

발 간 등 록 번 호

11-1543000-002585-01

산수유복합추출물을 이용한 뼈·관절 기능성 원료 개발 및 사업화

최종보고서

2019. 03. 27.

주관연구기관 / 주식회사 나인비
협동연구기관 / 아주대학교산학협력단

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “산수유복합추출물을 이용한 뼈·관절 기능성원료 개발 및 사업화”(개발기간 : 2016. 12. ~ 2018. 12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 03. 27.

주관연구기관명 : 주식회사 나인비

정선용 (인)

협동연구기관명 : 아주대학교산학협력단

오성근 (인)



주관연구책임자 : 정선용

협동연구책임자 : 박은국

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에
동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	116162-02	해 당 단 계 연 구 기 간	2016.12.05 ~ 2018.12.04	단 계 구 분	1단계/1단계
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 시범사업 최종보고서			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	산수유복합추출물을 이용한 뼈·관절 기능성원료 개발 및 사업화			
연구책임자	정선용	해당단계 참여연구원 수	총: 7 명 내부: 7 명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부: 260,000 천원 민간: 88,000 천원 계: 348,000 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 7 명 내부: 7 명 외부: 0 명	총 연구 개발비	정부: 260,000 천원 민간: 88,000 천원 계: 348,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	주식회사 나인비			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
협 동 연 구	연구기관명: 아주대학교산학협력단			연구책임자: 박은국	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	해당사항 없음
-------------------------	---------

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설· 장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호		3	1		1						

국가과학기술중합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약:

보고서 면수: 67쪽

- 최근 급속한 고령화 진전으로 인해 골다공증과 골관절염 등의 퇴행성 만성질환 환자가 크게 증가하고 있으나 전문의약품의 부재 및 부작용으로 인해 장기복용이 가능한 건강기능식품에 대한 수요가 증가하고 있음.
- 본 연구에서는 산수유우슬복합추출에 대한 원료표준화, 기능성 평가, 안전성 평가, 대량생산 공정 개발을 실시하여 뼈 건강과 관절 건강의 2가지 기능성이 있는 건강기능식품의 개발 및 사업화를 목표로 하였음.
- 산수유와 우슬추출물에 대한 지표성분 함량결정 및 QC 조건 확립, 골다공증 및 골관절염 모델 마우스를 이용한 in vivo 효능 평가 및 기능성 원료 최적 섭취 용량 결정, 효능성분이 골다공증 및 골관절염 개선 효과에 대한 작용기전을 규명, 대량생산 공정 확립을 통해 사업화에 적합한 원료를 개발하였음.
- 본 연구에서 개발된 기능성 원료를 부원료로 사용하여 뼈와 관절 건강에 효능이 있는 건강기능식품 1종(마디본)과 기억력 개선, 면역력 증진, 뼈 건강의 효능이 있는 건강기능식품 1종(지애본)의 2종의 완제품을 개발하여 생산 및 판매하여 사업화에 성공하였음.
- 향후, 개발 원료의 다양한 효능에 대한 식품의약품안전처의 개별인정을 위한 인체적용시험과 사업화에 필요한 투자유치에 성공하였음.
- 특허출원 및 등록, 기술실시, 제품개발, 홍보전시, 매출발생, 고용창출, 인력양성 등의 대부분의 정량적 성과 항목에서 목표보다 초과 달성하였음.

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 최근 급속한 고령화 진전으로 인해 골다공증과 골관절염 등의 퇴행성 만성질환 환자가 크게 증가하고 있으나 전문의약품의 부재 및 부작용으로 인해 장기복용이 가능한 건강기능식품에 대한 수요 증가 ○ 산수유우슬복합추출물을 활용한 뼈와 관절에 좋은 기능성원료 개발 ○ 기능성 원료에 대한 원료표준화, 기능성 평가, 안전성 평가를 실시하여 뼈 건강과 관절 건강의 2가지 효능의 건강기능식품의 개발 및 사업화 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 산수유와 우슬추출물에 대한 지표성분 함량결정 및 QC 조건 확립, 골다공증 및 골관절염 모델 마우스를 이용한 in vivo 효능 평가 및 기능성 원료 최적 섭취 용량 결정, 효능성분이 골다공증 및 골관절염 개선 효과에 대한 작용기전을 규명, 대량생산 공정 확립을 통해 사업화에 적합한 원료 개발 ○ 본 연구에서 개발된 기능성 원료를 부원료로 사용하여 뼈와 관절 건강에 효능이 있는 건강기능식품 1종(마디본)과 기억력 개선, 면역력 증진, 뼈 건강의 효능이 있는 건강기능식품 1종(지애본)의 2종의 완제품을 개발하여 생산 및 판매하여 사업화에 성공 ○ 향후, 개발 원료의 다양한 효능에 대한 식품의약품안전처의 개별인정을 위한 인체적용시험과 사업화에 필요한 투자유치에 성공 ○ 특허출원 및 등록, 기술실시, 제품개발, 홍보전시, 매출발생, 고용창출, 인력양성 등의 대부분의 정량적 성과 항목에서 목표보다 초과 달성 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 산수유우슬추출물을 부원료로 사용한 기존 제품보다 우수한 효능의 건강기능식품으로 활용되어 국민 건강증진과 더불어 골다공증 및 골관절염 환자의 삶의 질 향상에 기여 ○ 국내 농림자원의 고부가가치화를 통해 재배농가의 소득 증대에 기여 ○ 골다공증 및 골관절염에 좋은 새로운 건강기능식품의 사업화를 통해 국내 건강식품 관련 산업의 활성화와 고용창출에 기여 ○ 연구결과를 향후의 인체적용시험을 통한 식품의약품안전처 개별인정형 기능성 원료 개발에 활용 ○ 산수유복합추출물의 기능성 원료로의 판매뿐만 아니라 자체 기술이전을 통한 다양한 건강기능식품 개발에 활용 ○ 대형 식품제조·판매회사와 사업파트너 관계 체결을 통한 국내·외 판매 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>산수유</p>	<p>기능성원료</p>	<p>건강기능식품</p>	<p>뼈</p>	<p>관절</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Cornus officinalis</p>	<p>functional material</p>	<p>health functional food</p>	<p>bone</p>	<p>joint</p>

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	6
2. 연구수행 내용 및 결과	14
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	65
4. 연구결과의 활용 계획 등	66
붙임. 참고 문헌	68

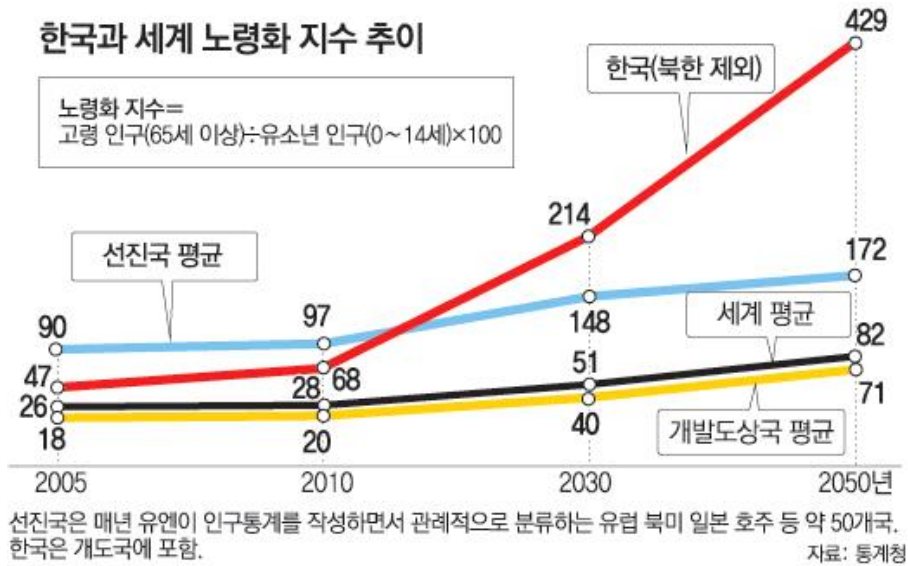
1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

- 최근 급속한 고령화 진전으로 인해 골다공증과 골관절염 등의 퇴행성 만성질환 환자가 크게 증가하고 있으나 전문의약품의 부재 및 부작용으로 인해 장기복용이 가능한 건강기능식품에 대한 수요가 증가하고 있음.
- 본 연구에서는 산수유우슬복합추출에 대한 원료표준화, 기능성 평가, 안전성 평가, 대량생산 공정 개발을 실시하여 뼈 건강과 관절 건강의 2가지 기능이 있는 건강기능식품의 개발 및 사업화를 목표로 하였음.

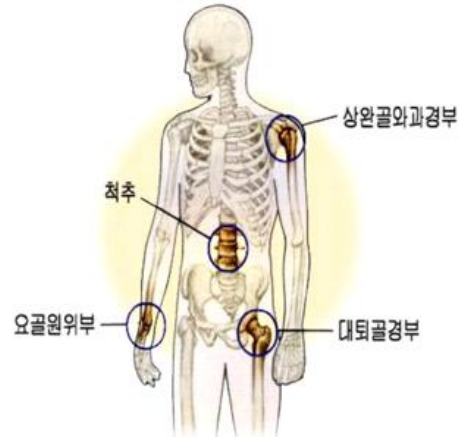
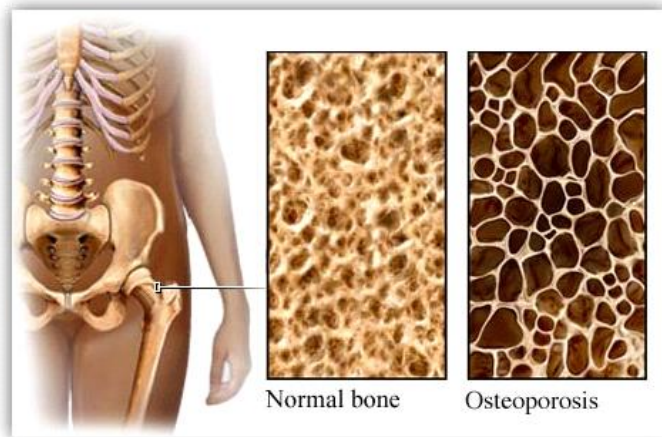
1-2. 연구개발의 필요성

- 우리나라의 급속한 고령화로 인한 퇴행성 질환 유병률 증가
 - 2010년 현재의 우리나라 노령화 지수는 68로 선진국 평균 보다는 낮지만 2013년에는 214, 20150년에는 429로 다른 나라에 비해 고령화가 급속하게 진행되고 있음을 알 수 있음.
 - 이러한 급속한 고령화로 인해 대표적인 퇴행성 만성질환인 골다공증과 골관절염 환자의 급속한 증가가 나타나고 있음.



(한국과 세계의 고령화 지수 추이(2010년 통계청 자료))

- 골다공증(osteoporosis)
 - 세계보건기구(WHO)는 골다공증을 “골량의 감소와 미세구조의 이상을 특징으로 하는 전신적인 골격계 질환으로, 결과적으로 뼈가 약해져서 부러지기 쉬운 상태가 되는 질환”으로 정의함.
 - National Osteoporosis Foundation에서는 “골강도의 약화로 골절의 위험성이 증가하게 되는 골격계 질환”으로 규정함(www.nof.org).



(정상인과 골다공증 환자의 골조직 비교와 골절이 되기 쉬운 부위(www.osteoporosis.net))

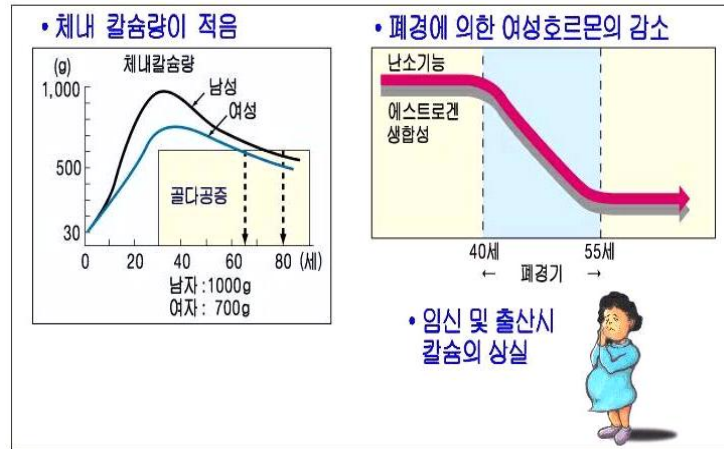
- 골강도는 골량(quantity)과 골질(quality)에 의해 결정됨.
- 골량은 주로 골밀도(bone mineral density)로 나타내고, 골질은 구조, 골교체율, 무기질화, 미세 손상 축적 등으로 구성됨.
- 정상인과 비교했을 시에 골다공증 환자에서 뚜렷한 골량의 감소와 골강도의 약화가 확인되며, 몸의 중요 부위에 골절이 쉽게 일어날 수 있음
- 골다공증은 폐경에 따른 급격한 호르몬의 변화에 의한 파골세포(osteoclast)의 활성화에 따른 골흡수(bone resorption) 증가로 나타나는 폐경성 골다공증, 노화가 되면서 조골세포(osteoblast)의 기능이 감소하여 골형성(bone formation)이 감소하는 노인성 골다공증 등의 원발성 골다공증과, 스테로이드 약물(glucocorticoid 등)의 복용에 의한 약물성 골다공 등의 속발성 골다공증으로 분류할 수 있음.

○ 골다공증 유발 위험요소

- 골다공증은 다수의 환경 및 유전 인자들의 상호 작용으로 나타나는 대표적인 '다인자성 복합 질환'임
- 골다공증 발생에는 많은 환경적 인자들이 영향을 미치고 있으나 그 중에서도 가족력이 매우 중요한 인자라는 사실은 골다공증 병인에서의 유전인자의 중요성을 반증함.
- 유전적 영향: 골다공증 발생의 약 50%가 유전적 소인에 영향을 받음. 골대사 기전에 관여하는 많은 유전적 다형성(genetic polymorphism)의 차이에 기인함(WHO 2011).
- 환경적 영향: 약물, 음식, 운동, 음주, 흡연, 칼슘부족, 폐경, 비만, 노화 등이 있음.

○ 골다공증이 여성에서 많이 발생하는 이유

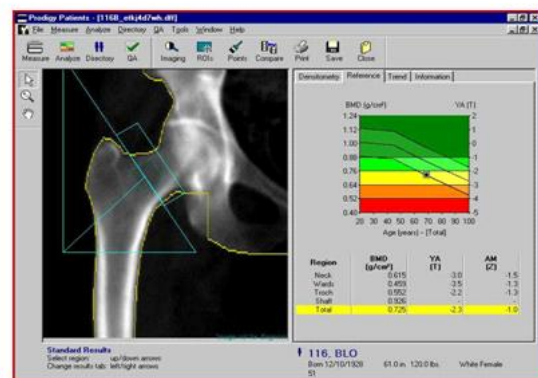
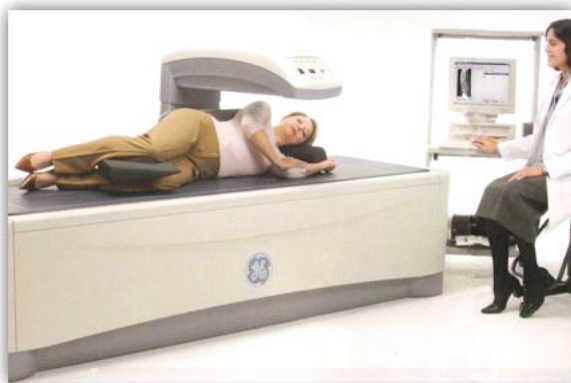
- 골흡수와 골형성의 균형이 깨어질 때, 즉 골흡수가 골형성보다 많아 질 때 골다공증이 유발됨. 여성은 남성보다 체내 골량 및 칼슘량이 적고, 연령증가에 따른 체내 칼슘량 감소, 임신과 출산시의 칼슘 소실 등의 골다공증 유발 요인이 많음.
- 여성의 경우 특히 폐경 이후 급격한 골소실이 진행되는데, 이는 여성 호르몬의 결핍으로 급격한 골흡수가 야기되기 때문이고, 이후 노화로 골형성 기능이 점차 감소되어 골 소실이 지속됨.



(연령에 따른 체내 칼슘량 및 여성호르몬 량:대한골대사학회, 골다공증 진단 및 치료 지침)

○ 골다공증의 진단

- 골밀도 측정은 골다공증을 진단하는 가장 중요한 방법임.
- 골밀도는 골절 위험도를 판단하고 골다공증 치료 효과를 확인하는데 사용됨.
- 골밀도를 측정하는 방법으로 dual-energy X-ray absorptiometry(DEXA), quantitative computed tomography(QCT), quantitative ultrasound(QUS) 등의 방법이 있음.
- 골밀도를 측정하는 위치는 골반과 척추, 몸 전체의 골밀도를 측정하거나, 손가락, 손목, 슬개골, 정강이뼈, 발꿈치 부분을 측정함.



(DEXA를 사용한 골밀도 측정 예시 화면)

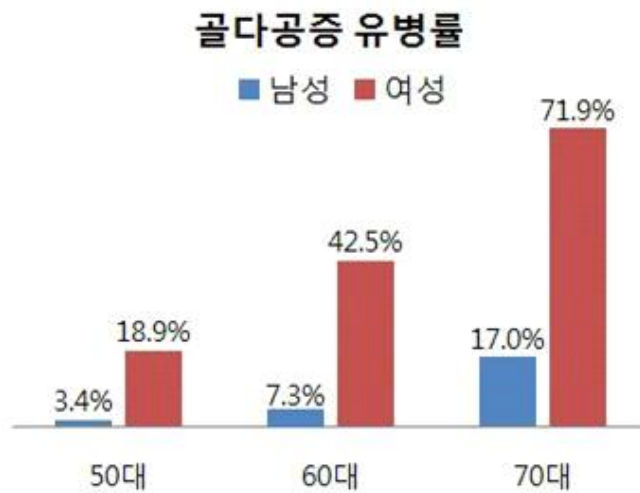
○ 골다공증의 위험성

- 대표적인 만성질환인 골다공증으로 고통 받는 사람들의 수는 전 세계적으로 매우 많으며, 미국의 경우 2014년 현재 약 540만명의 골다공증 환자 또는 예비 환자가 존재하며, 질환관련으로 매년 약20조원의 비용이 사용되고 있다고 보고됨(National Osteoporosis Foundation).
- 골다공증으로 인한 골절은 심각한 활동 제한에 이르게 되고, 고관절 골절(hip fracture)의 경우 약 15-35%의 높은 사망률과 관련되어 있기 때문에, 골다공증성 골절이 발생하기 이전

에 골다공증의 조기진단, 예방 및 치료가 매우 중요함(골다공증 진단 및 치료지침 2007, 2008, 2011).

○ 한국인 골다공증 환자의 급속한 증가

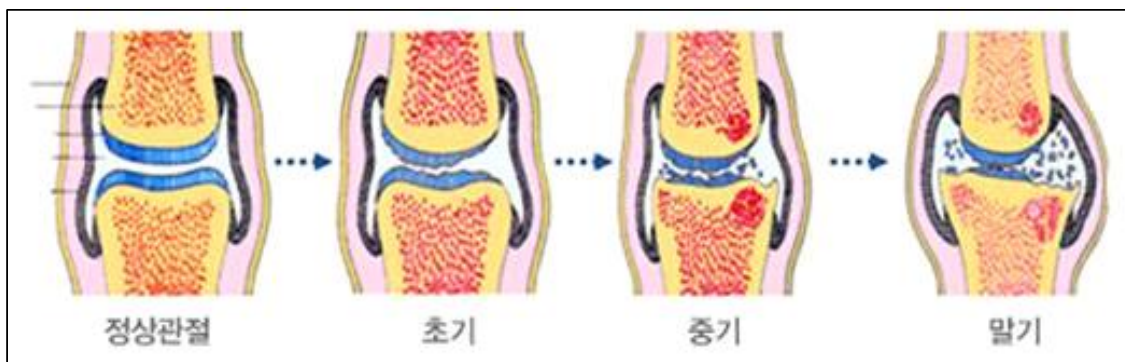
- 국내의 골다공증 유병률이 최근 5년간 급속하게 증가되었고, 골다공증 골절에 의한 연간 사회경제적 손실이 약 1조 5,000억원에 달할 정도로 심각한 수준에 이르고 있다고 보고됨.
- 질병관리본부의 국민건강영양조사의 최신의 국민건강통계(2012년)의 자료에 따르면, 60세 이상 여자의 유병률은 42.5%, 70세 이상은 71.9%로 여자에서 매우 높은 유병율을 나타냄. 골다공증 질환자임. 60대 이상에서 남자에 비해 여자가 4~6배 높은 유병율을 나타냄.



한국인 만 50세 이상 골다공증 유병률 변화 추이
(제4, 5기 국민건강통계-국민건강영양조사 자료)

○ 골관절염

- 골관절염(퇴행성 관절염)은 관절연골 조직의 퇴행과 연골아래 뼈의 구조적 변화가 일어나는 질병으로서 퇴행성관절염의 병리적 원인은 아직까지 명확하게 밝혀져 있지 않으나 주요 원인으로 노화과정 중 반복된 연골사용에 따른 연골의 마모, 유전, 충격에 의한 연골조직의 손상, 과체중으로 인한 압력, 무릎주위의 근육약화 등이 있음.



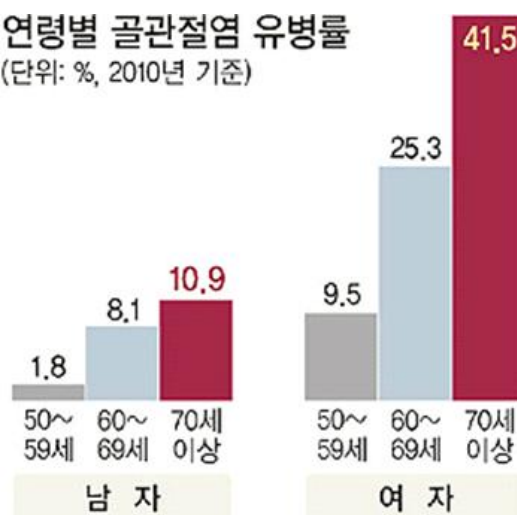
(골관절염의 진행과정)



(골관절염 환자의 손과 무릎 사진)

- 골관절염은 주로 중년, 노년에 발생하며 척추 및 하지의 관절(고관절, 무릎, 발관절)을 침범하는 관절염을 말함. 크게 원발성과 이차성으로 나눌 수 있는데, 확실한 원인 없이 정상적이던 관절의 연골이 노화 현상으로 낡아진 증상, 즉 퇴행성 변화가 일어나는 것을 원발성이라 하며 여자에 흔히 발생함. 외상이나 관절염같은 질환으로 퇴행성 변화가 초래된 것을 이차성이라 하며 비교적 남자에, 원발성보다는 젊은 나이에 발생함.
- 이차성의 원인을 알아보면 골절 치료 이후 관절면이 불규칙해지거나 인대 손상 등으로 관절의 불안정성이 있는 경우, 반월상 연골 손상 등의 외상과 류머티즘성 관절염이나 화농성 또는 결핵성 관절염의 후유증, 통풍과 같은 대사성 관절염이나 선천성 이상, 혈우병 등이 원인이 될 수 있음.
- 주로 60세 이후에 많이 발생하는데, 60세 이후 노년층 여자의 경우 60-69세는 25.3%, 70세 이상에서는 41.5%의 높은 유병률이 보고되어 있으며, 여자가 남자보다 4배 이상 유병률이 높음. 특히, 원발성 관절염은 여자에서 심하게 나타나는 경향이 있으며, 비만증이 있는 경우 슬관절의 퇴행성 관절염이 정상에서 보다 2배 정도 자주 발생한다고 알려져 있음.

연령별 골관절염 유병률
(단위: %, 2010년 기준)



한국인 만 50세 이상 골관절염 유병률 추이
(제4, 5기 국민건강통계-국민건강영양조사 자료)

- 증상으로는 동통, 관절 운동의 제한 등이 서서히 진행되고 관절 사용으로 동통이 악화되며, 변이 계속 진행되어 말기에는 심한 운동 장애나 장해를 남기기도 하고 관절 연골의 소실, 불규칙한 변성으로 관절의 변형이 생길 수도 있으니 유의해야 함.
 - 진단은 환자의 병력 및 이학적 소견과 단순 방사선 소견으로 비교적 쉽게 가능하나 류머티스 관절염, 결핵성 관절염과 감별 진단이 필요함.
 - 통증 제어 및 수술 등의 대증 요법이 있으며, 근본적인 치료제는 아직 개발되어 있지 않음.
- 골다공증 및 골관절염 개선을 위한 건강기능식품개발 연구의 중요성 요약
- 고령화에 의한 골다공증 및 골관절염이 최근 크게 증가되고 있음.
 - 현재 주로 사용되고 골다공증 치료제는 골흡수의 억제를 통한 질환 진행억제의 작용을 하고 부작용이 많아, 장기 복용이 가능하고 골형성 촉진 기능으로 골다공증 증상 개선의 효능이 있는 건강기능식품의 개발이 필요함.
 - 골관절염은 치료효과가 명확한 치료제가 없어, 증상개선 효능이 있고 장기복용이 가능한 새로운 기능성 소재의 발굴이 필요함.
 - 국내 농림자원에서 원료표준화, 안전성, 기능성을 모두 만족할 수 있는 뼈 건강과 관절 건강에 좋은 기능성 원료를 발굴하여, 건강기능식품으로 개발되어 상품화된다면 국민건강 증진과, 농가소득증대, 건강식품 산업의 활성화에 크게 기여할 것으로 기대됨.

1-3. 연구개발 범위

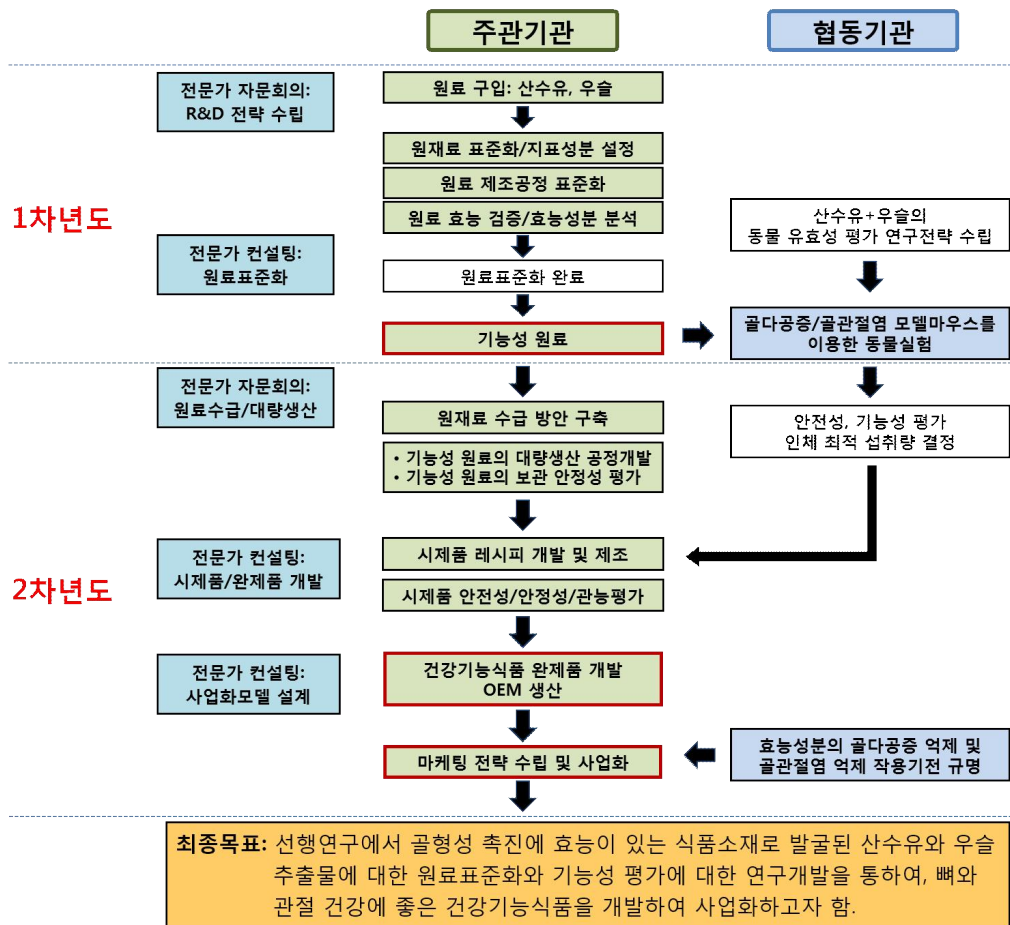
○ 연구개발 범위에 대한 핵심 내용

- 전문가 자문회의: 건강기능식품 관련 전문가 자문회의를 연구 개시시점에서부터 주기적으로 개최하고 연구 진행단계별 자문을 받아 이를 연구개발에 적극 반영
- 기능성 원료의 개발 및 원료표준화: 기능성 소재의 사업화에 적합한 원료표준화와 지표성분 함량결정 및 QC 조건 확립
- 동물실험: 골다공증 및 골관절염 모델 마우스를 이용한 in vivo 효능 평가 및 기능성 원료 최적 섭취 용량 결정
- 효능성분의 작용기전 규명: 기능성 원료의 효능성분이 골다공증 및 골관절염 개선 효과에 대한 작용기전을 규명하여 사업화 시의 과학적 근거 자료로 활용
- 원재료 수급방안 구축 및 대량생산 공정 확립: 표준화된 고품질 원료의 수급대책 마련 및 사업화를 위한 대량생산 공정 확립
- 건강기능식품 시제품 개발 및 평가: 뼈 건강 고시형 원료인 비타민 D, 비타민 K, 칼슘 등과 관절 건강 고시형 또는 개별인정형 원료를 주원료로 하고, 산수유복합추출물을 부원료로 첨가한 시제품을 개발하여, 관능평가, 안전성, 안정성 평가 등을 거쳐 최종제품 선정
- 건강기능식품 완제품 개발 및 사업화: 뼈와 관절 건강에 좋은 2가지 기능성이 있는 건강기능식품 완제품 개발, 생산, 판매

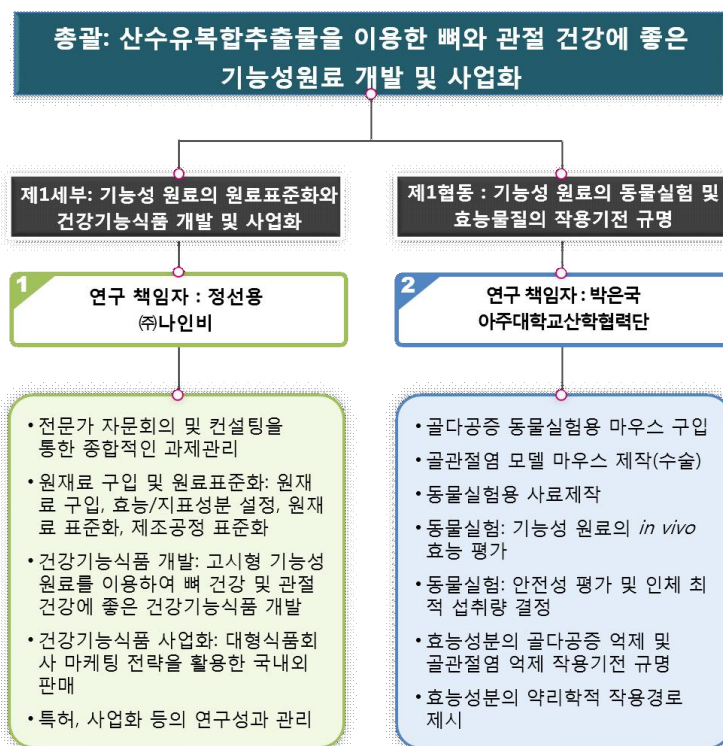
○ 연구개발 범위에 대한 그래픽 요약



○ 연구체계 모식도




○ 주관기관과 협동기관의 역할 분담 내용



2. 연구수행 내용 및 결과

□ 전문가 자문을 통한 연구개발 전략 수립 및 사업화를 위한 BM 설계 - (주)나인비

- 전문가 회의를 통해 연구개발 전주기 전략 수립 및 사업화를 위한 비즈니스 모델 구축
 - 건강기능식품 레시피 개발 및 제조 전문가(주)에루시텍스 김원기대표, 원료표준화 전문가(경기도경제과학진흥원 최춘환 팀장), 골관절염 동물실험 전문가(아주의대 약리학교실 양시영 교수), 바이오마커 효능분석 전문가(아주대의료원 김문창 임상기사), 투자유치 전문가(파켄리(주) 서영석 이사), 변리사(아주대산학협력단 홍성수 변리사), 기술사업화 전문가(엔포유대학연합기술지주회사 이진구 본부장)의 전문가들과 주관기관의 연구책임자인 (주)나인비 정선용 대표, 협동기관의 연구책임자인 아주대산학협력단 박은국 교수, (주)나인비 양정아 수석연구원이 참석함.
 - 부원료를 사용한 건강기능식품 개발 및 제조 과정, 식품의약품안전처의 개별인정 인허가 과정, 동물실험 효능평가, 지식재산권 확보 및 특허 회피 전략, 사업화를 위한 비즈니스모델(BM) 수립, 향후의 기능성원료 독성시험, 인체적용시험, 식품의약품안전처의 개별인정 인허가 신청에 필요한 자료에 대해 전문가 의견을 수렴하고 향후의 성공 전략에 대해 논의함.

	회의록		문서 분류	회의록
			페이지번호	1/1페이지
			작성 자	정선용
			작성 일자	2017. 08. 02

1. 과제 현황

과제번호	116162-02-1-SB010	과제명	산수유를 포함하여 유용한 천연·관성 기능성원료 개발		
연구기간	2016.12.05~2017.12.04	연구기관/책임자	(주)나인비 / 정선용 및 사업화		
정부출연금	기업부담			합계 (단위: 원)	
	현금	현물	소계		
	60,500,000	4,500,000	39,000,000	34,500,000	
사업명	농식품 기능성원료 개발사업 2016 농식품 창업·벤처사업 2017 농식품 창업·벤처사업 2018 농식품 창업·벤처사업				
은행명	신한	계좌번호	100-031-893465	예금주	주식회사 나인비

2. 회의 내용

회의 제목	산수유를 포함하여 유용한 천연·관성 건강기능식품 개발 전문가 회의
회의 일시	2017년 08월 02일 11:00 ~ 13:00
장 소	애나의점
회의 내용 (필요시 별지 사용 가능)	① 산수유를 포함하여 유용한 천연·관성 건강기능식품 개발 사업 진행 보고 ② 건강기능식품 개발의 핵심사항인 제품 레시피 개발, 인허가 확보, 효능 검증, 사업화를 위한 BM 설계, 투자유치 등에 대한 전문가 자문 ③ 부원료 사용 건강기능식품 개발에 따른 차별화 전략에 대한 논의

3. 참석자

성명	소속	신분	서명	성명	소속	신분	서명
서영석	파켄리	이사		정선용	(주)나인비	대표	
김원기	(주)에루시텍스	CEO		홍성수	아주대산학협력단	변리사	
양시영	아주대학교	교수		최춘환	경기도과학진흥원	팀장	
이진구	엔포유 기술지주	본부장		양정아	(주)나인비	법정대표	
박은국	아주대학교	교수		김문창	아주대의료원	임상기사	

* 회의비는 반드시 연구비카드(법인카드)로 집행해야 함.

* 회의비는 과다집행 및 심야시간대 집행 금지 (1인당 최대 50,000원 유지 요망)

* 지원사업에 따라 회의참석 인원 모두의 서명이 필요한 경우가 있으므로, 사전에 담당자에게 문의 후 작성해야 함.

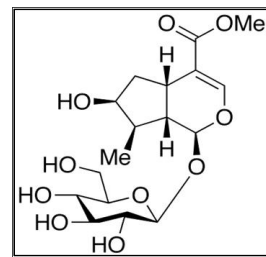
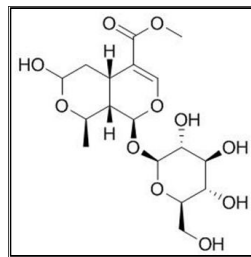
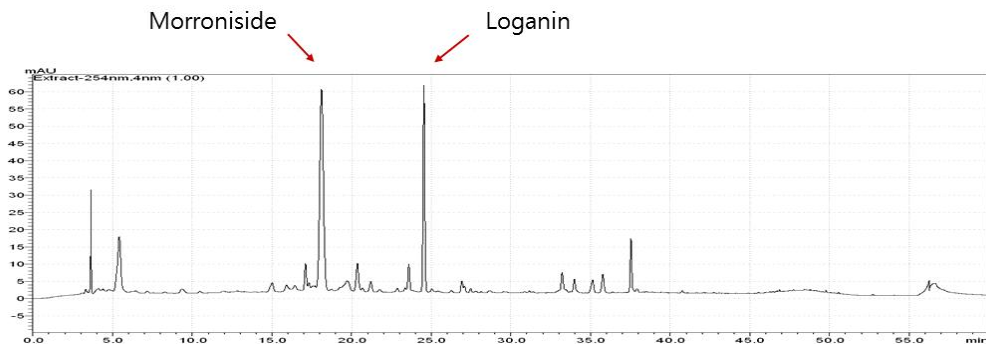
(회의록 사본)

2017년 08월 02일

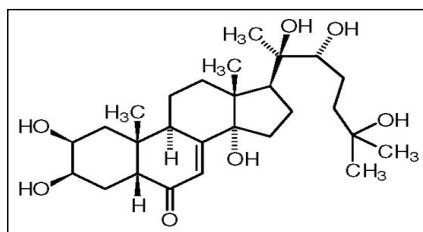
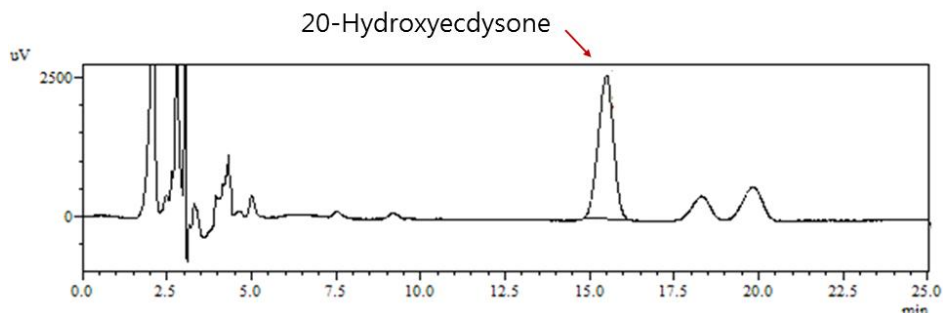
연구책임자 : 정 선 용

□ 산수유우슬복합추출물의 원료 표준화 및 제조공정 개발과 기준규격 설정 - (주)나인비

- 선행연구에서 산수유와 우슬 복합추출물의 조골세포 분화 촉진 및 파골세포 분화억제 실험을 통해 산수유추출물(CO)과 우슬추출물(AJ) 단독 처리에 비해 산수유우슬복합추출물 7:3의 배합에서 가장 좋은 결과를 나타내었음.
- 산수유와 우슬 추출물의 지표성분 설정
 - 산수유추출물을 high-performance liquid chromatography-electrospray ionization- tandem mass spectrometry(HPLC-ESI-MS)방법으로 분석하여, 산수유 추출물의 지표성분은 함유량이 가장 높은 Loganin과 Morrioniside로 정하였으며 우슬추출물의 지표성분은 20-Hydroxyecdysone으로 정함.

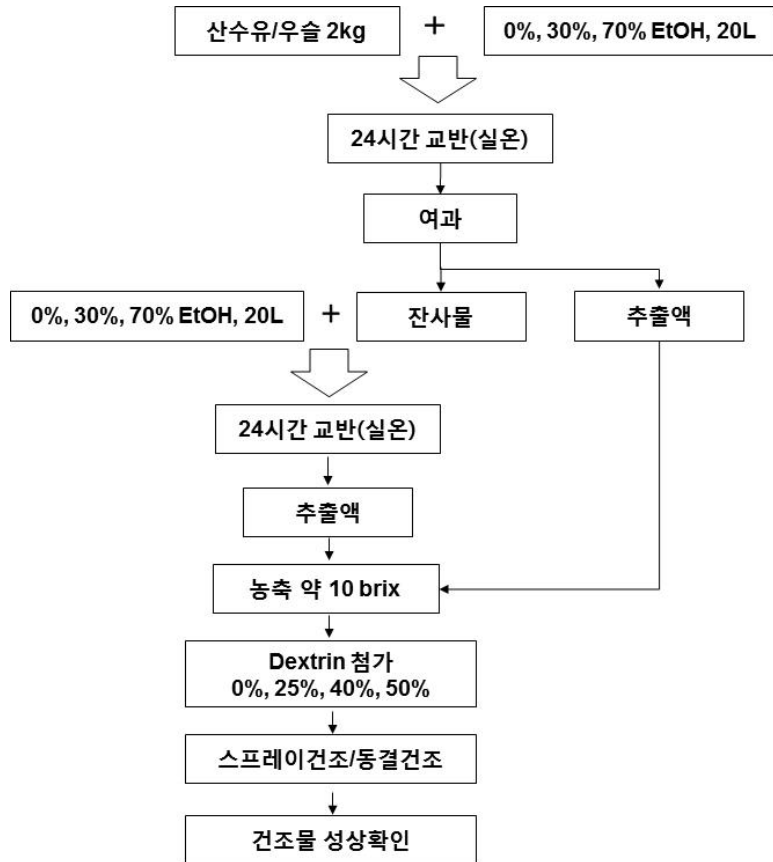


(산수유 추출물의 HPLC 분석 결과 및 지표성분의 구조. 좌: Morrioniside, 우: Loganin)



(우슬 추출물의 HPLC 분석 결과 및 지표성분의 구조. 좌: 20-Hydroxyecdysone)

- 산수유와 우슬 추출물의 원료표준화 및 기준 규격 설정
 - 산수유 열매 건조 원물과 우슬 뿌리 건조원물에 대한 물추출, 30% 주정추출, 70% 주정추출을 하기의 방법으로 시행하였음. 산수유 추출물의 스프레이건조 시의 Dextrin(부형제) 함량은 50%이며, 우슬 추출물의 스프레이건조 시의 Dextrin 함량은 40%가 최적조건이며, 우슬 추출물의 경우 부형제 함유 없이 동결건조가 가능함.



(산수유추출물 건조분말)



(우슬추출물 건조분말)

- 산수유와 우슬에 대한 원료표준화 및 기준규격(지표성분 함량 설정) 결과

(1) 산수유 우슬 추출물의 수율

	산수유			우슬		
	DW	30% EtOH	70% EtOH	DW	30% EtOH	70% EtOH
수율(%)	45%	46%	41%	25%	23%	18%

(2) 산수유, 우슬 추출물의 지표성분 HPLC 함량 분석 방법

- 전처리

- ① 50% MeOH를 이용하여 Loganin과 Morroniside 표준품은 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 ppm으로, 20-hydroxyecdysone 표준품은 1.875, 3.75, 7.5, 15, 30 ppm이 되도록 함.
- ② 산수유와 우슬의 각각 추출물을 50% MeOH를 이용해 충분히 용해시킨 후 필터하여 각각 5,600 ppm과 2,400ppm이 되도록 희석함.
- ③ 산수유와 우슬 복합추출물(산수유:우슬 = 7:3 비율)을 섞어서 최종농도가 산수유 5,600ppm, 우슬 2,400ppm이 되도록 함.

- 분석조건

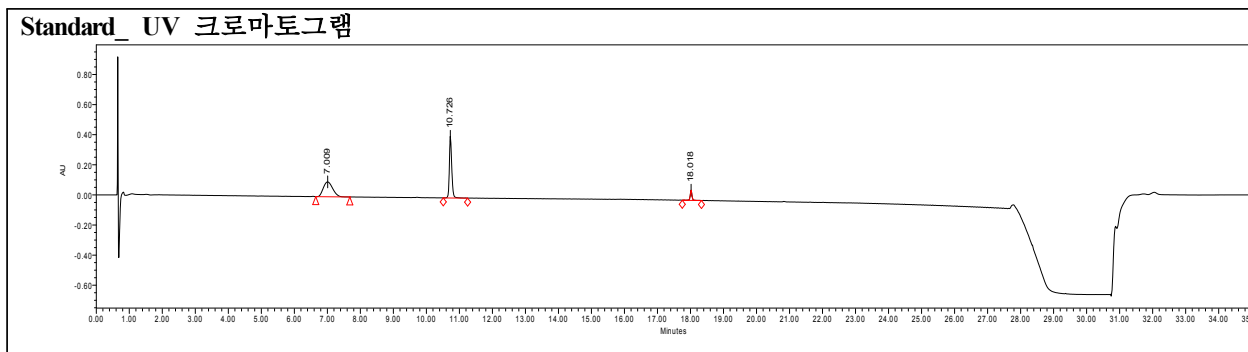
- ① System : UPLC (Acquity UPLC, Waters),
- ② Column : Kinetex®2.6µm EVO C18 150*2.1mm, 2.6 µm
Column oven : 40°C
Injection volume : 3 µL
Flow rate: 0.5 ml/min
Wavelength(nm) : 240nm
Mobile phase: A: 1% Formic Acid in DW, B: Acetonitrile

	A	B
0	99	1
15	88	12
17	85	15
22	75	25
27	60	40
28	5	95
30	5	95
30.1	99	1
35	99	1

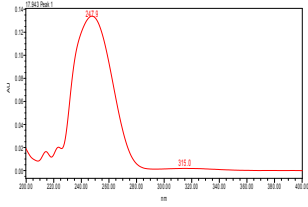
- 실험 방법

- ① 각 시료들을 HPLC를 이용하여 3 µL 주입 후 분석함.

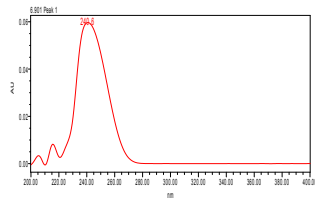
- 표준품의 UV 크로마토그램과 UV 스펙트럼



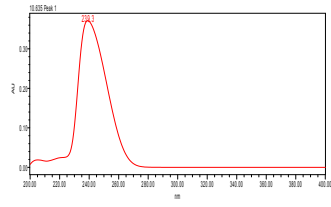
UV 스펙트럼
-Morrisonide



-Loganin



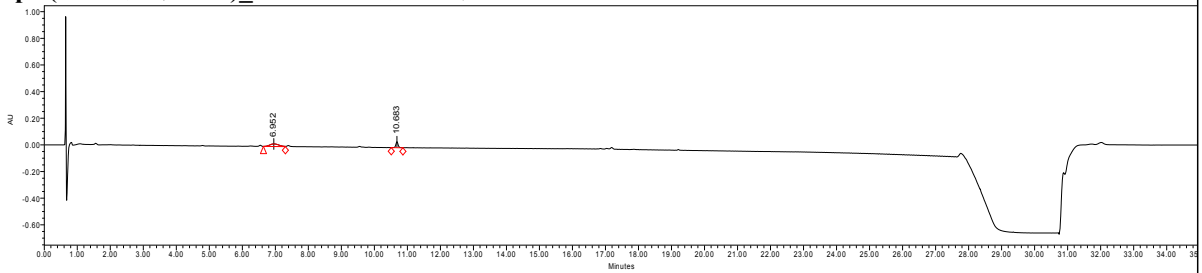
-20-Hydroxyecdysone



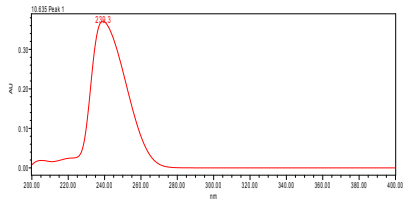
<STD>

- 산수유, 우슬 30% Ethanol 추출물과 산수유우슬혼합물의 UV 크로마토그램과 UV 스펙트럼

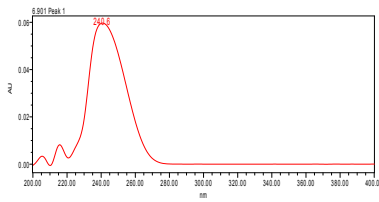
Sample(산수유 추출물)_ UV 크로마토그램



UV 스펙트럼
-Morrisonide

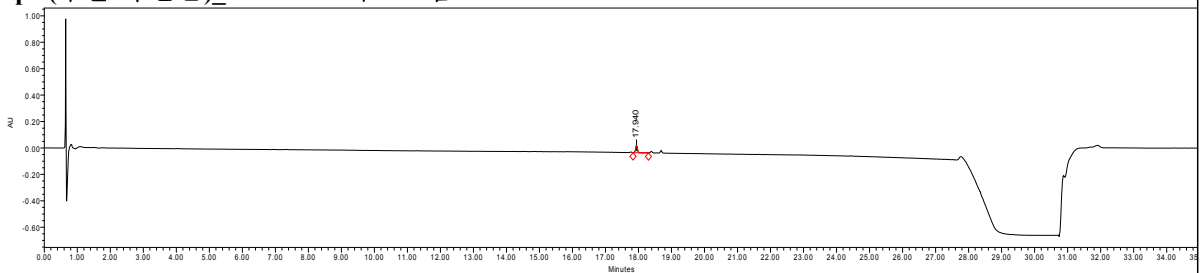


-Loganin

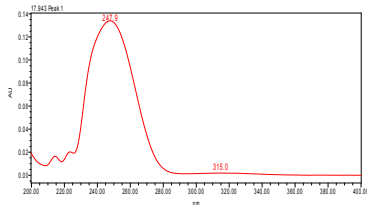


<산수유 30% Ethanol 추출물 Sample>

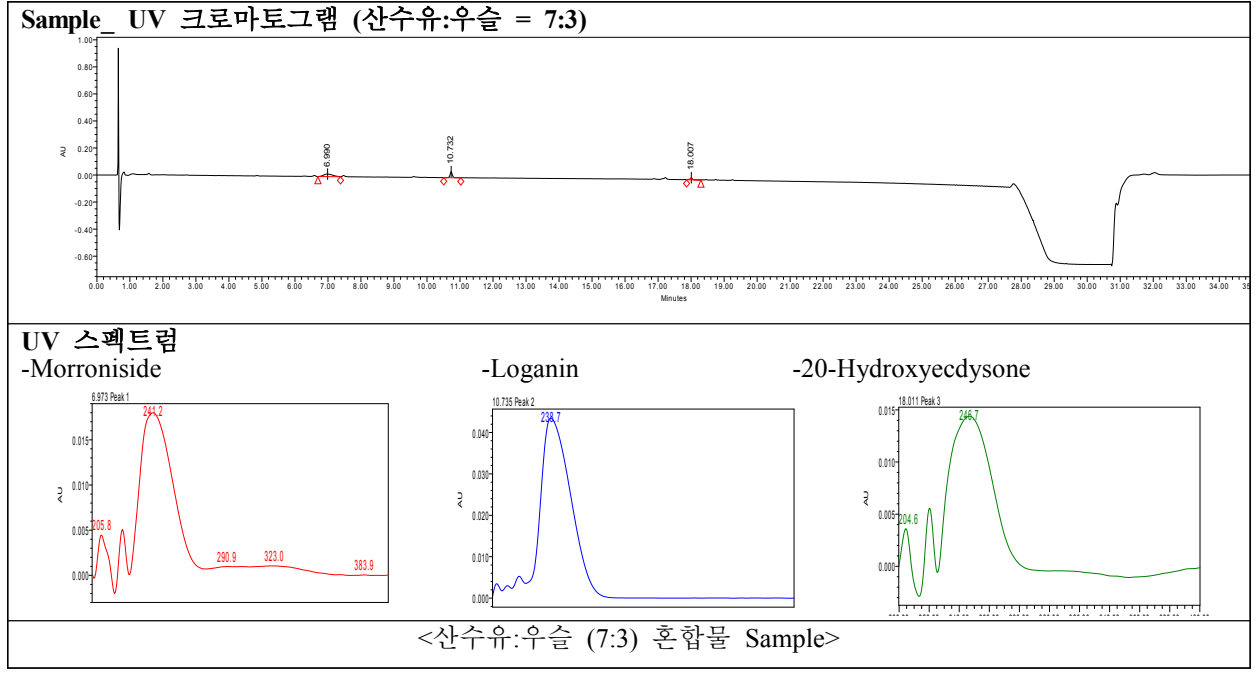
Sample(우슬 추출물)_ UV 크로마토그램



UV 스펙트럼
-20-Hydroxyecdysone

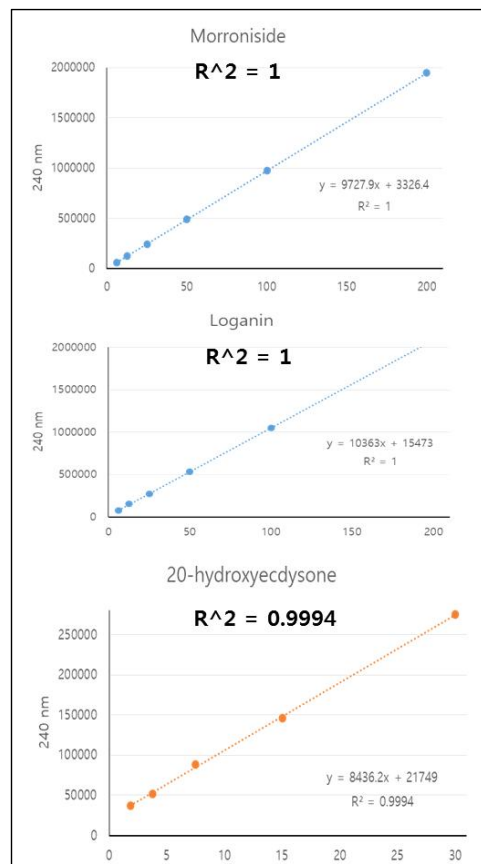


<우슬 30% Ethanol 추출물 Sample>



- 검량선

표준품	농도(ug/ml)	Area
Morrniside	6.25	61953
	12.5	126032
	25	245053
	50	491096
	100	978759
	200	1947420
표준품	농도(ug/ml)	Area
Loganin	6.25	77161
	12.5	151992
	25	272229
	50	530531
	100	1053322
	200	2087996
표준품	농도(ug/ml)	Area
20-hydroxyecdysone	1.875	37560
	3.75	51536
	7.5	88585
	15	146191
	30	275225



(3) 지표성분 함량분석 결과

분석물질	농도(µg/ml)	추출물 기준 함량(%)	표준편차	RSD(%)
산수유 D.W 추출물 Loganin/Morrnonside	3.5	0.35	0.42	3.21
	7.9	0.79	0.27	2.55
산수유 30% EtOH 추출물 Loganin/Morrnonside	7.3	0.73	0.17	0.48
	20.8	2.08	0.35	3.32
산수유 70% EtOH 추출물 Loganin/Morrnonside	8.3	0.83	0.39	5.80
	29.2	2.92	0.77	1.90
우슬 DW 추출물 20-hydroxyecdysone	0.74	0.07	1.62	3.37
우슬 30% EtOH 추출물 20-hydroxyecdysone	1.34	0.13	2.14	5.18
우슬 70% EtOH 추출물 20-hydroxyecdysone	1.42	0.14	2.40	4.82

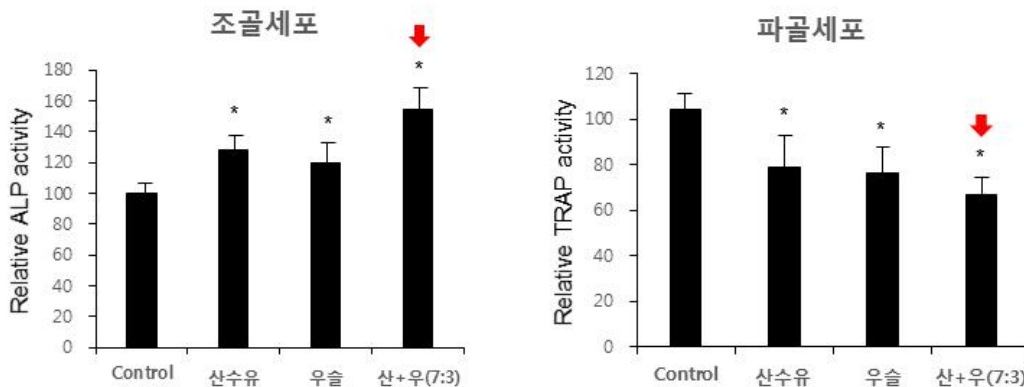
(4) 산수유우슬(7:3) 30% 주정추출물의 지표성분 함량

분석물질	농도(µg/ml)	혼합추출물 기준 함량(%)	표준편차	RSD(%)
산수유 Morronside	19.8	1.98	0.15	0.75
산수유 Loganin	6.2	0.62	0.19	0.50
우슬 20-hydroxyecdysone	0.52	0.05	1.12	6.3

□ 원료표준화 산수유우슬복합추출물의 골다공증 및 골관절염 in vitro 효능 평가 - 아주대학교

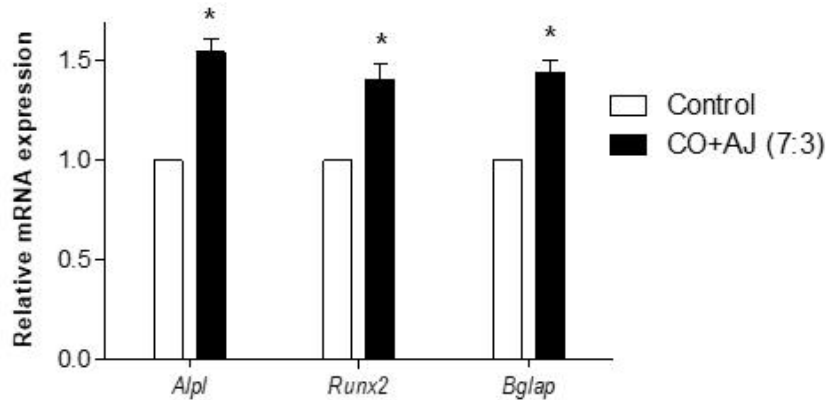
○ 원료표준화 산수유우슬복합추출물의 골다공증 모델세포에서의 in vitro 유효성 검증

- 원료표준화된 산수유 및 우슬 단독 및 복합추출물을 10 µg/ml 농도로 조골세포주 (MC3T3-E1)에 처리하여 3일 후 ALP 활성 분석을 통해 조골세포 분화도 변화를 분석하였음.
- 6주령 마우스 골수로부터의 파골세포의 근원세포인 primary monocyte를 분리 배양한 후, 파골세포 분화유도를 위해 M-CSF(30 ng/ml)와 RANKL(50 ng/ml)를 3일간 처리함. 원료표준화된 산수유 및 우슬 단독 및 복합추출물을 10 µg/ml 농도로 분화유도 된 primary monocyte에 처리하여 6일 후 TRAP 활성 분석을 통해 파골세포 분화도 변화를 분석하였음.
- 결과적으로 산수유, 우슬의 단독보다 복합추출물(7:3)에서 조골세포의 분화 촉진과 파골세포의 분화억제능이 더 좋았음.



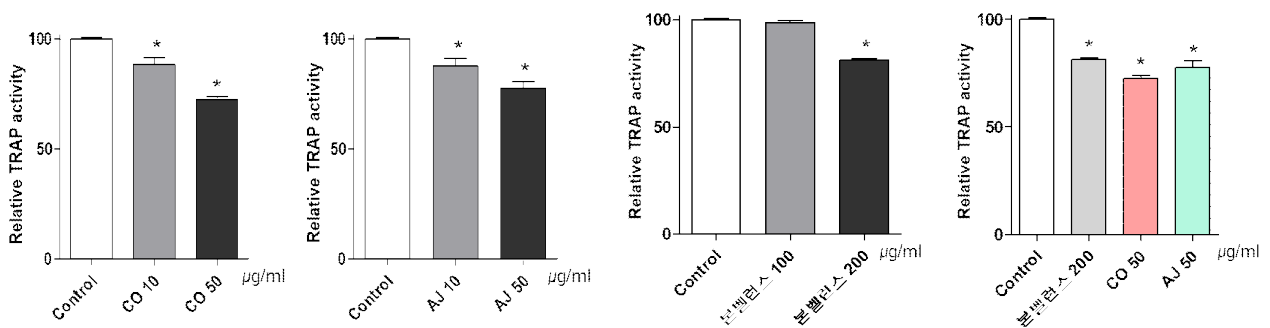
(원료표준화 산수유 및 우슬 추출물의 조골세포 촉진 및 파골세포 분화 억제 효능)

- 또한, 산수유우슬복합추출물(CO+AJ(7:3))을 처리한 조골세포주(MC3T3-E1)에서 조골세포 분화마커인 *Alp*, *Runx2*, *Bglap*의 유전자 발현량이 크게 증가된 것을 확인함.



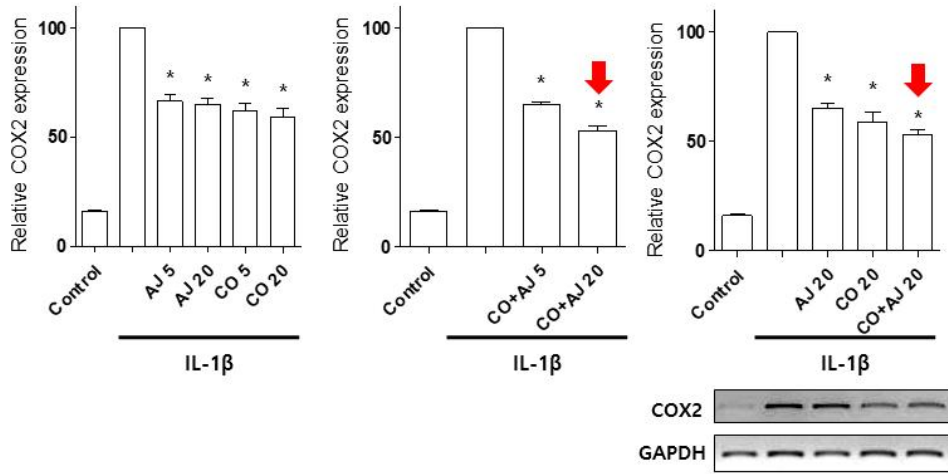
(산수유우슬복합추출물의 조골세포 분화 마커 유전자 발현 증가 효능)

- 산수유추출물(CO), 우슬추출물(AJ)과 시판되고 있는 뼈에 좋은 건강기능식품인 본밸런스(양성대조군)의 파골세포분화 억제 효능 비교결과, 산수유추출물과 우슬추출물이 본밸런스에 비해 동등 또는 더 좋은 효능이 있음을 밝혔다.

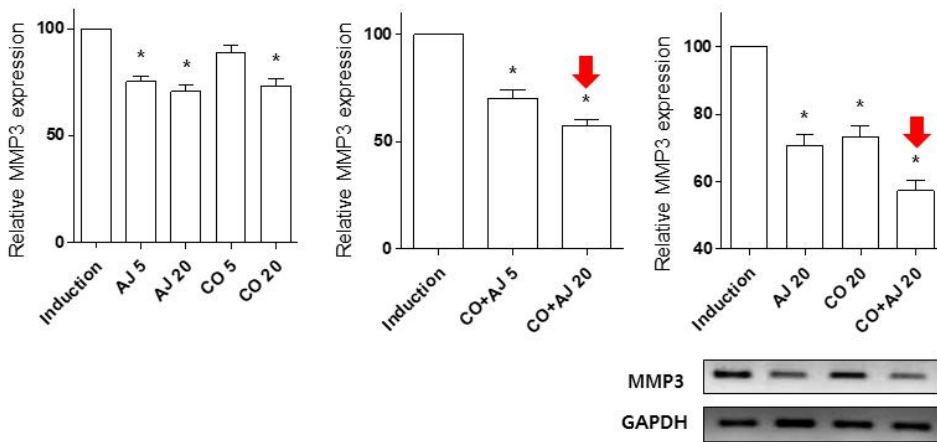


(산수유추출물(CO), 우슬추출물(AJ), 양성대조군(본밸런스)의 파골세포분화 억제 효능 비교)

- 원료표준화 산수유우슬복합추출물의 골관절염 모델세포에서의 in vitro 유효성 검증
 - 생후 5일된 마우스의 연골에서 primary 연골세포(chondrocyte)를 분리하여 세포 배양 후 Interlukin-1 β (IL-1 β)를 처리하여 하여 골관절염 세포 모델을 제작함.
 - 연골세포의 염증인자인 COX-2, MMP-3의 발현량의 변화를 real-time RT-PCR 방법으로 정량하여 산수유우슬복합추출물의 골관절염 개선 효능을 평가함.
 - 분리·배양된 primary 연골세포(chondrocyte)에 IL-1 β 를 처리하여 골관절염 세포 모델을 만들어 골관절염의 염증유발에 의한 통증인자인 COX-2와 관절의 연골세포 손상인자인 MMP-3의 발현량을 분석한 결과, 산수유(CO) 및 우슬(AJ) 단독 추출물 처리 시에 COX-2와 MMP-3의 발현량이 현저히 감소되었으며, 산수유우슬복합추출물(7:3)(CO+AJ)이 단독 추출물 보다 COX-2와 MMP-3의 발현억제 효과가 더 좋았음. 또한 20 μ g/ml의 농도에서 가장 좋은 효과가 나타났음.

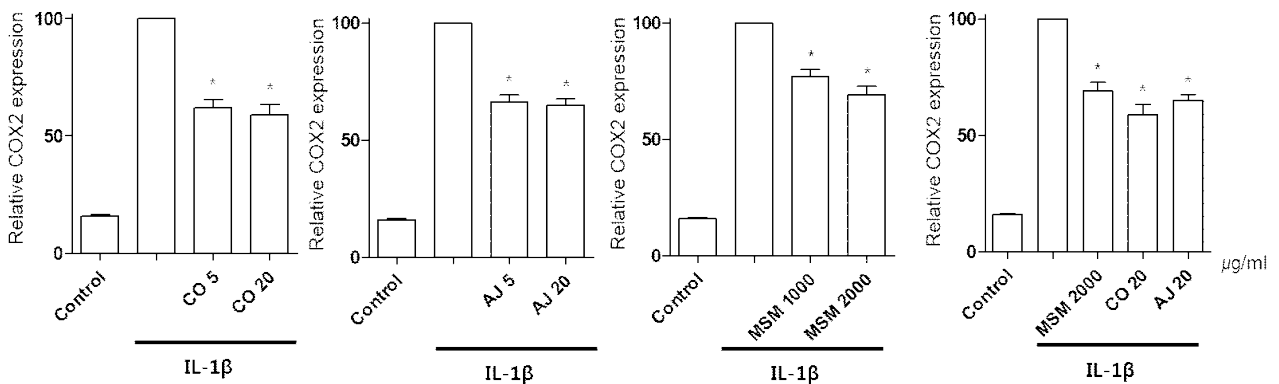


(산수유우슬복합추출물의 골관절 염증인자 COX-2의 발현억제 효과)



(산수유우슬복합추출물의 골관절 연골세포 손상인자 MMP-3의 발현억제 효과)

- 산수유추출물(CO), 우슬추출물(AJ)과 시판제품인 MSM2000(양성대조군)의 염증인자 COX-2의 발현억제 효과 비교결과, 산수유추출물과 우슬추출물이 MSM2000에 비해 동등 또는 더 좋은 효능이 있음을 밝혔다.

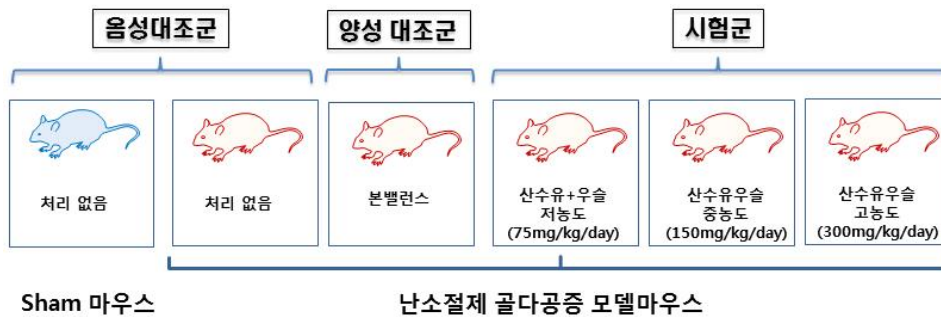


(산수유추출물(CO), 우슬추출물(AJ), 양성대조군(MSM2000)의 COX2의 발현억제 효능 비교)

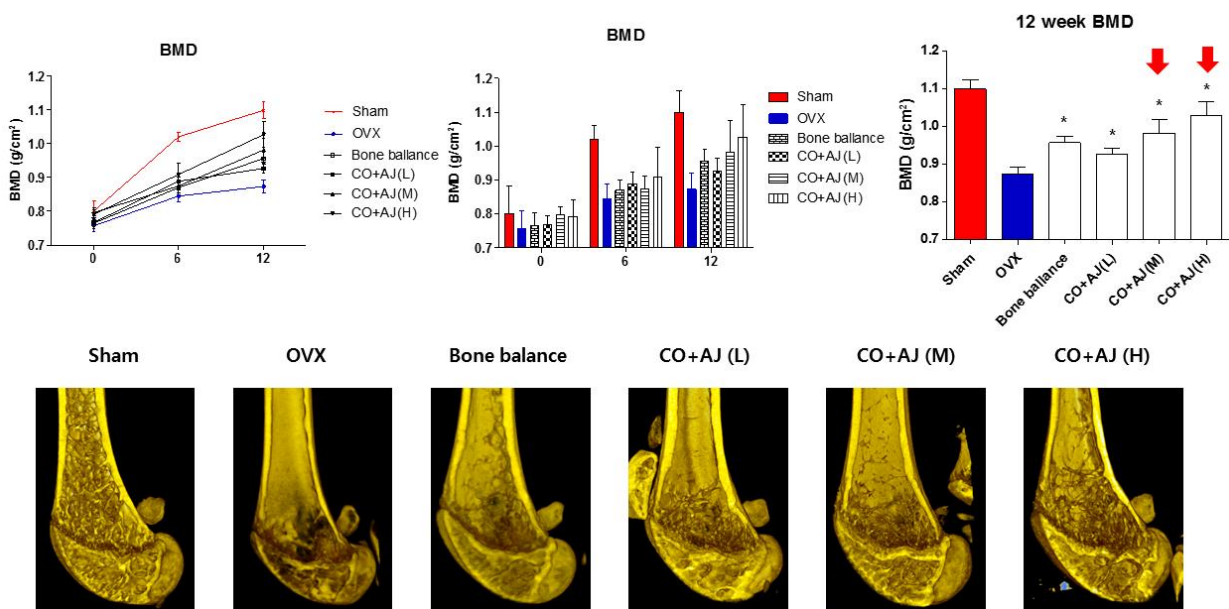
□ 동물실험을 통한 기능성원료의 골다공증 및 골관절염 유효성 평가 및 인체 최적 섭취량 결정 - 아주대학교

○ 원료표준화 산수유우슬복합추출물의 골다공증 모델 마우스에서의 in vivo 유효성 평가

- 골다공증 동물모델은 난소절제 ddY 암컷 마우스(OVX: 개복 후 난소를 제거한 마우스)와 sham-operated ddY 암컷 마우스(Sham: 개복 후 난소절제를 하지 않은 마우스)에 산수유우슬복합추출물(7:3)을 3가지 용량별(75, 150, 300 mg/kg/day)로 사료에 혼합하여 투여하여 12주간 사육 후 골밀도(BMD)의 변화량과 micro-CT 촬영을 통한 뼈의 미세구조 변화를 조사함. 모든 마우스 개체별 체중을 측정하여 그룹 간에 통계적으로 유의한 체중 차이가 나지 않도록 군 분리를 시행 함.

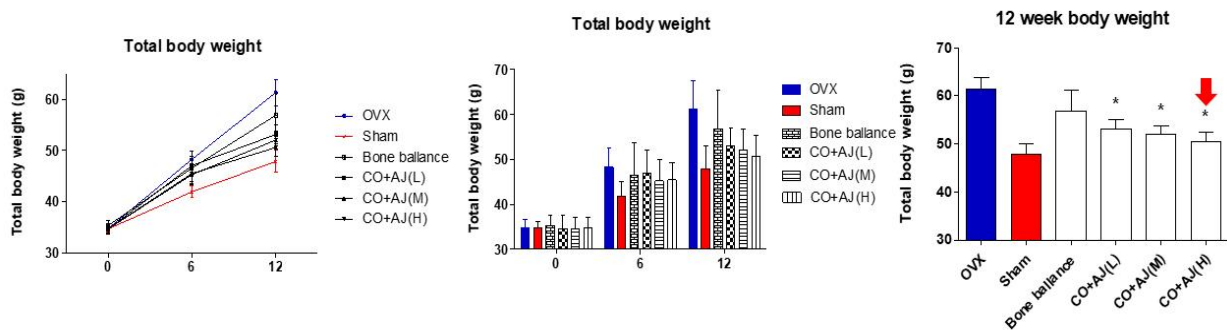


- OVX 마우스에 산수유우슬복합추출물 투여군[저농도<75 mg/kg/day; CO+AJ(L)>, 중농도<150 mg/kg/day; CO+AJ(M)>, 고농도<300 mg/kg/day; CO+AJ(H)>]의 3가지 실험군과 Sham 마우스, OVX 마우스에 PBS 투여 음성대조군, OVX 마우스에 시판의 뼈 건강기능식품인 본밸런스 투여군(300 mg/kg/day)의 양성대조군에 대한 12주간의 실험을 진행함(각 군당 7마리). 골다공증 개선 효과를 알아보기 위해 PIXI-mus bone densitometer로 골밀도(BMD)의 변화량을 0, 6, 12주에 측정 하였으며, Micro-CT를 통하여 대퇴부 뼈(Femur)를 스캔하여 비교·분석하였음.



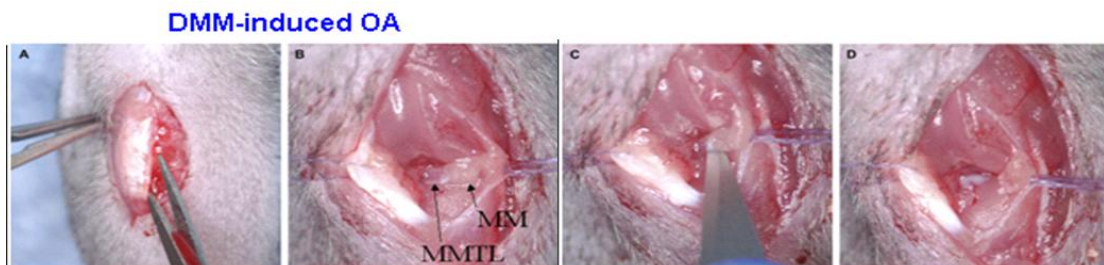
(골다공증 모델 마우스에서 산수유우슬복합추출물 투여 12주후의 골밀도 변화 및 micro-CT 결과)

- 골밀도(BMD)의 경우 모든 실험군과 양성대조군(본벨런스)의 BMD 값에서 OVX군에 비교하여 유의한 차이가 있었으며, 특히 산수유우슬복합추출물의 중농도<CO+AJ(H)>와 고농도 <CO+AJ(H)>에서 가장 높은 효과가 나타났음.
- 실험 12주 후의 마우스 대퇴부 뼈(Femur) micro-CT 촬영 사진 상의 뼈 미세구조 치밀도를 분석한 결과에서, 난소를 제거하지 않은 정상 Sham 마우스와 비교하였을 때 난소를 제거한 OVX 마우스의 현저한 치밀도 저하를 나타냈으며, 산수유우슬복합추출물 투여군의 경우 저농도, 중농도, 고농도의 모든 군에서 뼈 미세 구조 치밀도 저하가 현저하게 억제되었음.
- 상기의 골다공증 동물모델을 이용한 동물실험 결과를 종합하면, 현재 시판중인 본벨런스에 비교하여 산수유우슬복합추출물(7:3)이 더 좋은 효능이 있음이 확인 되었으며, 중농도(150 mg/kg/day)를 최적의 조건으로 정함.
- 산수유우슬복합추출물 투여 OVX 마우스의 체중변화에 대해 분석하기 위해, 실험 0, 6, 12 주에 몸무게를 측정함. 산수유우슬복합추출물 투여 3가지 용량군 모두에서 12주후 유의한 몸무게 증가 억제가 나타났음.



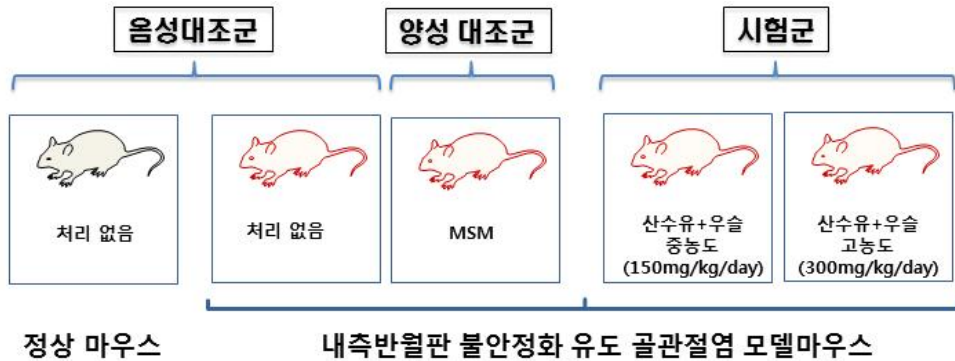
(산수유우슬복합추출물 투여 골다공증 마우스 모델의 체중 변화)

- 상기 결과를 종합하면, 골다공증 마우스 모델을 이용한 in vivo 실험에서 산수유우슬복합추출물(7:3)이 골다공증 개선에 뛰어난 효과가 있음을 증명함.
- 원료표준화 산수유우슬복합추출물의 골관절염 모델 마우스에서의 in vivo 유효성 평가
- 퇴행성 골관절염 동물모델은 내측반월 불안정화 유도 골관절염 마우스(Destabilization of the medial meniscus-induced OA mouse; DMM)를 사용함. 12주령 마우스 knee joint에서 medial meniscus ligament를 micro surgery 방법으로 제거하여 연골의 불안정화를 유도해 퇴행성 관절염을 유도시킴.

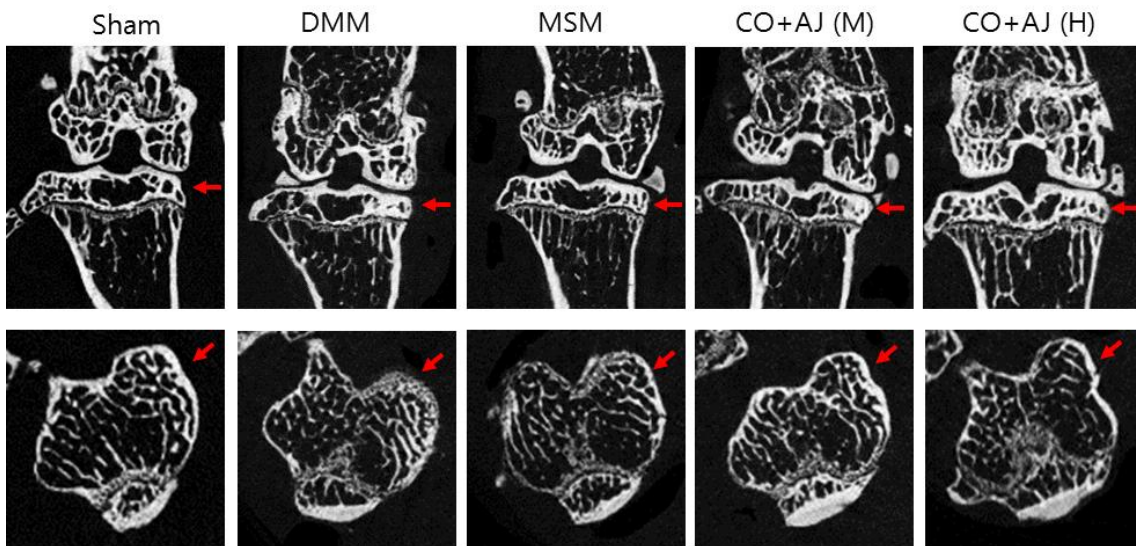


(내측반월 불안정화 유도 골관절염 마우스(DMM 마우스) 제작을 위한 수술 방법 모식도)

- 산수유우슬복합추출물(7:3)을 2가지 용량별(150, 300 mg/kg/day)로 사료에 혼합하여 투여하여 10주간 사육 후 micro-CT 촬영을 통한 관절의 연골 퇴행 정도와 H&E 및 Safranin O 염색, 염증인자 COX-2, MMP-3의 면역염색을 통한 골관절염 개선 정도를 분석함.



- 산수유우슬복합추출물을 중농도<150 mg/kg/day; CO+AJ(M)>와 고농도<300 mg/kg/day; CO+ AJ(H)>로 DMM 마우스에 투여하는 2가지 실험군과, 수술하지 않은 정상 Sham 마우스군, DMM 마우스에 PBS를 투여한 음성대조군, DMM 마우스에 시판의 관절(연골)건강기능식품인 MSM을 투여(300 mg/kg/day)한 양성대조군에 대한 10주간의 실험을 진행함(각 군당 7마리).
- 수술하지 않은 정상 Sham 마우스군과의 비교와 수술하지 않은 쪽의 다리 관절과 수술한 쪽의 다리 관절을 비교함. 연골조직 및 경골골단 조직의 micro-CT로 촬영한 사진결과를 바탕으로 ICRS grade분석을 통해 연골퇴행 정도를 측정함.



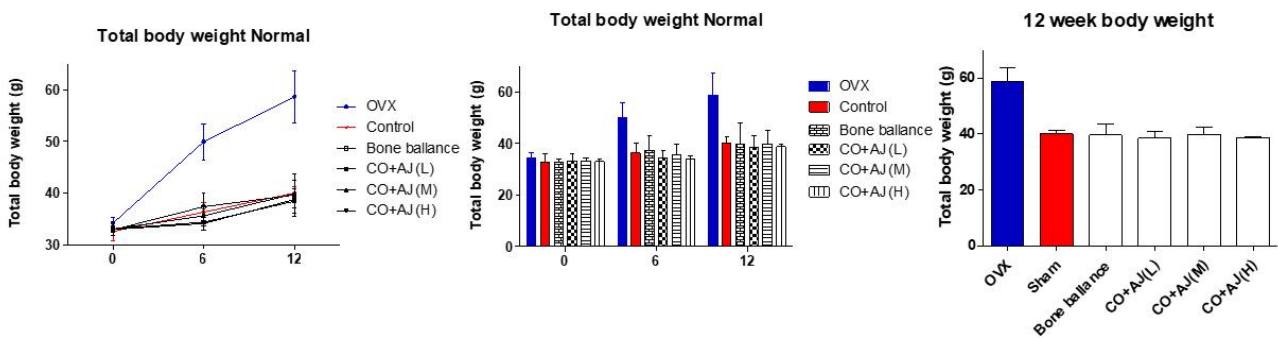
(골관절염 모델마우스에서 산수유우슬복합추출물 투여 10주후의 경골 골단 Micro-CT 결과)

- 실험 10주 후의 micro-CT 촬영 사진에서, 연골의 불안정화를 유도하지 않은 정상의 Shame 마우스와 비교하였을 때, 연골의 불안정화를 유도한 DMM 마우스 관절의 심한 연골 손상 및 파괴가 관찰되었으며, MSM 투여군(양성제조군)에서는 연골 손상의 호전이 관찰됨. 산수유우슬복합추출물의 중농도<CO+AJ(H)>와 고농도<CO+AJ(H)>에서도 명확한 연골 손상의 개선이 확인됨.

- 상기 결과를 종합하면, 퇴행성 골관절염 동물 모델을 이용한 in vivo 실험에서 산수유우슬복합추출물(7:3)이 골관절염 개선에 뛰어난 효과가 있음을 증명함.

○ 원료표준화 산수유우슬복합추출물의 정상 마우스에서의 non-GLP 수준의 독성 평가

- 정상 마우스를 이용한 non-GLP 수준의 독성평가를 진행하기 위해서 본 실험에서 사용된 3 가지 용량(저농도; 75 mg/kg/day, 중농도; 150 mg/kg/day, 고농도; 300 mg/kg/day)로 산수유우슬복합추출물을 12주간 투여한 실험에서, 0, 6, 12주의 몸무게 변화와 12주 실험 종료 시의 외형 변화, 행동 변화, 사료 및 음수 섭취량, 장기 및 조직 등의 특이한 점이 발견되지 않았음.



(산수유우슬복합추출물 투여 정상 마우스의 체중 변화)

- 상기의 결과에서, non-GLP 수준의 독성시험 결과에서 원료표준화 산수유우슬복합추출물의 독성은 발견되지 않았음.

○ 원료표준화 산수유, 우슬복합추출물의 1일 인체 최적 섭취량

- 골다공증과 골관절염 모델 마우스를 이용한 in vivo 유효성평가 실험에서 산수유우슬복합추출물의 최적 효능 농도는 150mg/kg/day로 밝혀졌으므로, 1일 인체 최적 섭취량은 약 6 배의 용량인 900~1,000mg으로 결정함.

□ 산수유추출물의 효능성분인 로가닌(Loganin)의 골다공증 및 골관절염 개선 효과의 작용기전 규명 - 아주대학교

○ 로가닌(Loganin)의 골다공증 모델 마우스에서의 in vivo 기전 규명

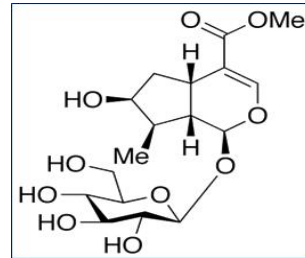
- 골다공증 모델 마우스에 Loganin 5mg/kg/day의 용량으로 로가닌을 12주 경구 투여한 후 골다공증 개선 효능을 조사함. 골미네랄밀도(BMD), PET-CT, Micro-CT의 측정 결과에서 대조군(OVX)에 비해 로가닌을 투여한 군에서 명확한 골다공증 개선의 효과가 나타났음.
- 골형성(bone formation) 마커인 OPG(osteoprotegerin)의 혈중 존재량의 감소와 골흡수(bone resorption) 마커인 RANKL(receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand)의 혈중 존재량의 증가가 나타나고, 이로 인한 골밀도 감소로 결국 골다공증이 발생이 증가하게 됨. 로가닌 투여 후 12주 후에 마우스 혈액을 채취하여 혈청을 분리하여 OPG와 RANKL 골대사 마커 단백질 량의 변화를 ELISA 방법을 사용하여 조사하였음. 난소를 제거하지 않은 정상 Sham 마우스와 비교하였을 때, 난소를 제거한 OVX 마우스에서 OPG의 감소,

RANKL의 증가, OPG/RANKL 비율의 감소를 나타냄. 하지만 로가닌 투여군에서는 갱년기에 의해 발생하는 골형성 마커인 OPG의 감소, 골흡수 마커인 RANKL의 증가, OPG/RANKL 비율의 감소가 모두 억제됨.

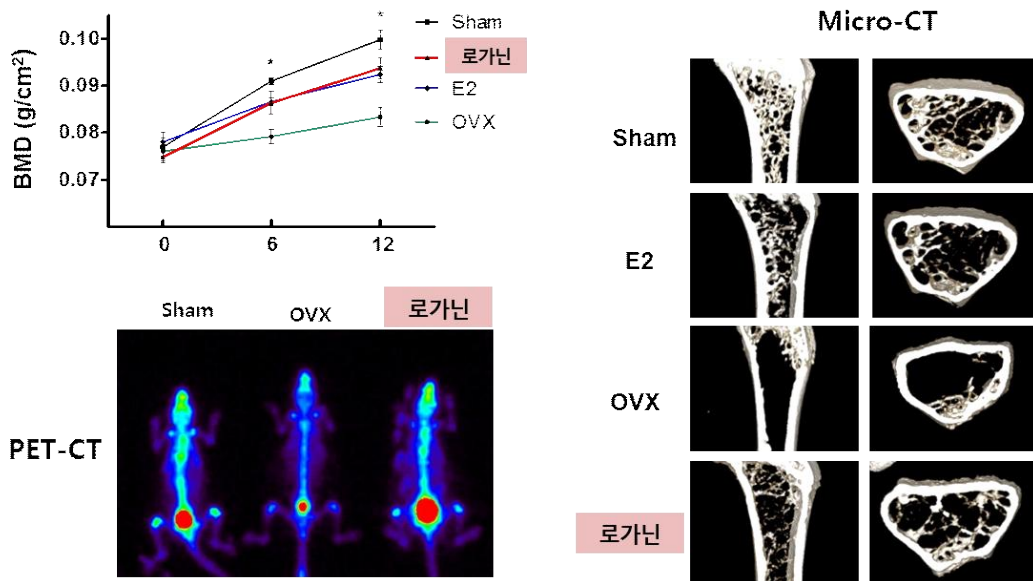
- 이러한 결과로부터, 산수유 추출물의 효능성분인 로가닌은 골형성 관련인자의 촉진과 골흡수 관련 인자의 억제를 통해 골다공증 개선의 효과를 나타내는 것으로 사료됨.



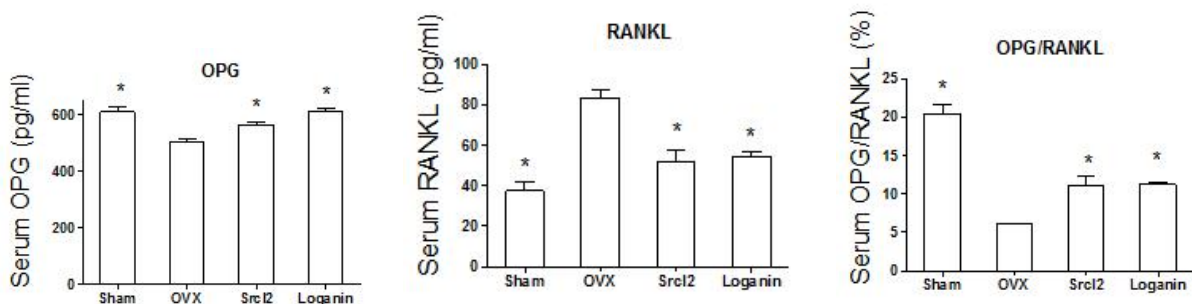
(골다공증모델 동물(난소절제 마우스, OVX))



(로가닌(Loganin)의 구조)



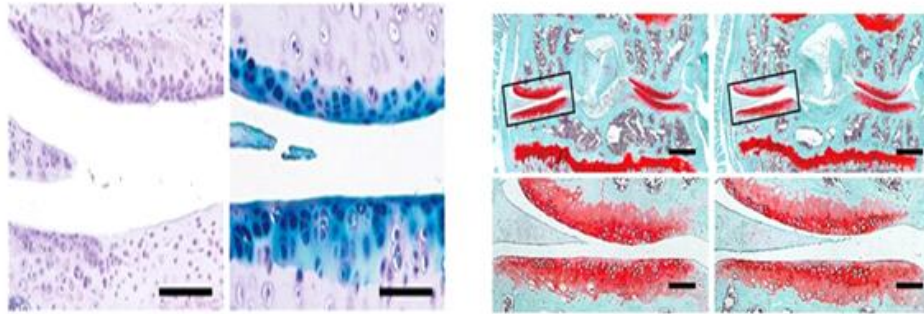
(골다공증 마우스에서 로가닌(Loganin) 투여 효과)



(로가닌(Loganin) 투여 골다공증 마우스 혈중 골대사 마커의 변화)

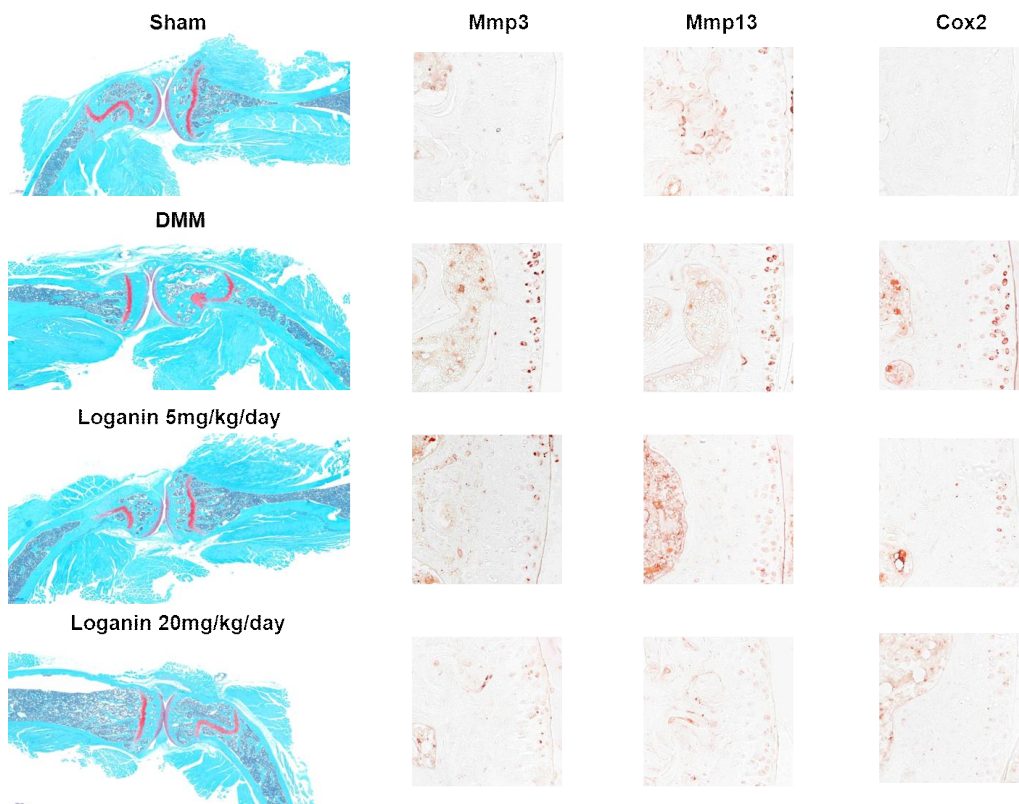
○ 로가닌(Loganin)의 골관절염 모델 마우스에서의 in vivo 기전 규명

- DMM 퇴행성 골관절염 마우스에 Loganin 5mg/kg/day와 Loganin 20mg/kg/day의 용량으로 로가닌을 12주 경구 투여한 후 골관절염 개선 효능을 조사함. 마우스 관절에 대한 Safranin O 염색과 Cox-2, Mmp-3, Mmp-13 항체의 면역염색(immunohistochemistry)을 통해 연골의 손상 및 염증반응을 더욱 정밀하게 분석하여 골관절염 개선효과를 조사하였음.



(퇴행성 골관절염 마우스 모델의 관절조직에서의 H&E 및 Safranin O 염색)

- 실험 결과 로가닌 농도 의존적으로 Safranin O 염색이 증가하고, Mmp-3, Mmp-13, Cox-2의 발현량이 감소됨을 확인하였음.
- 이러한 결과로부터, 산수유 추출물의 효능성분인 로가닌은 염증 유발인자 및 통증 유발인자의 발현 억제를 통해 골관절염 개선의 효과를 나타내는 것으로 사료됨.



(골관절염 마우스에서의 로가닌(Loganin) 투여 효과)

□ 학술대회 발표 - 아주대학교산학협력단, (주)나인비

- ① 2017 한국실험동물학회 동계학술대회(전북, 무주) - 포스터 발표
- ② 2017 한국실험동물학회 동계학술대회(전북, 무주) - 포스터 발표
- ③ 2018 한국실험동물학회 동계학술대회(강원, 원주) - 포스터 발표
- ④ Tokyo 2018 Cell and Developmental Biology Meeting(일본, 동경) - 포스터 발표



2017
한국실험동물학회
동계심포지엄

2017. 02. 15(수) ▶ 17(금)
전북 무주 덕유산리조트
카니발컬처팰리스

주최:  한국실험동물학회

후원:  한국과학기술단체총연합회
KOFST THE KOREAN FEDERATION OF SCIENCE AND TECHNOLOGY SOCIETIES

 농림축산식품부

PS-D-14

Anti-adipogenic activity of Scopolin in 3T3-L1 cells and ovariectomized model mice

Gijeong Kim^{2,3}, Jeonghyun Kim^{2,3}, Subin Yeo^{2,3}, Ryunjin Lee^{2,3}, Jieun Kim^{2,3}, Suyong An^{2,3}, Seon-Yong Jeong^{1,2,3,*}, Eunkuk Park^{1,2,3,*}

¹Nine B company, Daejeon, Republic of Korea

²Department of Medical Genetics, Ajou University School of Medicine, Suwon, Republic of Korea

³Department of Biomedical Sciences, Ajou University Graduate School of Medicine, Suwon, Republic of Korea

Obesity is caused by excess storage of body fat, resulting from a chronic imbalance between energy intake and expenditure. Here, we performed fractionation and isolation of the bioactive compound(s) responsible for anti-obesity effects of *Lycii Radicis Cortex* (LRC). A single compound, Scopolin, was isolated from the LRC extract as a candidate component of beneficial effects on adipogenesis. This study aimed to investigate the anti-obesity effects of Scopolin in 3T3-L1 adipocytes and ovariectomized (OVX) mice. Differentiation of 3T3-L1 pre-adipocyte cells were induced by 0.5 mM 3-isobutyl-1-methyl-xanthine, 1 mM dexamethasone and 1 µg/ml insulin (MDI). After 3 days of differentiation, the cells were incubated with 1 µg/ml insulin for 5–7 days. Cell viability, lipid accumulation, and mRNA expression levels were measured in 3T3-L1 adipocytes. The Scopolin treatment decreased adipocyte differentiation of 3T3-L1 cell in dose dependent manner. Key transcriptional regulators of adipogenesis-related genes such as adiponectin (Adipoq), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Pparγ), lipoprotein lipase (Lpl), perilipin1 (Plin1), fatty acid binding protein 4 (Fabp4), glucose transporter type 4 (Slc2a4), CCAAT/enhancer-binding protein alpha (Cebpa) significantly reduced by treatment of Scopolin. In addition, OVX mice administered with Scopolin (20 and 40 µM/kg/day) for 12 weeks. Scopolin prevented total body weight, total % fat, fatty hepatocytes, adipocyte size and serum concentrations of leptin and insulin in OVX mice. This study suggested that Scopolin may be a potential therapeutic agent for the prevention of obesity.

Acknowledgements: This work was supported by High Value-added Food Technology Development Program, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Republic of Korea (116162-02-1-HD020 and 116162-02-1-SB010).

Corresponding author : Eunkuk Park

Keyword : Obesity, *Lycii Radicis Cortex*, Scopolin, OVX mice, Adipocyte

PS-D-15

Effects of Loganin isolated from *Cornus officinalis* on serum estrogen increase in menopausal ovariectomized mice

Eunkuk Park^{1,2,3}, Jieun Kim^{2,3}, Jeonghyun Kim^{2,3}, Subin Yeo^{2,3}, Gijeong Kim^{2,3}, Ryunjin Lee^{2,3}, Suyong An^{2,3}, Seon-Yong Jeong^{1,2,3,*}

¹Nine B company, Daejeon, Republic of Korea

²Department of Medical Genetics, Ajou University School of Medicine, Suwon, Republic of Korea

³Department of Biomedical Sciences, Ajou University Graduate School of Medicine, Suwon, Republic of Korea

Estrogen deficiency is a main risk factor for alterations in bone metabolism in postmenopausal women. Although a number of effective drugs are currently available for the treatment of menopause-related osteoporosis, there are still limitations, including side effects and unmet needs. Here, we performed fractionation and isolation of the bioactive compound(s) responsible for effects of *Cornus officinalis* (CO). A single compound, Loganin, was isolated from the CO extract as a candidate component of beneficial effects on menopause-related osteoporosis. This study aimed to investigate the anti-osteoporotic effects of Loganin on serum estrogen increase *in vitro* and *in vivo*. Loganin fraction treatment in preosteoblast cell line MC3T3-E1 significantly enhanced cell proliferation, alkaline phosphatase activity and mineralized nodule formation but decreased osteoclast differentiation in primary-cultured monocytes derived from mouse bone marrows. Consistently, Scopolin induced osteoblast differentiation but reduced osteoclast differentiation in co-cultured monocytes and MC3T3-E1 cells. Loganin increased the production of estrogen induced by androstenedione in human ovarian granulosa tumour cell line COV434 and mouse myoblast cell line C2C12. *In vivo* experiments, Loganin prevented loss of bone mineral density, decreased serum estradiol concentration and uterine contraction in OVX mice. These results suggested that Scopolin may be a potential therapeutic agent for menopause-related osteoporosis.

Acknowledgements: This work was supported by High Value-added Food Technology Development Program, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Republic of Korea (116162-02-1-SB010 and 116162-02-1-HD020).

Corresponding author : Seon-Yong Jeong

Keyword : Estrogen, Bone metabolism, Postmenopausal women, Loganin, OVX mice



2018 한국실험동물학회 동계심포지엄

2018. 01. 24(수) - 27(토)
강원도 원주 한솔오크밸리 빌리지센터

PROGRAM

1.25 Thu

학술심포지엄 1 - Challenges and insights for animal models in tumor immunology and immunotherapy
Role of PD-1 expressed on regulatory T cells during cancer progression
Inhibition of regulatory T cells by Fc-fused peptide induces anti-tumor immunity in immunocompetent mouse models
Tumor immunology and gene-editing on T cells for an adoptive cell therapy
Myeloid-derived suppressor cells and immune regulation in Cancer

폴로퀴움

학술심포지엄 2 - Animal models for nonalcoholic fatty liver disease

소포체 스트레스 동물모델을 이용한 지방간 및 지방간염 연구
ATF3 as a targeted molecule linking hepatic steatosis to diabetes
Loss of SREBP-1c ameliorates steatohepatitis through regulation of LCN2 in the animal model
NPC1L1-targeted IgY and n-3 PUFAs ameliorate high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease

실험동물기술원 교육강연 1 - Mouse genetics and genetically engineered mouse

마우스 substrain & nomenclature
유전도터링
유전자변형 마우스의 개발
유전자변형 동물을 활용한 연구

학술심포지엄 3 - Stem cells and gene editing

Derivation and functional analysis of ESC-derived Sertoli cells
Application of stem cells for curing pulmonary diseases
Genome editing using CRISPR-Cas9 and -Cpf1
Induction of selective cell death of culture-adapted human embryonic stem cells through Bcl-XL inhibition
젊은과학자세션

9:40-11:20 / 그랜드볼룸 A
하상준 (연세대학교)
김용성 (이주대학교)

이명섭 (울산대학교)
연재인 (서울대학교)

9:40-11:20 / 그랜드볼룸 B

12:40-14:40 / 그랜드볼룸 A
한재석 (순천향대학교)
김원호 (질병관리본부)
임승순 (계명대학교)
차지영 (가천대학교)

12:40-14:40 / 그랜드볼룸 B
남기환 (KREBB)
윤원기 (KREBB)
이재훈 (연세대학교)
구옥재 (울진)

15:00-17:00 / 그랜드볼룸 A
이동철 (치과대학대학교)
홍석호 (강원대학교)
김형범 (연세대학교)
차혁진 (서강대학교)

15:00-17:00 / 그랜드볼룸 B

1.26 Fri

IACUC 심포지엄 - Educational program for the guide

실험동물의 관리와 이용
실험동물의 환경 사육관리
실험동물의 수의학적 관리
실험동물 시설

실험동물기술원 교육강연 2 - Animal model for research

설치류 미세수술 모델
연구를 위한 미니돼지의 활용
영장류 동물모델

Special Lecture - 의료가기, 의료가의 산업화

Conditions for successful healthcare research and business development

학술심포지엄 4 - Collaborative research and development for high-tech medical products

Integrative pre-clinical research in KBIO
Targeting macrophages for inflammatory disease: Age-related choroidal neovascularization
Preclinical efficacy evaluation of potential therapeutics for rheumatic diseases
Visualization of neurodegeneration treatment

분과심포지엄[질환모델분과] - Current research on domestic animal disease models

인간 퇴행성 질환모델 동물 개발
돼지 유전자형 고정을 통한 지방축적 모델 개발
질환모델 동물의 바이오 이미징 기술
SCID 돼지를 활용한 인간 질환모델 동물 개발

8:00-11:00 / 그랜드볼룸 A
박재학 (서울대학교)
나이랑 (서울대학교)
이민재 (강원대학교)
한진수 (건국대학교)

9:00-11:00 / 그랜드볼룸 B
김화정 (DGMI)
강경수 (메디칼리텍스)
김태민 (서울대학교)

11:00-12:00 / 그랜드볼룸 A
송시영 (연세대학교)

14:00-16:00 / 그랜드볼룸 A
최우성 (KBIO)
석승혁 (서울대학교)
이주하 (가톨릭대학교)
최영식 (한국뇌연구원)

14:00-16:00 / 그랜드볼룸 B
김만규 (충남대학교)
조인철 (국립축산과학원)
김보경 (건국대학교)
송혁 (건국대학교)

1.27 Sat

실험동물 산학연 워크숍 - 바이오연구 인프라 발전 방안

9:00-11:00 / 그랜드볼룸 A

사전등록

2017년 11월 22일(수)
~ 2018년 1월 2일(화) 까지


포스터 및 구연 접수

2017년 11월 22일(수)
~ 2018년 1월 2일(화) 까지

등록 및 접수방법

www.kalas.or.kr
한국실험동물학회 홈페이지

주최

 한국실험동물학회

후원:

 KCST
한국과학기술단체총연합회

 농림축산식품부
Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs

 농촌진흥청
Rural Development Administration

 KBIO HEALTH
국립축산과학원

Anti-osteoporotic effects of kukoamine B in osteoblast and osteoclast cells and ovariectomized mice

Eunkuk Park^{1,2}, Jeonghyun Kim^{1,2}, Subin Yeo^{1,2,3}, Gijeong Kim^{1,2}, Eunhee Go^{1,2}, Miran Jo^{1,2}, Jung-a Yang³, Seon-Yong Jeong^{1,2,3*}

¹Department of Medical Genetics, Ajou University School of Medicine, Suwon 16499, Republic of Korea

²Department of Biomedical Sciences, Ajou University Graduate School of Medicine, Suwon 16499, Republic of Korea

³Nine B Company, Daejeon 34121, Republic of Korea

Osteoporosis is an abnormal bone remodeling condition characterized by decreased bone density, which leads to high risks of fracture. Previous studies have demonstrated that Lycii Radicis Cortex (LRC) extract inhibits bone loss in ovariectomized (OVX) mice by enhancing the osteoblast differentiation. A bioactive compound, Kukoamine B (KB), was identified from a fractionation of LRC extract as a candidate component responsible for an anti-osteoporotic effect. This study investigated the anti-osteoporotic effects of KB using in vitro and in vivo osteoporosis models. KB treatment significantly increased the osteoblastic differentiation and mineralized nodule formation of osteoblastic MC3T3-E1 cells, while it significantly decreased the osteoclast differentiation of primary-cultured monocytes derived from mouse bone marrow. The effects of KB on osteoblastic and osteoclastic differentiations under more physiological conditions were also examined. In the co-culture of MC3T3-E1 cells and monocytes, KB promoted osteoblast differentiation but did not affect osteoclast differentiation. For the in vivo experiments, KB significantly inhibited OVX-induced bone mineral density loss and restored the impaired bone structural properties in osteoporosis model mice. These results suggest that KB may be a potential therapeutic candidate for the treatment of osteoporosis. Acknowledgements: This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant (2016K1A1A8A01939208) and by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs funded by the Korea government (116162-02-1-HD020)

Corresponding author : Seon-Yong Jeong

Keyword : osteoporosis; herbal medicine; Kukoamine B; osteoblast; osteoclast bone mineral density; ovariectomized mice

Tokyo 2018 Cell and Developmental Biology Meeting

第70回日本細胞生物学会 第51回日本発生生物学会 合同大会
Joint Annual Meeting of 51st JSDB & 70th JSCB

co-sponsor : Asia-Pacific Developmental Biology Network

2018. 6. 5 (Tue) ~ 8 (Fri)
Tower Hall Funabori, Tokyo

タワーホール船堀 (東京都江戸川区)

Organizers Akihiro Harada (Osaka Univ)
Shigeo Hayashi (RIKEN CDB)

Abstract Submission 演題登録: 2018. 1.15 ~ 2.19
Early Registration 事前参加登録: 2018. 1.15 ~ 4.19

Special Lecture

Yoshinori Ohsumi (Tokyo Institute of Technology)
2016 Nobel Laureate in Physiology or Medicine

Plenary Lectures

Pietro De Camilli (Yale University, USA)
Dennis Discher (University of Pennsylvania, USA)
Thomas Lecuit (IBDM, France)
Clifford Tabin (Harvard Medical School, USA)

<https://config.atlas.jp/jscbjfdb2018>



Poster Session

[P3(1F)]Poster Session 3(1F) Topics 6-12

Fri. Jun 8, 2018 1:45 PM - 3:45 PM Poster(1F) & Exhibition (1F Exhibition Hall)

Cell adhesion / ECM / Cell-cell interaction / Mechanobiology & Tissue / Organogenesis / Morphogenesis & Differentiation / Regeneration / Stem cells & Nutrition / Metabolism & Theoretical biology / Modeling & Disease / Pathology / Pathogenesis & Evolution (EcoDevo / EvoDevo) & Technical advances (genome editing, imaging, bioinformatics, etc.) & Other important fields

1:45 PM - 3:45 PM

[P3-1F-115] Effects of Kukoamine B on bone formation and resorption in ovariectomized mice

*Seulbi Park^{1,2}, Jeonghyun Kim^{1,2}, Moon-Chang Kim¹, Subin Yeo³, Yoonjoong Yong³, Jung-a Yang³, Gijeong Kim^{1,2}, Eun-Hee Ko^{1,2}, Eunkuk Park^{1,3}, Seon-Yong Jeong^{1,2,3} (1. Ajou University School of Medicine, Department of Medical Genetics, 2. Department of Biomedical Sciences, Ajou University Graduate School of Medicine, Suwon 16499, Republic of Korea, 3. Nine B Company, Daejeon 34121, Republic of Korea)

Keywords: osteoporosis, bone, Kukoamine B, ovariectomized mice

Bone is continuously remodeled and is maintained by a balanced process between bone formation and resorption. Here, we investigated the anti-osteoporotic effects of Kukoamine B (KB) *in vitro* and *in vivo* osteoporosis models. KB enhanced alkaline phosphatase activity and mineralized nodule formation with increased bone metabolic markers in osteoblastic MC3T3-E1 cells. However, KB treatment significantly decreased the tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) activity in primary-cultured monocytes derived from mouse bone marrow. In the co-culture of monocytes and MC3T3-E1 cells, KB increased osteoblast differentiation but did not affect osteoclast differentiation. For the *in vivo* experiments, KB significantly prevented ovariectomy-induced bone loss and restored the impaired bone structural properties in ovariectomized osteoporosis model mice. These results suggest that KB may be a potential therapeutic agent for the treatment of osteoporosis. Acknowledgements: This work was supported by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Republic of Korea (115007-03-2-HD020, 116162-02-1-HD020, and 117041-03-1-HD020).

□ 국내 특허 및 상표 등록 - (주)나인비, 아주대학교산학협력단

① 국내특허 등록(2018.07.05.): 10-1877443

- 로가닉산 또는 이의 유도체를 유효성분으로 함유하는 비만 예방, 개선 또는 치료용 조성물



등록사항

특허 등록 제 10-1739838 호
Patent Number

특허권자 Patentees

아주대학교산학협력단(135871-*****)
경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동)

주식회사 나인비(170111-*****)
대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10 ,103호(도룡동,더.포엠)

발명자 Inventors

정선용(6-*****)

경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동)
아주대학교산학협력단

박은국(7-*****)

경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동)
아주대학교산학협력단

김문창(8-*****)

경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동)
아주대학교산학협력단

김정현(9-*****)

경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동)
아주대학교산학협력단

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 116162-02-1-SB010

【부처명】 농림축산식품부

【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

【연구사업명】 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 시범사업

【연구과제명】 산수유복합추출물을 이용한 뼈·관절 기능성원료 개발 및
사업화

【기여율】 70/100

【주관기관】 (주)나인비

【연구기간】 2016.12.05 ~ 2018.12.04

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 116162-02-1-SB010

【부처명】 농림축산식품부

【연구관리 전문기관】 농림수산식품기술기획평가원

【연구사업명】 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 시범사업

【연구과제명】 산수유복합추출물을 이용한 뼈·관절 기능성원료 개발 및
사업화

【기여율】 70/100

【주관기관】 (주)나인비

【연구기간】 2016.12.05 ~ 2018.12.04

- ② 상표등록 2건(2018.03.06.): 40-1337586, 40-1337587
 - 나인비 제05류 상표등록, 나인비 제03류 상표등록



상표를 사용할 상품 및 구분
 List Of Goods
 제 05 류
 건강관리용 약제(Pharmaceutical preparations for health care)등 9건

나인비

위의 표장은 「상표법」에 따라 상표등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
 This is to certify that, in accordance with the Trademark Act, a trademark has been registered at the Korean Intellectual Property Office.



2018년 03월 06일

특허청장
 COMMISSIONER,
 KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

성근모

상표등록원부

상 표 등 록 번 호	제 1337586 호
-------------	-------------

[권 리 란]

표시번호	등 록 사 항	상 사 표	
1번	출원연월일	2017년 05월 29일	
	출원번호	2017-0065450	
	공고연월일	2017년 11월 06일	
	공고번호	2017-0111884	
	등록결정(심결)연월일	2018년 02월 02일	
	상품류구분수	1	
	상표권의 취지	일반상표	
	상표권 설정등록일	2018년 03월 06일 등록	등록공고일
존속기간(예정)만료일	2028년 03월 06일		
지정상품	제05류 : 건강관리용 약제(Pharmaceutical preparations for health care), 식이보충제, 식이보충제용 건강보조식품, 의료용 보조제, 의약품 건강관리제, 치료용 건강보조식품, 영양보충제, 치료용 또는 의료용 건강기능식품, 의료용 식이 및 영양강화식품		



[상 표 등 록 료 란]

전액납부 10년분 (2018.03.06 ~ 2028.03.06)	금 액 211,000 원	2018년 03월 06일 납입
-------------------------------------	---------------	------------------

[상 표 권 자 란]

(최종권리자) 주식회사 나인비 (170111-*****) 대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10, 103호(도룡동, 더.포엠)	
순위번호	등 록 사 항
1번 (등록권리자)	주식회사 나인비(170111-*****) 대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10, 103호(도룡동, 더.포엠) 2018년 03월 06일 등록

이하여백

상표등록증

CERTIFICATE OF TRADEMARK REGISTRATION

등록

Registration Number

제 40-1337587 호

출원번호

Application Number

제 40-2017-0065451 호

출원일

Filing Date

2017년 05월 29일

등록일

Registration Date

2018년 03월 06일

상표권자 Owner of the Trademark Right

주식회사 나인비(170111-*****)

대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10,103호(도룡동,더.포엠)

상표를 사용할 상품 및 구분

List Of Goods

제 03 류

각질제거용 화장품(Exfoliant cosmetics)등 18건

나인비

위의 표장은 「상표법」에 따라 상표등록원부에 등록되었음을 증명합니다.

This is to certify that, in accordance with the Trademark Act, a trademark has been registered at the Korean Intellectual Property Office.



특허청

Korean Intellectual
Property Office

2018년 03월 06일

특허청장

COMMISSIONER,

KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

성준모

상표등록원부

상 표 등 록 번 호	제 1337587 호
-------------	-------------

[권 리 란]

표시번호	등 록 사 항	상 사 표	
1번	출원연월일	2017년 05월 29일	
	출원번호	2017-0065451	
	공고연월일	2017년 11월 10일	
	공고번호	2017-0114240	
	등록결정(심결)연월일	2018년 01월 30일	
	상품류구분수	1	
	상표권의 취지	일반상표	
	상표권 설정등록일	2018년 03월 06일 등록	등록공고일 2018년 03월 12일
	존속기간(예정)만료일	2028년 03월 06일	
	지정상품	제03류 : 각질제거용 화장품(Exfoliant cosmetics), 기능성 화장품, 마사지용 화장품, 마스크팩, 바디로션, 세안클렌저, 스킨케어전용 화장품, 스킨로션, 눈썹메이크업(화장품), 립스틱, 화장용 자외선차단제, 메이크업 파운데이션, 천연화장품, 헤어린스, 헤어샴푸, 화장품, 미용비누, 메이크업 화장품	

[상 표 등 록 료 란]

전액납부 10년분 (2018.03.06 ~ 2028.03.06)	금 액 211,000 원	2018년 03월 06일 납입
-------------------------------------	---------------	------------------

[상 표 권 자 란]

(최종권리자) 주식회사 나인비 (170111-*****) 대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10 , 103호(도룡동, 더.포엠)		
순위번호	등 록 사 항	
1번	(등록권리자) 주식회사 나인비(170111-*****) 대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10 , 103호(도룡동, 더.포엠)	2018년 03월 06일 등록

이하여백

□ 기술실시(자체기술실시) - (주)나인비

농림식품 과학기술을 선도하자



농림식품기술기획평가원



수신자 (주)나인비 대표이사

(경유)

제목 기술료 감면 승인 알림(주)나인비, 정선용)

1. 귀 기관의 무궁한 발전을 기원합니다.
2. 농림축산식품 연구개발사업 운영규정 제35조(기술료의 징수)와 관련됩니다.
3. 귀 기관서 요청한 기술료 감면 건에 대해 아래와 같이 승인하오니 '18.01.02.(화)까지 기술료를 납입하여 주시고 붙임 양식의 기술실시보고서를 제출하여 주시기 바랍니다.
가. 승인내역

사업명	과제명	연구기관	실시기업	정부출연금	당초기술료*	최종 기술료**
농생명	산수유복합추출물을 이용한 뼈, 관절 기능성원료 개발 및 사업화	(주)나인비	(주)나인비	121,000천원	12,100천원	1,694천원(중소기업 80%, 일시납 30% 추가감면)

나. 정부납부기술료 입금 계좌 : 신한은행 56212694561184

붙임. 기술실시보고서(별지 13의2) 1부. 끝.

농림식품기술기획평가원장



대결 12/15
 *연구원 유상준 선임 류병현

협조자

시행 농생명ARC사업실-2882 (2017. 12. 15.) 접수
 우 14055 경기도 안양시 동안구 부림로 166 (관양동 우양타운) / http://www.ipet.re.kr
 전화 031-420-6767 전송 031-425-6443 / luckyysj@ipet.re.kr / 비공개(6)

농림식품 과학기술을 선도하자

기술실시보고서

(단위 : 원)

연구개발과제 현황	사업명	농생명산업 기술개발사업		연구과제번호	116162-002-1-SB010		
	연구과제명	산수유복합추출물을 이용한 뼈·관절 기능성원료 개발 및 사업화					
	연구기관명	(주)나인비	연구책임자	정선용	참여기업명		
	연구협약일	2016.12.05	연구기간	2016.12.05.~2018.12.04			
	연구개발비	정부출연금 121,000,000	기업부담금 69,000,000	기타 ()	계 190,000,000		
기술실시계약 및 성과활용 현황	계약(활용)명	산수유복합추출 활용의 뼈와 관절에 좋은 건강기능식품 개발					
	계약(활용)일	2017.12.12	실시(활용)기간	2017.12.21.~2020.12.20			
	지재권 종류	노하우		실시권 유형	직접실시		
	* 지재권이 특허(출원,등록) 인 경우	명 칭				일 자	
		번호					
	실시(활용)기관	기관명	(주)나인비			기관유형	
		주 소	대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10, 103호			대 표 자	정선용
사업자번호		397-87-██████			전화번호	██████████	
부서(담당자)		양정아			e-mail	██████████	
기술료산정내역	실시기업인 (주)나인비는 중소기업이며, 본 연구과제의 참여기업에 해당하여 징수대상 기술료에서 80% 감면 및 일시납부에 따른 30% 추가감면을 요청함.						
기 술 료	정액기술료		경상기술료			기타 조건	
	징수(납부)예정일	징수(납부)금액	착수기분료	징수(납부)예정일	징수(납부)금액		
			매출에 따른 기술료	징수(납부)시작일	결산월		
				징수(납부)종료일	징수율		
	계				매출액의 ()%		
기타특기사항							

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제22조 제2항에 따라 위와 같이 기술실시계약이 체결되었음을 보고합니다.

- 붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부(타기관으로 기술이전시).
 2. 지식재산권을 포함하는 기술이전인 경우 해당 증빙자료(특허 등록증, 출원증 등) 1부 (타기관으로 기술이전시).
 3. 연구개발과제협약서 사본 1부(직접실시 시).

2017 년 12 월 20 일

주관연구기관 (주)나인비의 대표 [직인]


농림식품기술기획평가원장 귀하



□ 산수유와 우슬추출물을 사용한 건강기능식품 개발 사업화 - (주)나인비

○ 사업화 내용: 제품(건강기능식품) 2종 출시

① 산수유, 우슬추출물을 부원료로 활용한 뼈건강과 관절건강의 2가지 효능의 건강기능식품



NINE B
nature & health

NINE B Co., Ltd.

1. 제품명: 마디본 (Dietary Supplements for Bone and Joint health)


2. 제품 설명: 관절건강의 '마디애'와 뼈건강의 '조아본'의 합포장 건강기능식품

3. 제품의 구성:

- ① **마디애(愛): 관절에 좋은 건강기능식품**
 - 기능성원료: CMO 함유 FAC(Cetyl Myristoleate-Fatty Acid Complex)
 - 부원료: 비타민 A, d-a-토코페롤(BASF), 대두유, 대두레시틴
 - 용량 및 수량: 600mg 240 연질캡슐 (1일 4캡슐)
- ② **조아본(BONE): 뼈에 좋은 건강기능식품**
 - 기능성원료: 비타민 D3(0μg), 비타민K1(70μg), 산화아연(8.5μg)
 - 부원료: 산수유복합추출물(산수유, 우슬, 금앵자, 까마귀밥나무의 주정추출물 혼합), 비타민B1, B2, B6, B12, 비타민C, 비오틴, 엽산, 판토텐산칼슘, 니코틴산아미드, 해조분말, 황산망간, 산화마그네슘, 셀렌, 상어연골추출분말, 피로인산제이철혼합제, 황산동, 요오드, 크롬, 몰리브덴, 치커리화이바, 스테아린산마그네슘
 - 용량 및 수량: 600mg 240정 (1일 4정)


4. 제품의 특징:

- ❖ **골관절염**은 연골 조직의 퇴행과 연골아래 뼈의 구조적 변화로 인해 통증과 일상생활의 활동장애와 운동장애를 유발하고, **골다공증**은 뼈가 약해져서 작은 충격에도 쉽게 골절이 되기 쉬운 상태가 되어 삶의 질을 크게 저하시키는 퇴행성 질환임
- ❖ **마디본은 관절 건강과 뼈 건강을 동시에 고려한 제품**으로서, 미국에서 수입한 CMO 함유 FAC, 비타민 D, 산수유복합추출물(골관절염과 골다공증 개선에 유효), 20종의 비타민과 미네랄을 함유한 제품으로 효능이 우수한 건강기능식품임



골다공증(osteoporosis) 골다공증으로 골절되기 쉬운 부위

골관절염(osteoarthritis) 건강한 관절과 골관절염 관절 비교



5. 제품 제조원: (주)코스맥스바이오 OEM

6. 추천 드리는 분: 중·노년의 뼈 건강과 관절 건강을 원하는 분

주식회사 나인비 (www.9bnh.com 042-867-1684)

- 44 -

② 산수유추출물을 부원료로 활용한 기억력 개선, 면역력 증진, 뼈건강 등 효능의 건강기능식품


NINE B Co., Ltd.

1. **제품명: 지애본 (Dietary Supplements for Memory Improvement, Bone health, Immunity Enhancement, Antioxidation, and Blood Flow Improvement)**
2. **제품 설명:** 기억력 개선, 면역력 증진, 뼈 건강, 항산화, 혈액흐름, 피로개선에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품
3. **제품의 구성:**
 - ① 기능성 원료: **6년근 홍삼, 비타민 D₃**
 - ② 핵심 부원료:
 - ✓ **산수유추출물(국산):** 산수유에 다량 함유되어 있는 “로가닌” 성분이 기억력 개선과 신장 기능에 효과가 있음이 많은 논문에서 밝혀짐
 - ✓ **노루궁뎅이버섯추출물(국산):** 베타글루칸 성분이 다량 함유되어 있으며, 인지능 개선, 위장질환 개선 등의 효능이 있음이 알려져 있음
 - ✓ **영지버섯추출물(국산):** 베타글루칸 성분이 다량 함유되어 있으며, 혈관 건강, 성인병 예방, 항암작용 등의 효능이 있음이 알려져 있음
 - ✓ **맥문동추출물(국산):** 사포닌 성분이 다량 함유되어 있으며, 폐, 기관지 등의 호흡기 건강에 좋다고 알려져 있음
 - ✓ **프락토올리고당(프리바이오틱스):** 유산균의 먹이로 장건강에 좋다고 알려져 있음
 - ✓ **비타민과 미네랄:** 비타민 B2, B6, B12, C, 칼슘, 마그네슘, 아연

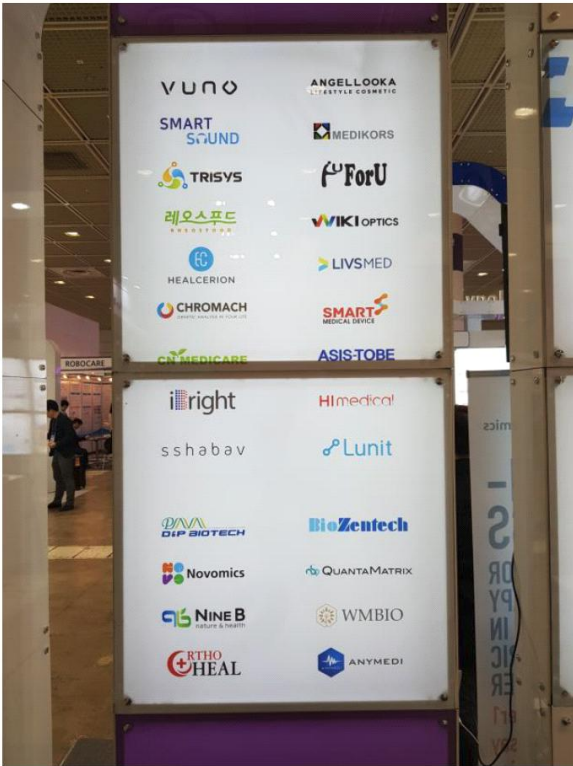


4. **제품의 특징:**
 - ✓ 6년근 홍삼과 비타민 D의 기능성원료에 더해 본사 개발의 다양한 약용식물 추출물들이 최적의 배합으로 함유되어 있어, 일반 홍삼제품과 차별화된 제품
 - ✓ 최상급의 국산 원료를 사용하여 안전하고 효능이 좋은 프리미엄 제품
 - ✓ 아주대학교 의과대학 소속 연구팀이 장기간의 연구로 개발한 우수한 제품
 - ✓ 1일 1포로 섭취가 용이하고 맛이 좋은 액상스틱 제품(2개월 분)
5. **제품 제조원:** 극동에치팜(주) OEM
6. **추천 드리는 분:** 기억력 개선, 면역력 증진, 뼈 건강이 필요한 청소년, 중·노년층

주식회사 나인비 (www.9bnh.com / 042-867-1684)

□ 전시회 참가 - (주)나인비

- ① 2018 바이오코리아 전시회 참가(서울 코엑스, 2018.05.09~11)
- 마디본 전시



- ② 2018 서울 국제소싱페어 전시회 참가(서울 코엑스, 2018.09.11-12)
- 마디본 및 지에본 전시. 제품소개 와 국내외 바이어들과의 상담



○ 매출실적

- ① 마디본: 20,000,000원
- ② 지애본: 4,000,000원

매 출 장

2018년01월01일 ~ 2018년12월31일

회사명: [0924] 주식회사 나인비		전 체 /		전체 단일거래	
번호	일 자	요	매 출		
			공 급 가 액	부 가 가 치 세	
50001	2018-02-09	해관관청에 등록된 차량등록 3000.00	18,181,818	1,818,182	
		합 계 1 건 (매수 1 매)	18,181,818	1,818,182	
		월 계 1 건 (매수 1 매)	18,181,818	1,818,182	
		누 계 1 건 (매수 1 매)	18,181,818	1,818,182	
50001	2018-03-22	해관관청에 등록된 차량등록 3000.00	18,181,819	1,818,181	
50003	2018-03-31	간별매출 소비자	318,182	31,818	
		합 계 2 건 (매수 2 매)	18,500,001	1,849,999	
		월 계 2 건 (매수 2 매)	18,500,001	1,849,999	
		분기누계 3 건 (매수 3 매)	36,681,819	3,668,181	
		누 계 3 건 (매수 3 매)	36,681,819	3,668,181	
50001	2018-05-28	해관관청에 등록된 차량등록 3000.00	3,636,364	363,636	
50002	2018-05-28	해관관청에 등록된 차량등록 3000.00	-7,795,455	-779,545	
50003	2018-05-28	해관관청에 등록된 차량등록 3000.00	7,795,455	779,545	
		합 계 3 건 (매수 3 매)	3,636,364	363,636	
		월 계 3 건 (매수 3 매)	3,636,364	363,636	
		분기누계 3 건 (매수 3 매)	3,636,364	363,636	
		누 계 6 건 (매수 6 매)	40,318,183	4,031,817	
50001	2018-08-27	해관관청에 등록된 차량등록 3000.00	18,181,819	1,818,181	
		합 계 1 건 (매수 1 매)	18,181,819	1,818,181	
		월 계 1 건 (매수 1 매)	18,181,819	1,818,181	
		누 계 7 건 (매수 7 매)	58,500,002	5,849,998	
50001	2018-09-14	지애본 주식회사	727,273	72,727	
50001	2018-09-17	개인매출 간별매출	218,182	21,818	
		합 계 2 건 (매수 2 매)	945,455	94,545	
		월 계 2 건 (매수 2 매)	945,455	94,545	
		분기누계 3 건 (매수 3 매)	19,127,274	1,912,726	
		누 계 9 건 (매수 9 매)	59,445,457	5,944,543	
50001	2018-10-01	개군 - 간별매출 간별매출	409,091	40,909	
50002	2018-10-01	해관관청에 등록된 차량등록 3000.00	4,159,091	415,909	
50001	2018-10-10	지애본	727,273	72,727	
50001	2018-10-17	쿠광원금융수증매출	72,728	7,272	
50001	2018-10-26	건설당	909,091	90,909	
		합 계 5 건 (매수 5 매)	6,277,274	627,726	
		월 계 5 건 (매수 5 매)	6,277,274	627,726	
		누 계 14 건 (매수 14 매)	65,722,731	6,572,269	
50001	2018-11-30	지애본	909,091	90,909	
50001	2018-12-03		436,364	43,636	
50001	2018-12-04	백년산수유 100X12,500	1,136,364	113,636	
50002	2018-12-04		218,182	21,818	
50001	2018-12-20		72,728	7,272	
		합 계 4 건 (매수 4 매)	1,863,638	186,362	
		월 계 4 건 (매수 4 매)	1,863,638	186,362	
		분기누계 10 건 (매수 10 매)	9,050,003	904,997	
		누 계 19 건 (매수 19 매)	68,495,460	6,849,540	

□ 사업화 성공 전략 수립 - (주)나인비

(1) B2B

본사와 같은 벤처기업은 특성상 1인 3역 이상으로 많은 업무를 소화하고 진행해야 회사의 경쟁력이라 할 수 있음. 자체 인력으로 직접 제품 판매를 진행하게 되면 판매 경험이나 노하우는 얻을 수 있지만, 반대로 많은 인적자원이나 투자금이 소요되어 회사의 재무구조는 나빠지게 되며, 경영상태가 어려워질 수 있음. 유통전문기업과의 협업이나 총판/대리점/방문판매 조직을 활용한 B2B 사업이 옳은 판단이라 생각함.

생산 제품의 총판 및 대리점은 아샤그룹(영상콘텐츠 중심의 제품 콘셉트 및 디자인 개발, 온라인 판매), (주)위너버스(모바일 소비지출관리 시스템을 활용한 온라인 제품 판매), 트라이패스(링크기반 세일즈 플랫폼 시스템을 활용한 국내 및 국외(베트남, 태국 등) 온라인 판매, (주)이앤이솔루션(물 처리 전문업체이나 본사 제품 전문 유통업체 신규법인 설립 예정)이며, MOU를 체결하였으며 공동연구를 진행 중에 있는 코스맥스바이오(주)에는 원료 공급을 계획하고 있음.

(2) B2C (2020년 이후 예상)

현재 본사의 인력과 사업은 R&D에 집중하고 있으며, 제품개발 및 생산을 진행하더라도 내부 인력 구조상 B2C 판매를 진행하기에 당장은 어려움이 있음. 영업/마케팅팀(국내/해외), 물류관리(재고,배송,반품,폐기 등), 제조/생산관리, 자체 유통시스템 구축(IT관련 투자 등) 등 관련 업무에 필요한 인력 및 조직구성에 투자하기에 무리가 있음.

현재는 개별인정을 최대한 빨리 받을 수 있게 R&D에 집중 투자하는 것이 적절한 전략이며, B2C 판매시점은 B2B 판매를 통한 기대 매출 달성과 제품에 대한 검증이 완료되는 시점에 시작할 계획임.

(3) 제품 마케팅 전략

- 1단계 : 국내 및 해외 총판 및 대리점 모집
- 2단계 :
 - a) 해외 직구판매를 위한 자체유통시스템 구축
 - b) 국내/해외 시장 활성화 및 신제품 개발로 매출 성장 및 판매 돌파구 마련
 - b) 시장 타깃 변경에 따른 신제품(레시피 변경) 출시 및 시장흐름에 맞는 새로운 디자인 적용
 - d) 개별인정 획득과 원료수출로 안정적인 매출 확보(사업영역 확대 및 판매망 확보)
- 3단계 : 홈쇼핑사업자 중 대기업과 중소기업을 위한 정부투자기관에 병행하여 판매함.
 - => 대기업 홈쇼핑채널은 당사 이미지 개선과 매출달성을 목표로 하며,
 - => 정부투자기관 홈쇼핑채널은 수수료가 저렴하여 이익개선을 위한 판매 전략임.

□ 창업투자사 초청 회의를 통해 투자유치 활동 및 투자유치 - (주)나인비

- 창업투자사(VC)의 임원 및 투자심사 담당자(HB인베스트먼트 윤민현 상무 및 김지환 책임심사역, 현대기술투자사 서용덕 이사, 메가인베스트먼트 조명우 상무)와 기술사업화 전문가(엔포유 대학연합기술지주회사 이진구 본부장)의 전문가들과 주관기관의 연구책임자인 (주)나인비 정선용 대표가 참석함.
- 본 과제에서 개발한 뼈건강 및 관절건강 기능성원료의 차별성과 사업화 전략, 기술경쟁력 및 시장경쟁력에 대해 발표하고 투자유치 방안에 대해 논의함.

	회의록		문서 분류	회의록
			페이지번호	1/1페이지
			작성 자	양정아
			작성 일자	2018.07.03

1. 과제 현황

과제번호	116162-02-2-SB010	과제명	산수유복합추출물을 이용한 뼈·관절 기능성원료 개발 및 사업화	
연구기간	2017.12.05 ~ 2018.12.04	연구기관/책임자	주식회사 나인비 / 정선용	
정부출연금	기업부담			
	현금	현물	소계	합계 (단위:원)
60,500,000	4,500,000	30,000,000	34,500,000	95,000,000
지원기관/사업명	2016농기평/농생명산업기술개발사업			
은행명	신한은행	계좌번호	100-031-873465	예금주
				주식회사 나인비

2. 회의 내용

회의 제목	투자유치를 위한 뼈·관절 기능성 원료 사업화 방안 설명회
회의 일시	2018.07.03
장 소	100년관우
회의 내용 (필요시 별지 사용 가능)	창업투자사(VC)의 임원 및 심사역 담당자를 초대하여, 본사의 뼈·관절 기능성 원료의 사업화 계획과 기술 및 시장 경쟁력에 대한 설명회를 개최함.

3. 참석자

성명	소속	신분	서명	성명	소속	신분	서명
윤민현	HB인베스트먼트	상무					
김지환	HB인베스트먼트	책임심사역					
서용덕	현대기술투자사	이사					
조명우	메가인베스트먼트	상무					
이진구	엔포유기술지주회사	본부장					
정선용	(주)나인비	대표이사					

* 회의비는 반드시 연구비카드(법인카드)로 집행해야 함.

* 회의비는 과다집행 및 심야시간대 집행 금지 (1인당 최대 30,000원 유지 요망)

* 지원사업에 따라 회의참석 인원 모두의 서명이 필요한 경우가 있으므로, 사전에 담당자에게 문의 후 작성해야 함.

2018년 7월 3일

연구책임자 : 정 선 용 

(회의록 사본)

○ 투자유치 실적

- 신용보증기금 및 벤처캐피탈 2개사로부터 총 229,980,000원의 투자금 유치

우선주 투자자 명부

투자자 명	법인등록번호	투자 종류	투자 금액(천원)
HB 청년창업 투자조합	[REDACTED]	우선주식	999,900
신용보증기금	[REDACTED]	우선주식	799,950
2016 메가-성장다리 Follow-on 투자조합	[REDACTED]	우선주식	499,950
합 계			2,299,800

상기의 우선주 투자자 명부의 내용이 틀림없음을 증명합니다.

2018. 10. 17.

주식회사 나인비

대표이사 정선용 (인)



이상과 같이 계약을 체결하고 이 사실을 증명하기 위하여 계약서 2부를 작성하여 투자기업, 신보 및 이해관계인이 기명날인하고 투자기업과 신보가 각각 1부씩을 보관하기로 한다.

2018년 9월 13일

투 자 자 : 신용보증기금 (인)
 주 소 : 대구광역시 동구 침단로 7(신서동)
 이 사 장 : 윤 대 희
 위 대리인 김양래(취급점 : 투자금융센터)

투 자 기 업 : 주식회사 나인키 대표이사 정선용 (인)
 법 인 번 호 : [Redacted]
 주 소 : 대전광역시 유성구 대덕대로590번길 11-10, 103호(도룡동, 더포엠)
 대 표 이 사 : 정선용

이해관계인 : 정선용 (인)
 주민(법인)번호 : [Redacted]
 주 소 : [Redacted]

본인확인 및 인감대조	
직	차장
성명	김양래

본 계약서 사본을 확실히 수령하고 주요 내용에 대하여 충분한 설명을 듣고 이해하였음	이해관계인	정선용 (인)
	이해관계인	(인)

상환전환우선주 투자계약서

2018/09/19

투 자 자: HB 청년창업 투자조합

업무집행조합원 에이치비인베스트먼트 주식회사

회 사: 주식회사 나인비

이해관계인: 정선용

아래의 당사자들은 2018년 9월 19일 다음과 같이 주식회사 나인비 상환전환우선주 투자계약서(이하 “본 계약서”)를 체결한다.

1. 투자자 : HB 청년창업 투자조합 (이하 “투자자”)
주소 : 서울특별시 강남구 언주로 819 (신사동 HB빌딩, 5층)
대표자 업무집행조합원 에이치비인베스트먼트 주식회사
대표이사 안 신 영

2. 회 사 : 주식회사 나인비 (이하 “회사”)
주소 : 대전시 유성구 대덕대로 590번길 11-10, 103호(도룡동, 더포엠)
대표이사 정 선 용

3. 이해관계인(이하 “이해관계인”)
성 명: 정 선 용
생년월일: [REDACTED]
주소: [REDACTED]



다 음

제1장 신주의 인수에 관한 사항

제1조(신주의 발행 사항)

- ① 회사는 본 계약에 따라 다음과 같이 종류주식을 발행하고, 투자자는 이를 인수한다(이하 투자자가 인수하는 종류주식을 “본건 종류주식”이라고 함).
 1. 발행할 주식의 총수(수권주식수): [10,000,000]주
 2. 기 발행주식의 총수 : 기명식 보통주 [62,000]주, 종류주식 [5,333]주
 3. 금회의 신주발행 내역
 - 가. 신주의 종류와 수 : 기명식 상환전환우선주식 [9,999]주
 - 나. 1주의 금액(액면가): 금 [5,000]원
 - 다. 본건 주식의 1주당 발행가액(인수가액): 금 [150,000]원
 - 라. 본건 주식의 총 인수대금 : 금 [1,499,850,000]원

마. 본건 주식의 납입기일 : 2018년 9월 일

바. 투자자에게 배정한 본건 주식의 총수

투자자명	배정할 주식의 총수	납입할 총액
HB 청년창업 투자조합	6,666주	999,900,000원
합계	6,666주	999,900,000원

② 회사는 납입기일로부터 1 영업일 전까지 투자자에게 주금의 납입을 위한 은행의 별단예금 계좌를 통지하여야 한다.

제2조 (투자의 선행조건)

본 계약은 주금의 납입기일 현재 다음 각호의 조건이 충족되는 것을 그 이행 및 효력발생의 선행조건으로 한다.

1. 회사 및 이해관계인이 본 계약에 따라 이행하여야 할 의무를 이행하였을 것
2. 회사 및 이해관계인이 본 계약에서 행한 진술과 보장이 진실되고 정확할 것
3. 본 계약에 따라 투자자가 인수하기로 예정된 본건 종류주식의 발행을 금지하거나 제한하는 등 본 계약의 이행을 방해하는 소송 또는 기타의 절차(행정절차, 감사 등 포함)가 진행 중이거나 진행될 우려가 없을 것
4. 회사가 본 계약의 이행과 관련하여 필요한 정부의 인허가 등을 획득하였을 것
5. 회사가 본 계약의 이행과 관련하여 필요한 제3자의 동의 등을 획득하였을 것
6. 회사가 본 계약의 이행과 관련하여 필요한 관련 법령의 절차(상법 제 418 조 등) 및 회사 내부 절차(정관 및 내부규칙 변경, 주주총회결의, 이사회결의 등 포함)를 이행하였을 것
7. 회사가 투자자의 동의없이 정관 및 내부규칙을 변경하거나 투자자와 협의없이 이사회결의, 주주총회결의를 하지 않았을 것
8. 회사가 본 계약의 체결 이후 자본구조, 경영상태, 재무상황의 통상적이지 않은 변동 내지 부정적 변동, 통상적인 영업활동에서 벗어난 행위가 없을 것
9. 회사가 이해관계인 및 이해관계인이 아닌 경업금지의무자로부터 (첨부) 퇴사제한 및 경업금지 약정서에 서명날인을 받아 투자자에게 교부할 것

제3조 (진술과 보장)

회사 및 이해관계인은 본 계약 체결일로부터 거래완결일까지 각자 (별지1)의 진술과 보장 사항이 진실되고 정확함을 진술하고 보장한다.

제4조 (거래완결일 전 해제)

① 본 계약은 거래완결일 전 다음 각 호의 사유가 발생한 경우 귀책사유 없는 당사자에 의하여

상환전환우선주 투자계약서

2018/09/19

투 자 자: 2016 메가-성장사다리 Follow-on 투자조합
업무집행조합원 메가인베스트먼트 주식회사
회 사: 주식회사 나인비
이해관계인: 정선용

마. 본건 주식의 납입기일 : 2018년 9월 20일

바. 투자자에게 배정한 본건 주식의 총수

투자자명	배정할 주식의 총수	납입할 총액
2016 메가-성장사다리 Follow-on 투자조합	3,333주	499,950,000원
합계	3,333주	499,950,000원

② 회사는 납입기일로부터 1 영업일 전까지 투자자에게 주금의 납입을 위한 은행의 별단예금 계좌를 통지하여야 한다.

제2조 (투자의 선행조건)

본 계약은 주금의 납입기일 현재 다음 각호의 조건이 충족되는 것을 그 이행 및 효력발생의 선행조건으로 한다.

1. 회사 및 이해관계인이 본 계약에 따라 이행하여야 할 의무를 이행하였을 것
2. 회사 및 이해관계인이 본 계약에서 행한 진술과 보장이 진실되고 정확할 것
3. 본 계약에 따라 투자자가 인수하기로 예정된 본건 종류주식의 발행을 금지하거나 제한하는 등 본 계약의 이행을 방해하는 소송 또는 기타의 절차(행정절차, 감사 등 포함)가 진행 중이거나 진행될 우려가 없을 것
4. 회사가 본 계약의 이행과 관련하여 필요한 정부의 인허가 등을 획득하였을 것
5. 회사가 본 계약의 이행과 관련하여 필요한 제3자의 동의 등을 획득하였을 것
6. 회사가 본 계약의 이행과 관련하여 필요한 관련 법령의 절차(상법 제 418 조 등) 및 회사 내부 절차(정관 및 내부규칙 변경, 주주총회결의, 이사회결의 등 포함)를 이행하였을 것
7. 회사가 투자자의 동의없이 정관 및 내부규칙을 변경하거나 투자자와 협의없이 이사회결의, 주주총회결의를 하지 않았을 것
8. 회사가 본 계약의 체결 이후 자본구조, 경영상태, 재무상황의 통상적이지 않은 변동 내지 부정적 변동, 통상적인 영업활동에서 벗어난 행위가 없을 것
9. 회사가 이해관계인 및 이해관계인이 아닌 경업금지 의무자로부터 (첨부) 퇴사제한 및 경업금지 약정서에 서명날인을 받아 투자자에게 교부할 것

제3조 (진술과 보장)

회사 및 이해관계인은 본 계약 체결일로부터 거래완결일까지 각자 (별지1)의 진술과 보장 사항이 진실되고 정확함을 진술하고 보장한다.

제4조 (거래완결일 전 해제)

계약 체결일 : 2018/09/19

투자자 : 2016 메가-성장사다리 Follow-on 투자조합
주소: 서울시 서초구 서초중앙로 22길 17 서초메가스터디빌딩 4층
대표자 업무집행조합원 메가인베스트먼트 주식회사 운영사
대표이사 김 정 민 (인)



회 사 : 주식회사 나인비
주소 : 대전시 유성구 대덕대로 590번길 11-10, 103호(도룡동, 더포엠)
대표이사 정 선 용 정선용인




이해관계인 성명: 정 선 용 정선용인
생년월일: [REDACTED]
주소: [REDACTED]



□ 인력양성 실적 - 아주대학교산학협력단

- ① 여수빈(남): 아주대학교 대학원 의생명과학과 분자의학 전공 이학석사 학위 취득
- ② 김지은(여): 아주대학교 대학원 의생명과학과 분자의학 전공 이학석사 학위 취득


문서확인번호 ■ XP39-NU5Y-D5RK-HKX2 ■

 제 2018040797 호

석사 학위 수여 증명서

성 명	여수빈
생년 월일	1995. 08. 24
학과 및 전공 부 전 공	의생명과학과 / 분자의학전공(이)
입 학 일 자	2016. 3. 1
학위수여년월일	2018. 2. 22
학 위	이학석사
학위 등록 번호	아주대2017석832
논 문 명	Loganin의 조골세포 분화 촉진 및 파골세포 분화 억제 기전 규명

위의 사실을 증명합니다.
2018. 07. 17

아주대학교 대학원 장 

본 증명서는 학교 홈페이지에서 영본확인 가능합니다. 영, 원본확인본 발급일로부터 90일까지 가능합니다.

이 증명서는 복사하여 사용할 수 없습니다. (A black and white copy of this transcript is not official.)

제 2018061054 호

석사 학위 수여 증명서

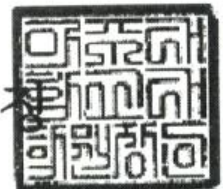
성 명	김지은
생년 월일	██████████
학과 및 전공	의생명과학과 / 분자의학전공(이)
부 전 공	
입 학 일 자	2016. 3. 1
학위수여년월일	2018. 2. 22
학 위	이학석사
학위 등록 번호	아주대2017석830

논 문 명	Scopolin의 조골세포 및 파골세포 분화 조절 기전 규명
-------	--------------------------------------

위의 사실을 증명합니다.

2018. 10. 29

아주대학교 대학원



*본 증명서는 인터넷으로 발급한 증명서로서, 웹민원센터(www.webminwon.com)에서 정본확인 문서번호를 통해 원본대조가 가능(발급 후 90일간). *제출용은 컬러프린터 출력용 권장.

□ 고용창출 실적 - (주)나인비

○ 정규직 고용 3명: 연구전담인력 3명 신규 고용

- ① 여수빈(남): 선임연구원(이학석사)
- ② 용운중(남): 선임연구원(이학사)
- ③ 박순혜(여): 수석연구원(약학박사)



출력일시 : 2019.01.11 12:08

4대 사회보험 사업장 가입자 명부						
발급번호	20190111021473	발급일시	2019-01-11 12:07	사업장 관리번호	39787	
구분	국민연금	건강보험	산재보험	고용보험		
사업자등록번호	397-87	397-87	397-87	397-87		
사업장 명칭	주식회사나인비	주식회사나인비	주식회사나인비	주식회사나인비		
■ 가입 내역(발급일자 현재기준)						1 / 1
연번	주민(외국인)등록번호	성명	자격취득일			
			국민연금	건강보험	산재보험	고용보험
1		양정아	2016.12.01	2016.12.01	2016.12.01	2016.12.01
2		박순혜	2018.11.01	2018.11.01	2018.11.01	2018.11.01
3		용운중	2017.11.01	2017.11.01	2017.11.01	2017.11.01
4		여수빈	2017.09.01	2017.09.01	2017.09.01	2017.09.01
이 하 여 백						
<p>▷ 위 사업장 가입자 명부는 [확인용]으로 신청·발급된 것임을 알려드립니다.</p> <p>- [확인용]은 4대 사회보험의 업무목적에 위해서만 제공하는 것이므로 재직증명용, 경력증명용, 대출용 등 다른 용도로 사용시에는 발급 기관에 법적 책임이 없다는 점을 알려드립니다.</p> <p>- 타 기관 제출을 위한 용도로 발급을 원하시는 경우에는 각 공단 지사 창구로 신청하시기 바랍니다.</p> <p>▷ 위 사업장 가입자 명부는 국민연금공단, 국민건강보험공단, 근로복지공단의 가입자 정보를 실시간 연계 받아 제공하는 것입니다.</p> <p>- 사업장 가입자 명부의 내용이 사실과 다를 경우에는 해당 공단으로 문의하시기 바랍니다.</p> <p>- 과거 가입내역은 해당 보험별 각 공단에 문의하여 발급받으시기 바랍니다. (문의전화 : 국민연금 1355, 건강보험 1577-1000, 산재·고용보험 1588-0075)</p> <p>▷ [산재보험]의 경우, '자격취득일'은 근로자 고용일을 뜻하며, 건설업 및 별목적 등 '자진신고 사업장'은 근로자 고용정보 신고 대상이 아니므로 '자격취득일(고용일)'은 표기되지 않습니다.</p> <p>▷ 위 사업장 가입자 명부는 [사업장 관리번호]를 기준으로 작성되었습니다.</p>						
위와 같이 국민연금 가입내역을 확인합니다.		위와 같이 건강보험 가입내역을 확인합니다.		위와 같이 산재보험 가입내역을 확인합니다.		위와 같이 고용보험 가입내역을 확인합니다.
국민연금공단 이 사 장		국민건강보험공단 이 사 장		근로복지공단 유성지사장		근로복지공단 유성지사장



▷ 위 사업장 가입자 명부는 4대사회보험 정보연계시스템이 국민연금공단, 국민건강보험공단, 근로복지공단의 가입자 정보를 실시간 연계받아 제공하는 것이며, 발급사실 여부는 발급일로부터 90일까지 4대사회보험 포털사이트(www.4insure.or.kr)의 [발급사실확인] 메뉴에서 확인 가능합니다.

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

- 전문가 자문회의: 건강기능식품 관련 전문가 자문회의를 연구 개시시점에서부터 주기적으로 개최하고 연구 진행단계별 자문을 받아 이를 연구개발에 적극 반영
- 기능성 원료의 개발 및 원료표준화: 기능성 소재의 사업화에 적합한 원료표준화와 지표성분 함량결정 및 QC 조건 확립
- 동물실험: 골다공증 및 골관절염 모델 마우스를 이용한 in vivo 효능 평가 및 기능성 원료 최적 섭취 용량 결정
- 효능성분의 작용기전 규명: 기능성 원료의 효능성분이 골다공증 및 골관절염 개선 효과에 대한 작용기전을 규명하여 사업화 시의 과학적 근거 자료로 활용
- 원재료 수급방안 구축 및 대량생산 공정 확립: 표준화된 고품질 원료의 수급대책 마련 및 사업화를 위한 대량생산 공정 확립
- 건강기능식품 시제품 개발 및 평가: 뼈 건강 고시형 원료인 비타민 D, 비타민 K, 칼슘 등과 관절 건강의 고시형 또는 개별인정형 원료를 주원료로 하고, 산수유우슬복합추출물을 부원료로 첨가한 시제품을 개발하여, 관능평가 등을 거쳐 최종제품 선정
- 건강기능식품 완제품 개발 및 사업화: 뼈와 관절 건강에 좋은 건강기능식품 완제품 개발, 생산, 판매

3-2. 목표 달성여부

- 정성적 목표 달성도

연구 목표	연구 결과
<ul style="list-style-type: none"> • 전문가 자문을 통한 연구 개발 전략 수립 및 사업화를 위한 BM 설계 	<ul style="list-style-type: none"> • 건강기능식품 개발 멘토, 원료표준화 전문가, 동물시험 전문가, 건기식 레시피 개발 및 제조 전문가, 변리사, 투자전문가의 자문을 통한 연구개발 전주기 전략 수립 및 사업화를 위한 비즈니스 모델을 구축함.
<ul style="list-style-type: none"> • 기능성 원료의 효능 극대화를 위한 복합원료의 최적 배합 조건 결정 	<ul style="list-style-type: none"> • 몇 종의 약용식물(우슬, 맥문동, 칠해목 등)을 분석한 결과 우슬이 최종 선정되었으며, 세포실험에서 산수유추출물+우슬추출물의 7:3의 혼합으로 결정함.
<ul style="list-style-type: none"> • 기능성 원료의 원료 표준화 및 제조공정 개발 	<ul style="list-style-type: none"> • 산수유추출물의 지표성분은 Loganin과 Morroniside의 2가지로 정하였으며 우슬추출물의 지표성분은 20-Hydroxyecdysone으로 정함. 산수유와 우슬 모두 30% 주정 추출로 제조공정을 설정함.
<ul style="list-style-type: none"> • 기능성 원료의 원료 기준규격 설정 	<ul style="list-style-type: none"> • 산수유우슬복합추출물(7:3) 기능성 원료의 기준규격 함량은 Loganin 0.58% 함량(추출물 기준), Morroniside 1.98% 함량(추출물 기준), 20-Hydroxyecdysone 0.05% 함량(추출물 기준)으로 설정함.
<ul style="list-style-type: none"> • 원료표준화된 산수유우슬 	<ul style="list-style-type: none"> • 10µg/ml농도의 산수유우슬복합추출물(7:3)이 조골세포분화 촉진

<p>복합추출물의 골다공증 및 골관절염 in vitro 효능 평가</p>	<p>진, 파골세포 분화억제, 연골세포의 염증인자의 발현 억제에 대한 뛰어난 효능이 있음을 확인함.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • 동물실험을 통한 기능성 원료의 골다공증 및 골관절염 유효성 평가 및 인체 최적 섭취량 결정 	<ul style="list-style-type: none"> • 산수유우슬복합추출물(7:3)의 150mg/kg/day(부형제 제외 순수추출물농도) 및 3mg/kg/day 투여군에서 OVX 마우스의 골밀도 감소 억제 및 뼈의 미세구조 소실 억제의 유의한 효능이 있었으며, DMM 마우스의 micro-CT에서 연골 손상이 감소의 효능이 있음을 확인함. • 산수유우슬복합추출물(7:3)의 1일 인체 최적 섭취량은 900~1,000mg으로 결정함.
<ul style="list-style-type: none"> • 제품개발 계획수립 및 자료조사 및 BM설계 	<ul style="list-style-type: none"> • 사업화를 위한 2종의 건강기능식품 레시피 개발 및 완제품을 출시하여 마케팅과 판매 비즈니스 모델을 구축함.
<ul style="list-style-type: none"> • 효능성분의 골다공증 및 골관절염 개선 작용기전 규명 	<ul style="list-style-type: none"> • 골다공증 모델 마우스에 산수유의 효능성분인 로가닌 (LOGANIN)을 12주간 투여하여, BMD, PET-CT, Micro-CT의 측정 및 골대사 마커 OPG, RANKL의 혈중 농도 변화를 분석한 결과에서 로가닌은 골형성 관련인자의 촉진과 골흡수 관련인자의 억제를 통해 골다공증 개선의 효과를 나타낸다는 사실을 밝힘. • DMM 퇴행성 골관절염 마우스에 로가닌을 12주간 투여하여 마우스 관절의 Safranin O 염색과 Cox-2, Mmp-3, Mmp-13의 발현량을 분석한 결과에서 로가닌은 염증 유발인자 및 통증 유발인자의 발현 억제를 통해 골관절염 개선의 효과를 나타낸다는 사실을 밝힘.
<ul style="list-style-type: none"> • 산수유우슬복합추출물을 부원료로 사용한 건강기능식품 시제품 레시피 개발 	<ul style="list-style-type: none"> • CMO-FAC, 비타민 D, 비타민 K를 기능성 주원료로 사용하고 산수유우슬복합추출물을 부원료로 사용하여 뼈건강 및 관절건강의 2가지 효능이 있는 건강기능식품에 대한 레시피를 개발하였음. • 홍삼추출액과 비타민 D를 기능성 주원료로 사용하고 산수유추출물을 부원료로 사용하여 기억력 개선, 면역력 증진, 뼈건강 등의 효능이 있는 건강기능식품에 대한 레시피를 개발하였음.
<ul style="list-style-type: none"> • 산수유복합추출물을 부원료로 사용한 건강기능식품 완제품 개발 	<ul style="list-style-type: none"> • CMO-FAC, 비타민 D, 비타민 K에 산수유우슬복합추출물을 부원료로 사용한 뼈건강 및 관절건강의 2가지 효능이 있는 건강기능식품인 '마디본(마디애+지애본 세트)'완제품을 개발함. • 홍삼추출액과 비타민 D에 산수유추출물을 부원료로 사용한 기억력 개선, 면역력 증진, 뼈건강 등의 효능이 있는 건강기능식품인 '지애본' 완제품을 개발함.
<ul style="list-style-type: none"> • 완제품 생산, 판매 및 QC 시스템 구축 	<ul style="list-style-type: none"> • '마디본(마디애+지애본 세트)' 완제품을 출시하여 약 20,000,000원의 매출을 달성함. • '지애본' 완제품을 출시하여 약 4,000,000원의 매출을 달성함. • 2종의 제품에 필요한 산수유, 우슬추출물의 원료의 대량생산 공정과 QC 시스템을 구축함.

○ 정량적 목표 달성도

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기 타 (타 연구 활용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SC I	비 SC I							
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치																				
최종목표	1	0		1		1	10		2		1		2		1		1			
연구기간내 달성실적	1	1		1	1.6	2	24		3	2,300	0		4		2		2			
달성율(%)	100			100		200	240		150		0		200		200		200			

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 대부분의 성과 목표를 초과 달성하였음.
- SCI 논문은 특허 출원 후에 발표 할 계획임.

4. 연구결과의 활용 계획 등

- 산수유우슬추출물을 부원료로 사용한 기존 제품보다 우수한 효능의 건강기능식품으로 활용되어 국민 건강증진과 더불어 골다공증 및 골관절염 환자의 삶의 질 향상에 기여
- 국내 농림자원의 고부가가치화를 통해 재배농가의 소득 증대에 기여
- 골다공증 및 골관절염에 좋은 새로운 건강기능식품의 사업화를 통해 국내 건강식품 관련 산업의 활성화와 고용창출에 기여
- 본 연구결과에서 확보된 원료표준화 및 일일섭취량에 대한 결과를 향후의 인체적용시험(임상시험)을 통한 식품의약품안전처 개별인정형 기능성 원료 개발에 활용
- 산수유복합추출물의 기능성 원료로의 판매뿐만 아니라 자체 기술이전을 통한 다양한 건강기능식품 개발에 활용
- 대형 식품제조·판매회사와 사업파트너 관계 체결을 통한 국내·외 판매

붙임. 참고문헌

- (1) Valderrábano RJ and Wu JY (2018) Bone and blood interactions in human health and disease. *Bone* S8756-3282(18)30078-4.
- (2) Ralston SH (2010) Genetics of osteoporosis. *Ann N Y Acad Sci* 1192:181-9.
- (3) Raggatt LJ and Partridge NC (2010) Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* 2285:25103-8.
- (4) Krane SM (2005) Identifying genes that regulate bone remodeling as potential therapeutic targets. *J Exp Med* 201:841-3.
- (5) Feng X and McDonald JM (2011) Disorders of bone remodeling. *Annu Rev Pathol* 6:121-45.
- (6) Katagiri T and Takahashi N (2002) Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. *Oral Diseases* 8:147 - 59.
- (7) Rosen CJ and Bouxsein ML (2006) Mechanisms of Disease: is osteoporosis the obesity of bone? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2:35-43.
- (8) Cao JJ (2011) Effects of Obesity on Bone Metabolism. *J Orthop Surg Res* 6:30.
- (9) Rizzoli R et al. (2012) Management of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 91:225-243.
- (10) Suvarna V et al. (2018) Bone Health and Natural Products-An Insight. *Front Pharmacol*. 9:981.
- (11) Liu X et al. (2017) Dietary supplements for treating osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med*. 52(3):167-175]
- (12) Rodriguez-Merchan EC. (2018) Topical therapies for knee osteoarthritis. *Postgrad Med*. 130(7):607-612.
- (13) Hou PW et al. (2015) Traditional Chinese medicine in patients with osteoarthritis of the knee. *J Tradit Complement Med*. 5(4):182-96.
- (14) Henrotin Y and Mobasheri A (2018) Natural Products for Promoting Joint Health and Managing Osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep*.20(11):72.
- (15) Nguyen C et al. (2017) Resveratrol, Potential Therapeutic Interest in Joint Disorders: A Critical Narrative Review. *Nutrients*. 9(1). pii: E45.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 시범사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처 지원 R&D 바우처 시범사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.