1	5	4
	Trace intact				1
	Trace lysed	3	4		
	1+	1			
	2+				
	3+	1			
Protein (mg/dL)	Negative				
	Trace				
	1+	2			1
	2+	1	3	2	1
3+	2	2	3	3	
pH	5.0				
	5.5				
	6.0				
	6.5				
	7.0				
	7.5	1	1		
	8.0				
	8.5	3	1		1
≥9.0	1	3	5	4	

Table 5-2. Summary of urinalysis (Recovery Group)

Sex		Male		Female	
		G1 / 0	G4 / 5,000	G1 / 0	G4 / 5,000
Group / Dose (mg/kg)					
No. of animals		4	5	5	5
Volume (mL)	Mean	7.9	7.4	7.5	7.9
	S.D	2.9	2.6	3.5	3.5
Glucose (mg/dL)	Negative	4	4	5	5
	Trace		1		
	1+				
	2+				
	3+				
Bilirubin (mg/dL)	Negative	3	3	4	4
	1+	1	2	1	1
	2+				
	3+				
Ketone body (mg/dL)	Negative			1	1
	Trace	3	4	3	3
	1+	1	1	1	1
	2+				
	3+				
Specific gravity	≤1.005				
	1.010	1			
	1.015	1	2	3	4
	1.020	2	2	1	1
	1.025			1	
	≥1.030		1		
Occult blood (Ery/uL)	Negative	4	5	5	5
	Trace intact				
	Trace lysed				
	1+				
	2+				
	3+				
Protein (mg/dL)	Negative				
	Trace				
	1+	2	2	4	4
	2+	2	3	1	1
	3+				
pH	5.0				
	5.5				
	6.0				
	6.5				
	7.0				
	7.5				
	8.0				
	8.5		1		1
	≥9.0	4	4	5	4

Table 6-1. Summary of hematological parameters (Main Group)

Sex: Male

Group / Dose (mg/kg/day)		RBC ( $\times 10^6$ cells/ $\mu$ L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	RBC Indices			PLT ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	Reti (%)
					MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)		
G1 0	Mean	9.06	15.8	46.6	51.5	17.5	33.9	1002	1.74
	S.D.	0.42	0.6	1.8	1.4	0.5	0.5	153	0.26
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	8.73	15.0	44.7	51.3	17.2	33.5	771	1.71
	S.D.	0.50	0.9	2.4	1.4	0.7	0.6	414	0.43
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	8.78	15.3	45.5	51.9	17.5	33.7	971	1.56
	S.D.	0.40	0.5	1.5	1.6	0.7	0.4	194	0.33
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	8.69	14.9 *	44.4	51.2	17.2	33.6	960	1.72
	S.D.	0.35	0.5	1.2	1.3	0.7	0.7	159	0.40
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

Group / Dose (mg/kg/day)		WBC ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	WBC Differential Counting (%)					PT (sec)	APTT (sec)
			NEU	LYM	MONO	EOS	BASO		
G1 0	Mean	4.08	0.90	2.95	0.09	0.10	0.00	10.0	28.9
	S.D.	1.11	0.30	0.97	0.04	0.04	0.00	0.6	7.7
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	3.71	0.68	2.81	0.08	0.10	0.00	9.9	26.2
	S.D.	1.30	0.26	1.09	0.04	0.04	0.00	0.7	3.8
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	3.84	0.79	2.85	0.09	0.08	0.00	9.6	25.5
	S.D.	1.67	0.47	1.15	0.05	0.03	0.00	0.4	4.1
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	4.83	0.64	3.93	0.11	0.08	0.00	10.3	26.8
	S.D.	1.12	0.23	0.98	0.05	0.04	0.00	0.5	3.3
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

Significantly different from control by Scheffe test: \*  $p < 0.05$

Table 6-1. (Continued)

Sex: Female

Group / Dose (mg/kg/day)		RBC ( $\times 10^6$ cells/ $\mu$ L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	RBC Indices			PLT ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	Reti (%)
					MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)		
G1 0	Mean	7.79	14.2	41.3	53.0	18.2	34.4	871	1.87
	S.D.	1.62	3.0	8.7	1.0	0.3	0.6	433	0.66
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	7.98	14.5	41.9	52.6	18.2	34.7	1129	1.94
	S.D.	0.48	0.6	2.3	1.7	0.9	1.3	128	0.52
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	7.61	13.9	39.3	51.7	18.3	35.4	1012	1.78
	S.D.	1.36	2.3	6.9	1.6	1.5	2.4	411	0.36
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	7.69	14.3	41.0	53.2	18.7	35.1	974	1.88
	S.D.	0.66	0.9	3.7	1.2	0.9	1.6	247	0.49
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

Group / Dose (mg/kg/day)		WBC ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	WBC Differential Counting (%)					PT (sec)	APTT (sec)
			NEU	LYM	MONO	EOS	BASO		
G1 0	Mean	2.07	0.29	1.66	0.05	0.06	0.00	9.8	19.3
	S.D.	1.40	0.20	1.25	0.03	0.04	0.00	0.6	2.7
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	2.25	0.34	1.80	0.04	0.05	0.00	9.8	25.7
	S.D.	0.73	0.13	0.64	0.02	0.02	0.00	0.6	6.6
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	2.19	0.48	1.56	0.05	0.09	0.00	9.9	20.9
	S.D.	0.84	0.32	0.56	0.02	0.06	0.00	0.4	1.6
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	2.11	0.45	1.53	0.06	0.05	0.00	9.8	22.8
	S.D.	0.89	0.37	0.60	0.05	0.03	0.00	0.5	3.3
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

Table 6-2. Summary of hematological parameters (Recovery Group)

Sex: Male									
Group / Dose (mg/kg/day)		RBC ( $\times 10^6$ cells/ $\mu$ L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	RBC Indices			PLT ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	Reti (%)
					MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)		
G1 0	Mean	8.73	15.8	43.1	49.4	18.1	36.7	1017	1.81
	S.D.	0.50	0.6	1.8	1.1	0.5	0.3	116	0.17
	N	4	4	4	4	4	4	4	4
G4 5,000	Mean	8.24	15.7	42.1	51.2	19.2	37.4	904	1.89
	S.D.	0.61	0.4	2.5	1.7	1.5	2.5	110	0.26
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

Group / Dose (mg/kg/day)		WBC ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	WBC Differential Counting (%)					PT (sec)	APTT (sec)
			NEU	LYM	MONO	EOS	BASO		
G1 0	Mean	4.20	0.63	3.38	0.09	0.09	0.00	13.7	31.0
	S.D.	1.53	0.15	1.38	0.03	0.04	0.00	0.4	3.7
	N	4	4	4	4	4	4	4	4
G4 5,000	Mean	4.29	1.08	3.00	0.10	0.08	0.00	13.7	29.7
	S.D.	1.20	0.61	1.14	0.02	0.01	0.00	0.4	3.2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

Sex: Female									
Group / Dose (mg/kg/day)		RBC ( $\times 10^6$ cells/ $\mu$ L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	RBC Indices			PLT ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	Reti (%)
					MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)		
G1 0	Mean	8.02	15.5	42.5	52.9	19.4	36.5	1018	1.85
	S.D.	0.26	0.6	2.1	1.0	0.3	0.4	55	0.52
	N	4	4	4	4	4	4	4	4
G4 5,000	Mean	7.83	15.3	41.5	53.0	19.5	36.8	1099	1.85
	S.D.	0.32	0.5	1.5	1.4	0.6	0.3	22	0.15
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

Group / Dose (mg/kg/day)		WBC ( $\times 10^3$ cells/ $\mu$ L)	WBC Differential Counting (%)					PT (sec)	APTT (sec)
			NEU	LYM	MONO	EOS	BASO		
G1 0	Mean	1.35	0.22	1.06	0.03	0.05	0.00	14.5	25.3
	S.D.	0.86	0.11	0.72	0.02	0.02	0.00	0.5	4.0
	N	4	4	4	4	4	4	5	5
G4 5,000	Mean	2.33	0.31	1.91	0.06	0.05	0.00	14.3	23.2
	S.D.	1.21	0.15	1.11	0.05	0.02	0.00	0.4	2.2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 7-1. Summary of clinical chemistry (Main Group)

Sex: Male										
Group /		ALT	AST	ALP	Glu	BUN	Crea	T-Bili	T-Chol	TG
Dose (mg/kg/day)		(U/L)	(U/L)	(U/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
G1 0	Mean	35	87	300	111	19	0.5	0.00	105	44
	S.D.	8	22	76	14	4	0.0	0.03	14	16
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	34	76	252	108	18	0.6 #	0.00	105	58
	S.D.	6	12	59	20	1	0.0	0.03	12	34
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	29	76	249	97	17	0.5	-0.04	84	33
	S.D.	9	27	56	23	3	0.1	0.02	22	14
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	31	87	244	91 ##	20	0.5	-0.02	97	44
	S.D.	5	19	32	9	2	0.1	0.02	19	17
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Group /		TP	Alb	A/G	P	Ca	Na	K	Cl
Dose (mg/kg/day)		(g/dL)	(g/dL)	ratio	(mg/dL)	(mg/dL)	(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)
G1 0	Mean	7.7	2.8	0.57	6.45	10.1	137	5.6	99
	S.D.	0.3	0.2	0.03	0.62	0.4	12	0.9	10
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	7.8	2.8	0.56	6.26	10.0	132	5.1	93
	S.D.	0.3	0.1	0.02	0.39	0.3	15	0.8	12
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	6.8	2.5	0.56	5.72	8.8	126	4.9	89
	S.D.	1.4	0.5	0.03	1.16	1.7	16	0.6	12
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	7.5	2.8	0.59	6.52	9.8	136	5.2	96
	S.D.	0.8	0.3	0.03	1.10	1.0	5	0.6	5
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

Significantly different from control by Dunnett's T3-test: # p&lt;0.05, ## p&lt;0.01

Table 7-1. (Continued)

Sex: Female										
Group / Dose (mg/kg/day)		ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	Glu (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea (mg/dL)	T-Bili (mg/dL)	T-Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)
G1 0	Mean	34	94	168	107	20	0.6	0.05	117	37
	S.D.	13	40	35	16	4	0.1	0.02	23	26
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	34	92	215	110	20	0.6	0.03	131	35
	S.D.	9	18	84	18	4	0.0	0.02	32	14
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	33	91	176	104	20	0.6	0.03	118	26
	S.D.	6	13	44	17	6	0.1	0.03	27	8
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	31	78	225	120	22	0.6	0.03	125	30
	S.D.	7	13	89	22	4	0.1	0.02	30	20
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Group / Dose (mg/kg/day)		TP (g/dL)	Alb (g/dL)	A/G ratio	P (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)
G1 0	Mean	8.0	3.3	0.69	6.09	9.9	142	5.4	102
	S.D.	0.3	0.2	0.04	0.73	0.2	1	0.7	2
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	8.1	3.3	0.68	6.54	10.0	142	5.4	102
	S.D.	0.5	0.2	0.03	0.82	0.5	1	0.6	1
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	8.3	3.4	0.69	5.91	10.0	142	5.0	103
	S.D.	0.4	0.2	0.05	1.06	0.4	1	0.4	2
	N	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	8.2	3.3	0.68	6.33	10.2	141	5.1	101
	S.D.	0.3	0.3	0.10	1.04	0.4	1	0.4	3
	N	10	10	10	10	10	10	10	10

Table 7-2. Summary of clinical chemistry (Recovery Group)

Sex: Male

Group / Dose (mg/kg/day)		ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	Glu (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea (mg/dL)	T-Bili (mg/dL)	T-Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)
G1 0	Mean	28	66	244	116	16	0.6	-0.04	108	34
	S.D.	3	7	47	10	2	0.1	0.02	13	27
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4
G4 5,000	Mean	33	72	257	105	18	0.6	-0.01	121	32
	S.D.	8	9	62	5	4	0.1	0.01	24	19
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Group / Dose (mg/kg/day)		TP (g/dL)	Alb (g/dL)	A/G ratio	P (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)
G1 0	Mean	7.8	2.9	0.59	6.12	8.0	140	8.9	101
	S.D.	0.4	0.2	0.04	0.08	0.2	2	0.4	2
	N	4	4	4	4	4	4	4	4
G4 5,000	Mean	7.9	2.9	0.57	6.78 **	8.3	139	9.0	101
	S.D.	0.3	0.2	0.03	0.28	0.3	1	0.2	1
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

Significantly different from control by Student t-test: \*\* p<0.01

Sex: Female

Group / Dose (mg/kg/day)		ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	Glu (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea (mg/dL)	T-Bili (mg/dL)	T-Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)
G1 0	Mean	26	65	118	128	17	0.6	0.04	100	21
	S.D.	5	18	13	21	1	0.1	0.04	18	10
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	42	93	151	128	19	0.7	0.05	118	26
	S.D.	16	30	32	13	3	0.1	0.04	15	9
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Group / Dose (mg/kg/day)		TP (g/dL)	Alb (g/dL)	A/G ratio	P (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)
G1 0	Mean	8.0	3.3	0.70	4.59	8.0	142	4.9	104
	S.D.	0.3	0.1	0.02	1.07	0.1	1	0.6	1
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	8.2	3.4	0.71	5.03	8.2	141	4.4	102 *
	S.D.	0.3	0.2	0.03	0.67	0.2	1	0.6	2
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

Significantly different from control by Student t-test: \* p<0.05

Table 8-1. Summary of absolute organ weights (Main Group)

Sex: Male		(g)					
Group / Dose (mg/kg/day)		B.W.	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver
G1 0	Mean	525.6	2.1694	0.0129	1.5685	1.8462	13.9677
	S.D.	60.9	0.1182	0.0017	0.1045	0.1935	1.1803
	N	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	511.6	2.1921	0.0115	1.5220	1.8950	13.9396
	S.D.	44.3	0.1151	0.0018	0.1059	0.1442	1.5416
	N	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	512.8	2.2216	0.0127	1.6227	1.8537	14.5205
	S.D.	47.0	0.1196	0.0023	0.2000	0.2113	1.7671
	N	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	501.3	2.1734	0.0135	1.6287	1.9665	14.7974
	S.D.	33.8	0.0899	0.0015	0.2231	0.1582	1.3971
	N	10	10	10	10	10	10
Group / Dose (mg/kg/day)		Spleen	Kidney	Adrenal	Testis	Prostate	
G1 0	Mean	0.8971	3.4066	0.0601	4.1708	0.5923	
	S.D.	0.0895	0.3222	0.0096	0.2865	0.1545	
	N	10	10	10	10	10	
G2 1,250	Mean	0.9040	3.1483	0.0602	4.1541	0.6539	
	S.D.	0.1750	0.2550	0.0072	0.4184	0.1285	
	N	10	10	10	10	10	
G3 2,500	Mean	0.9323	3.3283	0.0609	4.3327	0.6439	
	S.D.	0.1459	0.2713	0.0068	0.4702	0.0989	
	N	10	10	10	10	10	
G4 5,000	Mean	0.9548	3.4620	0.0608	4.2715	0.6468	
	S.D.	0.1725	0.3311	0.0082	0.2092	0.1920	
	N	10	10	10	10	10	

Table 8-1. (Continued)

		Sex: Female (g)					
Group / Dose (mg/kg/day)		B.W.	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver
G1 0	Mean	307.4	2.0452	0.0165	1.1007	1.4943	8.4204
	S.D.	28.4	0.0990	0.0019	0.1109	0.1282	1.4705
	N	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	301.5	2.2066	0.0168	1.1252	1.4621	8.6020
	S.D.	13.1	0.3873	0.0024	0.1062	0.0560	1.5750
	N	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	304.5	2.0019	0.0172	1.0828	1.4461	8.7894
	S.D.	27.3	0.1263	0.0035	0.0896	0.1544	0.9512
	N	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	312.1	2.0759	0.0168	1.1217	1.5501	9.5743
	S.D.	30.4	0.0649	0.0020	0.0957	0.0852	1.3795
	N	10	10	10	10	10	10

Group / Dose (mg/kg/day)		Spleen	Kidney	Adrenal	Ovary	Uterus
G1 0	Mean	0.6850	2.0046	0.0901	0.1224	0.6860
	S.D.	0.1218	0.2413	0.0118	0.0288	0.3405
	N	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	0.6968	2.0642	0.0842	0.1180	0.9025
	S.D.	0.0898	0.2014	0.0093	0.0250	0.4925
	N	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	0.6890	2.0700	0.0812	0.1386	0.7400
	S.D.	0.1149	0.2245	0.0129	0.0378	0.3307
	N	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	0.7452	2.4662	0.1275	0.1518	0.8797
	S.D.	0.3190	0.7575	0.1222	0.1297	0.3779
	N	10	10	10	10	10

Table 8-2. Summary of absolute organ weights (Recovery Group)

		(g)					
Sex: Male							
Group / Dose (mg/kg/day)		B.W.	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver
G1 0	Mean	558.3	2.3200	0.0137	1.8070	2.1768	17.1396
	S.D.	49.3	0.1032	0.0020	0.3120	0.5532	6.3748
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	513.0	2.1961	0.0137	1.5200	1.8148	14.2744
	S.D.	77.3	0.1404	0.0022	0.3003	0.2423	2.7175
	N	5	5	5	5	5	5
Group / Dose (mg/kg/day)		Spleen	Kidney	Adrenal	Testis	Prostate	
G1 0	Mean	0.9667	3.8859	0.0666	4.4809	0.6264	
	S.D.	0.1576	1.2125	0.0039	0.3471	0.1267	
	N	5	5	5	5	5	
G4 5,000	Mean	0.8895	3.1339	0.0500 *	3.9383	0.5387	
	S.D.	0.1176	0.4591	0.0097	0.5701	0.1702	
	N	5	5	5	5	5	
Significantly different from control by Student t-test: * p<0.05							
Sex: Female							
(g)							
Group / Dose (mg/kg/day)		B.W.	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver
G1 0	Mean	309.3	2.0662	0.0162	1.0566	1.6354	8.0937
	S.D.	38.9	0.0549	0.0029	0.1103	0.2712	1.0835
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	336.4	2.1006	0.0173	1.1318	1.5930	9.1201
	S.D.	39.0	0.0828	0.0019	0.1055	0.1672	1.7561
	N	5	5	5	5	5	5
Group / Dose (mg/kg/day)		Spleen	Kidney	Adrenal	Ovary	Uterus	
G1 0	Mean	0.6201	2.1627	0.0800	0.0943	0.6185	
	S.D.	0.0957	0.3008	0.0146	0.0157	0.0716	
	N	5	5	5	5	5	
G4 5,000	Mean	0.7154	2.2533	0.0758	0.1257	0.5377	
	S.D.	0.1201	0.1767	0.0123	0.0368	0.1047	
	N	5	5	5	5	5	

Table 9-1. Summary of relative organ weights (Main Group)

Sex: Male		(g/100 g body weight)					
Group / Dose (mg/kg/day)		B.W. (g)	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver
G1 0	Mean	525.6	0.4196	0.0025	0.3027	0.3561	2.6884
	S.D.	60.9	0.0673	0.0004	0.0460	0.0596	0.3766
	N	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	511.6	0.4304	0.0023	0.2983	0.3719	2.7239
	S.D.	44.3	0.0303	0.0005	0.0176	0.0315	0.1799
	N	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	512.8	0.4355	0.0025	0.3169	0.3617	2.8269
	S.D.	47.0	0.0329	0.0006	0.0299	0.0286	0.1560
	N	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	501.3	0.4352	0.0027	0.3247	0.3930	2.9500
	S.D.	33.8	0.0341	0.0004	0.0365	0.0319	0.1689
	N	10	10	10	10	10	10

Group / Dose (mg/kg/day)		Spleen	Kidney	Adrenal	Testis	Prostate
G1 0	Mean	0.1722	0.6553	0.0116	0.8009	0.1147
	S.D.	0.0216	0.0959	0.0025	0.0896	0.0358
	N	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	0.1758	0.6195	0.0118	0.8161	0.1288
	S.D.	0.0250	0.0726	0.0013	0.0971	0.0281
	N	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	0.1813	0.6503	0.0119	0.8462	0.1255
	S.D.	0.0178	0.0305	0.0014	0.0673	0.0150
	N	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	0.1903	0.6919	0.0121	0.8545	0.1303
	S.D.	0.0311	0.0685	0.0015	0.0571	0.0426
	N	10	10	10	10	10

Table 9-1. (Continued)

Sex: Female		(g/100 g body weight)					
Group / Dose (mg/kg/day)		B.W. (g)	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver
G1 0	Mean	307.4	0.6684	0.0054	0.3590	0.4881	2.7311
	S.D.	28.4	0.0424	0.0006	0.0295	0.0437	0.3419
	N	10	10	10	10	10	10
G2 1,250	Mean	301.5	0.7356	0.0056	0.3737	0.4853	2.8456
	S.D.	13.1	0.1544	0.0007	0.0363	0.0150	0.4588
	N	10	10	10	10	10	10
G3 2,500	Mean	304.5	0.6606	0.0057	0.3567	0.4747	2.9010
	S.D.	27.3	0.0550	0.0012	0.0280	0.0224	0.3572
	N	10	10	10	10	10	10
G4 5,000	Mean	312.1	0.6713	0.0054	0.3612	0.4996	3.0759
	S.D.	30.4	0.0727	0.0007	0.0342	0.0406	0.3928
	N	10	10	10	10	10	10
Group / Dose (mg/kg/day)		Spleen	Kidney	Adrenal	Ovary	Uterus	
G1 0	Mean	0.2223	0.6529	0.0296	0.0402	0.2243	
	S.D.	0.0325	0.0628	0.0051	0.0106	0.1116	
	N	10	10	10	10	10	
G2 1,250	Mean	0.2307	0.6839	0.0280	0.0393	0.3014	
	S.D.	0.0237	0.0482	0.0034	0.0089	0.1667	
	N	10	10	10	10	10	
G3 2,500	Mean	0.2264	0.6799	0.0267	0.0450	0.2488	
	S.D.	0.0337	0.0411	0.0031	0.0101	0.1274	
	N	10	10	10	10	10	
G4 5,000	Mean	0.2374	0.7908	0.0415	0.0464	0.2859	
	S.D.	0.0916	0.2202	0.0407	0.0318	0.1227	
	N	10	10	10	10	10	

Table 9-2. Summary of relative organ weights (Recovery Group)

Sex: Male		(g/100 g body weight)					
Group / Dose (mg/kg/day)	B.W. (g)	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver	
G1 0	Mean	558.3	0.4179	0.0025	0.3222	0.3863	3.0191
	S.D.	49.3	0.0380	0.0004	0.0304	0.0622	0.8038
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	336.4	0.4326	0.0027	0.2957	0.3559	2.7784
	S.D.	39.0	0.0423	0.0004	0.0319	0.0401	0.2696
	N	5	5	5	5	5	5

Group / Dose (mg/kg/day)	Spleen	Kidney	Adrenal	Testis	Prostate	
G1 0	Mean	0.1726	0.6864	0.0120	0.8042	0.1141
	S.D.	0.0149	0.1449	0.0010	0.0476	0.0301
	N	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	0.1751	0.6126	0.0098	0.7745	0.1060
	S.D.	0.0268	0.0535	0.0020	0.1190	0.0364
	N	5	5	5	5	5

Sex: Female		(g/100 g body weight)					
Group / Dose (mg/kg/day)	B.W. (g)	Brain	Pituitary	Heart	Lung	Liver	
G1 0	Mean	309.3	0.6753	0.0053	0.3426	0.5419	2.6151
	S.D.	38.9	0.0742	0.0008	0.0147	0.1577	0.0938
	N	5	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	336.4	0.6320	0.0052	0.3379	0.4752	2.6950
	S.D.	39.0	0.0860	0.0008	0.0248	0.0373	0.2479
	N	5	5	5	5	5	5

Group / Dose (mg/kg/day)	Spleen	Kidney	Adrenal	Ovary	Uterus	
G1 0	Mean	0.2004	0.7010	0.0260	0.0308	0.2005
	S.D.	0.0173	0.0703	0.0044	0.0062	0.0113
	N	5	5	5	5	5
G4 5,000	Mean	0.2125	0.6738	0.0228	0.0369	0.1636
	S.D.	0.0254	0.0558	0.0048	0.0074	0.0479
	N	5	5	5	5	5

Table 10-1. Summary of necropsy findings (Main Group)

Sex: Male

Group / Dose (mg/kg)	No. of examined	Organ	Findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1 0	10	All	Unremarkable	S	92
G2 1,250	10	All	Unremarkable	S	92
G3 2,500	10	All	Unremarkable	S	92
G4 5,000	10	All	Unremarkable	S	92

Sex: Female

Group / Dose (mg/kg)	No. of examined	Organ	Findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice
G1 0	10	All	Unremarkable	S	92
G2 1,250	10	All	Unremarkable	S	92
G3 2,500	10	All	Unremarkable	S	92
G4 5,000	10	All	Unremarkable	S	92

S: scheduled

Table 10-2. Summary of necropsy findings (Recovery Group)

Sex: Male						
Group / Dose (mg/kg)	No. of examined	Organ	Findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice	
G1	9	All	Unremarkable	S	120	
0	1	All	Unremarkable	U	104	
G4 5,000	10	All	Unremarkable	S	120	
Sex: Female						
Group / Dose (mg/kg)	No. of examined	Organ	Findings	Type of sacrifice	Day of sacrifice	
G1 0	10	All	Unremarkable	S	120	
G4 5,000	10	All	Unremarkable	S	120	

S: scheduled    U : unscheduled

Table 11-1. Summary of histopathological findings (Main Group)

Organ / Findings	Sex	Male		Female		
	Group	G1	G4	G1	G4	
	Dose (mg/kg/day)	0	5,000	0	5,000	
	No. of animals	10	10	10	10	
Adrenal	-Thickening, Zona glomerulosa	±	0	2	0	0
	-Vacuolation, cortical	±	3	2	0	0
		+	3	2	0	0
		++	1	2	0	0
		No. of examined	10	10	10	10
Kidney	-Cell infiltration, inflammatory, cortical	±	0	2	0	0
	-Inflammation	+++	0	0	0	1
	-Mineralization, cortico-medullary junction	±	0	0	1	0
	-Mineralization, medullary	±	0	0	0	1
	-Tubular basophilia, cortical	±	0	1	0	0
	-Tubular dilatation, cortical and medullary	±	2	2	1	0
		+	0	0	1	0
	No. of examined	10	10	10	10	
Liver	-Cell infiltration, mononuclear	±	3	3	1	0
		No. of examined	10	10	10	10
Mesenteric lymph node	-Appearance, pigmented macrophages	±	0	2	2	2
		No. of examined	10	10	10	10
Pancreas	-Vacuolation, acinar cells	±	0	0	1	0
		+	0	0	0	1
		No. of examined	10	10	10	10
Pituitary	-Cyst, pars distalis	<+>	2	0	0	0
		No. of examined	10	10	10	10
Prostate	-Cell infiltration, inflammatory, interstitial	±	2	2		
		+	0	1		
		No. of examined	10	10		
Spleen	-Deposit, pigment	±	7	5	6	8
		+	0	0	0	1
	-Extramedullary hematopoiesis	±	2	1	1	1
		+	0	0	0	1
		No. of examined	10	10	10	10
Thymus	-Hyperplasia, epithelial tubules and cords	<+>	2	2	0	1
		No. of examined	10	10	10	10
Thyroid	-Cell infiltration, inflammatory, focal	±	1	0	0	0
	-Ultimobranchial cyst	<+>	2	0	0	1
		No. of examined	10	10	10	10

There were unremarkable changes in the brain, cecum, colon, duodenum, epididymis, esophagus, eye including optic nerve, femur including bone marrow, harderian gland, heart, ileum, jejunum, lung including bronchi, mammary gland: inguinal, ovary(female), parathyroid, rectum, salivary gland (sublingual, submandibular), seminal vesicle(male), skin: inguinal, spinal cord (thoracic), sternum including bone marrow, stomach, submandibular lymph node, testis(male), tongue, trachea, urinary bladder, utreus(female) and vagina(female) of Groups 1 and 4.

Grade- ±: minimal, +: mild, ++: moderate, +++: marked

<+>: Presence in "presence or not" basis.

Table 11-2. Summary of histopathological findings (Recovery Group)

Organ / Findings	Sex Group	Male		Female		
		G1	G4	G1	G4	
		0	5,000	0	5,000	
No. of animals		5	5	5	5	
Adrenal	-Vacuolation, cortical	±	2	1	0	0
		+	0	2	0	0
		+++	1	0	0	0
		No. of examined	5	5	5	5
Haderian gland	-Cell infiltration, inflammatory	±	0	0	1	0
		No. of examined	5	5	5	5
Kidney	-Cell infiltration, inflammatory, cortical -Mineralization, cortico-medullary junction -Retrograde nephropathy -Tubular dilatation, cortical and medullary	±	1	1	0	0
		±	0	0	1	0
		±	1	0	0	0
		+	0	0	0	1
		No. of examined	5	5	5	5
Liver	-Cell infiltration, mononuclear	±	0	1	0	0
		No. of examined	5	5	5	5
Lung including bronchi	-Cell infiltration, inflammatory, focal	±	0	1	0	0
		No. of examined	5	5	5	5
Mesenteric lymph node	-Appearance, pigmented macorphages	±	2	3	3	2
		No. of examined	5	5	5	5
Prostate	-Cell infiltration, inflammatory, interstitial	±	1	0		
		+	0	1		
		++	0	1		
		No. of examined	5	5		
Spleen	-Deposit, pigment -Extramedullary hematopoiesis	±	2	3	2	1
		+	2	2	3	4
		±	0	1	0	0
		No. of examined	5	5	5	5
Thymus	-Hyperplasia, epithelial tubules and cords	<+>	0	0	3	2
		No. of examined	5	5	5	5
Thyroid	-Ultimobranchial cyst	<+>	0	2	0	1
		No. of examined	5	5	5	5

There were unremarkable changes in the brain, cecum, colon, duodenum, epididymis, esophagus, eye including optic nerve, femur including bone marrow, heart, ileum, jejunum, mammary gland: inguinal, ovary(female), pancreas, parathyroid, pituitary, rectum, salivary gland (sublingual, submandibular), seminal vesicle(male), skin: inguinal, spinal cord (thoracic), sternum including bone marrow, stomach, submandibular lymph node, testis(male), tongue, trachea, urinary bladder, utreus(female) and vagina(female) of Groups 1 and 4.

Grade- ±: minimal, +: mild, ++: moderate, +++: marked

<+>: Presence in "presence or not" basis.

## 7) 인체적용시험

### ○ 인삼종자오일의 인체적용 시험계획

#### 1. 임상시험계획서

<h1>인 체 적 용 시 험 계 획 서</h1>	
<p>경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험</p> <p>A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Intervention Study of the Efficacy and Safety of "GSO" in Liver function decreased healthy subjects</p>	
시험계획서번호	GSO-01
버전(작성일)	1.0 (2016.05.17)
인체적용시험의뢰자	충북홍삼영농조합법인
인체적용시험수탁기관	㈜파마크로(PharmaCRO)

**기밀문서**

본 인체적용시험계획서에 포함되어 있는 모든 정보는 인체적용시험책임자 및 인체적용시험담당자, 임상시험심사위원회, 보건당국을 위해 제공된 것으로서, 인체적용시험을 식용을 복용 받는 사람에게 시험참가에 대한 서면동의를 받기 위한 경우를 제외하고는 충북홍삼영농조합법인 및 ㈜파마크로(PharmaCRO)의 사전서면동의 없이 제 3자에게 공개될 수 없습니다.

# 인체적용시험계획서

경동 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험

A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Intervention Study of the Efficacy and Safety of "GSO" in Liver function decreased healthy subjects

시험계획서번호	GSO-01
버전(작성일)	1.0 (2016.05.17)
인체적용시험의뢰자	충북홍삼영농조합법인
인체적용시험수탁기관	㈜파마크로(PharmaCRO)

## 기밀문서

본 인체적용시험계획서에 포함되어 있는 모든 정보는 인체적용시험책임자 및 인체적용시험담당자, 임상시험실사위원회, 보건당국을 위해 제공된 것으로서, 인체적용시험용 식물을 복용 받는 사람에게 시험참가에 대한 서면동의를 받기 위한 경우를 제외하고는 충북홍삼영농조합법인 및 ㈜파마크로(PharmaCRO)의 사전서면동의 없이 제 3자에게 공개될 수 없습니다.

Protocol No. GSO-1

Study Protocol Version 1.0(2016.05.17)

CONFIDENTIAL

### ◆ 본 인체적용시험계획서에 사용된 약어 및 용어정의

약어 및 용어	정 의
시험의뢰자	충북홍삼영농조합법인
시험군	GSO(인삼종자오일)
대조군	Placebo, 대조제용
실험실적 검사	혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 소변검사
발력징후	재운, 열압, 역박수 등
ADR	Adverse Drug Reaction
AE	Adverse Events
ALT (SGPT)	Alanine Aminotransferase: GPT
ALP	Alkaline Phosphatase
AST (SGOT)	Aspartate Aminotransferase: GOT
BUN	Blood Urea Nitrogen
CRA	Clinical Research Associate (임상시험 모니터 요원)
CRF	Case Report Form
CRO	Contract Research Organization
DBP	Diastolic Blood Pressure, 이완기 혈압
FAS	Full Analysis Set
Hb	Hemoglobin
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
Hct	Hematocrit
HDL Cholesterol	High Density Lipoprotein Cholesterol
IRB	Institutional Review Board (임상시험실사위원회)
ITT	Intention To Treat
KGCP	Korean Good Clinical Practice
KKS	Korean Knee Score
NSAIDs	Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug
LDL Cholesterol	Low Density Lipoprotein Cholesterol
PP	Per Protocol
RBC	Red Blood Cell
γ-GT	Gamma-glutamyltransferase
TG	Triglyceride
Wash-out Period	약물투여 중지기간
WBC	White Blood Cell

인체적용시험계획서 개요

인체적용시험 목적	경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험
인체적용시험 책임자	세명대학교수속중추장발병원 이동녕 교수
인체적용시험의뢰자	송복출상영농조합법인(惠研)
인체적용시험기간	IRB 최초 승인일로부터 12개월
인체적용시험대상	만 19세 이상 만 70세 미만의 건강한 성인으로 간 기능이 손상되어 자각증상과 생화학적 소견을 가지고 있는 대상자
인체적용시험목적	경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)를 복용한 후 간 기능 개선효과 등의 기능성 및 안전성을 평가하고자 함다.
인체적용시험디자인	단일기관, 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험
인체적용시험용식물	• 시험군 인삼종자오일(GSO) 하루 2그람 • 위약군 대조제물(위약)
용법·용량 및 복용방법	인체적용시험용 식물을 아침, 저녁 총 2회 식사 직전에 3연질갑상액 하루 6연질갑상액을 복용한다.
복용기간	12주
대상자수	총 60에 [군, 최종 평가가능 예수 군당 24명, 20% 내외 탈락을 고려 시]
선정기준	<b>선정기준</b> (대상자들은 다음의 모든 기준에 적합하여야 한다) 1) 만 19세 이상 만 70세 미만의 건강한 성인 남녀 2) 2주 이상 AST 수치가 25 IU/L 이상인 자 3) 본 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 들은 후 자의로 참여를 결정하고 동의서에 서명한 대상자
제외기준	<b>제외기준</b> (다음 조건에 하나라도 해당되는 대상자는 본 연구에 참여할 수 없다) 1) 인삼류나 잔연물에 과민증 또는 그 병력이 있는 대상자 2) 3개월 이내 간 기능 관련 약물, 건강기능식품을 복용 중인 대상자 3) 간염보균자 급성간염환자 및 간경화의 징후가 인정되거나 지방간으로 진단되어 약물 등 치료중인 대상자 4) 황달, 담석 등 담도계 질환자 또는 심한 간 기능 장애(ALT, AST 중 정상 상한치의 3배 이상)이거나 특정 질환, 약물, 감염 및 간경화에 의한 간 기능 장애 대

시험방법	상자											
	5) 조절되지 않는 고혈압(sitSBP > 140mmHg 또는 sitDBP > 90mmHg)이거나 조절되지 않는 당뇨(HbA1c ≥ 9%) 환자 6) 스크리닝 1년 이내에 임상적으로 유의한 신경계 질환(뇌졸중 등), 심혈관 질환(허혈성 심질환 및 심부전 등의 심장질환, 협심고체 복용 및 혈스판 또는 혈액응고인자 이상 등의 혈액학적 이상), 호흡기 질환 (만성 폐쇄성 폐질환, 폐렴, 폐결핵 등의 감염성 폐질환 등)의 병력이 있는 자 7) 스크리닝 6개월 이내의 위장관의 출혈이 있거나 소화성 궤양, 염증성 장질환(크론병 또는 궤양성 장염 등)의 병력이 있는 자 8) 주요 위장관 수술의 병력이 있는 자(중수절제술을 제외한 위절제, 위장관 우회술 또는 문합술 등) 9) 스크리닝 5년 내 암 진단 및 치료 받은 적이 있거나 치료 중인 대상자 10) 올혈장 신부전 및 심한 신기능 장애(serum creatinine > 2.0 mg/dl)가 있는 대상자 11) 신경 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 알고 있는 대상자 (우울증, 정신분열증, 간질, 약물중독, 거식증, 이상식욕항진 등) 12) 인체적용시험 중 결과에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 약물(해열진통제 및 비스테로이드성 소염진통제, 항결핵제, 항생제나 항진균제)를 지속적으로 복용해야 하는 자 (상세내용은 7.2. 병용약물의 허용 및 금기약물/식품을 참고한다.) 13) 최근 4주 이내에 경구용 스테로이드, 호르몬제, 또는 식품의 흡수, 대사, 배설에 영향을 주는 약물이나 간 기능에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경험이 있거나 기타 임상시험에 참여한 경험이 있는 대상자 14) 임신부, 수유부 및 가임여성으로 참여기간 동안 임신 및 수유의 계획이 있는 대상자 15) 연구자 소견으로 볼 때, 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되거나 기타 의사가 부적합하다고 판단되는 대상자											
기능성평가	대상자가 인체적용시험에 참여할 것을 서면으로 동의하면, 계획서에 따라 필요한 검진 및 검사를 실시한 후, 대상자 적합성 평가결과, 선정기준에 적합한 대상자에 한하여 무작위 배정된다. 무작위 배정된 대상자는 12주간 시험제물 또는 대조제물을 복용하게 된다.											
	<table border="1"> <tr> <td>방문 1 (-4~0주)</td> <td>방문 2 (0일)</td> <td>방문 3 (6주±7일)</td> <td>방문 4 (12주±7일)</td> </tr> <tr> <td>스크리닝 방문</td> <td>무작위배정방문</td> <td>중간방문</td> <td>종료방문</td> </tr> <tr> <td colspan="4" style="text-align: center;">투 약</td> </tr> </table>	방문 1 (-4~0주)	방문 2 (0일)	방문 3 (6주±7일)	방문 4 (12주±7일)	스크리닝 방문	무작위배정방문	중간방문	종료방문	투 약		
방문 1 (-4~0주)	방문 2 (0일)	방문 3 (6주±7일)	방문 4 (12주±7일)									
스크리닝 방문	무작위배정방문	중간방문	종료방문									
투 약												
기능성평가	• 1차 기능성 평가 변수: (Primary endpoint) - AST 수치의 감소치											

	<ul style="list-style-type: none"> <li>2차 기능성 평가 변수(Secondary endpoint):             <ul style="list-style-type: none"> <li>- ALT 수치의 감소지 및 개선율</li> <li>- AST 수치의 개선율</li> <li>- TG 수치의 감소지 및 개선율</li> <li>- γ-GT 수치의 감소지 및 개선율</li> <li>- Lipid profiles 의 감소지 및 개선율</li> </ul> </li> </ul>
안전성 평가	인체적용시험을 식용 식품 전과 복용 중, 복용 12 주 후에 실험실적 검사 및 활력징후 측정, 이학적 검사를 실시하고 연구기간 내내 이상반응을 평가한다. 이상반응이 없는 경우라면, 추적 방문 검사로 방문을 종료할 예정이다.
병용급기 약물 및 식용	인체적용시험 중 결과에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 약물로 마약성 및 비마약성 소염/진통제, 경구 및 주사제를 포함한 스테로이드제제, 간 건강에 도움을 주는 건강기능식품, 호르몬 제제, Antineoplastic 제제, 항우울제, 항정신성 약물, 기타 간 기능 개선, 지방간 개선, 간보호 등을 목적으로 하는 약물, 담방치료(질, 부화, 등), 이외의 연구자 판단에 따른 약물의 흡수, 대사 또는 배설에 영향을 줄 수 있는 약물은 시험기간 동안 병용 할 수 없다. [7.2.2 병용급기약물 및 식용] 참조

◆ 인체적용시험 흐름도

시험항목	스크리닝	복용기간			Follow up <sup>8)</sup>
	방문 1 -4주 ~ 0주	방문 2 0주(0일)	방문 3 6주(±7일)	방문 4 <sup>8)</sup> 12주(±7일)	추가 방문 필요 시
대상자 동의	√				
인구학적 조사 <sup>1)</sup>	√				
신체검사 <sup>2)</sup>	√			√	
활력징후 <sup>3)</sup>	√	√	√	√	√
병력 및 동반질환	√				
이학적 검사	√			√	√
생화학관 조사 <sup>4)</sup>		√		√	
실험실적 검사 <sup>5)</sup>	√	√	√	√	√
임신여부 검사 <sup>6)</sup>	√	√	√	√	√
대상자 적합성 평가 <sup>7)</sup>	√	√			
유착위 배정		√			
IP 처방 및 고부		√	√		
신원/병용약물 조사	√	√	√	√	√
이상반응 확인			√	√	√
IP 만료 및 복용종료			√	√	

1) 인구학적 조사: 성년월일, 성별 등을 조사한다.  
 2) 신체검사: 신장과 체중, 신장은 신발을 벗고 cm 단위로 측정하고 방문1에서만 측정하고 체중은 시험기간 중 동일한 체중계를 사용하여 방문 1, 4에서 실시한다.  
 3) 활력징후: 발열, 맥박수, 체온 - 5분간 앉은 자세로 안정을 취한 후 측정하며 2회 측정하여 평균치를 기록한다.  
 4) 생화학관 조사: 총액/총수/디이/분동음전에 관하여 방문2, 4에서 실시한다.  
 5) 실험실적 검사: 대상자는 채혈하기 전 최소 8시간 이상 금식한 상태로 내원해야 한다.  
 실험실적 검사: WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelets  
 혈액화학적 검사: Total bilirubin, ALP, Total Protein, Albumin, AST, ALT, γ-GT, BUN, Creatinine, Glucose, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDL, HDL.  
 소변 검사: pH, RBC, WBC, Protein(±Albumin), Glucose, Specific gravity.  
 임신 검사: HbA1c (Screening 시 시행)  
 방문1의 실험실적 검사는 방문1 이전 4주 내에 본원에서 실시한 실험실적 검사 결과가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 되며, AST/총백혈 수치가 가능하다. 방문2의 실험실적 검사는 방문2 이전 7일 내에 실시한 실험실적 검사 결과가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 된다. 검사 항목 중 누락된 항목이 있는 경우나 명시적으로 문제가 있는 경우에는 해당 항목에 대해서만 추가적으로 검사를 할 수 있다.  
 6) 임신여부 검사: 발임수술 및 폐경이 확인된 대상자를 제외한 모든 가임 여성은 각 방문 시 소변 HCG 판독 검사를 통한 임신여부를 확인 한다.  
 7) 대상자적합성 평가: 방문 1과 방문 2결과 AST수치 25IU이상인지 확인하고 다른 선정 제외기준 항목을 평가하여 적합한 경우 등록한다.  
 8) 초기 종료 시도 종료 방문과 동일한 검사 및 평가를 수행한다.  
 9) Follow up: 시험자의 판단에 따라 시험제제를 리튬 복용 후 혹은 초기종료 후 비정상적인 실험실 결과, 계속되는 이상반응, 중도 탈락, 시험자 판단에 따라 추적 관찰이 필요하다고 여겨지는 경우 필요에 따라 추적 관찰을 위해 3주 이내 다시 방문하도록 한다.

목 차

인체적용시험계획서 개요.....	3
◆ 인체적용시험 흐름도.....	6
1. 인체적용시험의 명칭 및 단계.....	10
2. 인체적용시험 의뢰자 및 주소.....	10
3. 인체적용시험의 목적 및 배경.....	10
3.1. 인체적용시험의 목적.....	10
3.2. 인체적용시험의 배경.....	10
4. 인체적용시험용 식품의 품명, 원료제품의 분량 및 제형.....	12
4.1. 인체적용시험용 식품의 품명.....	12
4.2. 원료제품의 분량 및 제형.....	12
4.3. 라벨.....	12
4.4. 포장.....	13
4.5. 시험제품의 관리.....	13
4.6. 미사용 제품의 처리.....	13
5. 대상질환 및 인체적용시험 기간.....	13
5.1. 대상질환.....	13
5.2. 인체적용시험 기간.....	13
6. 대상자의 선정기준, 제외기준, 목표한 대상자 수 및 근거.....	14
6.1. 선정기준.....	14
6.2. 제외기준.....	14
6.3. 목표 대상자 수 및 그 근거.....	15
6.3.1. 대상자 수.....	15
6.3.2. 대상자 수 산출 및 그 근거.....	15
7. 인체적용시험 방법.....	17
7.1. 복용방법 및 복용기간.....	17
7.2. 병용요법의 허용 및 금기약품/제품.....	17
7.2.1. 병용약물의 허용.....	17
7.2.2. 금기약품 및 식품.....	17
8. 무작위 배정.....	19
9. 이중눈가림.....	19
10. 관찰항목, 임상검사 항목 및 관찰검사 방법.....	20
10.1. 실험실적 검사.....	20
10.1.1. 분석장소.....	20
10.1.2. 정도 관리.....	20
10.1.3. 정상수치범위.....	20
10.2. 관찰항목, 임상검사항목.....	20
10.2.1. 대상자 동의.....	20

10.2.2. 인구학적 조사.....	20
10.2.3. 신재검사.....	20
10.2.4. 활력징후.....	20
10.2.5. 선명/병용약물 조사.....	20
10.2.6. 병력 및 동반질환.....	20
10.2.7. 생활습관 조사.....	21
10.2.8. 실험실적 검사.....	21
10.2.9. 임신 여부 검사.....	22
10.2.10. 대상자 적합성 평가.....	22
10.2.11. 스크리닝 평가 검사.....	22
10.2.12. 무작위 배정.....	22
10.2.13. 가능성 평가 검사.....	22
10.2.14. 인체적용시험용 식품 처방 및 교부.....	22
10.2.15. 인체적용시험용 식품 반납 및 복용순응도.....	22
10.2.16. 이상반응 확인.....	23
10.2.17. 이학적 검사.....	23
10.3. 방문 별 관찰 검사 방법.....	23
10.3.1. 방문 1: 스크리닝(<2 주~0 일).....	23
10.3.2. 방문 2: 기준시기 (0 주, 0 일).....	23
10.3.3. 방문 3: 중간방문 (6 주±7 일).....	24
10.3.4. 방문 4/조기방문: 종료방문(12 주±7 일).....	24
10.3.5. Follow up 방문(필요시).....	24
11. 예측 이상반응 및 사용상의 주의사항.....	26
11.1. 예측 이상반응.....	26
11.2. 일반적 주의.....	26
11.3. 임부 및 수유부에 대한 복용.....	26
11.4. 과량복용시의 처치.....	26
12. 시험 중지 및 탈락기준.....	27
12.1. 시험자에 의해 중지, 탈락되는 경우.....	27
12.2. 대상자에 의해 중지, 탈락되는 경우.....	27
13. 가능성 평가기준, 평가변수 및 통계분석방법.....	28
13.1. 가능성 평가기준.....	28
13.2. 가능성 평가변수.....	28
13.3. 통계분석 방법.....	28
13.3.1. 분석 대상군.....	28
13.3.2. 결과 해석의 원칙.....	29
13.3.3. 대상자의 인구학적 기초자료 및 기타 복용 전 특성.....	29
13.3.4. 가능성 평가변수 분석방법.....	29
14. 안전성의 평가기준, 평가방법 및 보고방법.....	31

14.1. 안전성 평가	31
14.2. 평가기준	31
14.3. 안전성 평가변수 및 분석방법	31
15. 이상반응 정의 및 보고 규정	32
15.1. 정의	32
15.2. 중증도의 평가 기준	32
15.3. 시험제물과의 인과관계 평가	32
15.4. 이상반응의 기록	33
15.5. 중대한 이상반응의 보고	34
15.6. 이상반응을 경험한 대상자의 추적조사	34
16. 시험 대상자 동의서, 피해자 보상에 대한 규약, 인체적용시험 후 대상자 진료 및 치료 기준	35
16.1. 시험 대상자 설명서 및 동의서	35
16.2. 피해자 보상에 대한 규약	35
16.3. 인체적용시험 후 대상자의 진료 및 추적관찰 기준	35
17. 대상자의 안전보호에 관한 대책	36
18. 그 밖에 인체적용시험을 안전하게 과학적으로 실시하기 위하여 필요한 사항	36
18.1. 윤리적 고려	36
18.2. 인체적용시험 자료의 보관 및 문건의 열람	36
18.3. 자료 및 대상자 기록의 기밀 유지	36
18.4. 보고서 제출 및 출판에 관한 방침	37
18.5. 시험계획서 준수에 대한 모니터링	37
18.6. 품질관리(QC) 및 보증(QA)	37
19. 참고문헌	38

[별첨 1] 인체적용시험계획서 서명페이지(실시기관)

[별첨 1] 인체적용시험계획서 서명페이지(의뢰자)

[별첨 2] 인체적용시험 실시기관 및 인체적용시험 관련 담당자 연락처

[별첨 3] 시험대상자 설명서 및 동의서

[별첨 4] 피해자 보상에 대한 규약

[별첨 5] 인체적용시험용식품 복용지도

[별첨 6] 대상자 모집 공고문

## 1. 인체적용시험의 명칭 및 단계

광릉 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험

## 2. 인체적용시험 의뢰자 및 주소

- 1) 의뢰자명: 충북생명농조합법인
- 2) 주소: 충북 음성군 광릉읍 선정로 97 번길 55

## 3. 인체적용시험의 목적 및 배경

### 3.1. 인체적용시험의 목적

- 1) 본 시험의 주 목적은 경증 간 기능 저하 대상자에게 12 주간 시험제물인 GSO 를 아집, 저녁 식전 30 분에 3 연결캡슐씩 1 일 2 회, 총 6 연결캡슐(하루 2 그함)을 복용하였을 때, 간기능 개선 등의 기능성을 평가하려는 것이다.
- 2) 두 번째 목적은 혈액질환, 이학적 검사, 임상실험실적 수치들에 대한 영향, 이상반응의 측면에서의 GSO 의 안전성을 평가하려는 것이다.

### 3.2. 인체적용시험의 배경

인삼의 사포닌 성분은 간세포의 단백질 합성과 간세포의 재생을 촉진하는 작용이 있다. 사포닌성분은 실험적으로 여러 가지 독성물질로 야기되는 간세포의 과사 등 조직학적 병변을 경감시키고 간의 독성대사에 관여하는 효소(Epoxide hydratase, glutathione transferase, epoxide hydroxylase)를 활성화 시켜 간장장애를 개선, 예방하는 효과가 있다. 평양대 의대 구국희 교수는 바이러스 B형 간염환자를 대상으로 한 임상시험에서 인삼투여가 식욕, 소화상태, 두통, 오심, 구토등의 자각증상의 개선효과 및 급성간염의 조기회복 촉진과 만성화 예방에 도움을 준다고 보고하였다. 일본 Nissei 병원 Yamamoto 박사는 만성간염(바이러스 c형)환자에 대해서도 인삼투여가 간 기능의 생화학적 지표개선에 유용성이 있고, 한 방제제인 소시호탕과 병용 시 보다 개선효과가 촉진되었다고 보고하였다. 또한, 인삼사포닌 성분은 알코올 대사에 관여하는 알코올 분해효소(alcohol dehydrogenase), 아세트알데히드 분해효소(acetaldehyde dehydrogenase)의 활성을 증가시켜 알코올 섭취로 야기되는 유해한 작용을 경감시켜 알코올 독성에 예방적 효과를 나타낸다. 실제로 사람을 대상으로 한 실험에서도 술을 마신 후 40분이 경과하였을 때 혈중 알코올 농도가 술만 마신 사람(0.18%)에 비하여 인삼액기스와 술을 함께 마신 경우(0.11 %)가 훨씬 낮다는 사실이 입증되었다.

인삼종자에는 항염, 항당뇨, 간기능개선 등 생리활성이 확인된 ginsenoside Re 가 약 1.7%의 높은 농도로 존재하는 것을 확인하였다. [Food Sci. Biotechnol. 17(6), 1379-1382, 2008]

인삼종자의 ginsenoside Re 는 물리화학적 가공에 의해서 ginsenoside Rg2 등 활성 사포닌으로 전환될 수 있다. 또한, 인삼종자에는 동맥경화, 고지혈증에 효능이 있는 것으로 알려진 불포화지방산인 oleic acid, linoleic acid 등이 고농도로 함유되어 있는 것이 본 연구진에 의해서 처음으로 확인되어서 **특허(출**

원번호 10-2012-0122026, 승인일 2012. 10. 31)를 승인하였으며, 이를 이용한 기능성 강화 식품을 개발하고자 한다.

#### 4. 인체적용시험용 식품의 용명, 원료제품의 분량 및 제형

##### 4.1. 인체적용시험용 식품의 용명

GSO 또는 대조제품(위약)

##### 4.2. 원료제품의 분량 및 제형

###### 1) 시험군 (시험제품)

- ① 제품명: GSO, 순복합살영농조합법인
- ② 제품성상: 갈색의 타원형 연질캡슐
- ③ 함량: 750mg/연질캡슐

● 하루 섭취량: 아침, 저녁 식전 30분에 1회 3연질캡슐씩 1일 2회 복용

	%	750 mg
인삼종자오일	66.7	500
돈피 젤라틴	26.5	199
글리세린	3.33	25
D-솔비톨	3.33	25
코치닐주출색소	0.07	0.5
카라멜색소	0.07	0.5

- ④ 저장방법: 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관
- ⑤ 유효기간: 2018 년 5 월 10 일

###### 2) 위약군(대조제품)

- ① 제품명: GSO, 순복합살영농조합법인
- ② 제품성상: 갈색의 타원형 연질캡슐
- ③ 함량: 750mg/연질캡슐

● 하루 섭취량: 아침, 저녁 식전 30분에 1회 3연질캡슐씩 1일 2회 복용

	%	750 mg	
옥수수유	66.7	500	옥수수유
돈피 젤라틴	26.5	199	돈피 젤라틴
글리세린	3.33	25	글리세린
D-솔비톨	3.33	25	D-솔비톨
코치닐주출색소	0.07	0.5	코치닐주출색소
카라멜색소	0.07	0.5	카라멜색소

- ④ 저장방법: 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관
- ⑤ 유효기간: 2018 년 5 월 10 일

##### 4.3. 라벨

- 1) 인체적용시험제품은 의약품임상시험관리기준 (의약품 등의 안전에 관한 규칙 별표 4) 제 6 조 거목의 규정에 따라 의뢰자가 제조(또는 구입) 후, 인체적용시험기관의 관리역사에게 공급하여야 한다.

2) 인체적용시험제품 라벨의 기재는 의약품 등의 안전에 관한 규칙 제 69 조 6 항에 준하며, 대상자번호를 추가하여 아래와 같이 기입한다. 시험제품에 대한 라벨은 다음과 같은 내용을 포함하여야 한다.

- ① "인체적용시험용"이라는 표시
- ② 제품의 코드명 또는 주성분의 일반명
- ③ 대상자의 시험고유번호
- ④ 제조번호 및 사용기한 또는 재검사일자
- ⑤ 저장방법: 직사광선을 피하고 서늘한 곳에 보관
- ⑥ 인체적용시험 승인을 받은 자의 상호와 주소
- ⑦ "인체적용시험 외의 목적으로 사용할 수 없음"이라는 표시

#### 4.4. 포장

대상자 60명에 대한 충분한 양의 제품을 포장하고 라벨 하여야 한다.

각 대상자는 0주, 6주 방문 시에 포장 단위를 고려하여 42일+7일의 시험제품을 제공받는다. 인체적용시험용 식품은 Bottle 형태로 제공되며, 1 Bottle에는 총 294연질캡슐(6주 42일 + 7일 여유분)의 시험제품 또는 대조제품이 들어있다. Bottle 외부에는 시험계획서 4.3에서 언급한 라벨이 붙어있다.

#### 4.5. 시험제품의 관리

인체적용시험제품은 해당 인체적용시험실시기간의 시험책임자가 관리 책임을 진다. 인체적용시험제품은 의뢰자가 지정한 조건(약품 또는 별도 마련된 시간 장에 직사광선을 피하고 서늘한 곳에 보관)과 관계 법령에 따라 보관하여야 하며, 의약품 임상시험 관리기준 제7호 바목 임상시험용 의약품 관리에 따라 관리되어야 한다. 인체적용시험 담당자는 재고를 관리하여야 하며, 시험 제품의 수령, 배분, 회수 등을 관리한다.

#### 4.6. 미사용 제품의 처리

미사용 제품과 재고는 모두 의뢰자인 충북농생명농조합법인에게 돌려주어야 한다.

### 5. 대상질환 및 인체적용시험 기간

#### 5.1. 대상질환

만 19 세 이상 만 70 세 미만의 건강한 성인으로 간 기능이 손상되어 자각증상과 생화학적 소견을 가지고 있는 대상자

#### 5.2. 인체적용시험 기간

각 시험기관의 IRB 최종 승인일로부터 12 개월로 한다. 단, 대상자 등록 속도에 따라 가감될 수 있다.

### 6. 대상자의 선정기준, 제외기준, 목표한 대상자 수 및 근거

#### 6.1. 선정기준

(시험대상자들은 다음의 모든 기준에 적합하여야 한다.)

- 1) 만 19 세 이상 만 70 세 미만의 건강한 성인 남녀
- 2) 2주 이상 AST 수치가 25 IU/L 이상인 자
- 3) 본 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 들은 후 자의로 참여를 결정하고 동의서에 서명한 대상자

#### 6.2. 제외기준

(다음 조건의 어느 하나라도 해당되는 대상자는 본 연구에 참여할 수 없다.)

- 1) 만성질환, 천연물, 과민증 또는 그 병력이 있는 대상자
- 2) 3개월 이내 간 기능 관련 약물, 건강기능식품을 복용 중인 대상자
- 3) 간염보균자 급성간염환자 및 간경화의 징후가 인정되거나 지방간으로 진단되어 약물 등 치료중인 대상자
- 4) 황달, 알석 등 알도계 질환자 또는 심할 간 기능 장애(ALT, AST 중 정상 상한치의 3배 이상)이거나 특정 질환, 약물, 감염 및 간경화에 의한 간 기능 장애 대상자
- 5) 조절되지 않는 고혈압(sitSBP > 140mmHg 또는 sitDBP > 90mmHg)이거나 조절되지 않는 당뇨(HbA1c ≥ 9%) 환자
- 6) 스크리닝 1년 이내에 임상적으로 유의할 신경계 질환(뇌졸중 등), 심혈관 질환(허혈성 심질환 및 심부전 등) 심장질환, 항응고제 복용 및 혈소판 또는 혈액응고인자 이상 등의 혈액학적 이상, 호흡기 질환 (만성 폐색성 폐질환, 폐렴, 폐결핵 등의 감염성 폐질환 등)의 병력이 있는 자
- 7) 스크리닝 6개월 이내의 위장관의 출혈이 있거나 소화성 궤양, 염증성 장질환(크론병 또는 궤양성 장염 등)의 병력이 있는 자
- 8) 주요 위장관 수술의 병력이 있는 자(중수절제술을 제외한 위절제, 위장관 우회술 또는 분할술 등)
- 9) 스크리닝 5년 내 암 진단 및 치료 받은 적이 있거나 치료 중인 대상자
- 10) 울혈성 신부전 및 심한 신기능 장애(serum creatinine > 2.0 mg/dl)가 있는 대상자
- 11) 신경 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 앓고 있는 대상자 (우울증, 정신분열증, 간질, 약물중독, 거식증, 이상식욕증 등)
- 12) 인체적용시험 중 결과에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 약물(해열진통제 및 비스테로이드성 소염진통제, 항결핵제, 항생제나 항진균제)을 지속적으로 복용해야 하는 자 (상세내용은 7.2. 병용약물의 허용 및 금기약물/식품을 참고한다.)
- 13) 최근 4주 이내에 경구용 스테로이드, 호르몬제, 또는 식품의 흡수, 대사, 배설에 영향을 주는 약물이나 간 기능에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경험이 있거나 기타 임상시험에 참여한 경험이 있는 대상자
- 14) 임신부, 수유부 및 गर्임여성으로 참여기간 동안 임신 및 수유의 계획이 있는 대상자
- 15) 연구자 소견으로 볼 때, 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되거나 기타 의사가 부적합하다고 판단되는 대상자

6.3. 목표 대상자 수 및 그 근거

6.3.1. 대상자 수

대상자 선정기준 및 제외기준에 적합한 지원자를 군당 30 명 이상을 등록하여 최종 군당 24 명 이상을 분석하기로 계획함.

	시험군	대조군	합계
기능성평가례수	24명	24명	48명
중도탈락을 포함한례수	30명	30명	60명

6.3.2. 대상자 수 산출 및 그 근거

경증 간기는 저하 피험자에서 위약대조 시험법에 의한 기능성식품 임상종자오일(GSO)의 간기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중맹검, 위약대조, 비교 인체시험으로 대조식품군과 시험식품군 간의 간기능 향상효과를 비교 평가한다.

Primary end point 는 기능성식품 복용 후 12 주 후 AST 수치의 감소치이며, 각 군 사이에 통계적으로 유의한 차이가 있는지를 검정하기 위하여 t-test 를 시행한다.

각 군별 피험자 수는 다음과 같은 공식에 의해 계산한다.

$$n_c = \frac{2(\bar{Z}_{\alpha/2} + \bar{Z}_{1-\beta})^2 \sigma^2}{(D_t - D_c)^2}$$

단,  $\alpha$  = 통계적 유의수준, 베타위수,  
 $1-\beta$  = 검정력  
 $Z_{1-\alpha/2}$  = 100(1- $\alpha$ /2)% 표준정규분포  
 $D_t, D_c$  = 두 군의 평균 변화량의 차이

; 본 연구에서는 시험군과 대조군에서 임상종자오일(GSO)투여 전과 후의 변화량의 평균들을 의미한다.

본 시험에서 유효한 피험자 수를 산정하기 위하여 다음을 가정한다.

일반적인 기능성식품의 인체시험에서와 같이 제 1 중 오류를 5%로 가정하고 제 2 중 오류를 20%로 가정한다.

- (1) 유의수준 (level of significance),  $\alpha = 0.05$   
 $Z_{1-\alpha/2} = 1.96$  (양측검정)
- (2) 검정력(Power of the test),  $1-\beta = 0.8$   
 $Z_{1-\beta} = 0.845$
- (3)  $D_t - D_c = 3.27, \sigma = 4.0$

일반인구집단의 AST의 참고범위는 8-32 IU/L로 평균이 20 정도이지만 본 연구에서는 대상자를 AST 25 이상인 사람으로 한정했으므로 일반인의 평균을 그대로 적용하기는 어렵다. 본 연구에서는 본 연구실에서 보유한 일반인의 AST 자료 중 25 IU/L 이상인 사람들의 평균치인 32.7 을 참고자료로 가정한다. 평균치의 10% 감소를 효과적인 감소치로 볼 수 있으므로 두 군간의 평균치위 차이는 3.27 로 가정한다. 변화량에 대한 자료는 없으나 일반인의 자료를 근거로 할 때 대부분의 대상자가  $\mu \pm 3 \sigma$  에 포함되므로  $\sigma$  를 4.0으로 가정한다.

이상의 가정에 따라, 본 연구에 필요한 각 군의 피험자 수는 다음과 같이 계산된다.

$$n_c = \frac{2(\bar{Z}_{\alpha/2} + \bar{Z}_{1-\beta})^2 \sigma^2}{(D_t - D_c)^2} = \frac{2(1.96 + 0.845)^2 4.0^2}{(3.27)^2} = 23.55$$

따라서, 각군당 필요한 대상자수는 24 명이 된다.

여기에 각군당 중도탈락율을 10% 감안하고 순응도를 90% 고려해보면, 다음 공식에 의해서 각군의 피험자 수가 계산된다.

$$N = \frac{n_c}{C * (1 - \delta)} = \frac{23.55}{(0.9)(0.9)} = 29.07$$

단, N = 탈락을 보충 대상자수,

C = 대상자들의 복용에 대한 순응도,

$\delta$  = 각군의 중도탈락률

결론적으로 본 임상시험에 필요한 피험자수는 각 군당 30 명으로 총 60 명이 된다.

## 7. 인체적용시험 방법

## 7.1. 복용방법 및 복용기간

- 1) 시험제품 복용기간  
아침, 저녁 식전 30분에 3연질합성 1일 2회 (총 6연질합성, 하루 2그램) 충분한 물과 함께 인삼 중차오일(GSO)을 baseline(0주)부터 12주간 복용한다.
- 2) 대조제품 복용기간  
아침, 저녁 식전 30분에 3연질합성 1일 2회 (총 6연질합성) 충분한 물과 함께 대조제품(위약)을 baseline(0주)부터 12주간 복용한다.
- 3) 복용방법 [별첨 5]인체적용시험용 식품 복용지도 참조
- 4) 복용순응도: 인체적용시험용 제품 복용순응도는 방문 3, 방문 4에 반납된 제품의 수를 측정하며 복용순응도가 평균 80% 미만인 경우 비순응(non-compliance)으로 간주하여 인체적용시험에서 통계 처리 시 PPQ에서 제외시킨다. 또한, 과다 복용하지 않도록 복용 지도한다.
- 5) 용기 반납: 대상자들에게 제품을 복용하는 방법과 횟수 등을 알려주고 방문3, 방문4(시험종료시)에는 복용하고 남은 제품과 포장용기(Bottle)를 반납해야 함을 알려준다.

## 7.2. 병용요법의 허용 및 금기약물/제품

## 7.2.1. 병용약물의 허용

시험제품 복용 외에 일반약 또는 운동요법, 식이요법 등은 금기항목이 아닌 경우 필요하다면 허용할 수 있다.

- 1) 뇌졸중 예방목적으로 투여되는 저용량의 aspirin (1일 최대 투여량 300mg)
  - 2) 기타 대상자가 본 인체적용시험에 참여하기 전부터 복용하고 있던 병용약물 중 본 연구의 결과해석에 영향을 미치지 않을 것으로 사료되는 병용약물은 연구자의 판단 하에 허용한다.
  - 3) 연구자의 판단에 따라 간기능에 영향을 미칠 수 있는 약물은 복용 할 수 없으며, 복용중인 약물 복용(간헐적 등)을 본 제품 복용 2주 전에 끊은 경우 인체적용시험에 참여할 수 있다.
- 모든 병용약물 투여 시(타 질환 또는 이상반응 발현 시 치료약물 포함) 해당 약물에 대한 정보(제명명, 투여목적, 투여용법, 투여기간 등)를 증례 기록서에 상세히 기록한다.

## 7.2.2. 금기약물 및 식품

다음 약물의 사용은 시험제품의 안전성 또는 기능성의 평가를 방해할 수 있다. 따라서, 이러한 약물은 인체적용시험 종료 시까지 금지되며, 다음 약물을 복용하는 대상자는 인체적용시험에서 제외되어야 한다.

- 1) 마약성 및 비마약성 소염/진통제  
(단, aspirin은 1일 최대 투여량 300mg까지 허용. 또한 일과성 치료를 목적으로 한 소염/진통제는 7일 이내의 간헐적 투여가 가능하나 시험 방문 전 3일 내의 투여는 금지.)
  - ① 마약성 진통제  
: Codeine phosphate, Tramadol hydrochloride 등
  - ② 경구용 소염/진통제

- Salicylates류(aspirin), Acetaminophen, 경구용 NSAIDs(Naproxen, Ibuprofen), COX-2 억제제 (Celecoxib, Aceclofenac) 등
  - ③ 국소용 소염/진통제  
: 국소용 NSAIDs(Diclofenac sodium), 파취제를 포함한 기타 국소용제(Capsaicin)
- 2) 경구 및 주사제를 포함한 스테로이드제제  
: Prednisolone, methylprednisolone, dexamethasone, hydrocortisone, betamethasone 등
  - 3) 간 건강에 도움을 주는 건강기능식품  
: 밀크씨슬(카르투스마리아누스)추출물, 표고버섯균사체추출물, 표고버섯균사체, 도라지추출물, 강황추출물, 브로콜리스프라우트분말, 유산균발효다시마추출물, 복분자추출물분말, 발효물균, 헛개나무 과병추출물 성분을 포함한 간 기능 개선 건강기능식품 및 제품
  - 4) 호르몬 제제  
: 성장 호르몬제제, 테스토스테론, 호르몬 대체 요법(hormone replacement therapy), 에스트로겐, 프로게스테론 제제, 갑상선호르몬 제제 등  
(단, 연구자의 판단에 따라 인체적용시험 참여 이전 3개월 전부터 안정된 용량으로 복용하고 있으며, 인체적용시험 동안 용량 및 용법이 변경될 가능성이 없는 경우는 직용.)
  - 5) Antineoplastic 제제  
: Methotrexate, Tamoxifen 등 모든 antineoplastic 제제
  - 6) 항우울제, 항정신성 의약품
    - ① 항우울제  
: 삼환계 항우울제(Imipramine, Amitriptyline), MAO 억제약 (phenelzine), SSRIs(Fluoxetine, Escitalopram), Trazodone 등
    - ② 항정신성 의약품  
: Chlorpromazine, Thioridazine, Haloperidol, Clozapine, Olanzapine, Risperidone, Quetiapine 등
  - 7) 기타 간 기능 개선, 지방간 개선, 간보호 등을 목적으로 하는 약물, 항방사료(징, 부황, 등) 등
  - 8) 이외의 연구자 판단에 따른 약물의 흡수, 대사 또는 배설에 영향을 줄 수 있는 약물

연구자의 판단에 따라 인체적용시험 기간 중 병용금지 약물의 사용이 필요한 경우에는 해당 대상자의 인체적용시험을 중단해야 하며, 증례기록서의 마지막 페이지에 이와 관련하여 자세히 기록해야 한다. 또한 시험기간 중 환자들의 알코올 섭취는 강력히 금지되며, 알코올을 섭취하였을 경우 해당기는 임상연구담당자에게 연락한다. 정기적으로 환자들에게 알코올 섭취에 대해 질문을 하고, 이에 대한 적절한 수건을 CRF에 기록한다.

**8. 무작위 배정**

무작위 배정 코드는 의회사의 업무를 위임 받은 무작위 배정 코드 생성 담당자가 생성한다. 시험군과 대조군의 비율은 1:1이며, Permuted Block Randomization 방식을 적용, SAS Proc Plan을 이용하여 무작위 배정 코드를 생성한다.

- ① 연구대상으로 선정할 대상자를 확률에 의거한 무작위 배정 방법으로 각 군에 배정한다.
- ② 두 군 중의 한 군에 방문일(Day 0) 순서대로 낮은 번호부터 할당된다. 즉, 인체적용시험에 참여하는 순서대로 무작위 배정표에 따라 배정번호(Randomization Number: RN)를 부여하여 시험군 또는 대조군에 배정되도록 한다.
- ③ 무작위 배정 계획에 의해 대상자에게 사용할 제품은 관리약사가 대상자에게 부여한 코드대로 인체적용시험 제품을 제공하여 처방한다.

**9. 이중눈가림**

시험진행 중에는 연구자와 대상자 모두 각 대상자가 어느 군에 배정되어 있는지 알지 못하며, 의학적 긴급상황이 발생하기 전까지는 이중눈가림을 해제하지 않으며, 배정된 군의 비밀을 유지한다. 이상 반응 등으로 이중눈가림을 해제 할 경우 시험책임자는 눈가림 해제 전에 의뢰자 또는 위임된 자에게 코드 공개의 필요성에 대한 설명과 함께 연락을 취해야 하며, 의뢰자는 눈가림해제가 반드시 필요한 상황 인지 검토 후 눈가림해제 여부를 결정하여 결과를 시험자에게 전달한다. 눈가림해제가 결정된 경우 의뢰자는 이를 즉시 통보 받고, 시험자는 눈가림해제일자, 시간, 사유에 대한 눈가림 해제 문서를 검사에 따라 IRB에 보고하고 기록 및 보관해야 한다.

**10. 관찰항목, 임상검사 항목 및 관찰검사 방법****10.1. 실험실적 검사****10.1.1. 분석장소**

실험실적 검사의 측정 및 분석은 (재)서울의과대학연구소(SCLI)실시한다.

**10.1.2. 정도 관리**

시험을 시작하기 전에 임상실험실로부터 정도 관리 관련 서류를 확인 하여야 한다.

**10.1.3. 정상수치범위**

위의 측정항목에 대한 정상수치는 실험실에서 시험 의뢰자에게 알려주고 변경사항도 통보하여야 한다.

**10.2. 관찰항목, 임상검사항목****10.2.1. 대상자 불의**

인체적용시험에 들어가기 전, 인체적용시험의 목적과 내용에 대하여 대상자에게 설명하고, 대상자의 자유의사에 따라 서면 동의를 받은 후 스크리닝 검사를 실시하나 AST검사만 수행도 가능하다. 시험 대상자의 즉각성 스크리닝 검사는 각 대상자에 대하여 스크리닝 방문에 시행하며 스크리닝 방문 검사에 의해 임상적으로 유의한 이상이 있는 대상자는 제외한다.

**10.2.2. 연구학적 조사**

연구학적 조사는 대상자의 성년월일, 성별 등과 같은 연구학적 정보를 조사한다.

**10.2.3. 신체검사**

신체검사는 신장, 체중을 방문 1, 방문 4 에서 실시하며 신장은 신발을 벗고 cm 단위로 방문 1 에서만 측정하며, 체중은 시험기간 동안 동일한 체중계로 측정한다.

**10.2.4. 활력징후**

활력징후는 혈압, 맥박수, 체온을 측정하며 5분간 앉은 자세로 안정을 취한 후 오른쪽이나 왼쪽 선택된 팔에서 매년 동일한 혈압계 및 체온계를 사용하여 측정한다.

**10.2.5. 신형/병용약물 조사**

신형/병용약을 조사는 인체적용시험 참가 4 주 이내 약물 복용력 또는 인체적용시험 진행 중에 병용한 약물 복용현황(용법, 용량, 복용기간 등)에 대하여 조사한다.

**10.2.6. 병력 및 동반질환**

외과적 수술력, 알러지력 등을 포함한 6개월 이내 과거력 및 현 병력에 대하여 발생시기(발생년도 또는 발생년월), 시험자의 의견 등을 적도록 한다. 단, 약성 중앙 진단 및 치료 기록에 대하여서는 스크리닝 이전 5년 이내로 조사한다.

## 10.2.7. 생활습관 조사

생활습관 조사는 흡연, 음주, 식사, 운동 습관을 방문 2, 방문 4에서 조사한다.

## 10.2.8. 실험실적 검사

실험실적 검사를 위한 혈액채취 및 소변 검사는 매 방문에서 이루어진다. 대상자들은 방문 전 8 시간 이내에 물을 제외한 음료수나 음식을 금기하여 공복 재검하도록 한다. 방문 1의 실험실적 검사는 방문 1 이전 4 주 내에 본원에서 실시한 실험실적 검사 결과 AST 결과치가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 되며, 방문 2의 실험실적 검사는 방문 2 이전 7 일 내에 실시한 실험실적 검사 결과가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 된다. 검사 항목 중 누락된 항목이 있는 경우나 임상적으로 문제가 있는 경우에는 해당 항목에 대해서만 추가적으로 검사를 할 수 있다.

만일 인체적용시험 종료 시점에서 시행한 실험실적 검사에 임상적으로 문제가 있을 경우에는 추적 조사 방문 시에 이러한 검사들을 다시 시행한다. 실험실적 검사 결과는 시험자가 시기 적절하게 이를 검토해야 한다. 실험실적 검사치가 정상 범위를 벗어날 경우 시험자는 이에 대한 임상적 의미를 규명하고 해결될 때까지 또는 시험자가 임상적인 관련이 없다고 판정할 때까지 추적 조사한다.

## &lt;방문 1&gt;

혈액화학적 검사	WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelets
혈액화학적 검사	Total bilirubin, ALP, Total Protein, Albumin, AST, ALT, r-GTR, BUN, Creatinine, Glucose, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDL, HDL
소변 검사	pH, RBC, WBC, Protein(=Albumin), Glucose, Specific gravity
당뇨 검사	HbA1c

## &lt;방문 2&gt;

혈액화학적 검사	WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelets
혈액화학적 검사	Total bilirubin, ALP, Total Protein, Albumin, AST, ALT, r-GTR, BUN, Creatinine, Glucose, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDL, HDL
소변 검사	pH, RBC, WBC, Protein(=Albumin), Glucose, Specific gravity

## &lt;방문 3&gt;

혈액화학적 검사	WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelets
혈액화학적 검사	Total bilirubin, ALP, Total Protein, Albumin, AST, ALT, r-GTR, BUN, Creatinine, Glucose, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDL, HDL
소변 검사	pH, RBC, WBC, Protein(=Albumin), Glucose, Specific gravity

## &lt;방문 4&gt;

혈액화학적 검사	WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelets
혈액화학적 검사	Total bilirubin, ALP, Total Protein, Albumin, AST, ALT, r-GTR, BUN, Creatinine, Glucose, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDL, HDL
소변 검사	pH, RBC, WBC, Protein(=Albumin), Glucose, Specific gravity

## 10.2.9. 임신 여부 검사

불임수술(자궁절제술 또는 외과적 처치, 즉 상측성 난소절제술 등) 및 복경이 확인된 대상자(surgical menopause 포함, 폐경 2년 이상)를 제외한 모든 가임 여성은 각 방문 시 소변 HCG 반응 검사를 통한 임신 여부를 확인 한다. 단, 방문 2의 임신 검사는 방문 2 이전 7일 내에 실시한 임신 검사 결과가 있는 경우 방문 2의 임신 검사를 생략하고 방문 1의 결과를 방문 2에 기재할 수 있다.

## 10.2.10. 대상자 적합성 평가

인체적용시험에 들어가기 전, 인체적용시험의 목적과 내용에 대하여 대상자에게 설명하고, 대상자의 자유의사에 따라 서면 동의를 받은 후 스크리닝 검사를 실시한다. 시험 대상자의 적합성 스크리닝 검사는 개개의 대상자에 대하여 스크리닝 방문에 시행하며 스크리닝 방문 검사에 의해 임상적으로 유의한 이상이 있는 대상자는 제외한다.

## 10.2.11. 스크리닝 평가 검사

대상자 선정을 위하여 스크리닝 시 스크리닝 방문을 기준 선정기준 간 수치 25IU 이상으로 2 주 이상 유지 되어 선정기준에 부합되어야 하며, 제외기준에 해당되는 소견이 없어야 한다. 단 간 기능을 개선하기 위한 약물 등을 투여 받지 않는 대상자에 한해서 스크리닝 방문 기준 4 주 이내에 실시한 결과를 사용할 수 있다.

## 10.2.12. 무작위 배정

방문 1의 대상자 적합성 평가에 적합한 대상자를 선정된 후 시험군, 대조군에 무작위로 배정하고 인체적용시험용 식품을 복용한다. 무작위 배정은 방문 2의 최종 적합성 평가 후 시행되며, 무작위 배정 후 방문 2에 인체적용시험용 식품을 처방 받도록 한다.

## 10.2.13. 기능성 평가 검사

실험실적 검사 이외의 간 기능 평가는 수행하지 않는다.

## 10.2.14. 인체적용시험용 식품 저장 및 교부

무작위배정 후 방문 2, 방문 3에 처방한다.

## 10.2.15. 인체적용시험용 식품 반납 및 복용순수도

인체적용시험용 식품은 방문 3, 방문 4에서 남은 제품과 포장용기 모두를 반납한다.

인체적용시험용 식품의 복용순수도는 대상자가 반납한 남은 약물의 개수를 세는 것으로 측정하는데, 복용하고 남은 제품은 반납한다.

$$\text{복용순수도(\%)} = \frac{\text{복용한 식품수} - (\text{미반납한 식품수} - \text{미반납한 식품수})}{\text{복용해야 할 식품수}} \times 100$$

(복용 일수 \* 일일복용량)

(복용 일수 \* 일일복용량)

**10.2.16. 이상반응 확인**

인체적용시험 중 발생하는 모든 이상반응을 기록하는 것은 시험자의 의무이다. 시험자는 IP 가 교부된 이후 방문 3, 방문 4 에 조사하여야 하며, 이상반응은 의학진단용어로 기록하여야 한다. 이것이 불가능한 경우 시험자가 관찰하거나 보고된 증상 및 징후에 대한 용어를 기록하여야 한다.

**10.2.17. 이학적 검사**

이학적 검사는 시진, 촉진, 문진에 의해 확인할 수 있는 뇌관, 피부, 두/경부, 흉부/폐, 복부, 비뇨/생식계, 사지, 근골격계, 신경계, 림프절 등 기타 신체기관 질환을 포함한다.

스크리닝 검사상 발견된 유의할만한 사항은 중례기록서의 이학적 검사란에 기록하고, 인체적용시험용 제품의 복용 개시 후 이상반응의 정의에 부합되는 이학적 소견상의 유의할만한 사항이 발견된 경우에는 중례기록서의 이상반응란에 기록한다. 단, 인체적용시험용 제품의 복용 개시 이전에 발견된 바뀔지까지 못한 이학적 증상이 발견된 경우에는 전 병력 조사란에 추가하여 기록하도록 한다.

**10.3. 방문 별 관찰 검사 방법****10.3.1. 방문 1: 스크리닝(-2 주~0 일)**

인체적용시험에 들어가기 전, 시험의 목적과 내용에 대하여 대상자에게 설명하고, 대상자의 자유의사에 따라 서면 동의를 받은 후 스크리닝 검사를 실시한다. 대상자의 적합성 스크리닝 검사는 개개의 대상자에 대하여 첫 복용 예정일 -2 주~0 일에 시행하며 다음 검사에 의해 임상적으로 유의한 이상이 있는 대상자는 제외한다.

- 1) 대상자 동의
- 2) 인구학적 조사
- 3) 신체검사
- 4) 활력징후
- 5) 병용약물 조사
- 6) 병력 및 동반질환
- 7) 이학적 검사
- 8) 실험실적 검사
- 9) 임신여부 검사
- 10) 대상자 적합성 평가

스크리닝 시 대상자가 선정/제외기준에 적합하지 여부를 평가한다. 대상자로서 만족할 경우 다음 방문을 진행 할 수 있다.

**10.3.2. 방문 2: 기준시기 (0 주, 0 일)**

- 1) 활력징후
- 2) 생활습관 조사
- 3) 병용약물 조사
- 4) 실험실적 검사
- 5) 임신여부 검사

- 6) 대상자 적합성 평가
- 7) 무작위 배정
- 8) 인체적용시험용 식품 처방 및 교부

방문 2 에서 방문 1 의 결과 등을 토대로 인체적용시험에 적합하다고 판단된 대상자에게 무작위 배정을 진행한 후 인체적용시험용 식품을 처방한다.

**10.3.3. 방문 3: 중간방문 (6 주±7 일)**

- 1) 활력징후
- 2) 병용약물 조사
- 3) 이상반응 확인
- 4) 실험실적 검사
- 5) 임신여부 검사
- 6) 인체적용시험용 식품 반납 및 복용순응도
- 7) 인체적용시험용 식품 처방 및 교부

**10.3.4. 방문 4/조기방문: 종료방문(12 주±7 일)**

- 1) 신체검사
- 2) 활력징후
- 3) 이학적 검사
- 4) 생활습관 조사
- 5) 병용약물 조사
- 6) 이상반응 확인
- 7) 실험실적 검사
- 8) 임신여부 검사
- 9) 인체적용시험용 식품 반납 및 복용순응도

복용기간 중에 조기 종료 또는 중도 탈락된 대상자는 종료방문 시 실시해야 할 항목을 실시한다. 종료에 대한 사유와 날짜를 대상자의 의무 기록지 또는 근거문서와 중례기록서의 시험 종료 양식에 기록한다.

**10.3.5. Follow up 방문(필요시)**

- 1) 활력징후
- 2) 이학적 검사
- 3) 병용약물 조사
- 4) 이상반응 확인
- 5) 실험실적 검사
- 6) 임신 검사

인체적용시험을 식별 최종 복용 후 혹은 초기 종료 후 비정상적인 임상실험실 결과, 계속되는 이상반응, 중도탈락, 시험자 판단에 따라 추적 관찰이 필요하다고 여겨지는 항목은 추적관찰을 위해 4 주 이내 다시 방문하도록 한다.

**11. 예측 이상반응 및 사용상의 주의사항**

**11.1. 예측 이상반응**

GSO의 복용으로 발생할 수 있는 특별한 부작용은 없었으며, 11.2에 명시된 일반적인 주의사항과 관련된 이상반응이 예측될 수 있다. 또한, 과민반응을 가진 경우 해당 대상자는 복용을 즉시 중단하고 의사의 판단에 의해 인체적용시험 참여 여부를 결정한다.

**11.2. 일반적 주의**

- 1) 이 기능성제품의 복용으로 건강할 지원자의 정신 및 신체기능에 영향을 미치지 않았지만 과량으로 복용하지 않도록 주의하도록 한다.
- 2) 이 제품의 복용으로 발작, 두드러기 또는 다른 알러지 반응이 나타나는 경우 즉시 연구자와 상의하여야 한다.
- 3) 이 기능성제품의 복용으로 구토, 설사, 메스꺼움 등의 증상이 나타나는 경우 즉시 연구자와 상의하여야 한다. 위장장애 및 특정질환(담낭질환) 등이 있는 경우 복용을 피한다.
- 4) 남용과 신체의적 정신적 의존성: 이 제품의 투약중단 시 금단증상이나 정서변화의 징후는 없었으나, 의사는 약물남용의 징적이 있는 대상자에 대하여 오남용의 징후가 있는지 조심하여 관찰해야 한다.

**11.3. 임부 및 수유부에 대한 복용**

임부에 대한 안전성은 확립되어 있지 않으므로 임부에 대한 사용을 금하며, 약물이 모유 중으로 분비되는지 알려져 있지 않으므로 수유 중 복용을 금한다. 또한 가임 여성은 복용기간 중 적절한 피임법을 강구하여야 한다.

**11.4. 과량복용시의 저지**

이 제품의 과량 복용 경험은 별로 없으며, 이 제품의 과량복용으로 인한 사망사례는 보고된 바 없다. 이 제품의 과량복용 시 특별히 권장되는 치료법은 없으며 특별한 해독제도 알려진 바 없다. 과량복용 시 기도확보, 심장 및 vital sign 점검, 대증요법 및 보조요법과 같은 일반적인 방법으로 저지가 이루어져야 한다. 초기에 활성탄을 복용하면 이 제품의 흡수를 지연시킬 수 있다. 위 세척이 유익할 수 있다.

## 12. 시험 중지 및 탈락기준

모든 대상자는 언제 어느 경우라도 특정 이유의 유무와 상관없이 중도 탈락할 수 있으며, 중도 탈락할 경우 대상자에게 주어질 권리 등의 어떠한 불이익 또는 이익에의 손실은 없다.

대상자는 정해진 복용기간을 완료하기 전에 특정한 이유로 인해 중도 탈락할 수 있다. 인체적용시험 실시기관에 다시 방문하는 것을 거절할 대상자를 제외하고, 어떠한 이유론 복용기간 중 중도 탈락 또는 조기 종료한 모든 대상자는 조기 종료 평가(방문4 평가항목 참조) 항목에 기술되어 있는 평가들을 완료하도록 한다.

대상자의 요청, 이상반응의 발생, 중대한 계획서 위반, 기타의 인체적용시험을 진행할 수 없는 경우에는 조기 종료될 수 있다. 이때 인체적용시험책임자는 이를 모니터링자에게 구두, 전화 및 서면으로 이를 알려야 한다. 그리고 이에 대한 기록을 중재기록지에 자세히 기록한다.

### 12.1. 시험자에 의해 중지, 탈락되는 경우

- 1) 선정/제외기준에 적합하지 않은 경우
- 2) 갑작스런 사고로 인하여 시험을 계속할 수 없는 경우
- 3) 대상자의 안전성에 문제를 일으킬 수 있다고 담당의사가 판단한 경우
- 4) 과도한 예측 이상반응 증상, 사망을 포함한 중대한 이상반응의 경우
- 5) 방문 계획 등에 대한 준용도 계획된 방문일에 방문하지 않아 안전성 및 기능성 평가를 하지 못하는 경우(단, 계획된 방문일이 지났으나 여유분의 약물이 있어 제대로 복용한 경우는 제외)
- 6) 병용 금지된 약물의 투약 등 시험계획서 위반의 경우
- 7) 인체적용시험용 식물을 용법 용량대로 복용하지 않아 인체적용시험을 진행 할 수 없다고 판단될 경우
- 8) 시험 전 평가에서 발견하지 못한 증상이나 질환이 확인 된 경우
- 9) 대상자의 증상 악화로 더 이상 인체적용시험을 진행할 수 없다고 판단될 경우
- 10) 기타 인체적용시험담당자가 시험을 중지하여야 한다고 판단할 경우

### 12.2. 대상자에 의해 중지, 탈락되는 경우

- 1) 대상자나 그 가족이 시험 중지를 요청한 경우
- 2) 이상반응 발생으로 인한 중도탈락
- 3) 인체적용시험용 식물 복용거부, 비협조, 동의 철회 등의 기타 이유로 인한 중도탈락

## 13. 기능성 평가기준, 평가변수 및 통계분석방법

### 13.1. 기능성 평가기준

인체적용시험 진행 일정에 따라 아래의 기능성 평가 항목을 검사한다.

1, 2 차 기능성 평가변수에서의 변화치의 경우는 '종류시험(12 주째) 수치 - 기저시험(0 주째) 수치'의 식을 이용하여 산출한다.

또한, 변화율은 [(종류시험(12 주째) 수치 - 기저시험(0 주째) 수치)/기저시험(0 주째) 수치] x 100 (%)의 식으로 계산한다.

### 13.2. 기능성 평가변수

1) 1차 기능성 평가변수

- Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 AST 수치의 감소치

2) 2차 기능성 평가변수

- Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 ALT 수치의 감소치 및 개선율
- Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 AST 개선율
- Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 TG 수치의 감소치 및 개선율
- Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서  $\gamma$ -GT 수치의 감소치 및 개선율
- Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 Lipid profiles 의 감소치 및 개선율

### 13.3. 통계분석 방법

- 모든 통계적 분석은 SPSS version 21.0 또는 SAS version 9.4 로 수행한다.

- 본 인체적용시험에서는 중간분석을 실시하지 않는다.

#### 13.3.1. 분석 대상군

본 인체적용시험의 대상자로부터 얻어진 자료는 크게 안전성 평가(Safety)군, FA(Full Analysis)군, PP(Per Protocol)군의 세 가지 형태로 분석된다.

##### 1) 안전성평가(Safety)군

Safety군은 본 인체적용시험에 무작위 배정되어 인체시험용 식물을 1회 이상 복용한 대상자를 의미한다.

##### 2) FA군

FA군은 인체적용시험에 무작위 배정되어 인체시험용 식물을 1회 이상 복용한 대상자 중 인체시험용 식물 복용 후 1차 기능성 평가 자료가 1회 이상 수집된 대상자를 의미한다.

##### 3) PP군

PP군은 FA군 대상자 중 중대한 계획서 위반 없이 본 인체적용시험을 완료한 대상자이며, 중대한 계획서 위반으로는 동의서 미 취득, 선정/제외 기준 위반, 병용 금지 약물 복용, 시험 개시-종료 시험의 주요 검사의 누락, 전체 복용 준용도 평균 80% 미만, 종류 방문 기간 미준수 등을 포함한다. 기타, 연구

결과 해석에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되는 경미한 인체적용시험계획서의 위반사항은 위반 또는 지연 정도와 사유를 정확히 기재하고 논거를 제시한 시험자, 의뢰자, 모니터, 통계학자 등이 시험연구에 영향을 주었는지 종합적으로 고찰하여 PP군 포함 여부를 판단한다.

### 13.3.2. 결과 해석의 원칙

가능성 자료에 대한 분석은 FA군과 PP군을 대상으로 하고 주 분석군은 FA군으로 한다. 안전성 자료에 대한 평가는 Safety군 그리고 인구통계학적 및 기타 기저 특성에 대한 분석은 FA군을 대상으로 한다. FA군의 가능성 자료에 대해 최종 종료 시험의 자료가 부족한 경우 LOCF(Last Observation Carried Forward Analysis)를 적용해 무작위 배정 후 가장 최근에 얻어진 자료로 대체한다.

### 13.3.3. 대상자의 인구학적 기초자료 및 기타 복용 전 특성

인구통계학적 및 기타 기저 특성에 대한 분석은 연속형 자료의 경우 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값 및 최댓값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test로 결정한다. 범주형 자료의 경우 빈도와 비율을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 Chi-square test 또는 Fisher's exact test로 결정한다.

### 13.3.4. 가능성 평가변수 분석방법

인체적용시험 진행 일정에 따라 아래의 가능성 평가 항목을 검사한다. 단, 각 변수들은 대상자의 AST 수치 증감도에 따라 평가변수의 차이를 별도로 분석 할 수 있다.

#### 1) 1차 가능성 평가변수 분석방법

##### Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 AST 감소치

인체시험용 식품 투여 전 대비 12주 평가 시점의 AST 감소치에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값 및 최댓값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test로 결정한다. 만일 Baseline 점수의 군 간 차이가 통계적으로 유의하다면 이를 공변항으로 하는 공분산분석 (ANCOVA)을 실시한다. 또한 각 군 내 AST 감소치의 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 결정한다.

#### 2) 2차 가능성 평가변수 분석방법

##### ① Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 ALT의 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12주 평가 시점의 ALT 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값 및 최댓값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 결정한다.

##### ② Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 AST 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12주 평가 시점의 AST 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값 및 최댓값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은

independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 이용해 결정한다.

##### ③ Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 TG의 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12주 평가 시점의 TG 수치의 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값 및 최댓값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 이용해 결정한다.

##### ④ Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 r-GT 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12주 평가 시점의 r-GT 수치의 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값 및 최댓값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 이용해 결정한다.

##### ⑤ Baseline(방문 2) 대비 12주 후 평가시점(방문 4)에서 lipid profile 각 수치 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12주 평가 시점의 Lipid profiles의 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최솟값 및 최댓값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 결정한다.

**14. 안전성의 평가기준, 평가방법 및 보고방법****14.1. 안전성 평가**

인체적용시험제를 복용 전, 복용 중(6주) 그리고 최종 복용(12주)에 실험실적 검사 및 활력징후 측정을 실시하고 연구기간 내내 이상반응을 평가한다.

**14.2. 평가기준**

- (1) 이상반응
- (2) 실험실적 검사 결과
- (3) 활력징후 결과

**14.3. 안전성 평가변수 및 분석방법****(1) 이상반응**

전체 중대한 그리고 중도 탈락의 원인이 된 이상반응과 인체적용시험용 식품과 관련 있는 이상반응에 대해 시험대상자 수와 비율을 제시하고, Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 이용하여 군 간 차이에 대한 유의성을 검정한다. 또한 이물의 중증도, 중대성, 취해진 조치 그리고 결과 등에 대한 발생빈수를 제시한다.

**(2) 실험실적 검사 결과**

실험실적 검사 결과는 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시험(12주)의 정상/비정상 변화에 대해 분할표를 이용해 빈도와 비율을 제시하고 McNemar's test 또는 McNemar's exact test를 이용하여 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성을 검정한다.

또한 혈액학 및 혈액화학 검사와 같은 연속형 자료의 경우 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시험(12주)의 변화량에 대해 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화의 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 검정한다.

**(3) 활력 징후**

활력징후는 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시험(12주)의 변화량에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화량의 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 검정한다.

**(4) 이학적 검사**

이학적검사는 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시험(12주)의 정상/비정상 변화에 대해 분할표를 이용해 빈도와 비율을 제시하고 McNemar's test 또는 McNemar's exact test를 이용하여 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성을 검정한다.

**15. 이상반응 정의 및 보고 규정****15.1. 정의****1) 이상반응(Adverse Events, AE)**

인체적용시험용 식품을 복용한 대상자에게 발생한 모든 유해하고 의도하지 않은 증상(症候, sign, 실험실 실험 결과의 이상 등을 포함한다), 증상(症狀, symptom) 또는 질병을 말하며, 해당 인체적용시험 제품과 반드시 인과관계를 가져야 하는 것은 아니다.

**2) 이상약물반응(Adverse Drug Reaction, ADR)**

인체적용시험용 식품의 임의 용량에서 발생한 모든 유해하고 의도하지 않은 반응으로서 인체적용시험용 식품과의 인과관계를 부정할 수 없는 경우를 말한다.

**3) 중대한 이상반응/이상약물반응(Serious AE/ADR)**

중대한 이상반응 또는 이상약물반응 중에서 다음 어느 하나에 해당하는 경우를 말한다.

- ① 사망하거나 상원에 대한 위험이 발생한 경우
- ② 입원할 필요가 있거나 입원 기간을 연장할 필요가 있는 경우
- ③ 영구적이거나 중대한 장애 및 기능 저하를 가져온 경우
- ④ 태아에게 기형 또는 이상을 초래하는 경우

시험자는 인체적용시험기간 중에 발생한 모든 중대한 이상반응은 해당절차에 따라 관계기관에 보고하도록 한다. 중대한 이상반응은 이를 발견한 후 24시간 이내에 보고하여야 한다. 시험의뢰자, 시험책임자, 시험담당자는 다음과 같은 의무를 가진다.

**15.2. 중증도의 평가 기준**

이상반응의 중증도 평가는 최대강도(maximal intensity)에 의거하여 아래의 3 단계 기준에 따라 분류한다.

- 1) 경도(Mild): 증상 또는 증후를 지각할 수는 있으나 쉽게 참을 수 있는 정도
- 2) 중등도(Moderate): 일상 생활을 방해할 만큼 불편한 정도
- 3) 중증(Severe): 정상적인 일상 생활을 수행 할 수 없을 정도

**15.3. 시험제품과의 인과관계 평가**

시험제를 복용과 이상반응 발생의 연관성 여부 및 정도는 시험자의 임상적 판단에 근거한다. 이때 다음의 기준을 판단의 지표로 사용하여 '연관의 가능성이 있음(Possibly)' 이상인 경우 시험제품과 인과관계 관련이 있다고 판단된다.

**1) 명확히 관련 있음(Definitely)**

- 시험제품을 복용하였다는 증거가 있고, 이상반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우
- 이상반응이 다른 어떤 이유보다 시험제품 복용에 의해 가장 가능성이 있게 설명되는 경우
- 시험제품의 복용 중단으로 이상반응이 사라지는 경우
- 시험제품 재복용(가능한 경우에만 실시) 결과가 양성인 경우

- 이상반응이 시험제물 또는 동일 계열의 건강기능식품에 대해 이미 알려져 있는 정보와 일관된 양상을 보이는 경우

2) 관련이 있다고 생각됨(Probably)

- 시험제물을 복용하였다는 증거가 있고, 이상반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우
- 이상반응이 다른 어떤 이유보다 시험제물 복용으로 가장 개연성 있게 설명되는 경우
- 시험제물의 복용 중단으로 이상반응이 사라지는 경우

3) 관련 가능성이 있음(Possibly)

- 시험제물을 복용하였다는 증거가 있고, 이상반응 발현의 시간적 순서가 타당한 경우
- 이상반응이 다른 가능성 있는 원인과 같은 수준으로 시험제물 복용에 기인한다고 판단되는 경우
- 시험제물 복용 중단으로 이상반응이 사라지는 경우

4) 관련 가능성이 없음(Unlikely, probably not)

- 시험제물을 복용하였다는 증거가 있는 경우
- 이상반응에 대해 보다 가능성 있는 원인이 있는 경우
- 시험제물의 복용 중단 결과 음성이거나 모호한 경우
- 시험제물 재복용 결과가 음성이거나 모호한 경우

5) 명확히 관련 없음(Not related, None)

- 대상자가 시험제물을 복용 받지 않은 경우
- 시험제물 복용과 이상반응 발현간의 시간적 순서가 타당하지 않은 경우
- 이상반응에 대해 다른 명백한 원인이 있는 경우

6) UK(Unknown, unassessable)

- 연관성을 판단하기에 근거가 부족한 경우
- 근거자료의 질적 수준이 떨어지거나 데이터 간의 일관성이 없는 경우

15.4. 이상반응의 기록

인체적용시험 중 발생하는 모든 이상반응을 기록하는 것은 시험자의 의무이다. 이상반응은 의학진단 용어로 기록하여야 하며, 이것이 불가능한 경우 시험자가 관찰하거나 보고한 증상 및 징후에 대한 용어를 기록하여야 한다.

중재기록지(CRF)에는 이상반응의 증상 및 증상, 발현일, 소실일, 이상반응 정도, 보고방법, SAE 해당여부, 인체적용시험용 식품과 인과관계, 예측여부, 이상반응 처치, 이상반응 결과가 기재되어야 한다. 세부적인 치료 내용은 CRF의 이상반응 페이지에 기록하여야 한다.

15.5. 중대한 이상반응의 보고

예측하지 못한 중대한 이상반응이 투약기간 도중에 발생하는 경우, 인체적용시험용 식품과의 인과관계와 관계없이 시험자가 아래의 쿠파마크로 연락으로 24시간 이내에 보고한다. 또한 기타 관련된 시험자, 심사위원회에 중대하고 예상하지 못한 모든 이상반응을 보고하여야 한다.

담당자명: ㈜ 파마크로

Tel: 02-529-1310/1410 Fax: 02-521-1180

주 소: 서울 서초구 강남대로 275 강남메인타워 11층

시험자는 이상반응을 모두 기술하기 위해 모니터에게 우선적으로 보고하고 이후에 서면으로 충분히 기술된 보고서를 작성하여 보고하도록 한다. 해당사항이 있는 경우 병원 의무기록이나 검사기록을 포함하도록 한다. 연구가 종료된 후라도 연구과정과 연관된 이상반응이라고 판단할 경우 담당 모니터에게 보고하도록 한다.

15.6. 이상반응을 경험한 대상자의 추적조사

시험자는 이상반응이 나타난 대상자에 대해 증상이 가라앉고 비정상적 실험실적 검사치가 기준치로 회복되거나, 혹은 관찰된 변화에 대해 만족스러운 설명이 될 때까지 추적 관찰 한다. 또한 이상반응의 진행 결과는 중재기록서 양식에 따라 기재하도록 한다.

## 16. 시험 대상자 동의서, 피해자 보상에 대한 규약, 인체적용시험 후 대상자 진료 및 치료 기준

### 16.1. 시험 대상자 설명서 및 동의서

시험자는 시험에 참여하는 지원자들이 인체적용시험 참여 유무를 결정하기 전에 Helsinki 선언 및 KGCP 에 따라 충분한 정보를 제공한다. 인체적용시험을 위한 시험대상자 설명서[별첨 3]를 통해 해당 인체적용시험과 관련된 모든 정보를 지원자들이 이해할 수 있는 언어로 제공하고, 시험에 대해 자세한 것을 질문할 수 있는 충분한 기회를 준다. 또한 시험대상자 설명서를 대상자에게 읽어줄 수 있지만, 대상자가 서명하기 전에 읽을 충분한 시간을 줄 것이다. 대상자의 자유의사에 따라 서면으로 동의서[별첨 3]를 받는다. 또한 지원자는 시험 중 언제라도 자유의사에 의해 시험을 그만둘 수 있으며 또한 이를 알고 있다.

시험대상자 설명서 및 동의서[별첨 3]는 이 시험계획서와 함께 IRB 의 승인을 받을 것이다. 동의서 및 설명서는 대상자가 이해할 수 있도록 작성한다. 대상자의 동의는 대상자의 서명, 동의일을 기록하고 보관될 것이다. 대상자 동의양식은 IRB 에서 승인 받은 대로 사용될 것이며, 대상자의 서명 후 원본 1 부는 시험책임자가, 사본 1 부는 대상자가 각각 보관할 것이다.

시험대상자 설명서[별첨 3]는 의약품임상시험관리기준(의약품 등의 안전에 관한 규칙 별표 4)에 따라 필요한 요소를 포함하여 작성된다.

### 16.2. 피해자 보상에 대한 규약

[별첨 4] 피해자 보상에 대한 규약 참조.

### 16.3. 인체적용시험 후 대상자의 진료 및 추적관찰 기준

인체적용시험용 식용 최종 복용 후 혹은 초기 복용 중지 후 비정상적인 임상실험실 결과, 계속되는 이상반응, 중도 탈락 및 시험자의 판단에 따라 추적 관찰이 필요하다고 여겨지는 경우 필요에 따라 추적 관찰을 위해 4주 이내 다시 방문하도록 한다.

- 1) 신재검사(재종)
- 2) 활력징후
- 3) 병용약물 조사
- 4) 이상반응 조사
- 5) 실험실적 검사
- 6) 임신검사

## 17. 대상자의 안전보호에 관한 대책

본 인체적용시험은 임상시험 관리기준 및 인체적용시험 관련법규에 따라 과학적이고 윤리적으로 진행될 것이다. 또한 본 인체적용시험은 헬싱키 선언에 입각하여 인간의 존엄성 및 권익을 존중함과 더불어 대상자에게 불이익을 초래되지 않도록 실시될 것이다.

임상시험심사위원회는 임상시험 관리기준에 따라 본 인체적용시험계획서를 평가/승인하고 인체적용시험이 인체적용시험계획서에 따라 진행되는지 정기적으로 평가할 것이다.

시험자는 대상자를 인체적용시험에 등록하기 전에 각 대상자들의 건강상태를 확인하여 인체적용시험에 참여할 수 있는지를 확인하여야 한다. 또한 시험자는 인체적용시험용 식품에 관하여 충분히 숙지하고 대상자의 안전을 보장하기 위해 최선을 다할 것이다.

인체적용시험으로 인한 이상반응이 발생한 경우 대상자가 회복할 때까지 적절한 의료조치가 취해지고 인체적용시험연구자는 가입된 피해자 보상에 따라 보상할 것이다.

## 18. 그 밖에 인체적용시험을 안전하게 과학적으로 실시하기 위하여 필요한 사항

### 18.1. 윤리적 고려

본 인체적용시험계획서(시험대상자 설명서 및 동의서 포함)은 윤리적이고 과학적으로 시행되어야 하며 KGCP 에 따라 인체적용시험개시 전에 임상시험심사위원회로부터 승인을 받아야 한다. 승인을 받은 시험계획서에 따라 진행되며, 헬싱키 선언을 준수 할 것이다. 시험계획서의 변경은 마찬가지로 임상시험심사위원회(IRB)의 승인을 받아야 한다.

시험과 관련한 이상반응은 지원자의 부담 없이 치료될 것이며, 영구적 불구 등의 발생은 의뢰자가 보상할 것이다. 또한 본 시험은 임상시험 관리기준(KGCP)에 준하여 실시될 것이다.

### 18.2. 인체적용시험 자료의 보관 및 문헌의 열람

인체적용시험 관련 문서에는 모든 작업일지, 근원서류, 모니터링 기록과 약속 일정, 인체적용시험 의뢰자-시험자간의 서신교환과 규정문서 등이 포함된다(예: 시험자가 서명한 인체적용시험 계획서와 그 개정판, 임상시험심사위원회 관련 서신, 허가관련서류, 서명한 시험대상자동의서, 인체적용시험용 식용 수험증, 수불기록).

근거문서는 모든 관찰기록과 임상활동에 관한 기록, 인체적용시험의 평가와 재구성에 필요한 모든 보고서와 기록을 포함한다. 따라서 근거문서에는 인체적용시험 계획서에 근거하여 실시된 모든 처지에 대한 기록 또는 이와 유사한 기록이 모두 포함한다.

관찰기록은 가능한 한 그 원본을 근거문서로서 보관해야 한다. 그러나 복사본이 원본과 정확히 동일하고 깨끗하며 읽기 쉽도록 기록되어 있으면 복사본도 근거문서로 간주할 수 있다. 이러한 문서들은 인체적용시험의 완료일로부터 3년간 보존되어야 한다. 다만, 식품의약품안전처장이 지시하거나 인체적용시험 연구자가 그 필요성이 있다고 판단한 경우에는 보존기간을 연장하여야 한다.

### 18.3. 자료 및 대상자 기록의 기밀 유지

모든 대상자명은 비밀을 유지하도록 하고, 시험을 시작할 때 부여한 번호에 의해 기록 및 평가를 한다. 대상자의 신원에 대한 모든 기록은 비밀보장이 되도록 주의한다. 다만 모니터링원, 점검을 실시하는 자,

심사위원회 및 식품의약품안전처장은 대상자의 비밀보장을 침해하지 않고 관련 규정이 정하는 범위 안에서 시험결과와 자료의 신뢰성을 검증하기 위해 대상자에 대한 기록을 열람할 수 있다.

#### 18.4. 보고서 제출 및 출판에 관한 방침

원칙적으로 본 인체적용시험결과는 시험의뢰자의 소유이다. 그러나, 인체적용시험연구자는 시험의뢰자와 상의 후 시험의 결과를 독립적으로 전문지에 게재하거나 발표할 권리가 있으며, 발표논문은 제출하기 30 일전에 초록 사본은 시험의뢰자에게 제공하여야 한다. 시험의뢰자는 인체적용시험연구자와 협의 후 인체적용시험연구자와는 별도로 시험 결과를 학회에 발표할 수 있는 권리가 있다. 시험의뢰자는 초록을 제출하기 전에 적어도 30 일간 충분히 연구와 협의 및 검토하여야 한다.

#### 18.5. 시험계획서 준수에 대한 모니터링

모니터는 시험의 진행을 모니터링 하기 위한 목적으로 연구시설에 대한 방문을 수행하게 된다. 시험자는 시험제품의 보관장소, 시험에 관련된 서류에 대해 인체적용시험 모니터 또는 본 업무의 책임자가 접근할 수 있도록 동의하고 협조하여야 한다. 또한 식품의약품안전처장으로부터 실태조사 및 의뢰자의 점검을 받는 경우에도 시험자는 해당업무에 동의하고 협조하여야 한다.

#### 18.6. 품질관리(QC) 및 보증(QA)

데이터는 적절 CRF 에 기입한다. 수정 시에는 원본이 보이도록 수정하고자 하는 곳을 잘 줄을 가로로 긋고 새로 기입한다. 수정한 곳에 수정한 사람의 이니셜과 서명, 날짜를 기입한다. 컴퓨터기록 및 자료는 백업/아크로에서 모니터 한다.

시험의 신뢰성을 보증하기 위하여 시험에 관련된 모든 주요사항을 문서로 작성하여 시험의 기초자료와 함께 인체적용시험 완료일로부터 3 년간 보존하며 시험계획서, 결과보고서 및 시험기초자료에 대하여 임상연구심사위원회의 심사와 평가를 받는다.

#### 19. 참고문헌

- 1) 건강기능식품에 관한 법률, 식품의약품안전청 2002
- 2) 국민건강영양조사 제 4 기 3 자년도(2009), 보건복지부
- 3) 의약품 등의 독성시험기준, 식품의약품안전청 고시 제 2009-116 호
- 4) 의약품 임상시험 관리기준, 의약품임상시험관리기준 (의약품 등의 안전에 관한 규칙 별표 4)
- 5) 건강기능식품공전, 2014. KFDA.
- 6) 대한약전의 의약품등록집 제 4 개정, 2012, KFDA.
- 7) Namba T. The encyclopedia of Wakan-Yaku with color pictures. Osaka: Hoikusha (1980)
- 8) Park JD. Recent studies on the chemical constituents of Korean Ginseng (*Panax ginseng* C.A.Meyer). Korea J Ginseng Sci. 20:389-415 (1996)
- 9) Sanata S, Kondo N, Shoji J, Tanaka O, Shibata S. Studies on the saponins of ginseng. I. Structure of ginseng-RD, Rb1, Rb2, Rc and Rd. ChemPharmBull. 22:421-428 (1974)
- 10) Kitagawa I, Taniyama T, Shibuya H, Noto T, Yoshikawa M. Chemical studies on crude drug processing. V. On the constituents of ginseng radix rubra (2) : Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same *Panax ginseng* root. YakugakuZasshi. 107:495-505 (1987)
- 11) Ko SK, Bae HM, Cho OS, Im BO, Chung SH, Lee BY. Analysis of ginsenoside composition of ginseng berry and seed. Food SciBiotechnol. 17:1379-1382 (2008)
- 12) Dey L, Zhang L, Yuan CS. Anti-diabetic and anti-obese effects of ginseng berry extract: comparison between intraperitoneal and oral administrations. Am J Chin Med. 30:645-647. (2002)
- 13) Huo YS. Anti-senility action of saponin in *Panax ginseng* fruit in 327 cases. Zhong Xi Yi Jie He ZaZhi. 4:593-596 (1984)
- 14) Zhang SC, Jiang XL. The anti-stress effect of saponins extracted from *Panax ginseng* fruit and the hypophyseal-adrenal system. Yao XueXueBao. 16:860-863 (1981)
- 15) Bae HM, Cho OS, Kim SJ, Im BO, Cho SH, Lee S, Kim MG, Kim KT, Leem KH, Ko SK. Inhibitory effects of ginsenoside Re isolated from ginseng berry on histamine and cytokine release in human mast cells and human alveolar epithelial cells. J Ginseng Res. 36:369-374. (2012)
- 16) Wang W, Zhao Y, Rayburn ER, Hill DL, Wang H, Zhang R. In vitro anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng*. Cancer ChemotherPharmacol. 59:589-601. (2007)
- 17) Lee SA, Jo HK, Im BO, Kim S, Whang WK, Ko SK. Changes in the contents of prosapogenin in the red ginseng (*Panax ginseng*) depending on steaming batches. J Ginseng Res. 36:102-106 (2012)
- 18) Ko SK, Lee KH, Hong JK, Kang SA, Sohn UD, Im BO, Han ST, Yang BW, Chung SH, Lee BY. Change of ginsenoside composition in ginseng extract by the vinegar process. Food SciBiotechnol. 14:509-513. (2005)
- 19) Zheng H, Jeong Y, Song J, Ji GE. Oral administration of ginsenoside Rh1 inhibits the development of

Protocol No. GSO-1

Study Protocol Version 1.0(2016.05.17)

CONFIDENTIAL

atopic dermatitis-like skin lesions induced by oxazolone in hairless mice. *Int Immunopharmacol*. 11:511-518. (2011)

20) Keum YS, Han SS, Chun KS, Park KK, Park JH, Lee SK, Surh YJ. Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF-kappaB activation and tumor promotion. *Mutat Res*. 523-524:75-85. (2003)

21) Kim ND, Kang SY, Park JH, Schini-Kerth VB. Ginsenoside Rg3 mediates endothelium-dependent relaxation in response to ginsenosides in rat aorta: role of K+ channels. *Eur J Pharmacol*. 367:41-49. (1999)

22) Yang L, Hao J, Zhang J, Xia W, Dong X, Hu X, Kong F, Cui X. Ginsenoside Rg3 promotes beta-amyloid peptide degradation by enhancing gene expression of neprilysin. *J Pharm Pharmacol*. 61:375-380. (2009)

23) Lee WM, Kim SD, Park MH, Cho JY, Park HJ, Seo GS, Rhee MH. Inhibitory mechanisms of dihydroginsenoside Rg3 in platelet aggregation: critical roles of ERK2 and cAMP. *J Pharm Pharmacol*. 60:1531-1536. (2008)

24) Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett*. 150:41-48. (2000)

25) Jeong SJ, Han SH, Kim DY, Lee JC, Kim HS, Kim BH, Lee JS, Hwang EH, Park JK. Effects of m Rg2, a mixture of ginsenosides containing 60% Rg2, on the ultraviolet B-induced DNA repair synthesis and apoptosis in NIH3T3 cells. *Int J Toxicol*. 26:151-158 (2007)

# Case Report Form

Protocol No: GSO-1

Site	세명대학교부속 충주한방병원
Initial	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <small>Family First Name</small>
Screening No	S <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Random No	R <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

### Confidential Documents

Notice: All or part of the information in this document is to be considered to be the confidential property of **한국홍삼영농조합 Inc.** and **PharmaCRO Inc.**, not to be divulged to unauthorized persons in any form (publication or presentation) without the express written consent of investigator.



**CRF Guideline**

**[내용기입]**

1. 권장액 불만을 사용하여 읽기 쉽도록 명확하게 한 칸에 한 자씩 왼쪽에서 오른쪽으로 기록한다.
2. 대상자 정보란 작성 시 스크리닝 번호를 먼저 부여한 후 스크리닝 통과한 대상자에 대해서 요청사항을 번호를 부여한다.
3. 빈칸은 최대 길이의 앞에 알맞게 제시되므로 공란이 없도록 모든 항목을 기록한다.
4. 숫자 작성 시 그 수치가 한자리일 경우 다음의 예시 1)과 같이 기록한다. 예시 1) 

0	0	7
---	---	---

  
 소수점 첫째 자리까지 작성하여 하는 경우 둘째 자리에서 반올림하여 기록한다.  
 날짜 작성은 다음의 예시 2) 및 예시 3)를 참고하여 작성한다.  
 예시 2) 생년월일 1970년 6월 20일 예시 3) 병력장표에서 날짜가 확실치 않을 경우  

7	0	0	6	2	0
YY	MM	DD			

7	0	0	6	U	K
YY	MM	DD			
5. 대상자 이니셜 작성 시 기입안이 부족한 경우 제시된 칸 내에서 음영 순으로 읽고 기입한이 없는 경우 “\_”를 작성하여 오류를 방지한다.
6. 허용된 공간 외 여백이나 여백에 넘겨 또는 정보 기입을 하지 않는다.
7. 응대기록서 각 페이지 상단의 대상자 정보란을 기록한다.
8. 응대기록서 내용을 잘 읽고 해당하는 체크박스에 해당없이 “\_” 표시 한다.
9. 약물 및 의료 기기명 등은 정문영으로 명확하게 기록한다.
10. 연구나 문장이 필요한 경우에는 필자가 분명하게 도박도박 기록한다.
11. 약어 사용 시 명확적으로 표명하고 표준화된 약어를만을 사용하고 그 외의 약어나 머리글자의 사용을 금한다.

**[주목정보]**

12. 누락된 정보에는 다음의 약어를 확인하고 해당하는 체크박스에 해당없이 “\_” 표시한다.  
 ND(Not Done) 시행하지 않음     NA(Not Available/ Not Applicable) 중요하지 않음/적용되지 않음  
 UK (Unknown) 모름

**[기록확인]**

13. 스크리닝 완료 후 스크리닝 종합 평가에 대한 기록을 완료한다.
14. 응대기록서의 이상만을 보고서에 기록한 정보와 상대한 이상만을 상세보고서의 기록에 일치하는지 확인한다.
15. 응대기록서가 페이지 순서대로 있는지 또는 누락 및 훼손된 것은 없는지 확인한다.

**[수정일자]**

16. 기재 사항을 수정할 경우에는 예시 4)를 참고하여 한 줄을 갖고 기록소거가 없는 최 가능한 한 가까운 곳에 수정내용 수정일 그리고 수정한 사람의 이름(또는 서명)을 작성한다. 수정일의 사용을 금한다.

예시 4) 

K	Y	Z
A	B	C

 12/07/10 기록소거(이름)(서명)

17. 수정정보를 지우거나 겹쳐 쓰지 않는다. 수정 이전의 기록은 읽을 수 있게 한다.
18. 응대기록서의 원본을 복사하여 사용하지 않는다.

Protocol No.	Screening	Screening No.	Initials	Page						
GSO-1	-4 주- 0 주	S <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td></tr></table>				<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td></tr></table>				3

**Contents**

- Visit 1: 스크리닝 (-4 주-0 일, Week -4)
- Visit 2: 투여 직전 (0 일, Week 0)
- Visit 3: 투여 6 주 ±7 일 (42 일, Week 6)
- Visit4/조기종료: 투여 12 주 ±7 일 (84 일, Week 12)
- 추가방문 / 추적조사 (필요 시)
- 병용약물 / 이상반응 보고 양식
- 임상시험종료 양식

**Study Flow Chart**

시험항목	스크리닝		투여기간		Following**
	방문 1 -4 주 -0 주	방문 2 0 주(0 일)	방문 3 6 주(±7 일)	방문 4* 12 주(±7 일)	추가 방문 필요 시
대상자 동의	√				
연구학적 조사 *	√				
신체검사 *	√		√	√	√
혈액검사 *	√	√	√	√	√
병력 및 동반질환	√				
어휘력 검사	√			√	√
생활동력 조사 *		√			
실험실력 검사 *	√	√	√	√	√
알코올 검사 *	√	√	√	√	√
대상자-연구자 평가 *	√	√			
부작용 발생		√			
DR 적양 및 그부		√	√		
전행/병용약물 조사	√	√	√	√	√
이상반응 확인			√	√	√
1# 면담 및 복용순응도			√	√	

Protocol No.	Screening	Screening No.	Initials	Page
GSO-1	-4 주 - 0 주	S <input type="text"/>	<input type="text"/>	4

Protocol No.	Screening	Screening No.	Initials	Page
GSO-1	-4 주 - 0 주	S <input type="text"/>	<input type="text"/>	5

**발문일**  
발문일을 기록하여 주십시오.

년 YYYY 월 MM 일 DD

**대상자 동의**  
대상자에게 본 임상시험에 관해 상세히 설명하고 서면 동의 받았습니까?  
 Yes  No

서면동의일

년 YYYY 월 MM 일 DD

**인구학적 조사**

성 별  남  여

생년월일

년 YYYY 월 MM 일 DD

나 이

만  세

\* 만 18세 이상인 70세 미만 대상자는 본 임상시험에 참여할 수 있습니다.  
\* (우리나라 기준) 생년월일 기온 생일이 지나지 않은 경우 -1 세

**신체검사**

체 중  kg

신 장  cm

\* 재량은 시험기간 중 동일한 동일한 계수계를 사용하며, 신장은 신을 뻗고 cm 단위로 측정합니다.

**활력징후 (Vital Sign)**

혈압(mmHg) 수축기(SBP)  / 이완기(DBP)

맥 박(beats/min)

체온(°C)

\* 측량은 5분간 앉은 자세로 안정을 취한 후 측정하며, 각 방문 때마다 같은 곳에서 측정합니다.

**임산검사(Pregnancy)**

NA  Negative  Positive \* "Positive"인 경우 임상시험에 참여할 수 없습니다.

검사 결과

검사 일자

년 YYYY 월 MM 일 DD

Protocol No.	Screening	Screening No.	Initials	Page
GSO-1	-4 주 ~ 0 주	S <input type="text"/>	<input type="text"/>	6

**신행/병용 약물 조사**

지난 4주 이내 복용한 약물 또는 현재 복용중인 약물이 있습니까?  
 No  Yes\* "신행/병용 약물" 3page 에 자세한 사항을 기재하십시오.

**병력 및 동반질환**

대상자가 지난 3개월 내에 경험하였거나 현재 가지고 있는 질환이 있습니까?  
 No  Yes\* 아래에 자세히 기재 하십시오.

전단명	발생시기 (년 YY/ 월 MM)	Ongoing		수 견
		Yes	No	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**이학적 검사**

발문 당시 어떤 비정상내 내용이 있습니까?  Yes  No

No.	분류 번호	비정상 내용	임상적 의미	
1	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
2	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
3	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
4	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS

▶ 수 견 :

\* 0: 관찰되지 않음, 1: 약간 이상, 2: 중간 이상, 3: 심한 이상, 4: 매우 심한 이상, 5: 극심한 이상, 6: 관찰 불능, 7: 관찰 불능, 8: 관찰 불능, 9: 관찰 불능, 10: 관찰 불능, 11: 관찰 불능, 12: 관찰 불능, 13: 관찰 불능, 14: 관찰 불능, 15: 관찰 불능

**표. 분류번호 - 이학적검사**

01	General appearance	06	Heart/Circulation	11	Neurological/ Psychiatric
02	Skin and Mucosae	07	Abdomen	12	Heart/Circulation
03	HEENT	08	Renal/ Genitourinary	13	Extremities
04	Breast	09	Rectal	14	Musculoskeletal
05	Lung	10	Lymph nodes	15	Others

Protocol No.	Screening	Screening No.	Initials	Page
GSO-1	-4 주 ~ 0 주	S <input type="text"/>	<input type="text"/>	7

**실험실적 검사 (Laboratory test)**  일부만 수행  N/D

검체 채취일: / /  yy/mm/dd

**혈액학 검사(Hematology)** 재검  없음  있음 ( / /  yy/mm/dd)

항목	참고치	검사치	재검치	Normal			수견
				Yes	NCS	CS	
WBC	8.5-10.0 x10 <sup>9</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
RBC	M 4.50-6.50 x10 <sup>12</sup> /uL F 4.00-6.00 x10 <sup>12</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemoglobin	M 13.0-17.0 g/dL F 12.0-16.0 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemocrit	M 39.0-52.0 % F 36.0-48.0 %			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Platelet	150-400 x10 <sup>3</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**혈액화학검사(Blood Chemistry)** 재검  없음  있음 ( / /  yy/mm/dd)

항목	참고치	검사치	재검치	Normal			수견
				Yes	NCS	CS	
ALP	104-338 IU/L			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total bilirubin	0.2-1.2 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total Protein	5.8-8.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Albumin	3.8-5.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total cholesterol	130-220 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Triglyceride	50-130 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
HDL cholesterol	35-88 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
LDL cholesterol	140 이하 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
BUN	8-20 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Creatinine	M 0.8-1.2 mg/dL F 0.6-0.9 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Uric acid	M 3.0-8.3 mg/dL F 2.0-6.8 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	70-110 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**소변검사(Urine Analysis)** 재검  없음  있음 ( / /  yy/mm/dd)

항목	참고치	검사치	재검치	Yes	NCS	CS	수견
Specific gravity	1.000-1.030			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
pH	5.0-8.0			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Protein	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Blood/RBC	0-5/HPF			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
WBC	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

\* 실험실 검사가 계획되어 있는 날에는 연속상해(또는 전 8시간 이내에) 물을 제외한 음료수나 음식 섭취를 일시적으로 중단하십시오.  
 1. 재검치가 기록된 경우 재검치에 의해 정상여부를 표기하고 NCS/CS 판단하여 표기하십시오.  
 2. Abnormal CS 일 경우 수견함에 기록하십시오.

Protocol No.	Screening	Screening No.	Initials	Page
GSO-1	-4 주- 0 주	S [ ][ ][ ]	[ ][ ][ ]	5

대상자 적합성(Eligibility) 판정		
선정기준 (Inclusion Criteria)		
각 항목의 해당함에 √ 표시오.	Yes	No
1. 만 18세 이상 만 75세 미만의 건강한 성인 남녀	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 2주 이상 AST 수치가 2.5배 이상인 자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 본 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 들은 후 자의로 참여를 결정하고 동의서에 서명한 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>&gt;한 항목이라도 "No"에 체크되었다면 -&gt;본 인체적용시험에 참여할 수 없음</b>		
제외기준 (Exclusion Criteria)		
1. 임신부나 임신중에 과임중 또는 그 병력이 있는 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. 3개월 이내 간기능 관련 약물, 건강기능식품을 복용중인 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. 간염바이러스 보유인양자 및 간염의 병력이 인정되거나 치료안으로 진단되어 약물 등 치료중인 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. 황달, 복수 등 악성질환 또는 심한 간 기능 장애(ALT, AST 중 정상 상한치의 3배 이상)이거나 복통, 식욕, 간염 및 건강화에 의한 간 기능 장애 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. 트루포지 또는 고콜레스테롤 > 140nmol/l 또는 <math>LDL-C > 50mg/dl</math>이거나 조음되지 않는 당뇨병(HbA1c > 6.5%) 환자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. 스크리닝 1년 이내에 임상적으로 유의한 신경계 질환(뇌졸중 등), 심혈관 질환(허혈성 심질환 등), 일부 전염성 질환, 항응고제 복용 및 혈소판 또는 혈액응고인자 이상 등의 혈액학적 이상, 호흡기 질환 (만성 폐쇄성 폐질환, 폐렴, 폐결핵 등의 감염성 폐질환 등의 병력이 있는 자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. 스크리닝 6개월 이내의 류마티스 관절염이 있거나 소화성 궤양, 위암의 징후(혈변, 흑변) 또는 궤양성 장염 등의 병력이 있는 자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. 주요 위험군 수술의 병력이 있는 자(중수절제술을 제외한 위장재, 위장관 수술 또는 분장술 등)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. 스크리닝 3년 내 위 진단 및 치료 받은 적이 있거나 치료 중인 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. 총콜레스테롤 및 심혈관 질환 위험 인자(cholesterol) > 2.0 mg/dl가 있는 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. 신경 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 앓고 있는 대상자 (우울증, 정신분열증, 간질, 약물중독, 거식증, 이상성욕증 등)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. 인체적용시험 후 결과가 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 약물(해열진통제 및 피스레오이드류 소염 진통제, 항콜레스테롤 약물, 항진균제)을 지속적으로 복용해야 하는 자 (이내내용은 7.2. 병용약물에 적용 및 용기약물/작용을 참고한다)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. 최근 4주 이내에 연구용 스테로이드, 호르몬제 또는 식물의 경우 대사, 배설에 영향을 주는 약물이나 간 기능에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경력이 있거나 기타 임상시험에 참여한 경력이 있는 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. 임신부, 수유부 및 가임여성으로 임의기간 동안 임신 및 수유의 계획이 있는 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. 연구자 소견으로 볼 때, 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되거나 기타 의사가 부적합하다고 판단되는 대상자	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>&gt;한 항목이라도 "Yes"에 체크되었다면 -&gt;본 인체적용시험에 참여할 수 없음</b>		

Protocol No.	Screening	Screening No.	Initials	Page
GSO-1	-4 주- 0 주	S [ ][ ][ ]	[ ][ ][ ]	5

스크리닝 종합 평가
본 대상자의 인체적용시험 참여는 적합합니까?
<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No (→ 만약 "No"라고 표기되었다면 그 사유를 기술하여 주십시오)
<input type="checkbox"/> 선정/제외기준 위반
<input type="checkbox"/> 동의불확
<input type="checkbox"/> 연구자의 판단 _____
<input type="checkbox"/> 기타 _____

인체적용시험 시험자 확인
본인은 본 대상자에 대한 해당 검사를 빠짐없이 실시하고 세심히 관찰하였으며, 본 중재기록서에 기록된 모든 정보가 정확함을 확인합니다.
인체적용시험 책임자 서명 (시험책임자의 위임을 받음자)
서명일


Protocol No.	Visit 2	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1	0 주	S [ ][ ][ ][ ]	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	11

## Visit 2

### 투여 직전 (0일, Week 0)

1. 활력징후
2. 생활습관 조사
3. 병용 약물 조사
4. 임신검사
5. 대상자 적합성 평가
6. 실험실적 검사
7. 무작위 배정
8. IP 처방 및 교부

Protocol No.	Visit 2	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1	0 주	S [ ][ ][ ][ ]	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	12

#### 방문일

방문일을 기록하여 주십시오

년 YYYY    월 MM    일 DD

#### 활력징후 (Vital Sign)

혈압(mmHg)                      수축기(SBP) [ ][ ][ ] / 이완기(DBP) [ ][ ][ ]

맥 박(bats/min)                      [ ][ ][ ]

체온(°C)                              [ ][ ] . [ ][ ]

\* 맥박은 30초간 심전도 기록을 위한 후 측정하며, 각 방문 시마다 같은 부위에 측정합니다.

#### 병용 약물 확인

지난 방문 이후 복용한 약물 또는 현재 복용중인 약물이 있습니까?

No                       Yes\* "병용약물" 31page 에 자세한 사항을 기재하십시오.

#### 임신검사(Pregnancy)

NA    ▶ 임신, 피임약(피임약 복용 후 2년 이상은 아별) 요양적 불임(임신 후 6개월 이상)을 받은 기왕기 여성은 'NA'에 해당

검사 재취일                      년 YYYY    월 MM    일 DD

검사 결과     Negative     Positive

#### 생활습관

흡연 습관		음주 습관	
비흡연자	<input type="checkbox"/>	비음주자 및 과거 음주자	<input type="checkbox"/>
과거 흡연자	<input type="checkbox"/>	음주자	<input type="checkbox"/>
→ 흡연 종료 나이 [ ]세	<input type="checkbox"/>	복용으로 마신다 (소주 560ml 1/2 병 이하/주)	<input type="checkbox"/>
흡연자	<input type="checkbox"/>	음주자	<input type="checkbox"/>
→ [ ]갑/주	<input type="checkbox"/>	많이 마신다 (소주 560ml 1/2 병 초과/주)	<input type="checkbox"/>
식사 습관		운동 습관	
규칙적	<input type="checkbox"/>	현재 하지 않음	<input type="checkbox"/>
불규칙적	<input type="checkbox"/>	불규칙적 (30분 이상 주 3회 이하)	<input type="checkbox"/>
식이요법 준수	<input type="checkbox"/>	규칙적 (30분 이상 주 3회 이상)	<input type="checkbox"/>
식이요법 미 준수	<input type="checkbox"/>	→ [ ]회 / 주	<input type="checkbox"/>

\*음주습관에서 "비음주자 및 과거 음주자" 항목에 "Yes"에 체크되었다면 →본 임상시험에 참여할 수 없음

Protocol No.	Visit 2	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1	0 주	S [ ][ ][ ][ ]	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	14

실험실직 검사 (Laboratory test) <span style="float:right">□ IND</span>						
검체 채취일 [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yy/mm/dd						
혈액학 검사(Hematology) 재검 <input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음 ( [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yy/mm/dd)						
항목	참고치	검사지	재검지	Normal	Abnormal	소견
WBC	3.5-10.0 x10 <sup>3</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
RBC	M 4.50-6.50 x10 <sup>6</sup> /uL F 4.00-6.00 x10 <sup>6</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemoglobin	M 13.0-17.0 g/dL F 12.0-16.0 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemagocyt	M 39.0-52.0 % F 36.0-48.0 %			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Platelet	150-400 x10 <sup>3</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
혈액화학검사(Blood Chemistry) 재검 <input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음 ( [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yy/mm/dd)						
ALP	106-338 IU/L			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total bilirubin	0.2-1.2 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total Protein	5.8-8.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Albumin	3.8-5.3 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total cholesterol	100-220 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Triglyceride	50-130 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
HDL cholesterol	35-88 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
LDL cholesterol	140 이하 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
BUN	8-20 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Creatinine	M 0.8-1.2 mg/dL F 0.6-0.9 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Uric acid	M 3.0-8.3 mg/dL F 3.0-6.3 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	70-110 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
소변검사(Urine Analysis) 재검 <input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음 ( [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yy/mm/dd)						
Specific gravity	1.000-1.030			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
pH	5.0-8.0			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Protein	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Blood/RBC	0-5/HPF			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
WBC				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
* 실험실 검사가 계획되어 있는 날에는 공복상태라면 전 8시간 이내에 물을 제외한 음료나 음식 섭취를 금지하며 검사기관을 방문하도록 교육하십시오. 1. 재검지가 기록된 경우 재검지에 의해 정상여부를 표기하고 NCS/CS 항목하에 표기하십시오. 2. Abnormal, CS 인 경우 소견란에 기록하십시오.						

Protocol No.	Visit 2	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1	0 주	S [ ][ ][ ][ ]	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	14

대상자 적합성(Eligibility) 판정			Yes	No
선정기준 (혹히 1주 이상 AST 수치가 25 IU/L 이상) 확인	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
재외기준 확인	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

무작위 배정		
무작위배정이 되었습니까?	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No
무작위배정 번호	R [ ][ ][ ][ ]	

시험식품/대조식품 처방		
시험식품/대조식품 처방 되었습니까?	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No
*참가 물자의 '재사용'인 경우 그 사유를 기재하십시오.		
<div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div>		
시험식품/대조식품 처방일	년 YYYY	월 MM 일 DD

인체적용시험 시험자 확인		
본인은 본 대상자에 대한 해당 검사를 책임없이 실시하고 세심히 관찰하였으며, 본 공래기록서에 기록된 모든 정보가 정확함을 확인합니다.		
인체적용시험 책임자 서명 (시험책임자의 위임을 받은자)		
<div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div>		
서명일	년 YYYY	월 MM 일 DD

Protocol No.	Visit 3	Random No.	Initials	Page
GSO-1	6주 ± 7일	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	15

### Visit 3

#### 투여 6주 + 7일 (42일, Week 6)

1. 활력징후
2. 병용약물 확인
3. 이상반응 평가
4. 실험실직 검사
5. 임신검사
6. IP 처방 및 교부
7. IP 반납 및 복용순응도 조사

Protocol No.	Visit 3	Random No.	Initials	Page
GSO-1	6주 ± 7일	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	16

<b>방문일</b>	방문일을 기록하여 주십시오. 년 YYYY 월 MM 일 DD
------------	-------------------------------------

<b>활력징후 (Vital Sign)</b>	혈압(mmHg)	수축기(SBP)	[ ][ ][ ][ ]	이완기(DBP)	[ ][ ][ ][ ]
	맥 박(beats/min)		[ ][ ][ ][ ]		
	체온(°C)		[ ][ ][ ][ ]		
* 맥박은 5분간 모든 자세로 안정을 취한 후 측정하며, 각 방문 시마다 같은 자세에서 측정합니다.					

<b>병용 약물 확인</b>	지난 방문 이후 복용한 약물 또는 현재 복용중인 약물이 있습니까? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes → '병용약물' 3page 에 자세한 사항을 기재하십시오.
-----------------	---

<b>이상반응 (Adverse Events)</b>	대상자가 지난 방문 이후에 이상반응이 있었습니까? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes → '이상반응' 32page 에 자세한 사항을 기재하십시오.
	대상자가 지난 방문 이후에 중대한 이상반응이 있었습니까? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes → 24시간 이내에 보고하십시오.

<b>임신여부 검사(Pregnancy)</b>	<input type="checkbox"/> NA ▶ 임신 계획여부(기간)와 경희일 이후 2년 이상의 여성. 최후경 출생일을 통한 기밀기 여부는 'NA'에 해당
검사 제외일	년 YYYY 월 MM 일 DD
검사 결과	<input type="checkbox"/> Negative <input type="checkbox"/> Positive

Protocol No.	Visit 3	Random No.	Initials	Page
GSO-1	6주 ± 7일	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	19

**실험실적 검사 (Laboratory test)** hD

검체 채취일 [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yyyy/mm/dd

**혈액학 검사(Hematology)** 재검  없음  있음 ( [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yy/mm/dd)

항목	참고치	검사지	재검지	Normal			소견
				Yes	NCS	CS	
WBC	3.5-10.0 x10 <sup>9</sup> /μL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
RBC	M 4.50-6.50 x10 <sup>12</sup> /μL F 4.00-6.00 x10 <sup>12</sup> /μL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemoglobin	M 13.0-17.0 g/dL F 12.0-16.0 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hematocrit	M 39.0-52.0 % F 36.0-48.0 %			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Platelet	150-400 x10 <sup>3</sup> /μL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**혈액화학검사(Blood Chemistry)** 재검  없음  있음 ( [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yy/mm/dd)

ALP	104-335 IU/L			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total bilirubin	0.2-1.2 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total protein	5.8-8.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Albumin	3.5-5.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total cholesterol	130-220 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Triglyceride	50-150 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
HDL cholesterol	35-88 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
LDL cholesterol	140 이하 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
BUN	8-20 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Creatinine	M 0.8-1.2 mg/dL F 0.6-0.9 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Uric acid	M 3.0-8.3 mg/dL F 2.0-6.8 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	70-110 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**소변검사(Urine Analysis)** 재검  없음  있음 ( [ ][ ][ ][ ][ ][ ] yy/mm/dd)

Specific gravity	1.000-1.030			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
pH	5.0-8.0			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Protein	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
BloodRBC	0-5/HPF			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
WBC	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

\* 실험실 검사가 재확인해야 하는 날에는 공복상태(최소 전 8시간 이내)에 물을 제외한 음료수나 음식 섭취를 일시적으로 중단하십시오.  
1. 재검지가 기록된 경우 재검지에 의해 검사 여부를 표기하고 NCS/CS 판단하여 표기하십시오.  
2. Abnormal CS 인 경우 소견란에 기록하십시오.

Protocol No.	Visit 3	Random No.	Initials	Page
GSO-1	6주 ± 7일	R [ ][ ][ ][ ]	[ ][ ][ ][ ]	19

**순용도 평가** hD

만남일 [ ][ ][ ][ ][ ][ ] 년 YYYY 월 MM 일 DD

복용 시작 일	[ ][ ][ ][ ][ ][ ] <sup>month</sup>	복용 일수	[ ][ ][ ][ ][ ][ ]
복용 중단 일	[ ][ ][ ][ ][ ][ ] <sup>month</sup>		
적당한 시험식품/대조식품 수	[ ][ ][ ][ ][ ][ ]	순용도(%)	[ ][ ][ ][ ][ ][ ]
반달한 시험식품/대조식품 수	[ ][ ][ ][ ][ ][ ]		
복용한 시험식품/대조식품 수	[ ][ ][ ][ ][ ][ ]	복용한 시험식품/대조식품 수 - 적당함 수 - 반달한 수/만남 수	
복용해야 할 시험식품/대조식품 수	[ ][ ][ ][ ][ ][ ]	복용해야 할 시험식품/대조식품 수 - 복용 일수 × 당일 복용량 (mg/d)	
순용도(%) =	복용한 식품의 수 / 복용해야 할 식품의 수 × 100	⇒ 순용도는 20% 이하 재검되어야 하며 가장	
대장자가 복용하지 않은 시험식품/대조식품을 모두 반달하였습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 (→ '대니오'의 경우 아래에 기재하십시오.) 미만날 시험식품/대조식품 수 [ ][ ][ ][ ][ ][ ] 미만날 사유: _____		

소견: \_\_\_\_\_

**시험식품/대조식품 적당**

시험식품/대조식품 적당 되었습니까?  Yes  No  
⇒ 상기 질문의 '대니오'의 경우 그 사유를 기재하십시오.

시험식품/대조식품 적당일 [ ][ ][ ][ ][ ][ ] 년 YYYY 월 MM 일 DD

**인체적용시험 시험자 확인**

본인은 본 대상자에 대한 해당 검사를 책임없이 실시하고 세심히 관찰하였으며, 본 결과기록서에 기록된 모든 정보가 정확함을 확인합니다.

인체적용시험 책임자 서명 (시험책임자의 위임을 받은자)  
서명일 [ ][ ][ ][ ][ ][ ] 년 YYYY 월 MM 일 DD

Protocol No.	Visit 4	Random No.	Initials	Page
GSO-1	12주 ± 7일	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	20

Visit 4     조기종료

투여 12주 ± 7일 (84일, Week 12)

1. 신체검사
2. 활력징후
3. 이학적 검사
4. 생활습관 조사(음주만)
5. 병용 약물 조사
6. 이상반응 평가
7. 임신 검사
8. 실험실적 검사
9. 순응도 평가

Protocol No.	Visit 4	Random No.	Initials	Page
GSO-1	12주 ± 7일	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	21

**방문일**  
방문일을 기록하여 주십시오.      년 월 일

**신체검사**  
체 중       kg  
신 장       cm (최대치 사용)  
\*체중은 시험기간 중 동일한 동일한 체중계를 사용합니다.

**활력징후 (Vital Sign)**  
혈압(mmHg)      수축기(SBP)  이완기(DBP)   
맥 박(beat/min)        
체온(°C)      .  
\* 맥박은 5분간 같은 자세로 안정을 취한 후 측정하며, 각 항목 시작이 끝난 후에 측정합니다.

**이학적 검사**  
방문 당시 어떤 비정상 내용이었습니까?      Yes    No

No.	분류 번호	비정상 내용	임상적 의미	
1	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
2	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
3	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
4	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS

▶ 소 결 :  
\* 분류번호의 기원은 아래의 표를 참고하여 기재하고 검사결과 비정상일때도 분류하고 대상자로 선정하고자 할 경우 소견만  
에 그 사유를 기록하십시오

**표. 분류번호 - 이학적 검사**

01 General appearance	06 Heart/Circulation	11 Neurological/Psychiatric
02 Skin and Mucosae	07 Abdomen	12 Heart/Circulation
03 HEDVT	08 Renal/Uroinary	13 Extremities
04 Breast	09 Rectal	14 Musculoskeletal
05 Lung	10 Lymph nodes	15 Other

Protocol No.	Visit 4	Random No.	Initials	Page
G50-1	12주 ± 7일	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	22

생활습관 조사(동주만)			
음주 여부(평문 1)		음주 습관 변화(평문 4)	
보통으로 마신다 (소주 360ml 1/2 병 이하/주)	<input type="checkbox"/>	시험참여 전과 동일	<input type="checkbox"/>
많이 마신다 (소주 360ml 1/2 병 초과/주)	<input type="checkbox"/>	시험 참여 전보다 더 많이 마신다	<input type="checkbox"/>
		시험 참여 전보다 덜 마신다	<input type="checkbox"/>

병용 약물 확인	
지난 방문 이후 복용한 약물 또는 현재 복용중인 약물이 있습니까?	
<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes * "복용약물" 31page 에 자세한 사항을 기재하십시오.

이상반응 (Adverse Events) 평가	
대상자가 지난 방문 이후에 이상반응이 있었습니까?	
<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes or "이상반응" 32page 에 자세한 사항을 기재하십시오.
대상자가 지난 방문 이후에 중대한 이상반응이 있었습니까?	
<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes * "위험과이익"에 34 시간 이내에 보고하십시오.

임신검사(Pregnancy)	
<input type="checkbox"/> NA	* 임신 계획유무에 대한 정보 및 이후 2년 이상에 임신, 조산, 출생중독을 받은 기질기 여성은 74%에 해당
검사 채취일	<input type="text"/> 년 <input type="text"/> 월 <input type="text"/> 일 <input type="text"/> 오전
검사 결과	<input type="checkbox"/> Negative <input type="checkbox"/> Positive

Protocol No.	Visit 4	Random No.	Initials	Page
G50-1	12주 ± 7일	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	23

실험실적 검사 (Laboratory test) <input type="checkbox"/> NO							
검사 채취일 <input type="text"/> 년 <input type="text"/> 월 <input type="text"/> 일 <input type="text"/> 오전 <input type="text"/> 시 <input type="text"/> 분							
혈액학 검사(Hematology) 재검 <input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음 ( <input type="text"/> 년 <input type="text"/> 월 <input type="text"/> 일 ) yy/mm/dd							
항목	참고치	검사지	재검지	Normal	Abnormal		수검
				Yes	NCS	CS	
WBC	3.5-10.0 x10 <sup>9</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
RBC	M 4.50-6.50 x10 <sup>12</sup> /uL F 4.00-6.00 x10 <sup>12</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemoglobin	M 13.0-17.0 g/dL F 12.0-16.0 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hematocrit	M 39.0-52.0 % F 36.0-48.0 %			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Platelet	150-400 x10 <sup>9</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
혈액화학검사(Blood Chemistry) 재검 <input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음 ( <input type="text"/> 년 <input type="text"/> 월 <input type="text"/> 일 ) yy/mm/dd							
ALP	104-338 IU/L			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total bilirubin	0.2-1.2 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total Protein	5.8-8.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Albumin	3.8-5.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total cholesterol	130-220 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Triglyceride	50-150 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
LDL cholesterol	35-55 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
LDL cholesterol	140 이하 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
SUN	8-20 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Creatinine	M 0.8-1.2 mg/dL F 0.6-0.9 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Uric acid	M 3.0-8.3 mg/dL F 2.0-8.3 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	70-110 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
소변검사(Urine Analysis) 재검 <input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음 ( <input type="text"/> 년 <input type="text"/> 월 <input type="text"/> 일 ) yy/mm/dd							
Specific gravity	1.000-1.030			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
pH	5.0-8.0			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Protein	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Blood/RBC	0-5/HPF			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
WBC				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
* 임상실 검사자 계획되어 있는 날짜는 유해성(태반)은 한 8시간 이내에 물을 제외한 음료수나 음식 섭취로 일시적으로 영향을 받을 수 있습니다.							
1. 재검지가 계획된 경우 재검지에 의해 정상여부를 표기하고 INCLCS 판독하여 표기하십시오.							
2. Abnormal CS 및 경우 소변만에 기록하십시오.							

Protocol No.	Visit 4	Random No.	Initials	Page
GSO-1	12 주 ± 7 일	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	24

순응도 평가		□ IND	
만남일 <input type="text"/>			
년 YYYY    월 MM    일 DD			
복용 시작 일	<input type="text"/>	복용 일수	<input type="text"/>
복용 중단 일	<input type="text"/>		
적당한 시험식물/대조식물 수	<input type="text"/>	순응도(%)	<input type="text"/>
반납한 시험식물/대조식물 수	<input type="text"/>		
복용한 시험식물/대조식물 수	<input type="text"/>	복용한 시험식물/대조식물 수 적당한 수 - 반납한 수 - 리턴된 수	
복용해야 할 시험식물/대조식물 수	<input type="text"/>	복용해야 할 시험식물/대조식물 수 복용 일수 * 일일 복용량 (g/cap)	
순응도(%) = $\frac{\text{복용한 식물의 수}}{\text{복용해야 할 식물의 수}} \times 100$ → 순응도는 소수 첫째 자리에서 반올림하여 기재			
대상자가 복용하지 않은 시험식물/대조식물을 모두 반납하였습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 (→ "아니오"인 경우 아래에 기재하십시오) 미반납 시험식물/대조식물 수: <input type="text"/> 미반납 사유: _____		
소견:			

인체적용시험 시험자 확인
본인은 본 대상자에 대한 해당 검사를 빠짐없이 실시하고 세심히 관찰하였으며, 본 증거기록서에 기록된 모든 정보가 정확함을 확인합니다.
인체적용시험 책임자 서명 (시험책임자의 위임을 받은자)
서명일 <input type="text"/>
년 YYYY    월 MM    일 DD

Protocol No.	추가방문/ 추적조사	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S <input type="text"/>	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	25

추가방문(필요시)

추적조사(필요시)

1. 활력징후
2. 이학적 검사
3. 병용약물 확인
4. 이상반응 평가
5. 임신 검사
6. 실험실적 검사

Protocol No.	추가방문	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S <input type="text"/>	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	26

방문일

년 YYYY    월 MM    일 DD

방문사유

Comments

**인체작용시험 시험자 확인**

본인은 상기 내용에 대해 모두 검토/확인하였습니다.

인체작용시험 책임자 서명  
(시험책임자의 위임을 받은자)

서명일

년 YYYY    월 MM    일 DD

Protocol No.	추가방문	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S <input type="text"/>	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	26

방문일

년 YYYY    월 MM    일 DD

방문사유

Comments

**인체작용시험 시험자 확인**

본인은 상기 내용에 대해 모두 검토/확인하였습니다.

인체작용시험 책임자 서명  
(시험책임자의 위임을 받은자)

서명일

년 YYYY    월 MM    일 DD

Protocol No.	추적조사	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S [ ][ ] [ ][ ]	R [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ]	28

**임산검사(Pregnancy)**

NA ▶ 임신 확인여부(자궁 경리일 이후 1년 이상) 여부, 최종적 분임수용을 위한 기밀이 유출된 NA에 해당

검사 재취일 [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]  
 년 YYYY 월 MM 일 DD

검사 결과  Negative  Positive

**이학적 검사**

방문 당시 어떤 비정상적 내용이 있습니까?  Yes  No

No.	분류 번호	비정상 내용	임상적 의미	
1	[ ][ ]		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
2	[ ][ ]		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
3	[ ][ ]		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS
4	[ ][ ]		<input type="checkbox"/> NCS	<input type="checkbox"/> CS

▶ 소견 \_\_\_\_\_

→ 분류번호의 기호는 이학적 표를 참고하여 기재하고 검사결과 비정상적에도 불구하고 대상자로 선정하고자 할 경우 소견란에 그 사유를 기록하십시오.

**표. 분류번호 - 이학적 검사**

01	General appearance	06	Heart/Circulation	11	Neurological/ Psychiatric
02	Skin and Mucosae	07	Abdomen	12	Heart/Circulation
03	HEENT	08	Renal/ Genitourinary	13	Extremities
04	Breast	09	Rectal	14	Musculoskeletal
05	Lung	10	Lymph nodes	15	Others

Protocol No.	추가분류/ 추적조사	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S [ ][ ] [ ][ ]	R [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ]	29

**실험실적 검사 (Laboratory test)**  ND

검사 재취일 [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]  
 yyyy/mm/dd

**혈액학 검사(Hematology)** 재검  없음  있음 ( [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] yy/mm/dd)

항목	참조치	검사지	재검지	Normal			소견
				Yes	NCS	CS	
WBC	3.5-10.0 x10 <sup>3</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
RBC	M 4.50-5.50 x10 <sup>6</sup> /uL F 4.00-5.00 x10 <sup>6</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemoglobin	M 13.0-17.0 g/dL F 12.0-16.0 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Hemogoblin	M 39.0-52.0 % F 36.0-48.0 %			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Platelet	150-400 x10 <sup>3</sup> /uL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**혈액화학검사(Blood Chemistry)** 재검  없음  있음 ( [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] yy/mm/dd)

항목	참조치	검사지	재검지	Normal			소견
				Yes	NCS	CS	
ALP	104-388 U/L			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total bilirubin	0.2-1.2 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total Protein	6.8-8.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Albumin	3.8-5.1 g/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Total cholesterol	120-220 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Triglyceride	50-150 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
HDL cholesterol	35-88 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
LDL cholesterol	140 이하 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
BUN	8-20 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Creatinine	M 0.8-1.2 mg/dL F 0.6-0.9 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Uric acid	M 3.0-8.3 mg/dL F 2.0-6.8 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	70-110 mg/dL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**소변검사(Urine Analysis)** 재검  없음  있음 ( [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] yy/mm/dd)

항목	참조치	검사지	재검지	Yes	NCS	CS	소견
Specific gravity	1.000-1.030			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
pH	5.0-8.0			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Protein	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Glucose	-			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Blood/RBC	0-5/HPF			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
WBC				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

\* 실험실 검사가 계획되어 있는 날에는 공복상태(최소 전 8시간 이내)에 방문 예정인 경우(우선) 음식 금기로 실시기관을 방문하도록 교육하십시오.

1. 재검지가 기록된 경우 재검지에 의해 임상예수를 표기하고 NCS/CS 반영하여 표기하십시오.
2. Abnormal CS 인 경우 소견란에 기록하십시오.

Protocol No.	추가방문/ 추적조사	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSD-1		S <input type="text"/>	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	30

인체적용시험 시험자 확인	
본인은 본 대상자에 대한 해당 검사를 빠짐없이 실시하고 세심히 관찰하였으며, 본 종래기록서에 기록된 모든 정보가 정확함을 확인합니다.	
인체적용시험 책임자 서명 (시험책임자의 위임을 받은자)	
서명일	<input type="text"/>
	년 YYYY 월 MM 일 DD

Protocol No.	병용약물 이상반응	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSD-1		S <input type="text"/>	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	31

■ 선행/병용약물

■ 이상반응

Protocol No.	실험/병용 약물	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S [ ][ ] [ ][ ]	R [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ]	32-

실험/병용 약물							
시험전(4 주 이내) 및 임상적용시험기간 동안 복용한 약물이 있습니까? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes (→ 병용약물이 있다면 <b>표시</b> 하시고 세부항목을 기재하십시오.)							
No.	약물명	1 일 복용량 (용량/빈도)	경로	복용기간(yy/mm/dd)		지속여부 Y N	복용 목적
				시작일	종료일		
1				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
2				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
3				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
4				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
5				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
6				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
7				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
8				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
9				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
10				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
11				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
12				[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
1. 경로: ID = intradermal, SL = sublingual, I = intralésional, PO = oral, PR = per rectum, SC = subcutaneous, TD = transdermal, IM = intramuscular, TO = topical, IV = intravenous, PV = per vagina, OT = other, IH = inhalation. 2. 지속여부: "yes"로 체크한 경우 종료일은 "-"로 표기하십시오. 3. 복용 목적: 용해, 보충 및 위호로 기입하지 않고, 해당 기재항목을 일치하여 기입하십시오. 예) 해열제->진기, 투여목적은 진기용 기입하십시오. Comment:							

주가 병용약물 페이지 있음

Protocol No.	이상반응	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S [ ][ ] [ ][ ]	R [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ]	33-

이상반응			
유의한 이상반응이 있었습니까? <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes (→ 이상반응이 있다면 <b>표시</b> 하시고 세부항목을 기재하십시오.)			
항목	Events 1	Events 2	Events 3
증상 및 증상	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]	[ ][ ] [ ][ ] [ ][ ]
발현일	yy mm dd	yy mm dd	yy mm dd
소멸일	yy mm dd	yy mm dd	yy mm dd
이상반응 정도	<input type="checkbox"/> 경도 <input type="checkbox"/> 중등도 <input type="checkbox"/> 중증	<input type="checkbox"/> 경도 <input type="checkbox"/> 중등도 <input type="checkbox"/> 중증	<input type="checkbox"/> 경도 <input type="checkbox"/> 중등도 <input type="checkbox"/> 중증
복구 방법	<input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 약물 <input type="checkbox"/> 관찰 <input type="checkbox"/> 약물적 보고	<input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 약물 <input type="checkbox"/> 관찰 <input type="checkbox"/> 약물적 보고	<input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 약물 <input type="checkbox"/> 관찰 <input type="checkbox"/> 약물적 보고
S A E	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes (SAE 보고서 작성)	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes (SAE 보고서 작성)	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Yes (SAE 보고서 작성)
일상생활	<input type="checkbox"/> 방해의 정도가 없다고 생각됨 <input type="checkbox"/> 중간 정도 방해 있음 <input type="checkbox"/> 방해의 정도가 심함	<input type="checkbox"/> 방해의 정도가 없다고 생각됨 <input type="checkbox"/> 중간 정도 방해 있음 <input type="checkbox"/> 방해의 정도가 심함	<input type="checkbox"/> 방해의 정도가 없다고 생각됨 <input type="checkbox"/> 중간 정도 방해 있음 <input type="checkbox"/> 방해의 정도가 심함
예측 여부	<input type="checkbox"/> 예측된 이상반응 <input type="checkbox"/> 예측하지 못한 이상반응	<input type="checkbox"/> 예측된 이상반응 <input type="checkbox"/> 예측하지 못한 이상반응	<input type="checkbox"/> 예측된 이상반응 <input type="checkbox"/> 예측하지 못한 이상반응
이상반응	<input type="checkbox"/> 원래의 조치 없음 <input type="checkbox"/> 임상시험종전까지 회복 보행 변경/일시적 중단	<input type="checkbox"/> 원래의 조치 없음 <input type="checkbox"/> 임상시험종전까지 회복 보행 변경/일시적 중단	<input type="checkbox"/> 원래의 조치 없음 <input type="checkbox"/> 임상시험종전까지 회복 보행 변경/일시적 중단
치적	<input type="checkbox"/> 임상시험종전까지 회복 중단 <input type="checkbox"/> 치료의 필요성 없음 <input type="checkbox"/> 비약물 치료 <input type="checkbox"/> 약물/입원 기간 연장 <input type="checkbox"/> 기타	<input type="checkbox"/> 임상시험종전까지 회복 중단 <input type="checkbox"/> 치료의 필요성 없음 <input type="checkbox"/> 비약물 치료 <input type="checkbox"/> 약물/입원 기간 연장 <input type="checkbox"/> 기타	<input type="checkbox"/> 임상시험종전까지 회복 중단 <input type="checkbox"/> 치료의 필요성 없음 <input type="checkbox"/> 비약물 치료 <input type="checkbox"/> 약물/입원 기간 연장 <input type="checkbox"/> 기타
이상반응 결과	<input type="checkbox"/> 이상반응 회복 후유증 없음 <input type="checkbox"/> 이상반응 회복 후유증 있음 <input type="checkbox"/> 이상반응 지속, 치료 진행 없음 <input type="checkbox"/> 이상반응 지속, 치료 진행 있음 <input type="checkbox"/> 사망 <input type="checkbox"/> 추적관찰 실패	<input type="checkbox"/> 이상반응 회복 후유증 없음 <input type="checkbox"/> 이상반응 회복 후유증 있음 <input type="checkbox"/> 이상반응 지속, 치료 진행 없음 <input type="checkbox"/> 이상반응 지속, 치료 진행 있음 <input type="checkbox"/> 사망 <input type="checkbox"/> 추적관찰 실패	<input type="checkbox"/> 이상반응 회복 후유증 없음 <input type="checkbox"/> 이상반응 회복 후유증 있음 <input type="checkbox"/> 이상반응 지속, 치료 진행 없음 <input type="checkbox"/> 이상반응 지속, 치료 진행 있음 <input type="checkbox"/> 사망 <input type="checkbox"/> 추적관찰 실패
* 이상반응이 지속되는 경우 소실일엔 "-"로 표기하십시오.			
본인은 본 대상자에게 발생한 모든 이상반응을 확인하였습니다.			
시험자 서명		날짜: [ ][ ] [ ][ ] [ ][ ] yy/mm/dd	

주가 이상반응 페이지 있음

Protocol No.	인체적용 시험종료	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S <input type="text"/>	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	34

## 인체적용시험 종료

Protocol No.	인체적용 시험 종료	Screening No.	Random No.	Initials	Page
GSO-1		S <input type="text"/>	R <input type="text"/>	<input type="text"/>	35

**Study Termination**

본 대상자가 시험계획에 따라 시험이 끝까지 완료되었습니까?

예 → 완료일: 년 월 일

아니요 → 아래에 자세한 기입해 주십시오.

> 종료일: 년 월 일

> 종료일 이유

<input type="checkbox"/> 대상자 선정기준/제외기준 위반	<input type="checkbox"/> 추적조사 실패
<input type="checkbox"/> 이상반응/병발질환	<input type="checkbox"/> 사망
<input type="checkbox"/> 효과부족	<input type="checkbox"/> 기타
<input type="checkbox"/> 치료거부/동의철회/연락두절	사유 <input type="text"/>
<input type="checkbox"/> 인체적용시험계획서위반	

**이중눈가림 해제 여부**

없음

있음 ▶ 아래에 기입해 주십시오.

이중 눈가림 해제 날짜: 년 월 일

이중 눈가림 해제 사유:

**인체적용시험책임자 확인**

본인은 본 대상자에 대한 해당 검사를 책임없이 실시하고 세심히 관찰하였으며, 본 열거기록서에 기록된 모든 정보가 정확함을 확인합니다.

인체적용시험 책임자 서명

서명일: 년 월 일

3. 시험약 표지

본 제품은 “인체적용시험용” 임	
1. 제품명: GSO 또는 위약 2. 원재료 및 함량(500 mg 중): 인삼종자오일 500 mg 또는 옥수수유 500 mg	대상자 번호
3. 제조번호: GSO16-1 또는 GSO16-2	
4. 내용량: 500 mg/연질캡셀, 294 연질캡셀/병	
5. 사용기한: 2018년 05월 10일 까지	
6. 저장방법: 직사광선 및 고온 다습한 곳을 피하고 서늘한 곳에서 실온 보관	
7. 복용법: <u>1일 2회, 아침·저녁 식사직전에 2캡셀씩 (하루 총 4캡셀) 드십시오.</u>	
8. 인체적용시험계획승인을 받은 자의 상호와 주소: 고연(高研), 충북 제천시 세명로 65 세명창업보육센터 112	
본 제품은 인체적용시험 이외의 목적으로 사용할 수 없음	

[별첨 1] 인체적용시험계획서 서명 페이지(연구자)

인체적용시험계획서 서명 페이지

인체적용시험계획서 제목: 경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일 (GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가 하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험

인체적용시험계획서 번호 및 버전: GSO-1 Version1.0(2016.05.17)

인체적용시험용 식품: GSO 또는 대조식품(위약)

본 시험 의뢰자는 아래에 서명함으로써, 본 인체적용시험계획서에 서술된 내용에 따라 인체적용시험을 진행할 것에 동의합니다.

인체적용시험 실시기관: 세명대학교부속 충주 한방병원

시험책임자: 서명 \_\_\_\_\_

일 시: / /

[별첨 2] 인체적용시험 실시기관 및 인체적용시험 관련 담당자 연락처

1. 인체적용시험 관련 연락처

본 인체적용시험 수행과 관련된 의문사항이 있을 경우, 아래의 연락처로 문의하십시오:

세명대학교부속충주한방병원	한의학과		
충북홍삼영농조합법인	의뢰자 (담당자)		
(주)파마크로	CRO		

2. 인체적용시험 실시기관

인체적용시험 실시기관	주소
세명대학교부속충주한방병원	충북 충주시 상방 4길 63

3. 인체적용시험 의뢰자

기관명: 충북홍삼영농조합법인  
주소: 충북 음성군 금왕읍 선정로 97번길 55

4. 인체적용시험 수탁기관

(주)파마크로, 대표이사 김남식  
서울특별시 서초구 강남대로 275 강남메인타워 11층

5. 인체적용시험 책임자, 시험담당자 및 관리약사, 연구간호사

직명	소속	성명	직명
시험책임자	세명대학교 충주한방병원		부교수
시험담당자	세명대학교 충주한방병원		전문수련의
관리약사	세명대학교 충주한방병원		한약사
연구간호사	세명대학교 충주한방병원		연구간호사

## 시험대상자설명서

인체적용시험의 제목	경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험
시험계획서 번호	GSO-1
의뢰자	충북홍삼영농조합법인
시험 책임자	한의학과 / 전화번호:
인체적용시험 실시기관	세명대학교부속충주한방병원, 충북 충주시 상방 4길 63 전화:

다음 내용은 본 인체적용시험의 목적, 절차, 이익, 위험성, 불편, 및 주의사항에 대한 것입니다. 또한, 여기에는 귀하가 사용할 수 있는 대체 절차 및 어느 때라도 연구를 중단할 수 있는 귀하의 권리에 대해 설명하고 있습니다.

본 설명서를 주의 깊게 읽어 주십시오. 귀하가 갖고 있는 모든 질문을 할 수 있는 충분한 시간을 가지십시오. 그리고 가족과 친지 및 주위 분들과 상의를 하십시오. 연구담당자는 귀하가 명확히 이해하지 못하는 모든 단어 혹은 정보에 대해 설명해 드릴 것입니다.

### 1. 인체적용시험 목적 및 방법

본 인체적용시험은 경증 간 기능 저하 대상자에서 인체적용시험용 식품인 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 연구목적으로 시행되며 GSO(인삼종자오일) 또는 대조식품(위약)을 복용하게 됩니다. 시험기간은 총 12주간 시행되며 본원에서만 시행됩니다. 이 시험에 참여하게 될 대상자 수는 60명입니다. 연구 참여 시 병원 방문 횟수는 4회이며, 각 방문당 소요 시간은 약 1시간 내외입니다.

### 2. 인체적용시험 실시 배경

인삼의 사포닌 성분은 간세포의 단백질 합성과 간세포의 재생을 촉진하는 작용이 있습니다. 사포닌성분은 실험적으로 여러 가지 간 독성 물질로 야기되는 간 세포의 괴사 등 조직학적 병변을 경감시키고 간의 독성대사에 관여하는 효소(Epoxide hydratase, glutathione transferase, epoxide hydroxylase)를 활성화시켜 간장 장애를 개선, 예방하는 효과가 있습니다.

한양대 의대 구국회 교수는 바이러스 B형 간염환자를 대상으로 한 임상시험에서 인삼투여가 식욕, 소화상태, 두통, 오심, 구토 등의 자각증상의 개선 효과 및 급성간염의 조기 회복 촉진과 만성화 예방에 도움을 준다고 보고하였습니다.

일본 Nissei 병원 Yamamoto 박사는 만성간염(바이러스 C형)환자에 대해서도 인삼투여가 간 기능의 생화학적 지표 개선에 유용성이 있고, 한방제제인 소시호탕과 병용 시 보다 개선효과가 촉진되었다고 보고하였습니다. 또한, 인삼 사포닌 성분은 알코올 대사에 관여하는 알코올 분해효소(alcohol dehydrogenase), 아세트알데히드 분해효소(acetaldehyde dehydrogenase)의 활성을 증가시켜 알코올 섭취로 야기되는 유해한 작용을 경감시켜 알코올 독성에 예방적 효과를 나타냅니다. 실제로 사람을 대상으로 실시한 시험에서

도 술을 마신 후 40분이 경과하였을 때, 혈중 알코올 농도가 술만 마신 사람(0.18%)에 비하여 인삼 엑기스와 술을 함께 마신 경우(0.11 %)가 훨씬 낮다는 사실이 입증되었습니다. 그러므로 본 시험의 목적은 경증 간 기능 저하 대상자에게 GSO(인삼종자오일)를 복용하게 하여 간 기능 개선 효과 및 안전성 여부를 확인하려고 합니다.

### 3. 인체적용시험용 식품

인체적용시험용 식품은 12 주간 매일 아침, 저녁 식사 직전 3캡셀(연질캡셀)씩 1일 2회, 총 6캡셀을 복용하여야 합니다. 하루 분량의 식품에는 인삼종자오일(GSO) 또는 대조식품(위약)이 들어있습니다. 6주간 매일 6캡셀의 식품을 복용하십시오(1병에는 7일간의 여유 분량이 포함되어 있습니다.). 가능하면 직사광선 및 고온 다습한 곳을 피해 서늘한 곳에서 실온 보관하시고 6주간 복용하고 남은 식품은 그대로 보관하여 6주, 12주 방문 시에 연구담당자에게 반납하여 합니다.

### 4. 시험과정

본 인체적용시험은 만 19세 이상 만 70세 미만의 남성 및 여성으로 경증 간 기능 저하 대상자를 대상으로 진행하게 됩니다.

먼저 참여 이전에 본 설명서를 모두 읽고 이해한 후 동의서에 서명하신 후에 모든 검사 및 절차가 시행될 것입니다. 제일 먼저 생년월일, 나이 인구학적 조사를 한 후 매 방문 시 귀하의 건강상태를 평가하기 위해 혈압, 맥박수를 측정합니다. 또한 귀하는 본인이 복용하고 있는 모든 약물에 대해 변경된 사항이 있는지에 대한 질문을 받게 됩니다.

**첫 번째 방문(방문 1)**에서는 귀하가 본 인체적용시험에 참가하기에 적합한지 평가하기 위해 활력징후(혈압/맥박수) 등의 기본적인 건강상태를 평가하고 현재까지의 모든 병력(수술 포함) 및 현재 복용하고 있거나 과거 복용하였던 약물이 있는지에 대한 질문을 받게 됩니다. 전반적인 건강을 점검하기 위해 8시간 공복 상태에서의 혈액 검체에 대한 검사가 시행됩니다(팔에 있는 정맥으로부터 바늘을 이용하여 약 1스푼에 해당하는 최대 10ml의 혈액을 채취합니다. 채취된 검체는 본 연구 외의 다른 용도로는 사용되지 않을 것이며, 검사 후 바로 폐기됩니다.). 임신가능성이 있는 대상자의 경우 임신검사를 시행하게 됩니다. 연구담당자는 행해진 모든 검사 및 평가를 검토하여 귀하가 본 인체적용시험에 참여하는 것이 적합한지 선정/제외 기준을 토대로 결정하게 됩니다. 귀하의 연구담당자가 귀하가 이 시험을 지속하는 데 적합하지 않다고 결정하는 경우에는, 귀하에게 그 이유를 설명하여 줄 것입니다. 선정/제외기준을 토대로 적합하다고 판정된 대상자는 2주 이내에 두 번째 방문을 진행하게 됩니다.

**두 번째 방문(방문 2)**에서는 귀하의 신체검사, 활력징후(혈압/맥박)를 기록하고 방문 1 이후에 약물 투여를 하였는지에 대한 질문을 받게 됩니다. 또한, 전반적인 건강을 점검하기 위해 8시간 공복상태에서의 혈액 검체에 대한 검사가 시행됩니다. 임신가능성이 있는 대상자의 경우 임신검사를 시행하게 되며, 흡연과 음주여부, 운동 및 식이습관에 관해서 질문 받게 됩니다. 방문 2에서 선정/제외기준을 최종 확인한 후 무작위로 배정된 순서에 의해 1:1로 시험군 또는 대조군(위약군)으로 배정되며, 인체적용시험용 식품을 교부받아 6주간 복용하게 될 것입니다.

**세 번째 방문(방문 3)**에서는 방문 2로부터 6주 후 방문을 하여 귀하의 신체검사, 활력징후(혈압/맥박)를 기록하고 방문 2 이후에 약물 투여를 하였는지 여부를 조사하게 됩니다. 전반적인 건강을 점검하기 위해 공복상태에서의 혈액 검체에 대한 검사가 시행되며, 임신가능성이 있는 대상자의 경우 임신검사를 시행하

게 됩니다. 방문 3에서는 지난 방문 이후 이상반응이 있었는지 확인하게 되며 지난 방문에 수령한 인체적용시험용 식품의- 남은 식품은 반납 하셔야 하고, 인체적용시험용 식품을 재교부 받아 6주간 복용하게 될 것입니다. 이 때에 재교부되는 인체적용시험용 식품은 방문 2에 배정된 군과 동일하며 시험군 및 대조군(위약군)에 해당하는 식품이 교부 됩니다.

**네 번째 방문(방문 4)**에서는 방문 3으로부터 6주후 방문을 하여 귀하의 신체검사, 활력징후(혈압/맥박)을 기록하고 방문 3 이후에 약물 투여를 하였는지 조사하고 전반적인 건강을 점검하기 위해 8시간 공복상태에서의 혈액 검체에 대한 검사가 시행됩니다. 임신가능성이 있는 대상자의 경우 임신검사를 시행하게 됩니다. 흡연과 음주여부, 운동 및 식이습관에 관해서 질문 받게 됩니다. 방문 4에서는 지난 방문 이후 이상반응이 있었는지 확인하게 되며 지난 방문에 수령한 인체적용시험용 식품의 남은 식품은 반납 하셔야 합니다. 종료방문(12주)에 이상반응이 있거나 연구담당자 판단 하에 추적조사가 필요한 경우는 추가적으로 방문을 할 수도 있습니다.

## 5. 무작위배정, 이중눈가림, 대조식품(위약)사용

이 연구는 무작위배정, 이중눈가림으로 진행되며 대조식품(위약)을 사용합니다. 아래 내용은 귀하가 본 인체적용시험에 참여할 경우 중요하게 고려하셔야 할 내용이므로 자세히 읽어보시고 이해되지 않는 부분이 있다면 언제든지 질문하시기 바랍니다.

### - 무작위배정

귀하가 본 인체적용시험에 참여할 경우, 귀하는 GSO(인삼종자오일)를 복용하는 시험군 또는 대조식품(위약)을 복용하는 대조군으로 배정됩니다. 무작위 배정의 목적은 각 군의 배정에 연구진의 주관이나 개입되지 않고, 각 군에 대해 수집된 정보를 신뢰성 있게 비교하기 위함입니다. 귀하가 각 군에 배정될 확률은 1/2입니다.

### - 이중눈가림

이 인체적용시험은 이중눈가림으로 진행됩니다. 이중눈가림이란 귀하와 귀하의 연구담당자 모두 시험이 끝날 때까지 귀하가 어떤 시험식품을 복용하고 있는지 알지 못함을 의미합니다. 이는 인체적용시험 결과가 대조식품(위약)이나 특정시험식품의 효과에 의해 영향을 받거나 편향되는 것을 예방하고, 인체적용시험용 식품의 객관적인 유효성을 평가하기 위한 것입니다. 하지만 응급상황이 발생하면 귀하가 복용하는 식품을 파악하여 적절한 조치를 받으실 수 있습니다.

### - 대조식품(위약)

이 시험에 사용되는 대조식품(위약)은 인체적용시험용 식품과 모양과 크기, 색깔이 동일하지만 활성 성분이 없는 식품입니다. 대조군(위약군)은 인체적용시험에서 나타난 결과가 우연히 일어난 것이 아님을 확인하기 위해 사용합니다. 인체적용시험용 식품이 작용하는 방식과 그 부작용을 적절히 평가할 수 있으려면 대조군(위약군)과의 비교가 필수적입니다.

## 6. 대상자가 준수하여야 할 사항

시험기간 중 연구담당자와 상의하지 않은 다른 약품을 복용하거나 다른 요법이나 처치를 받아서는 안됩니다. 인체적용시험용 식품 투여 기간 중 이상반응이 발생하는 경우 식품과의 연관성의 유무에 상관없이 증상을 보고해야 하며 시험이 끝난 후에도 이상반응이 발생하는 경우 연구담당자에게 전화로 연락을 취해, 인체적용시험용 식품과의 연관성을 확인하도록 합니다. **방문 전 24 시간 동안 금주하여야 하며, 24 시간**

**이내에 음주 시 방문일정을 다시 잡고 방문하여야 합니다.** 또한 시험 참여기간 중에는 음주를 하지 않도록 주의 해 주셔야 합니다. 시험에 참여하는 동안 연구담당자와 상호 협조해야 하고 시험과 관련한 모든 문서나 그 외의 지침사항을 준수해야 하며, 다른 시험에는 참여해서는 안됩니다. 임신부, 수유부, 또는 시험 기간 중에 임신계획을 가지고 있는 여성은 이 시험에 참여할 수 없습니다.

인체적용시험용 식품은 연구 중인 식품이므로 가정에 돌아가 가족들에게 본 식품을 복용하게 하여서는 안됩니다. 인체적용시험에 참여하시는 동안 복용하는 인체적용시험용 식품을 어린이 또는 인체적용시험용 식품의 잠재적 위험을 평가할 능력이 없는 사람이 볼 수 없고, 이들의 손이 닿지 않는 안전한 장소에 보관하시기 바랍니다.

#### **. 병용약물(함께 복용하는 약물)**

인체적용시험용 식품 복용 외에 일반약 또는 운동요법, 식이요법 등은 금기항목이 아닌 경우 필요하다면 허용할 수 있습니다. 단, 연구담당자의 판단에 따라 간 기능에 영향을 미칠 수 있는 약물은 복용 할 수 없으며, 인체적용시험 기간 중 병용 약물은 연구담당자에게 알려주어야 합니다.

### **8. 예상되는 위험이나 불편**

본 연구에 참여하는 동안, 귀하는 아래에 나열된 부작용과 그 밖에 예측하지 못한 부작용을 경험 할 위험이 있습니다. 부작용은 사람에 따라 다양하며, 귀하는 이들 부작용을 모두 또는 일부를 경험하거나 전혀 경험하지 않을 수도 있습니다. 귀하가 부작용을 경험한다면, 귀하의 연구담당자에게 알려서 귀하의 고통을 치료하거나 귀하가 경험한 불편을 해소하기 위해 다른 약물을 제공받으실 수 있습니다. 귀하의 연구담당자는 인체적용시험용 식품의 복용여부를 일시 중단할 수 있습니다. 또한, 인체적용시험용 식품에 대한 중증 반응이 발생하는 경우, 귀하의 연구담당자가 귀하의 인체적용시험 참여를 영구적으로 중단시킬 수 있습니다.

GSO(인삼종자오일)의 과복용으로 발생할 수 있는 부작용은 알레르기, 속쓰림, 호흡곤란, 두통, 복통 등이 있습니다. 또한, 이 식품의 투여로 발적(충혈되어 붉어짐), 두드러기, 다른 알레르기 반응이 나타나는 경우 즉시 연구담당자와 상의하여야 합니다.

### **9. 본 인체적용시험에 참여함으로써 얻을 수 있는 이익**

본 시험에 참여함으로써 간 기능 개선에 도움이 될 수 있습니다. 귀하의 간 기능 개선 가능성을 포함하여 본 인체적용시험 결과가 향후 다른 대상자들을 위한 새로운 치료법이나 건강기능식품 개발에 도움을 줄 수 있습니다.

### **10. 대체약물 및 치료**

시험식품이 아닌 다른 대체약물 또는 치료법이 귀하에게 더 적합할 수도 있습니다. 치료 방법에 대해서는 언제든지 연구담당자와 자유롭게 논의 할 수 있습니다.

### **11. 윤리적 측면**

본 시험에 참여하는 동안 인체적용시험에서 인간의 권리에 대한 헬싱키 선언에서 설명하고 있는 권리가 있습니다. 전문을 받기를 원하는 경우에는 사본을 제공받을 수 있습니다. 본 시험은 식품의약품안전처 의약품임상시험관리기준에 의거하여 실시하게 됩니다.

## 12. 개인정보 및 비밀보장

귀하가 본 인체적용시험에 참여하실 경우, 귀하의 건강에 대한 개인정보를 연구담당자가 수집하여 기록할 것입니다. 수집되는 정보는 귀하의 이름, 주소, 전화번호, 생년월일, 새로운 의무기록과 이미 존재하는 의무기록 또는 각종 검사와 절차의 형태, 날짜, 결과와 같은 귀하의 신원을 밝히는데 사용될 수 있는 정보입니다. 이런 정보에는 귀하의 의무기록에 있는 정보 그리고 인체적용시험 중에 만들어지거나 수집되는 정보가 포함될 수 있습니다. 하지만 인체적용시험 기관 외부로 보내지는 귀하의 모든 정보는 코드 번호와 이니셜로 처리 될 것이며, 이 정보가 귀하에 대한 정보임을 알아볼 수 없을 것입니다.

귀하에게 배정된 번호와 귀하의 이름을 연결시키는 것을 가능하게 해주는 코드 목록을 보관하는 것은 귀하의 연구담당자의 책임입니다. 응급 시에 귀하를 식별하여 귀하에게 연락할 수 있도록 이 목록을 안전한 곳에 보관할 것입니다. 이 인체적용시험과 관련된 자료는 인체적용시험 완료일로부터 3년간 병원에서 보관하게 됩니다. 귀하는 개인정보제공 동의를 거부할 권리가 있으며, 동의 거부 시 따르는 불이익은 없습니다. 다만 이 인체적용시험에 참여하실 수 없습니다.

또한, 인체적용시험의 결과가 출판될 경우에도 귀하의 신상정보는 비밀상태로 유지될 것입니다.

## 13. 신원에 대한 기밀 유지

본 인체적용시험에 참여한 대상자의 모든 개인적인 정보는 비밀이며, 어느 누구에 의해서도 개인적인 목적으로 사용되지 않을 것입니다. 다만, 의학적인 목적, 허가 목적 혹은 법적으로 요구될 경우에만 충북홍삼영농조합법인, 임상시험심사위원회, 식품의약품안전처장은 대상자의 비밀보장을 침해하지 않고 관련규정이 정하는 범위 안에서 인체적용시험의 실시 절차와 자료의 신뢰성을 검증하기 위해 귀하의 의무기록을 직접 열람할 수 있습니다. 귀하가 동의서 서식에 서명하는 것은 이러한 자료의 직접열람을 허용함을 의미합니다.

## 14. 참여 동의 철회 및 질문할 수 있는 권리

귀하는 본 시험과 관련되어 알려져 있거나 가능성이 있는 위험성에 대해서 언제라도 질문할 권리가 있으며, 귀하의 안전과 관련된 중요한, 인체적용시험 지속참여에 영향을 줄 수 있는 새로운 정보가 입수되었을 때는 적시에 귀하에게 알려줄 것입니다. 본 인체적용시험과 관련하여 질문사항이 있을 경우 아래의 연락처로 연구담당자에게 연락하십시오. 귀하는 언제라도 본 인체적용시험의 참여동의를 철회할 수 있으며 귀하를 위해 필요하다고 판단이 될 경우, 예를 들어 본 인체적용시험용 식품을 복용한 후 이상반응 혹은 중대한 이상반응이 발생하였을 시 연구담당자가 귀하의 동의 없이도 인체적용시험에서 귀하를 제외시킬 것입니다. 귀하가 본 동의서에 서명하더라도 대상자의 권리가 침해 되는 것은 아닙니다. 귀하가 이 시험으로부터 자의적으로 혹은 연구담당자의 요청에 의해 인체적용시험에서 제외된 경우 투여하지 않은 인체적용시험용 식품은 모두 반환하여야 하며 인체적용시험용 식품에 대한 이상반응 등에 대한 질문을 받을 것입니다. 또한 연구담당자가 필요하다고 판단되는 신체검진 및 임상실험실 검사에 협조해 줄 것을 요청 받을 것입니다.

## 15. 피해 발생시 보상 및 치료 대책

연구기간 중 의료진은 귀하의 안전에 만전을 기할 것이며 예측 가능한 이상반응을 포함한 중대한 이상반응의 발생시는 신속하고 적절한 조치를 취하여 가능한 그 이상반응을 최소화할 것이며 본 식품을 복용하

는 도중 발생하는 어떠한 이상반응이라도 즉시 적절한 치료를 받을 수 있습니다. 본 인체적용시험에 의한 피해가 발생할 경우에는 인체적용시험보험에 가입하여 인체적용시험 의뢰자인 충북홍삼영농조합법인에서 법적인 책임을 부담하여 피해보상 할 것입니다. 충북홍삼영농조합법인 및 세명대학교부속충주한방병원은 본 시험에 참여함으로써 귀하가 손해를 입고 또한 그 피해가 본 시험에 참여한 것과 연관이 있다고 밝혀진다면 가입된 보험을 통하여 이를 보상해줄 것입니다. 더 자세한 정보는 연구담당자로부터 얻을 수 있을 것입니다.

#### 16. 발생하는 비용 및 인체적용시험 참여에 대한 사례

본 인체적용시험의 참여로 인하여 발생하는 모든 시험식품, 검사, 진찰료 등이 의뢰자 부담으로 제공될 것입니다. 그러나 인체적용시험과 무관한 치료를 위해 이용한 약제나 치료에 대한 비용은 귀하께서 부담하셔야 합니다. 본 인체적용시험에 참여시 시험식품인 GSO(인삼종자오일) 또는 대조식품(위약)과 여러 가지 검사를 제공받을 것입니다. 또한 본 연구에 참여 시 총 4회의 방문이 있으며, 매 방문 시 소정의 교통비 5만 원을 제공할 것입니다. 그러나, 대상자 선정에 적합하지 않아 임상시험에 참여하지 못하는 대상자께서는 해당 방문의 검사항목까지만 혜택을 드립니다. 연구참여로 인하여 귀하가 추가적으로 부담해야 할 비용은 없습니다.

#### 17. 자의에 의한 참여

본 인체적용시험에 참여하는 것은 자의에 의한 것이며 만일 참가에 동의하지 않더라도 추후의 치료에 전혀 불이익을 받지 않습니다. 연구기간 중 언제든지 본 인체적용시험에의 참여를 중단할 수 있으며 이로 인해 다음 치료에 어떠한 불이익도 받지 않을 것입니다. 간 기능 관련 약 복용이 필요한 경우 언제든지 인체적용시험을 중단 할 수 있습니다. 귀하가 동의서에 서명하더라도 대상자의 권리가 침해 되는 것은 아닙니다.

귀하의 안전을 위하여 시험의 중단을 원하신다면 연구담당자에게 알리고 그 시기가 언제이던 간에 귀하의 안전보장을 위한 필요한 검사를 위해 시험종료 방문을 하게 됩니다.

방문 시 복용하고 남아있는 모든 식품을 용기와 함께 연구담당자에게 반드시 반납하셔야 합니다.

귀하에게는 서명된 본 동의서와 설명서의 사본을 받을 권리가 있습니다. 귀하 또는 귀하의 대리인에게 대상자설명서 및 귀하가 서명한 대상자동의서 사본 한 부가 제공됩니다.

#### 18. 문의

귀하는 동의서에 서명하기 전에 귀하가 이해하지 못하는 부분이 있다면 질문을 해야 합니다. 연구진은 인체적용시험 참여 전, 인체적용시험 기간 동안 및 인체적용시험 종료 후에 언제든지 질문에 답할 것입니다. 만일, 본 시험에 대한 질문이 있거나, 정보를 원한다면 주저하지 말고 아래로 연락 주시기 바랍니다.

시 험 책 임 자:

연락처:

연 구 한 의 사:

연락처:

시험대상자동의서

다음의 사항이 사실일 때 표기 및 서명하십시오

1. 본 시험에 대한 정보가 들어있는 대상자 설명서를 제공 받았으며 내용을 충분히 이해하였습니다.	<input type="checkbox"/>
2. 본인은 연구담당자로부터 본 인체적용시험의 목적과 구체적인 방법, 예상되는 효과 및 부작용 등에 대해 자세하게 설명을 듣고, 궁금한 사항이 있으면 질문을 하였으며 적절한 답변을 들었습니다.	<input type="checkbox"/>
3. 본인은 인체적용시험 외의 다른 치료를 받아야 하거나 이 연구계획서에 따르지 않을 경우, 기타 인체적용시험 대상자 선정기준에서 제외되는 경우에 이 인체적용시험에 참여할 수 없다는 것을 알고 있습니다.	<input type="checkbox"/>
4. 본 시험에 대한 충분한 정보를 얻었습니다.	<input type="checkbox"/>
5. 본 시험을 중단하고 싶을 때는 시기에 상관없이, 특별한 이유 없이도 사후의 진료상 불이익 없이 자유롭게 중단할 수 있음을 이해하였습니다.	<input type="checkbox"/>
6. 본인의 동의서와 기타 기록들이 인체적용시험 담당자에게 제공될 수 있으며 관계기관 또는 임상시험심사위원회, 점검을 실시하는 자에 의해 검토될 수 있으나, 이들 모든 기록은 절대비밀로 유지될 것이며 대상자의 신원이 확인될 수 있는 형태로는 공개되지 않는다는 것에 동의합니다.	<input type="checkbox"/>
7. 본 시험과 관련이 없는 의사가 처방해 준 약물에 어떠한 변화가 있거나 또는 처방전 없이 구입한 약물을 투여한 경우 연구담당자에게 알려야 함을 알고 있습니다.	<input type="checkbox"/>
8. 본 시험에 참여할 것을 자유의사에 의해 동의합니다.	<input type="checkbox"/>
9. 본인은 서명된 본 동의서의 사본 1부 및 설명서를 수령합니다.	<input type="checkbox"/>
10. 본인은 시험대상자의 질문에 대한 대답이 완벽하게 이루어지지 않는 한, 서명하지 않아도 된다는 사실을 알고 있습니다.	<input type="checkbox"/>
11. 본인은 인체적용시험을 위한 개인 정보 수집의 필요성에 대해 충분히 설명을 듣고 이해하였으며, 개인정보보호법 등에 의해 보호되고 있는 나의 각종 정보자료를 세명대학교부속충주한방병원이 이 인체적용시험을 위해 활용 및 제공하는 것에 대해 동의합니다.	<input type="checkbox"/>

시험대상자		
_____ / _____ / _____		
대상자 성명	서명	서명일

## 별첨 41 피해자 보상에 대한 규약

### 피해자 보상규약

시험의뢰자인 충북홍삼영농조합법인은 시험실시기관에서 본 시험계획서에 따라 충실히 시험을 수행하였고 다음 사항에 적합할 경우, 본 인체적용시험의 시험제품이나 절차로 인해 직·간접적으로 시험대상자에게 야기된 손상을 책임진다.

1. 합의된 시험계획서에 따라 시험제품이 투여된 경우 충북홍삼영농조합법인으로부터 공급된 인체적용시험용 식품에 의한 피해  
(단, 시험계획서를 준수하지 않았거나 대상자의 부주의로 인한 손상의 경우 제외)
2. 인체적용시험책임자(담당자)의 명백한 태만이나 의도적 또는 중대한 과실이 인정되지 않은 피해
3. 예기치 않은 반응의 결과 합법적으로 요구되는 치료 또는 진단방법의 결과 발생한 피해
4. 인체적용시험과 관련하여 발생한 손상 및 피해 중에서 충북홍삼영농조합법인이 인체적용시험용 식품과의 인과관계가 없음을 입증하지 못하는 경우

인체적용시험 의뢰자, 시험책임자, 시험담당자는 피해자가 본 시험에 의해 어떠한 불이익이라도 받지 않도록 관계법규와 시험계획서의 내용을 충실히 준수하는 등 최선을 다해야 한다. 이러한 노력에도 불구하고 시험제품이나 인체적용시험 절차로 인해 직·간접적으로 대상자에게 건강상의 피해가 발생했을 경우 연구자는 즉시 필요한 조치를 취함과 동시에 인체적용시험 의뢰자에게 보고하여 대상자의 안전을 최대한 확보할 수 있도록 해야 한다.

### 보상평가 기준

1. 보상수준은 손상의 본질, 그 정도, 지속성 여부 등에 적절한 액수여야 하며, 대한민국의 법정에 의해 유사 손상들에 대해 일반적으로 지급되는 것과 동일해야 한다.
2. 보상수준에 대해서 대상자와 충북홍삼영농조합법인 사이에 이견이 있을 경우, 양자가 수용할 수 있는 전문가의 자문을 구하여야 한다.

충북홍삼영농조합법인은 위의 여러 제반 내용을 참고하여 대상자가 본 시험으로 불이익을 받지 않도록 주의하며, 만약 본 시험으로 문제점이 발생된 경우 피해자 보상규약에 의거 책임질 것을 서약합니다.

년 월 일

충북홍삼영농조합법인 (인)

## 별첨 5) 인체적용시험용 제품 복용지도

### 인체적용시험용 제품 복용지도

#### 섭취시기

1일 2회 아침, 저녁 식사 직전 3연질캡셀씩 복용하도록 합니다. 가급적 식사 직전에 섭취하도록 합니다.

#### 섭취방법

식사 직전에 충분한 물과 함께 섭취하는 것을 권장합니다.

#### 섭취 시 주의사항

일일 정해진 용법, 용량 대로 섭취하십시오.

임산부나 수유부의 복용을 금합니다.

#### 시험제품의 보관

- 직사광선 및 고온 다습한 곳을 피하고 서늘한 곳에서 실온 보관하십시오.
- 어린이들의 손이 닿지 않는 곳에 보관하십시오.

## 별첨 6. 대상자 모집 공고문

### ◀ 인체적용시험 지원자 모집 공고 ▶

세명대학교부속충주한방병원에서는 상기 인체적용시험을 위한 지원자를 아래와 같이 모집합니다.

#### 1. 인체적용시험제목 및 목적

경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자유(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험

#### 2. 인체적용시험 대상자

= 만 19세 이상 만 70세 미만의 건강한 성인으로 간 기능이 손상되어 자각증상과 생화학적 소견을 가지고 있는 대상자

#### 3. 참여방법

= 본 인체적용시험에 참여를 원하시는 경우 연구에 대한 자세한 설명을 듣고 서면 동의하시게 됩니다.

= 혈액검사, 소변검사, 신체검사, 이학적 검사를 실시하여 인체적용시험에 적합하다고 판단되면 참여 가능합니다.

#### 4. 참여시 제공되는 사항

= 본 인체적용시험의 참여로 인하여 발생하는 모든 시험식품, 검사, 진찰료 등은 무료로 제공될 것입니다.

= 인체적용시험 참여로 인하여 발생하는 시간 손실 및 불편함에 대하여 소정의 사례비가 지급됩니다.

#### 5. 인체적용시험 예상 대상자 수 및 기간

본 인체적용시험은 세명대학교부속충주한방병원에서 진행되며 총 60명의 지원자를 모집할 것입니다.

각 대상자 별로 총 14주(스크리닝 2주, 인체적용시험약 투여 후 12주)간 총 4회 내원하게 됩니다.

#### 6. 지원방법

세명대학교 충주한방병원 한방여성의학과 연구담당 한의사 또는 간호사로 전화하십시오.

세명대학교 충주한방병원

충북 충주시 상방 4길 63

○ 인삼종자오일의 인체적용 시험결과

경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일 기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험  
(A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Intervention Study of the Efficacy and Safety of “GSO” in Liver function decreased healthy subjects)

\* 요약

인 체 적 용 시 험 명 칭	경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험	
인 체 적 용 시 험 책 임 자	세명대학교부속충주한방병원 한방부인과 교수	
인 체 적 용 시 험 실 시 기 관	세명대학교부속충주한방병원	충청북도 충주시 상방 4길 63
인체적용시험의 목적	경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)를 복용한 후 간 기능 개선효과 등의 기능성 및 안전성을 평가하고자 하였다	
시 험 설 계	단일기관, 무작위 배정, 이중 눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험	
대 상 자 수	총 64예 [2군, 최종 평가가능 예수 군당 24예, 20% 내외 탈락을 고려 시]	
연 구 대 상	만 19 세 이상 만 70 세 미만의 건강한 성인으로 간 기능이 손상되어자각증상과 생화학적 소견을 가지고 있는 대상자	
선 정 기 준	<u>선정기준</u> (대상자들은 다음의 모든 기준에 적합하여야 하였다) 1) 만 19세 이상 만 70세 미만의 건강한 성인 남녀 2) 2주 이상 AST 수치가 25 IU/L 이상인 자 3) 본 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 들은 후 자의로 참여를 결정하고 동의서에 서명한 대상자	
제 외 기 준	<u>제외기준</u> (다음 조건에 하나라도 해당되는 대상자는 본 연구에 참여할 수 없었다) 1) 인삼 류나 천연물에 과민증 또는 그 병력이 있는 대상자 2) 3개월 이내 간 기능 관련 약물, 건강기능식품을 복용 중인 대상자 3) 간염보균자 급성간염환자 및 간경화의 징후가 인정되거나 지방간으로 진단되어 약물 등 치료중인 대상자 4) 황달, 담석 등 담도계 질환자 또는 심한 간 기능 장애(ALT, AST 중 정상 상한치의 3배 이상)이거나 특정 질환, 약물, 간염 및 간경화에 의한 간 기능 장애 대상자 5) 조절되지 않는 고혈압(sitSBP > 140mmHg 또는 sitDBP >90mmHg)이거나 조절되지 않는 당뇨(HbA1c ≥ 9%) 환자 6) 스크리닝 1년 이내에 임상적으로 유의한 신경계 질환(뇌졸중 등), 심혈관 질환(허혈성 심질환 및 심부전 등의 심장질환, 항응고제 복용 및 혈소판 또는 혈액응고인자 이상 등의 혈액학적 이상), 호흡기 질환 (만성 폐쇄성 폐질환, 폐렴, 폐결핵 등의 감염성 폐질환 등)의 병력이 있는 자 7) 스크리닝 6개월 이내의 위장관의 출혈이 있거나 소화성 궤양, 염증성 장	

	<p>질환(크론병 또는 궤양성 장염 등)의 병력이 있는 자</p> <p>8) 주요 위장관 수술의 병력이 있는 자(총수절제술을 제외한 위절제, 위장관 우회술 또는 문합술 등)</p> <p>9) 스크리닝 5년 내 암 진단 및 치료 받은 적이 있거나 치료 중인 대상자</p> <p>10) 율혈성 신부전 및 심한 신기능 장애(serum creatinine &gt; 2.0 mg/dl)가 있는 대상자</p> <p>11) 신경 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 앓고 있는 대상자 (우울증, 정신분열증, 간질, 약물중독, 거식증, 이상식욕항진 등)</p> <p>12) 인체적용시험 중 결과에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 약물(해열진통제 및 비스테로이드성 소염진통제, 항결핵제, 항생제나 항진균제)을 지속적으로 복용해야 하는 자</p> <p>13) 최근 4주 이내에 경구용 스테로이드, 호르몬제, 또는 식품의 흡수, 대사, 배설에 영향을 주는 약물이나 간 기능에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경험이 있거나 기타 임상시험에 참여한 경험이 있는 대상자</p> <p>14) 임신부, 수유부 및 가임여성으로 참여기간 동안 임신 및 수유의 계획이 있는 대상자</p> <p>15) 연구자 소견으로 볼 때, 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되거나 기타 의사가 부적합하다고 판단되는 대상자</p>
시 험 제 품	시험군: 인삼종자오일(GSO)
대 조 제 품	대조제품(위약)
투 여 방 법 및 투 여 기 간	인체적용시험용 식품을 아침, 저녁 총 2회 식사 직전에 2연질캡셀씩 하루 4연질캡셀을 복용
시 험 기 간	IRB 최초 승인일로부터 12개월
평 가 방 법	<p><b>기능성평가</b></p> <p>① 1차 기능성 평가 (Primary endpoint):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- AST 수치의 감소치</li> </ul> <p>② 2차 기능성 평가 (Secondary endpoint):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ALT 수치의 감소치 및 개선율</li> <li>- AST 수치의 개선율</li> <li>- TG 수치의 감소치 및 개선율</li> <li>- γ-GT 수치의 감소치 및 개선율</li> <li>- Lipid profiles의 감소치 및 개선율</li> </ul> <p><b>안전성 (safety)</b></p> <p>인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 중, 복용 12주 후에 실험실적 검사 및 활력징후 측정, 이학적 검사를 실시하였고 연구기간 내내 이상반응을 평가하였다. 이상반응이 없는 경우라면, 추적 방문 검사로 방문을 종료하였다</p>
병 용 금 기 약 물	인체적용시험 중 결과에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 약물로 마약성 및 비마약성 소염/진통제, 경구 및 주사제를 포함한 스테로이드제제, 간 건강에 도움을 주는 건강기능식품, 호르몬 제제, Antineoplastic 제제, 항우울제, 항정신성 의약품, 기타 간 기능 개선, 지방간 개선, 간보호 등을 목적으로 하는

약물, 한방치료(침, 부황, 뜸), 이외의 연구자 판단에 따른 약물의 흡수, 대사 또는 배설에 영향을 줄 수 있는 약물은 시험기간 동안 병용 할 수 없었다.

1. 마약성 및 비마약성 소염/진통제

(단, aspirin은 1일 최대 투여량 300mg까지 허용, 또한 일과성 치료를 목적으로 한 소염/진통제는 7일 이내의 간헐적 투여가 가능하나 시험 방문 전 3일 내의 투여는 금지.)

① 마약성 진통제

Codeine phosphate, Tramadol hydrochloride 등

② 경구용 소염/진통제:

Salicylates류(aspirin), Acetaminophen, 경구용 NSAIDs(Naproxen, Ibuprofen), COX-2 억제제(Celecoxib, Aceclofenac)

③ 국소용 소염/진통제

국소용 NSAIDs(Diclofenac sodium), 패치제를 포함한 기타 국소용제 (Capsaicin)

2. 경구 및 주사제를 포함한 스테로이드제제

Prednisolone, methylprednisolone, dexamethasone, hydrocortisone, betamethasone 등

3. 간 건강에 도움을 주는 건강기능식품

밀크씨슬(카르두스마리아누스)추출물, 표고버섯균사체추출물, 표고버섯균사체, 도라지추출물, 강황 추출물, 브로콜리 스프라우트 분말, 유산균발효다시 마추출물, 복분자 추출분말, 발효울금, 헛개나무과병 추출물 성분을 포함한 간 기능 개선 건강기능식품 및 제품

4. 호르몬 제제

성장 호르몬제제, 테스토스테론, 호르몬 대체 요법(hormone replacement therapy), 에스트로겐, 프로게스테론 제제, 갑상선호르몬 제제 등

(단, 연구자 의 판단에 따라 인체적용시험 참여 이전 3개월 전부터 안정된 용량으로 복용하고 있으며, 인체적용시험 동안 용량 및 용법이 변경될 가능성이 없는 경우는 허용)

5. Antineoplastic 제제

Methotrexate, Tamoxifen 등 모든 antineoplastic 제제

6. 항우울제, 항정신성 의약품

① 항우울제

삼환계 항우울제(Imipramine, Amitriptyline), MAO 억제약 (phenelzine), SSRIs(Fluoxetine, Escitalopram), Trazodone 등

② 항정신성 의약품

Chlorpromazine, Thioridazine, Haloperidol, Clozapine, Olanzapine, Risperidone, Quetiapine 등

7. 기타 간 기능 개선, 지방간 개선, 간 보호 등을 목적으로 하는 약물, 한방 치료(침, 부황, 뜸) 등

8. 이외의 연구자 판단에 따른 약물의 흡수, 대사 또는 배설에 영향을 줄 수 있는 약물

	<p>연구자의 판단에 따라 인체적용시험 기간 중 병용금지 약물의 사용이 필요한 경우에는 해당 대상자의 인체적용시험을 중단해야 했으며, 증례기록서의 마지막 페이지에 이와 관련하여 자세히 기록하여야 했다. 또한 시험기간 중 환자들의 알코올 섭취는 강력히 금지되었으며, 알코올을 섭취하였을 경우 해당기관 임상연구담당자에게 연락하도록 하였다. 정기적으로 환자들에게 알코올 섭취에 대해 질문을 하고, 이에 대한 적절한 소견을 CRF에 기록하였다</p>
<p>결 과</p>	<p>경증 간 기능 저하 대상자, 즉, 만 19세 이상 만 70세 미만의 건강한 성인으로 간 기능이 손상되어 자각증상과 2주 이상 AST 수치가 25 IU/L 이상의 대상자에서 인삼종자오일(GSO)을 하루 2그램 12주간 복용한 후 간 기능 개선효과 등의 기능성 및 안전성을 평가하고자 실시한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험이었다. 총 167명이 스크리닝을 진행하여 대부분 2주이상 AST 수치가 25 IU/L 이상 유지 되지 않아 103명이 스크리닝 탈락하였고 64명이 무작위배정되어 시험군 33명 대조군 31명 등록 되었다. 시험군에서 등록 후 시험식품 복용하지 않은 1명을 제외하고 4명이 중도 탈락 하였으며, 대조군에서는 중도탈락 4명 완료 27명이었다. 본 인체적용시험의 일차 기능성 평가 변수는 인체적용시험용 식품 복용 전(V2) 대비 복용 12주 (V4) 후 시점에서의 AST 수치의 감소치이며, 위약에 비해 시험약이 우월한지를 입증하는 것이었다. FA 군의 인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 AST 수치 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 AST 수치는 시험군의 경우 <math>34.15 \pm 6.09</math>, 대조군의 경우 <math>31.15 \pm 6.09</math>로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 AST 수치는 시험군의 경우 <math>37.44 \pm 21.92</math>, 대조군의 경우 <math>29.30 \pm 8.13</math>으로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저: p-value = 0.0479, 종료:p-value = 0.0676) 각 군 내 AST 수치 감소치는 시험군의 경우 <math>3.30 \pm 18.83</math>으로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우 <math>-1.85 \pm 6.51</math>로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 AST 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. PP군의 분석 결과를 살펴보면, 각 군 내 AST 수치 감소치는 시험군의 경우 <math>2.60 \pm 21.28</math>로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우 <math>-2.82 \pm 6.05</math>로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 결과적으로 일차 변수인 AST 수치의 감소치가 위약에 비해 시험식품이 우월한지를 입증하는 것은 보여주지 못하였다. ALT 수치의 경우 FA 군의 분석 결과, 식품 복용 전 ALT 수치는 시험군의 경우 <math>39.19 \pm 17.01</math>, 대조군의 경우 <math>33.70 \pm 11.20</math>으로 두 군간에 통계적으로유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 ALT 수치는 시험군의 경우 <math>42.63 \pm 27.62</math>, 대조군의 경우 <math>31.70 \pm 13.19</math>로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 각 군 내 ALT 수치 감소치는 시험군의 경우 <math>3.44 \pm 21.50</math>으로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우 <math>-2.00 \pm 9.86</math>으로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. PP군의 분석 결과를 살펴보면, 각 군내 ALT 수치 감소치는 시험군의 경우 <math>2.85 \pm 23.95</math>로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우 <math>-3.91 \pm 8.19</math>로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 또한 각 군 내</p>

ALT 수치 개선율은 시험군의 경우  $12.04 \pm 52.52$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-4.80 \pm 27.21$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. PP군의 각 군 내 ALT 수치 개선율은 시험군의 경우  $10.58 \pm 55.82$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-10.29 \pm 21.64$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. ALT 수치의 개선율의 FA분석 결과 복용 전 AST 수치는 시험군의 경우  $34.15 \pm 6.09$ , 대조군의 경우  $31.15 \pm 6.09$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 AST 수치는 시험군의 경우 시험군의 경우  $37.44 \pm 21.92$ , 대조군의 경우  $29.30 \pm 8.13$ 으로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 각 군 내AST 수치 개선율은 통계적으로 유의한 차이가 없었으나 PP분석결과 각 군 내 AST 수치 개선율은 시험군의 경우  $3.57 \pm 47.99$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-8.91 \pm 18.18$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 식품 복용 전과 복용 후 TG 수치의 감소치에서 각 군 내 TG 수치 감소치는 시험군의 경우  $13.81 \pm 117.22$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $3.00 \pm 106.41$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. TG 수치의 개선율은 통계적 차이가 없었으며, 각 군 내  $\gamma$ -GT 수치 감소치는 시험군의 경우  $-6.30 \pm 13.96$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 대조군의 경우  $-5.00 \pm 16.50$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 그러나 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 각 군 내  $\gamma$ -GT 수치 개선율은 시험군의 경우  $-9.35 \pm 23.16$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 대조군의 경우  $-10.81 \pm 24.22$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었으나 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. Lipid profiles 중에 Total cholesterol은 차이가 없었으며 각 군 내 HDL cholesterol 수치 감소치는 시험군의 경우  $-1.63 \pm 9.47$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $4.37 \pm 10.60$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었으나 군간 차이는 보여주지 못하였다. 군 내 HDL cholesterol 수치 감소치 PP분석 결과 시험군의 경우  $-3.30 \pm 9.94$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $5.00 \pm 11.52$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었고 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 있었다. LDL cholesterol 수치 감소치는 통계적 차이를 보여주지 못하였고 Lipid profiles 수치의 개선율도 각 항목의 개선수치와 비슷한 양상을 보여 주었다. 안전성 분석에서, 이상반응은 시험군에서 8명 (25.00%)의 대상자에게 총 10건이 발생하였고, 대조군에서 7명 (22.58%)의 대상자에게 총 9건이 발생하였다. 이상약물반응은 시험군에서 2명 (6.25%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였고, 대조군에서 2명 (6.45%)의 대상자에게 총 3건이 발생하였다. 중대한 이상반응은 대조군에서 1명 (6.45%)의 대상자에게 총 1건이 발생하였다. 중대한 이상반응은 피부찰과상(화상) 및 발목근육통으로 대조군에서1건이 보고되었다. 예상하지 못한 이상약물반응은 시험군에서 2명 (6.25%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였고, 대조군에서 2명 (6.45%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였다. 이상약물반응, 중대한 이상반응, 예상하지 못한 이상약물반응에 대한 군 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. 활력징후 분석 결과, 체온에서 시험군 군내에서 평균  $0.11^{\circ}\text{C}$  증가하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고, (시험군:p-value= 0.0442) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 군 간 차이

가 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 이 외에 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 활력징후 항목은 없었다. 혈액학 검사 결과 Safety군의 분석 결과를 살펴보면, 대조군의 군내에서 RBC, Hemoglobin, Hematocrit이 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (RBC: p-value = 0.0309, Hemoglobin: p-value = 0.0205, Hematocrit: p-value = 0.0385). 혈액화학 검사 결과 두 군간 비교에서 AST, Creatinine, LDL cholesterol이 통계적으로 유의한 차이가 있었고, (AST: p-value =0.0326, Creatinine: p-value =0.0496, LDL cholesterol: p-value =0.0277) 인체적용시험용 식품 복용 후 두 군간 비교에서 AST가 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (AST: p-value =0.0411) 소변 검사 결과는 각 군내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다. 혈액학 검사, 혈액화학 검사, 소변 검사의 정상/비정상 결과는 각 군 내 및 군간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다. 인삼의 사포닌 성분은 간세포의 단백질 합성과 간세포의 재생을 촉진하는 작용이 있다고 알려져 있다. 사포닌성분은 실험적으로 여러 가지 간 독성물질로 야기되는 간세포의 괴사 등 조직학적 병변을 경감시키고 간의 독성대사에 관여하는 효소(Epoxide hydratase, glutathione transferase, epoxide hydroxylase)를 활성화 시켜 간장장애를 개선, 예방하는 효과가 있다고 보고되어 왔다. 이번 인체적용시험에서는 경증 간 기능 저하 대상자, 즉, 2주 이상 AST 수치가25 IU/L 이상의 대상자에서 인삼총자오일(GSO) 하루 2그램을 12주간 복용한 후 간 기능 개선효과 등의 기능성 및 안전성을 평가하고자 실시하였으나 위약에 비하여 우월함을 보여주지 못하였다. 기능성을 보여주지 못하였으나 안전성 면에서는 12주 복용기간 동안 큰 안전성 이슈 없이 안전한 식품으로 판단된다.

\* 약어 및 용어 정의

약어 및 용어	정 의
시험의뢰자	충북홍삼영농조합법인
시험군	GSO(인삼종자오일)
대조군	Placebo, 대조제품
실험실적 검사	혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 소변검사
활력징후	체온, 혈액, 맥박수 등
ADR	Adverse Drug Reaction
AE	Adverse Events
ALT (SGPT)	Alanine Aminotransferase: GPT
ALP	Alkaline Phosphatase
AST (SGOT)	Aspartate Aminotransferase: GOT
BUN	Blood Urea Nitrogen
CRA	Clinical Research Associate (임상시험 모니터 요원)
CRF	Case Report Form
CRO	Contract Research Organization
DBP	Diastolic Blood Pressure (이완기 혈압)
FAS	Full Analysis Set
Hb	Hemoglobin
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
Hct	Hematocrit
HDL Cholesterol	High Density Lipoprotein Cholesterol
IRB	Institutional Review Board (임상시험심사위원회)
ITT	Intention To Treat
KGCP	Korean Good Clinical Practice
KKS	Korean Knee Score
NSAIDs	Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug
LDL Cholesterol	Low Density Lipoprotein Cholesterol
PP	Per Protocol
RBC	Red Blood Cell
γ-GT	Gamma-glutamyltransferase
TG	Triglyceride
Wash-out Period	약물투여 중지기간
WBC	White Blood Cell

**\* 윤리적인 고려(Ethics)**

**1. 인체적용시험관리기준(KGCP, ICH E6)**

본 계획서에 규정된 절차는 충북홍삼영농조합법인 및 시험책임자 또는 담당자가 이 시험을 실시, 평가하고 결과를 기록하는데 있어서 의약품 등의 안전에 관한 규칙 별표4 의약품 임상시험관리기준(일부개정 2016.10.28, 이하 KGCP) 및 헬싱키선언의 근본정신을 준수하여 수행하였다

**2. 인체적용시험심사위원회 (IRB) 승인**

연구자는 임상시험심사위원회로부터 인체적용시험에 대한 심사, 승인을 얻을 책임이 있었다. KGCP에 따라 연구자는 최초 허가된 계획서의 모든 중요한 변경에 대해 임상시험심사위원회의 승인을 받은 후 진행하였다.

IRB 심의	신청일	승인일	변경사유
초기심의	2016-05-13	2016-05-27	-
1차변경	2016-06-24	2016-07-01	Protocol V1.1로 변경 Protocol Apendix1 v1.1로 변경 Protocol Apendix3 v1.1로 변경
2차변경	2016-07-25	2016-07-29	Protocol v1.2로 변경 Protocol Appendix2 v1.1로 변경 CRF v1.1로 변경
3차변경	2016-11-03	2016-11-11	Protocol v2.0으로 변경 Protocol Appendix1 v1.2로 변경 Appendix2 v1.2로 변경
4차변경	2016-12-22	2016-12-30	Protocol Appendix1 v2.0으로 변경 Protocol Appendix2 v2.0으로 변경
SAE보고 Initial	2017-01-24	2017-02-03	인체적용시험 기간 중 교통사고로 인한 피부 찰과상 및 발목부위 근육통으로 타기관 입원함
5차변경	2017-02-07	2017-02-17	증례수 변경(총 60례 -> 총 64례)
6차변경	2017-03-03	2017-03-17	Protocol Appendix2 v2.1로 변경 Protocol Appendix4 v1.0 오기수정으로 인한 변경
중간보고	2017-05-08	2017-05-28	-
7차변경	2017-05-08	2017-05-28	연구기간 6개월 연장 (IRB 최초 승인일 ~ 2017년 11월 27일까지)
SAE보고 F/U	2017-06-20	2017-06-30	증상회복 및 대상자 안전성에 문제 없음을 확인하였으며 IP와 명백하게 관련없는 것으로 연구자 판단함
종료보고	2017-08-04	-	접수 요청 중

**3. 인체적용시험의 윤리적 수행 (Ethical Conduct of the Study)**

본 인체적용시험은 1964년에 제정된 헬싱키 선언과 이후 개정된 1975년 Tokyo, 1983년 Venice), 1989년 Hong Kong, 1996년 Republic of South Africa, 2000년 Edinburgh,Scotland, 2002년 DC, USA, 2004년 Tokyo, 2008년 Seoul,Korea의 헬싱키 선언의 원리에 입각한 윤리적

원칙에 따라 수행되었다.

#### 4. 대상자 동의 (Patient Information and Consent)

대상자에게 인체적용시험에 참여하기 전 연구자는 본 시험의 원리와 목적, 잠재적인 위험성에 대해 IRB 에서 승인 받은 동의 설명문에 근거한 정보를 제공 하였다. 대상자 또는 법정 대리인이 동의서에 서명을 함으로써 인체적용시험 참여에 대한 동의가 이루어졌고, 서명한 동의서의 사본 1부는 대상자 본인에게 배부하였다.

#### 5. 모니터링 (Monitoring)

인체적용시험이 KGCP기준에 따라 그리고 인체적용시험계획서에 따라 실시되는지의 여부를 확인하기 위해서 의뢰자인 고연(高研)의 의뢰를 받아 인체적용시험대행 CRO인 (주)파마크로(PharmaCRO)에 의하여 모니터링이 실시되었다. 본 시험의 모니터링 시에는 증례기록이 명확하고 완전한지 확인 및 기록원부와의 대조검토(Source Document Verification, SDV)가 수행되었고 시험책임자 또는 담당자는 어느 때든지 모니터에게 협조 하였다.

\* 시험기관 및 시험자

1. 인체적용시험 책임자 (Principal Investigator)

인체적용시험의 직명	소 속	성 명	직 명
시험책임자	세명대학교부속충주한방병원 한방부인과		교수

2. 시험 담당자 (Co-investigator / Sub-investigator)

인체적용시험의 직명	소 속	성 명	직 명
시험담당자	세명대학교부속충주한방병원 한방내과		전문수련의
	세명대학교부속충주한방병원 한방부인과		전문수련의

3. 모니터 요원 (Monitors)

(주)파마크로(PharmaCRO), [www.PharmaCRO.co.kr](http://www.PharmaCRO.co.kr)

서울특별시 서초구 서초동 강남대로 275 강남메인타워 11F

: 전화                    팩스

## 1. 서론 (INTRODUCTION)

인삼의 사포닌 성분은 간세포의 단백질 합성과 간세포의 재생을 촉진하는 작용이 있다. 사포닌 성분은 실험적으로 여러 가지 간 독성물질로 야기되는 간세포의 괴사 등 조직학적 병변을 경감시키고 간의 독성대사에 관여하는 효소(Epoxide hydratase, glutathione transferase, epoxide hydroxylase)를 활성화 시켜 간장장애를 개선, 예방하는 효과가 있다. 한양대 의대 구국희 교수는 바이러스 B형 간염환자를 대상으로 한 임상시험에서 인삼투여가 식욕, 소화상태, 두통, 오심, 구토 등의 자각증상의 개선효과 및 급성간염의 조기회복 촉진과 만성화 예방에 도움을 준다고 보고하였다. 일본 Nissei 병원 Yammamoto 박사는 만성간염(바이러스 C형) 환자에 대해서도 인삼투여가 간 기능의 생화학적 지표개선에 유용성이 있고, 한방제제인 소시호탕과 병용 시 보다 개선효과가 촉진되었다고 보고하였다. 또한, 인삼사포닌 성분은 알코올 대사에 관여하는 알코올 분해효소 (alcohol dehydrogenase), 아세트알데히드 분해효소 (acetaldehyde dehydrogenase)의 활성을 증가 시켜 알코올 섭취로 야기되는 유해한 작용을 경감시켜 알코올 독성에 예방적 효과를 나타낸다. 실제로 사람을 대상으로 한 실험에서도 술을 마신 후 40분이 경과하였을 때 혈중 알코올 농도가 술만 마신 사람(0.18%)에 비하여 인삼엑기스와 술을 함께 마신 경우(0.11 %)가 훨씬 낮다는 사실이 입증되었다.

인삼종자에는 항염, 항당뇨, 간기능개선 등 생리활성이 확인된 ginsenoside Re 가 약 1.7%의 높은 농도로 존재하는 것을 확인하였다. [Food Sci. Biotechnol. 17(6), 1379-1382, 2008]

인삼종자의 ginsenoside Re 는 물리화학적 가공에 의해서 ginsenoside Rg2 등 활성 사포닌으로 전환될 수 있다. 또한, 인삼종자에는 동맥경화, 고지혈증에 효능이 있는 것으로 알려진 불포화지방산인 oleic acid, linoleic acid 등이 고농도로 함유되어 있는 것이 본 연구진에 의해서 처음으로 확인되어서 특허(출원번호 10-2012-0122026, 출원일 2012. 10. 31)를 출원하였으며, 이를 이용한 기능성 강화 식품을 개발하고자 하였다.

## 2. 인체적용시험의 목적 (STUDY OBJECTIVE)

- 1) 본 시험의 주 목적은 경증 간 기능 저하 대상자에게 12주간 시험제품인 GSO를 아침, 저녁 식사 직전에 2연질캡슐씩 1일 2회, 총 4연질캡슐(하루 2그램)을 복용하였을 때, 간 기능 개선 등의 기능성을 평가하려는 것이었다.
- 2) 두 번째 목적은 활력징후, 이학적 검사, 임상실험실적 수치들에 대한 영향, 이상반응의 측면에서의 GSO의 안전성을 평가하려는 것이었다.

### 3. 인체적용시험의 계획 (INVESTIGATIONAL PLAN)

#### 3.1. 종합적인 시험의 고안 및 계획

본 연구는 경증 간 기능 저하 대상자에서 인삼종자오일(GSO)의 간 기능 개선 효과 및 안전성을 평가하기 위한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험으로 설계 되었다. 인체적용시험은 무작위배정 후 GSO(인삼종자오일) 또는 대조제품(위약)을 아침, 저녁 식전에 2연 질캡슐씩 1일 2회, 총 12주간 64명에게 복용하고 나서 GSO의 간 기능 개선 효과 등의 기능성 및 안전성을 연구하기 위한 인체적용시험이었다.

#### 3.2. 시험 대상자(STUDY PATIENTS)

##### 3.2.1. 선정기준

(대상자들은 다음의 모든 기준에 적합하여야했다.)

- 1) 만 19세 이상 만 70세 미만의 건강한 성인 남녀
- 2) 2주 이상 AST 수치가 25IU/L 이상인자
- 3) 본 인체적용시험에 대한 자세한 설명을 들은 후 자의로 참여를 결정하고 동의서에 서명한 대상자

##### 3.2.2. 제외기준

(다음 조건의 어느 하나라도 해당되는 대상자는 본 연구에 참여할 수 없었다.)

- 1) 인삼류나 천연물에 과민증 또는 그 병력이 있는 대상자
- 2) 3개월 이내 간 기능 관련 약물, 건강기능식품을 복용 중인 대상자
- 3) 간염보균자 급성간염환자 및 간경화의 징후가 인정되거나 지방간으로 진단되어 약물 등 치료중인 대상자
- 4) 황달, 담석 등 담도계 질환자 또는 심한 간 기능 장애(ALT, AST 중 정상 상한치의 3배 이상 이거나 특정 질환, 약물, 감염 및 간경화에 의한 간 기능 장애 대상자
- 5) 조절되지 않는 고혈압(sitSBP > 140mmHg 또는 sitDBP > 90mmHg)이거나 조절되지 않는 당뇨 (HbA1c ≥ 9%) 환자
- 6) 스크리닝 1년 이내에 임상적으로 유의한 신경계 질환(뇌졸중 등), 심혈관 질환(허혈성 심질환 및 심부전 등의 심장질환, 항응고제 복용 및 혈소판 또는 혈액응고인자 이상 등의 혈액학적 이상), 호흡기 질환 (만성 폐쇄성 폐질환, 폐렴, 폐결핵 등의 감염성 폐질환 등)의 병력이 있는 자
- 7) 스크리닝 6개월 이내의 위장관의 출혈이 있거나 소화성 궤양, 염증성 장질환(크론병 또는 궤양성 장염 등)의 병력이 있는 자
- 8) 주요 위장관 수술의 병력이 있는 자(총수절제술을 제외한 위절제, 위장관 우회술 또는 문합술 등)
- 9) 스크리닝 5년 내 암 진단 및 치료 받은 적이 있거나 치료 중인 대상자
- 10) 울혈성 신부전 및 심한 신기능 장애(serum creatinine > 2.0 mg/dl)가 있는 대상자
- 11) 신경 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 앓고 있는 대상자 (우울증, 정신분열증, 간질, 약물중독, 거식증, 이상식욕항진 등)
- 12) 인체적용시험 중 결과에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 약물(해열진통제 및 비스테로이드성 소염진통제, 항결핵제, 항생제나 항진균제)을 지속적으로 복용해야 하는 자
- 13) 최근 4주 이내에 경구용 스테로이드, 호르몬제, 또는 식품의 흡수, 대사, 배설에 영향을

주는 약물이나 간 기능에 영향을 미칠 수 있는 약물을 복용한 경험이 있거나 기타 임상시험에 참여한 경험이 있는 대상자

- 14) 임신부, 수유부 및 가임여성으로 참여기간 동안 임신 및 수유의 계획이 있는 대상자
- 15) 연구자 소견으로 볼 때, 시험의 준수사항을 따를 수 없다고 판단되거나 기타 의사가 부적합하다고 판단되는 대상자

### 3.2.3. 중지, 탈락기준

모든 대상자는 언제 어느 경우라도 특정 이유의 유무와 상관없이 중도 탈락할 수 있었으며, 중도 탈락할 경우 대상자에게 주어질 권리 등에의 어떠한 불이익 또는 이익에의 손실은 없었다.

대상자는 정해진 복용기간을 완료하기 전에 특정한 이유로 인해 중도 탈락될 수 있었다. 인체적용시험 실시기관에 다시 방문하는 것을 거절한 대상자를 제외하고, 어떠한 이유로든 복용기간 중 중도 탈락 또는 조기 종료한 모든 대상자는 **조기 종료 평가(방문4 평가항목 참조)** 항목에 기술되어 있는 평가들을 완료하도록 하였다.

대상자의 요청, 이상반응의 발생, 중대한 계획서 위반, 기타의 인체적용시험을 진행할 수 없는 경우에는 조기 종료될 수 있었다. 이때 인체적용시험책임자는 이를 모니터요원에게 구두, 전화 및 서면으로 이를 알려야 하였다. 그리고 이에 대한 기록을 증례기록지에 자세히 기록하였다.

#### 3.2.3.1. 시험자에 의해 중지, 탈락되는 경우

- 1) 선정/제외기준에 적합하지 않은 경우
- 2) 갑작스런 사고로 인하여 시험을 계속할 수 없는 경우
- 3) 대상자의 안전성에 문제를 일으킬 수 있다고 담당의사가 판단한 경우
- 4) 과도한 예측 이상반응 증상, 사망을 포함한 중대한 이상반응의 경우
- 5) 방문 계획 등에 대한 순응도: 계획된 방문일에 방문하지 않아 안전성 및 기능성 평가를 하지 못하는 경우(단, 계획된 방문일이 지났으나 여유분의 약물이 있어 제대로 복용한 경우는 제외)
- 6) 병용 금지된 약물의 투약 등 시험계획서 위반의 경우
- 7) 인체적용시험용 식품을 용법 용량대로 복용하지 않아 인체적용시험을 진행 할 수 없다고 판단될 경우
- 8) 시험 전 평가에서 발견하지 못한 증상이나 질환이 확인 된 경우
- 9) 대상자의 증상 악화로 더 이상 인체적용시험을 진행할 수 없다고 판단될 경우
- 10) 기타 인체적용시험담당자가 시험을 중지하여야 한다고 판단한 경우

#### 3.2.3.2. 대상자에 의해 중지, 탈락되는 경우

- 1) 대상자나 그 가족이 시험 중지를 요청한 경우
- 2) 이상반응 발현으로 인한 중도탈락
- 3) 인체적용시험용 식품 복용거부, 비협조, 동의 철회 등의 기타 이유로 인한 중도탈락

### 3.3. 인체적용시험용 식품의 품명, 원료제품의 분량 및 제형

#### 3.3.1. 원료제품의 분량 및 제형

##### 3.3.1.1. 시험군(시험제품)

- ① 제품명: GSO, 충북홍삼영농조합법인

② 제품성상: 갈색의 타원형 연질캡셀

③ 함량: 750mg/연질캡셀

• 하루섭취량: 아침, 저녁 식사 직전에 1회 2연질캡셀씩 1일 2회 하루 총 4연질캡셀 복용

	%	750 mg
인삼종자오일	66.7	500
돈피 젤라틴	26.5	199
글리세린	3.33	25
D-솔비톨	3.33	25
코치닐추출색소	0.07	0.5
카라멜색소	0.07	0.5

④ 저장방법: 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관

⑤ 유효기간: 2018 년 5 월 10 일

### 3.3.1.2. 위약군(대조제품)

① 제품명: GSO, 충북홍삼영농조합법인

② 제품성상: 갈색의 타원형 연질캡셀

③ 함량: 750mg/연질캡셀

• 하루 섭취량: 아침, 저녁 식사 직전에 1회 2연질캡셀씩 1일 2회 하루 총 4연질캡셀 복용

	%	750 mg	
옥수수유	66.7	500	옥수수유
돈피 젤라틴	26.5	199	돈피 젤라틴
글리세린	3.33	25	글리세린
D-솔비톨	3.33	25	D-솔비톨
코치닐추출색소	0.07	0.5	코치닐추출색소
카라멜색소	0.07	0.5	카라멜색소

④ 저장방법: 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관

⑤ 유효기간: 2018 년 월 10 일

### 3.3.2. 무작위배정

무작위 배정 코드는 의뢰사의 업무를 위임 받은 무작위 배정 코드 생성 담당자가 생성하였다. 시험군과 대조군의 비율은 1:1이며, Permuted Block Randomization 방식을 적용, SAS Proc Plan을 이용하여 무작위 배정 코드를 생성하였다.

① 연구대상으로 선정된 대상자를 확률에 의거한 무작위 배정 방법으로 각 군에 배정하였다.

② 두 군 중의 한 군에 방문일(Day 0) 순서대로 낮은 번호부터 할당되었다. 즉, 인체적용시험에 참여하는 순서대로 무작위 배정표에 따라 배정번호(Randomization Number: RN)를 부여하여 시험군 또는 대조군에 배정되도록 하였다.

③ 무작위 배정 계획에 의해 대상자에게 사용할 제품은 관리약사가 대상자에게 부여한 코드대로 인체적용시험 제품을 제공하여 처방하였다.

### 3.3.3. 이중눈가림

시험진행 중에는 연구자와 대상자 모두 각 대상자가 어느 군에 배정되어 있는지 알지 못하였으며 의학적 긴급상황이 발생하기 전까지는 이중눈가림을 해제하지 않았으며, 배정된 군의 비밀을 유지하였다. 이상 반응 등으로 이중눈가림을 해제 할 경우 시험책임자는 눈가림 해제 전에 의뢰자 또는 위임된 자에게 코드 공개의 필요성에 대한 설명과 함께 연락을 취해야 하였으며, 의뢰자는 눈가림해제가 반드시 필요한 사항인지 검토 후 눈가림해제 여부를 결정하여 결과를 시험자에게 전달하였다. 눈가림해제가 결정된 경우 의뢰자는 이를 즉시 통보 받고, 시험자는 눈가림해제일자, 시간, 사유에 대한 눈가림 해제 문서를 절차에 따라 IRB에 보고하고 기록 및 보관하였다.

### 3.3.4. 병용금지약물

다음 약물의 사용은 시험제품의 안전성 또는 기능성의 평가를 방해할 수 있었다. 따라서, 이러한 약물은 인체적용시험 종료 시까지 금지되었으며, 다음 약물을 복용하는 대상자는 인체적용시험에서 제외되어야 했다.

#### 1) 마약성 및 비마약성 소염/진통제

(단, aspirin은 1일 최대 투여량 300mg까지 허용, 또한 일과성 치료를 목적으로 한 소염/진통제는 7일 이내의 간헐적 투여가 가능하나 시험 방문 전 3일 내의 투여는 금지.)

##### ① 마약성 진통제

: Codeine phosphate, Tramadol hydrochloride 등

##### ② 경구용 소염/진통제

: Salicylates류(aspirin), Acetaminophen, 경구용 NSAIDs(Naproxen, Ibuprofen), COX-2 억제제(Celecoxib, Aceclofenac) 등

##### ③ 국소용 소염/진통제

: 국소용 NSAIDs(Diclofenac sodium), 패취제를 포함한 기타 국소용제(Capsaicin)

#### 2) 경구 및 주사제를 포함한 스테로이드제제

: Prednisolone, methylprednisolone, dexamethasone, hydrocortisone, betamethasone 등

#### 3) 간 건강에 도움을 주는 건강기능식품

:밀크씨슬(카르두스마리아누스)추출물, 표고버섯균사체추출물, 표고버섯균사체, 도라지추출물, 강황추출물, 브로콜리스프라우트분말, 유산균발효다시마추출물, 복분자추출분말, 발효율금, 헛 개나무과병추출물 성분을 포함한 간 기능 개선 건강기능식품 및 제품

#### 4) 호르몬 제제

: 성장 호르몬제제, 테스토스테론, 호르몬 대체 요법(hormone replacement therapy), 에스트로겐, 프로게스테론 제제, 갑상선호르몬 제제 등

(단, 연구자의 판단에 따라 인체적용시험 참여 이전 3개월 전부터 안정된 용량으로 복용하고 있으며, 인체적용시험 동안 용량 및 용법이 변경될 가능성이 없는 경우는 허용.)

#### 5) Antineoplastic 제제

: Methotrexate, Tamoxifen 등 모든 antineoplastic 제제

#### 6) 항우울제, 항정신성 의약품

##### ① 항우울제

: 삼환계 항우울제(Imipramine, Amitriptyline), MAO 억제약 (phenelzine), SSRIs(Fluoxetine, Escitalopram), Trazodone 등

##### ② 항정신성 의약품

: Chlorpromazine, Thioridazine, Haloperidol, Clozapine, Olanzapine, Risperidone,

Quetiapine 등

- 7) 기타 간 기능 개선, 지방간 개선, 간보호 등을 목적으로 하는 약물, 한방치료(침, 부황, 뜸) 등
- 8) 이외의 연구자 판단에 따른 약물의 흡수, 대사 또는 배설에 영향을 줄 수 있는 약물

### 3.4. 시험절차

#### 3.4.1. 인체적용시험 흐름도

<Table 1>은 시험기간 동안 검사일정을 요약한 것이다. 자세한 내용은 아래에 기술 하였다.

Table 1. 인체적용시험 흐름도

시험항목	스크리닝	복용기간			Follow up <sup>9)</sup>
	방문 1	방문 2	방문 3	방문 4	추가 방문
	-4 주 ~ 0 주	0 주(0 일)	6 주(±7 일)	-4 주 ~ 0 주	필요 시
대상자 동의	√				
인구학적 조사 <sup>1)</sup>	√				
신체검사 <sup>2)</sup>	√			√	
활력징후 <sup>3)</sup>	√	√	√	√	√
병력 및 동반질환	√				
이학적 검사	√			√	√
생활습관 조사 <sup>4)</sup>		√		√	
실험실적 검사 <sup>5)</sup>	√	√	√	√	√
임신여부 검사 <sup>6)</sup>	√	√	√	√	√
대상자 적합성 평가 <sup>7)</sup>	√	√ <sup>10)</sup>			
무작위 배정		√			
IP 처방 및 교부		√	√		
선행/병용약물 조사	√	√	√	√	√
이상반응 확인			√	√	√
IP 반납 및 복용 순응도			√	√	

- 1) 인구학적 조사: 생년월일, 성별 등을 조사하였다.
- 2) 신체검사: 신장과 체중, 신장은 신발을 벗고 cm 단위로 측정하고 방문1에서만 측정하고 체중은 시험기간 중 동일한 체중계를 사용하며 방문 1, 4에서 실시하였다.
- 3) 활력징후: 혈압, 맥박수, 체온 - 5분간 앉은 자세로 안정을 취한 후 측정하였다.
- 4) 생활습관 조사: 흡연/음주/식이/운동습관에 관하여 방문2, 4에서 실시하였다.
- 5) 실험실적 검사: 대상자는 채혈하기 전 최소 8시간 이상 금식한 상태로 내원해야 하였다.

혈액학적 검사	WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, Platelets
혈액화학적 검사	Total bilirubin, ALP, Total Protein, Albumin, AST, ALT, r-GTP, BUN, Creatinine, Glucose, Uric acid, Total cholesterol, Triglyceride, LDL, HDL
소변 검사	pH, RBC, WBC, Protein(=Albumin), Glucose, Specific gravity,
당뇨 검사	HbA1c

방문1의 실험실적 검사는 ALT, AST항목만 수행이 가능하였으며, 방문2의 실험실적 검사는 모두 시행하여 적합성 평가 확인 후 무작위배정 하도록 하였다. 단, 방문2의 실험실적 검사는 방문2 이전 7일 내에 실시한 실험실적 검사 결과가 있는 경우 검사를 별도로 시행하지 않아도 되었다. 검사 항목 중 누락된 항목이 있는 경우나 임상적으로 문제가 있는 경우에는 해당 항목에 대해서만 추가적으로 검사를 할 수 있었다.

- 6) 임신여부 검사: 불임수술 및 폐경이 확인된 대상자를 제외한 모든 가임 여성은 각 방문 시 소변 HCG 반응 검사를 통한 임신여부를 확인 하였다.
- 7) 대상자적합성 평가: 방문1과 방문2 결과 AST수치 25IU이상인지 확인 후 다른 선정 제외기준 항목을 평가하여 적합한 경우 등록하였다.
- 8) 조기 종료 시도 종료 방문과 동일한 검사 및 평가를 수행하였다.
- 9) Follow up: 시험자의 판단에 따라 시험제품 최종 복용 후 혹은 조기종료 후 비정상적인 실험실 결과, 계속되는 이상반응, 중도 탈락, 시험자 판단에 따라 추적 관찰이 필요하다고 여겨지는 경우 필요에 따라 추적 관찰을 위해 4주 이내 다시 방문하도록 하였다.
- 10) 스크리닝 탈락한 대상자에 한하여 1회에 한해 재스크리닝 가능하였으며, 재스크리닝 시 모든 인체적용시험 Procedure를 재수행 하여야 했다.

### 3.4.2. 방문 별 관찰 검사방법

#### 3.4.2.1. 방문 1: 스크리닝(-4주~0일)

인체적용시험에 들어가기 전, 시험의 목적과 내용에 대하여 대상자에게 설명하였고, 대상자의 자 유의사에 따라 서면 동의를 받은 후 스크리닝 검사를 실시하였다. 대상자의 적합성 스크리닝 검사는 개개의 대상자에 대하여 첫 복용 예정일 -4주~0일에 시행하였으며 다음 검사에 의해 임상 적으로 유의한 이상이 있는 대상자는 제외하였다.

- 1) 대상자 대상자 동의
- 2) 인구학적 조사
- 3) 신체검사
- 4) 활력징후
- 5) 선행약물 조사
- 6) 병력 및 동반질환
- 7) 이학적 검사
- 8) 실험실적 검사
- 9) 임신여부 검사
- 10) 대상자 적합성 평가

스크리닝 시 대상자가 선정/제외기준에 적합한지 여부를 평가하였다. 대상자로서 만족한 경우 다음 방문을 진행 할 수 있었다.

#### 3.4.2.2. 방문2: 기준시기 (0주, 0일)

- 1) 활력징후
- 2) 생활습관 조사
- 3) 병용약물 조사
- 4) 실험실적 검사
- 5) 임신여부 검사
- 6) 대상자 적합성 평가
- 7) 무작위 배정
- 8) 인체적용시험용 식품 처방 및 교부

방문2에서 방문1의 결과 등을 토대로 인체적용시험에 적합하다고 판정된 대상자에게 무작위 배정을 진

행한 후 인체적용시험용 제품을 처방하였다.

#### 3.4.2.3. 방문3: 중간방문 (6주±7일)

- 1) 활력징후
- 2) 병용약물 조사
- 3) 이상반응 조사
- 4) 실험실적 검사
- 5) 임신여부 검사
- 6) 인체적용시험용 식품 반납 및 복용순응도
- 7) 인체적용시험용 식품 처방 및 교부

#### 3.4.2.4. 방문4/조기방문: 종료방문 (12주±7일)

- 1) 신체 검사
- 2) 활력징후
- 3) 이학적 검사
- 4) 생활습관 조사
- 5) 병용약물 조사
- 6) 이상반응 확인
- 7) 실험실적 검사
- 8) 임신여부 검사
- 9) 인체적용시험용 식품 반납 및 복용순응도

복용기간 중에 조기 종료 또는 중도 탈락된 대상자는 종료방문 시 실시해야 할 항목을 실시하였다. 종료에 대한 사유와 날짜를 대상자의 의무 기록지 또는 근거문서와 증례기록서의 시험 종료 양식에 기록하였다.

#### 3.4.2.5 Follow up 방문(필요 시)

- 1) 활력징후
- 2) 이학적 검사
- 3) 병용약물 조사
- 4) 이상반응 확인
- 5) 실험실적 검사
- 6) 임신 검사

인체적용시험용 식품 최종 복용 후 혹은 조기 종료 후 비정상적인 임상실험실 결과, 계속되는 이상반응, 중도탈락, 시험자 판단에 따라 추적 관찰이 필요하다고 여겨지는 항목은 추적관찰을 위해 4주 이내 다시 방문하도록 하였다.

### 3.5. 기능성 평가기준, 평가변수 및 통계분석 방법

#### 3.5.1. 기능성 평가변수 및 분석방법

##### 3.5.1.1. 평가기준

인체적용시험 진행 일정에 따라 아래의 기능성 평가 항목을 검사하였다.

1, 2차 기능성 평가변수에서의 변화치의 경우는 “종료시점(12주째) 수치 - 기저시점(0주째) 수치”의 식

을 이용하여 산출하였다.

또한, 변화율은 [(종료시점(12주째) 수치 - 기저시점(0주째) 수치)/기저시점(0주째) 수치] x 100 (%) 의 식으로 계산하였다.

### 3.5.1.2. 기능성 평가변수

1) 1 차 기능성 평가변수:

- BASELINE 대비 12 주 복용 후 AST 수치의 감소치

2) 2 차 기능성 평가변수:

- BASELINE 대비 12 주 복용 후 ALT 수치의 감소치 및 개선율
- BASELINE 대비 12 주 복용 후 AST 개선율
- BASELINE 대비 12 주 복용 후 TG 수치의 감소치 및 개선율
- BASELINE 대비 12 주 복용 후  $\gamma$ -GT 수치의 감소치 및 개선율
- BASELINE 대비 12 주 복용 후 Lipid profiles 의 감소치 및 개선율

### 3.5.1.3. 통계분석 방법

- 모든 통계적 분석은 SPSS version 21.0 또는 SAS version 9.4로 수행하였다.
- 본 인체적용시험에서는 중간분석을 실시하지 않았다.

### 3.5.1.4. 분석 대상군

본 인체적용시험의 대상자로부터 얻어진 자료는 크게 안전성 평가(Safety)군, FA(Full Analysis)군, PP(Per Protocol)군의 세 가지 형태로 분석되었다.

#### ■ 안전성평가(Safety)군

Safety군은 본 인체적용시험에 무작위 배정되어 인체시험용 식품을 1회 이상 복용한 대상자를 의미한다.

#### ■ FA 군

FA군은 인체적용시험에 무작위 배정되어 인체시험용 식품을 1회 이상 복용한 대상자 중 인체시험용 식품 복용 후 1차 기능성 평가 자료가 1회 이상 수집된 대상자를 의미한다.

#### ■ PP 군

PP군은 FA군 대상자 중 중대한 계획서 위반 없이 본 인체적용시험을 완료한 대상자이며, 중대한 계획서 위반으로는 동의서 미 취득, 선정/제외 기준 위반, 병용 금기 약물 복용, 시험 개시-종료 시점의 주요 검사의 누락, 전체 복용 순응도 평균 80% 미만, 종료 방문 기간 미준수 등을 포함하였다. 기타, 연구 결과 해석에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되는 경미한 인체적용시험계획서의 위반사항은 위반 또는 지연 정도와 사유를 정확히 기재하고 눈가림 해제 이전 시험자, 의뢰자, 모니터, 통계학자 등이 시험 연구에 영향을 주었는지 종합적으로 고찰하여 PP군 포함 여부를 판단하였다.

### 3.5.1.5. 결과 해석의 원칙

기능성 자료에 대한 분석은 FA군과 PP군을 대상으로 하고 주 분석군은 FA군으로 하였다. 안전성 자료에 대한 평가는 Safety군 그리고 인구통계학적 및 기타 기저 특성에 대한 분석은 FA군을 대상으로 하였다.

FA군의 기능성 자료에 한해 최종 종료 시점의 자료가 부재한 경우 LOCF(Last Observation Carried Forward Analysis)를 적용해 무작위 배정 후 가장 최근에 얻어진 자료로 대체 하였다.

### 3.5.1.6. 대상자의 인구학적 기초자료 및 기타 복용 전 특성

인구통계학적 및 기타 기저 특성에 대한 분석은 연속형 자료의 경우 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test로 검정하였다. 범주형 자료의 경우 빈도와 비율을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 Chi-square test 또는 Fisher's exact test로 검정하였다.

### 3.5.1.7. 기능성 평가변수 분석방법

인체시험용 시험 진행 일정에 따라 아래의 기능성 평가 항목을 검사하였다. 단, 각 변수들은 대상자의 AST 수치 중등도에 따라 평가변수의 차이를 별도로 분석 할 수 있었다.

#### 1) 1 차 기능성 평가변수 분석방법

##### BASELINE 대비 12주 복용 후 AST 감소치

인체시험용 식품 투여 전 대비 12 주 평가 시점의 AST 감소치에 대해 기술통계량으로 시험 대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test로 검정하였다. 만일 Baseline 점수의 군 간 차이가 통계적으로 유의하다면 이를 공변량으로 하는 공분산분석 (ANCOVA)을 실시하였다. 또한 각 군 내 AST 감소치의 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 검정하였다.

#### 2) 2 차 기능성 평가변수 분석방법

##### ① BASELINE 대비 12 주 복용 후 ALT 의 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12 주 평가 시점의 ALT 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험 대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하였고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 검정하였다.

##### ② BASELINE 대비 12 주 복용 후 AST 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12 주 평가 시점의 AST개선율에 대해 기술통계량으로 시험 대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하였고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 이용해 검정하였다.

##### ③ BASELINE 대비 12 주 복용 후 TG 의 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12 주 평가 시점의 TG 수치의 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하였고, 군 간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 이용해 검정하였다.

##### ④ BASELINE 대비 12 주 복용 후 r-GT 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12 주 평가 시점의 r-GT 수치의 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하였고, 군 간 차이에 대한 통계적

유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 이용해 검정하였다.

#### ⑤ BASELINE 대비 12 주 복용 후 lipid profile 각 수치 감소치 및 개선율

인체시험용 식품 투여 전 대비 12 주 평가 시점의 Lipid profiles의 감소치 및 개선율에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하였고, 군간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 검정하였다.

### 3.5.2. 안전성 평가변수 및 분석방법

#### 3.5.2.1. 안전성 평가

인체적용시험제품 복용 전, 복용 중(6주) 그리고 최종 복용(12주)에 실험실적 검사 및 활력징후 측정을 실시하고 연구기간 내내 이상반응을 평가하였다.

#### 3.5.2.2. 평가기준

- (1) 이상반응
- (2) 실험실적 검사 결과
- (3) 활력징후 결과
- (4) 이학적 검사 결과

#### 3.5.2.3. 안전성 평가변수 및 분석방법

##### (1) 이상반응

전체, 중대한 그리고 중도 탈락의 원인이 된 이상반응과 인체적용시험용 식품과 관련 있는 이상반응에 대해 시험대상자 수와 비율을 제시하였고, Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 이용하여 군간 차이에 대한 유의성을 검정하였다. 또한 이들의 중증도, 중대성, 취해진 조치 그리고 결과 등에 대한 발생건수를 제시하였다.

##### (2) 실험실적 검사 결과

실험실적 검사 결과는 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시점 (12주)의 정상/비 정상 변화에 대해 분할표를 이용해 빈도와 비율을 제시하였고 McNemar's test 또는 McNemar's exact test를 이용하여 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성을 검정하였다.

또한 혈액학 및 혈액화학 검사와 같은 연속형 자료의 경우 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시점 (12주)의 변화량에 대해 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하였고, 군간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화의 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 검정하였다.

##### (3) 활력 징후

활력징후는 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시점(12주)의 변화량에 대해 기술통계량으로 시험대상자 수, 평균, 표준편차, 중앙값, 최소값 및 최대값을 제시하였고, 군간 차이에 대한 통계적 유의성은 independent two-sample t-test 또는 Wilcoxon rank sum test, 각 군 내 변화량의 통계적 유의성은 paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test로 검정하였다.

#### (4) 이학적 검사

이학적검사는 인체시험용 식품 투여 전 스크리닝 방문 대비 종료 시점(12주)의 정상/비정상 변화에 대해 분할표를 이용해 빈도와 비율을 제시하였고 McNemar's test 또는 McNemar's exact test를 이용하여 각 군 내 변화에 대한 통계적 유의성을 검정하였다.

4. 통계분석 방법 및 보고: 인체적용시험 대상자

4.1. 인체적용시험 대상자 집단의 정의

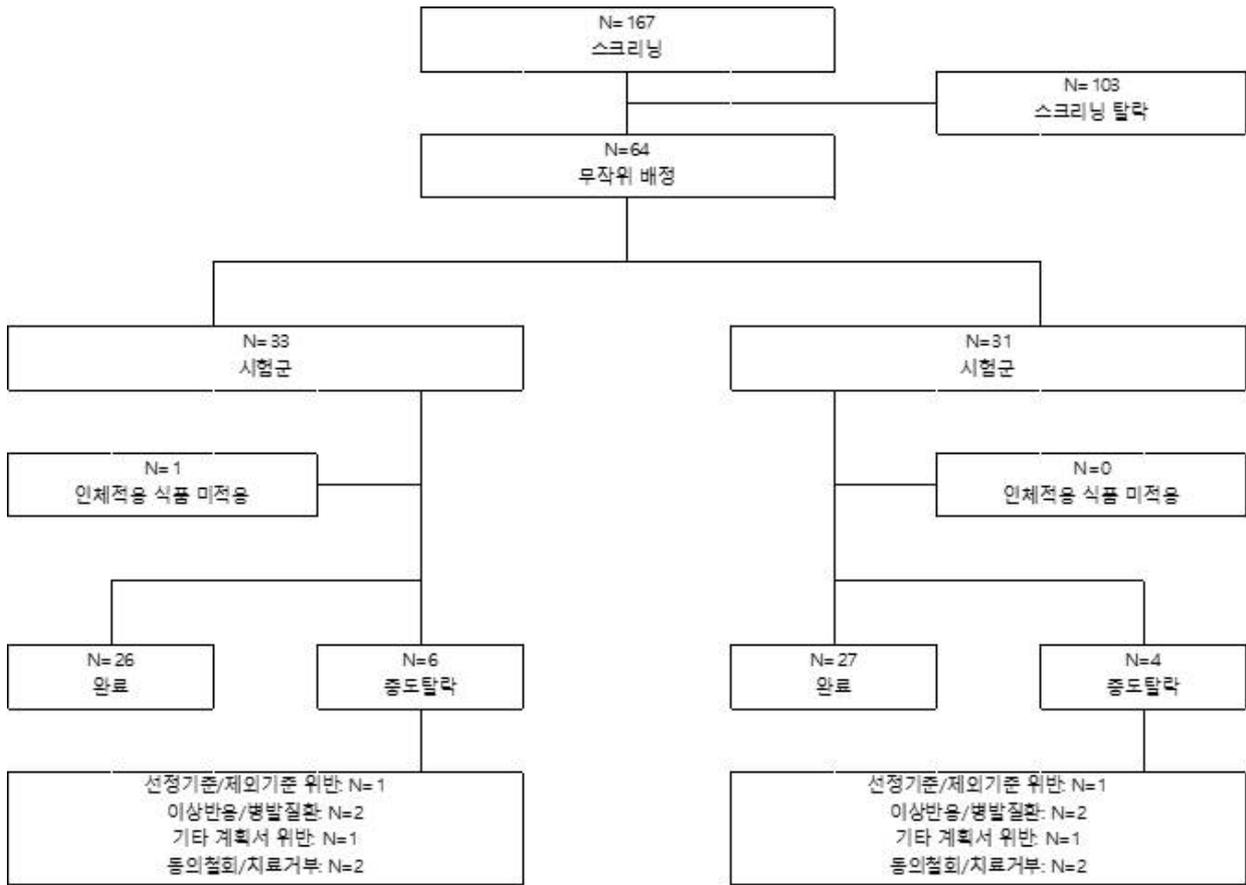


Figure 1. 인체적용시험 대상자 참여 현황

표 1. 인체적용시험 대상자 참여 현황

	시험군	대조군	Total
스크리닝	-	-	167
스크리닝 탈락 <sup>1)</sup>	-	-	103 (61.68)
선정/제외 기준 부적합 <sup>1)</sup>	-	-	97(58.08)
동의철회 <sup>1)</sup>	-	-	6 (3.59)
무작위 배정	33	31	64
인체적용식품 적용 <sup>2)</sup>	32 (96.97)	31 (100.0)	63 (98.44)
인체적용식품 미적용 <sup>2)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)
인체적용시험 완료 <sup>2)</sup>	26 (78.79)	27 (87.10)	53 (82.81)
인체적용시험 중도 탈락 <sup>2)</sup>	6 (18.18)	4 (12.90)	10 (15.63)
선정/제외 기준 위반 <sup>2)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)
이상반응/병발질환 <sup>2)</sup>	2 (6.06)	4 (12.90)	6 (9.38)
기타 계획서 위반 <sup>2)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)
동의철회/치료거부 <sup>2)</sup>	2 (6.06)	0 (0.00)	2 (3.13)

1) 스크리닝 받은 인체적용시험 대상자를 기준으로 비율 계산

2) 각 처치군에 무작위 배정된 인체적용시험 대상자를 기준으로 비율 계산

표 2. 무작위 배정된 인체적용시험 대상자의 분석군 별 참여 현황

분석 대상군	시험군 n(%)	대조군 n(%)	합계 n(%)
무작위배정	33 (100.0)	31 (100.0)	64 (100.0)
Safety 군			
포함 <sup>1)</sup>	32 (96.97)	31 (100.0)	63 (98.44)
제외 <sup>1)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)
인체적용시험용 식품 미복용 <sup>1)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)
FA 군			
포함 <sup>1)</sup>	27 (81.82)	27 (87.10)	54 (84.38)
제외 <sup>1)</sup>	6 (18.18)	4 (12.90)	10 (15.63)
Safety 군 제외 대상자 <sup>1)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)
주요한 선정/제외 기준 위반 <sup>1)</sup>	2 (6.06)	1 (3.23)	3 (4.69)
주 평가 미실시 <sup>1)</sup>	3 (9.09)	3 (9.68)	6 (9.38)
PP 군			
포함 <sup>1)</sup>	20 (60.61)	22 (70.97)	42 (65.63)
제외 <sup>1)</sup>	13 (39.39)	9 (29.03)	22 (34.38)
FA 군 제외 대상자 <sup>1)</sup>	6 (18.18)	4 (12.90)	10 (15.63)
연속 복용 순응도 80% 미만 <sup>1)</sup>	1 (3.03)	3 (9.68)	4 (6.25)
병용금기약물 복용 <sup>1)</sup>	0 (0.00)	1 (3.23)	1 (1.56)
종료 방문 기간 미준수 <sup>1)</sup>	4 (12.12)	1 (3.23)	5 (7.81)
중도 탈락 <sup>1)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)
그 외 중대한 계획서 위반 <sup>1)</sup>	1 (3.03)	0 (0.00)	1 (1.56)

1) 각 처치군 내 무작위 배정된 인체적용시험 대상자를 기준으로 비율 계산

## 4.2. 인구학적 및 기타 기저 특성 정보

인구학적 특성을 포함한 대상자의 기저 특성에 대한 분석은 FA 군을 대상으로 하였다. 모든 통계 분석은 SAS 시스템 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하였고, 기술통계량으로 연속형 자료의 경우 시험 대상자 수 (N), 평균 (Mean), 표준편차 (SD), 중앙값 (Median), 최소값 (Min), 최대값 (Max), 범주형 자료의 경우 시험 대상자수 (N)와 비율 (%)을 제시하였다. 통계적 유의성은 유의 수준 5% 하에서 양측 검정으로 수행하였고, 연속형 자료의 경우 Independent two sample t-test 또는 Mann-Whitney U test, 범주형 자료의 경우 Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 이용해 검정하였다.

표 3에 제시된 인구학적 및 기타 기저 특성에 대한 분석 결과를 살펴보면, 본 인체적용시험에 참여한 시험 대상자의 평균 연령은 시험군의 경우  $50.41 \pm 9.19$  세, 대조군의 경우  $51.78 \pm 8.42$  세, 남성 대상자의 비율은 시험군과 대조군 각각 55.56%와 48.15%이며, 여성 대상자의 비율 또한 각각 44.44%와 51.85%로 연령과 성별 모두 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다. (연령:  $p$ -value = 0.5703, 성별:  $p$ -value = 0.5860)

평균 신장은 시험군의 경우  $165.22 \pm 10.97$  cm, 대조군의 경우  $162.19 \pm 9.55$  cm이며, 평균 체 중은 시험군의 경우  $74.08 \pm 12.89$  kg, 대조군의 경우  $70.28 \pm 12.11$  kg으로, 평균 신장과 평균체중 모두 두 군 간에 유의한 차이가 없었다. (신장:  $p$ -value = 0.2605, 체중:  $p$ -value = 0.2693)

흡연습관에서 흡연자의 비율은 시험군의 경우 18.52%, 대조군의 경우 11.11%이며, 음주습관에서 음주자의 비율은 시험군의 경우 44.44%, 대조군의 경우 40.74%이며, 흡연습관과 음주습관 모두 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (흡연습관:  $p$ -value = 0.6633, 음주습관:  $p$ -value = 0.9403)

식사 습관에서 규칙적인 대상자의 비율은 시험군의 경우 96.30%, 대조군의 경우 88.89%이며, 운동 습관에서 규칙적인 운동을 하는 대상자의 비율은 시험군의 경우 40.74%, 대조군의 경우 29.63%이며, 식사습관과 운동습관 모두 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (식사 습관:  $p$ -value = 0.6104, 운동 습관:  $p$ -value = 0.3772)

과거 병력을 보고한 대상자 비율은 시험군의 경우 7.41%, 대조군의 경우 14.82%이며, 현 병력을 보고한 대상자 비율은 시험군의 경우 37.04%, 대조군의 경우 48.15%, 과거 병력과 현 병력 모두 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (과거 병력:  $p$ -value = 0.6687, 현 병력:  $p$ -value = 0.4090)

선행 약물력을 가진 대상자의 비율은 시험군의 경우 40.74%, 대조군의 경우 59.26%이며, 인체적용시험 기간 동안 타 약물을 복용한 대상자의 비율은 시험군의 경우 48.15%, 대조군의 경우 59.26%, 선행약물 및 병용약물 모두 두 군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (선행 약물:  $p$ -value = 0.1736, 병용 약물:  $p$ -value = 0.4129)

표 3. 대상자의 기초정보(FA 군)

인구학적 정보 및 기타 기초정보		시험군		대조군		합계		군간 p-value
		n= 27		N= 27		N= 54		
		n (%)		n (%)		n (%)		
연령 (세)	n	27		27		54		0.5703 <sup>a</sup>
	Mean±SD	50.41	9.17	51.78	8.42	51.09	8.76	
	Median	49.00		53.00		51.50		
	Min, Max	25.00	65.00	34.00	67.00	25.00	67.00	
성별	n	27		27		54		0.5860 <sup>e</sup>
	남	15	55.56	13	48.15	28	51.85	
	여	12	44.44	14	51.85	26	48.15	
신장 (cm)	n	27		27		54		0.2605 <sup>b</sup>
	Mean±SD	165.22	10.79	162.19	9.55	163.70	10.21	
	Median	169.00		163.00		165.00		
	Min, Max	148.00	183.00	144.00	178.00	144.00	183.00	
체중 (kg)	n	27		27		54		0.2693 <sup>a</sup>
	Mean±SD	74.08	12.89	70.28	12.11	72.18	12.53	
	Median	73.10		67.80		70.45		
	Min, Max	51.80	104.80	51.80	98.30	51.80	104.80	
흡연습관	n	27		27		54		0.6633 <sup>f</sup>
	비흡연자	18	66.67	18	66.67	36	66.67	
	과거 흡연자	4	14.82	6	22.22	10	18.52	
	흡연자	5	18.52	3	11.11	8	14.81	
음주습관	n	27		27		54		0.9403 <sup>e</sup>
	비음주자 및 과거 음주자	15	55.56	16	59.26	31	57.41	
	음주자 (보통으로마신다)	6	22.22	6	22.22	12	22.22	
	음주자 (많이 마신다)	6	22.22	5	18.52	11	20.37	
식사습관	n	27		27		54		0.6104 <sup>f</sup>
	규칙적	26	96.30	24	88.89	50	92.59	
	불규칙적	1	3.70	3	11.11	4	7.41	
운동습관	n	27		27		54		0.3772 <sup>e</sup>
	전혀 하지 않음	8	29.63	6	22.22	14	25.93	
	불규칙적	8	29.63	13	48.15	21	38.89	
	규칙적	11	40.74	8	29.63	19	35.19	
과거병력	n	27		27		54		0.6687 <sup>f</sup>
	있음	2	7.41	4	14.82	6	11.11	
	없음	25	92.59	23	85.19	48	88.89	
현 병력	n	27		27		54		0.4090 <sup>e</sup>
	있음	10	37.04	13	48.15	23	42.59	
	없음	17	62.96	14	51.85	31	57.41	
선행약물	n	27		27		54		0.1736 <sup>e</sup>
	있음	11	40.74	16	59.26	27	50.00	
	없음	16	59.26	11	40.74	27	50.00	
병용약물	n	27		27		54		0.4129 <sup>e</sup>
	있음	13	48.15	16	59.26	29	53.70	
	없음	14	51.85	11	40.74	25	46.30	

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

e: Pearson's chi-square test

f: Fisher's exact test

## 5. 통계분석 결과: 기능성 평가

### 5.1. 기능성 평가분석 방법

본 인체적용시험의 기능성평가 분석은 FA 군과 PP 군 모두에서 실시하여 결과를 제시하였고, 분석 결과에 대한 해석은 주 분석군인 FA 군을 중심으로 기술하였다. PP 군의 결과에 대한 해석은 FA 군의 결과와 상이한 경우에만 그 차이에 대해 기술하였다.

모든 기능성평가 분석은 인체적용시험용 식품 복용 전 시점으로 V2 (0주) 그리고 인체적용시험용 식품 복용 후 시점으로 종료 시점인 V4 (무작위 배정 12주 후) 자료를 이용하여 분석하였다. 분석은 SAS 시스템 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA)로 수행하였고 기술통계량으로 연속형 자료의 경우 시험 대상자 수 (N), 평균 (Mean), 표준편차 (SD), 중앙값 (Median), 최소값 (Min), 최대값 (Max), 범주형 자료의 경우 시험 대상자 수 (N)와 비율 (%)을 제시하였다. 통계적 유의성은 유의 수준 5% 하에서 양측 검정으로 수행하였고, 두 군 간 차이 비교는 Independent two sample t-test 또는 Mann-Whitney U test, 각 군 내 비교는 Paired t-test 또는 Wilcoxon signed rank test를 이용해 검정하였다. FA 군에 한해서 종료 시점인 V4의 기능성 자료가 부재한 경우 LOCF (Last Observation Carried Forward)를 적용해 대체하였다.

### 5.2. 일차 기능성 평가분석

#### 5.2.1 BASELINE 대비 12주 복용 후 AST 수치의 감소치

본 인체적용시험의 일차 기능성 평가 변수는 인체적용시험용 식품 복용 전 (V2) 대비 복용 12주 (V4) 후 시점에서의 AST 수치의 감소치 (AST at V4 - AST at V2)이며, 위약에 비해 시험식품이 우월한지를 입증하는 것이었다.

표 4에 요약된 FA 군의 인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 AST 수치 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 AST 수치는 시험군의 경우  $34.15 \pm 6.09$ , 대조군의 경우  $31.15 \pm 6.09$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 AST 수치는 시험군의 경우  $37.44 \pm 21.92$ , 대조군의 경우  $29.30 \pm 8.13$ 으로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.0479, 종료:  $p$ -value = 0.0676)

각 군 내 AST 수치 감소치는 시험군의 경우  $3.30 \pm 18.83$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-1.85 \pm 6.51$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군:  $p$ -value = 0.9901, 대조군:  $p$ -value = 0.1513) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 AST 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p$ -value = 0.4615)

PP군의 분석 결과를 살펴보면, 각 군 내 AST 수치 감소치는 시험군의 경우  $2.60 \pm 21.28$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-2.82 \pm 6.05$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p$ -value = 0.3782, 대조군:  $p$ -value = 0.0404)

표 4. BASELINE 대비 12주 복용 후 AST 수치의 감소치 (FA & PP 군)

AST		시험군		대조군		군간 p-value
FA 군		N= 27		N= 27		
Baseline	n	27		27		0.0479 <sup>b</sup>
	Mean±SD	34.15	6.09	31.15	6.09	
	Median	33.00		29.00		
	Min, Max	25.00	46.00	25.00	49.00	
12 weeks	n	27		27		0.0676 <sup>b</sup>
	Mean±SD	37.44	21.92	29.30	8.13	
	Median	32.00		33.00		
	Min, Max	21.00	133.00	20.00	50.00	
Change	n	27		27		0.4615 <sup>b</sup>
	Mean±SD	3.30	18.38	-1.85	6.51	
	Median	-2.00		-2.00		
	Min, Max	-12.00	87.00	-13.00	11.00	
군내 p-value		0.9901 <sup>d</sup>		0.1513 <sup>c</sup>		
PP 군		N= 20		N= 20		
Baseline	n	27		27		
	Mean±SD	34.90	5.88	31.73	5.78	
	Median	35.00		33.50		
	Min, Max	25.00	46.00	25.00	49.00	
12 weeks	n	27		27		0.9403 <sup>b</sup>
	Mean±SD	37.50	24.68	28.91	8.21	
	Median	33.00		27.00		
	Min, Max	21.00	133.00	20.00	50.00	
Change	n	27		27		0.6104 <sup>b</sup>
	Mean±SD	2.60	21.28	-2.82	6.05	
	Median	-3.00		-2.00		
	Min, Max	-12.00	87.00	-13.00	10.00	
군내 p-value		0.3782 <sup>d</sup>		0.0404 <sup>c</sup>		

Change = 12 weeks - Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired t-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 5.3. 이차 기능성 평가분석 방법

#### 5.3.1. BASELINE 대비 12주 복용 후 ALT 수치의 감소치

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 ALT 수치의 감소치 (ALT at V4 - ALT at V2)의 분석 결과를 표 5 에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 ALT 수치는 시험군의 경우  $39.19 \pm 17.01$ , 대조군의 경우  $33.70 \pm 11.20$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 ALT 수치는 시험군의 경우  $42.63 \pm 27.62$ , 대조군의 경우  $31.70 \pm 13.19$ 로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.1688, 종 료:  $p$ -value = 0.0898)

각 군 내 ALT 수치 감소치는 시험군의 경우  $3.44 \pm 21.50$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-2.00 \pm 9.86$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군:  $p$ -value = 0.8532, 대 조군:  $p$ -value = 0.3016) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 ALT 수치 감소치의 군 간 차 이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p$ -value = 0.5503)

PP군의 분석 결과를 살펴보면, 각 군 내 ALT 수치 감소치는 시험군의 경우  $2.85 \pm 23.95$ 로 통계 적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-3.91 \pm 8.19$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p$ -value = 0.8364, 대조군:  $p$ -value = 0.0361)

표 5. BASELINE 대비 12주 복용 후 ALT 수치의 감소치 (FA & PP 군)

ALT		시험군		대조군		군간 $p$ -value
FA 군		N= 27		N= 27		
	n	27		27		
Baseline	Mean±SD	39.19	17.01	33.70	11.20	0.1688 <sup>a</sup>
	Median	33.00		31.00		
	Min, Max	13.00	83.00	16.00	58.00	
12 weeks	n	27		27		0.0898 <sup>b</sup>
	Mean±SD	42.63	27.62	31.70	13.19	
	Median	40.00		29.00		
	Min, Max	13.00	159.00	15.00	59.00	
Change	n	27		27		0.5503 <sup>b</sup>
	Mean±SD	3.44	21.50	-2.00	9.86	
	Median	-3.00		-2.00		
	Min, Max	-30.00	89.00	-19.00	23.00	
군내 $p$ -value		0.8532 <sup>d</sup>		0.3016 <sup>c</sup>		
PP 군		N= 20		N= 22		
Baseline	n	20		22		

	Mean±SD	39.95	19.12	33.82	12.06	0.2282 <sup>a</sup>
	Median	35.00		32.50		
	Min, Max	13.00	83.00	16.00	58.00	
	n	20		22		
12 weeks	Mean±SD	42.80	31.05	29.91	12.54	0.1152 <sup>b</sup>
	Median	41.50		26.50		
	Min, Max	13.00	159.00	15.00	56.00	
	n	20		22		
Change	Mean±SD	2.85	23.95	-3.91	8.19	0.5965 <sup>b</sup>
	Median	-3.50		-2.00		
	Min, Max	-30.00	89.00	-19.00	16.00	
군내 p-value		0.8364 <sup>d</sup>		0.0361 <sup>c</sup>		

Change = 12 weeks - Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired t-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 5.3.2. BASELINE 대비 12주 복용 후 ALT 수치의 개선을

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 ALT 수치의 개선을 ( $[ALT \text{ at } V4 - ALT \text{ at } V2] / ALT \text{ at } V2 * 100$ )의 분석 결과를 표 6 에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 ALT 수치는 시험군의 경우  $39.19 \pm 17.01$ , 대조군의 경우  $33.70 \pm 11.20$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 ALT 수치는 시험군의 경우  $42.63 \pm 27.62$ , 대조군의 경우  $31.70 \pm 13.19$ 로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p\text{-value} = 0.1688$ , 종료:  $p\text{-value} = 0.0898$ )

각 군 내 ALT 수치 개선율은 시험군의 경우  $12.04 \pm 52.52$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-4.80 \pm 27.21$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군:  $p\text{-value} = 0.8726$ , 대 조군:  $p\text{-value} = 0.3680$ ) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 ALT 수치 개선율의 군 간 차 이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p\text{-value} = 0.4781$ )

PP군의 각 군 내 ALT 수치 개선율은 시험군의 경우  $10.58 \pm 55.82$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-10.29 \pm 21.64$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p\text{-value} = 0.9530$ , 대조군:  $p\text{-value} = 0.0368$ )

표 6. BASELINE 대비 12주 복용 후 ALT 수치의 개선을 (FA & PP 군)

ALT		시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value
FA 군		N= 27		N= 27		
Baseline	n	27		27		0.1688 <sup>a</sup>
	Mean±SD	39.19	17.01	33.70	11.20	
	Median	33.00		31.00		
	Min, Max	13.00	83.00	16.00	58.00	
12 weeks	n	27		27		0.0898 <sup>b</sup>
	Mean±SD	42.63	27.62	31.70	13.19	
	Median	40.00		29.00		
	Min, Max	13.00	159.00	15.00	59.00	
Change (%)	n	27		27		0.4781 <sup>b</sup>
	Mean±SD	12.04	52.52	-4.80	27.21	
	Median	-9.09		-7.14		
	Min, Max	-44.44	161.54	-46.15	63.89	
군내 <i>p</i> -value		0.8726 <sup>d</sup>		0.3680 <sup>c</sup>		
PP 군		N= 20		N= 22		
Baseline	n	20		22		
	Mean±SD	39.95	19.12	33.82	12.06	
	Median	35.00		32.50		
	Min, Max	13.00	83.00	16.00	58.00	
12 weeks	n	20		22		0.1152 <sup>b</sup>
	Mean±SD	42.80	31.05	29.91	12.54	
	Median	41.50		26.50		
	Min, Max	13.00	159.00	15.00	56.00	
Change (%)	n	20		22		0.5207 <sup>b</sup>
	Mean±SD	10.58	55.82	-10.29	21.64	
	Median	-9.35		-7.42		
	Min, Max	-44.44	161.54	-46.15	44.44	
군내 <i>p</i> -value		0.9530 <sup>d</sup>		<b>0.0368<sup>c</sup></b>		

Change = 12 weeks - Baseline

a: Independent two-sample *t*-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 5.3.3. BASELINE 대비 12주 복용 후 AST 수치의 개선율

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 AST 수치의 개선율 ( $(AST \text{ at } V4 - AST \text{ at } V2) / AST \text{ at } V2 * 100$ )의 분석 결과를 표 7 에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 AST 수치는 시험군의 경우  $34.15 \pm 6.09$ , 대조군의 경우  $31.15 \pm 6.09$ 로 두 군간에 통계 적으로 유의한 차이가 있었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 AST 수치는 시험군의 경우 시험군의 경우  $37.44 \pm 21.92$ , 대조군의 경우  $29.30 \pm 8.13$ 으로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p\text{-value} = 0.0479$ , 종료:  $p\text{-value} = 0.0676$ )

각 군 내 AST 수치 개선율은 시험군의 경우  $7.07 \pm 44.51$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-5.34 \pm 21.36$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군:  $p\text{-value} = 0.7956$ , 대 조군:  $p\text{-value} = 0.2052$ ) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 AST 수치 개선율의 군 간 차 이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p\text{-value} = 0.4312$ )

PP군의 각 군 내 AST 수치 개선율은 시험군의 경우  $3.57 \pm 47.99$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-8.91 \pm 18.18$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p\text{-value} = 0.2981$ , 대조군:  $p\text{-value} = 0.0319$ )

표 7. BASELINE 대비 12주 복용 후 AST 수치의 개선율 (FA & PP 군)

AST		시험군		대조군		군간 $p\text{-value}$
FA 군		N= 27		N= 27		
n		27		27		
Baseline	Mean±SD	34.15	6.09	31.15	6.09	<b>0.0479<sup>b</sup></b>
	Median	33.00		29.00		
	Min, Max	25.00	46.00	25.00	49.00	
n		27		27		
12 weeks	Mean±SD	37.44	21.92	29.30	8.13	0.0676 <sup>b</sup>
	Median	32.00		27.00		
	Min, Max	21.00	133.00	20.00	50.00	
n		27		27		
Change (%)	Mean±SD	7.07	44.51	-5.34	21.36	0.4312 <sup>b</sup>
	Median	-8.00		-7.14		
	Min, Max	-33.33	189.13	-36.36	44.00	
군내 $p\text{-value}$		0.7956 <sup>d</sup>		0.2052 <sup>c</sup>		
PP 군		N= 20		N= 22		
n		20		22		
Baseline	Mean±SD	34.90	5.88	31.73	5.78	0.0518 <sup>b</sup>
	Median	35.00		30.50		
	Min, Max	25.00	46.00	25.00	49.00	

	n	20		22		
12 weeks	Mean±SD	37.50	24.68	28.91	8.21	0.1237 <sup>b</sup>
	Median	31.50		27.00		
	Min, Max	21.00	133.00	20.00	50.00	
<hr/>						
	n	20		22		
Change (%)	Mean±SD	3.57	47.99	-8.91	18.18	0.6144 <sup>b</sup>
	Median	-8.58		-7.57		
	Min, Max	-33.33	189.13	-36.36	32.26	
<hr/>						
군내 <i>p</i> -value		0.2981 <sup>d</sup>		0.0319 <sup>c</sup>		

Change = 12 weeks - Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired t-test

d: Wilcoxon's signed rank test

#### 5.3.4. BASELINE 대비 12주 복용 후 TG 수치의 감소치

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 TG 수치의 감소치 (TG at V4 - TG at V2)의 분석 결과를 표 8 에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 TG 수치는 시험군의 경우  $182.15 \pm 106.66$ , 대조군의 경우  $178.44 \pm 148.73$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 TG 수치는 시험군의 경우  $195.96 \pm 148.90$ , 대조군의 경우  $181.44 \pm 190.56$ 으로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 기저: *p*-value = 0.3369, 종료: *p*-value = 0.4944)

각 군 내 TG 수치 감소치는 시험군의 경우  $13.81 \pm 117.22$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $3.00 \pm 106.41$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군: *p*-value = 0.6566, 대조군: *p*-value = 0.8701) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 TG 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (*p*-value = 0.6098)

표 8. BASELINE 대비 12주 복용 후 TG 수치의 감소치 (FA & PP 군)

TG		시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value
FA 군		N= 27		N= 27		
	n	27		27		
Baseline	Mean±SD	182.15	106.66	178.44	148.73	0.3369 <sup>b</sup>
	Median	162.00		142.00		
	Min, Max	63.00	564.00	45.00	664.00	
<hr/>						
	n	27		27		
12 weeks	Mean±SD	195.96	148.90	181.44	190.56	0.4944 <sup>b</sup>
	Median	141.00		130.00		
	Min, Max	37.00	568.00	41.00	956.00	

		27		27		
Change	Mean±SD	13.81	117.22	3.00	106.41	0.6098 <sup>b</sup>
	Median	-10.00		1.00		
	Min, Max	-110.00	380.00	-324.00	292.00	
군내 <i>p</i> -value		0.6566 <sup>d</sup>		0.8701 <sup>d</sup>		
PP 군		N= 20		N= 22		
		20		22		
Baseline	Mean±SD	168.80	115.09	196.55	158.89	0.7817 <sup>b</sup>
	Median	142.50		145.50		
	Min, Max	63.00	564.00	68.00	664.00	
12 weeks	Mean±SD	190.05	161.20	192.45	208.57	0.9198 <sup>b</sup>
	Median	137.50		124.00		
	Min, Max	37.00	568.00	52.00	956.00	
Change	Mean±SD	21.25	127.96	-4.09	115.30	1.0000 <sup>b</sup>
	Median	-14.50		-10.50		
	Min, Max	-104.00	380.00	-324.00	292.00	
군내 <i>p</i> -value		0.6741 <sup>d</sup>		0.7063 <sup>d</sup>		

Change = 12 weeks - Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 5.3.5. BASELINE 대비 12주 복용 후 TG 수치의 개선율

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 TG 수치의 개선율 ( $[TG \text{ at } V4 - TG \text{ at } V2] / TG \text{ at } V2 * 100$ )의 분석 결과를 표 9에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 TG 수치는 시험군의 경우  $182.15 \pm 106.66$ , 대조군의 경우  $178.44 \pm 148.73$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 TG 수치는 시험군의 경우  $195.96 \pm 148.90$ , 대조군의 경우  $181.44 \pm 190.56$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저: *p*-value = 0.3369, 종료: *p*-value = 0.4944)

각 군 내 TG 수치 개선율은 시험군의 경우  $13.87 \pm 79.84$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $5.32 \pm 41.50$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군: *p*-value = 0.7972, 대조군: *p*-value = 0.5112) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 TG 수치 개선율의 군간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (*p*-value = 0.6159)

표. 9. BASELINE 대비 12주 복용 후 TG 수치의 개선율 (FA & PP 군)

TG		시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value
FA 군		N= 27		N= 27		
Baseline	n	27		27		0.3369 <sup>b</sup>
	Mean±SD	182.15	106.66	178.44	148.73	
	Median	162.00		142.00		
	Min, Max	63.00	564.00	45.00	664.00	
12 weeks	n	27		27		0.4944 <sup>b</sup>
	Mean±SD	195.96	148.90	181.44	190.56	
	Median	141.00		130.00		
	Min, Max	37.00	568.00	41.00	956.00	
Change (%)	n	27		27		0.6159 <sup>b</sup>
	Mean±SD	13.87	79.84	5.32	41.50	
	Median	-14.49		0.74		
	Min, Max	-47.53	327.59	-59.34	95.24	
군내 <i>p</i> -value		0.7972 <sup>d</sup>		0.5112 <sup>c</sup>		
PP 군		N= 20		N= 22		
Baseline	n	20		22		
	Mean±SD	168.80	115.09	196.55	158.89	
	Median	142.50		145.50		
	Min, Max	63.00	564.00	68.00	664.00	
12 weeks	n	20		22		0.9198 <sup>b</sup>
	Mean±SD	190.05	161.20	192.45	208.57	
	Median	137.50		124.00		
	Min, Max	37.00	568.00	52.00	956.00	
Change (%)	n	20		22		0.9498 <sup>b</sup>
	Mean±SD	20.73	90.32	-1.33	36.76	
	Median	-14.61		-5.27		
	Min, Max	-47.53	327.59	-59.34	55.00	
군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>d</sup>		0.8671 <sup>c</sup>		

Change = (12 weeks - Baseline)/Baseline

a: Independent two-sample *t*-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

5.3.6. BASELINE 대비 12주 복용 후  $\gamma$ -GT 수치의 감소치

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후  $\gamma$ -GT 수치의 감소치 ( $\gamma$ -GT at V4 -  $\gamma$ -GT at V2)의 분석 결과를 표 10 에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전  $\gamma$ -GT 수치는 시험군의 경우  $54.37 \pm 49.27$ , 대조군의 경우  $48.81 \pm 48.27$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후  $\gamma$ -GT 수치는 시험군의 경우  $48.07 \pm 43.75$ , 대조군의 경우  $43.81 \pm 42.74$ 로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.5108, 종료:  $p$ -value = 0.3774)

각 군 내  $\gamma$ -GT 수치 감소치는 시험군의 경우  $-6.30 \pm 13.96$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 대조군의 경우  $-5.00 \pm 16.50$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p$ -value = 0.0074, 대조군:  $p$ -value = 0.0070) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후  $\gamma$ -GT 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p$ -value = 0.9655)

표 10. BASELINE 대비 12주 복용 후  $\gamma$ -GT 수치의 감소치 (FA & PP 군)

$\gamma$ -GT		시험군		대조군		군간 $p$ -value
FA 군		N= 27		N= 27		
	n	27		27		
Baseline	Mean $\pm$ SD	54.37	49.27	48.81	48.27	0.5108 <sup>b</sup>
	Median	44.00		34.00		
	Min, Max	12.00	226.00	10.00	238.00	
	n	27		27		
12 weeks	Mean $\pm$ SD	48.07	43.75	43.81	42.74	0.3774 <sup>b</sup>
	Median	41.00		26.00		
	Min, Max	10.00	215.00	10.00	178.00	
	n	27		27		
Change	Mean $\pm$ SD	-6.30	13.96	-5.00	16.50	0.9655 <sup>b</sup>
	Median	-6.00		-5.00		
	Min, Max	-56.00	22.00	-60.00	47.00	
군내 $p$ -value		<b>0.0074<sup>d</sup></b>		<b>0.0070<sup>d</sup></b>		
PP 군		N= 20		N= 22		
	n	20		22		
Baseline	Mean $\pm$ SD	58.45	56.36	49.73	53.19	0.4964 <sup>b</sup>
	Median	45.50		29.50		
	Min, Max	12.00	226.00	10.00	238.00	
	n	20		22		
12 weeks	Mean $\pm$ SD	49.50	50.30	41.45	44.43	0.3642 <sup>b</sup>
	Median	38.50		24.50		
	Min, Max	10.00	215.00	10.00	178.00	

	n	20	22			
Change	Mean±SD	-8.95	14.03	-8.27	12.97	0.8400 <sup>b</sup>
	Median	-6.00		-5.50		
	Min, Max	-56.00	10.00	-60.00	3.00	
군내 <i>p</i> -value		0.0011 <sup>d</sup>		<0.0001 <sup>d</sup>		

Change = (12 weeks - Baseline)/Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 5.3.7. BASELINE 대비 12주 복용 후 $\gamma$ -GT 수치의 개선을

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후  $\gamma$ -GT 수치의 개선을 ( $[\gamma$ -GT at V4 -  $\gamma$ -GT at V2] /  $\gamma$ -GT at V2 \* 100)의 분석 결과를 표 11에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전  $\gamma$ -GT 수치는 시험군의 경우 54.37 ± 49.27, 대조군의 경우 48.81 ± 48.27로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후  $\gamma$ -GT 수치는 시험군의 경우 48.07 ± 43.75, 대조군의 경우 43.81 ± 42.74로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저: *p*-value = 0.5108, 종료: *p*-value = 0.3774)

각 군 내  $\gamma$ -GT 수치 개선율은 시험군의 경우 -9.35 ± 23.16으로 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 대조군의 경우 -10.81 ± 24.22로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군: *p*-value = 0.0040, 대조군: *p*-value = 0.0078) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후  $\gamma$ -GT 수치 개선율의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (*p*-value = 0.5563)

표 11. BASELINE 대비 12주 복용 후  $\gamma$ -GT 수치의 개선을 (FA & PP 군)

$\gamma$ -GT		시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value
FA 군		N= 27		N= 27		
Baseline	n	27		27		
	Mean±SD	54.37	49.27	48.81	48.27	0.5108 <sup>b</sup>
	Median	44.00		34.00		
	Min, Max	12.00	226.00	10.00	238.00	
12 weeks	n	27		27		
	Mean±SD	48.07	43.75	43.81	42.74	0.3774 <sup>b</sup>
	Median	41.00		26.00		
	Min, Max	10.00	215.00	10.00	178.00	
Change (%)	n	27		27		
	Mean±SD	-9.35	23.16	-10.81	24.22	0.5563 <sup>b</sup>
	Median	-13.04		-14.63		
	Min, Max	-42.67	78.57	-40.00	69.12	

군내 $p$ -value		0.0040 <sup>d</sup>		0.0078 <sup>d</sup>		
PP 군		N= 20		N= 22		
	n	20		22		
Baseline	Mean±SD	58.45	56.36	49.73	53.19	0.4964 <sup>b</sup>
	Median	45.50		29.50		
	Min, Max	12.00	226.00	10.00	238.00	
12 weeks	Mean±SD	49.50	50.30	41.45	44.43	0.3642 <sup>b</sup>
	Median	38.50		24.50		
	Min, Max	10.00	215.00	10.00	178.00	
Change (%)	Mean±SD	-14.77	15.07	-16.78	14.06	0.6568 <sup>a</sup>
	Median	-14.52		-17.73		
	Min, Max	-42.67	21.05	-40.00	9.09	
군내 $p$ -value		0.0003 <sup>c</sup>		<0.0001 <sup>c</sup>		

Change = (12 weeks - Baseline)/Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired t-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 5.3.8. BASELINE 대비 12주 복용 후 Lipid profiles 수치의 감소치

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 Lipid profiles 수치의 감소치 (Lipid profiles at V4 - Lipid profiles at V2)의 분석 결과를 표 12와 표 13에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 Total cholesterol 수치는 시험군의 경우  $192.04 \pm 33.50$ , 대조군의 경우  $199.37 \pm 35.24$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 Total cholesterol 수치는 시험군의 경우  $206.11 \pm 38.72$ , 대조군의 경우  $209.22 \pm 33.15$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.2871, 종료:  $p$ -value = 0.7524)

각 군 내 Total cholesterol 수치 감소치는 시험군의 경우  $14.07 \pm 26.12$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $9.85 \pm 24.00$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군:  $p$ -value = 0.0095, 대조군:  $p$ -value = 0.0425) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 Total cholesterol 수치 감소치의 군간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p$ -value = 0.5389)

HDL cholesterol의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 HDL cholesterol 수치는 시험군의 경우  $48.59 \pm 11.41$ , 대조군의 경우  $49.96 \pm 14.65$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 HDL cholesterol 수치는 시험군의 경우  $46.96 \pm 12.45$ , 대조군의 경우  $54.33 \pm 16.07$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.7028, 종료:  $p$ -value = 0.0652)

각 군 내 HDL cholesterol 수치 감소치는 시험군의 경우  $-1.63 \pm 9.47$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $4.37 \pm 10.60$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p$ -value = 0.6947, 대조군:  $p$ -value = 0.0177) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 HDL cholesterol 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p$ -value = 0.0601)

PP군의 각 군 내 HDL cholesterol 수치 감소치는 시험군의 경우  $-3.30 \pm 9.94$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $5.00 \pm 11.52$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p$ -value = 0.2533, 대조군:  $p$ -value = 0.0297) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 HDL cholesterol 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 있었다. ( $p$ -value = 0.0203)

LDL cholesterol의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 LDL cholesterol 수치는 시험군의 경우  $116.43 \pm 40.75$ , 대조군의 경우  $137.26 \pm 36.56$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 LDL cholesterol 수치는 시험군의 경우  $123.96 \pm 38.65$ , 대조군의 경우  $122.48 \pm 27.85$ 로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.0811, 종료:  $p$ -value = 0.8722)

각 군 내 LDL cholesterol 수치 감소치는 시험군의 경우  $1.10 \pm 28.52$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-11.57 \pm 20.68$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군:  $p$ -value = 0.8621, 대조군:  $p$ -value = 0.0136) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 LDL cholesterol 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p$ -value = 0.0972)

표 12. BASELINE 대비 12주 복용 후 Lipid profiles 수치의 감소치 (FA군)

Lipid profiles		시험군		대조군		군간 $p$ -value	
		N=	27	N=	27		
Total cholesterol	Baseline	N	27	27			
		Mean±SD	192.04	33.50	199.37	35.24	0.2871 <sup>b</sup>
		Median	195.00		203.00		
		Min, Max	131.00	254.00	90.00	260.00	
	12 weeks	n	27		27		
		Mean±SD	206.11	38.72	209.22	33.15	0.7524 <sup>a</sup>
		Median	211.00		206.00		
		Min, Max	138.00	289.00	141.00	270.00	
	Change	n	27		27		
Mean±SD		14.07	26.12	9.85	24.00	0.5389 <sup>a</sup>	
Median		7.00		18.00			
	Min, Max	-27.00	74.00	-36.00	51.00		
군내 $p$ -value		<b>0.0095<sup>c</sup></b>		<b>0.0425<sup>c</sup></b>			

Lipid profiles			시험군 N= 27		대조군 N= 27		군간 <i>p</i> - value
HDL cholesterol	Baseline	n	27		27		0.7028 <sup>a</sup>
		Mean±SD	48.59	11.41	49.96	14.65	
		Median	48.00		47.00		
		Min, Max	31.00	70.00	27.00	79.00	
	12 weeks	n	27		27		0.0652 <sup>a</sup>
		Mean±SD	46.96	12.45	54.33	16.07	
		Median	46.00		52.00		
		Min, Max	30.00	76.00	26.00	89.00	
	Change	n	27		27		0.0601 <sup>b</sup>
		Mean±SD	-1.63	9.47	4.37	10.60	
Median		0.00		3.00			
	Min, Max	-33.00	13.00	-14.00	45.00		
군내 <i>p</i> -value		0.6947 <sup>d</sup>		<b>0.0177<sup>d</sup></b>			
LDL cholesterol	Baseline	n	21		23		0.0811 <sup>a</sup>
		Mean±SD	116.43	40.75	137.26	36.56	
		Median	115.00		144.00		
		Min, Max	49.00	198.00	52.00	200.00	
	12 weeks	n	27		27		0.8722 <sup>a</sup>
		Mean±SD	123.96	38.65	122.48	27.85	
		Median	129.00		120.00		
		Min, Max	35.00	186.00	60.00	188.00	
	Change	n	21		23		0.0972 <sup>a</sup>
		Mean±SD	1.10	28.52	-11.57	20.68	
Median		-3.00		-12.00			
	Min, Max	-45.00	80.00	-46.00	26.00		
군내 <i>p</i> -value		0.8621 <sup>c</sup>		<b>0.0136<sup>c</sup></b>			

Change = (12 weeks - Baseline)/Baseline

a: Independent two-sample *t*-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

표 13. BASELINE 대비 12주 복용 후 Lipid profiles 수치의 감소치 (PP군)

Lipid profiles			시험군 N= 20		대조군 N= 22		군간 <i>p</i> -value
Total cholesterol	Baseline	n	20		22		0.6042 <sup>a</sup>
		Mean±SD	191.65	34.64	197.55	38.15	
		Median	195.00		199.50		
		Min, Max	138.00	254.00	90.00	260.00	
	12 weeks	n	20		22		0.5764 <sup>a</sup>
		Mean±SD	203.05	37.29	209.41	35.86	
		Median	206.00		209.50		
		Min, Max	138.00	268.00	141.00	270.00	
	Change	n	20		22		0.9526 <sup>a</sup>
		Mean±SD	11.40	25.86	11.86	24.42	
		Median	5.50		20.00		
		Min, Max	-20.00	74.00	-36.00	51.00	
군내 <i>p</i> -value			0.0634 <sup>c</sup>		<b>0.0332<sup>c</sup></b>		
HDL cholesterol	Baseline	n	20		22		0.7416 <sup>a</sup>
		Mean±SD	50.75	10.68	49.50	13.40	
		Median	49.50		48.00		
		Min, Max	31.00	70.00	31.00	79.00	
	12 weeks	n	20		22		0.1124 <sup>a</sup>
		Mean±SD	47.45	12.12	54.50	15.61	
		Median	47.50		53.50		
		Min, Max	30.00	71.00	32.00	89.00	
	Change	n	20		22		<b>0.0203<sup>b</sup></b>
		Mean±SD	-3.30	9.94	5.00	11.52	
		Median	-1.50		3.00		
		Min, Max	-33.00	12.00	-14.00	45.00	
군내 <i>p</i> -value			0.2533 <sup>d</sup>		<b>0.0297<sup>d</sup></b>		
LDL cholesterol	Baseline	n	16		19		0.1857 <sup>a</sup>
		Mean±SD	115.19	43.01	133.74	38.18	
		Median	110.00		139.00		
		Min, Max	49.00	198.00	52.00	200.00	
	12 weeks	n	20		22		0.8896 <sup>a</sup>
		Mean±SD	119.70	40.83	121.23	29.63	
Median		120.00		118.00			
	Min, Max	35.00	186.00	60.00	188.00		

Lipid profiles	시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value	
	N= 20		N= 22			
	n	16		19		
Change	Mean±SD	-0.19	30.71	-8.89	21.34	0.3311 <sup>a</sup>
	Median	-7.50		-9.00		
	Min, Max	-45.00	80.00	-46.00	26.00	
군내 <i>p</i> -value		0.9808 <sup>c</sup>		0.0859 <sup>c</sup>		

Change = (12 weeks - Baseline)/Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired t-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 5.3.9. BASELINE 대비 12주 복용 후 Lipid profiles 수치의 개선율

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 Lipid profiles 수치의 감소치 ((Lipid profiles at V4 - Lipid profiles at V2) / Lipid profiles at V2 \* 100)의 분석 결과를 표 14와 표 15에 정리하였다. FA 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 Total cholesterol 수치는 시험군의 경우 192.04 ± 33.50, 대조군의 경우 199.37 ± 35.24로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 Total cholesterol 수치는 시험군의 경우 206.11 ± 38.72, 대조군의 경우 209.22 ± 33.15로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저: *p*-value = 0.2871, 종료: *p*-value = 0.7524)

각 군 내 Total cholesterol 수치 개선율은 시험군의 경우 8.05 ± 15.39로 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 대조군의 경우 6.57 ± 15.07로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군: *p*-value = 0.0115, 대조군: *p*-value = 0.0296) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 Total cholesterol 수치 개선율의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (*p*-value = 0.7164)

HDL cholesterol의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 HDL cholesterol 수치는 시험군의 경우 48.59 ± 11.41, 대조군의 경우 49.96 ± 14.65로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 HDL cholesterol 수치는 시험군의 경우 46.96 ± 12.45 대조군의 경우 54.33 ± 16.07로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저: *p*-value = 0.7028, 종료: *p*-value = 0.0652)

각 군 내 HDL cholesterol 수치 개선율은 시험군의 경우 -2.09 ± 17.19로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우 10.47 ± 23.16으로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군: *p*-value = 0.5339, 대조군: *p*-value = 0.0096) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 HDL cholesterol 수치 개선율의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (*p*-value = 0.0640)

PP군의 각 군 내 HDL cholesterol 수치 개선율은 시험군의 경우 -5.50 ± 17.58로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우 11.94 ± 25.18로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (시험군: *p*-value = 0.1782, 대조군: *p*-value = 0.0204) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 HDL cholesterol 수치 개선율의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (*p*-value = 0.0145)

LDL cholesterol의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 LDL cholesterol 수치는 시험군의 경우  $116.43 \pm 40.75$ , 대조군의 경우  $137.26 \pm 36.56$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 LDL cholesterol 수치는 시험군의 경우  $123.96 \pm 38.65$ , 대조군의 경우  $122.48 \pm 27.85$ 로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.0811, 종료:  $p$ -value = 0.8722)

각 군 내 LDL cholesterol 수치 개선율은 시험군의 경우  $7.57 \pm 43.02$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-5.91 \pm 15.55$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (시험군:  $p$ -value = 0.9866, 대조군:  $p$ -value = 0.0817) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 LDL cholesterol 수치 개선율의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. ( $p$ -value = 0.2694)

표 14. BASELINE 대비 12주 복용 후 Lipid profiles 수치의 개선율 (FA군)

Lipid profiles		시험군 N= 27		대조군 N= 27		군간 $p$ -value	
Total cholesterol	Baseline	n	27		27		0.2871 <sup>b</sup>
		Mean±SD	192.04	33.50	199.37	35.24	
		Median	195.00		203.00		
	Min, Max	131.00	254.00	90.00	260.00		
	12 weeks	n	27		27		0.7524 <sup>a</sup>
		Mean±SD	206.11	38.72	209.22	33.15	
		Median	211.00		206.00		
	Min, Max	138.00	289.00	141.00	270.00		
	Change (%)	n	27		27		0.7164 <sup>b</sup>
Mean±SD		8.05	15.39	6.57	15.07		
Median		3.26		8.29			
Min, Max	-13.50	53.62	-18.46	56.67			
군내 $p$ -value		<b>0.0115<sup>c</sup></b>		<b>0.0296<sup>d</sup></b>			
HDL cholesterol	Baseline	n	27		27		0.7028 <sup>a</sup>
		Mean±SD	48.59	11.41	49.96	14.65	
		Median	48.00		47.00		
	Min, Max	31.00	70.00	27.00	79.00		
	12 weeks	n	27		27		0.0652 <sup>a</sup>
		Mean±SD	46.96	12.45	54.33	16.07	
		Median	46.00		52.00		
	Min, Max	30.00	76.00	26.00	89.00		

Lipid profiles		시험군 N= 27		대조군 N= 27		군간 $p$ -value
Change (%)	n	27		27		0.0640 <sup>b</sup>
	Mean±SD	-2.09	17.19	10.47	23.16	
	Median	0.00		4.11		
	Min, Max	-48.53	20.69	-20.00	104.65	
군내 $p$ -value		0.5339 <sup>c</sup>		<b>0.0096<sup>d</sup></b>		
Baseline	n	21		23		0.0811 <sup>a</sup>
	Mean±SD	116.43	40.75	137.26	36.56	
	Median	115.00		144.00		
	Min, Max	49.00	198.00	52.00	200.00	
12 weeks	n	27		27		0.8722 <sup>a</sup>
	Mean±SD	123.96	38.65	122.48	27.85	
	Median	129.00		120.00		
	Min, Max	35.00	186.00	60.00	188.00	
Change (%)	n	21		23		0.2694 <sup>b</sup>
	Mean±SD	7.57	43.02	-5.91	15.55	
	Median	-2.04		-7.69		
	Min, Max	-47.76	163.27	-27.71	27.08	
군내 $p$ -value		0.9866 <sup>d</sup>		0.0817 <sup>c</sup>		

Change = (12 weeks - Baseline)/Baseline

a: Independent two-sample  $t$ -test

b: Mann-Whitney U test

c: paired  $t$ -test

d: Wilcoxon's signed rank test

표 15. BASELINE 대비 12주 복용 후 Lipid profiles 수치의 개선을 (PP군)

Lipid profiles		시험군 N= 20		대조군 N= 22		군간 $p$ -value
Baseline	n	20		22		0.6042 <sup>a</sup>
	Mean±SD	191.65	34.64	197.55	38.15	
	Median	195.00		199.50		
	Min, Max	138.00	254.00	90.00	260.00	
12 weeks	n	20		22		0.5764 <sup>a</sup>
	Mean±SD	203.05	37.29	209.41	35.86	
	Median	206.00		209.50		
	Min, Max	138.00	268.00	141.00	270.00	

Lipid profiles		시험군		대조군		군간 $p$ -value	
		N= 20		N= 22			
		n	20	22			
Change (%)	Mean±SD	6.86	16.15	7.85	15.78	0.7721 <sup>b</sup>	
	Median	2.40		9.98			
	Min, Max	-12.35	53.62	-18.46	56.67		
군내 $p$ -value		0.1536 <sup>d</sup>		<b>0.0246<sup>d</sup></b>			
HDL cholesterol	Baseline	n	20	22			
		Mean±SD	50.75	10.68	49.50	13.40	0.7416 <sup>a</sup>
		Median	49.50		48.00		
	Min, Max	31.00	70.00	31.00	79.00		
	12 weeks	n	20	22			
		Mean±SD	47.45	12.12	54.50	15.61	0.1124 <sup>a</sup>
		Median	47.50		53.50		
	Min, Max	30.00	71.00	32.00	89.00		
	Change (%)	Mean±SD	-5.50	17.58	11.94	25.18	<b>0.0145<sup>b</sup></b>
		Median	-2.63		6.17		
		Min, Max	-48.53	20.69	-20.00	104.65	
	군내 $p$ -value		0.1782 <sup>c</sup>		<b>0.0204<sup>d</sup></b>		
LDL cholesterol	Baseline	n	16	19			
		Mean±SD	115.19	43.01	133.74	38.18	0.1857 <sup>a</sup>
		Median	110.00		139.00		
	Min, Max	49.00	198.00	52.00	200.00		
	12 weeks	n	20	22			
		Mean±SD	119.70	40.83	121.23	29.63	0.8896 <sup>a</sup>
		Median	120.00		118.00		
	Min, Max	35.00	186.00	60.00	188.00		
	Change (%)	Mean±SD	7.46	48.52	-3.88	16.13	0.8296 <sup>b</sup>
		Median	-5.32		-6.00		
		Min, Max	-47.76	163.27	-27.71	27.08	
	군내 $p$ -value		0.6322 <sup>d</sup>		0.3088 <sup>c</sup>		

Change = (12 weeks - Baseline)/Baseline

a: Independent two-sample  $t$ -test

b: Mann-Whitney U test

c: paired  $t$ -test

d: Wilcoxon's signed rank test

## 6. 통계분석 결과: 안전성

### 6.1. 이상반응 요약

인체적용시험용식품 복용 후 발생한 이상반응을 표 16 에 요약하였다. 이상반응은 시험군에서 8 명 (25.00%)의 대상자에게 총 10건이 발생하였고, 대조군에서 7명 (22.58%)의 대상자에게 총 9건이 발생하였다. 이상반응 발현에 대한 군 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. ( $p$ -value = 0.8217)

이상약물반응은 시험군에서 2명 (6.25%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였고, 대조군에서 2명 (6.45%)의 대상자에게 총 3건이 발생하였다. 이상약물반응에 대한 군 간 차이는 통계적으로 유의 하지 않았다. ( $p$ -value = 1.0000)

중대한 이상반응은 시험군에서 0명 (0.00%)의 대상자에게 총 0건이 발생하였으며, 대조군에서 1명 (6.45%)의 대상자에게 총 1건이 발생하였다. 중대한 이상반응에 대한 군 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. ( $p$ -value = 0.4921)

예상하지 못한 이상약물반응은 시험군에서 2명 (6.25%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였고, 대조군에서 2명 (6.45%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였다. 예상하지 못한 이상약물반응에 대한 군간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. ( $p$ -value = 1.0000)

중도 탈락의 원인이 된 이상반응은 시험군에서만 2명 (6.25%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였고, 대조군에서 3명 (9.68%)의 대상자에게 총 3건이 발생하였다. 중도 탈락의 원인이 된 이상반응에 대한 군 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. ( $p$ -value = 0.6719)

시험군과 대조군에서 발생한 이상반응 중 이상반응 정도를 살펴보면, 시험군의 경우 경증이 9건, 중등증이 1건, 대조군의 경우 경증이 8건, 중등증이 1건으로 보고 되었다.

이상반응 처치를 살펴보면, 시험군의 경우 무조치 1건, 인체적용시험제품 복용 중단 2건, 치료약물 병용투여6건, 기타(수술) 1건으로 보고 되었다. 대조군의 경우 인체적용시험제품 복용 중단 3건, 치료약물 병용투여4건, 비약물 치료 1건, 입원/입원 기간 연장 1건으로 보고 되었다.

이상반응 결과를 살펴보면, 시험군의 경우 이상반응 회복/후유증 없음 7건, 이상반응 지속/치료 진행중 3건으로 보고 되었다. 대조군의 경우, 이상반응 회복/후유증 없음 5건, 이상반응 지속/치료 진행없음 2건, 이상반응 지속/치료 진행중 2건으로 보고 되었다.

중대한 이상반응으로 보고된 대상자는 대조군에서1건이 나타났으며, 이상반응명은 피부찰과상(화 상) 및 발목근육통으로 보고되었다. 이상반응 처치는 입원/입원 기간 연장이며, 이상반응 지속, 치료 진행중으로 보고되었다.

표 16. 이상반응 요약 (Safety 군)

이상반응 요약	시험군 N=32		대조군 N=31		군간 <i>p</i> -value
	n (%)	[건]	n (%)	[건]	
인체적용시험용식품 복용 이후 발생한 이상반응(TEAE)	8 (25.00)	10	7 (22.58)	9	0.8217 <sup>e</sup>
이상약물반응(ADR) <sup>1)</sup>	2 (6.25)	2	2 (6.45)	3	1.0000 <sup>f</sup>
중대한 이상반응(SAE)	0 (0.00)	0	1 (3.23)	1	0.4921 <sup>f</sup>
예상하지 못한 이상약물반응(UADR) <sup>1)</sup>	2 (6.25)	2	2 (6.45)	2	1.0000 <sup>f</sup>
중도탈락의 원인이 된 이상반응	2 (6.25)	2	3 (9.68)	3	0.6719 <sup>f</sup>

1) 명확히 관련 있음, 관련이 있다고 생각됨, 관련 가능성이 있음, UK

e: Pearson's chi-square test

f: Fisher's exact test

Note: 인체적용시험용식품 복용 전 발생한 이상반응의 중증도가 복용 후 악화되었거나 복용 후 새로 발생한 모든 이상반응들을 TEAE로 제시

## 6.2. 활력징후 및 실험실 검사

### 6.2.1. 활력징후 검사 결과와 변화량

인체적용시험용 식품 복용 전과 후의 활력징후 분석 결과를 표 17 에 정리하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 체온에서 시험군의 군내에서 통계적으로 유의한 차이가 있었고, (시험군:*p*-value = 0.0442) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 군 간 차이가 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (Change:*p*-value = 0.0398)

이 외에 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 활력징후 항목은 없었다.

표 17. 활력징후 검사 결과와 변화량 (Safety 군)

활력 징후	시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value		
	n	32	31				
수축기 (mmHg)	Baseline	Mean±SD	126.09	13.72	122.39	11.80	0.2183 <sup>b</sup>
		Median	130.00		120.00		
		Min, Max	100.00	150.00	100.00	140.00	
Final visit		n	29		29		1.0000 <sup>b</sup>
		Mean±SD	124.14	14.02	123.79	11.15	
		Median	130.00		120.00		
		Min, Max	100.00	160.00	100.00	140.00	
Change	n	29		29			

활력 징후	시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value		
	N= 32		N= 31				
이완기 (mmHg)	Mean±SD	-3.28	9.48	1.59	9.26	0.0800 <sup>b</sup>	
	Median	0.00		0.00			
	Min, Max	-30.00	10.00	-20.00	26.00		
	군내 <i>p</i> -value	0.0933 <sup>d</sup>		0.4465 <sup>d</sup>			
	Baseline	n	32		31		0.8532 <sup>b</sup>
		Mean±SD	80.16	7.67	79.68	7.52	
		Median	80.00		80.00		
	Final visit	n	29		29		0.4184 <sup>b</sup>
		Mean±SD	78.62	7.89	80.34	7.78	
		Median	80.00		80.00		
Change	n	29		29		0.2553 <sup>b</sup>	
	Mean±SD	-1.55	6.42	0.69	7.99		
	Median	0.00		0.00			
군내 <i>p</i> -value	0.2668 <sup>d</sup>		0.8145 <sup>d</sup>				
맥박 (beats/min)	Baseline	n	32		31		0.5450 <sup>a</sup>
		Mean±SD	71.84	9.78	73.45	11.16	
		Median	71.00		72.00		
	Final visit	n	29		29		0.6032 <sup>a</sup>
		Mean±SD	69.28	7.38	70.38	8.65	
		Median	69.00		68.00		
	Change	n	29		29		0.8762 <sup>b</sup>
		Mean±SD	-2.07	8.54	-3.69	9.23	
		Median	-1.00		0.00		
	군내 <i>p</i> -value	0.2026 <sup>c</sup>		0.0600 <sup>d</sup>			
체온 (°C)	Baseline	n	32		31		0.2313 <sup>b</sup>
		Mean±SD	36.44	0.14	36.51	0.19	
		Median	36.50		36.50		
	Min, Max	36.10	36.70	36.10	36.90		

활력 징후		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value
Final visit	n	29		29		
	Mean±SD	36.55	0.23	36.49	0.18	0.1584 <sup>b</sup>
	Median	36.50		36.50		
	Min, Max	36.00	37.10	36.10	36.90	
Change	n	29		29		
	Mean±SD	0.11	0.28	-0.04	0.27	<b>0.0398<sup>a</sup></b>
	Median	0.10		0.00		
	Min, Max	-0.40	0.80	-0.70	0.60	
군내 <i>p</i> -value		<b>0.0442<sup>c</sup></b>		<b>0.4103<sup>c</sup></b>		

Change = Final visit - Baseline

a: Independent two-sample *t*-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

#### 6.2.2. 실험실검사: 혈액학 검사 결과 분석

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 실험실검사: 혈액학 검사 결과 분석을 표 18 에 정리 하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 대조군의 군내에서 RBC, Hemoglobin, Hematocrit이 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (RBC: *p*-value = 0.0309, Hemoglobin: *p*-value = 0.0205, Hematocrit: *p*-value = 0.0385)

이 외에 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 혈액학 검사 항목은 없었다.

표 18. 혈액학 검사 결과 분석 (Safety 군)

혈액학 검사		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value
Baseline	n	32		31		
	Mean±SD	5.96	1.43	6.00	1.56	0.9233 <sup>b</sup>
	Median	5.55		5.70		
	Min, Max	4.10	8.80	3.70	10.30	
WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	n	28		28		
	Mean±SD	5.98	1.79	6.33	1.70	0.3417 <sup>b</sup>
	Median	5.55		6.15		
	Min, Max	3.20	9.90	3.90	11.00	
Change	n	28		28		
	Mean±SD	0.03	0.98	0.31	1.20	0.3318 <sup>a</sup>

혈액학 검사		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value	
	Median	0.10		0.35			
	Min, Max	-2.50	2.30	-3.10	2.70		
	군내 <i>p</i> -value	0.8933 <sup>c</sup>		0.1803 <sup>c</sup>			
RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	n	32		31			
	Baseline	Mean±SD	4.35	0.29	4.49	0.37	0.1021 <sup>a</sup>
		Median	4.38		4.43		
		Min, Max	3.70	4.92	3.80	5.35	
	n	28		28			
	Final visit	Mean±SD	4.39	0.35	4.36	0.40	0.7765 <sup>a</sup>
		Median	4.32		4.35		
		Min, Max	3.75	5.35	3.50	5.29	
	n	28		28			
	Change	Mean±SD	0.02	0.22	-0.10	0.24	0.0625 <sup>a</sup>
		Median	-0.02		-0.12		
		Min, Max	-0.52	0.43	-0.60	0.32	
	군내 <i>p</i> -value	0.7236 <sup>c</sup>		<b>0.0309<sup>c</sup></b>			
Hemoglobin (g/dℓ)	n	32		31			
	Baseline	Mean±SD	13.78	1.49	14.22	1.38	0.3391 <sup>b</sup>
		Median	13.80		13.90		
		Min, Max	9.20	16.00	11.70	16.60	
	n	28		28			
	Final visit	Mean±SD	13.97	1.47	13.86	1.54	0.9935 <sup>b</sup>
		Median	14.00		14.05		
		Min, Max	9.00	17.10	10.40	16.20	
	n	28		28			
	Change	Mean±SD	0.00	0.78	-0.35	0.75	0.0963 <sup>a</sup>
		Median	-0.15		-0.40		
		Min, Max	-1.90	1.70	-1.90	1.40	
	군내 <i>p</i> -value	0.9808 <sup>c</sup>		<b>0.0205<sup>c</sup></b>			
Hematocrit (%)	n	32		31			
	Baseline	Mean±SD	39.45	3.49	40.74	3.33	0.1393 <sup>a</sup>
		Median	39.95		40.10		
		Min, Max	28.80	46.00	34.40	46.80	

혈액화학 검사		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value	
Final visit	n	28		28		0.9385 <sup>a</sup>	
	Mean±SD	39.86	3.51	39.78	3.73		
	Median	39.60		39.55			
	Min, Max	29.30	46.90	32.70	47.30		
Change	n	28		28		0.1392 <sup>a</sup>	
	Mean±SD	-0.01	2.19	-0.89	2.15		
	Median	-0.05		-1.00			
	Min, Max	-5.60	3.30	-4.90	3.50		
군내 <i>p</i> -value		0.9727 <sup>c</sup>		0.0385 <sup>c</sup>			
Platelets (10 <sup>3</sup> /μL)	Baseline	n	32		31		0.6950 <sup>a</sup>
		Mean±SD	241.25	48.35	236.19	53.47	
		Median	233.50		235.00		
		Min, Max	161.00	392.00	144.00	386.00	
	Final visit	n	28		28		0.4708 <sup>b</sup>
		Mean±SD	229.71	49.21	239.07	56.29	
		Median	223.00		234.00		
		Min, Max	153.00	362.00	148.00	395.00	
	Change	n	28		28		0.6205 <sup>a</sup>
		Mean±SD	-4.32	24.21	-1.36	20.14	
		Median	-4.50		-3.50		
		Min, Max	-48.00	41.00	-38.00	46.00	
군내 <i>p</i> -value		0.3534 <sup>c</sup>		0.7242 <sup>c</sup>			

Change = Final visit - Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

### 6.2.3. 실험실검사: 혈액화학 검사 결과 분석

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 실험실검사: 혈액화학 검사 결과 분석을 표 19 에 정리 하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 두 군간 비교에서 AST, Creatinine, LDL cholesterol이 통계적으로 유의한 차이가 있었고, (AST: *p*-value =0.0326, Creatinine: *p*-value =0.0496, LDL cholesterol: *p*-value =0.0277) 인체적용시험용 식품 복용 후 두 군간 비교에서 AST 가 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (AST: *p*-value =0.0411)

시험군의 군 내 비교 에서  $\gamma$ -GT, Uric acid, Total cholesterol이 통계적으로 유의한 차이가 있었고, ( $\gamma$ -GT: *p*-value =0.0065, Uric acid: *p*-value =0.0160, Total cholesterol: *p*-value

=0.0019) 대조군의 군 내 비교에서 ALP,  $\gamma$ -GT, Creatinine, LDL cholesterol, HDL cholesterol 이 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (ALP:  $p$ -value =0.0109,  $\gamma$ -GT:  $p$ -value =0.0052, Creatinine:  $p$ -value =0.0148, LDL cholesterol:  $p$ -value =0.0136, HDL cholesterol:  $p$ -value =0.0338) 또한, 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 변화량에서 LDL cholesterol이 통계적으로 유의한 차이가 있었다. ( $p$ -value = 0.0434)

이 외에 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 혈액화학 항목은 없었다.

**표 19. 혈액화학 검사 결과 분석 (Safety 군)**

혈액화학 검사		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 $p$ -value	
ALP (U/L)	Baseline	n	32		31		0.6104 <sup>a</sup>
		Mean±SD	74.44	25.17	71.71	16.26	
		Median	68.50		67.00		
		Min, Max	30.00	137.00	48.00	110.00	
	Final visit	n	28		28		0.7294 <sup>a</sup>
		Mean±SD	81.00	23.53	79.04	18.44	
		Median	79.00		81.00		
		Min, Max	42.00	127.00	51.00	114.00	
	Change	n	28		28		0.4706 <sup>a</sup>
		Mean±SD	4.25	11.76	6.64	12.86	
		Median	4.50		6.50		
		Min, Max	-13.00	36.00	-16.00	37.00	
군내 $p$ -value		0.0665 <sup>c</sup>		0.0109 <sup>c</sup>			
Total bilirubin (mg/dL)	Baseline	n	32		31		0.7350 <sup>b</sup>
		Mean±SD	0.23	0.12	0.22	0.11	
		Median	0.20		0.20		
		Min, Max	0.10	0.50	0.10	0.60	
	Final visit	n	28		28		0.5849 <sup>b</sup>
		Mean±SD	0.22	0.10	0.23	0.09	
		Median	0.20		0.20		
		Min, Max	0.10	0.50	0.10	0.40	
	Change	n	28		28		0.2228 <sup>b</sup>
		Mean±SD	-0.02	0.15	0.01	0.12	
		Median	0.00		0.00		
		Min, Max	-0.30	0.40	-0.40	0.20	
군내 $p$ -value		0.5449 <sup>c</sup>		0.3060 <sup>d</sup>			

혈액화학 검사		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value	
Total protein (mg/dL)	Baseline	n	32		31		0.6584 <sup>a</sup>
		Mean±SD	7.53	0.34	7.49	0.39	
		Median	7.50		7.60		
		Min, Max	6.80	8.30	6.60	8.10	
	Final visit	n	28		28		0.2814 <sup>a</sup>
		Mean±SD	7.60	0.37	7.50	0.34	
		Median	7.60		7.50		
		Min, Max	6.90	8.40	6.90	8.30	
	Change	n	28		28		0.7264 <sup>a</sup>
		Mean±SD	0.03	0.40	-0.01	0.36	
Median		0.00		0.00			
	Min, Max	-0.90	0.70	-0.70	0.80		
군내 <i>p</i> -value		0.7057 <sup>c</sup>		0.9179 <sup>c</sup>			
Albumin (g/dL)	Baseline	n	32		31		0.5737 <sup>a</sup>
		Mean±SD	4.61	0.25	4.65	0.25	
		Median	4.60		4.70		
		Min, Max	4.10	5.20	4.10	5.20	
	Final visit	n	28		28		0.8596 <sup>a</sup>
		Mean±SD	4.70	0.23	4.69	0.22	
		Median	4.70		4.65		
		Min, Max	4.30	5.10	4.30	5.20	
	Change	n	28		28		0.6294 <sup>a</sup>
		Mean±SD	0.05	0.26	0.02	0.23	
Median		0.05		0.00			
	Min, Max	-0.60	0.60	-0.40	0.50		
군내 <i>p</i> -value		0.2858 <sup>c</sup>		0.6329 <sup>c</sup>			
AST (U/L)	Baseline	n	32		31		<b>0.0326<sup>b</sup></b>
		Mean±SD	34.69	6.14	31.55	6.03	
		Median	34.00		30.00		
		Min, Max	25.00	46.00	25.00	49.00	
	Final visit	n	28		28		<b>0.0411<sup>b</sup></b>
		Mean±SD	38.57	21.95	29.46	8.03	
Median		32.00		27.00			
	Min, Max	21.00	133.00	20.00	50.00		

혈액화학 검사		시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value			
		N= 32		N= 31					
ALT (U/L)	Change	n	28		28		0.3668 <sup>b</sup>		
		Mean±SD	3.86	18.67	-1.71	6.43			
		Median	-2.00		-2.00				
		Min, Max	-12.00	87.00	-13.00	11.00			
	군내 <i>p</i> -value		0.7432 <sup>d</sup>		0.1696 <sup>c</sup>				
	Baseline	n	32		31		0.2961 <sup>a</sup>		
		Mean±SD	38.66	16.55	34.90	11.27			
		Median	34.00		36.00				
		Min, Max	13.00	83.00	16.00	58.00			
		Final visit	n	28		28		0.0794 <sup>b</sup>	
			Mean±SD	42.71	27.11	32.00			13.04
	Median		41.50		29.00				
Min, Max	13.00		159.00	15.00	59.00				
Change	n	28		28		0.4961 <sup>b</sup>			
	Mean±SD	3.61	21.16	-1.96	9.68				
	Median	-2.50		-1.50					
	Min, Max	-30.00	89.00	-19.00	23.00				
	군내 <i>p</i> -value		0.6736 <sup>d</sup>		0.2923 <sup>c</sup>				
	γ-GT (U/L)	Baseline	n	32			31		0.6401 <sup>b</sup>
Mean±SD			53.09	46.84	50.94	48.77			
Median			42.50		38.00				
Min, Max			12.00	226.00	10.00	238.00			
Final visit			n	28		28		0.3458 <sup>b</sup>	
			Mean±SD	48.39	42.69	43.79	41.94		
		Median	41.50		29.00				
		Min, Max	10.00	215.00	10.00	178.00			
Change		n	28		28		0.9804 <sup>b</sup>		
		Mean±SD	-6.11	13.78	-4.89	16.21			
		Median	-6.00		-5.00				
		Min, Max	-56.00	22.00	-60.00	47.00			
	군내 <i>p</i> -value		<b>0.0065<sup>d</sup></b>		<b>0.0052<sup>d</sup></b>				
	BUN (mg/dL)	Baseline	n	32		31		0.2064 <sup>b</sup>	
Mean±SD			16.22	3.70	14.97	3.72			
Median			16.00		15.00				
Min, Max			11.00	25.00	10.00	23.00			

혈액화학 검사		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value
Final visit	n	28		28		0.0625 <sup>a</sup>
	Mean±SD	15.68	3.58	13.93	3.30	
	Median	15.00		13.50		
	Min, Max	9.00	24.00	7.00	20.00	
Change	n	28		28		0.6862 <sup>b</sup>
	Mean±SD	-0.71	3.73	-1.11	3.69	
	Median	-1.00		-1.00		
	Min, Max	-12.00	8.00	-10.00	6.00	
군내 <i>p</i> -value		0.3994 <sup>d</sup>		0.1235 <sup>c</sup>		
Baseline	n	32		31		<b>0.0496<sup>a</sup></b>
	Mean±SD	1.00	0.21	0.90	0.19	
	Median	1.05		0.90		
	Min, Max	0.60	1.40	0.50	1.30	
Final visit	n	28		28		0.5420 <sup>a</sup>
	Mean±SD	1.04	0.19	1.00	0.20	
	Median	1.05		1.00		
	Min, Max	0.60	1.30	0.60	1.60	
Change	n	28		28		0.2501 <sup>a</sup>
	Mean±SD	0.04	0.23	0.11	0.23	
	Median	0.05		0.10		
	Min, Max	-0.50	0.60	-0.40	0.60	
군내 <i>p</i> -value		0.3835 <sup>c</sup>		<b>0.0148<sup>c</sup></b>		
Baseline	n	32		31		0.8365 <sup>b</sup>
	Mean±SD	99.47	19.02	101.74	21.81	
	Median	98.00		96.00		
	Min, Max	66.00	151.00	70.00	154.00	
Final visit	n	28		28		0.7805 <sup>b</sup>
	Mean±SD	97.71	29.41	93.21	21.01	
	Median	90.50		91.00		
	Min, Max	60.00	187.00	66.00	149.00	
Change	n	28		28		0.9021 <sup>b</sup>
	Mean±SD	-2.57	22.54	-6.00	17.36	
	Median	-6.50		-6.50		
	Min, Max	-40.00	70.00	-42.00	29.00	
군내 <i>p</i> -value		0.0857 <sup>d</sup>		0.0785 <sup>c</sup>		

혈액화학 검사		시험군 N= 32		대조군 N= 31		군간 <i>p</i> -value		
Uric acid (mg/dL)	Baseline	n	32		31		0.5869 <sup>b</sup>	
		Mean±SD	5.14	1.55	5.03	1.91		
		Median	5.40		4.60			
			Min, Max	2.50	8.00	2.50	11.10	
	Final visit	n	28		28		0.1881 <sup>a</sup>	
		Mean±SD	5.59	1.42	5.01	1.80		
		Median	5.65		4.50			
			Min, Max	3.00	8.10	2.30	9.60	
	Change	n	28		28		0.0592 <sup>a</sup>	
		Mean±SD	0.39	0.80	-0.03	0.83		
		Median	0.25		0.05			
			Min, Max	-1.00	2.40	-1.70	1.60	
군내 <i>p</i> -value		<b>0.0160<sup>c</sup></b>		0.8401 <sup>c</sup>				
Total cholesterol (mg/dL)	Baseline	n	32		31		0.0605 <sup>b</sup>	
		Mean±SD	189.63	32.82	203.68	35.69		
		Median	195.00		206.00			
			Min, Max	131.00	254.00	90.00	260.00	
	Final visit	n	28		28		0.8165 <sup>a</sup>	
		Mean±SD	206.04	39.05	208.29	32.90		
		Median	211.00		206.00			
			Min, Max	138.00	289.00	141.00	270.00	
	Change	n	28		28		0.2638 <sup>a</sup>	
		Mean±SD	15.93	24.44	8.54	24.56		
		Median	12.00		14.50			
			Min, Max	-20.00	74.00	-36.00	51.00	
군내 <i>p</i> -value		<b>0.0019<sup>c</sup></b>		0.0769 <sup>c</sup>				
Triglyceride (mg/dL)	Baseline	n	32		31		0.6255 <sup>b</sup>	
		Mean±SD	171.09	101.72	180.52	147.93		
		Median	140.50		141.00			
			Min, Max	63.00	564.00	45.00	664.00	
	Final visit	n	28		28		0.6820 <sup>b</sup>	
		Mean±SD	192.00	147.56	181.50	186.99		
		Median	140.00		133.50			
			Min, Max	37.00	568.00	41.00	956.00	

혈액화학 검사		시험군 N= 32 28		대조군 N= 31 28		군간 <i>p</i> -value	
LDL cholesterol (mg/dL)	Change	n					
		Mean±SD	13.61	115.14	4.39	104.68	0.5552 <sup>b</sup>
		Median	-10.50		1.00		
		Min, Max	-110.00	380.00	324.00	292.00	
		군내 <i>p</i> -value	0.6571 <sup>d</sup>		0.7393 <sup>d</sup>		
	Baseline	n	25		25		
		Mean±SD	116.00	38.39	140.20	36.95	<b>0.0277<sup>a</sup></b>
		Median	115.00		145.00		
		Min, Max	49.00	198.00	52.00	200.00	
	Final visit	n	28		27		
Mean±SD		123.82	38.56	122.48	27.85	0.8835 <sup>a</sup>	
Median		129.50		120.00			
	Min, Max	35.00	186.00	60.00	188.00		
Change	n	22		23			
	Mean±SD	3.41	27.28	-11.57	20.68	<b>0.0434<sup>a</sup></b>	
	Median	-1.50		-12.00			
	Min, Max	-45.00	80.00	-46.00	26.00		
	군내 <i>p</i> -value	0.5640 <sup>c</sup>		<b>0.0136<sup>c</sup></b>			
HDL cholesterol (mg/dL)	Baseline	n	32		31		
		Mean±SD	49.63	11.07	50.55	13.81	0.7703 <sup>a</sup>
		Median	48.50		49.00		
		Min, Max	31.00	70.00	27.00	79.00	
	Final visit	n	28		28		
		Mean±SD	48.07	13.40	53.96	15.89	0.1813 <sup>b</sup>
Median		46.50		50.00			
	Min, Max	30.00	76.00	26.00	89.00		
Change	n	28		28			
	Mean±SD	-1.14	9.51	4.04	10.55	0.1396 <sup>b</sup>	
	Median	0.50		2.50			
	Min, Max	-33.00	13.00	-14.00	45.00		
	군내 <i>p</i> -value	0.9311 <sup>d</sup>		<b>0.0338<sup>d</sup></b>			

Change = Final visit - Baseline

a: Independent two-sample *t*-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired *t*-test

d: Wilcoxon's signed rank test

6.2.4. 실험식검사: 소변 검사 결과 분석

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 실험실검사: 소변 검사 결과 분석을 표 20 에 정리하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 실험실검사: 소변 검사 결과는 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다.

표 20. 소변 검사 결과 분석 (Safety 군)

소변 검사		시험군		대조군		군간 <i>p</i> -value	
		N= 32		N= 31			
pH	Baseline	n	32	30		0.9705 <sup>b</sup>	
		Mean±SD	5.72	0.86	5.72		0.89
		Median	5.50		5.50		
		Min, Max	5.00	8.00	5.00	8.00	
	Final visit	n	27	28		0.2285 <sup>b</sup>	
		Mean±SD	5.70	0.76	6.13		1.11
		Median	5.50		6.00		
		Min, Max	5.00	7.50	5.00	8.00	
	Change	n	27	27		0.5632 <sup>b</sup>	
		Mean±SD	0.00	0.94	0.33		0.99
		Median	0.00		0.00		
		Min, Max	-2.00	1.50	-1.50	3.00	
군내 <i>p</i> -value		0.9248 <sup>d</sup>		0.1292 <sup>d</sup>			

Change = Final visit - Baseline

a: Independent two-sample t-test

b: Mann-Whitney U test

c: paired t-test

d: Wilcoxon's signed rank test

6.2.5. 실험실검사: 혈액학 검사의 정상/비정상 결과 분석

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 실험실검사: 혈액학 검사의 정상/비정상 결과 분석을 표 21 에 정리하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 혈액학 검사의 정상/비정상 결과는 각 군내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다.

표 21. 혈액화학 검사의 정상/비정상 결과 분석 (Safety 군)

Baseline	Final visit	시험군 N=32				대조군 N=31				군간 <i>p</i> -value
		N	정상	비정상	N	정상	비정상			
			n (%)	n (%)		n (%)	n (%)			
WBC	정상		27 (96.43)	1 (3.57)		23 (82.14)	3 (10.71)	0.6115 <sup>f</sup>		
	비정상	28	0 (0.00)	0 (0.00)	28	2 (7.14)	0 (0.00)			
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>				
RBC	정상		24 (85.71)	2 (7.14)		26 (92.86)	2 (7.14)	1.0000 <sup>f</sup>		
	비정상	28	1 (3.57)	1 (3.57)	28	0 (0.00)	0 (0.00)			
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			0.5000 <sup>h</sup>				
Hemoglobin	정상		24 (85.71)	2 (7.14)		24 (85.71)	2 (7.14)	1.0000 <sup>f</sup>		
	비정상	28	0 (0.00)	2 (7.14)	28	0 (0.00)	2 (7.14)			
	군내 <i>p</i> -value		0.5000 <sup>h</sup>			0.5000 <sup>h</sup>				
Hematocrit	정상		18 (64.29)	5 (17.86)		19 (67.86)	5 (17.86)	1.0000 <sup>f</sup>		
	비정상	28	3 (10.71)	2 (7.14)	28	0 (0.00)	4 (14.29)			
	군내 <i>p</i> -value		0.7266 <sup>h</sup>			0.0625 <sup>h</sup>				
Platelets	정상		28 (100.0)	0 (0.00)		28 (100.0)	0 (0.00)	—		
	비정상	28	0 (0.00)	0 (0.00)	28	0 (0.00)	0 (0.00)			
	군내 <i>p</i> -value		—			—				

e: Pearson's chi-square test

f: Fisher's exact test

g: McNemar's test

h: McNemar's Exact test

6.2.6. 실험실검사: 혈액화학 검사의 정상/비정상 결과 분석

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 실험실검사: 혈액화학 검사의 정상/비정상 결과 분석을 표 22 에 정리하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 시험군의 군내 교에서 Total cholesterol 이 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (*p*-value: 0.0215)

이 외에 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 혈액화학 검사의 정상/비정상 결과 항목은 없었다.

표 22. 혈액화학 검사의 정상/비정상 결과 분석 (Safety 군)

Baseline	Final visit	시험군 N=32				대조군 N=31				군간 <i>p</i> -value
		N	정상	비정상	N	정상	비정상			
			n (%)	n (%)		n (%)	n (%)			
ALP	정상		26 (92.86)	0 (0.00)		28 (100.0)	0 (0.00)	—		
	비정상	28	0 (0.00)	2 (7.14)	28	0 (0.00)	0 (0.00)			
	군내 <i>p</i> -value		—			—				

Baseline	Final visit	시험군 N=32				대조군 N=31				군간 <i>p</i> -value		
		N	정상		비정상		N	정상			비정상	
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
Total bilirubin	정상		26 (92.86)	1 (3.57)		27 (96.43)	0 (0.00)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	28	1 (3.57)	0 (0.00)	28	1 (3.57)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
Total protein	정상	28	26 (92.86)	2 (7.14)	28	28 (100.0)	0 (0.00)	0.4918 <sup>f</sup>				
	비정상		0 (0.00)	0 (0.00)		0 (0.00)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		0.5000 <sup>h</sup>			—						
Albumin	정상		28 (100.0)	0 (0.00)		28 (100.0)	0 (0.00)	—				
	비정상	28	0 (0.00)	0 (0.00)	28	0 (0.00)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		—			—						
AST	정상		19 (67.86)	2 (7.14)		24 (85.71)	1 (3.57)	0.5943 <sup>f</sup>				
	비정상	28	3 (10.71)	4 (14.29)	28	2 (7.14)	1 (3.57)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
ALT	정상		16 (57.14)	3 (10.71)		19 (67.86)	4 (14.29)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	28	3 (10.71)	6 (21.43)	28	1 (3.57)	4 (14.29)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			0.3750 <sup>h</sup>						
γ-GT	정상		15 (53.57)	1 (3.57)		17 (60.71)	0 (0.00)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	28	3 (10.71)	9 (32.14)	28	2 (7.14)	9 (32.14)					
	군내 <i>p</i> -value		0.6250 <sup>h</sup>			0.5000 <sup>h</sup>						
BUN	정상		23 (82.14)	1 (3.57)		25 (89.29)	1 (3.57)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	28	2 (7.14)	2 (7.14)	28	2 (7.14)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
Creatinine	정상		23 (82.14)	2 (7.14)		26 (92.86)	1 (3.57)	0.6110 <sup>f</sup>				
	비정상	28	3 (10.71)	0 (0.00)	28	1 (3.57)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
Glucose	정상		16 (57.14)	3 (10.71)		16 (57.14)	4 (14.29)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	28	4 (14.29)	5 (17.86)	28	4 (14.29)	4 (14.29)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
Uric acid	정상		21 (75.00)	1 (3.57)		21 (75.00)	3 (10.71)	0.6144 <sup>f</sup>				
	비정상	28	3 (10.71)	3 (10.71)	28	1 (3.57)	3 (10.71)					
	군내 <i>p</i> -value		0.6250 <sup>h</sup>			0.6250 <sup>h</sup>						
Total cholesterol	정상		9 (32.14)	9 (32.14)		5 (17.86)	7 (25.00)	0.8057 <sup>e</sup>				
	비정상	28	1 (3.57)	9 (32.14)	28	4 (14.29)	12 (42.86)					
	군내 <i>p</i> -value		0.0215 <sup>h</sup>			0.5488 <sup>h</sup>						
Tri glyceride	정상		16 (59.26)	1 (3.70)		22 (78.57)	1 (3.57)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	27	2 (7.41)	8 (29.63)	28	2 (7.14)	3 (10.71)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						

Baseline	Final visit	시험군 N=32				대조군 N=31				군간 $\rho$ -value		
		N	정상		비정상		N	정상			비정상	
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
LDL cholesterol	정상		1 (4.55)	2 (9.09)		3 (13.04)	5 (21.74)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	22	5 (22.73)	14 (63.64)	23	5 (21.74)	10 (43.48)					
	군내 $\rho$ -value		0.4531 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
HDL cholesterol	정상	28	15 (53.57)	6 (21.43)	28	17 (60.71)	3 (10.71)	0.4790 <sup>f</sup>				
	비정상		3 (10.71)	4 (14.29)		3 (10.71)	5 (17.86)					
	군내 $\rho$ -value		0.5078 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						

e: Pearson's chi-square test

f: Fisher's exact test

g: McNemar's test

h: McNemar's Exact test

### 6.2.7. 실험실검사: 소변 검사의 정상/비정상 결과 분석

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 실험실검사: 소변 검사의 정상/비정상 결과 분석을 표 23 에 정리하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 소변 검사의 정상/비정상 결과는 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다.

표 23. 소변 검사의 정상/비정상 결과 분석 (Safety 군)

Baseline	Final visit	시험군 N=32				대조군 N=31				군간 $\rho$ -value		
		N	정상		비정상		N	정상			비정상	
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
pH	정상		27 (100.0)	0 (0.00)		27 (100.0)	0 (0.00)	—				
	비정상	27	0 (0.00)	0 (0.00)	27	0 (0.00)	0 (0.00)					
	군내 $\rho$ -value		—			—						
RBC	정상		19 (70.37)	2 (7.41)		23 (85.19)	0 (0.00)	0.4889 <sup>f</sup>				
	비정상	27	4 (14.81)	2 (7.41)	27	2 (7.41)	2 (7.41)					
	군내 $\rho$ -value		0.6875 <sup>h</sup>			0.5000 <sup>h</sup>						
WBC	정상		25 (92.59)	1 (3.70)		20 (74.07)	3 (11.11)	0.3507 <sup>f</sup>				
	비정상	27	0 (0.00)	1 (3.70)	27	3 (11.11)	1 (3.70)					
	군내 $\rho$ -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
Protein	정상		27 (100.0)	0 (0.00)		26 (96.30)	0 (0.00)	—				
	비정상	27	0 (0.00)	0 (0.00)	27	1 (3.70)	0 (0.00)					
	군내 $\rho$ -value		—			1.0000 <sup>h</sup>						

Baseline	Final visit	시험군 N=32				대조군 N=31				군간 <i>p</i> -value		
		N	정상		비정상		N	정상			비정상	
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
Glucose	정상		26 (96.30)	1 (3.70)		26 (96.30)	1 (3.70)	1.0000 <sup>f</sup>				
	비정상	27	0 (0.00)	0 (0.00)	27	0 (0.00)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			1.0000 <sup>h</sup>						
Specific gravity	정상		26 (96.30)	0 (0.00)		27 (100.0)	0 (0.00)	—				
	비정상	27	1 (3.70)	0 (0.00)	27	0 (0.00)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		1.0000 <sup>h</sup>			—						

e: Pearson's chi-square test

f: Fisher's exact test

g: McNemar's test

h: McNemar's Exact test

### 6.2.8. 이학적검사

인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 이학적검사의 정상/비정상 결과 분석을 표 24 에 정리하였다. Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 이학적검사의 정상/비정상 결과는 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다.

표 24. 이학적검사의 정상/비정상 결과 분석 (Safety 군)

Baseline	Final visit	시험군 N=32				대조군 N=31				군간 <i>p</i> -value		
		N	정상		비정상		N	정상			비정상	
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
Heart/ Circulation	정상		0 (0.00)	0 (0.00)		1 (3.23)	0 (0.00)	—				
	비정상	32	0 (0.00)	0 (0.00)	31	0 (0.00)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		—			—						
Others	정상		1 (3.13)	0 (0.00)		0 (0.00)	0 (0.00)	—				
	비정상	32	0 (0.00)	0 (0.00)	31	0 (0.00)	0 (0.00)					
	군내 <i>p</i> -value		—			—						

e: Pearson's chi-square test

f: Fisher's exact test

g: McNemar's test

h: McNemar's Exact test

## 7. 결과 및 고찰

경증 간 기능 저하 대상자, 즉, 만 19세 이상 만 70세 미만의 건강한 성인으로 간 기능이 손상되어 자각증상과 2주 이상 AST 수치가 25 IU/L 이상의 대상자에서 인삼종자오일(GSO)을 하루 2그램 12주간 복용한 후 간 기능 개선효과 등의 기능성 및 안전성을 평가하고자 실시한 단일기관, 무작위배정, 이중눈가림, 위약대조, 비교 인체적용시험이었다. 총 167명이 스크리닝을 진행하여 대부분 2주이상 AST 수치가 25 IU/L 이상유지 되지 않아 103명이 스크리닝 탈락하였고 64명이 무작위배정되어 시험군 33명 대조군 31명 등록 되었다. 시험군에서 등록 후 시험식품 복용하지 않은 1명을 제외하고 4명이 중도 탈락 하였으며, 대조군에서는 중도탈락 4명 완료 27명이었다. 평균연령, 남 여의 비율, 평균신장, 흡연, 식사 음주 습관, 현 병력, 과거병력, 선행약물 복용력 등에서 군 간의 통계적 유의한 차이는 없었다. 기능성 자료에 대한 분석은 FA군과 PP군을 대상으로 하고 주 분석군은 FA군으로 하였다. 안전성 자료에 대한 평가는 Safety군 그리고 인구통계학적 및 기타 기저 특성에 대한 분석은 FA군을 대상으로 하였다.

본 인체적용시험의 일차 기능성 평가 변수는 인체적용시험용 식품 복용 전 (V2) 대비 복용 12주 (V4) 후 시점에서의 AST 수치의 감소치이며, 위약에 비해 시험약이 우월한지를 입증하는 것이었다. FA 군의 인체적용시험용 식품 복용 전과 복용 후 AST 수치 분석 결과를 살펴보면, 인체적용시험용 식품 복용 전 AST 수치는 시험군의 경우  $34.15 \pm 6.09$ , 대조군의 경우  $31.15 \pm 6.09$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 AST 수치는 시험군의 경우  $37.44 \pm 21.92$ , 대조군의 경우  $29.30 \pm 8.13$ 으로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. (기저:  $p$ -value = 0.0479, 종료:  $p$ -value = 0.0676) 각 군 내 AST 수치 감소치는 시험군의 경우  $3.30 \pm 18.83$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-1.85 \pm 6.51$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 AST 수치 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. PP군의 분석 결과를 살펴보면, 각 군 내 AST 수치 감소치는 시험군의 경우  $2.60 \pm 21.28$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-2.82 \pm 6.05$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 결과적으로 일차 변수인 AST 수치의 감소치가 위약에 비해 시험식품이 우월한지를 입증하는 것은 보여주지 못하였다. ALT 수치의 경우 FA 군의 분석 결과, 식품 복용 전 ALT 수치는 시험군의 경우  $39.19 \pm 17.01$ , 대조군의 경우  $33.70 \pm 11.20$ 으로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 ALT 수치는 시험군의 경우  $42.63 \pm 27.62$ , 대조군의 경우  $31.70 \pm 13.19$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 각 군 내 ALT 수치 감소치는 시험군의 경우  $3.44 \pm 21.50$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-2.00 \pm 9.86$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. PP군의 분석 결과를 살펴보면, 각 군 내 ALT 수치 감소치는 시험군의 경우  $2.85 \pm 23.95$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-3.91 \pm 8.19$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 또한 각 군 내 ALT 수치 개선율은 시험군의 경우  $12.04 \pm 52.52$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-4.80 \pm 27.21$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. PP군의 각 군 내 ALT 수치 개선율은 시험군의 경우  $10.58 \pm 55.82$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-10.29 \pm 21.64$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. ALT 수치의 개선율의 FA분석 결과 복용 전 AST 수치는 시험군의 경우  $34.15 \pm 6.09$ , 대조군의 경우  $31.15 \pm 6.09$ 로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 인체적용시험용 식품 복용 후 AST 수치는 시험군의 경우 시험군의 경우  $37.44 \pm 21.92$ , 대조군의 경우  $29.30 \pm 8.13$ 으로 두 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 각 군 내 AST 수치 개선율은 통계적으로 유의한 차이가 없었으나 PP분석결과 각 군 내 AST 수치 개선율은 시험군의 경우  $3.57 \pm 47.99$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $-8.91 \pm 18.18$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 식품 복용 전과 복용 후 TG 수치의 감소치에서 각 군 내 TG 수치 감소치는 시험군의 경우  $13.81 \pm 117.22$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $3.00 \pm 106.41$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. TG 수치의 개선율은 통계적 차이가 없었으며, 각 군 내  $\gamma$ -GT 수치 감소치는 시험군의

경우  $-6.30 \pm 13.96$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 대조군의 경우  $-5.00 \pm 16.50$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 그러나 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 각 군 내  $\gamma$ -GT 수치 개선율은 시험군의 경우  $-9.35 \pm 23.16$ 으로 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 대조군의 경우  $-10.81 \pm 24.22$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었으나 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. Lipid profiles 중에 Total cholesterol은 차이가 없었으며 각 군 내 HDL cholesterol 수치 감소치는 시험군의 경우  $-1.63 \pm 9.47$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $4.37 \pm 10.60$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었으나 군간 차이는 보여주지 못하였다. 군 내 HDL cholesterol 수치 감소치 PP분석 결과 시험군의 경우  $-3.30 \pm 9.94$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었고, 대조군의 경우  $5.00 \pm 11.52$ 로 통계적으로 유의한 차이가 있었고 감소치의 군 간 차이는 통계적으로 유의한 차이가 있었다. LDL cholesterol 수치 감소치는 통계적 차이를 보여주지 못하였고 Lipid profiles 수치의 개선율도 각 항목의 개선수치와 비슷한 양상을 보여 주었다.

안전성 분석에서, 이상반응은 시험군에서 8명 (25.00%)의 대상자에게 총 10건이 발생하였고, 대조군에서 7명 (22.58%)의 대상자에게 총 9건이 발생하였다. 이상반응 발현에 대한 군 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. 시험군과 대조군에서 발생한 이상반응중 이상반응 정도를 살펴보면, 시험군의 경우 경증이 9건, 중등증이 1건, 대조군의 경우 경증이 8건, 중등증이 1건으로 보고되었다. 이상약물반응은 시험군에서 2명 (6.25%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였고, 대조군에서 2명 (6.45%)의 대상자에게 총 3건이 발생하였다. 중대한 이상반응은 시험군에서 0명 (0.00%)의 대상자에게 총 0건이 발생하였으며, 대조군에서 1명 (6.45%)의 대상자에게 총 1건이 발생하였다. 중대한 이상반응으로 보고된 대상자는 대조군에서 1건이 나타났으며, 이상반응명은 피부찰과상(화상) 및 발목근육통으로 보고되었다. 이상반응 처리는 입원/입원 기간 연장이며, 이상반응 지속, 치료 진행중으로 보고되었다. 예상하지 못한 이상약물반응은 시험군에서 2명 (6.25%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였고, 대조군에서 2명 (6.45%)의 대상자에게 총 2건이 발생하였다. 이상약물반응, 중대한 이상반응, 예상하지 못한 이상약물반응에 대한 군 간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다. 활력징후 분석 결과, 체온에서 시험군 군내에서 평균  $0.11^{\circ}\text{C}$  증가하여 통계적으로 유의한 차이가 있었고, (시험군:  $p$ -value = 0.0442) 인체적용시험용 식품 복용 전 대비 복용 후 군 간 차이가 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 이 외에 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 활력징후 항목은 없었다. 혈액학 검사 결과 Safety 군의 분석 결과를 살펴보면, 대조군의 군내에서 RBC, Hemoglobin, Hematocrit이 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (RBC:  $p$ -value = 0.0309, Hemoglobin:  $p$ -value = 0.0205, Hematocrit:  $p$ -value = 0.0385). 혈액화학 검사 결과 두 군 간 비교에서 AST, Creatinine, LDL cholesterol이 통계적으로 유의한 차이가 있었고, (AST:  $p$ -value

=0.0326, Creatinine:  $p$ -value =0.0496, LDL cholesterol:  $p$ -value =0.0277) 인체적용시험용 식품 복용 후 두 군간 비교에서 AST가 통계적으로 유의한 차이가 있었다. (AST:  $p$ -value =0.0411) 소변 검사 결과는 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다. 혈액학 검사, 혈액화학 검사, 소변 검사의 정상/비정상 결과는 각 군 내 및 군 간 비교에 있어 통계적으로 유의한 차이가 관찰된 항목이 없었다.

인삼의 사포닌 성분은 간세포의 단백질 합성과 간세포의 재생을 촉진하는 작용이 있다고 알려져 있다. 사포닌성분은 실험적으로 여러 가지 간 독성물질로 야기되는 간세포의 괴사 등 조직학적 병변을 경감시키고 간의 독성대사에 관여하는 효소(Epoxide hydratase, glutathione transferase, epoxide hydroxylase)를 활성화시켜 간장장애를 개선, 예방하는 효과가 있다고 보고되어 왔다. 이번 인체적용시험에서는 경증 간 기능 저하 대상자, 즉, 2주 이상 AST 수치가 25 IU/L 이상의 대상자에서 인삼종자오일(GSO) 하루 2그램을 12주간 복용한 후 간 기능 개선효과 등의 기능성 및 안전성을 평가하고자 실시하였으나 위약에 비하여 우월함을 보여주지 못하였다. 기능성을 보여주지 못하였으나 안전성 면에서는 12주 복용기간 동안 큰 안전성 이슈 없이 안전한 식품으로 판단된다.

## 8) 시제품 제작

○ 로스팅 및 압출 처리 인삼종자오일 추출물 연질캡셀 시제품 제작

가. 로스팅 및 압출 처리 인삼종자오일 추출물 연질캡셀 조성

내용	%	750	(mg)
인삼종자오일	66.7	500	
돈피 젤라틴	26.5	199	
글리세린	3.33	25	
D-솔비톨	3.33	25	
코치닐추출색소	0.07	0.5	
카라멜색소	0.07	0.5	



시제품 사진

○ 제제 안정성 분석

가. 로스팅 및 압출 처리 인삼종자오일 추출물

가속조건(40°C, 75%RH)에서 6개월간 안정성시험을 하였을 때 함량의 변화가 초기 대비 5%이내의 변화를 갖는 안정한 원료를 확정하였다.

시험항목	기준	Initial	2개월		4개월		6개월		Initial 대비 변화 비율
함량	함량변화비율 5%이내 (Rg2 함량 3.5%)	100	99.2	99.2	98.6	98.6	97.5	97.6	-2.4 %
			99.2		98.3		97.2		
			99.3		99.1		98.1		

나. 로스팅 및 압출 처리 인삼종자오일 시제품(연질캡셀)

가속조건(40°C, 75%RH)에서 6개월간 안정성시험을 하였을 때 함량의 변화가 초기 대비 5%이내의 변화를 갖는 안정한 처방을 확립하였다.

시험항목	기준	Initial	2개월		4개월		6개월		Initial 대비 변화 비율
함량	함량변화비율 5%이내 (Rg2 함량 3.5%)	100	98.9	99.1	98.5	98.3	97.8	97.5	-2.5%
			99.7		98.3		97.2		
			98.7		98.1		97.6		

표준제조공정에 의해 제조된 로스팅 및 압출 처리 인삼종자오일 추출물 원료 및 시제품 처방을 통해 확정된 제제 모두에서 가속조건시 6개월 후 초기함량대비 5% 이내의 원료와 제품임을 확인하였다.

○ 시제품의 경제성 분석

(1) 시제품의 단가

- 인삼종자오일 1 Kg 단가 1,760,000원
- 20,000정 연질캡셀 제조시 인삼종자오일 10 Kg (17,600,000원) 소요
- 포장 비용 (2,400,000원) 총 20,000,000원 소요
- 인삼종자오일 연질캡셀 750 mg 1정 당 1,000원 소요

2) 1일 복용량 (2 g) 단가

- 1일 복용량 2 g(인삼종자오일 기준)으로 산정하였으므로 1일 4연질캡셀(1연질캡셀 750 mg) 복용 단가는 4,000원으로 산정

3) 120정 포장 단위 판매 전략

- 120정 포장 인삼종자오일 건강기능식품 단가 120,000원으로 판매가격 200,000원으로 판매할 계획임.

[사업화 계획]

구분		코드번호		
		B-13-01		
		( 2019 년 ) 개발 종료 후 1년	( 2020 년 ) 개발 종료 후 2년	( 2021 년 ) 개발 종료 후 3년
국 내	시장점유율(%)	5%	20%	30%
	판매량(단위:1개월분/1box)	B to B/ 5,000 box	B to B/ 5,000 box	B to B/ 10,000 box
		B to C/ 1,000 box	B to C/ 5,000 box	B to C/ 10,000 box
	판매단가(원)	B to B/ 150,000원(1box)	B to B/ 150,000원(1box)	B to B/ 150,000원(1box)
B to C/ 200,000원(1box)		B to C/ 200,000원(1box)	B to C/ 200,000원(1box)	
국내매출액(백만원)		950백만원	1,750백만원	3,500백만원
해 외	시장점유율(%)		0.01%	0.02%
	판매량(단위:1개월분/1box)		B to B/ 1,000 box	B to B/ 5,000 box
			B to C/ 5,000 box	B to C/ 10,000 box
	판매단가(\$)		B to B/ 150(\$/1box)	B to B/ 150(\$/1box)
		B to C/ 200(\$/1box)	B to C/ 200(\$/1box)	
해외매출액(백만\$)			1백만\$	3백만\$
당사 생산능력1)		원료 20kg 생산가능 캡셀제조 : 외주	원료 40kg 생산가능 캡셀제조 : 외주	원료 80kg 생산가능 캡셀제조 : 외주

#### 4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

##### 4-1. 목표달성도

구분	세부연구목표	평가의 착안점 및 기준	목표의 달성도
1차년도 (2014)	인삼종자의 수집 안전성 시험	전국 인삼재배지로부터 인삼종자의 대량 수집 여부 독성시험평가(1) 여부	100%
	종자별 유효성분과 지표성분의 함량 인삼종자오일의 추출 조건 최적화	종자별 유효성분과 지표성분의 함량 분석 여부 추출 조건 별(압출법, 초임계법, 용매추출) 성분 분석 여부	100%
	비알코올성지방간에 효과가 우수한 인삼 종자오일 제제의 세 포수준에서 스크리닝	비알코올성지방간의 세포모델에서 비알코올성지방간에 효과가 우수한 인삼종자오일 제제의 세포수준에서 스크리닝 여부	100%
2차년도 (2015)	인삼종자오일의 제조 안정성시험	인삼종자오일의 제조 여부 인삼종자오일의 안정성시험 여부	100%
	기능성 성분 대량 분리 동정	prosapogenin 성분 대량 분리 동정 여부	100%
	인체시험 준비	자료 검토 및 전략 수립 여부	100%
	1차년도에 선정된 인삼종자오일 제제를 대상으로 비알코올성 지방간 동물모델에서 약효 및 기전 규명	비알코올성지방간 동물모델을 이용하여 제제의 약효를 평가하고 작용기전을 분자수준에서 규명 여부	100%
3차년도 (2016)	인삼종자오일의 제조 공정 최적화 불포화지방산 및 prosapogenin 성분 고농도 함유 인삼종 자오일 개발 안전성 시험 건강기능식품 원료 개별인정 신청	인삼종자오일의 제조공정 표준화 여부 Ultrasonication 과 열 처리 조건에 따른 성분 분석을 통한 최적 불포화지방산 및 prosapogenin 성분 고농도 함유 인삼종자오일 개발 여부 독성시험평가(2) 여부 건강기능식품 원료 개별인정 신청 여부	100%
	인삼종자오일의 성분 표준화	인삼종자오일의 성분 표준화 여부	100%
	인체시험	인체적용시험 여부	100%

## 4-2. 관련분야 기여도

- 인삼종자오일 추출물의 간기능 개선 기능성을 실험 및 동물모델을 이용한 효능을 확인함으로써 국내 인삼 부산물을 기반으로 한 기능성 식품 개발의 가능성을 제시하였으며 농가 소득 증대를 기대할 수 있는 계기를 마련하였음.
- 국내산 농산물의 기능성 성분을 규명하고 특정 성분을 표준화하여 제조하는 원료 제조방법 연구를 수행하여 원료 표준화를 확립하였음. 이렇게 제조된 원료의 품질 관리를 위한 기준규격을 설정하여 기능성 소재의 품질 관리에 중요한 지표로서 활용이 가능하도록 하였음.
- 원물소재의 특정 성분 함량을 강화하기 위하여 초음파 추출조건을 최적화하고 생산 과정을 확립함으로써 국내 인삼 부산물의 표준화된 원료 그 자체로서의 상품성을 높이고 인삼종자오일 추출물을 이용하여 지표성분 함량을 표준화하고 고부가가치 기능성 소재로 개발함으로써 인삼종자오일의 산업적 가치를 증대시킴.
- 국내산 천연물로부터 도출된 인삼종자오일의 간기능 개선 및 항산화 등의 기능성을 입증함으로써 기능성 식품 마켓쉐어의 대부분을 차지하는 간기능에 대한 해결책으로 활용될 경우 관련질환의 발병률 감소와 국민건강 증진에 기여할 것임.
- 국내산 원료를 이용한 간기능 개선능을 국제 저널에 게재하고 발표함으로써 국내산 기능성 소재의 가능성을 제시하고 기능성 원료개발을 통해 국내 식품관련 기술력을 인정받을 수 있는 계기를 마련하였음.

## 5. 연구결과의 활용계획

구분	기술실시 (이전)	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	기타
활용계획	1	1	-	3	1	2

- 과제 종료 후 인체적용시험 결과를 통해 참여기업인 충북홍삼영농조합법인에 기술실시를 실시하고, 개별인정형 건강기능식품으로 개발할 예정 임. 인체적용 시험 결과 추가 연구가 필요하다고 판단되면 보완하여 추가 시험을 수행하여 제품화 할 예정 임.
- 본 연구의 인체적용시험결과 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 결과를 얻지 못하였지만 독성학적인 이상반응이 없는, 다시말해 식품 안전성 측면에서는 안전함이 입증된바, 현재 잘 알려진 인삼의 기능성을 활용하여 시제품(진생유)을 일반식품 개발 및 상품화를 진행할 예정임.
- 개발된 인삼 종자오일은 원가가 너무 높아 그 활용도가 제한적임. 따라서 활용도를 높이기 위해서는 다른 기능성 오일등과 혼합하여 제조하는 방법을 더 진행하여 제품을 개발할 예정임.
- 향후 식품소재 활용을 위하여 식용원료 인허가를 위하여 인삼재배 부산물인 지상부에 대하여 식품원료로 사용은 어려우나 기능성성분의 함량 등 여러 가지 경제적 부가가치를 생각할 때 지상부의 활용이 절실히 요구되는바 생산자단체 등 및 식약처 및 관계기관과 협의하여 식품원료로서 인삼 지상부의 등록을 추진하여 향후 개발제품에 대하여 건강기능식품(개별인정형)으로 등록을 추진할 예정임.
- 과제가 종료 후에 개별인정형 간기능 개선 건강기능식품 허가를 취득하여 진생유(ginseng you)이라고 하는 상품명으로 제품을 출시할 예정임. 현 단계에서 개별인정형 제품으로의 등록 추진이 어렵다면, 시제품을 보완하여 일반식품 원료의 제품으로 생산할 예정이고 이에 따르는 제품생산 공정도 개선할 예정 임.
- 본 연구를 진행하면서 얻어진 기술 및 정보는 관련 학회 및 산업체 연구원에게 세미나 등을 통해 홍보 및 교육을 진행할 예정이며, 연구기간 중에도 여러 학회 등에서 (고려인삼포럼, 한국식품과학회, 한국식품영양과학회) 인삼종자오일 기능성 신소재로서의 유용성에 대하여 교육지도할 예정임.

## 6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

인삼의 사포닌 성분은 간세포의 단백질 합성과 간세포의 재생을 촉진하는 작용이 있다. 사포닌성분은 실험적으로 여러 가지 간 독성물질로 야기되는 간세포의 과사등 조직학적 병변을 경감시키고 간의 독성대사에 관여하는 효소(Epoxide hydratase, glutathione transferase, epoxide hydroxylase)를 활성화 시켜 간장장애를 개선, 예방하는 효과가 있다. 한양대 의대 구국회 교수는 바이러스 B형 간염환자를 대상으로 한 임상실험에서 인삼투여가 식욕, 소화상태, 두통, 오심, 구토등의 자각증상의 개선효과 및 급성간염의 조기회복 촉진과 만성화 예방에 도움을 준다고 보고하였다. 일본 Nissei 병원 Yammamoto 박사는 만성간염(바이러스 C형)환자에 대해서도 인삼투여가 간기능의 생화학적 지표개선에 유용성이 있고, 한방제제인 소시호탕과 병용시 보다 개선효과가 촉진되었다고 보고하였다. 또한, 인삼사포닌 성분은 알콜대사에 관여하는 알콜 분해효소(alcohol dehydrogenase), 아세트알데히드 분해효소(acetylaldehyde dehydrogenase)의 활성을 증가시켜 알콜섭취로 야기되는 유해한 작용을 경감시켜 알콜독성에 예방적 효과를 나타낸다. 실제로 사람을 대상으로 한 실험에서도 술을 마신후 40분이 경과하였을 때 혈중 알콜농도가 술만 마신 사람(0.18%)에 비하여 인삼엑기스와 술을 함께 마신 경우(0.11 %)가 훨씬 낮다는 사실이 입증되었다.

## 7. 연구개발결과의 보안등급

해당사항 없음.

## 8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

해당사항 없음.

## 9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

### ○ 기술적 위험요소 분석

인삼종자오일 추출, 성분분리시 폭발성이 있는 유기용매 사용시 후드 장치가 되어있는 실험실 공간에서 시험하도록 함.

1협동 : 동물 및 세포 실험시 별도의 실험 센터 또는 셸룸을 이용하여, 오염 및 교차 오염을 방지하고 있음. 세포 실험실은 청결 및 위생을 위하여 독립 공간이며, 동물 실험센터의 경우 SPF10000 grade 이상의 청정 실험 센터를 이용.

### ○ 안전관리대책

연구실 안전환경 조성에 관한 법률」에 따라 산단에서 정기적으로 ,해당 연구실 안전점검 및 정밀안전진단 실시, 참여연구원의 교육훈련 및 건강검진을 실시하고 있으며, 실험실에서 참여연구원대상으로 상해보험을 가입하고 있습니다.

1협동 : 산업 및 연구실 안전법에 의거한 안전 교육 및 안전 정기 점검 2회를 국가 해당 기관 및 자체 기관에서 수행 하고 있음. 정기 교육은 6개월 마다 이수해야 하며, 교내에서 상해 보험을 가입하여 실시.

## 10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인용횟 수 등)
1	논문	Analysis of Fatty Acid of Ginseng Seed and Germinated Ginseng Seed	세명대학교	책임 (위탁)	Kor. J. Pharmacogn.	-	2015.5.11	단독사사	비SCI
2	논문	Changes in the contents of prosapogenin in Red ginseng (Panax ginseng) depending on the extracting conditions	세명대학교	책임 (위탁)	J. Ginseng Res	4.082	2016.1.30	중복사사	SCI
3	논문	수삼의 수확 후 냉장저장 기간에 따른 인삼사포닌 변화	세명대학교	책임 (위탁)	삼학회지	-	2016.12.1.	중복사사	비SCI
4	논문	Measurement of Characteristic Phytochemical Levels in Different Acanthopanax Species by HPLC	세명대학교	책임 (위탁)	약학회지	-	2017.04.1.	중복사사	비SCI
5	논문	The Accelerating Action of Lipid Excretion of Immature Citrus Fruits	세명대학교	책임 (위탁)	Kor. J. Pharmacogn.	-	2017.6.1	중복사사	비SCI

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사자 또는 중복사자)	특기사항 (SCI여부/인용횟 수 등)
1	학회발 표논문	The change of ginsenoside composition of Black ginseng depending on extracting conditions	세명대학교	책임 (위탁)	2015년도 대한약학회 춘계 학술대회	-	2015.4.23	단독사자	포스터발표
2	학회발 표논문	한국 중국 산양삼류 생약의 인삼사포닌 성분 비교	세명대학교	책임 (위탁)	산림과학 공동학술대회	-	2015.4.16	중복사자	포스터발표
3	학회발 표논문	The change of ginsenoside composition in ginseng leaf and stem by ultrasonication process	세명대학교	책임 (위탁)	2016년도 대한약학회 춘계 국제학술대회	-	2016.4.18	중복사자	포스터발표
4	학회발 표논문	Inhibitory effects of ginseng seed oil on alpha-glucosidase and alpha-amylase activity	세명대학교	책임 (위탁)	한중일생약국 제심포지엄	-	2016.5.28	단독사자	포스터발표
5	학회발 표논문	in vitro and in vivo evaluation of lipid-lowering effects of ginseng seed oil	세명대학교	책임 (위탁)	2016 International Conference on Ginseng	-	2016.3.23	단독사자	포스터발표
6	학회발 표논문	The change of ginsenoside composition in ginseng leaf and stem by the ultrasonication process	세명대학교	책임 (위탁)	2016년도 대한약학회 춘계 학술대회	-	2016.4.18	단독사자	포스터발표
7	학회발 표논문	Inhibitory effects of ginseng seed oil on $\alpha$ -glucosidase and $\alpha$ -amylase activity	세명대학교	책임 (위탁)	한중일생약국 제심포지엄	-	2016.5.28	단독사자	포스터발표

## 11. 기타사항

해당사항 없음.

## 12. 참고문헌

- 1) 건강기능식품에 관한 법률, 식품의약품안전청 2002
- 2) 국민건강영양조사 제 4 기 3 차년도(2009), 보건복지부
- 3) 의약품 등의 독성시험기준, 식품의약품안전청 고시 제 2009-116 호
- 4) 의약품 임상시험 관리기준, 의약품임상시험관리기준 (의약품 등의 안전에 관한 규칙 별표 4)
- 5) 건강기능식품공전. 2014. KFDA.
- 6) 대한약전외 의약품등록집 제 4 개정. 2012, KFDA.
- 7) Namba T. The encyclopedia of Wakan-Yaku with color pictures. Osaka: Hoikusha (1980)
- 8) Park JD. Recent studies on the chemical constituents of Korean Ginseng (Panax ginseng C.A.Meyer). *Korea J Ginseng Sci.* 20:389-415 (1996)
- 9) Sanata S, Kondo N, Shoji J, Tanaka O, Shibata S. Studies on the saponins of ginseng. I. Structure of ginseng-R0,Rb1,Rb2,Rc and Rd. *ChemPharmBull.* 22:421-428 (1974)
- 10) Kitagawa I, Taniyama T, Shibuya H, Nota T, Yoshikawa M. Chemical studies on crude drug processing. V. On the constituents of ginseng radix rubra (2) : Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same Panax ginseng root. *YakugakuZasshi.* 107:495-505 (1987)
- 11) Ko SK, Bae HM, Cho OS, Im BO, Chung SH, Lee BY. Analysis of ginsenoside composition of ginseng berry and seed. *Food SciBiotechnol.* 17:1379-1382 (2008)
- 12) Dey L, Zhang L, Yuan CS. Anti-diabetic and anti-obese effects of ginseng berry extract: comparison between intraperitoneal and oral administrations. *Am J Chin Med.* 30:645-647. (2002)
- 13) Huo YS. Anti-senility action of saponin in Panax ginseng fruit in 327 cases. *Zhong Xi Yi Jie He ZaZhi.* 4:593-596 (1984)
- 14) Zhang SC, Jiang XL. The anti-stress effect of saponins extracted from Panax ginseng fruit and the hypophyseal-adrenal system. *Yao XueXueBao.* 16:860-863 (1981)
- 15) Bae HM, Cho OS, Kim SJ, Im BO, Cho SH, Lee S, Kim MG, Kim KT, Leem KH, Ko SK. Inhibitory effects of ginsenoside Re isolated from ginseng berry on histamine and cytokine release in human mast cells and human alveolar epithelial cells. *J Ginseng Res.* 36:369-374. (2012)
- 16) Wang W, Zhao Y, Rayburn ER, Hill DL, Wang H, Zhang R. In vitro anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of Panax ginseng. *Cancer ChemotherPharmacol.* 59:589-601. (2007)
- 17) Lee SA, Jo HK, Im BO, Kim S, Whang WK, Ko SK. Changes in the contents of prosapogenin in the red ginseng (Panax ginseng) depending on steaming batches. *J Ginseng Res.* 36:102-106 (2012)
- 18) Ko SK, Lee KH, Hong JK, Kang SA, Sohn UD, Im BO, Han ST, Yang BW, Chung SH, Lee BY. Change of ginsenoside composition in ginseng extract by the vinegar process. *Food SciBiotechnol.* 14:509-513 (2005)
- 19) Zheng H, Jeong Y, Song J, Ji GE. Oral administration of ginsenoside Rh1 inhibits the development of atopic dermatitis-like skin lesions induced by oxazolone in hairless mice. *IntImmunopharmacol.* 11:511-518. (2011)
- 20) Keum YS, Han SS, Chun KS, Park KK, Park JH, Lee SK, Surh YJ. Inhibitory effects of the

ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF-kappaB activation and tumor promotion. *Mutat Res.* 523-524:75-85. (2003)

- 21) Kim ND, Kang SY, Park JH, Schini-Kerth VB. Ginsen\-oside Rg3 mediates endothelium-dependent relaxation in response to ginsenosides in rat aorta: role of K<sup>+</sup> channels. *Eur J Pharmacol.* 367:41-49. (1999)
- 22) Yang L, Hao J, Zhang J, Xia W, Dong X, Hu X, Kong F, Cui X. Ginsenoside Rg3 promotes beta- amyloid peptide degradation by enhancing gene expression of neprilysin. *J Pharm Pharmacol.* 61:375-380. (2009)
- 23) Lee WM, Kim SD, Park MH, Cho JY, Park HJ, Seo GS, Rhee MH. Inhibitory mechanisms of dihydroginsenoside Rg3 in platelet aggregation: critical roles of ERK2 and cAMP. *J Pharm Pharmacol.* 60:1531-1536. (2008)
- 24) Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ. Antioxidant and anti- tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett.* 150:41-48. (2000)
- 25) Jeong SJ, Han SH, Kim DY, Lee JC, Kim HS, Kim BH, Lee JS, Hwang EH, Park JK. Effects of m Rg2, a mixture of ginsenosides containing 60% Rg2, on the ultraviolet B-induced DNA repair synthesis and apoptosis in NIH3T3 cells. *Int J Toxicol.* 26:151-158 (2007)
- 26) CAMBRIDGE University press: Basic mutagenicity tests, 5 In vivo cytogenetics assays, 115-137.
- 27) Kastenbaum M.A. and Bowman K.O. (1970) : Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, *Mutation Research*, 9, 527-549.
- 28) Ishidate Jr. M. and Odashima S. (1997): Chromosome tests with 134 compounds on chinese hamster cells *in vitro*-a screening for chemical carcinogens, *Mutat. Res.* 48, 337-354.
- 29) Kim BS, Zhao B, Kim HJ, Cho M. (2000): The statistical analysis of the *in vitro* chromosome aberration assay using Chinese hamster ovary cells, *Mutat. Res.* 469, 243-52.
- 30) Koyama H. et al (1970): A new cell line derived from new born chinese hamster lung tissue, *Gann*, 61, 161-167.
- 31) Galloway S.M, et al (1994): Report from working group on *in vitro* tests for chromosomal aberration, *Mutat. Res.* 312, 241-61.