

(뒷면)

(앞면)

오미자추출물을 함유하는 갱년기증상개선 건강기능식품 원료의 개발

발간등록번호  
11-1543000-000617-01

5cm  
↓

오미자추출물을 함유하는 갱년기증상개선  
건강기능식품 원료의 개발

(18 포인트 고딕계열)

(Development of dietary supplements  
including Schisandra fruit extracts for the  
mechanism improvement of menopausal  
symptom)

(17 포인트 명조계열)

(주) 바이오믹스

(17 포인트 명조계열)

↑  
9cm  
↓

농림축산식품부

(17포인트 명조계열)

↑  
4cm  
↓

주의  
(편집순서 8)

(15 포인트 고딕계열)

↑  
6cm  
↓

농림축산식품부

↑  
3cm  
↓

## 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 고부가가치식품기술개발 사업(오미자 추출물을 함유하는 갱년기 증상 개선 건강기능식품 원료의 개발)의 최종보고서로 제출합니다.

2014년 08월 18일

주관연구기관명 : (주)바이오믹스

주관연구책임자 : 홍 성 빈

세부연구책임자 : 홍 성 빈

연 구 원 : 이 현 수

연 구 원 : 임 현 화

연 구 원 : 이 진 희

연 구 원 : 안 유 진

협동연구기관명 : 경희대학교

협동연구책임자 : 양 응 모

협동연구기관명 : 청양구기자 원예농협

협동연구책임자 : 복 영 수

# 요 약 문

## I. 제 목

오미자 추출물을 함유하는 갱년기 증상 개선 건강기능식품 원료의 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 연구개발의 목적

국내산 농특산 자원인 오미자를 이용하여 여성 갱년기 증상 개선에 도움을 주는 건강기능식품 소재를 개발하는 것을 목적으로 한다.

### 2. 연구개발의 필요성

전 세계적으로 인구의 고령화가 나타나고 있는 가운데 여성 노인층의 폭도 점차 늘어나고 있는 추세이며 여성 갱년기 증상에 노출된 여성의 폭도 넓어지고 있는 현실이다. 현재 합성 호르몬 보충요법이 주된 치료법으로 사용되고 있으나 유방암, 관상동맥질환, 뇌졸중 등의 발병 위험성을 증가시키는 등의 부작용이 있는 실정이며, 식물성 호르몬제는 대부분 수입산 원료를 사용하고 있고 기호성 문제 등으로 제형 구현력이 떨어져 소비자 친화적이지 못하다. 한편 한의학적으로 오미자는 주로 虛와 精, 腎에 사용되고 있으며 여성의 갱년기는 腎虛, 血虛, 精虛와 관련이 있어 오미자가 여성 갱년기 증상 개선에 효과적일 것이라 추측할 수 있으며 이미 오래 전부터 식용으로 사용되어 왔기 때문에 안전하면서도 높은 기호성을 가지고 있어 국내 및 해외 시장에서 각광받는 여성갱년기 개선용 건강기능식품으로 선택될 수 있을 것으로 판단된다.

## III. 연구개발 내용 및 결과

### 1. 오미자 추출물의 여성갱년기 증상개선 효과 규명

오미자추출물을 이용하여 in vitro상에서 breast cancer cell인 MCF-7cell과 MDA-MB231 cell의 MTT 분석한 결과 세포생존율에는 영향을 미치지 않는 범위 내에서 estrogen receptor- $\alpha$ , $\beta$ 의 expression을 증가시켰고, UMR106cell의 분화를 증가시켜 phytoestrogenic effects를 검증하였다. in vivo 실험에서는 OVX model에서 자궁두께 및 무게를 증가시켰고 혈청 내의 estradiol을 상승시켰다. 또한 골밀도를 농도 의존적으로 증가시켰고 대퇴골 head의 성장판 비대증을 완화시켰으며 세포간의 구멍 크기 감소, 골수세포의 양 증가 및 혈중 osteocalcin 농도를 증가시켜 골다공증 증상에 효과가 높음을 검증하였다. 아울러 혈중 ALT, AST, BUN, creatinine의 농도는 변화시키지 않았기에 부작용 없으면서도 뛰어난 효능을 가진 천연물 유래의 phyto-estrogen으로서 효과적으로 작용할 수 있음을 검증하였다.

### 2. 오미자 추출물의 안전성 연구

중금속 검출 시험을 진행한 결과 기준치 이하로 검출되었고, 대장균군은 음성임이 확인되었으며, 세균수도 불검출로 확인되었다. 잔류농약 정밀검사 항목 59종에 대하여 분석한 결과 불검출 또는 기준치 이하로 확인되었다.

### 3. 오미자 추출물 원료 표준화

기능/지표물질의 기준규격을 80~120%의 정량범위로 설정하고 국가공인기관을 통하여 검증하였다.

### 4. 여성갱년기 증상 개선 인체적용시험

오미자추출물 BMO-30을 섭취한 갱년기 여성을 대상으로 hot flush, perspiration, insomnia, irritability, melancholia, dizziness, concentration, arthritic pain, headache, palpitation, vaginal dryness 등의 갱년기 지수 변화를 평가하였다. 이중맹검 무작위배정 평행연구로 40~70세의 중등도 이상의 갱년기증상을 가진 피험자들을 모집하였고 시험제제를 총 12주간 복용하도록 하였다. 시험결과 갱년기 장애의 세계적 진단기준인 KI 척도에서 유의한 차이를 보였고( $p<.05$ ), 특히 KI 개별 항목 중 혈관운동장애와 관련한 hot flush, perspiration, palpitation 등이 유의한 감소를 보였다( $p<.05$ ). 연구 중 임상적 이상반응은 나타나지 않았다. 이러한 결과를 바탕으로 오미자 추출물 BMO-30은 갱년기 장애를 효과적으로 개선시키는 안전한 식품임이 확인되었다.

### 5. 오미자 추출물의 활성성분 연구

오미자추출물의 세부 분획을 통해 세포수준의 스크리닝 실험을 진행하였고 HPLC , GC분석을 진행하여 오미자추출물 내의 리그난류, 폴리페놀류, 방향족의 정유 등의 물질을 탐색하였다. 또한 LC-MS/MS 분석을 실시하여 오미자 내에 Estrogen(E2)이 존재한다는 것을 확인하였고, 동시에 다수의 polyphenol compound를 분리 규명하여 이들 polyphenol과 17- $\beta$ -estradiol 등의 작용이 여성 갱년기에 효과적인 효능을 발현하는 것을 확인하게 되었다.

### 6. 오미자 추출물을 이용한 제형 연구

오미자와 오미자추출물을 이용한 다양한 종류의 식품원료(powder, tablet 등) 및 완제품(농축액, 액상차, 티백차, 혼합액상차 등)을 개발하였고 이들은 현재 판매 진행 또는 예정 상태이다.

## IV. 연구 성과 및 성과활용 계획

### 1. 연구개발 성과

세포실험 및 동물실험을 통하여 오미자추출물의 phyto-estrogenic effect를 확인하였고, 지표물질 설정 등 식약처 건강기능식품 원료 표준규격을 확립하였으며 1일 섭취량을 결정하여 인체적용시험을 통해 Kupperman index 지수가 경감되는 것을 확인하였다. 이를 이용하여 해외학술지 논문 게재 및 지식재산권 출원을 완료하였다.

### 2. 성과활용 계획

식약처 건강기능식품 개별인정형 원료인정 신청 및 FDA NDI notification 제출자료 임상연구를 위한 준비 중에 있다. 국내외 대규모 건강기능식품 제조업체 및 OEM 업체에 원료로서 공급하는 한편 직접 완제품으로 개발하여 국내 홈쇼핑, 대형 유통채널에서 판매할 예정에 있다.

## SUMMARY

(영문요약문)

### **I . Title**

Development of dietary supplements including Schisandra fruit extracts for the mechanism improvement of menopausal symptom.

### **II . Purpose and Necessity of Research and Development**

#### **1. Purpose of Research and Development**

The purpose is set as developing a health functional food material which is helpful for the improvement women's menopausal symptoms using a special agricultural product resource produced in Korea called Schisandra chinensis.

#### **2. Necessity of Research and Development**

While the aging of population is shown throughout the world, the range of female elderly group of people are also gradually getting increased and the reality is that the range of women exposed to the women's menopausal symptoms is also getting wider. Although synthetic hormone supplementation therapy is currently used as the principal method of treatment, the situation is that there are side effects such as increasing the prevalence risk of breast cancer, coronary artery disease and stroke, etc while most vegetable hormone drugs use imported ingredients without being consumer friendly from having low formulation implementing ability due to the problem of preference, etc. Meanwhile, Schisandra chinensis is used for deficiency, essence and endocrine system for the most part in the Oriental medicine aspect while women's menopause is related to endocrine system deficiency, blood deficiency and deficiency of essence of life so it can be assumed that Schisandra chinensis would be effective for improving women's menopausal symptoms. Since Schisandra chinensis already has been used as food from long ago, it is safe and highly preferred. So it is determined that Schisandra chinensis could be selected as a health functional food for the improvement of women's menopause which is highly preferred in domestic and foreign market.

### **III. Metarial, Method and Results**

#### **1. Clarification on the Women's Menopausal Symptoms of Schisandra Chinensis Extract**

As a result of analyzing the MTT of MCF-7 cell and MDA-MB231 cell that are breast cancer cells in the in vitro experiment using Schisandra chinensis extract, it has increased the expression of estrogen receptor- $\alpha$  and  $\beta$  within the extent of not having effect on the

cell survival rate and verified phytoestrogenic effects by increasing the differentiation of UMR106cell. In the in vivo experiment, it has increased the thickness and the weight of uterus in the OVX model while increasing the estradiol inside blood serum. It also increased the bone density with dose dependency, relieved the physal plate hypertrophy as well as verifying the high effectiveness on the osteoporosis symptoms by reducing the size of holes between cells, increasing the amount of myelocytes and increasing the blood osteocalcin concentration. In addition, the fact of being able to effectively react as a natural substance derived phyto-estrogen having outstanding effect without any side effects because the blood concentrations of ALT, AST, BUN and creatinine have not been changed.

## **2. Study on the Safety of Schisandra Chinensis Extract**

As a result of performing heavy metal detection test, less than the cutoff value has been detected and the colon bacterium group has been verified as being negative. The bacterial count also has been verified as not being detected. As a result of analyzing on the 59 categories of a precision inspection on residual pesticides, it has been verified as not being detected or being less than the cutoff value.

## **3. Standardization of Schisandra Chinensis Extract Ingredient**

The standard of functional/marker substance has been set as quantification range of 80~120% to be verified through a national certified agency.

## **4. Human Study for the Improvement Women's Menopausal Symptoms**

The change of menopausal scales including hot flush, perspiration, insomnia, irritability, melancholia, dizziness, concentration, arthritic pain, headache, palpitation and vaginal dryness has been evaluated on the women under menopause who have taken Schisandra chinensis extract BMO-30. Forty to seventy year old subjects who have moderate or higher menopausal symptoms have been recruited as a double-blind, randomized parallel study to have them take the investigational drug for a total of 12 weeks. As a result of the experiment, significant difference ( $p<.05$ ) was shown in the KI scale which is a worldwide diagnosis standard of menopausal disorders while hot flush, perspiration and palpitation, etc related to the vasomotor disorder among the individual categories of KI especially has shown a significant decrease( $p<.05$ ). During the research, no clinical adverse reactions were shown. Based on these results, Schisandra chinensis extract BMO-30 has been verified as safe food which effectively improves menopausal disorders.

## **5. Study on the Active Components of Schisandra Chinensis Extract**

A screening experiment of cell level has been performed through a detailed fraction of Schisandra chinensis extract while substances such as lignans, polyphenols and aromatic essential oil, etc inside the Schisandra chinensis extract have been identified by performing HPLC and GC analyses. Also, the fact that Estrogen (E2) exists inside Schisandra chinensis

has been verified by performing an LC-MS/MS analysis while a number of polyphenol compounds have been clarified by separation to verify the fact that the reaction of these polyphenols and 17- $\beta$ -estradiol, etc revealing the efficacy which is effective for women's menopause.

#### **6. Formulation Study Using the Schisandra Chinensis Extract**

Various types of food ingredients (powder and tablet, etc) and finished products (extract liquid, liquid tea, tea bags and mixed liquid tea, etc) have been developed using Schisandra chinensis and its extract while these are currently being sold or planning to be sold on the market.

### **IV. Study results and their application plans**

#### **1. Research and Development Performance**

The phyto-estrogenic effect of using Schisandra chinensis extract has been verified through cell experiment and animal experiment as well as establishing the KFDA health function food ingredient standards such as setup of marker compounds, etc while verifying the fact that Kupperman index getting reduced through a human study after determining the daily dosage. Using these, publication of paper on the foreign journals and application of intellectual property right have been completed.

#### **2. Plans to Utilize the Performance**

We're making preparations for the application on the KFDA's health functional food raw ingredient approval of individual approval type and the clinical study for materials to be submitted to the FDA NDI notification. While supplying to large scale domestic and foreign health functional food manufacturers and OEM businesses as raw ingredient, we're planning to develop and finished product directly to be sold at domestic home shopping's and large distribution channels.

# CONTENTS

## (영 문 목 차)

Part 1. Overveiw of the research .....	013
Chapter 1. Purpose and range of the study .....	013
1. Purpose of the study .....	013
2. Range of the study .....	014
Chapter 2. Necessity of th study .....	015
1. Increasing social costs of population aging .....	015
2. Increasing of Menopause women .....	017
3. Menopause symptoms .....	018
4. The status of domestic market .....	026
5. The status of worldwide market .....	029
6. Commercialization of processed foods(schisandra chinensis) .....	035
Part 2. Domestic & worldwide researches .....	038
1. Domestic researches of health functional foods .....	038
2. Hormone replacement researches .....	038
3. Phytoestrogens researches .....	039
4. Recent development practices of phytoestrogens .....	041
5. New phytoestrogen(Schisandra chinensis extract; SC extract) .....	041
Part 3. Material, Method and Results .....	043
Chapter 1. Material and Method .....	043
1. Menopause symptoms improvement of SC extract .....	043
2. Safety of SC extract .....	048

3. Standardization of SC extract .....	050
4. Clinical trial .....	052
5. The study of active ingredient in SC extract .....	061
6. The fomulation study of SC extract .....	064
 Chapter 2. Results .....	 068
1. Menopause symptoms improvement of SC extract .....	068
2. Safety of SC extract .....	091
3. Standardization of SC extract .....	093
4. Clinical trial .....	097
5. The study of active ingredient in SC extract .....	106
6. The fomulation study of SC extract .....	123
 Part 4. Achievements and Contributions .....	 130
Chapter 1. Achievements .....	130
Chapter 2. Contributions .....	133
1. New physiologically functional verification of SC extract .....	133
2. LC-MS/MS analysis of SC extract .....	134
3. Approval of health functional food(SC extract) .....	134
4. Completed Standards and Specification of health functional food(SC extract) .....	134
5. Increased consumption of SC .....	135
 Part 5. Study results and their application plans .....	 136
Chapter 1. Study results .....	136
1. Completed Standards and Specification of SC extract .....	136
2. Approval of health functional food(SC extract) .....	137
3. Publish paper and patent .....	140
4. Commercialization promotion .....	140

Chapter 2. Application plans .....	141
1. Approval of health functional food(SC extract) .....	141
2. Preparation of FDA NDI .....	141
3. Development of natural herbal medicine .....	141
4. End products and Commercialization promotion .....	141
5. Seminar and promotion .....	142
Part 6. International Science and Technology Information .....	143
Chapter 1. Natural herbal medicine information .....	143
1. The status of domestic natural herbal medicine .....	143
2. The status of worldwide natural herbal medicine .....	143
Chapter 2. New information of natural substance related menopause .....	144
1. in vitro & in vivo .....	144
2. clinical trial .....	145
Part 7. References .....	148
별첨1. Research plan approved examination results notification .....	058
별첨2. Sensory evaluation .....	129

# 목 차

제 1 장. 연구개발과제의 개요 .....	013
제 1 절. 연구개발의 목적 및 범위 .....	013
1. 연구개발의 목적 .....	013
2. 연구개발의 범위 .....	014
제 2 절. 연구개발의 필요성 .....	015
1. 인구 노령화로 인한 사회적 비용부담 .....	015
2. Menopause 대상여성 증가 .....	017
3. Menopause symptoms .....	018
4. 국내 시장현황 .....	026
5. 해외 시장현황 .....	029
6. 오미자 가공식품 산업화 .....	035
제 2 장. 국내외 기술개발 현황 .....	038
1. 국내 건강기능식품 개발현황 .....	038
2. 호르몬 대체제 연구 .....	038
3. 식물성호르몬 연구 .....	039
4. 최근의 식물성호르몬 개발 사례 .....	041
5. 신규 식물성호르몬(오미자추출물) .....	041
제 3 장. 연구개발 수행내용 및 결과 .....	043
제 1 절. 연구개발 수행 방법 및 내용 .....	043
1. 오미자 추출물의 여성갱년기 증상개선 효과 규명 .....	043
2. 오미자 추출물의 안전성 연구 .....	048

3. 오미자 추출물 원료 표준화 및 규격화 .....	050
4. 여성갱년기 증상 개선 인체적용시험 .....	052
5. 오미자 추출물의 여성갱년기 활성성분 연구 .....	061
6. 오미자 추출물을 이용한 제형 연구 .....	064
제 2 절. 연구개발 수행 결과 .....	068
1. 오미자 추출물의 여성갱년기 증상개선 효과 규명 .....	068
2. 오미자 추출물의 안전성 연구 .....	091
3. 오미자 추출물 원료 표준화 .....	093
4. 여성갱년기 증상 개선 인체적용시험 .....	097
5. 오미자 추출물의 활성성분 연구 .....	106
6. 오미자 추출물을 이용한 제형 연구 .....	123
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	130
제 1 절. 목표 달성도 .....	130
제 2 절. 관련분야 기여도 .....	133
1. 오미자의 새로운 생리 기능성 검증 .....	133
2. 오미자 신규 생리활성물질 분석 규명 .....	134
3. 여성갱년기 건기식 분야 신규원료 등록 .....	134
4. 오미자 기능성 원료규격 표준화 .....	134
5. 오미자 농산물 신규 소비처 창출 .....	135
제 5 장. 연구개발 성과 및 성과활용 계획 .....	136
제 1 절. 연구개발 성과 .....	136
1. 건강기능식품원료 표준 규격 확립 .....	136
2. 식약처 건강기능식품 개별인정형 원료 기준규격서 작성 .....	137
3. 논문 및 특허 .....	140

4. 산업화 홍보 .....	140
제 2 절. 성과활용 계획 .....	141
1. 식약처 건기식 개별인정형 원료 인정 획득 .....	141
2. FDA NDI notification 제출자료 임상연구 .....	141
3. 천연물 신약 개발 연구 추진 .....	141
4. 제형화 및 산업화(기술실시) .....	141
5. 세미나 및 홍보 .....	142
제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	143
제 1절. 천연물 신약 정보 .....	143
1. 국내천연물신약 현황 .....	143
2. 국외 천연물신약 현황 .....	143
제 2절. 천연물관련 여성갱년기 최신 정보 .....	144
1. 비임상연구 .....	144
2. 임상연구 .....	145
제 7 장. 참고문헌 .....	148
별첨1. 연구계획 승인 심사결과 통보서 .....	058
별첨2. 관능평가지 .....	129

# 제 1 장. 연구개발과제의 개요

## 제 1 절. 연구개발의 목적 및 범위

### 1. 연구개발의 목적

- 본 연구는 국내산 농특산 자원인 오미자를 이용하여 여성 갱년기 증상 개선에 도움을 주는 건강기능식품 소재를 개발하는 것으로,
- 최근 인구 고령화 등으로 인한 여성 갱년기 증상의 대상자들이 많아지게 되고 폐경기 여성의 호르몬 대사 불균형 문제로 전 세계적으로 연간 약 2,500만 명의 여성이 폐경에 의한 갱년기 증상을 겪고 있으며, 특히 국내 50세 이상 여성인구가 지난 2000년 598만 명에서 향후 2020년경에는 1,000만 명이 넘을 것으로 예상됨. 사망원인 통계에 따르면 여성인구 10만 명당 뇌혈관질환은 67.3명, 심장질환은 38.2명으로 한국 여성사망원인 1위가 심혈관질환으로 나타나고 있으며 이러한 심혈관 질환은 여성 갱년기 증상의 일종으로 파악되고 있음.
- 세계보건기구(WHO)의 정의에 의하면 난소의 기능이 상실되어 여성 호르몬 분비가 없어지는 시기, 즉 더 이상 임신을 할 수 없는 시기로 성년기에서 노년기로 넘어가는 과도기를 갱년기라 함. 폐경 전후로 짧게는 4~5년에서 길게는 10년 이상의 긴 기간이며 이 시기에는 여성 호르몬 분비가 감소되고 월경이 불규칙해지며 여러 가지 증상들이 나타남. 심혈관 질환을 비롯하여 안면홍조, 피로감, 불안감, 우울, 기억력 장애 등이 동반되기도 하고, 주로 밤에 증상이 나타나는 경우에는 수면 장애를 겪기도 함. 급성 여성호르몬 결핍 증상은 폐경 약 1~2년 전부터 시작되어 폐경 후 3~5년간 지속될 수 있음.
- 현재 주요 치료법으로는 호르몬 보충요법을 주로 사용하고 있으나 2002년 The Women's Health Initiative(WHI)는 estrogen-progestins 복합투여 연구에서 유방암, 관상동맥질환, 뇌졸중 등의 발병 위험성을 증가시켜 위험-이익 비가 좋지 못하다는 이유로 실험을 조기에 중단시키고 장기간의 호르몬 보충요법이 대부분의 여성에게 추천되어서는 안 된다고 보고한 바 있음.
- 또한 지금까지 보고된 갱년기 치료에 쓰이는 주요 식물로는 블랙 코호시(승마), 히페리시(성 요한 풀), 콩(제니스테인), 당귀, 달맞이꽃 종자유 및 석류 등이 있으며 국내에서는 백수오등 복합추출물, 석류추출물, 회화나무열매추출물 및 석류농축액 등이 개발되어 식약청으로부터 건강기능식품 개별인정을 획득한 바 있음. 하지만 이중 일부 일반의약품은 간 독성 등 심각한 부작용이 우려되거나 해외에서 개발된 원료를 수입하여 판매하는 실정이며 국내의 일부 건강기능식품의 경우 임상실험에서 세부적으로 유의한 개선효과를 보이지 않는 것으로 확인되었음.

- 기존 phytoestrogen 고함유 식물들이 모두 수입산 원료이며, 기호성이 매우 떨어지기 때문에 캡슐, 타블렛 등만 가능하여 음료 등 식품으로 구현 가능한 제형상의 제약이 있으나 오미자는 높은 기호성을 가지고 있어 제형의 제약이 없음.
- 이처럼 노령화시대 삶의 질 개선을 위한 갱년기증상 개선제 시장 확대에 따른 천연물 유래 원료 확충에 대한 산업적 필요성 증대되고 있고, 한약재 및 단순 음료(당절임)로만 사용되던 국내산 오미자의 신규 기능성 발굴로 인한 농가수익 창출이 필요한 시점임.
- 따라서 오미자를 이용한 갱년기 장애개선 건강기능식품이 개발될 경우 기호성과 기능성을 모두 확보한 제품으로 국내는 물론 해외 시장에서도 가공할 만한 시장을 형성할 것으로 예상되며 이러한 이유로 국내 오미자 농가 수익도 극대화 될 것으로 예상되며 신규 기능성 식품 개발을 통하여 국내 및 세계시장 선점이 가능하리라 보여짐.

## 2. 연구개발의 범위

- 오미자 추출물의 갱년기증상 개선 효능 및 관련 기전 규명
- 오미자 추출물의 갱년기증상 개선 유효물질 탐색 및 활성성분 분리 규명
- 오미자 생리활성 성분의 경제적, 친환경적 대량생산조건 설정
- 오미자 추출물 임상시험 및 식약청 개별인정형 건강기능식품 개발
- 개별인정형 건강기능식품 개발로 오미자 농가 수익 증대

## 제 2 절. 연구개발의 필요성

### 1. 인구 노령화로 인한 사회적 비용부담

- 인간의 평균 수명이 늘어남에 따라서 전 세계적으로 점차 인구의 고령화가 일어나는 추세임. 미국인의 경우 평균 수명은 현재 78.3세이지만 2050년에는 83.1세로 늘어날 전망이다. 또한 세계 인구에서 65세 이상의 인구가 차지하는 비율이 현재 8%에서 2030년에는 13%로 늘어날 전망이다.
- 한국의 경우에도 현재 고령화 사회에 진입해 있으며, 2060년에는 65세 이상 인구비율이 40%가 넘어가면서 초고령 사회에 진입할 것으로 예상하고 있음. 2012년 통계청이 조사한 성별 고령인구 구성비에 따르면 남성보다 여성의 비율이 꾸준히 높으며 그 비율도 계속적으로 유지될 전망이다.

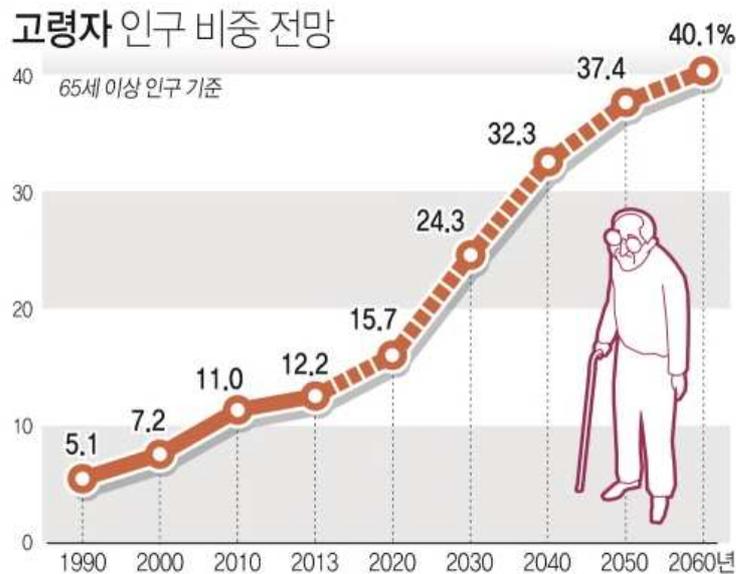


그림 1 고령자인구 비중 전망

- 국민건강보험공단에 따르면 2012년 노인진료비는 전체의 33.3%인 15조 3,768억 원이며 전체 의료비의 3분의 1을 노인층이 차지하고 있음. 2002년의 경우 그 비율이 20.15에 불과했으며 노인 월 진료비는 해마다 증가하는 추세임. 그 증가율은 지난 10년간 연평균 16.9%씩 급증하고 있음. 노인 월 진료비의 경우 2002년 9만4405원에서 2011년에는 24만 7166원으로 2.6배 증가하였음.

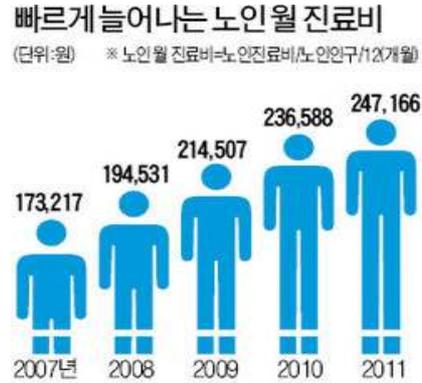


그림 2 노인인구 및 진료비 비율

- 치료비 증가에 따른 사회적 부담도 크게 증가하고 있음. 건강보험공단에 따르면 건강보험 가입자 중 노인의 비율은 약 10% 정도로 차지하고 있는데 반해, 건강보험 지출 총액 중 34.4%가 노인층에게 지급되고 있음.

### 500만명 돌파한 건강보험 노인 가입자

자료: 국민건강보험공단

구분	2001년	2003년	2005년	2007년	2009년	2011년 6월 말
건강보험가입자	4638만명	4710만명	4739만명	4782만명	4861만명	4913만명
노인인구	322만명	354만명	392만명	439만명	483만명	506만명
노인비율	6.93%	7.52%	8.27%	9.17%	9.93%	10.30%

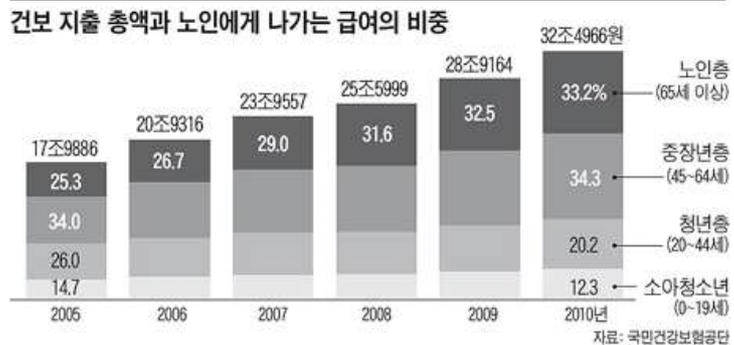


그림 3 노인 건강보험가입자 비율

- 이와 같은 자료에서 확인할 수 있듯이 향후 노인층 인구의 증가는 불가피한 현실이 될 것이며 앞으로 한국은 고령화 사회가 아닌 고령사회, 초고령 사회로 진입하게 될 것이 분명한 사실임. 그에 따라 노인이 부담해야 할 진료비는 더욱 증가하게 될 것이며 국가 또한 현재보다 많은 금액을 부담해야 할 것으로 인식되고 있음.

## 2. Menopause 대상여성 증가

### 가. 여성갱년기의 정의 및 인구수 통계

- 세계보건기구(WHO)의 정의에 의하면 난소의 기능이 상실되어 여성 호르몬 분비가 없어지는 시기, 즉 더 이상 임신을 할 수 없는 시기로 성년기에서 노년기로 넘어가는 과도기를 갱년기라 함. 폐경 전후로 짧게는 4~5년에서 길게는 10년 이상의 긴 기간이며 이 시기에는 여성 호르몬 분비가 감소되고 월경이 불규칙해지며 여러 가지 증상들이 나타남.
- 최근 통계청 자료에 따르면 2009년 우리나라 45세 이상 여성인구는 961만 명으로 전체 여성의 38.7%를 차지하고 있음. 우리나라 여성 10명 중 4명이 45세 이상이 해당됨. 이에 더해 오는 2020년에는 45세 이상 여성인구가 전체 여성의 절반을 넘어설 것(50.4%)으로 추정됨.

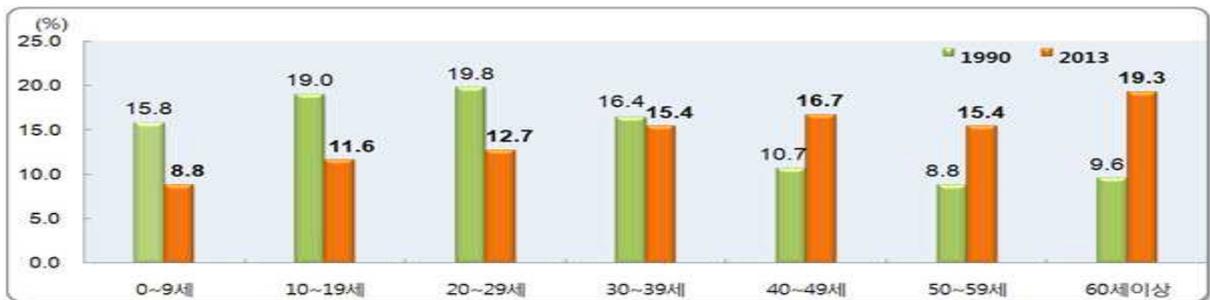


그림 4 연령별 인구비율

- 인구 노령화에 따라 노인층이 점점 증가되어가고 그에 따라 여성 노인층의 폭도 점차 늘어나고 있는 추세이므로 당연히 여성 갱년기 증상에 의해 지배받는 여성들의 폭이 넓어질 수밖에 없는 것이 현실임.

### 나. 갱년기 증상을 호소하는 비율

- 나이가 들어가면서 남성호르몬과 여성호르몬의 수치는 점차 감소하게 되고 특히나 여성의 경우 50대를 전후로 여성호르몬의 급격한 감소를 보이게 되며 이에 따라 pre-menopause 및 post-menopause 증상을 호소하는 대상이 점차 증가하게 됨. 40, 50대 중년여성의 89% 이상이 정신적 혹은 신체적으로 한 가지 이상의 갱년기 증상을 겪고 있음.
- 또한 폐경 관리 점수도 63점 만점에 폐경 전 여성이 평균 45.60점, 폐경 후 여성이 48.75점

으로 50점 미만의 점수를 보여 전반적으로 선행연구의 51.54점 보다 낮아19 여성의 폐경 교육의 요구도와 필요성은 충분하나 시간이 지나도 전반적으로 교육은 부족하고 관리도 제대로 되고 있지 않음을 알 수 있음.

- 하지만 현재까지는 갱년기 여성의 95%가 적절한 치료를 받지 않고 있는 것으로 나타나고 있음. 그동안 갱년기 증상을 일종의 노화로 인한 자연현상으로만 여기고 치료에 적극적으로 임하지 않기 때문인 것으로 분석됨.

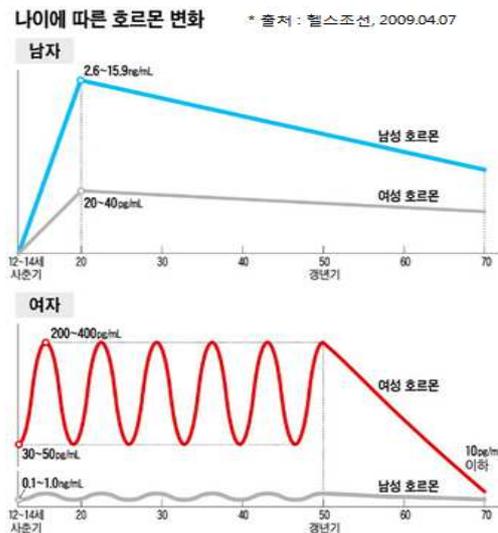


그림 5 나이에 따른 호르몬 변화

### 3. Menopause symptoms

#### 가. 정의

- 여성이 나이가 들면서 난소가 노화되어 기능이 떨어지면 배란 및 여성호르몬의 생산이 더 이상 이루어지지 않는데, 이로 인해 나타나는 현상이 바로 폐경임. 대개 1년간 생리가 없을 때 폐경으로 진단함. 이러한 변화는 대개 40대 중후반에서 시작되어 점진적으로 진행되는 데, 이때부터 생리가 완전히 없어지는 폐경이 나타난 이후의 약 1년까지를 폐경이행기, 더 흔히 갱년기라고 하며 그 기간은 평균 4~7년 정도임.

Stages	-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2
Terminology	Reproductive			Menopausal transition		Postmenopause		
	Early	Peak	Late	Early	Late	Early	Late	
Duration of stage	Variable			Variable		1 yr	4 years	Until demise
Menstrual cycle	Variable to regular	Regular		Variable cycle length (>7 days different from normal)	≥2 skipped cycles and an interval of amenorrhoea (≥60 days)		None	
Endocrine	Normal FSH		Increasing FSH	Increasing FSH		Increasing FSH		

Figure 1. STRAW staging system: Stages of reproductive aging in women[2]

그림 6 여성에서 정상적인 생식노화의 단계

## 나. 주요증상

- 폐경 이행기에 가장 흔하게 나타나는 증상은 생리가 불규칙해지는 것임. 또한 여성호르몬 결핍에 의한 증상이 나타나는데, 우리나라 여성의 50% 정도는 급성 여성호르몬 결핍 증상 (안면홍조, 발한 등)을 경험하는 것으로 알려져 있음. 그리고 약 20%에 해당하는 여성들은 갱년기 증상이 좀 더 심하게 나타나는데, 안면홍조와 함께 피로감, 불안감, 우울, 기억력 장애 등이 동반되기도 하고, 주로 밤에 증상이 나타나는 경우에는 수면 장애를 겪기도 함. 급성 여성호르몬 결핍 증상은 폐경 약 1~2년 전부터 시작되어 폐경 후 3~5년간 지속될 수 있음.

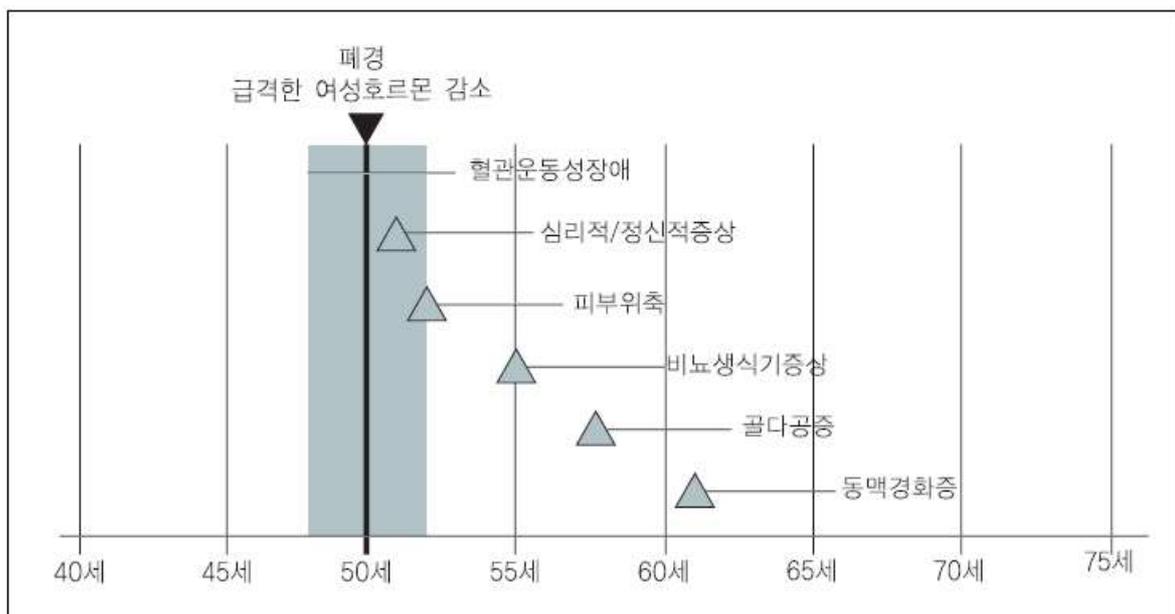


그림 7 폐경 이후 발현되는 주요 증상

- 만성적으로 여성호르몬이 결핍되면 비뇨생식기계의 위축에 따른 증상(질 건조감, 성교통, 반복적인 질 감염과 요로계 감염으로 인한 질염, 방광염, 배뇨통, 급뇨), 정신적 불안정(집중 장애 및 단기 기억장애, 불안과 신경과민, 기억력 감소, 성욕 감퇴), 피부관절계 변화(피부 건조와 위축, 근육통, 관절통), 골다공증의 진행으로 인한 골절의 증가 등이 발생할 수 있음. 이 중 질 건조증과 이로 인한 성교통(dyspareunia; 성교 시의 통증)은 부부관계를 기피 하게 하고 성욕저하를 유발하는 원인이 되고 있으며, 이러한 증상들을 모두 폐경기 증상으로 간주하고 있음.



그림 8 갱년기 주요증상

### (1) 지질대사 변화

- 2005년 국민건강영양조사에 의하면 여성에서 체질량지수가 25kg/m<sup>2</sup> 이상인 경우를 비만이라고 정의하였고 연령에 따른 유병률을 보면 50대 이후 증가하였으며 대상증후군의 유병률 또한 50대 이후 증가하는 것으로 나타남.
- 이는 폐경이 시작하는 연령과 일치하며 폐경이행기가 되면 에스트로겐의 감소에 따른 지방조직의 대사 변화가 일어나게 되어 체중 및 체지방의 증가가 가속화되며, 체지방의 분포에도 변화가 생겨 복부 비만 및 복부내장지방이 증가하게 됨.
- 뿐만 아니라 복부비만의 증가로 인하여 인슐린 저항성 및 지질 대사의 이상을 유발하게 됨. 위 사실을 볼 때 폐경 이후에는 대사증후군의 유병률 및 심혈관계 질환의 위험도가 증가한다고 할 수 있음.

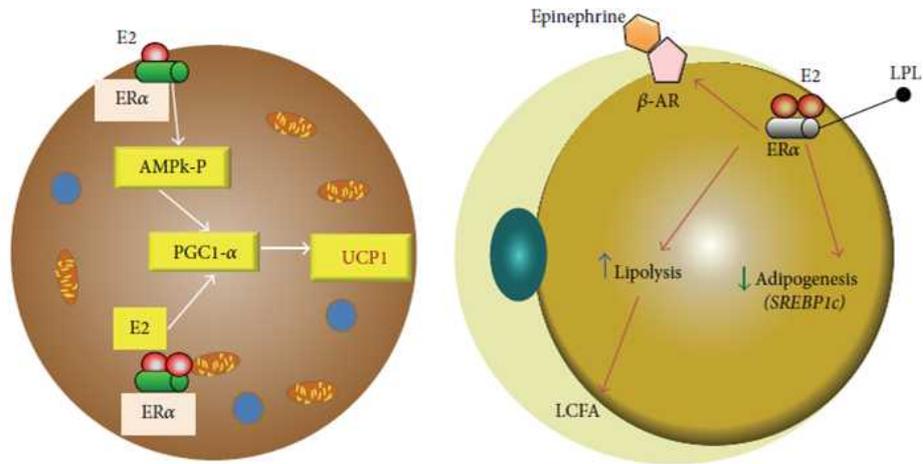


그림 9 지방세포에서의 에스트로겐

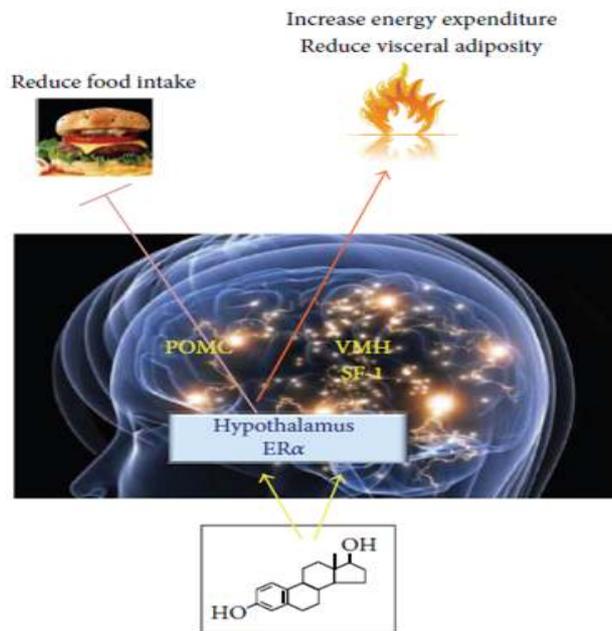


그림 10 에스트로겐의 시상하부 조절

○최근에 발표한 review 논문에 의하면 menopause 동안의 비만의 기원은 에스트로겐 결핍으로 인한 것으로 제시하고 있고, 에스트로겐 결핍으로 인해서 제 2형 당뇨, 대사증후군, 심혈관계 질환 등이 발생한다고 하였음. 좀 더 구체적인 기전을 살펴보면 에스트로겐과 에스트로겐 receptor는 glucose와 지질대사를 조절하며 내장지방의 fat 축적에 관여한다고 하였음. 또한 에스트로겐 receptor 중의 하나인 ER-α의 경우 지방세포에서 지방의 합성 및 분해 활성화에 중요한 역할인자로 지적하면서 흰색지방과 갈색지방 내 지방대사의 중요한 인자 발현을 조절하는 역할을 한다고 제시하고 있음. 그리고 에스트로겐은 식욕을 증진시키고 포만감을 느끼는데 관여하는 시상하부의 인자들에 영향을 미치고 에너지 항상성을 조절하여 비만을 감소시키는 역할을 한다는 것을 말해줌. 따라서 에스트로겐 결핍으로 인한 비만과 관련한 질환들을 예방하기 위해서는 폐경기와 갱년기 여성에게 estrogenic activity는 필수조건으로 제시하는 바임.

## (2) 골다공증

- 골다공증은 그 자체가 문제가 되는 것은 아니나 골절이 되면 일상생활이 불편해지고 사망으로 이어질 수도 있기 때문에 관심을 가져야 하며 특히 골다공증은 특정한 예후가 없기 때문에 “소리 없는 질병”이라고 불려 지기도 함.
- 정상적인 골에서는 골 흡수와 골 형성이 균형적으로 일어나 골의 미세손상을 치료하고 오래된 골조직을 새로운 골 조직으로 대체하게 되어 골의 생체기능을 유지하게 되는데 폐경 후 여성에게는 골 흡수가 골 형성을 초과하게 되면서 골 소실이 일어나게 됨.
- 이는 에스트로겐 분비의 감소로 골 형성은 그대로이나 골 흡수가 증가되기 때문이며 따라서 폐경은 골다공증의 가장 중요한 요소로 간주 되고 있음.

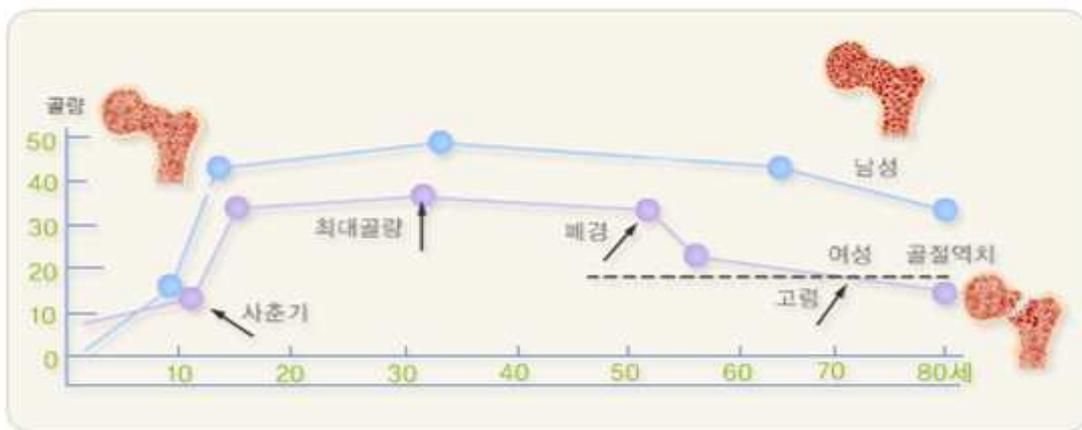


그림 11 폐경 후 골다공증(보건복지부/대한의학회)

- 여성의 경우 골량은 30~35세에 최고치에 달하며, 그 이후의 골 대사는 파골세포에 의한 골 흡수와 조골세포에 의한 골 형성이 균형을 유지하면서 지속적으로 교체되는 재형성 과정으로 유지되나, 재형성이 흡수된 골량을 따라가지 못하여 골량이 감소하게 되어 매년 1~2%씩 골밀도가 감소하게 되는데 특히 폐경기 이후에는 첫 3년 동안 연간평균 4~5%의 골량 감소를 보이며 그 이후에는 연간 1~2%의 골량 감소를 보이는 것으로 보고되고 있으며 이러한 골소실의 원인은 증가된 혈중 난포자극호르몬 (Follicular stimulating hormone: FSH)과 감소된 에스트로겐 농도와 연관되어 있음이 보고된 바 있음(Korean J Nutr., 44(1), 29-40, 2011).
- 갱년기는 폐경의 문제로 여러 신체 조직에 영향을 주어 골다공증, 심혈관계 질환, 비노생식기에 다양한 문제를 초래할 뿐 아니라 암과 기타 만성 질환에 이환되기 쉬운 것으로 알려짐. 따라서 갱년기는 여성 건강 주기상 위기의 시기로 고려되고 있음.
- 이러한 갱년기 증상 중 특히 심혈관계 질환과 골다공증 등은 여성의 생명에 직접 영향을 주는 위험한 만성 후유증이 발생할 수 있으며 폐경을 지나 장년기에서 노년기에 이르면 심폐기능 저하와 더불어 근 골격에서도 근 질량과 근력이 감소하고 인대가 약화되며 관절의

유동성이 저하됨.

- 특히 여성은 40세를 넘어서면서 점차 월경 주기가 불규칙해지거나 출혈량에서도 변화가 오기 시작하며 여러 가지 부정적인 신체적 변화를 경험하게 되고 폐경기 이후부터는 에스트로겐 분비가 중단되면서 골소실로 인한 골다공증 현상이 두드러지게 됨.
- 골다공증은 골무기질과 골량이 저하된 상태로 골조직의 미세구조가 변화되거나 그것으로 인하여 골기 유약해져 골절이 되기 쉬운 상태이며 폐경 이후의 여성에서는 골밀도가 급속하게 저하되고 폐경 후 10년 사이에 약 20%의 골 무기질이 감소한다고 알려져 있음. 이처럼 갱년기로 인해 나타나는 골다공증 증상을 호소하는 환자들의 비율은 갱년기 여성의 40~60%를 차지하는 것으로 나타남.
- 서울대학교 의과대학 내과학교실의 윤지환 등의 보고서인 “폐경 전후 한국여성에서의 체구성 성분과 골밀도 사이의 상관관계”에 의하면 폐경 전 연령에서 연령에 따른 골밀도 변화는 없었으나, 제지방량과 지방량, 내장지방 및 체지방 면적이 증가할수록 골밀도가 유의하게 증가하였으며( $p < 0.01$ ), 폐경 후 연령에서는 폐경 전과는 달리 나이가 들수록 유의하게 골밀도가 감소 ( $r = -0.394$ ,  $p < 0.01$ )하는 것을 확인할 수 있었음.
- 제지방량 증가에 따른 골밀도의 증가는 고연령의 여성에서도 유지되었으나 ( $r = 0.269$ ,  $p < 0.01$ ), 지방량의 증가는 골밀도와 관련이 없었으며 다중회귀분석 결과 폐경 전 여성에서는 제지방량과 지방량, 음주력이 골밀도의 변화에 대한 독립적인 변수였고, 폐경 후에는 나이, 제지방량만이 유의하게 골밀도의 변화를 설명하여 결국 한국 여성에서 폐경을 전후하여 골밀도를 비롯한 체구성 성분의 비율이 변화하는 것을 관찰할 수 있었음.

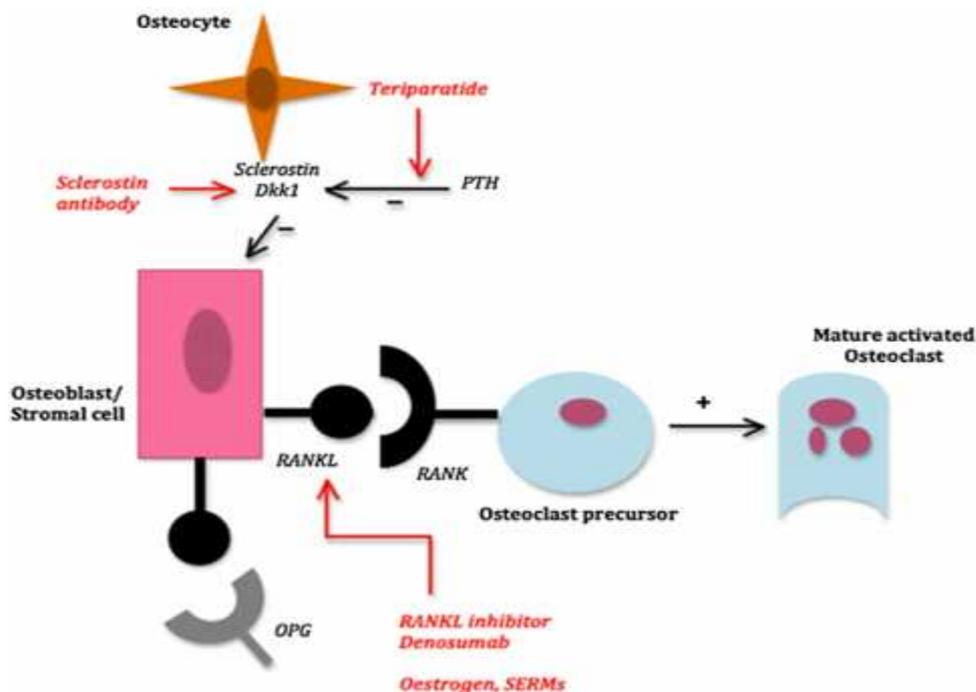


그림 12 골세포에서의 oestrogen의 역할

### (3) 안면홍조

- 갱년기에 들어서면서 가장 먼저 나타나는 증상은 안면홍조(hot flashes)이며, 이는 혈관운동 신경증상의 하나로 갱년기에 접어든 여성의 75% 이상이 겪게 되는 증상임. 안면홍조가 발생하는 원인은 명확하게 알려져 있지 않지만 난소 기능의 영구적인 정지에 따르는 estrogen의 결핍이 주된 원인으로 생각되고 있음.
- 안면홍조를 포함한 혈관운동 증상은 폐경기 여성에서 보편적으로 나타나며 자연적인 치료를 추구하는 주된 증상임. 안면홍조는 일부 여성에서 나타나지 않기도 하고 귀찮은 일 정도로 여겨지고 지나가기도 하지만 일부에서는 수면장애, 감정장애, 극심한 피로 등을 유발하여 업무나 사회생활, 일반적인 건강에 대한 생각을 포함한 중년기 이후 삶의 질에까지 영향을 미치기도 함.
- 이러한 안면홍조의 치료법으로는 호르몬보충요법을 주로 사용하고 있음 그러나 2002년 The Women's Health Initiative(WHI)는 estrogen-progestins 복합투여 연구에서 유방암, 관상동맥질환, 뇌졸중 등의 발병 위험성을 증가시켜 위험-이익 비가 좋지 못하다는 이유로 실험을 조기에 중단시키고 장기간의 호르몬 보충요법이 대부분의 여성에게 추천되어서는 안 된다고 보고한 바 있음.

### 다. 발병원인

- 폐경은 난소의 노화에 의한 것이며, 질병이라기보다는 자연적인 신체적 변화 과정의 하나로 여겨지고 있음.

### 라. 치료방법

- 주요 치료법은 호르몬 치료방법인데 폐경으로 결핍된 여성호르몬을 외부에서 보충해 주는 것을 의미함.
- 가장 이상적인 치료 시기는 폐경이 임박한 시기이면서 갱년기 증상이 나타날 때 또는 폐경 초기이며, 호르몬 대체 요법은 이 시기의 여성에게 많은 도움을 줄 수 있는데 이들 중 몇 가지를 요약하면 다음과 같음.
  - 1) 안면홍조를 치료하고 숙면을 도움.
  - 2) 정신적 증상이 호전됨.
  - 3) 근골격계, 비뇨생식기계 질환을 예방, 치료함. (요실금 및 위축성 질염 등의 증상을 호전시키고 질점막의 탄성을 유지시켜 줌.)
  - 4) 피부 및 유방의 탄력을 유지시켜 줌.
  - 5) 골다공증을 예방하며 특히 골다공증에 의한 골절의 예방은 초기 폐경기에 호르몬 요법을 시행함으로써 효과를 극대화 할 수 있음. 그러나 폐경 수년 후에 치료를 시작해도 골소실

이 더 이상 발생하지 않도록 할 수 있음.

6) 대장 및 직장암의 발생을 감소시키는 것으로 알려져 있음.

## 마. HRT 사용현황

○대한산부인과학회에 의하면 전체 폐경여성의 약 10% 정도만이 여성 호르몬을 복용하고 있음(2001년 기준). 2012년 강북삼성건강진센터를 방문한 44-56세의 여성들 중 2,204명을 대상으로 호르몬 치료 유무를 물어보았을 때, 7.5%가 호르몬 치료 경험이 있다고 응답하였으며, 이 중 경구제를 사용한 비율이 92.5%로 가장 높았음. 호르몬 치료를 받은 경험이 있다고 답한 연구 참가자들 중 76%가 호르몬 치료가 도움이 되었다고 답함. 호르몬 치료 경험이 있는 164명을 대상으로 호르몬 치료 결과 완화된 증상을 조사한 결과, 안면홍조 증상의 완화가 49.4%, 식은땀/발한 증상의 완화가 36.0%, 불면증/우울 증상의 완화가 23.2%임.

## 바. 호르몬 치료제의 부작용

○2002년 미국 국립보건원 여성건강계획(WHI)은 에스트로겐과 프로게스테론 병용요법을 5년 이상 시행한 여성의 경우 유방암 위험이 26%, 심혈관 질환 위험이 29% 증가했다고 발표함.

○1989년 7월부터 1998년 12월 까지 939명의 뇌졸중으로 고생하는 폐경 후 갱년기 여성들이 참여하여 미국 씨애틀의 건강증진협회(GHC: Group Health Cooperative) 주관으로 HRT와 뇌졸중에 관한 연구가 진행됨. 참여한 환자는 726명의 허혈성(虛血性:Ischemic) 뇌졸중 환자와 213명의 출혈성(Hemorrhagic) 뇌졸중 환자로 구성되어 있었음. 먼저 참여한 환자들의 의과적 내용을 조사한 후 HRT의 사용이 갱년기증상의 시작과 HRT의 사용으로 인하여 나중에 뇌졸중으로 고생하게 되었는지 여부와의 관련성을 확립하기 위하여 전산화된 약물복용자료를 통하여 판단하게 되었음. 그 결과 갱년기증상으로 부터 고통 받는 여성들을 위하여 HRT를 사용한 후 첫 6개월 동안에 뇌졸중 발생위험이 증가한 것이 중요한 연구결과임.



○ 특히, 국내에서 일반의약품으로 시판되고 있는 승마와 성요한풀 추출물의 유사제품들은 해외에서 개발한 수입 원료를 사용하여 판매되고 있는 실정임.

○ 적용사례는 다음과 같음(표 2).

표 2 제약회사별 주요제품 현황

회사명	제품명	성분	효능	모델
동국제약	훼라민큐	승마(Black cohosh)와 히페리시(St. John's wort: 성요한풀)복합추출물	우울증, 불안증	
조아제약	에로스트큐	승마(Black cohosh)와 히페리시(St. John's wort: 성요한풀)복합추출물	안면홍조, 발한, 우울증	
녹십자	훼미그린	레드클로버	안면홍조	
진양제약	지노플러스	승마(Black cohosh)와 히페리시(St. John's wort: 성요한풀)복합추출물	정신적 증상과 자율신경계 이상증상	
동성제약	히페린	승마(Black cohosh)와 히페리시(St. John's wort: 성요한풀)복합추출물	안면홍조, 발한, 골다공증 예방, 질 건조증	
아주제약	레미페민	승마(Black cohosh)	안면홍조, 발한, 수면장애	

## 나. 건강기능식품 현황

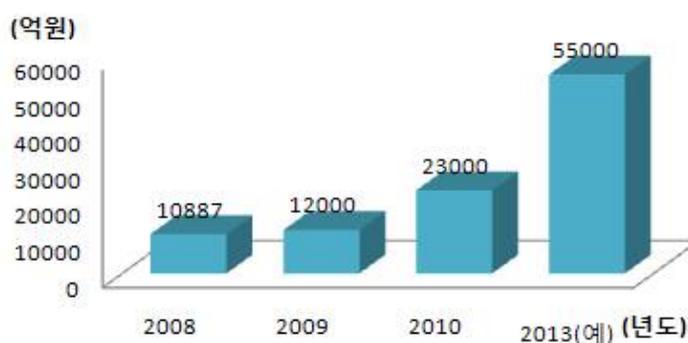


그림 14 국내 건강기능식품 시장규모  
(출처: 식품영양과학회)

○ 국내 건강기능식품 시장은 2000년 이후 매년 10~20% 이상의 성장을 지속하여 2013년 5

조 5천억 원으로 추정되고 있음.

- 고령화 사회로 진입하면서 well-being을 추구하는 사회적 분위기가 긍정적으로 작용하고, GMP 인증으로 전반적인 제품의 품질이 향상되어 소비자의 신뢰를 얻고 있음.
- 개별인정형 건강기능식품의 경우 2008년 10월 현재 522제품이 품목제조 신고 되었음(식약청). 코엔자임큐텐(항산화), 공액리놀레인산(체지방), 루테인(눈건강), MSM 제품 등이 주류임.
- 국내에서는 여성갱년기 증상개선 건강기능식품 원료로서 백수오등 복합추출물, 석류추출물, 회화나무열매추출물 및 석류농축액 등이 개발되어 식약청으로부터 건강기능식품 원료로서 개별인정을 획득하였음.
- 하지만, 기존에 등록된 건강기능식품 원료는 임상실험에서 세부적으로 유의한 개선효과를 보이지 않는 것으로 확인되고 있으며 최근 인정된 백수오복합추출물이 시장에서 각광을 받고 있음.

표 3 국내 여성갱년기 증상개선 기능성원료 인정현황

회사명	원료명	일일섭취량	인정번호
(주)건강사랑	석류농축액	40ml/day	제2010-40호
(주)렉스진바이오텍 씨제이제일제당(주)	회화나무열매추출물	350mg/day	제2010-27호 제2010-60호
(주)한일양행	석류추출물	6.0g/day	제2010-23호
(주)내츄럴엔도텍	백수오 등 복합추출물	514 mg/day	제2010-20호

## 5. 해외 시장현황

### 가. 해외 건강기능식품 시장현황

- 세계적인 웰빙 트렌드의 확산과 고령화의 영향으로 건강기능식품이 포함된 Nutrion Industry의 시장규모는 최근 5년간 연평균 6% 수준의 고 성장세를 지속하고 있음
- DataMonitor의 자료(2011)에서 글로벌 식품산업의 최근 5년간 연평균 성장률이 3.7%임을 감안할 때, 건강기능식품 시장의 성장세는 상당히 높은 것으로 평가됨.

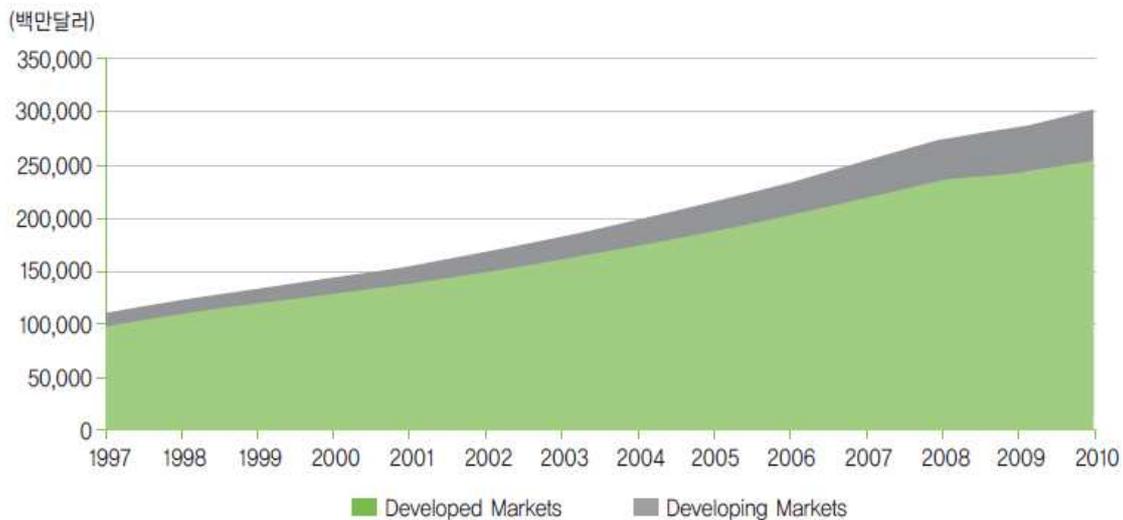
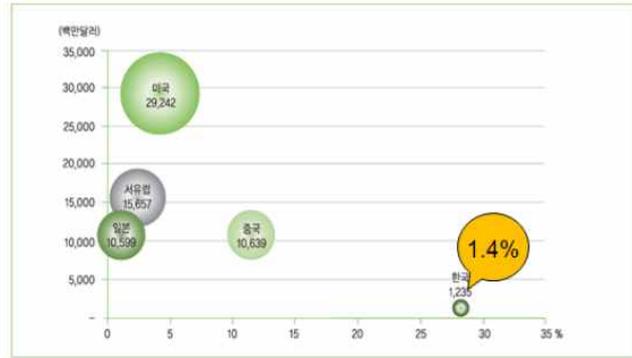
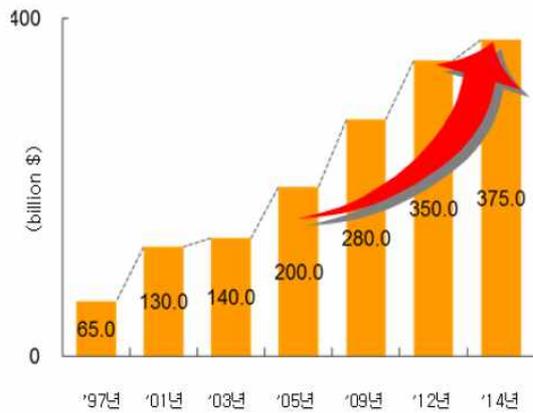


그림 15 선진국(Developed Markets)과 개발도상국(Developing Markets)의 시장규모 추이(Nutrition Business Journal estimates(\$mill., consumer sales). Developed markets include USA Canada, Western Europe, Japan and Australia/New Zealand.)

- 또한 최근 중국, 인도, 라틴아메리카 등 신흥 개발국의 경제성장과 함께 수요가 크게 증가하는 추세이기 때문에 높은 잠재력을 지닌 시장으로 평가됨
- 기능성 식품 세계시장의 규모는 1997년 650억 달러, 2002년 2,023억 달러로 높은 성장률을 나타내었으며 2007년에는 3,771억 달러(2002년 대비 86% 증가)에 달할 것으로 예상되었음.
- 건강기능식품의 수요는 지속적으로 증가될 것으로 전망되고 있음.



[그림 5] 국가/지역별 건강기능식품 시장규모 및 성장률(2011)

주) 한국은행 경제통계시스템(ECOS), 2011년도 연/달리 평균치를 적용  
 자료1 : 식약청, '11년 건강기능식품 생산실적 분석결과 발표', 보도자료(2012. 5. 9)  
 자료2 : 'NEU's Global Supplement & Nutrition Industry Report', Nutrition Business Journal(2012)

그림 16 세계 건강기능식품시장 규모 및 성장률

- 건강기능식품 시장의 높은 성장세는 '건강 지향적 소비자'의 증가에 따라 지속·확대될 것으로 예상됨
- Datamonitor(2011)의 조사에 의하면, 소비자의 약 60%는 평소에 건강에 대한 관심이 매우 높았으며, 미국의 Food Marketing Institute의 조사에서는 소비자의 65%가 음식 섭취를 통해 건강 상태를 조절하는 특성이 있는 것으로 나타남

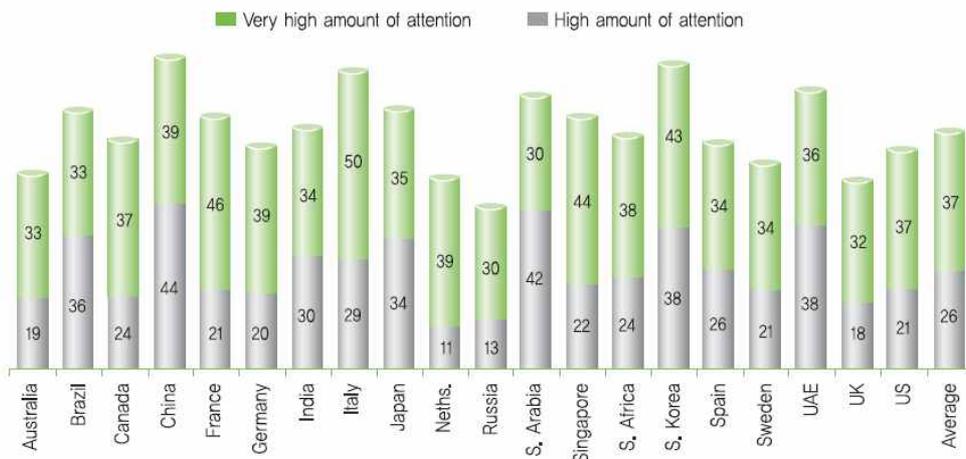


그림 17 국가별 건강에 대한 소비자의 관심정도(Datamonitor consumer survey, July/August 2010)

- 또한 국내 소비자들도 건강관리의 수단으로 식사 조절이나 영양제의 섭취 등 식품에 관련된 응답이 높게 나타나고 있어 개인의 건강관리 방법으로 건강기능식품이 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 파악됨
- 2011년 세계 건강기능식품 시장규모는 89십억 달러이며, 향후 2016년에는 120십억 달러를 상회할 것으로 예상됨

- 특히 개발도상국에서의 성장률이 향후 2016년까지 약 12%의 수준을 유지할 것으로 예상된 반면 선진국들은 약 3%의 낮은 성장률을 유지할 것으로 예상된 반면 선진국들은 약 3%의 낮은 성장률을 유지할 것으로 예상되어 향후 세계 건강기능식품 시장은 이들 개발도상국에 의해 주도될 것으로 판단됨

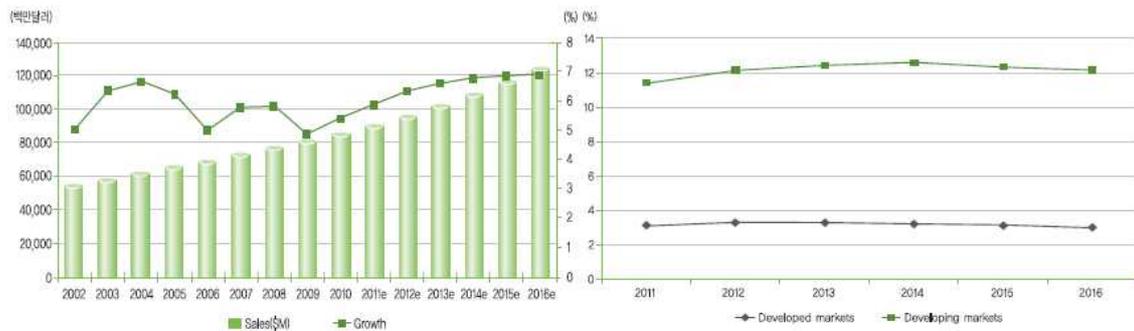


그림 18 건강기능식품 세계시장 규모 및 성장률과 건강기능식품 시장규모 성장률 추세(Nutrition Business Journal estimates(\$mill., consumer sales.), 'NBJ's Global Supplement & Nutrition Industry Report', Nutrition Business Journal(2012))

- 이러한 개발도상국과 선진국간의 성장률 차이는 건강기능식품의 수요가 인구 구조나 소득의 요인에 많은 영향을 받는 특성에 기인한 것이며, GDP의 성장률이 상대적으로 높고 고령화가 진행되고 있는 개발도상국의 추세가 반영된 것임

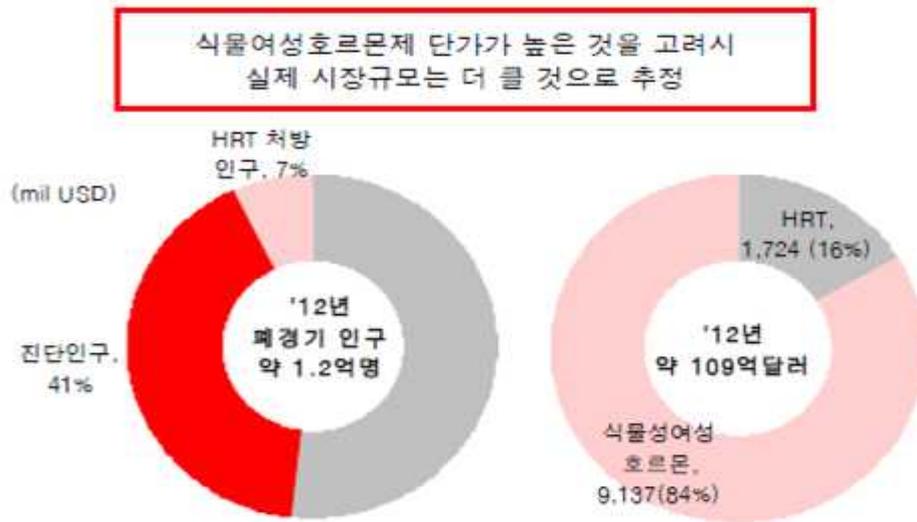
## 나. 해외 의약품 현황

- 여성의 폐경 후 estrogen의 급속한 감소로 인하여 유지되어 오던 신체적 반응들이 사라지게 되는데, 안면홍조, 골다공증 악화, 정신적 불안정, 및 급격한 감정의 변화, 길 건조증 등이 폐경 후 증상에 해당되며 특히 일상생활에 많은 불편을 겪게 되거나 골다공증 발현의 위험도가 큰 환자들의 경우 estrogen 단독 또는 estrogen/progesterone 복합제가 거의 유일하게 호르몬대체요법(hormone replacement therapy; HRT)으로 사용되고 있음.
- 하지만 HRT의 장기복용은 ER을 가지고 있는 조직, 예를 들면 유방, 자궁, 난소 등에서의 암발생율을 증가시키는데 직접적으로 관여한다고 알려져 왔음. Women's Health Initiative (WHI) 연구결과에 의하면, 북미에서 가장 많이 처방되어지는 HRT 제제의 일종인 Premarin과 Prempro의 복용이 유방암 증가 및 심혈관계 질환 발생과 관련이 있다고 밝혔으며 이 밖에도 소규모의 다양한 임상결과는 HRT를 복용하고 있는 폐경 후 여성에게서 자궁증식이 증가하는 등 HRT의 복용은 과다 세포증식 및 발암과 밀접한 관련이 있음을 시사하고 있음.

Generic Name	Brand Name(s)
<b>Estrogen only pills</b>	
Estradiol	Gynodiol, Femtrace
Conjugated equine estrogens	Premarin
Synthetic conjugated estrogens	Cenestin
Esterified estrogen	Menest
Estropipate	Ogen
<b>Estrogen-only skin patches, creams, sprays</b>	
Estradiol	Alora, Climara, Divigel, Esclim, Estrogel, Estroderm, Estrosorb, Menostar, Vivelle, Vivelle Dot, Evamist (spray, not available generically)
<b>Estrogen-only vaginal creams, tablets or rings</b>	
Conjugated equine estrogen	Premarin cream
Estradiol	Estrace, Estring, FemRing, Vagifem
<b>Estrogen plus progestin pills</b>	
Conjugated equine estrogens plus medroxyprogesterone	Prempro, Premphase,
Ethinylestradiol plus norethindrone	FemHRT
Estradiol plus norethindrone	Activella
Estradiol plus norgestimate	Prefest
Estradiol plus drospirenone	Angeliq
<b>Estrogen plus progestin skin patches</b>	
Estadiol plus norethindrone	CombiPatch
Estradiol plus levonorgestril	Climara Pro
<b>Progestin only pills</b>	
Medroxyprogesterone acetate	Provera
Norethindrone acetate	Aygestin
Progesterone	Prometrium

그림 19 Various medicines for menopausal symptoms(Consumer Reports Best Buy Drugs. Prescription Drugs Used to Treat the Symptoms of Menopause)

- 이러한 HRT와 관련된 발암 기작으로서 에스트로겐/ER 상호작용으로 인한 과잉 세포증식과 DNA 돌연변이의 축적 등이 제시되고 있으며, 에스트로겐의 생체 내 약물 대사과정 중 발생하는 반응성 대사체에 의한 유전독성 또한 그 발암 기작으로 제시되어져 있음.
- 이러한 조직 특이적인 에스트로겐의 약리효과는 특정 조직/세포에서 에스트로젠과 ER에 상호작용하는 분자적 기작 및 관여하는 전사인자 등이 다양하기 때문으로 알려져 왔음. 예를 들면, 유방암치료제로 사용되는 tamoxifen은 유방에서는 ER antagonist로 작용하나, 자궁과 골에서는 ER agonist로 작용하기 때문에 tamoxifen의 장기복용은 자궁 내막암의 부작용을 초래하기도 하는 것으로 알려져 있음. 따라서 유방암 또는 자궁내막암 등 ER이 발암 기작에 관여하는 암의 치료제 또는 폐경후증상 치료제의 개발은 ER에 대하여 조직 특이적인 차별효과를 가질 수 있는 물질, 즉 선택적 여성호르몬 수용체 조절물질(SERMs)을 개발하는 것이 치료제 개발의 궁극적인 목표라고 할 수 있음.



자료: GBI Research, 유진투자증권

주1) 식물성여성호르몬 대상 인구비율 = (진단인구 - 처방인구)/처방인구

주2) 식물성여성호르몬 시장 추정치는 HRT의 인당 치료단가에 기초

그림 20 글로벌 식물성호르몬 시장

○ 현재까지 HRT의 대표 약물인 conjugated estrogen/progesteron(Prempro)이 2000년대 초반 부작용 유발과 같은 부정적인 임상 결과의 발표 이래 거의 10년간 처방 HRT시장의 성장은 2.9%에 그쳐왔음. 게다가 이 증가율은 처방 증가에 기인한 것이 아닌 약가 인상에 의한 것이니 HRT의 시장 둔화는 매우 심각한 상황이었음. 하지만, Pfizer의 제3세대 SERM인 bazedoxifene/conjugated equine estrogens 복합제(Aprela)의 FDA 승인이 성공적으로 이루어진다면 침체된 HRT 시장이 급속히 활성화될 것으로 예측하고 있으며 이러한 전문가의 견해는 우수한 HRT formula를 시장이 기다리고 있다는 증거이며, HRT 시장 자체는 둔화될 이유가 없으며 효과적이고 안전한 HRT가 등장한다면 시장 성공률이 매우 높을 것이라는 상황을 반영하는 것으로 해석됨. (해외식물소재로부터 만정질환 치료제 개발을 위한 전 임상 후보 개발 및 신규 활성물질 발굴 연구/교육과학기술부, 2012)

표 4 해외의약품 현황

회사명	제품명	성분	효능	모델
Enzymatic Therapy	Remifemin	승마(Black Cohosh)추출물	안면홍조, 진땀, 기분변화	
Schaper&Brummmer	Remifemin	승마(Black cohosh)추출물	안면홍조, 발한, 수면장애	

i-Health, Inc.	Estroven	승마(black cohosh)추출물, 이소플라본	홍분, 우울, 안면홍조	
FemMed	Menopause Relife	승마(Black cohosh)추출물, 당귀, 석류	안면홍조, 진땀, 기분변화, 수면장애, 홍분	

- 해외시장에서의 비처방약 분야 갱년기관련 제품으로는 승마추출물을 이용한 제품들이 대부분이며 최근 들어 당귀나 석류 등의 한약재를 이용한 제품들이 출시되고 있는 상황임.
- 한약재는 생리적, 약리적 유효성을 근간으로 하여 식품, 의약품, 화장품 등의 분야에서 고부가가치 상품의 기능적 소재로 활용가치가 매우 높음.
- 국내 학계 및 기업을 중심으로 이루어지는 기능성 식품 관련 연구는 항산화, 항암, 당뇨 조절 등에 초점을 두고 있으며, 다양한 원료 및 제품 개발이 이루어지고 있으나
- 현 상태는 우리 고유의 한약재 소재 및 약용식물을 이용한 기능성 소재의 발굴은 매우 미약함.
- 따라서 국제 경쟁력을 지닌 다양한 기능성 생리활성 성분이 들어있는 우리 고유의 한약재를 이용한 기능성 소재의 발굴이 시급함.

## 6. 오미자 가공식품 산업화

### 가. 오미자 가공식품 현황

- 오미자는 전통적으로 주로 건조하여 한약재로 사용되고 있으며 기능성분을 활용한 가공식품은 전무함.
- 최근 4~5년 전부터 생오미자를 이용한 오미자청 음료가 인기를 끌면서 자가 담금을 위한 생오미자 수요가 수확시기 전후로 급증함.

표 5 오미자 가공식품 현황

구분	세부제품	예 시
음료	기능성음료, 농축액	
과자	한과, 유과, 캔디	
빵	식빵, 보리빵	
장류	고추장, 청국장 등	
차	청, 티백 등 다수	
주류	막걸리, 와인, 칵테일	
화장품	오미자화장품	
김치	김치절임류, 단무지	
기타	잼, 푸레, 옛, 요구르트	

- 소비자가 산지에서 생오미자를 직접 구입하여 설탕과 1:1로 혼합하여 당절임을 하거나 문경에 소재한 소규모 농촌기업 형태로 오미자 본래의 기호성에 의존한 오미자청, 와인 등 음료 형태의 제품을 소량 생산함.
- 이는 오미자의 생리활성 측면의 기능성 보다는 설탕의 단 맛에 오미자의 맛을 가미한 단순 형태의 자가 가공식품으로, 오미자 특유의 기능적 생리활성이 특화되면서도 오미자의 맛을 살린 기능성 개별인정형 식품으로의 개발이 절대적으로 필요한 상황임.

## 나. 오미자 생산현황

- 오미자의 과실은 건조하여 생약재로 사용하며 생과실은 식품원료로 이용함.
- 오미자 국내에서는 경북 문경에서 국내 총생산량의 약 45%를 차지하며 2011년 문경시의 연간 생산량만 해도 4천 5백톤에 이룸(문경시 자료, 2011)
- 오미자는 한약재 용도 이외에도 차(茶), 건강기능식품, 주류 등으로 사용되고 있으며 최근 오미자 생과일을 이용한 당침제의 수요가 주도하고 있는 추세임.
- 오미자는 적심 후 2년차부터 수확을 하며 산간 임야지역에서 잘 자라고 재배 관리에 어려움이 없기 때문에 수요에 따른 재배면적 및 생산량 확대는 어려움이 없음.
- 최근 오미자 수요확대로 강원도 홍천, 평창 등지에 오미자 재배면적이 늘어나고 있음.

## 다. 오미자와 여성 갱년기 질환의 한의학적 해석

- 여성갱년기 시기 동안 여성은 호르몬의 변화로 인해 신체적으로나 정신적으로 매우 불안정하게 되고 그로 인한 많은 갱년기 증상 등을 동반하게 되는데 대표적인 증상이 안면홍조, 상기감, 발한 등의 혈관운동신경증상을 비롯하여 신경, 근증상, 정신, 신경증상, 피부지각증상, 질위축증상, 방광요도증상, 골다공증 등이 나타나게 됨. 그 중에서 골다공증은 노화와 폐경으로 인한 고 연령층 여성들에게 가장 많이 나타나는 대표적인 건강문제라고 할 수 있음.
- 동의보감에 의하면 내경편에서의 오미자는 인신의 형기를 양생하며 정액, 기의 변조, 신경정신에 작용하는 증후를 다스리며 체내의 비생리적 작용을 조절하는 역할을 하고 특히 심장, 간장, 기, 혈이 허약한 자가 복용하면 좋다고 기록되어 있음.
- 동의보감 외형편에서는 눈, 피부, 맥박, 생식기, 항문의 이상 현상을 다스리는 효력이 오미자에 있다고 하였으며, 잡병편에서는 노약자와 허약하고 마른자, 해수, 응저, 심한 갈증을 느끼는 자 등에 효능을, 탕액편에서의 오미자는 담, 폐, 신장을 보호하는 기능을 말하고 있으며, 또한 오미자는 허노, 해수, 정액, 소갈에 효능이 있고, 폐, 신장을 보호하는 기능이 있다고 하는 등 주로 虛와 精, 腎에 해당되는 증상에 사용되고 있음.

- 한의학적으로 여성의 갱년기는 腎虛, 血虛, 精虛와 관련이 있으며 오미자의 補精, 寧心安神 효능으로 갱년기 증상인 건망, 발한, 불면, 심계항진 등에 적용될 수 있음.
- 또한 오미자는 한의학적으로 虛와 精, 腎에 해당되는 증상에 사용되고 있는데 여성의 갱년기는 腎虛, 血虛, 精虛와 관련이 있어 결국 오미자가 갱년기 치료제로서의 사용 가능성을 보여주고 있음.

生手	子入	中熟	葉熱	五味子
咸太	以藥	辛紅	如解	煖오
鏡陰	補生	苦紫	杏酒	水이
道足	五暴	都味	菜素	藏不
平少	藏不	有甘	花治	強性
安陰	之去	鹹者	黃咳	陰溫
道也	氣子	味佳	白嗽	滋味
最補	在幹	此八	子上	男酸
佳○	上○	則月	如氣	子微
我	則孫	五株	○駝	精云
國	滋真	味子	豆生	生無
	源人	具日	深山	陰毒
	在云	也乾	大叢	中補
	下夏	故名	○叢	肌虛
	則月	皮肉	莖莖	止勞
	補常	爲五	莖莖	消羸
	腎服	味甘	頭色	渴瘦
	故五	味酸	生蔓	除明
	入味	子核	青生	煩目

동의보감 탕액편 “오미자”

## 제 2 장. 국내외 기술개발 현황

### 1. 국내 건강기능식품 개발현황

- 식품의약품안전처의 자료에 의하면 2013년 건강기능식품 생산실적을 분석한 결과 총 생산액은 1조 4,820억 원으로 12년 1조 4,091억 원에 비해 5% 증가로 나타났음. 특히 새로운 기능성 원료를 사용한 '개별인정형' 제품(전년대비 29% 증가)과 프로바이오틱스 제품(전년대비 55% 증가)이 성장을 주도한 것으로 나타났음.
- 홍삼제품은 5,869억 원으로 전체(1조 4,820억 원)의 40%를 차지하여 여전히 가장 높은 점유율을 보였으나, 그 규모는 '11년 이후 지속적으로 감소하는 것으로 조사됐음.
- 생산액 상위 10개 품목 중 '12년 대비 생산이 급증한 제품으로는 밀크씨슬추출물 제품이 529%(49억 원→308억 원)로 가장 높았고, 프로바이오틱스 제품 55%(518억 원→804억 원), 개별인정형 제품 29% (1,807억 원→2,324억 원) 순으로 나타났음.

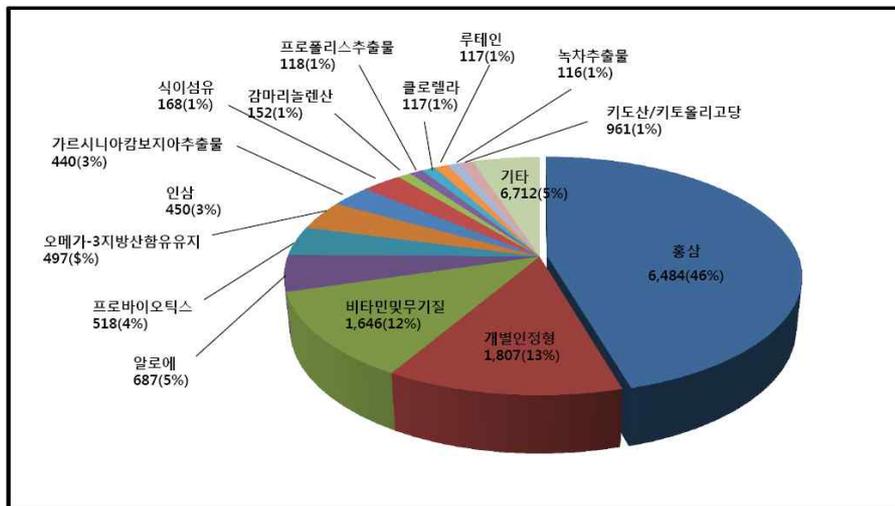


그림 21 건강기능식품 품목별 시장현황, 단위:억원(식약처, 2012)

- 개별인정형 건강기능식품의 생산은 2,324억 원으로 '12년 1,807억 원에 비해 29% 증가했다. 제품별로는 백수오등복합추출물(갱년기 여성 건강)이 전체의 30%(704억 원)를 차지하여 가장 많았으며, 헛개나무과병추출분말(간 건강) 23%(541억 원), 당귀혼합추출물(면역기능) 14%(314억 원), 마태열수추출물(체지방 감소) 10%(229억 원) 등의 순이었다.

### 2. 호르몬 대체제 연구

- 1949년도에 처음으로 수태한 말의 오줌에서 에스트로겐 호르몬을 추출하고 이를 합성하는데 성공한 이후 HRT는 특별한 대안이 없는 폐경 시장에서의 독립주자로 자리를 지켜왔음.

- 그러나 1970년대 중반부터 합성 에스트로겐을 복용한 여성이 복용하지 않는 여성에 비해 자궁내막암이 4배에서 8배까지 증가하여 발생하였다는 리포트가 나오기 시작하였고 이를 방지하기 위해 합성 프로제스테론인 프로제스틴(Progestin)을 에스트로겐과 함께 투입하는 병용요법을 사용하기 시작하였음.
- 두꺼워진 자궁내막이 생리 후반기에 프로제스테론 분비에 의해 안정 되므로 합성 프로제스테론 요법이 자궁내막암을 예방 할 수 있다고 판단했기 때문인데, 그러나 자궁내막암의 예방에는 만족할 만한 성과가 나오기 시작했으나 유방암, 심혈관계 질환, 뇌졸중 등 다른 더 심각한 부작용이 발생하기 시작하여 다시 단독 요법으로 회귀하였음.
- 2002년 NIH(국립보건원) 산하 WHI(Woman's Health Institute)는 50세에서 79세 사이의 여성 1만 6천명의 건강을 분석, 5년 후, 호르몬 대체요법(HRT)을 사용한 여성들은 유방암의 위험이 29%, 심장 질환의 위험은 26%, 뇌졸중의 위험은 41% 더 증가하는 등 각종 질환이 많게는 8배까지 증가한다고 발표했고 합성 에스트로겐 보충 요법을 자제 혹은 중단하도록 권고하기에 이룸.
- 이와 같은 결과는 미국 로스앤젤레스 캘리포니아 대학 메디컬센터 생의학연구소의 종양학자 로윈 출레보우스키(Rowan Chlebowski) 박사와 하버드 대학 의과대학 브리검 여성병원의 조앤 맨슨 박사의 HRT 단독/병용 요법 시 진행성 유방암 위험과, 유방암, 심장병, 뇌졸중, 혈전 위험을 높인다는 보고서로 미국의사협회 저널(Journal of American Medical Association) 최신호(10월20일자)에 발표된 바 있음.
- 이와 같은 이유로 최근 콩과 석류, 자몽, 야생 고구마(Wild Yam) 등 천연물 유래의 건강식품을 선호하는 경향이 일어나게 되었으며, 최근 백수오복합추출물 등이 이러한 배경에서 국내외 시장에서 주목을 받기에 이르렀음.

### 3. 식물성호르몬 연구

- 갱년기 장애에 대한 HRT의 효능은 의심할 여지가 없으나, 유방암, 심장병, 뇌졸중 등의 부작용이 발견되었다는 보고가 있어 이를 대체할 식물성 호르몬의 수요가 급증하게 되었음.
- 식물성 호르몬은 주로 블랙코호시(승마) 추출물이 의약품으로 사용되어 왔고, 이소플라본의 공급원인 대두와 레드클로버, 리그난 등의 공급원인 아마씨 등이 이용되어 왔음.
- 그러나 black cohosh 승마추출물과 이소플라본, 리그난 등도 최근의 보고에 의하면 유방암 발생을 높이고 간암을 유발하는 등 다양한 부작용에 대한 보고가 잇따르고 있어 소비자의 불안감이 높아지고 있는 실정임.
- 이소플라본, 승마추출물, HRT 등의 상호 비교실험 자료는 이미 다수가 보고되어 있으며 이

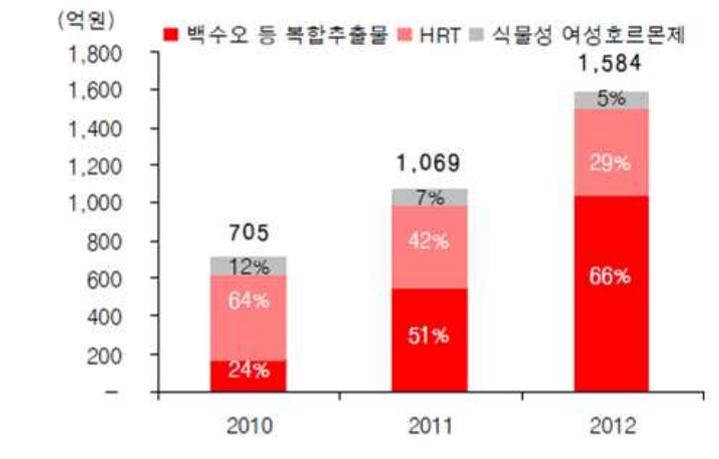
에 대한 요약은 아래와 같음.

- 대부분의 연구에서 이소플라본은 갱년기 증상, 특히 홍조 증상을 개선시키지 못하였으며 이와는 대조적으로 많은 연구에서 승마추출물은 갱년기 증상에 긍정적 효과를 보여주었음. Conjugated estrogen을 대조로 한 이중 맹검 시험에서 승마추출물 80mg/일은 위약에 비해 갱년기 증상을 유의하게 감소시켰음.
- 골보호 효과 면에서는 폐경 후 여성에서 에스트로젠은 골 방지 효과를 보이는데 이소플라본 역시 난소절제 rat와 폐경 후 여성에서 온화한 골 보호효과를 보였음. 그러나 동물실험 데이터는 서로 상반된 결과를 보여 결론에 이르지 못하고 있으며 승마추출물은 rat에서 혈액 및 요 중 골 지표와 대퇴골의 무기질 밀도에 긍정적 효과를 보였음.
- 비뇨기과에 미치는 효과 면에서 estradiol은 질 환경의 산성화를 안정화 시키는 바람직한 효과를 가지고 있는데 비해 이소플라본은 그러한 활성이 보고되지 않았으며 승마추출물은 온화한 효과를 보였으나 임상시험에서 따라 차이를 보였음. 방광에서 레드클로버와 콩 혹은 승마추출물 제품의 효과에 대해서는 지금까지 보고되지 않았음.
- 심혈관에 대한 위험성과 관련해서 관행적 HRT는 HDL 콜레스테롤을 증가시키고 LDL 콜레스테롤은 억제하여 항 동맥경화 효과를 가지고 있다고 보고되었음. 그러나 최근 심장과 에스트로젠/프로게스틴 대체요법에 관한 임상시험에서는 이는 잘못된 것이라고 평가하였으며 따라서 최근 미국심장협회(AHA)에서는 동맥경화증이 있으면 HRT에 의해 치명적 영향을 받을 수 있다고 경고하고 동맥경화증의 2차적 예방목적으로는 HRT를 시행하지 못하도록 추천하고 있음.
- 콩 이소플라본은 에스트로젠과 유사하게 HDL 콜레스테롤을 증가시키고 LDL 콜레스테롤을 억제하여 항동맥경화 효과를 보이는 것으로 초기연구에서 시사되었으나 장기간의 HRT로 인한 심혈관질환의 증가는 콩과 레드클로버 이소플라본에서도 역시 적용될 수 있다는 것임. 한편 승마추출물이 혈청지질 농도를 변화시킬 수 있는 가능성에 대해서는 아직 발표되지 않았음.
- 유방암의 위험성과 관련해서 장기간의 HRT 시행 이후 유방암의 유의한 증가가 보고되고 있음. 콩과 레드클로버 및 이들로부터 분리된 이소플라본이 유방암 발생을 억제한다고 강조하고 있음. 그러나 성인 여성에서는 이소플라본 섭취는 유방 밀도와 유방선 체액 생산과 프로게스테론 수용체 형성을 증가시키는데 이러한 변화는 유방암 위험성 증가의 지표가 되며 따라서 폐경기의 여성 또는 폐경 후의 여성에서 이소플라본 섭취는 유방암 감소보다는 오히려 증가시킬 수도 있다는 것이 힘을 얻고 있음. 승마추출물의 오랜 전통적 사용에도 불구하고 아직 유방암에 대한 임상결과가 발표되지 않았고 또한 MCF-7을 이용한 실험에서도 역시 상반된 결과가 보고되고 있어, 환자의 안전을 위해 승마추출물의 섭취는 에스트로겐 의존성 암이 있는 환자에서는 금기로 되어 있음.

- 자궁내막암의 위험성과 관련해서 에스트로겐 요법은 자궁내막암의 위험성을 증가시킨. rat 실험에서 이소플라본, 특히 genistein의 고용량은 자궁 성장을 촉진하고 여러 가지 자궁의 에스트로겐-조절 유전자의 발현을 촉진시켰음. 이와는 대조적으로 콩을 지속적으로 섭취한 폐경 후 여성에서 자궁내막 암의 발생 위험비가 낮은 것으로 보여지고 있으나, 이소플라본을 지나치게 많이 섭취한 한 여성에서 악성 자궁내막 발생이 보고되었음.

#### 4. 최근의 식물성호르몬 개발 사례

- 최근에 갱년기 여성건강으로 개별인정 받은 백수오 복합 추출물은 식약처의 여성건강 관련 기능성 인정과 함께 2010년 미국 FDA의 NDI(New Dietary Ingredient) 등재되었고 2011년 캐나다 식약청 NPN(Natural Product Number) 승인을 받았음.



자료: 내추얼앤도렉, 유진투자증권

그림 22 국내 주요 여성 호르몬제 점유율 추이

#### 5. 신규 식물성호르몬(오미자추출물)

- 지금까지 보고된 갱년기 치료에 쓰이는 주요 식물로는 앞서 언급된 블랙 코호시(승마), 히페리시(성 요한 풀), 콩(제니스테인), 당귀, 달맞이꽃 종자유 및 석류 등이 있으며 국내에서는 백수오등 복합추출물, 석류추출물, 회화나무열매추출물 및 석류농축액 등이 개발되어 식약청으로부터 건강기능식품 개별인정을 획득한 바 있음. 하지만 이중 일부 일반의약품은 간독성 등 심각한 부작용이 우려되거나 해외에서 개발된 원료를 수입하여 판매하는 실정이며 국내의 일부 건강기능식품의 경우 임상실험에서 세부적으로 유의한 개선효과를 보이지 않는 것으로 확인되었음.
- 기존 phytoestrogen 고함유 식물들이 모두 수입산 원료이며, 기호성이 매우 떨어지기 때문에 캡슐, 타블렛 등만 가능하여 음료 등 식품으로 구현 가능한 제형상의 제약이 있으나 오

미자는 높은 기호성을 가지고 있어 제형의 제약이 없음. 이처럼 노령화시대 삶의 질 개선을 위한 갱년기증상 개선제 시장 확대에 따른 천연물 유래 원료 확충에 대한 산업적 필요성 증대되고 있고, 한약재 및 단순 음료(당절임)로만 사용되던 국내산 오미자의 신규 기능성 발굴로 인한 농가수익 창출이 필요한 시점임.

- 또한 국외 논문에 의하면 오미자에서 추출한 Lignan을 골다공증 유사세포인 UMR-106 cell에 처리하여 골다공증관련 인자들을 확인한 결과 alkaline phosphate activity를 증가시켰고 세포의 성장을 증가시킨 것을 확인 할 수 있음.
- 에스트로젠 관련 Estrogen Receptor positive, negative human breast cancer cell에서 오미자의 리그난 성분인 schizandrin을 처리한 경우 breast cancer cell이 대조군 대비 성장이 억제되었고 cell cycle관련 proteins의 발현을 조절하여 cell분화를 억제하였음.
- 국내 논문에서는 오미자추출물이 Bone marrow macrophage cell에서 파골세포 분화연관 유전자(c-Fos, NFATc1, TRAP)와 신호전달 물질(I-kB, p38, JNK, ERK)등의 발현을 억제하는 것을 확인하였음. 그리고 동물실험에서는 오미자추출물이 난소를 적출한 OVX model에서 혈관을 이완시키는 작용과 혈중 콜레스테롤을 감소시키는 역할을 한다는 것을 검증하였음.
- 마지막 Clinical trial 논문에 의하면 오미자와 다른 물질을 혼합하여 복용한 결과 오미자의 lignan이 E2를 hydroxylation시켜서 breast cancer뿐만 아니라 estrogen 관련 cancer를 억제할 수 있다는 가능성을 제기하였음.
- 오미자 추출물의 호르몬 대체제로서의 평가는 당사에서 최초로 기획하여 시행하였으나 위와 같이 기존 논문에서도 갱년기와 관련된 여러 가지 인자들에 대한 기초실험이 수행되어 왔으며 높은 효과를 보이고 있음.
- 금번 연구에서는 이러한 오미자의 기능적 역할을 여성갱년기 증상으로 연합하고 이들의 주요한 활성 마커 변화와 주요성분 확인 및 기능성 평가 등에 주안점을 맞추어 진행하였음.

## 제 3 장. 연구개발 수행내용 및 결과

### 제 1 절. 연구개발 수행 방법 및 내용

#### 1. 오미자 추출물의 여성갱년기 증상개선 효과 규명

##### 가. 오미자추출물의 에스트로젠 활성 물질 효능 검증(in vitro)

###### (1) MTT분석을 통한 BMO-30의 MCF-7 cell에서의 세포생존을 확인

MCF-7 (breast cancer-positive cell line) cell의 세포생존을 측정을 위하여 MTT assay를 실시하였다. MCF-7 세포는 DMEM, 10% FBS, 1% Streptomycin을 포함한 배지를 사용했다. 세포를  $1 \times 10^4$  cells/ml로 맞추고 96-well plate에 각각 100 $\mu$ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양한 후, PBS 완충용액에 녹인 BMO-30을 well당 1, 10, 100, 200 $\mu$ g/mL로 처리하였다. Sample 처리 후 24시간 배양하고 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT (2 mg/ml) 용액을 50 $\mu$ l씩 첨가하였다. 4시간 반응 후, formazan 형성을 확인하고 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 완전히 제거한 다음, 120 $\mu$ l의 DMSO를 첨가하여 녹이고 30분 Incubation시킨 후 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 Sample을 처리하지 않고 배양시킨 대조군 세포를 100%로 하였을 때의 상대적인 세포생존율을 구하였다.

###### (2) MTT분석을 통한 BMO-30의 MDA-MB231 cell에서의 세포생존을 확인

MDA-MB231 (breast cancer-negative cell line) cell의 세포생존을 측정을 위하여 MTT assay를 실시하였다. MDA-MB231 세포는 DMEM, 10% FBS, 1% Streptomycin을 포함한 배지를 사용했다. 세포를  $1 \times 10^4$  cells/ml로 맞추고 96-well plate에 각각 100 $\mu$ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양한 후, PBS 완충용액에 녹인 BMO-30을 well당 100 $\mu$ g/mL로 처리하였다. Sample처리 후 24시간 배양하고 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT (2 mg/ml) 용액을 50 $\mu$ l씩 첨가하였다. 4시간 반응 후, formazan 형성을 확인하고 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 완전히 제거한 다음, 120 $\mu$ l의 DMSO를 첨가하여 녹이고 30분 Incubation시킨 후 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 Sample을 처리하지 않고 배양시킨 대조군 세포를 100%로 하였을 때의 상대적인 세포생존율을 구하였다.

###### (3) BMO-30의 농도별 Estrogen Receptor- $\alpha$ , Estrogen Receptor- $\beta$ , c-fos, c-Jun expression 확인

MCF-7 (breast cancer-positive cell line) cell의 Estrogen Receptor- $\alpha$ ,  $\beta$ 의 발현을 확인하기 위하여 세포를 100cm<sup>2</sup> dish에 24시간 동안 배양한 후, DMEM media에 녹인 BMO-30을 1,

10, 100 $\mu$ g/mL로 처리하였다. 이 때 양성대조군으로 E2 (17 $\beta$ -estradiol), 음성대조군으로 ICI (ICI178, 180; fulvestrant)를 사용했다. Sample처리 후 24시간 배양하고 Trypsin-EDTA를 이용하여 세포를 걷어냈다. 걷어낸 세포 pellet에 protein extract를 위하여 protease inhibitor가 포함된 protein buffer (50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 1% Nonidet P-40, 0.5% sodium deoxycholate, 150 mM NaCl)를 protein buffer를 첨가하여 vortexing했다. ice에 15분 incubation시키고 15초 vortexing하고 이 과정을 4번 반복한 후, 12000 rpm으로 20분 Centrifuge했다. 상층액만 걸어서 -80 $^{\circ}$ C에 보관했다. 추출한 단백질은 Dc Protein assay kit (Bio-Rad Laboratories, USA)를 이용하여 30 mg씩 같은 양을 정량하여 실험에 사용하였고 SDS 12%-polyacrylamide겔을 이용 전기영동을 통해 단백질을 분리했다. 분리한 단백질은 nitrocellulose 막으로 이동시킨 후, 5% skim milk in TBS-T를 이용하여 blocking시켰고 TBS-T로 15분간 3번 세척 후, anti-rabbit  $\beta$ -actin, ER- $\alpha$ , ER- $\beta$ , c-Jun, c-fos 항체(Cell signaling, USA)를 TBS-T에 1:1,000으로 희석하여 넣고 4 $^{\circ}$ C에서 overnight binding시켰다. TBS-T로 15분간 3번 세척하고 HRP (horseradish-peroxidase)가 붙어있는 goat-anti-rabbit 2차 항체 (Santa cruz biotechnology Inc, USA)를 TBS-T에 1:1,000으로 희석하여 넣고 실온에서 1 시간 동안 처리한 후 ECL kit를 처리하여 LAS Image Gauge 프로그램을 이용하여 anti-mouse  $\beta$ -actin 항체(Santa cruz biotechnology Inc, USA) 밴드를 대조군으로 하여 각 밴드의 밀도를 측정하여 정량하였다.

#### (4) MTT분석을 통한 BMO-30의 osteoblast like cell line(UMR106)에서의 세포 생존율 cell proliferation 확인

UMR106 (rat-osteoblast cell line) cell의 세포생존율 측정을 위하여 MTT assay를 실시하였다. UMR106 세포는 DMEM, 10% FBS, 1% Streptomycin을 포함한 배지를 사용했다. 세포를 1 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/ml로 맞추고 96-well plate에 각각 100 $\mu$ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양한 후, PBS 완충용액에 녹인 BMO-30을 well당 100, 200 $\mu$ g/mL로 처리하였다. Sample처리 후 24시간 배양하고 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT (2 mg/ml) 용액을 50 $\mu$ l씩 첨가하였다. 4시간 반응 후, formazan 형성을 확인하고 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 완전히 제거한 다음, 120 $\mu$ l의 DMSO를 첨가하여 녹이고 30분 Incubation시킨 후 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 Sample를 처리하지 않고 배양시킨 대조군 세포를 100%로 하였을 때의 상대적인 세포생존율을 구하였다.

### 나. 오미자추출물의 에스트로젠 활성 물질 효능 검증(in vivo)

#### (1) 갱년기 및 골다공증 동물 모델 구축

ICR 암컷 흰쥐(20 $\pm$ 2g)를 그룹당 7마리씩 구입하여, 실험을 하기 위해 일정한 온도(23 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C),

습도(55±15%)로 하여 일반 동물실험 사육 환경 하에서 10일 동안의 적응기를 거쳤다. 인위적인 갱년기 증후군을 유발시키기 위하여 흰쥐를 정상대조군, 음성대조군(ovx), 양성대조군(E2; 17β-estradiol), BMO-30 투여군(1, 10, 100 mg/kg)으로 분류하고 정상대조군을 제외한 나머지군의 흰쥐의 복강 내에 Zoletil을 주사하여 전신마취 시키고, 복부의 털을 전기이발기로 제거한 뒤 양와위로 두고 70% Ethanol용액으로 수술부위를 소독하고, 4cm정도 피부, 복근, 복막을 절개하였다. 난소를 노출시켜, 난관을 견사로 결찰한 후, 난소를 절제하고 견사 및 nylon사로 복막, 복근, 피부를 봉합하였다.

수술 후 7주 뒤부터 6주간 매주 5일씩 오전 10-11시에 정상대조군, 음성대조군에는 0.1% DMSO가 포함된 PBS를 200μL씩 경구투여하고, 양성대조군 E2군에는 0.1% DMSO가 포함된 PBS에 녹인 17β-estradiol 10μg/kg를 복강투여 하였다. BMO-30 투여군은 각각 1, 10, 100mg/kg 농도를 0.1% DMSO가 포함된 PBS에 녹여 경구투여 하였다. 시료투여 전 체중을 측정하였고, 1주일에 한번씩 6주간 약물투여를 하면서 측정 후 실험동물을 희생시키기 직전에 다시 측정하였다. 약물투여가 끝난 다음날 Zoletil로 흰쥐를 마취하고 경추탈골로 희생시킨 뒤 자궁을 적출하여 육안으로 관찰하고 무게를 측정하였다.

## (2) Serum estradiol concentration assay

개흉하여 심장천자로 채혈하였다. 혈액을 14,000rpm으로 3분간 원심분리한 후 혈청을 모아 -70℃에 보관하였다. 혈청 내 estradiol 농도 측정은 enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) 방법으로 측정하였다. 각 well에 희석된 혈청 25μL (1:10 dilution)와 standard를 분주하고, estradiol enzyme conjugate를 100μL씩 분주한다. 2시간 동안 24℃ 실온에서 방치한 후 3회 washing 완충용액으로 세척한 다음 TMB 기질을 100μL씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100μl stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

## (3) BOD assay

흰쥐의 좌측 대퇴골을 적출하고 원위부만 절취하여 PBS에 넣어 -20℃에 냉동 보관하였다. 냉동 보관하였던 대퇴골로부터 근육을 완전히 제거한 후 PIXImus densitometer (Lunar Corp, Madison, WI, USA)를 이용하여 골밀도(BMD; bone mineral density)를 측정하였다.

## (4) 골조직 Histology

흰쥐의 우측 대퇴골을 적출하고 원위부만 절취하여 4℃에서 10% formalin에 18시간 고정하였다. PBS로 세척하고 4% EDTA용액에서 교반하여 4주간 탈회시킨 후 순차적인 탈수 및 투명화를 거쳐 paraffin에 포매하고 7μm 연속절편을 제작하였다. 탈파라핀한 후 hematoxylin-eosin (H&E)염색을 실시하고, 염색된 절편을 현미경을 이용하여 관찰하였다.

### (5) Serum AST, ALT, BUN & Creatinine assay

심장혈액에서 분리한 혈청을 IFCC법을 이용하여 신독성 지표로 BUN (blood urea nitrogen) 및 creatinine을, 간독성 지표로서 aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT)를 측정하였다.

### (6) 자궁의 Estrogen receptor- $\alpha$ , Estrogen receptor- $\beta$ expression 확인

흰쥐의 자궁조직으로부터 estrogen receptor- $\alpha$ , - $\beta$  및 Oncogene 단백질 발현을 분석하기 위하여 Western blot을 하였다. 자궁조직은 150 mM NaCl, 1% NP-40, 50 mM Tris-Cl (pH 7.4), 2 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 2 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 50 mM NaF, 2 mM EDTA (pH 7.4)와 NP-40 lysis buffer를 이용하여 총 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질은 Dc Protein assay kit (Bio-Rad Laboratories, USA)를 이용하여 30 mg씩 같은 양을 정량하여 실험에 사용하였고 SDS 12%-polyacrylamide 겔을 이용 전기영동을 통해 단백질을 분리하였다. 분리한 단백질은 PVDF-membrane으로 이동시킨 후, 5% skim milk in TBS-T를 이용하여 blocking시켰고 TBS-T로 15분간 3번 세척 후, anti-rabbit  $\beta$ -actin, ER- $\alpha$ , - $\beta$ , c-fos와 c-Jun 항체(Cell signaling, USA)를 TBS-T에 1:1,000으로 희석하여 넣고 4°C에서 overnight binding시켰다. TBS-T로 15분간 3번 세척하고 HRP (horseradish-peroxidase)가 붙어있는 goat-anti-rabbit 2차 항체 (Santa cruz biotechnology Inc, USA)를 TBS-T에 1:1,000으로 희석하여 넣고 실온에서 1시간 동안 처리한 후 ECL kit를 이용하여 LAS Image Gauge 프로그램을 이용하여 anti-mouse  $\beta$ -actin 항체 (Santa cruz biotechnology Inc, USA) 밴드를 대조군으로 하여 각 밴드의 밀도를 측정하여 정량하였다.

### (7) Serum Osteocalcin assay

흰쥐를 개흉하여 심장천자로 채혈하였다. 혈액을 14,000rpm으로 3분간 원심분리한 후 혈청을 모아 -70°C에 보관하였다. 혈청 내 osteocalcin 농도 측정은 enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) 방법으로 측정하였다. 각 well에 희석된 혈청 25 $\mu$ L (1:10 dilution)와 standard를 분주하고, osteocalcin enzyme conjugate를 100 $\mu$ L씩 분주한다. 2시간 동안 24°C 실온에서 방치한 후 3회 washing 완충용액으로 세척한 다음 TMB 기질을 100 $\mu$ L씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100 $\mu$ L stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

### (8) 갱년기 비만모델 구축

C57BL/6 암컷 쥐(20 $\pm$ 2g)를 그룹당 7마리씩 구입하여, 실험을 하기 위해 일정한 온도(23 $\pm$ 3°), 습도(55 $\pm$ 15%)로 하여 일반 동물실험 사육 환경 하에서 10일 동안의 적응기를 거쳤다. 쥐를 정상대조군(Normal), 음성대조군(HFD+OVX), 양성대조군(E2; 17 $\beta$ -estradiol), BMO-30 투여군(1,

10, 100 mg/kg)으로 분류하고 정상대조군을 제외한 나머지 군의 쥐의 복강 내에 Zoletil을 주사하여 전신 마취시키고, 복부의 털을 전기이발기로 제거한 뒤 양와위로 두고 70% Ethanol용액으로 수술부위를 소독하고, 4cm정도 피부, 복근, 복막을 절개하였다. 난소를 노출시켜, 난관을 견사로 결찰한 후, 난소를 절제하고 견사 및 nylon사로 복막, 복근, 피부를 봉합하였다. 수술 직후부터 7주간 정상대조군을 제외한 모든 쥐에게 고지방 식이(High fat diet)를 섭취하도록 하였다.

### (9) BMO-30 feeding & Sacrifice

수술 후 7주 뒤부터 6주간 매주 5일씩 오전 10-11시에 정상대조군, 음성대조군에는 0.1% DMSO가 포함된 PBS를 200 $\mu$ L씩 경구투여하고, 양성대조군 E2군에는 0.1% DMSO가 포함된 PBS에 녹인 17 $\beta$ -estradiol 50 $\mu$ g/kg를 복강투여 하였다. BMO-30 투여군은 각각 1, 10, 100mg/kg 농도를 0.1% DMSO가 포함된 PBS에 녹여 경구투여 하였다. 시료투여 전 체중을 측정하였고, 1주일에 한번씩 6주간 약물투여를 하면서 측정 후 실험동물을 희생시키기 직전에 다시 측정하였다. 약물투여가 끝난 다음날 Zoletil로 흰쥐를 마취하고 경추탈골로 희생시킨 뒤 무게를 측정하였다.

### (10) FER & Adipose tissue weight assay

쥐가 섭취한 고지방 식이 양은 BMO-30 약물 투여 시작 시기부터 매일 확인하였다. 식이효율은 매일 측정한 식이 섭취량을 체중으로 나눈 값으로 계산하였다. 실험 종료 시점에 12시간 정도 절식한 쥐를 Zoletil로 마취시킨 다음 지방 조직을 적출하여 무게를 측정하였다.

### (11) Uterus tissue H&E staining

흰쥐의 자궁조직을 양쪽 모두 적출하여 4 $^{\circ}$ C에서 10% formalin에 18시간 고정하였다. PBS로 세척하고 순차적인 탈수 및 투명화를 거쳐 paraffin에 포매하고 4 $\mu$ m 연속절편을 제작하였다. 탈파라핀한 후 hematoxylin-eosin (H&E)염색을 실시하고, 염색된 절편을 현미경을 이용하여 관찰하였다. 흰쥐의 우측 대퇴골을 적출하고 상완골을 절취하여 4 $^{\circ}$ C에서 10% formalin에 18시간 고정하였다. PBS로 세척하고 4% EDTA용액에서 교반하여 4주간 탈회시킨 후 순차적인 탈수 및 투명화를 거쳐 paraffin에 포매하고 7 $\mu$ m 연속절편을 제작하였다. 탈파라핀한 후 hematoxylin-eosin (H&E) 염색을 실시하고, 염색된 절편을 현미경을 이용하여 관찰하였다.

### (12) Adipose tissue Histology

쥐의 지방 조직을 적출하여 4 $^{\circ}$ C에서 10% formalin에 18시간 고정하였다. PBS로 세척하고 순차적인 탈수 및 투명화를 거쳐 paraffin에 포매하고 4 $\mu$ m 연속절편을 제작하였다. 탈파라핀한 후 hematoxylin-eosin (H&E)염색을 실시하고, 염색된 절편을 현미경을 이용하여 관찰하였다.

이 때, Image J 프로그램을 통하여 지방 조직의 지름을 모두 재서 측정하였다.

## 2. 오미자 추출물의 안전성 연구

### 가. 유해물질 규격 설정에 관한 자료

오미자 규격품 원료 수급을 위하여 국내산 오미자를 수집하였다. 국내산 오미자는 2011년과 2012년 산을 시기별로 구입하고, 산지별로는 청양 오미자와 문경오미자를 시료로 수집하였다.

오미자추출물 원료의 유해물질 규격은 원재료 또는 제조과정 중 유해물질의 오염 또는 잔류 가능성을 막고 안전성을 확보할 수 있도록 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정 중 유해물질규격설정항목(제14조제6호 가목 관련) [별표 2]에 준하여 설정하였다. 오미자추출물 원료의 경우 오미자를 열수 추출 한 후 농축하였기에 액상제품에 해당되어 중금속 4종(납, 총비소, 카드뮴, 총수은)과 세균수, 대장균군을 유해물질규격으로 설정하였다.

표 6 유해물질 규격설정 항목(식품의약품안전청고시 제 2011-34호 제 13조 제7호 가목 관련)

원료	항목		규격	비고
모든 원료	중금속	납	< 10.8 $\mu$ g/일	
		총비소	< 150 $\mu$ g/일	
		카드뮴	< 3.0 $\mu$ g/일	
		총수은	< 2.1 $\mu$ g/일	
	미생물	대장균군	음성	
		세균수	$\leq$ 100/g (액상제품에 한함)	
용매를 사용한 원료	잔류용매	헥산	< 0.005g/kg	
		이소프로필	$\leq$ 0.05g/kg	
		알콜		
		초산에틸		
		메틸알콜	$\leq$ 0.03g/kg	
아세톤				
해당 기준이 「식품의 기준 및 규격」에 설정되어 있는 원료	동물용 의약품		「식품의 기준 및 규격」에 따름	
	곰팡이 독소	아플라톡신		
		파툴린		
		오크라톡신		
		기타곰팡이 독소		
	방사능 오염	131I	$\leq$ 300Bq/kg, <i>l</i>	
<sup>134</sup> Cs+ <sup>137</sup> Cs		$\leq$ 370Bq/kg, <i>l</i>		

## 나. 안전성에 관한 자료

### (1) 국내외 사용 현황 조사

오미자는 전통적으로 차로 음용되어 왔으며 근래 들어 오미자를 이용한 가공제품은 현재 약 70종이 개발될 정도로 매우 다양함.

많은 범위에서 사용되고 있는 농축액과 과즙형태의 오미자청과 오미자음료 외에도 오미자 잼, 오미자푸레, 오미자요구르트, 오미자술(와인), 오미자카스테일 등이 있으며, 이밖에 오미자 엿, 오미자 한과, 오미자오리훈제, 오미자단무지, 오미자보리빵, 오미자김치, 오미자유가·캔디 등 과자종류도 많다.

구분	세부제품명	예 시
건강보조식품	Nature's Way schisandra Berry Fruit	
	VITALITY HERBS Schisandra	
분말	Organic Schisandra powder	

### (2) 섭취 근거 정보

- ① KFDA 의사결정도에 '나'에 해당됨.
- ② 오미자는 식품공전 상 사용가능 원료로 등재 되어 있고 대한약전, 일본약국방에 등재되어 있으며, 동의보감에서도 오미자를 약재로 하는 처방전을 찾을 수 있음. PDR for Herbal medicines는 오미자가 전통 중국의학에서 기침, 불면증, 피곤, 도한, 알러지 반응의 치료에 사용되었다고 보고하고 있음.
- ③ 식품 원재료 DB & 식약처 민원회신자료 식품원재료 데이터베이스의 식용근거 관련 식약처는 민원회신을 통해 오미자의 식용 근거를 확인하여 주었음.
- ④ 세포 독성 시험 결과 500ug/ml 수준 까지 XTT 실험에서 세포 독성이 나타나지 않음(Lee et. al., 2010)
- ⑤ 동의보감에서 오미자탕은 적용증에 따라 1-3전(錢) (3.75-11.25g)의 범위로 사용됨.
- ⑥ 오미자가 약용으로 사용될 경우, 자료에 의하면 5~15 g/day가 사용되었다. 원재료가 약용으로 섭취되던 경우에는 평균섭취량 이상일 경우 섭취량이 증가한 것으로 판단하게 됨(조선약용식물지, 현대의학약용식물편I, 임록재, 한국문화사, 1999, pp124~125).

⑦ Hepatitis를 치료하기 위해서는 Lignan 함량이 20mg으로 표준화된 schisandra 추출물 (crude schisandra 기준으로 1.5 g/day 임)을 매일 섭취하였다. 정신적 육체적 피로를 회복하기 위해서는 schisandra 추출물 0.5-2 g/day (crude schisandra 1.5-6 g/day)가 사용되거나, Crude schisandra decoction (달임액)의 형태로는 5-15 g/day가 사용됨(Natural Medicines Comprehensive Database).

### 3. 오미자 추출물 원료 표준화 및 규격화

#### 가. 원재료의 학명, 사용부위 및 원산지

- 오미자 (五味子, Schisandra Fruit)의 잘 익은 열매
- 학명 : *Schisandra chinensis Baillon*
- 원산지 : 대한민국

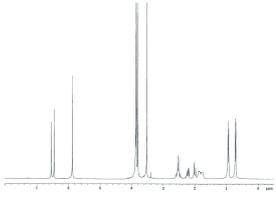
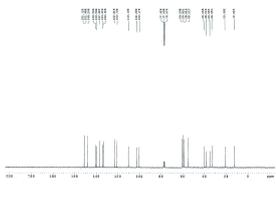
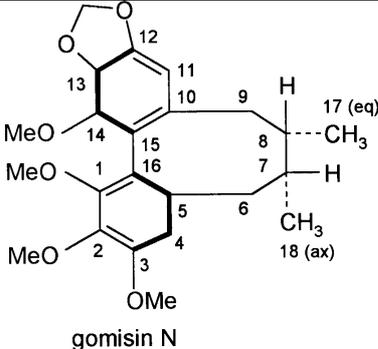
#### 나. 제조 방법

건조된 원료를 세척 후 추출하여 여과한 후 농축물을 제조하였음.

#### 다. 기능성분(또는 지표성분)에 대한 자료

##### (1) 지표성분

- ① 성분명 : 고미신 N
- ② 분자식 :  $C_{23}H_{28}O_6$
- ③ 분자량 : 400.47
- ④ 분자구조
- ⑤ 함유량 : 0.45~0.68mg/g

원 료	오미자(五味子)		
지표물질	Gomisin N		
분 자 식	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	분 자 량	400.47
형 상	White crystal		
m.p(°C)	121-122		
IR(cm <sup>-1</sup> )	(KBr) 1618, 1460, 1269, 1200, 1107, 1047, 928		
UV(nm)	λ <sub>max</sub> EtOH(log ε) 215.5 (4.64), 254 (sh, 3.96), 280 (3.51)		
MS	EI-MS m/z (%) 400, 385		
<sup>1</sup> H data	(300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ: 0.73 (3H, d, J = 7.8 Hz, 7-CH <sub>3</sub> ), 0.96 (3H, d, J = 7.8 Hz, 8-CH <sub>3</sub> ), 1.78 (1H, m, H-8), 1.89 (1H, m, H-7), 2.01 (1H, br d, J = 13.2 Hz, H-9), 2.22 (1H, dd, J = 9.3, 13.2 Hz, H-9'), 2.51 (1H, dd, J = 2.7, 13.8 Hz, H-6), 2.58 (1H, dd, J = 6.9, 13.8 Hz, H-6'), 5.93, 5.94 (1H, d, J = 1.5 Hz, OCH <sub>2</sub> O), 6.48 (1H, s, H-11), 6.55 (1H, s, H-4), 3.53~3.89 (OCH <sub>3</sub> )		
<sup>13</sup> C data	(75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ: 151.7 (C-1), 140.1(C-2), 151.7 (C-3), 110.4 (C-4), 134.2 (C-5), 39.4 (C-6), 33.5 (C-7), 40.6 (C-8), 35.5 (C-9), 137.9 (C-10), 103.0 (C-11), 148.8 (C-12), 134.6 (C-13), 141.2 (C-14), 121.4 (C-15), 123.3 (C-16), 21.4 (C-17), 12.7 (C-18), 100.7 (OCH <sub>2</sub> O), 55.8-61.1 (OCH <sub>3</sub> )		
화합물 구조	 <p style="text-align: center;">gomisin N</p>		

## (2) 기능성분(또는 지표성분) 시험방법

- 근거 : 대한약전 중 오미자의 정량법에 준함.

- 시험방법

### ① 시험용액의 조제 및 정량시험

가. 시험은 대한약전 오미자의 정량법에 준하여 진행하였다.

나. 시험용액의 제조

ㄱ) 시료 약 500 mg을 정밀히 달아 메탄올 20 ml에 용해한 후 20분간 초음파 추출하여 여과한다.

ㄴ) 잔류물에 MeOH 20 ml을 넣어 20분간 초음파 추출, 여과한다.

ㄷ) 여액을 합하여 메탄올로 최종 50ml 정용한 후 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE membrane syringe filter로 여과하여 시험용액으로 사용한다.

② 시험조작

고속액체크로마토그래피 조건	
검출기	자외부흡광광도계 (측정파장 254nm)
컬럼	Shiseido Capcell PAK C18 MG, 4.6 mm×250 mm, 5 $\mu\text{m}$
컬럼온도	30°C
이동상	acetonitrile : water : formic acid = 70 : 30 : 0.1
유량	0.6ml/min

③ 계산식

$$\text{고미신 N의 양 (mg/g)} = \frac{\text{검량선결과(ug/ml)} \times \text{최종량(ml)} \times \text{희석배수} \times \text{표준품순도}}{\text{시료채취량(mg)}}$$

#### 4. 여성갱년기 증상 개선 인체적용시험

##### 가. 오미자추출물의 에스트로겐 활성 물질 효능 검증(clinical trial)

###### (1) IRB 연구계획 신청 및 승인

###### (가) 연구계획 개요

본 연구는 서울 소재 성균관의대 강북삼성병원 산부인과의 외래환자를 대상으로 폐경 전 후의 40세에서 70세의 여성을 대상으로 모집하였으며, 총 50명의 지원자를 대상으로 중등도 이상의 갱년기 증상을 가진 대상자만을 선정하였고 에스트로겐이나 프로게스테론을 함유한 제품을 사용한 경력이 있는 자, 시험기간 내에 갱년기 증상과 관련된 보충제를 사용한 자, 갑상선 질환이 의심되는 사람(T4 기준), 호르몬의존성 또는 부인과 계통의 암(유방암, 자궁내막암 등) 병력이 있는 사람, 혈압이 조절되지 않은 사람, SSRI(선택세로토닌 재흡수억제제) 등 psychoactive 약물 사용자, DVT(심부정맥혈전증) 등 혈액응고장애가 있는 사람, 약물 또는 알코올 중독자, 지적 장애가 있는 사람을 제외한 총 40명이 피험자로 등록되었다.

(나) 연구계획 요약

연구 제목	국내산 천연추출물 BMO-30의 여성갱년기 증상개선 효과에 대한 인체 적용시험
책임연구자	성균관의대 강북삼성병원 산부인과 소속 김계현 교수
연구 목적	폐경 전 후 여성을 대상으로 한 갱년기 증상 개선 식품의 임상효능 검증
연구 배경	인구 노령화로 인해 여성 갱년기 장애 노출대상이 많아지고 있으나 기존 호르몬 대체요법의 부작용 등으로 안심하고 섭취할 수 있는 천연 기능성 식품의 요구가 높아지고 있음. 한의학적으로 여성의 갱년기는 신허(腎虛), 혈허(血虛), 정허(精虛)와 관련이 있어 오미자의 보정(補精), 영심안신(寧心安神) 효능으로 갱년기 증상인 건망, 발한, 불면, 심계항진 등에 적용될 수 있으며, 세포실험과 동물실험을 통하여 갱년기증상 개선 관련 지표의 유효적 변화를 확인한 바 있음. 따라서 기존 실험의 근거를 바탕으로 인체에 적용된 실험으로 효능을 확인하고자 함.
연구 기간	IRB 승인일로부터 2년
연구대상자 수 (본원/전체)	본원 : 34명, 전체 : 34명 (탈락율 20% 이내기준)
선정기준	① 연령 : 성인(40세~70세) ② 성별 : 여성 ③ Kupperman Index (중등도 이상의 갱년기증상 대상자) ④ 임상연구동의서에 서면으로 동의한 자
제외기준	다음 조건의 하나라도 해당되는 자는 본 연구에 참여할 수 없다. ① 시험기간 내에 에스트로젠이나 프로게스테론을 함유한 제품을 사용한 경력이 있는 자 ② 시험기간 내에 갱년기 증상과 관련된 보충제를 사용한 자 ③ 갑상선 질환이 의심되는 사람 ④ 호르몬의존성 또는 부인과 계통의 암(유방암, 자궁내막암 등) 병력이 있는 사람 ⑤ 혈압이 조절되지 않은 사람 ⑥ SSRI(선택세로토닌 재흡수억제제) 등 psychoactive 약물 사용자 ⑦ DVT(심부정맥혈전증) 등 혈액응고장애가 있는 사람 ⑧ 약물 또는 알코올 중독자 ⑨ 지적 장애가 있는 사람
중지 및 탈락기준	다음 조건의 하나라도 해당될 때 연구책임자의 판단에 의해 중지 및 탈락된다. ① 의뢰자가 연구 자체를 중단하기로 한 경우 ② 의학적인 문제나 중대한 부작용이 발생한 경우 ③ 지시된 일정 및 규범을 지키지 않는 경우

통계학적 분석 및 평가방법	① Kupperman Index(전 항목) + Menopause rating scale(2개 항목) ② 실험실적 검사:(혈액검사) TSH, free T3, free T4, TC, TG, LDL, HDL, WBC, RBC, Hb, Hct, PLT, Albumin, T-protein, Ca, P, Estradiol, FSH, s-CTx, Osteocalcin ③ 안전성 검사 : ALT, AST, BUN, creatinine - 통계방법: Repeated Measure ANOVA, p<0.05
----------------	--

(다) 연구디자인

총 50명의 피험자를 스크리닝하여 선정된 피험자들을 대상으로 시험식품 투여군과 대조식품 투여군으로 단순 무작위 배정에 의하여 둘 중 하나의 군에 배정하여 연구가 진행하였다. 이중 맹검 유지 상태에서 12주간 약물을 복용하였고, 시험제제의 생산 시에는 시험식품과 대조식품 간에는 동일한 성상 유지 및 라벨을 부착함으로써 피험자는 물론 연구 시험자까지도 맹검되도록 하였다. 또한 연구 시험자는 선정된 피험자들의 순서에 따라 고유코드 시험제제를 순차적으로 피험자에게 공급하였으며 고유코드의 할당 내역은 연구 종료 시까지 공개하지 않음으로써 맹검을 유지하였다. 또한 평행연구는 피험자가 하나의 군(시험식품군 또는 대조식품군)에만 배정되어 시험에 참여하는 연구로써 무작위배정에 의하여 하나 군에 배정되어 12주간의 약물을 공급받는 방법으로 진행되는 연구이다.

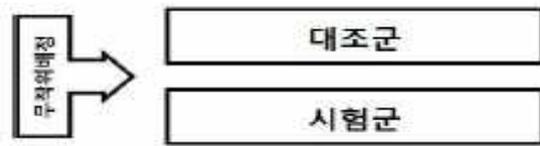


그림 23 무작위 배정, 이중맹검, 평행연구 (Parallel Design)

(라) 인체적용시험용 시험제제 정보

구분	배합 목적	성분명	규격	분량	단위	투여경로
시험식품	주성분	오미자추출물	별규	400	밀리그램	경구복용
	기타	부형제, 코팅제, 결합제, 코팅제 등	약전			
대조식품	주성분	결정셀룰로오스	별규	400	밀리그램	경구복용
	기타	부형제, 코팅제, 결합제, 코팅제 등	약전			

연구대상자들은 1일 2회, 1회 2정씩 아침, 저녁으로 총 12주 동안 복용한다. 시험제제의 약물 복용 순응도는 연구 초기 연구대상자들에게 제공된 복용일지를 바탕으로 연구 시험자가 확인하여 백분율(%)로 계산하였다.

(마) 유효성 및 안전성 관련 변수

① Kupperman Index와 Menopause rating scale 설문 검사

- 갱년기 증후군에 대한 평가는 대한폐경학회에서 제시하고 있는 가장 기본적인 평가로써 널리 사용되는 기준인 Kupperman Index를 사용하였고, 총 11가지 항목에 대한 증상의 정도를 체크하여 각 항목에 대한 상대점수를 곱하여 그 index의 합계로 갱년기 장애의 정도 및 특징을 파악할 수 있는 지수이다. Kupperman Index에는 성생활 문제나 배뇨문제관련 항목이 빠져 있기 때문에 이를 보완하기 위해 MRS(Menopause Rating Scale)의 2가지 항목(성적인 문제, 배뇨문제)을 추가하여 사용하였다. 위의 2가지 설문검사를 이용하여 시험자가 직접 피험자를 대상으로 상기 Kupperman Index 항목과 MRS 추가 항목에 대한 증상발현 여부 및 강도, 빈도 등을 종합적으로 평가하였다.

▶ Kupperman Index(KI) 설문검사

	증상 없음(0점)	미약(1점)	보통(2점)	심함(3점)
안면 홍조				
진땀				
불면증				
신경 과민				
우울증				
현기증				
집중력 떨어짐				
관절통증				
두통				
가슴 두근거림				
질 건조감				

가중치 : 안면홍조(4점), 진땀, 불면증, 신경과민(각 2점), 우울증, 현기증, 집중력 떨어짐, 관절통증, 두통, 가슴 두근거림, 질 건조감(각 1점): 총점 51점

▶ Menopause rating scale(MRS) 설문검사

	증상없음 (0점)	약간 (1점)	보통 (2점)	심함 (3점)	매우심함 (4점)
성적인 문제(성적욕구의 변화, 성행위의 변화, 성적 만족감의 변화)					
배뇨문제(배뇨어려움, 소변이 자주 마려움, 요실금)					

② 실험실적 검사

- 혈액학적 검사: WBC, RBC, PLT, Hb, Hct
- 혈액생화학적 검사: TSH, free T4, free T3, TC, TG, LDL, HDL, T-protein, albumin, Ca, P
- 여성호르몬 검사: Estradiol, FSH
- 골밀도 지표 검사: s-CTx, Osteocalcin

③ 안전성 관련 변수

- 시험제제 복용 전후의 안전성 검사를 위하여 다음과 같은 실험실적 검사를 시행하였다.
- 혈액생화학적 검사 : AST, ALT, BUN, Creatinine

(바) 통계분석

① 평가변수의 통계분석 방법

Kupperman Index, MRS, Estradiol 등의 각 변수들에 대해서 복용전과 복용 후의 변화를 측정하여 Repeated measure ANOVA 분석을 실시하였고 유효성 평가에 대한 자료는 실험군을 주 분석대상으로 하고, 대조군을 추가적으로 분석하여 유효성을 평가하였다. 분석방법은 본 시험에서 시험기기의 유효성 평가를 위한 통계분석은 「인체적용시험 통계지침(KFDA, 2002)」에 근거하며, 이용되는 통계패키지는 SPSS Ver. 21.0이다. 통계적 유의성을 위해 유의수준은 5%로 설정(즉 p-값<0.05 이면 통계적으로 유의)하고 아래 방법에 의거, 분석한다.

② 사전 동질성 검증

각 그룹간, 기관간의 동질성을 확보하기 위하여 성별과 같은 범주형 변수의 기초 평가값은 카이제곱 검정(Chi-square test)을 실시한다. 카이제곱 검정의 가정 검토를 실시하여 기대빈도가 5보다 작은 셀이 25% 이상인 경우 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)으로 검정한다. 연령과 같은 연속형 변수의 동질성 검정은 independent t-test를 이용한다. 동질성 검정에서 동질하지 않은 항목은 EASI에 대하여 공변량(covariate)으로 보정하여 동질하지 않은 항목의 효과를 제외하는 ANCOVA 또는 Repeated Measure ANCOVA를 실시한다.

③ 효과검증

시험기기의 유효성 평가를 위하여 1차 및 2차 유효성평가 변수 중 연속형 변수인 Kupperman Index를 사전, 중간, 사후의 평균(mean)을 평가함을 원칙으로 하며, 반복측정분산 분석법을 이용하여 분석한다. 각 평가값의 사전 동질성 검정에서 동질하지 않게 나타난 항목은 공변량(covariate)으로 보정하는 RM-ANCOVA로 분석하며, 교호작용 효과를 검정하여 실험군의 변화가 대조군의 변화보다 크다는 것으로 검정한다.

④ 결측치의 분석

ITT분석을 위해 최종 유효성 평가 자료가 결측된 경우, 단일 대체(single imputation) 방법 중 하나인 LOCF방법이 많이 사용된다. 일반적으로 인체적용시험에서 LOCF방법은 결측 자료를 상수(constant)로 취급하는 제한된 가정(restricted assumption)에도 불구하고 사용하기 쉽고 보수적인 결과를 준다는 이유로 현재까지 흔히 사용되는 방법이다. 결측치를 처리하는 데 현재까지 공통적으로 권장되는 방법은 없으며, 이를 보완한 방법인 다중 대체(multiple imputation)

방법은 단일 대체법의 확장이라고 할 수 있다.

즉 결측치를 가진 자료를 여러 번 대체하여 여러 개의 대체된 데이터셋을 만들고 대체된 데이터셋들을 같은 통계적 방법을 이용하여 각각 분석한다. 다중대체법은 단일 대체법보다 더 진보된 방법으로 단일대체의 불확실성을 고려하는 방법으로 MLE(Maximum Likelihood Estimation)법으로 EM(Expectation & Maximization) 방법이 있다. EM은 Expectation 과 Maximization을 계속해서 반복하여 결측값을 대체할 값을 얻는다. 본 연구에서는 EM 방법을 이용하여 결측 값을 대체한다.

<별첨1> [연구계획 승인 심사결과 통보서]

성균과의대 강북삼성병원의 연구윤리심의 위원회를 통해 2014년 1월 14일 자로 IRB 연구계획 승인을 받았다. 아래는 IRB로부터 받은 심사결과 통보서이다.

강북삼성병원 연구윤리심의위원회  
서울특별시 종로구 새문안로 29 (우) 110-746

Tel. 02-2001-1943~5  
Fax. 02-2001-1946

## 심의결과 통보서

귀하가 신청하신 심의안건에 대한 IRB 심의결과를 아래와 같이 알려드립니다.

수신	책임연구자	산부인과 김계현 교수					
	의뢰자	㈜바이오믹스					
IRB No.	<b>KBC13244</b>	접수번호	2013-244-2	제출일	2014.01.03	심의종류	<input type="checkbox"/> 정규 <input checked="" type="checkbox"/> 신속
연구과제명	국내산 천연추출물 BMO-30 의 여성갱년기 증상개선 효과에 대한 인체적용시험						
Protocol No.		Version No.	2.0	Version Date	Jan 03, 2014		
심의대상	<input type="checkbox"/> 연구계획서 (신규) <input type="checkbox"/> 연구계획서 (보완) <input checked="" type="checkbox"/> 심의의견에 대한 답변서 <input type="checkbox"/> 연구변경계획서 <input type="checkbox"/> 지속심의신청서 <input type="checkbox"/> 종료보고서 <input type="checkbox"/> 결과보고서 <input type="checkbox"/> 이상반응 발생 보고서 <input type="checkbox"/> 기타		심의의견에 대한 답변서 (2013.12.2, 시정 후 신속심의 : 신규 (2013-244)) - 연구제목 변경 · 변경전: 국내산 오미자추출물의 여성갱년기 증상개선 효과 · 변경후: 국내산 천연추출물 BMO-30 의 여성갱년기 증상 개선 효과에 대한 인체적용시험 변경대비표 (Version 1.0, Nov 15, 2013 → 2.0, Jan 03, 2014) 연구계획서 (Version 2.0, Jan 03, 2014) 증례기록서 (Version 2.0, Jan 03, 2014) 연구대상자 설명문 및 동의서 (Version 2.0, Jan 03, 2014) 피험자 모집문 연구계획 심의 신청서 (수정본)				
심의일자	2014 년 1 월 14 일	승인 유효기간		1 년 (2015 년 1 월 13 일까지)			
		지속심의 신청기간		승인유효 만료일 2 개월전			
심의결과	<input checked="" type="checkbox"/> 승인(2014.1.14) <input type="checkbox"/> 시정 후 신속심의 <input type="checkbox"/> 보완 후 정규심의 <input type="checkbox"/> 반려 <input type="checkbox"/> 기타						
심의의견	승인. 심의의견 첨부.						

2014 년 1 월 14 일

강북삼성병원 연구윤리심의위원회

위원장 신 영 철



## (2) 임상시험기관 모니터링 및 관리

연구기간 동안 총 3회의 모니터링 점검이 실시되었고, 모니터링 결과보고서는 모니터링 방문 후 작성하여 연구시험자들과 공유하였으며, 연구시험자 및 의뢰자가 함께 문서보관을 하였다. 모니터링 방문 일주일 전 문서로써 임상시험기관에 방문일정을 통보한 후 적절한 방문일정을 확인하여 방문하고 모니터링 점검사항을 기초로 하여 연구 진행 상황 및 연구계획 위반사례 등을 점검하였다.

○ 우선 모니터링 시 의뢰자는 아래와 같은 사항을 점검한다.

### ▶ 관련규정과 인체적용시험계획서의 준수

- ① 인체적용시험 착수부터 발생된 모든 시험 과정과 기록의 상세한 검토 수행
- ② 각각의 피험자가 선정기준을 만족하는지를 확인
- ③ 계획서 위반사항이 근거문서와 증례기록서에 기재되어 있는지를 확인
- ④ 이상반응의 적절한 보고 및 기록 여부 확인
- ⑤ 무작위배정의 정확성 및 (만약 가능할 경우) 맹검 유지 확인

### ▶ 자료 검증

- ① 피험자의 인체적용시험 참여기간 동안의 모든 근거문서(병원 차트, 경과 기록지, 실험실적 검사 등) 검토
- ② 인체적용시험과 관련된 방문 시에 시행된 평가/시험, 동의서 및 병원기록을 확인
- ③ 등록 시 명백한 위반사항의 설명과 사유가 근거문서와 증례기록서에 기재되어 있는지를 확인
- ④ 인체적용시험 중지된 피험자에 대해 근거문서와 증례기록서에 중지된 날짜와 중지 사유가 있는지를 확인
- ⑤ 근거문서와 증례기록서 사이에 불일치가 발견되었을 때, 가능하다면 모니터링 방문 시 연구담당자에게 수정을 의뢰하도록 함. 만약 불가능하다면, 불일치 사항에 대해 정리하여 문서를 남겨두도록 함.
- ⑥ 증례기록서에 연구자의 서명과 서명일이 있는지를 확인
- ⑦ 정기적인 인체적용시험기관 모니터링 방문 보고서에 미결사항을 기록
- ⑧ 의뢰자에게 완결된 증례기록서 발송을 위해 준비함

### ▶ 인체적용시험에 사용되는 시험제제의 보관 및 책임

- ① 인체적용시험 물품의 배송 인수 및 반납과 관련된 모든 기록에 대해 정기적으로 확인
- ② 인수 기록과 함께 배송 기록을 이중 확인(배송 내용물, 해당되는 번호와 날짜)
- ③ 인체적용시험 물품이 적절한 공급 및 보관, 인체적용시험에 사용되는 시험제제의 유효기간의 기록 등을 보증하기 위해 재고 목록을 정기적으로 확인
- ④ 시험자와 피험자(피험자 번호, 처방 및 반납 수량, 처방 및 반납일, 투약번호) 사이에 인체적용시험 물품에 대한 처방 및 반납 기록의 정확성을 확인

▶ 시험등록 전에 동의서에 서명이 되었는지를 검증

- ① 인체적용시험에 등록 및 스크리닝 탈락된 피험자들의 서명이 된 동의서 사본이 있는지 확인
- ② 등록 전에 인체적용시험에 참여하기 위해 피험자가 동의했는지를 보증하기 위해, 피험자가 동의서에 서명한 날짜와 처치 시작일 또는 시험 전 검사일 비교
- ③ 정기적인 모니터링 방문 보고서에 방문 시에 검토된 동의서의 피험자 번호와 위반사항을 기록, 관련 문서에 위반 사항을 기재하여 연구자에게 발송

### (3) IRB 연구종료 및 결과보고 제출

연구는 전반적으로 총 등록된 피험자 41명 중 마지막 피험자의 마지막 방문일을 종료로 연구는 최종 종료로 되었고, IRB에 종료보고서를 제출하였다. 종료보고서에는 연구개시일 기입부터 시작하여 피험자들의 등록현황을 작성하였고 연구 등록대상자 수와 중도탈락 대상자 수, 연구가 완료된 대상자 수에 대한 명수와 피험자 식별코드 명단 정보를 작성하였다. 또한 연구 도중 1회의 연구계획 변경이 있었고 변경 사유는 연구담당자의 탈퇴 및 추가와 임상시험자 자료집의 최신버전으로의 업데이트를 위함이었다고 IRB에 연구계획 변경을 신청하여 신속심의 승인(승인일 2014.06.19)을 받았다.

## 5. 오미자 추출물의 여성갱년기 활성성분 연구

### 가. 친환경적 오미자 추출 및 분획

#### (1) 오미자 추출

오미자 분말을 부직포(5L)에 넣어 10배의 에탄올(SK chemicals)을 가하여 90℃에서 3시간 환류추출(Cosmos-660) 한 후 추출액을 회전 진공농축기(DY-20L)로 70℃에서 농축하였다. 오미자 농축물을 분획하기 위하여 실리카겔(Fuje) 오픈 컬럼을 사용하였고, 전개 용매를 선정하기 위하여 TLC(Thin layer chromatography, Silica gel 60 F254, MERCK)를 실시하였다. TLC의 확인은

UV detector을 이용한 365 nm에서 시행하였다.

## (2) 추출물 분획법

TLC 전개용매로는 농도별로 제작된 에탄올을 사용하였고, 표준물질로는 식약청에서 분양받은 Schizandrin, Gomisin A, Gomisin N을 사용하였다. 오미자 농축물은 에탄올과 감압 여과를 통하여 불용성물질을 제거하고 오픈 컬럼에서 분획하여 분획물을 획득하였다. 오픈 컬럼을 통하여 얻은 분획물을 TLC를 이용하여 전개(Hexane:EA = 4:1)하여 유효물질 포함 3개 이하의 밴드를 가지는 분획물만 선별하여 감압농축 하였다.

## 나. 오미자추출물 내의 유효성분 연구

### (1) 오미자추출물 내의 지표(효능)성분 분석

감압 농축한 분획물 중 일정량을 취하여 에탄올 1ml에 용해한 후 0.2 um syringe filter (Milipore)로 여과한 후 HPLC (Agilent 1200 Series, Auto injector) 시료로 사용하여 Lignan을 분석하였다. HPLC에 사용된 column은 Zorbax Eclipse plus C18 Column (4.6x250mm, 5 $\mu$ m, Agilent)이고, 유동속도; 0.8ml/min, UV 디텍터; 250nm, 용매; 70% 아셀로나이트릴:30% Water:0.1% Formic acid를 조건으로 하여 분석하였다. Lignan 화합물의 확인 및 정량에 사용된 개별 Lignan 성분인 식약청에서 분양받은 Schizandrin, Gomisin A, Gomisin N과 동명과학에서 분양받은 Schizandrin A,  $\gamma$ -Schizandrin, Gomisin C을 사용하였다. 크로마토그래피의 각 피크는 표준품 Lignan의 피크를 이용하여 동정하였고, 각 Lignan 함량은 표준품과 비교하여 계산하였다.

폴리페놀류를 분석하기 위하여 lignan 분석 시 사용한 샘플을 사용하였다. HPLC는 Agilent 1260 Infinity, 컬럼 Zorbax Eclipse Plus C18 4.6x250mm 5 $\mu$ m, 유속 0.5 ml/min, 검출기 UV 250, 280, 306 nm(1260 DAD VL)의 기기조건으로 분석하였고, 이동상은 A; Formic acid in H<sub>2</sub>O (pH 2.5-3.0), B; 100% Acetonitrile (v/v)이며 기울기 용매 조건은 Table 10에 나타내었다.

표 7 HPLC eluent condition (v/v).

Time (min)	Buffer A (%)	Buffer B (%)
0	90	10
5	90	10
35	50	50
40	90	10
45	90	10

### (2) 오미자추출물 내의 에스트로젠 분석

오미자추출물 내에서 자체적으로 에스트로젠 성분을 함유하고 있는지에 대한 여부를 확인

하기 위하여 LC-MS/MS를 이용한 에스트로겐 4종( $\alpha$ -estradiol,  $\beta$ -estradiol, Estriol, Estrone)을 분석하였다.

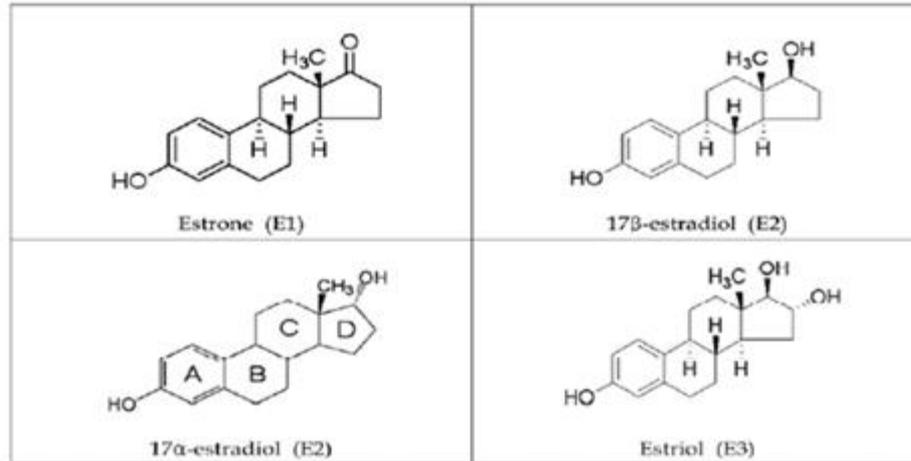


그림 24 에스트로겐 구조

#### (가) 시료 전처리 방법

- ① 시료 1g을 취한다
- ② NaCl 0.2 ~ 0.3g을 첨가
- ③ MeOH 5ml, 6N HCl 2ml를 첨가하여 50℃ 수욕조에서 20min 간 산가수분해
- ④ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 약 0.5g을 첨가하여 혼합한 후 원심 분리하여 상등액을 0.45um Syringe filter를 이용하여 여과
- ⑤ 추출과 농축을 위하여 Sep-Pak C18 카트리지를 이용하여 시료를 용출시킨 후 이 용액을 다시 질소농축기로 농축함
- ⑥ MeOH 500ul로 잔사를 녹여 0.22um Syringe filter를 가지고 여과시킨 후 2ml 갈색 vial 에 옮김
- ⑦ LC-MS/MS로 분석 시행함

#### (나) 장비조건

- LC기기: 국가(USA), 회사(WATERS), 모델명(UPLC), Column(UPLC BEH C18, 1.7um, 2.1mm X 100mm gradient) Mobile phase(A;5mM Ammonium acetate, b;acetonitrile), Injection volumn(2ul), Column oven temp(45℃), Sample temp(5℃)
- MS기기: 국가(USA), 회사(WATERS), 모델명(TQD), Source(ESI positive & negative mode)

## 6. 오미자 추출물을 이용한 제형 연구

### 가. 인체적용시험용 건강기능식품 생산

#### (1) 오미자 선정

임상시험용 정제를 제조하기 위해 국내산 건오미자를 경북 문경시로부터 구매하여 사용하였다.

○

#### (2) 오미자 추출물 제조

오미자 추출과 농축 작업은 자사에서 실시하였고, 분무건조 및 타정작업은 GMP시설을 갖춘 시설에 의뢰하여 제조하였다. 오미자 원물을 세척하고 용매를 가하여 환류 추출하였다. 추출물을 여과한 후 감압농축하여 65brix 이상으로 농축하였다. 농축된 농축물에 부형제인 결정셀룰로오스를 1:1 비율로 혼합하고 spray drying을 시행하여 오미자분말을 제조하였다.

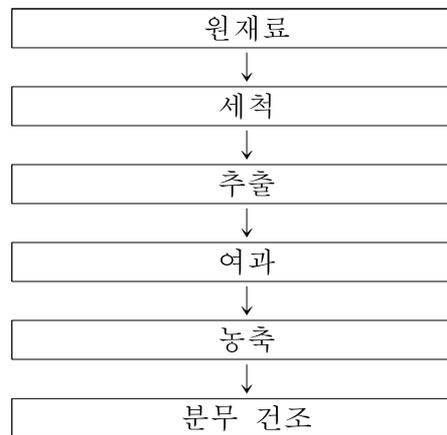


그림25 오미자분말 제조과정



그림 26 오미자 S/D분말 제조 과정

### (3) 인체적용시험용 정제 제조

오미자분말에 부형제 및 기타 첨가제의 각 각의 필요량을 칭량하여 혼합하였다. 시험제제 중 시험식품은 1정당 총량은 400mg이고 그 안의 오미자분말 외의 결정셀룰로오스, 스테아린산마그네슘, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 이산화티타늄, 식용색소 적색, 청색, 글리세린지방산에스테르 등을 적절하게 배합하여 타정, 코팅 작업을 마친 후 적갈색의 원형 제피정제를 제조하였다. 대조식품은 시험식품에서의 원료 중에서 오미자분말을 제외한 나머지 원료는 동일하게 배합하였고 시험식품과의 동일한 성상유지를 위해 식용색소로 외부코팅을 실시하였다. 제조된 시험제제는 대장균군 검사와 봉해도 검사를 실시하였다. 그리고 코팅정제를 흰색의 스크류캡 PE용기에 4주치 분량만큼 포장하여 용기에 라벨링을 한 후 시험기관 임상약국으로 전달하였다.

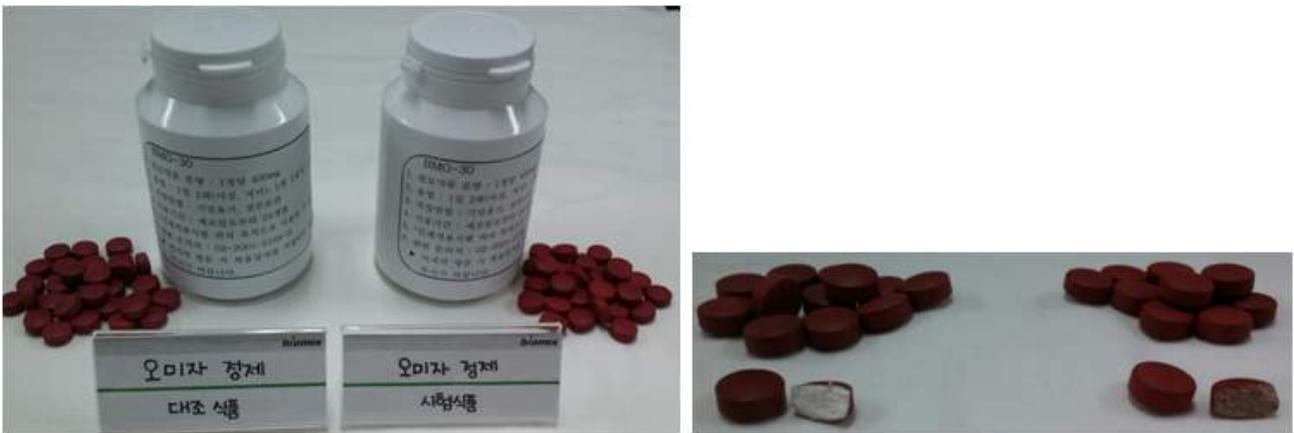


그림 27 인체적용시험용 시험제제(대조식품, 시험식품)

#### 나. 건강기능식품의 유통기한 설정 실험(식약처 제출용)

2006년 12월 국내 식품제조 가공업자는 신규 품목제조보고 시 식품의약품안전처장이 정하여 고시한 방법에 따라 유통기한 설정사유서를 의무적으로 제출 하도록 하는 식품위생법 시행규칙 제 35조 제 1항 제3호가 신설되었다.

따라서 건강기능식품의 품목제조신고를 위한 원료의 유통기한 설정 실험을 식약처에서 발간한 식품 및 축산물의 유통기한 설정실험 가이드라인(발간등록번호 11-1471000-000032-01, 2013.12)에 의거하여 실험을 계획하고 수행하였다. 저장온도별 저장기간에 따른 코팅정제의 각 지표성분의 함량 변화를 통해 유통기한 산출 프로그램을 이용하여 유통기한을 산출하였다.

검체	3lot의 검체
저장조건	4℃, 15±2℃, 25±2℃, 35±2℃
시험기간	최소 6개월(1개월 마다 실험)
검사항목	- 정상, pH, brix, 지표성분(고미신 N) - 미생물학적 검사(세균수, 대장균군)
포장재질	HDPE용기

## 다. 오미자제품(오미자농축액) 개발

### (1) 오미자농축액 개발 과정

오미자 농축액의 제형의 상품성을 확인하기 위하여 총 4가지 샘플을 가지고 평가를 시행하였다. 평가에 사용된 샘플은 당사 씨제거 오미자 착즙농축액(A), 당사 씨포함 오미자 착즙 농축액(B), 중국산 오미자 착즙농축액(C), 시판용 오미자 추출농축액(D)으로 일정량의 물에 희석한 농축액의 상태는 아래와 같다. 당사 오미자는 문경산 오미자를 사용하였다. 샘플을 음용하기 좋은 4~5brix로 제조한 후 관능평가는 20~50대 남/여 피험자를 대상으로 5가지 항목에 대한 5점 기호 척도법을 사용하여 평가하였다.

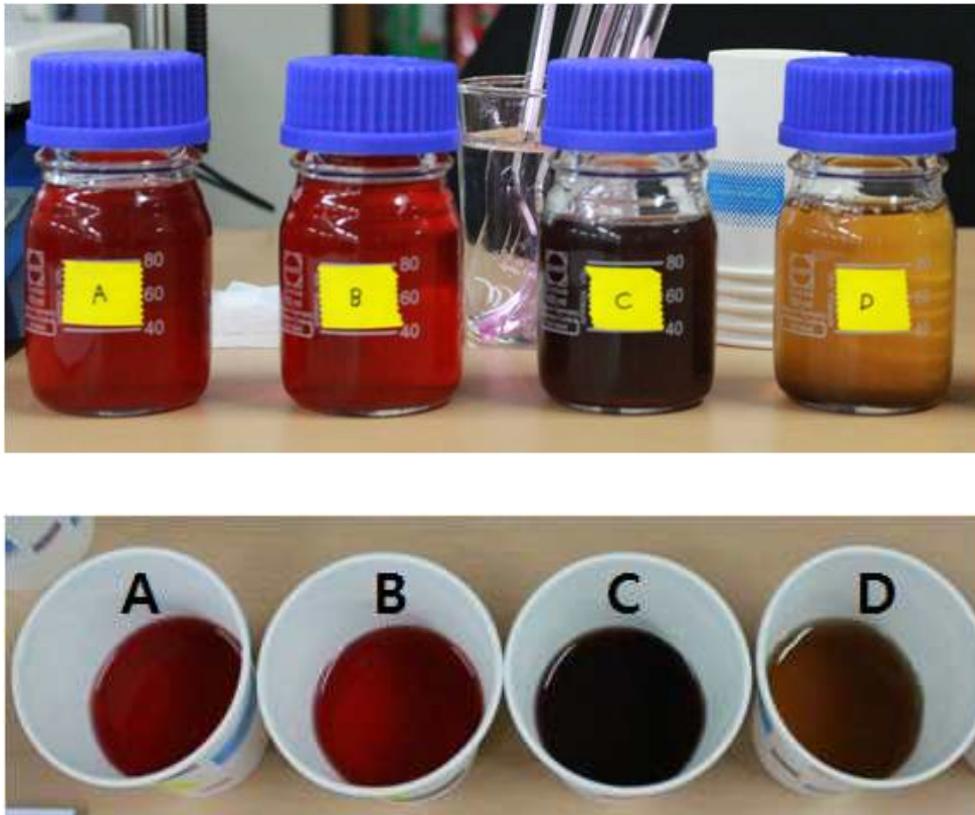


그림 28 오미자 농축액 샘플

앞서 개발된 오미자농축액을 바탕으로 오미자 특유의 신맛과 쓴맛의 보완을 위해 오미자농축액과 가장 잘 어울리는 감미제를 찾고 적절한 혼합비율을 개발하여 좀 더 업그레이드 된 자사 오미자농축액 개발을 완료하였고 타사 판매 중인 오미자농축액 제품과의 비교분석을 실시하였다. 자사 오미자농축액 시제품과 타사 오미자 농축액의 동일 시료기준 상태에서 색상, 당도, pH, 수잔드린 함량, 항산화능, 폴리페놀 함량 및 관능미 등을 비교하였다. 관능평가는 20~50대 남/여 피험자를 대상으로 5가지 항목에 대한 5점 기호척도법을 사용하여 평가하였다.

## 라. 오미자제품(티백차) 개발

### (1) 오미자티백차 개발 과정

오미자 내 쓴맛이 강한 부분인 씨를 분리하기 위하여 건과육과 씨의 분리기술을 연구하고 분쇄 및 가공조건을 달리하여 티백샘플을 제조하였다. 1차 Test로 분쇄 및 볶음 가공을 달리한 4종류의 샘플에 대한 색, 투명도, 침출속도, 맛에 대한 관능평가를 실시하였다. 2차 Test에서는 씨와 종피 및 과육의 비율을 달리하여 시료를 제작하였고 각 샘플에 대한 관능평가를 실시하여 가장 우수한 비율의 시료샘플을 선정하였다. 마지막 3차 Test에서는 선정된 우수한 시료 조건 샘플의 1티백 당 정량을 결정하기 위해 1.1g~1.5g의 총 5가지 샘플을 제작한 후 관능평가를 실시하여 정량을 결정하였다.

### (2) 자사제품과 타사제품과의 비교 실험

자사 티백제조 후 온차, 냉차, 끓임 실험과 타사제품과의 비교실험을 실시하였고, 시료는 자사 티백제품, 3군데 이상의 타사 제품이고 실험조건은 다음과 같다. 온차실험 조건은 80~90℃, 3분, 냉차실험 조건은 찬물 혹은 얼음을 4~5개 투입, 3~20분, 끓임실험 조건은 100℃이상, 3분으로 하였다.

오미자티백의 제조방법 결정과 양 결정한 것을 토대로 자사 오미자 티백제품을 제조 한 후 타사 제품과의 상품성을 비교하기 위하여 최종시음회 테스트를 진행하였다. 총 4가지 샘플에 대한 온차와 냉차실험을 실시하였고 향 생 향미 바디감 Balance, Defect 등의 6가지 항목에 대한 평가를 하였으며 5점 척도법을 사용하여 맛 시음 후 평가지를 작성하는 방식으로 진행하였다.

## 마. 오미자함유 혼합액상차(생맥산) 개발

### (1) 오미자함유 혼합액상차(생맥산) 개발 과정

오미자와 기타 약재를 혼합한 혼합액상차를 개발하기 위한 자료 조사 및 시장조사를 실시하였고 오미자의 특성에 맞는 여름철 원기회복의 기능성 액상차를 개발하려는 목적으로 실험을 진행하였다.

생맥산의 기본재료인 홍삼, 오미자, 맥문동의 비율을 결정하기 위하여 다른 시료조건을 설정하여 추출하고 동일한 birx로 통일한 후 관능평가를 실시하였다. 또한 시중에 판매되고 있는 타사제품과 비교분석을 통해 자사 시제품의 부족한 점과 보완점을 파악하였다. 생맥산의 기본재료인 3가지 외에 첨가할 수 있는 약재들을 조사한 결과 총 11가지(황기, 감초, 산수유, 대추, 인진쑥, 감잎, 진피, 박하, 계피, 오매)가 있었고 이들의 각 추출물들을 제조한 후 자사 시제품과의 적절한 배합을 통해 적절한 약재를 찾고자 하였다. 최종적으로 선정된 2타입의 혼합액상차를 개발하였고 시음회를 통해 택일하여 최종제품을 완료하였고 시생산을 실시하였다.

## 제 2 절. 연구개발 수행 결과

### 1. 오미자 추출물의 여성갱년기 증상개선 효과 규명

#### 가. 오미자추출물의 에스트로겐 활성 물질 효능 검증(in vitro)

##### (1) MCF-7 cell(breast cancer-positive cell line)에서 세포 생존율 확인

- MCF-7 Cell에서 BMO-30 추출물을 처리하여 유방암 세포 생존율을 확인하였다.
- BMO-30 추출물은 정상 유방암 세포군보다 세포생존율을 증가시키지 않았다.

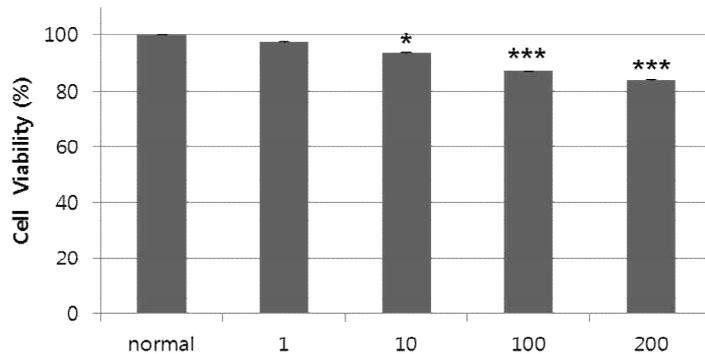


그림 29 Effects of BMO-30 Extract on MCF-7 Cell Proliferation

##### (2) MDA-MB231 cell(breast cancer-negative cell line)에서 세포 생존율 확인

- MDA-MB231 Cell에서 BMO-EF-02, EF-03, EF04, W100, E30, E70, E100 추출물을 처리하여 유방암 세포 독성 효능을 Screening하였다.
- BMO-EF-02, E70, E100 추출물을 제외한 BMO-EF-03, EF04, W100, E30 추출물이 정상 유방암 세포군보다 세포생존율을 증가시키지 않았다.

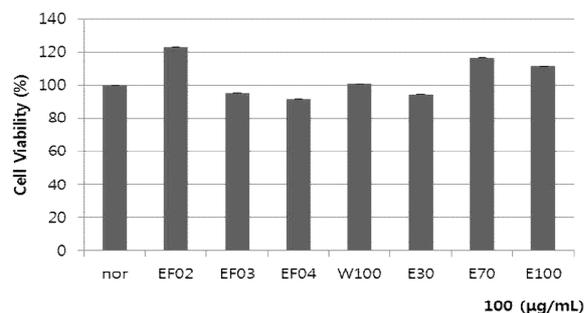


그림 30 Effects of samples on MDA-MB231 Cell proliferation

(2) MCF-7 cell(breast cancer-positive cell line)에서의 BMO-30의 농도별 Estrogen Receptor- $\alpha$  와 Estrogen Receptor- $\beta$  Expression 확인

- MCF-7 Cell에서 BMO-30을 농도별로 1, 10, 100 $\mu$ g/mL로 처리하여 Estrogen Receptor- $\alpha$ , Estrogen Receptor- $\beta$  Expression을 확인하였다.
- BMO-30 추출물은 Estrogen Receptor- $\alpha$ 의 발현을 정상대조군보다 유의성 있게 증가시켰다.
- BMO-30 추출물은 Estrogen Receptor- $\beta$ 의 발현을 정상대조군보다 유의성 있게 증가시켰다.

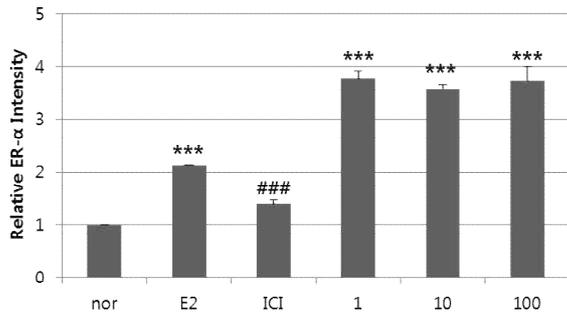


그림 31 Effects of BMO-30 Extract on Estrogen Receptor- $\alpha$  expression

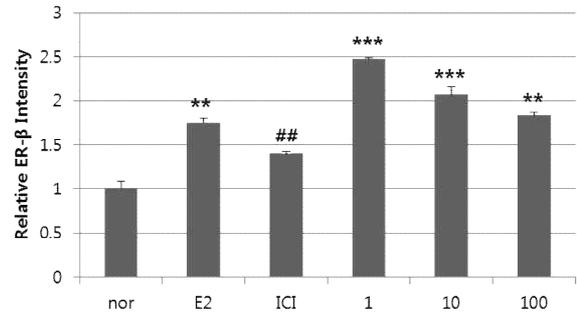


그림 32 Effects of BMO-30 Extract on Estrogen Receptor- $\beta$  expression

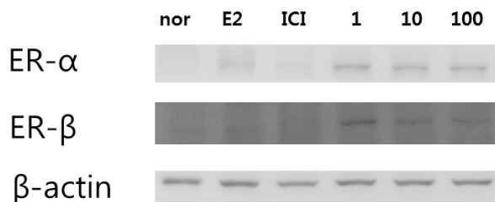


그림 33 Effects of BMO-30 Extract on Estrogen Receptor- $\alpha$ ,  $\beta$  expressions

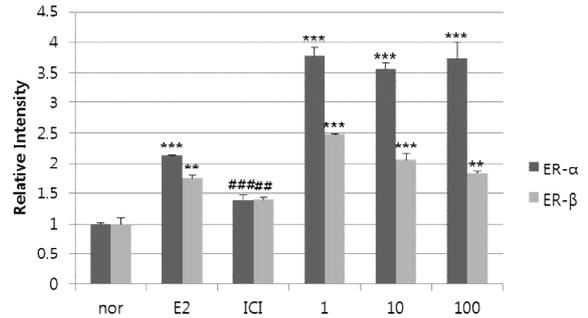


그림 34 Effects of BMO-30 Extract on Estrogen Receptor- $\alpha$ ,  $\beta$  expressions

### (3) BMO-30의 농도별 c-fos, c-Jun Expression 확인

- MCF-7 Cell에서 BMO-30을 농도별로 1, 10, 100 $\mu$ g/mL로 처리하여 c-Jun, c-fos Expression을 확인하였다.
- BMO-30 추출물은 c-Jun의 발현을 유의성 있게 감소시켰다.
- BMO-30 추출물은 c-fos의 발현을 정상대조군보다 유의성 있게 감소시켰다.
- BMO-30 추출물이 Phytoestrogen로써 작용하여 c-Jun과 c-fos의 발현을 유의성 있게 감소시켰다.

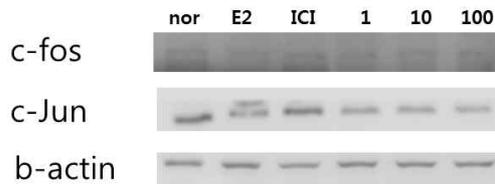


그림 35 Effects of BMO-30 Extract on c-Jun, fos expressions

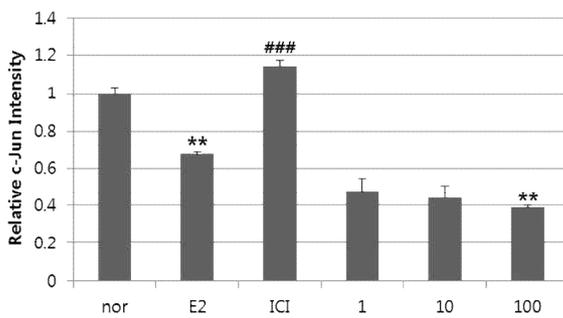


그림 36 Effects of BMO-30 Extract on c-Jun expression

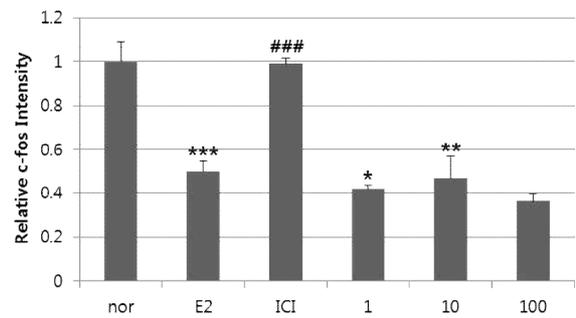


그림 37 Effects of BMO-30 Extract on c-fos expression

#### (4) BMO-30의 농도별 조골세포에서의 Phytoestrogen effect

- UMR106 Cell에서 BMO-30 추출물을 1, 10, 100, 200 $\mu$ g/mL 농도별로 처리하여 조골세포 분화 효능을 확인하였다.
- BMO-30은 모든 농도에서 유의성 있는 조골세포 분화 효능을 보였다.

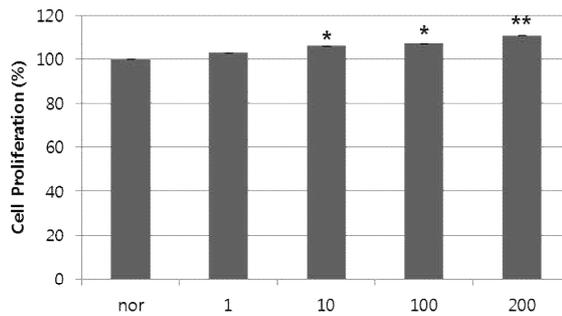


그림 38 Effects of BMO-30 extract on UMR106 Cell Proliferation

- ▶ BMO-30 추출물을 투여한 시험군과 정상군을 비교했을 경우 BMO-30 추출물 투여군은 정상군보다 양성 유방암 세포(MCF-7)와 음성 유방암 세포(MDA-MB231) 분화를 증가시키지 않았다. 또한 BMO-30 추출물은 Estrogen Receptor- $\alpha$ 와 Estrogen Receptor- $\beta$ 의 발현을 농도 의존적으로 증가시켰고 암과 관련한 인자들(c-Jun, c-fos)을 E2보다 더 유의성이 있게 감소시켰으며 조골세포의 분화에 있어서도 농도 의존적으로 분화효능을 보여주었다.
- ▶ 이상의 실험에서 BMO-30 추출물이 in vitro에서 Phytoestrogen으로써 작용함을 알 수 있었으며, 특히 선택적 에스트로겐 수용체조절제(SERM)로서 기존의 타 호르몬 대체제들이 나타내는 유방암 등 다양한 부작용에 비해 보다 안전한 호르몬 대체제로서의 개발이 가능함을 확인할 수 있게 되었다.

## 나. 오미자추출물의 에스트로겐 활성 물질 효능 검증(in vivo)

### (1) 갱년기 동물 모델에서 BMO-30의 무게 변화에 미치는 영향

#### (가) BMO-30에 의한 체중 변화

- 흰쥐의 난소적출을 통하여 갱년기 및 골다공증 동물 모델을 유발시켰다. 7주간의 회복기를 거치고 약물을 6주간 투여하였다.
- 쥐의 무게는 매주 같은 시간에 측정하고 약물 투여 6주 뒤 마지막 무게 측정 후 쥐를 희생시켰다.
- 쥐의 무게는 각 구간 통계적 차이는 없었으며 BMO-30은 체중 변화에 영향을 미치지 않았다.

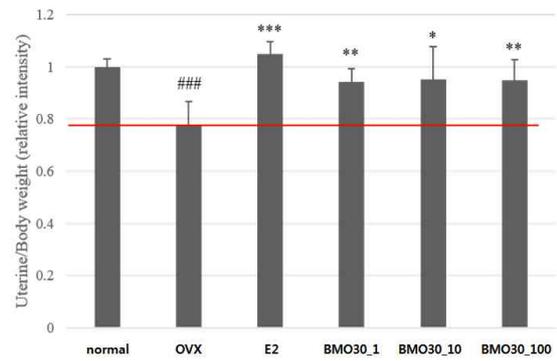
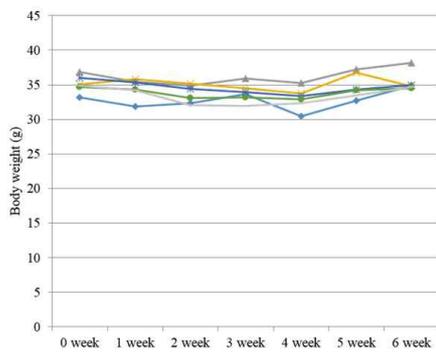


표 8 Effect of BMO-30 on body weight

	normal	OVX	E2	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
0 week	33.12±1.4	36.82±4.8	35.04±1.8	36±1.95	34.64±1.6	34.9±1.09
1 week	31.89±1.6	35.4±5.1	35.81±1.8	35.35±1.9	34.25±1.7	34.16±1.4
2 week	32.28±1	34.87±4.2	35.11±2	34.43±2.1	33.08±2	31.9±3.1
3 week	33.63±1.2	35.86±5.1	34.45±2	33.95±1.8	33.18±1.8	31.97±2.6
4 week	30.48±1.5	35.23±5.6	33.76±2.4	33.32±1.8	32.9±1.9	32.30±1.9
5 week	32.68±1.2	37.26±6.1	36.72±4.3	34.29±1.7	34.24±1.8	33.44±1.8
6 week	34.87±1.8	38.13±5.6	34.81±1.9	34.92±1.5	34.45±2.6	34.68±2.3

Results are presented as mean ±S.D.

(나) BMO-30에 의한 Uterus 변화

- mouse를 희생시키고 개복하여 Uterus를 적출하였다. 이 때 육안으로 관찰 후 무게를 달아 자궁무게 변화를 확인한다.
- 자궁무게는 정상대조군에 비하여 음성대조군에서 유의성 있게 감소하였다.
- 양성대조군인 E2군은 난소적출로 인하여 감소된 자궁무게를 증가시켰다.
- BMO-30은 음성대조군에 비하여 자궁무게를 유의성 있게 증가시켰다.
- 오미자 추출물은 체중에는 영향을 미치지 않았으나 자궁 무게를 증가시켰다.

표 9 Effect of BMO-30 on uterus weight

	normal	OVX	E2	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
Uterus/ Body weight	1±0.031	0.78±0.09 <sup>##</sup>	1.05±0.05 <sup>***</sup>	0.94±0.05 <sup>**</sup>	0.95±0.12 <sup>*</sup>	0.95±0.08 <sup>**</sup>

Results are presented as mean ±S.D. ## indicates the mean differs significantly between normal group and ovx group (p < 0.01). \*, \*\* and \*\*\* indicates that the mean differs significantly between sample group and ovx group (p < 0.05, <0.01 and < 0.001, respectively).

### (다) BMO-30에 의한 자궁 두께 변화

- 흰쥐의 난소적출 모델을 확립한 이후 6주간의 약물 투여를 통하여 자궁 조직 변화에 미치는 영향을 확인하였다.
- 자궁두께는 정상대조군에 비하여 음성대조군에서 유의성 있게 감소하였다. 양성대조군인 E2 군은 난소적출로 인하여 감소된 자궁두께를 증가시켰다.
- BMO-30은 음성대조군에 비하여 자궁두께를 약간 증가시켰다.

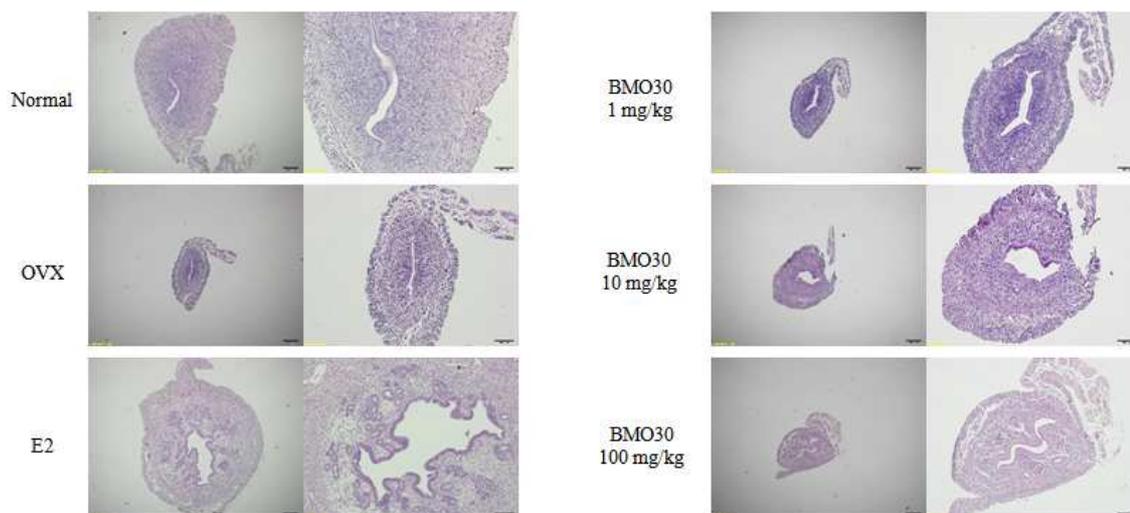


그림 39 Effect of BMO-30 on uterus thickness

▶ 그림의 세로 기준으로 동일한 배울 상태에서 확인한 바 정상군에 비하여 난소를 적출한 음성대조군인 OVX 군에서는 자궁두께가 감소됨을 확인하였고 E2를 투여한 군에서 자궁두께가 증가한 것을 볼 수 있었다. BMO-30은 시험예의 OVX 군보다는 다소 증가되는 것을 보였지만 순수 투여한 E2 시험군 만큼의 자궁 두께 증가는 나타내지는 못하였는데 이러한 결과는 약물의 투여농도와 투여기간에 따라 영향을 받을 수 있는 요인이기도 하며 난소 적출 후 체내 지질대사와 지방세포에서 유래된 다양한 분비 인자들로 인한 결과일 수 있다는 추측도 가능하다.

(2) 갱년기 동물 모델에서 BMO-30의 혈중 estradiol농도 변화

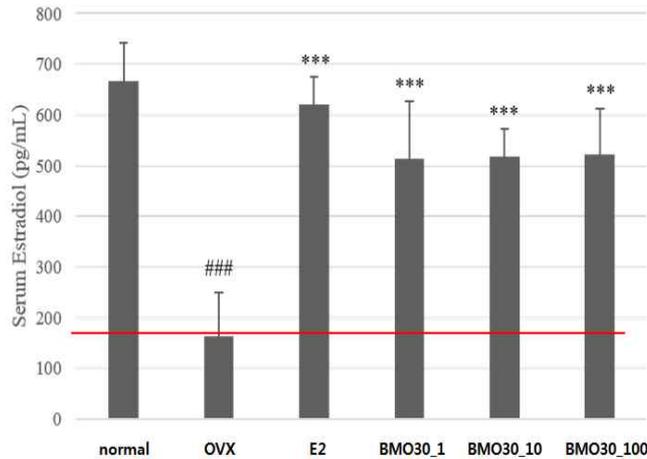


표10 Effect of BMO-30 on serum estradiol concentrations

	Normal	OVX	E2	BMO-30_1	BMO-30_10	BMO-30_100
Estradiol Concentrations (ng/mL)	666.85 ±76.36	163.90 ±85.43###	620.77 ±54.04***	513.595 ±113.19***	517.181 ±55.184***	521.91 ±89.30***

Results are presented as mean ±S.D. ### indicates the mean differs significantly between normal group and ovx group ( $p < 0.001$ ). \*\*\* indicates that the mean differs significantly between sample group and ovx group ( $p < 0.001$ ).

- 여성들이 갱년기에 겪는 여러 가지 질병 중 대부분은 혈중 estrogen함량이 낮아지기 때문이다. 그로 인해 호르몬 부족 및 결핍 정도에 따라 안면 홍조, 발한, 불안, 신경과민, 근육통, 관절통 등이 일어나며 폐경 이후 3~5년에는 비뇨 생식기 위축, 5~7년 후에는 골다공증이 나타날 수 있다.
- 심장천자로 채혈한 혈액을 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈중 estradiol 농도는 enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) 방법으로 측정하였다.
- 음성대조군인 ovx군은 정상대조군에 비하여 혈중 estradiol 농도가 유의성 있게 감소하였다.
- 양성대조군은 난소적출로 인해 감소된 혈중 estradiol 농도를 유의적으로 증가시켰다.
- BMO-30은 음성대조군에 비하여 혈중 estradiol 농도를 유의성 있게 증가시켰다.

### (3) 갱년기 동물 모델에서 BMO-30에 의한 자궁의 Estrogen receptor 발현

- BMO-30의 에스트로겐 활성을 검증하기 위하여 OVX mice에서의 Estrogen receptor- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) 와 Estrogen receptor- $\beta$  (ER- $\beta$ ) 발현량을 측정하였다.

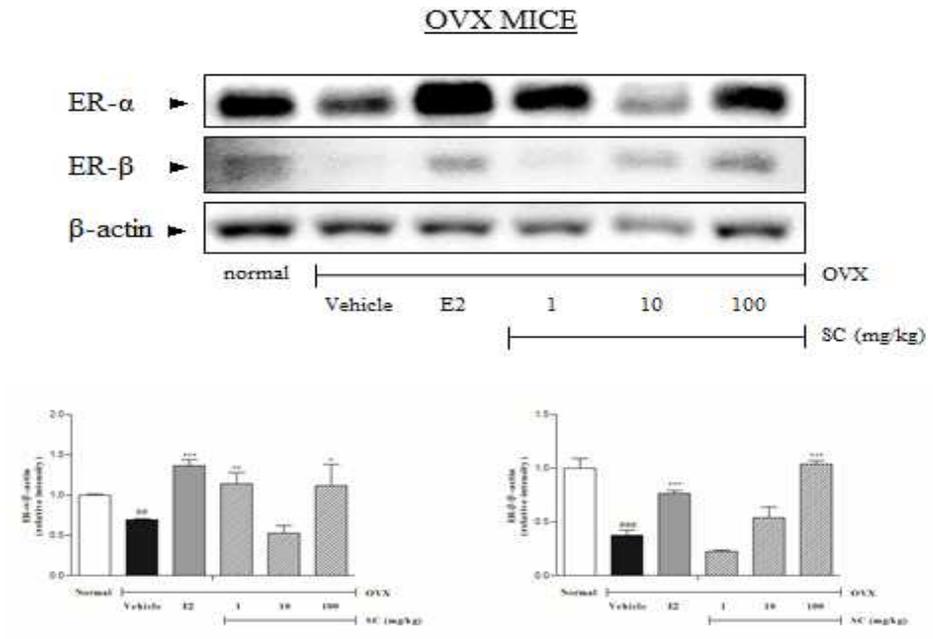


그림 40 Effect of BMO-30 on ERs expressions

- 난소적출을 한 음성대조군은 정상대조군에 비하여 Estrogen receptor- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) 와 Estrogen receptor- $\beta$  (ER- $\beta$ )의 발현이 유의적으로 감소되어 정상 유도되었음이 확인되었다.
- BMO-30(schisandra chinensis; SC)은 음성대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성 있게 ER- $\alpha$ 와 ER- $\beta$ 의 발현을 증가시켰다.

(4) 갱년기 동물 모델에서 BMO-30의 골에 미치는 영향

(가) BMO-30에 의한 골밀도(BMD) 변화

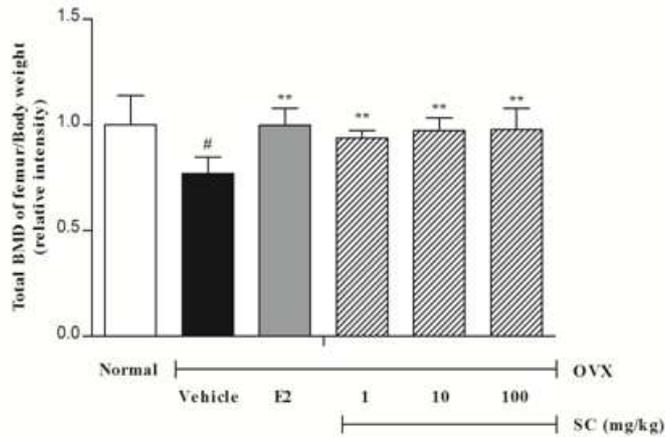


표 11 Effect of BMO-30 on bone mineral density

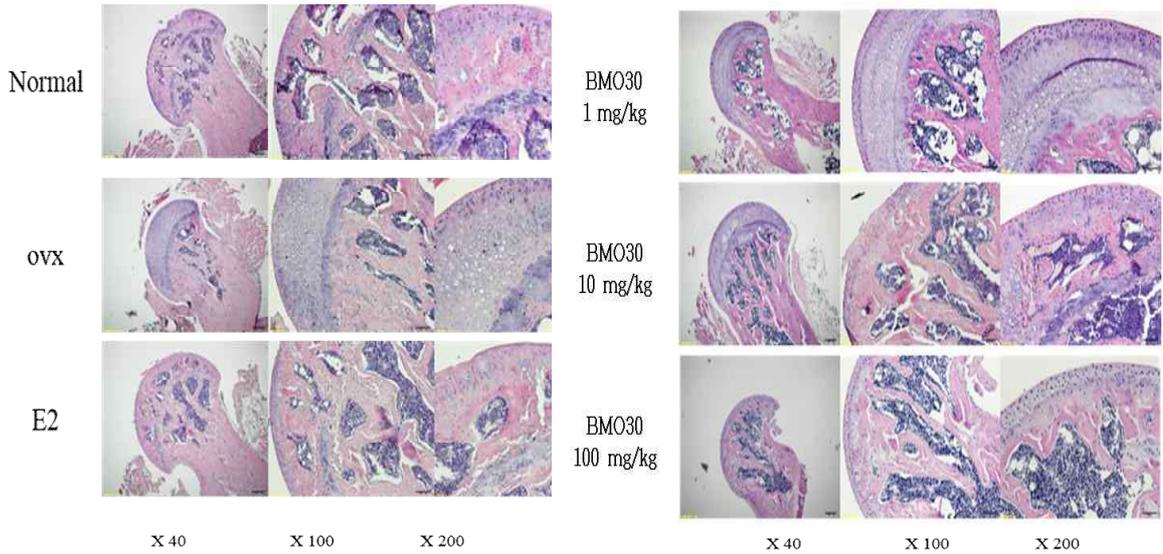
	normal	OVX	E2	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
BMD/ Body weight	1±0.14	0.77±0.08 <sup>#</sup>	0.99±0.08 <sup>**</sup>	0.94±0.03 <sup>**</sup>	0.97±0.06 <sup>**</sup>	0.98±0.1 <sup>**</sup>

Results are presented as mean ±S.D. # indicates the mean differs significantly between normal group and ovx group ( $p < 0.05$ ). \*\* indicates that the mean differs significantly between sample group and ovx group ( $p < 0.01$ ).

- 골다공증은 골격의 화학적 조성에는 변화가 없고 단위 면적당 질량이 감소되어 척추, 요골 및 대퇴부의 골절을 쉽게 초래하는 질병으로, 골대사성 질환 중에서 가장 흔하게 볼 수 있다. 골다공증의 치료는 많은 시간을 필요로 하며 골다공증 치료 목표를 달성하기 위해서는 골밀도를 골절 역치 이상으로 증가시키는 것이 매우 중요하다.
- 난소적출을 한 음성대조군은 정상대조군에 비하여 골밀도가 유의성 있게 감소되었다.
- 양성대조군인 E2군은 난소적출로 인하여 감소된 골밀도를 유의적으로 증가시켰다.
- BMO-30(*Schisandra chinensis*; SC)은 음성대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성 있게 골밀도를 증가시켰다.

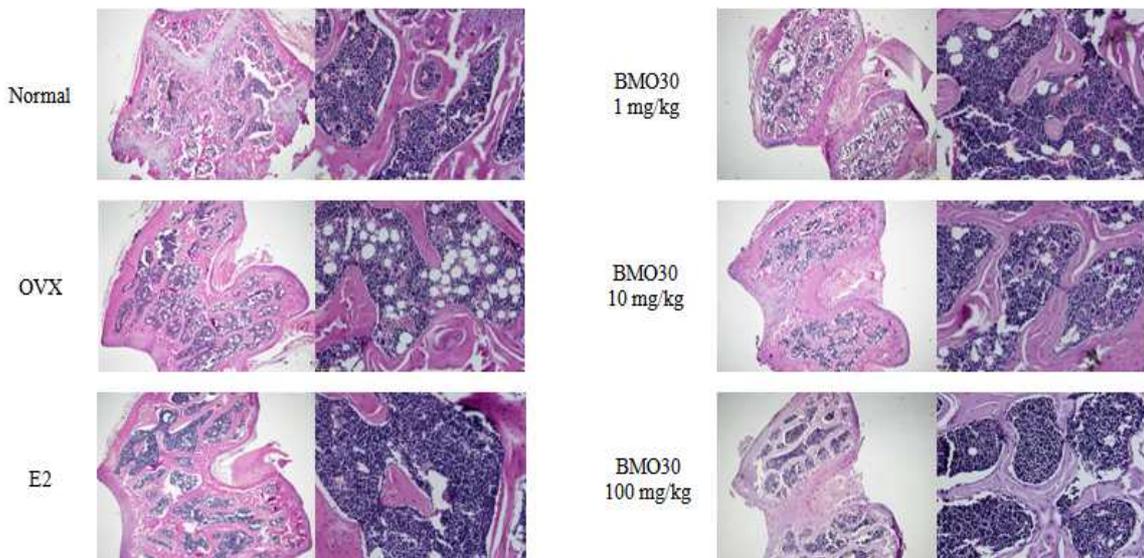
**(나) BMO-30의 Femur Head growth plate hyperplasia에 미치는 영향**

- 음성대조군은 정상대조군에 비하여 대퇴골의 head에서 성장판의 비대증이 확인되었다. 또한 골수세포가 감소되었다. 양성대조군은 음성대조군에 비하여 대퇴골 head의 성장판 비대증이 감소되어 정상수준으로 회복하였다.
- BMO-30은 10, 100mg/kg 농도에서 음성대조군에 비하여 대퇴골 head의 성장판 비대증을 감소시켰다.



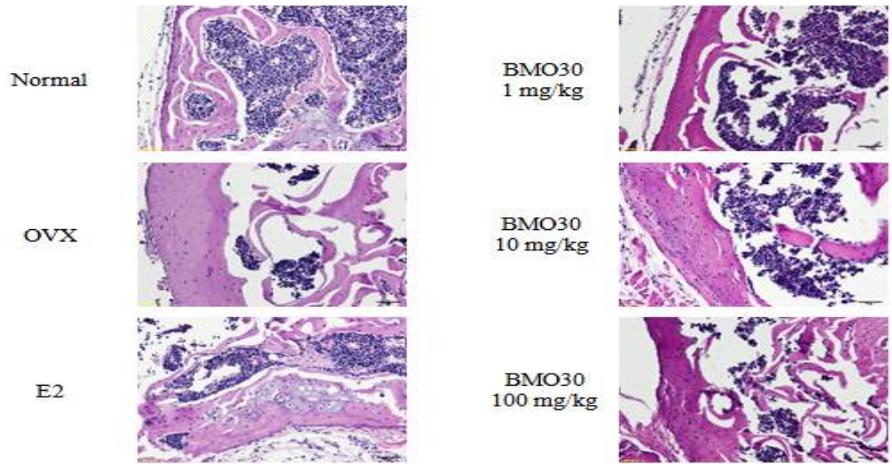
**(다) BMO-30에 의한 상완골 사이의 세포 간 구멍 변화**

- 음성대조군은 정상대조군에 비하여 상완골 사이의 세포 간 구멍이 확연하게 증가하였다. 양성대조군 E2는 음성대조군에 비하여 상완골 사이의 세포 간 구멍을 줄였으며, 정상수준으로 회복하였다.
- BMO-30은 모든 농도에서 (1, 10, 100mg/kg) 음성대조군에 비하여 상완골 사이의 세포 간 구멍을 감소시켰다.



**(라) BMO-30에 의한 골수세포 양 측정**

- 음성대조군은 정상대조군에 비하여 골수세포의 양이 유의적으로 감소하였다. 양성대조군 E2는 음성대조군에 비하여 골세포의 양을 증가시켰다.
- BMO-30은 1, 10mg/kg 농도에서 음성대조군에 비하여 골수세포의 양을 약간 증가시켰다.



**(마) BMO-30에 의한 serum osteocalcin 농도 변화**

- 음성대조군인 ovx군은 정상대조군에 비하여 혈중 osteocalcin 농도가 유의성 있게 감소하였다. 양성대조군은 난소적출로 인해 감소된 혈중 osteocalcin 농도를 유의적으로 증가시켰다.
- BMO-30(schisandra chinensis; SC)은 음성대조군에 비하여 농도 의존적으로 혈중 osteocalcin 농도를 유의성 있게 증가시켰다.

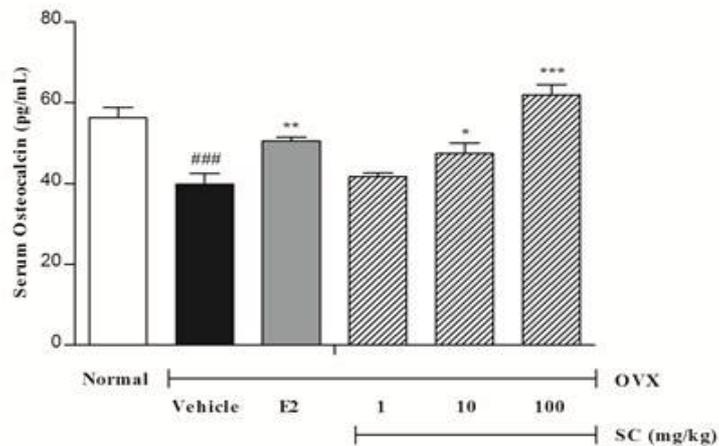


표12 Effect of BMO-30 on serum osteocalcin concentration

	normal	ovx	E2	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
Osteocalcin (pg/mL)	56.26±2.60	39.91±2.69 <sup>###</sup>	50.47±0.94 <sup>**</sup>	41.70±0.92	47.43±2.58 <sup>*</sup>	62.00±2.55 <sup>***</sup>

Results are presented as mean ±S.D. ### indicates the mean differs significantly between normal group and ovx group (p < 0.001). \*, \*\* and \*\*\* indicates that the mean differs significantly between sample group and ovx group (p < 0.05, 0.01 and < 0.001).

- ▶ 갱년기 여성들은 에스트로겐 감소와 함께 그로 인한 칼슘채널이 제대로 작동하지 않고 골 조직 내의 미네랄 부족으로 인하여 bone density가 감소하는 경향을 보인다.
- ▶ 갱년기 이후 호르몬 불균형에 의해 발생할 수 있는 골 관련 대사에 대한 검증을 위하여 OVX 모델에서 골밀도와 관련된 직·간접적인 인자들을 확인하고 분석한 결과, BMO-30은 BMD를 증가시켰고, Femur Head growth plate hyperplasia 증상을 완화시켰으며, 상완골 세포 간 구멍 크기를 줄였다. 또한 골수세포의 양을 증가시켰고 혈중 osteocalcin 농도를 유의성 있게 증가시켰다.
- ▶ 이처럼 BMO-30은 갱년기 유도 모델에서 여러 증상 중에서도 특히 골과 관련한 대사에 있어서 효과적인 것으로 확인할 수 있었다.

### (5) 갱년기 동물 모델에서 BMO-30의 Oncogene expressions 확인

- 자궁 조직에서 단백질 분석법을 이용하여 암발현(oncogene) 인자인 c-fos와 c-Jun의 발현 정도를 측정하였다.
- 양성대조군인 E2는 암발현 인자인 c-fos와 c-Jun의 발현을 유의적으로 증가시켰다.
- BMO-30(schisandra chinensis; SC)은 c-fos와 c-Jun의 발현에 영향을 미치지 않았다.

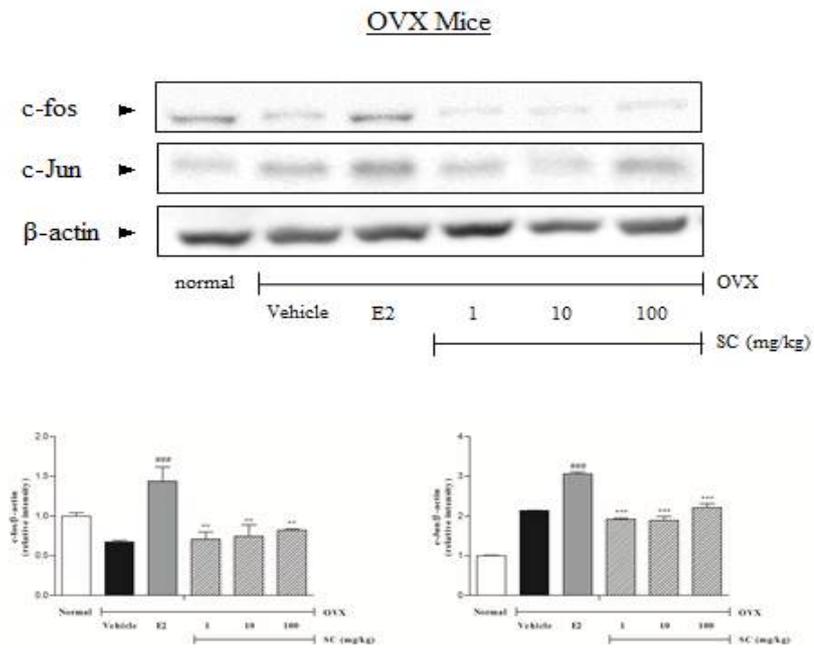


그림 41 Effect of BMO-30 on c-fos, c-Jun expressions

(6) 갱년기 동물 모델에서 BMO-30의 독성 검사

(가) BMO-30의 간독성 검사

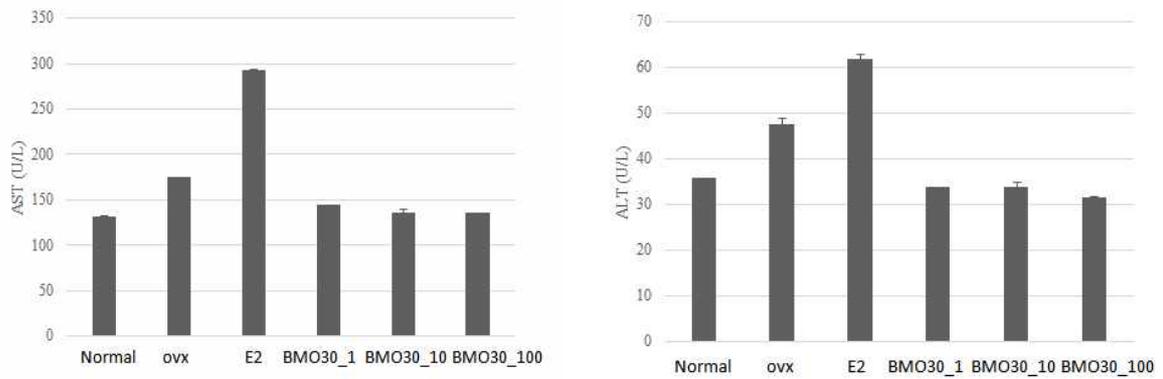


표13 Effect of BMO-30 on AST & ALT

	Normal	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
AST (U/L)	132±1	144±1	136.5±3.5	135.5±0.5
ALT (U/L)	36±1	34±1	34±1	31.5±0.5

Results are presented as mean ±S.D.

- 심장혈액에서 분리한 혈청을 IFCC법을 이용하여 간독성 지표로서 aspartate amino-transferase (AST) 및 alanine aminotransferase (ALT)를 측정하였다.
- BMO-30은 간독성의 지표물질인 AST (SGOT)와 ALT (SGPT)의 농도에 영향을 미치지 않았다.

(나) BMO-30의 신독성 검사

- BMO-30은 신독성 지표물질인 BUN (blood urea nitrogen)과 creatinine의 농도에 영향을 미치지 않았다.
- BMO-30은 혈중 독성을 나타내지 않았다.

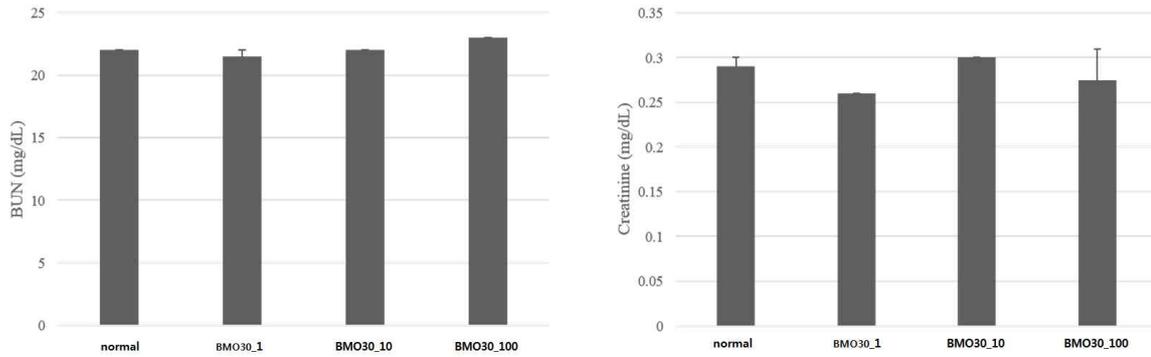


표14 Effect of BMO-30 on BUN & Creatinine

	Normal	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
BUN (mg/dL)	22±1	21.5±0.5	22±1	23±0.5
Creatinine (mg/dL)	0.29±0.01	0.26±0.01	0.3±0.01	0.275±0.035

Results are presented as mean ±S.D.

- ▶ BMO-30의 갱년기 동물모델에서의 효능을 확인하기 위해 난소를 적출하여 OVX mouse model을 확립하고 다양한 실험을 진행하였다.
- ▶ BMO-30은 OVX mouse의 체중은 증가 시키지 않으면서 자궁의 무게를 증가 시켰고, active Estrogen인 혈중 Estradiol의 양은 증가시키는 한편 Estrogen receptor- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) 와 Estrogen receptor- $\beta$  (ER- $\beta$ )의 발현량을 유의적으로 증가시켜 Phytoestrogen의 활성을 나타내는 것을 확인하였다.
- ▶ 또한 OVX model에서의 골지표 인자인 BMD를 유의적으로 증가시켰으며 Femur Head growth plate hyperplasia에서 성장판 비대증을 감소시켜 정상수준으로 회복하는 효과를 나타내었다.
- ▶ 골지표 인자인 Humerus 사이 세포 간 구멍의 변화를 관찰한 결과 갱년기 모델에서는 골세포 간 구멍이 증가하였음을 확인할 수 있었으나 BMO-30 투여군에서는 골세포 간 구멍이 감소함을 확인하였고, 골수세포의 양이 증가하였으며 혈청 내 osteocalcin 농도도 증가되었다.
- ▶ 한편 Uterus 조직에서의 oncogene 인자인 c-Jun, c-fos 등을 관찰한 결과 Estrogen을 투여한 양성대조군의 발암 인자는 유의적으로 증가하였으나 BMO-30 투여군에서는 변화가 없어 발암 인자에 영향이 없음을 확인하였다.
- ▶ 또한 AST, ALT, BUN, Creatinine 등의 안전성 지표 실험에서도 변화가 없어 안전성이 확보되었음을 확인하였다.
- ▶ 이상의 실험에서 BMO-30 추출물은 보다 안전하고 효과적인 여성 호르몬 천연물 대체제로서의 적용성과 가능성이 뚜렷함을 확인하였다.

(7) 갱년기 비만 동물모델에서 BMO-30의 지질 대사에 미치는 영향

(가) BMO-30에 의한 체중 변화

- 흰쥐에서 OVX모델을 유도시킨 후 고지방 식이를 7주간 공급하여 갱년기 비만 동물 모델을 확립한 후, 체중을 관찰 한 결과 음성대조군인 HFD+OVX군은 체중이 정상대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 양성대조군인 E2 모델에서는 체중이 감소되었다.
- BMO-30(*Schisandra chinensis*; SC)은 100 mg/kg 농도에서 음성대조군에 비하여 체중 증가 상태를 다소 감소시켰다.

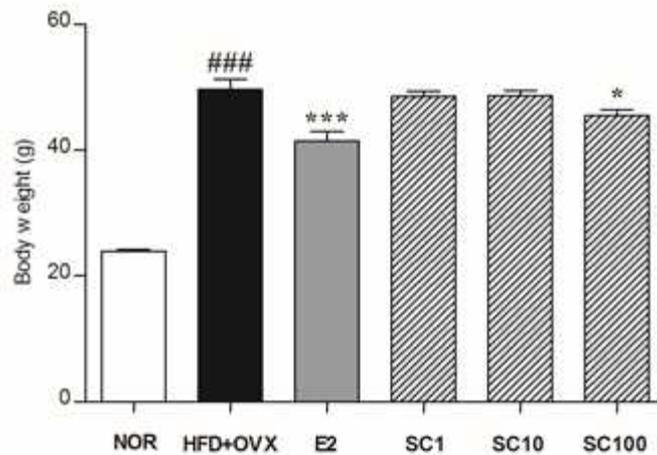


표15 Effect of BMO-30 on body weight

	normal	HFD+OVX	E2	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
Body weight (g)	23.92±0.55	49.64±3.76###	41.44±3.36***	48.58±1.75	48.68±1.65	45.46±2.07*

Results are presented as mean ±S.D. ### indicates the mean differs significantly between normal group and HFD+OVX group (p < 0.001). \* indicates that the mean differs significantly between sample group and HFD+OVX group (p < 0.05).

**(나) BMO-30에 의한 식이 섭취량의 변화**

- 정상 식이를 섭취한 정상대조군에 비하여 음성대조군은 총 식이 섭취량이 낮은 경향을 나타내었다. 에너지 섭취량도 마찬가지로 정상대조군에 비하여 음성대조군이 낮았다.
- 양성대조군인 E2와 BMO-30은 모든 농도에서 총 식이 섭취량과 에너지 섭취량의 유의적인 차이가 없었다.
- 그러나 음성대조군은 정상대조군에 비하여 식이효율이 유의적으로 증가하였다. 양성대조군은 식이효율의 증가를 유의성 있게 감소시켰다.
- BMO-30은 모든 농도 (1, 10, 100mg/kg)에서 증가된 식이효율을 농도 의존적으로 유의성 있게 감소시켰다.

표16 Effect of BMO-30 on FER

Parameter	normal	HFD+OVX	E2	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
Food intake (g/day/mouse)	2.36±0.22	2.02±0.16	1.73±0.31	2.17±0.08	2.04±0.12	2.01±0.21
Energy intake (kcal/day/mouse)	8.42±0.78	10.90±0.86 <sup>###</sup>	9.34±1.65 <sup>*</sup>	11.71±0.44	11.00±0.63	10.87±1.13
Food efficiency	-0.16±0.02	3.19±0.26 <sup>###</sup>	-1.30±0.30 <sup>***</sup>	2.15±0.08 <sup>***</sup>	2.07±0.12 <sup>***</sup>	0.55±0.06 <sup>***</sup>

Results are presented as mean ±S.D. ### indicates the mean differs significantly between normal group and HFD+OVX group (p < 0.001). \*\*\* indicates that the mean differs significantly between sample group and HFD+OVX group (p < 0.001).

(다) BMO-30에 의한 총 지방 함량 변화

- 음성대조군인 HFD+OVX군은 정상대조군에 비하여 총 지방 함량이 유의적으로 증가하였다. 양성대조군인 E2는 음성대조군에 비하여 지방 함량이 감소되었다.
- BMO-30(schisandra chinensis; SC)은 10, 100mg/kg 농도군에서 음성대조군보다는 감소되었지만 농도 의존적으로 유의성 있는 결과는 보이지 않았다.

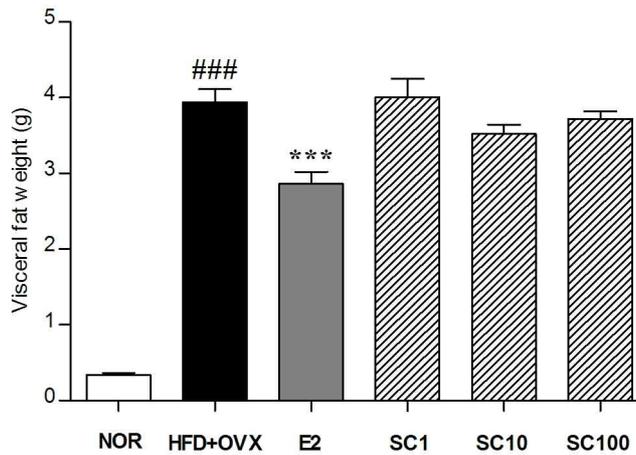


표17 Effect of BMO-30 on total visceral fat weight

	normal	HFD+OVX	E2	BMO30_1	BMO30_10	BMO30_100
Visceral fat weight (g)	0.34±0.05	3.94±0.38###	2.86±0.36***	4.00±0.56	3.52±0.27	3.72±0.22

Results are presented as mean ±S.D. ### indicates the mean differs significantly between normal group and HFD+OVX group (p < 0.001). \*\*\* indicates that the mean differs significantly between sample group and HFD+OVX group (p < 0.001).

**(라) BMO-30에 의한 지방의 조직학적 변화**

- 음성대조군은 정상대조군에 비하여 지방세포의 형태를 변형시켰고 크기를 증가시켰으며 전반적으로 조직학적 변화가 크게 나타났다.
- BMO-30 투여군에서는 100 mg/kg 농도에서 고지방 식이와 난소적출로 인해 불균형한 형태와 팽창된 지방의 조직학적 변화를 음성대조군에 비해 다소 감소되었다.

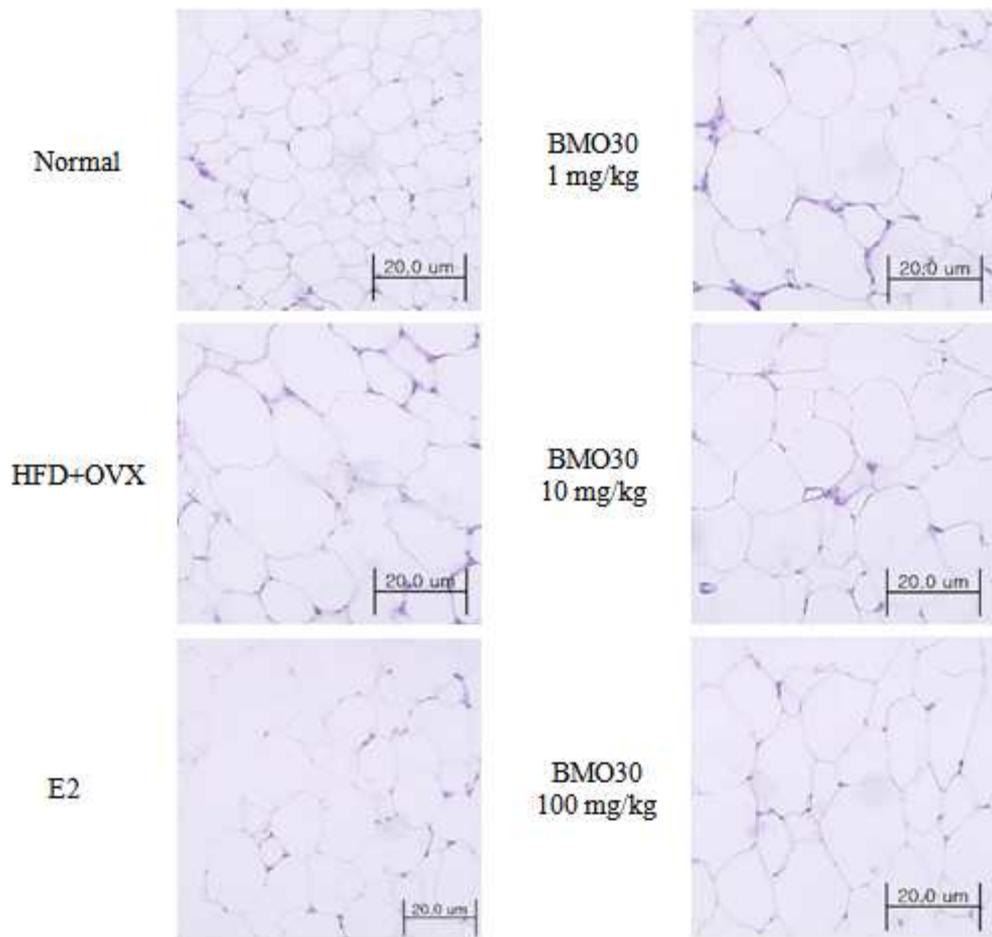
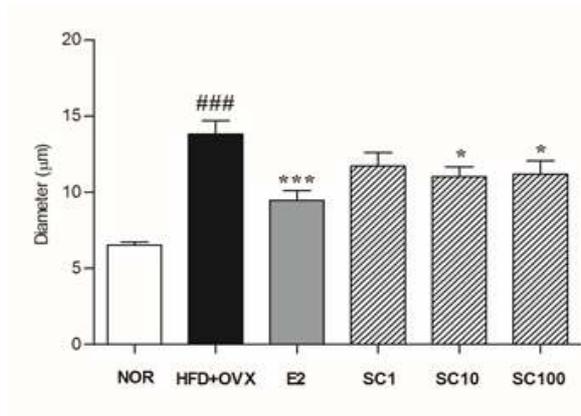


그림 42 Effect of BMO-30 on adipose tissue histology

### (마) BMO-30에 의한 지방 세포의 크기 측정

- 음성대조군인 HFD+OVX군은 조직학적 변화에서 볼 수 있듯이, 정상대조군에 비하여 지방 세포의 크기가 유의적으로 증가하였다. 양성대조군인 E2는 음성대조군에 비하여 지방 세포의 크기 증가를 감소시켰다.
- BMO-30(schisandra chinensis; SC)은 10, 100mg/kg 농도에서 음성대조군에 비하여 증가된 지방 세포의 크기를 감소시켰다.



▶ 난소를 적출한 모델에서 고지방식이의 공급을 통해 좀 더 심각한 비만을 유도하였고 체중, 식이섭취량, 식이효율 및 지방세포의 함량, 크기, 모양 등을 관찰한 결과 BMO-30은 식이효율과 지방세포의 크기 및 형태를 다소 감소시킨다는 것을 확인할 수 있었으며 이를 통해 갱년기 증상으로 동반되는 비만 및 지질대사 이상에 있어서의 효능 가능성을 보인다고 할 수 있다.

## ■ in vivo 연구 결론 및 고찰

- BMO-30의 phyto-estrogen으로서의 활성을 검증하기 위하여 난소를 적출하여 갱년기를 유발한 모델과 난소 적출 후 고지방 식이를 투여하여 비만을 유도한 모델 등 다양한 모델에서의 estrogen 활성을 검증하고자 하였다.
- 연구를 통해, 흰쥐의 난소적출로 갱년기 증상을 인위적으로 유발시킨 다음 BMO-30을 투여하여 체중, 자궁무게, 자궁벽 두께, 혈중 estradiol 농도, estrogen receptor expression, oncogene, BMD, 상완골 세포 간 구멍, 대퇴부 성장판 비대증 감소능, 골수세포 양, osteocalcin 농도 등 갱년기 관련 다양한 효과를 검증하였다.
- BMO-30 추출물은 난소적출 모델에서 유의적으로 지표를 개선하는 효과를 보임으로써 안전하면서도 효과 높은 phytoestrogen으로서의 뛰어난 효능을 가지고 있음을 확인되었다.
- 또한 난소를 적출한 후 비만을 유도한 갱년기 비만 동물모델에서 estrogen 영향 인자들과 체중, 식이섭취량, 지방함량, 지방세포 크기 등 비만인자를 확인한 결과 갱년기 비만모델에서의 지방세포 감소 변화는 실험의 특성 상 다소 작은 변화를 확인하였으나 기타 estrogen 영향인자들은 높은 개선 효과를 확인하였다.
- 따라서 오미자 추출물 BMO-30은 부작용 없으면서도 뛰어난 효능을 가진 천연물 유래의 phyto-estrogen으로서 효과적으로 작용할 수 있음을 검증할 수 있게 되었다.

## 2. 오미자 추출물의 안전성 연구

### 가. 유해물질 분석 결과

#### (1) 중금속 분석결과

오미자추출물 원료의 중금속 실험을 진행한 결과, 납 최대 0.0683mg/kg, 카드뮴 최대 0.0072mg/kg, 총비소 최대 0.0141mg/kg로 검출되었고 총수은은 불검출로 확인 되었다. 원료에서 발생할 수 있는 오차, 원료의 1일 최대섭취량, 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에서 제안하고 있는 중금속 기준(상한값)을 고려하여 안전성에 문제가 없도록 설정하고자 하였으며, 그 결과 납, 카드뮴, 총비소, 총수은은 1.0mg/kg 이하로 설정하였다.

시 험 항 목		Lot 1	Lot 2	Lot 3
중금속	납(mg/kg)	0.0683	0.0617	0.0636
	카드뮴(mg/kg)	0.0072	0.0047	0.0034
	총비소(mg/kg)	0.0141	0.0113	0.0101
	총수은(mg/kg)	불검출	0.001	불검출

#### (2) 미생물 분석 결과

대장균군은 실험결과 모든 원료에서 음성임이 확인되었고, 세균수도 실험결과 모든 원료에서 불검출로 확인되었다. 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에 따라 대장균군과 세균수의 규격을 음성 및 불검출로 설정하였다.

시 험 항 목		Lot 1	Lot 2	Lot 3
미생물	대장균군	음성	음성	음성
	세균수	불검출	불검출	불검출

#### (3) 잔류농약 분석 결과

잔류농약은 건강기능식품 기능성 원료 인정에 관한 규정에 의거하여 규격으로 설정하지는 않지만 시험결과를 제출하여야 하는 항목으로 「식품의 기준 및 규격」에 원재료에 대한 농약의 잔류허용기준이 있는 경우에는 「수입식품등검사지침」(제 2012-132호) 별표 3.1. 동시다분석 검사대상: 59종에 대하여 분석하여야 한다. 또한 식품으로 섭취 이력이 있거나 잔류농약이 오염될 수 있다고 판단되면 원재료에 대한 잔류허용기준이 없다 하여도 정밀검사항목 59종을 분석하여야 한다. 오미자추출물 원료의 원재료인 오미자의 경우 원재료에 대한 기준이 있고 식품 원료로서 섭취하고 있어 정밀검사 항목 59종에 대하여 분석하였다. 분석결과 정밀검사항목(59종)이 모두 불검출로 확인되었다.

표 18 잔류농약 시험항목 및 시험방법

시 험 항 목	시 험 방 법
Atrazine, BHC, Bifenthrin, Captan, Chlorfenapyr, Chlorothalonil, Chlorpyrifos, Chlorpyrifos-methyl, Cyhalothrin, Cypermethrin, Cyprodinil, DDT, Diazinon, Dichlorvos, Dicofol, Endosulfan, Ethion, Fenarimol, Fenitrothion, Fenpropathrin, Fenvalerate, Fludioxonil, Imazalil, Iprodione, Iprovalicarb, Isoprothiolane, Malathion, Methidathion, Paclbutrazol, Parathion, Parathion-methyl, Permethrin, Phenthoate, Phosmet, Pirimicarb, Pirimiphos-methyl, Prochloraz, Procymidone, Profenofos, Quintozene, Tolclofos-methyl, Triadimefon, Triazophos, Triflumizole, Triflumuron	식품공전 제10.일반시험법 4.식품 중 잔류농약 분석법 4.1.2 다중농약다성분 분석법 4.1.2.2 다중농약다성분-제2법
Acetamidid, Azoxystrobin, Boscalid, Carbaryl, Carbofuran, Fenhexamid, Flufenoxuron, Hexaflmuron, Methomyl, Methoxyfenozide, Pyraclostrobin, Pyrimethanil, Thiamethoxam, Flubendiamide	식품공전 제10.일반시험법 4.식품 중 잔류농약 분석법 4.1.2 다중농약다성분 분석법 4.1.2.2 다중농약다성분 분석법

시 험 항 목	분 석 결 과	시 험 항 목	분 석 결 과
BHC	불검출	Phenthoate	불검출
Bifenthrin	불검출	Phosmet	불검출
Cabofuran	불검출	Pirimicarb	불검출
Chlorfenapyr	불검출	Procymidone	불검출
Chlorothalonil	불검출	Quintozene	불검출
Chlorpyrifos	불검출	Triadimefon	불검출
Chlorpyrifos-methyl	불검출	Triflumizole	불검출
Cyhalothrin	불검출	Triazophos	불검출
Cypermethrin	불검출	Prochloraz	불검출
Cyprodinil	불검출	Methoxyfenozide	불검출
DDT	불검출	Boscalid	불검출
Diazinon	불검출	Acetamidid	불검출
Dichlorvos	불검출	Azoxystrobin	불검출
Dicofol	불검출	Atrazine	불검출
Endosulfan	불검출	Ethion	불검출
Fenarimol	불검출	Iprovalicarb	불검출
Fenitrothion	불검출	Carbaryl	불검출
Fenpropathrin	불검출	Captan	불검출
Fenvalerate	불검출	Tolclofos-methyl	불검출
Fludioxonil	불검출	Triflumuron	불검출
Imazalil	불검출	Thiamethoxam	불검출
Iprodione	불검출	Fenhexamid	불검출
Isoprothiolane	불검출	Profenofos	불검출
Malathion	불검출	Flubendiamide	불검출
Methomyl	불검출	Flufenoxuron	불검출
Methidathion	불검출	Pyraclostrobin	불검출
Paclbutrazol	불검출	Pyrimethanil	불검출
Parathion	불검출	Pirimiphos-methyl	불검출
Parathion-methyl	불검출	Hexaflmuron	불검출
Permethrin	불검출		

(4) 영양성분 분석 결과

영양성분 10가지에 대한 분석 결과 값은 아래와 같다.

시 험 항 목	시 험 방 법	결 과
열량 (Kcal/100g)	식품공전 제 10.일반시험법 1.일반성분시험법 )열량의 계산	213.62
탄수화물(%)	식품공전 제10.일반시험법 1.일반성분시험법 5)탄수화물	52.09
조단백질(%)	AOAC OFFICIAL METHOD 991.20	2.30
조지방(%)	식품공전 제10.일반시험법 1.일반성분시험법 4)지질 (1)조지방	0.86
수분(%)	식품공전 제10.일반시험법 1.일반성분시험법 1)수분	40.62
회분(%)	식품공전 제10.일반시험법 1.일반성분시험법 2)회분	4.13
나트륨 (mg/100g)	식품공전 제10.일반시험법 11.미량영양성분시험법 1) 무기성분	34.16
총식이섬유(%)	식품공전 제10. 일반시험법 1.식품성분시험법 1.1 일반성분시험법 1.1.4 탄수화물 1.1.4.3 식이섬유	1.90
수용성식이섬유 (%)	식품공전 제10. 일반시험법 1.식품성분시험법 1.1 일반성분시험법 1.1.4 탄수화물 1.1.4.3 식이섬유	4.81
불용성식이섬유 (%)	식품공전 제10. 일반시험법 1. 식품성분시험법 1.1 일반성분시험법 1.1.4 탄수화물 1.1.4.3 식이섬유	1.03

### 3. 오미자 추출물 원료 표준화

#### 가. 오미자 추출물 내 지표성분 분석 결과

표준용액 분석 결과 gomisins N의 peak가 약 32~34분대에 나타났으며, 시험용액에서도 동일한 시간대에 peak가 나타났다. 분석하는데 사용한 컬럼은 Shiseido Capcell PAK C18 MG (4.6mm x 250mm, 5 $\mu$ m)이었다. 표준용액과 시험용액의 크로마토그램은 아래와 같다.

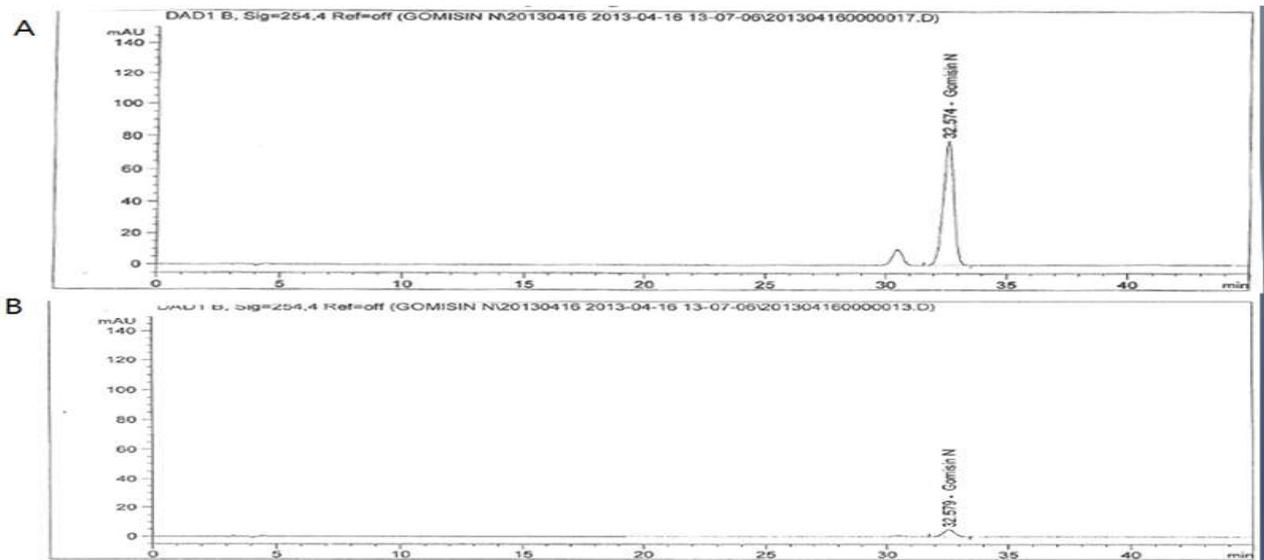


그림 43 표준용액과 시험용액의 크로마토그램

A: Gomisins N standard, B: Sample (Schisandra Fruit extract)

(1) 반복성 확인

표준용액은 표준물질을 약 3.5 mg/5 ml(700ppm)로 조제 후 이를 적절히 희석하여 기기분석 하였다. 그 결과 6.25~100 ppm에서 직선성이 나타남이 확인되었다. ( $R^2=0.999$ )

표19 반복성 실험 중 표준용액 분석 결과 및 검량선 결과

STD level	농도 ( $\mu\text{g/ml}$ )	Area	검량선 결과
1	6.25	152.20430	
2	12.5	301.49863	
3	25	611.45728	
4	50	1209.52710	
5	100	2435.02710	

표20 반복성 실험 결과

	시험용액 농도( $\mu\text{g/ml}$ )	채취량 (mg)	용액량 (ml)	희석 배수	표준품 순도	Gomisins N (mg/g)
1st-1	7.22617	542.9	50	1	0.875	0.580

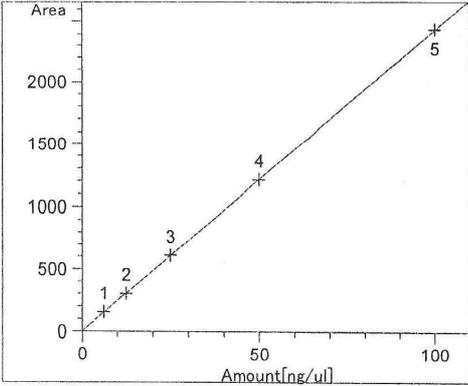
1st-2	7.85139	596.7	50	1	0.875	0.580
1st-3	7.40929	578.9	50	1	0.875	0.560
mean±SD(mg/g)						0.573±0.01

시료의 전처리는 대한약전 방법에 준하여 진행하였으며, 같은 시료량에 따른 함량 편차 여부를 확인하기 위해 시료채취량을 약 500mg으로 하여 3반복 실험을 진행하였다. 그 결과 같은 시료량에 따른 유의적인 편차는 나타나지 않았으며, 시료 중 gomisin N의 함량은 0.573±0.01mg/g이었다.

### (2) 직선성 확인

표준용액은 표준물질을 약 3.5 mg/5 ml(dir 700ppm)로 조제 후 이를 적절히 희석하여 기기분석 하였다. 그 결과 6.25~100 ppm에서 직선성이 나타남이 확인되었다( $R^2=0.999$ ).

표21 직선성 실험 중 표준용액 분석 결과 및 검량선 결과

STD level	농도 ( $\mu\text{g/ml}$ )	Area	검량선 결과
1	6.25	152.20430	
2	12.5	301.49863	
3	25	611.45728	
4	50	1209.52710	
5	100	2435.02710	

### (3) 재현성 확인

시료 중 gomisin N의 정량에 따른 실험의 재현성을 확인하기 위하여, 다른 날짜에 실험한 반복성 실험 중 100%에 해당하는 시료량인 500mg을 취하여 3반복 실험하여 실험의 재현성을 확인하였다.

표22 재현성 실험 결과

시험용액 농도( $\mu\text{g/ml}$ )	채취량 (mg)	용액량 (ml)	희석 배수	표준품 순도	Gomisin N (mg/g)
--------------------------------	-------------	-------------	----------	-----------	---------------------

1st-1	7.22617	542.9	50	1	0.875	0.580
1st-2	7.85139	596.7	50	1	0.875	0.580
1st-3	7.40929	578.9	50	1	0.875	0.560
mean±SD(mg/g)						0.573±0.01

전체 분석값(반복성, 직선성, 재현성)의 평균과 표준편차는 0.573±0.01mg/g으로 일자간의 차이도 거의 없는 것으로 확인되었다.

### 나. 오미자 추출물에 대한 기준규격 설정

기능/지표성분의 규격은 분석오차를 고려하여 표시하고자 하는 값에 대한 하한치와 상한치를 백분율로 설정한다. 일반적으로 추출물의 경우는 표시량의 80~120%를 원칙으로 하나 천연물의 경우 원료 Lot 별 기능/지표물질의 함량 편차가 커서 여러 Lot의 분석 데이터를 근거로 규격 함량을 달리 설정할 수 있다. 오미자추출물 원료 중 gomisin N 함량은 설정한 시험방법으로 분석하였으며, 오미자추출물 원료의 3 Lot에 대한 3반복 데이터를 분석하여 기능/지표물질의 기준규격을 아래와 같이 제안하였다.

오미자추출물 원료의 기준 규격을 설정하기 위하여 3 Lot를 각각 3반복 분석한 결과(Table 6)를 토대로 gomisin N의 함량 범위를 구하였다. 3 Lot의 원료간 gomisin N의 함량은 두 Lot는 편차가 거의 없게 나타났다.

기능/지표물질의 기준규격은 SPSS(Statistical Package for Social Science 15.0) One-way ANOVA를 이용하여 각 Lot 간의 평균값(mean), 표준편차(SD, standard deviation), 표준오차(SE, standard error), 최소값, 최대값, 95% 신뢰구간에서의 상한치(upper bound)와 하한치(lower bound)를 구하여 모두 포함할 수 있는 규격으로 설정하는 것이 원칙이나, 오미자추출물의 경우 gomisin N의 함량 편차가 크기 때문에 일반적인 방법으로 기준규격을 설정하기에는 무리가 있었다. 따라서 전체 평균±SD, 평균의 80~120%를 고려하여 기준규격을 0.458 ~ 0.687 mg/g으로 제안하였다.

표 23 Lot 별 gomisin N의 함량 분석결과

	Lot No.	Lot 1	Lot 2	Lot 3	규격
	반복수				
Gomisin N 함량 (mg/g)	1	0.5823	0.5762	0.5602	0.458 ~ 0.687
	2	0.5801	0.5757	0.5611	
	3	0.5815	0.5753	0.5600	
	평균	0.5813	0.5757	0.5604	

## 4. 여성갱년기 증상 개선 인체적용시험

### 가. 인체적용시험 개요

본 인체적용시험은 오미자추출물인 BMO-30을 섭취한 갱년기 여성을 대상으로 hot flush, vaginal dryness, sleep disorder, mental awareness problem, joint pain, dyspepsia, urinary incontinence 및 fatigue 등 폐경전후 여성의 갱년기 증상의 개선을 평가하는 것을 목적으로 하고 있다.

#### (1) 임상 수행기관

- 명칭 : 성균관대학교 의과대학 강북삼성병원
- 주소 : 서울특별시 종로구 새문안로 29
- 연구책임자 : 산부인과(과장) 교수 김계현

#### (2) 시험식품 정보

- 1 정당 400mg의 적갈색 코팅 정제.
- 시험식품과 대조식품의 외형과 색상은 동일하여 구분이 불가하게 하였음.
- 1일 2회, 1회당 2정씩. 총 12주간 섭취

#### (3) 인체적용시험 연구대상자 모집

- 포스터 광고 및 전단을 이용하여 자발적 참여자 모집.
- 사전 kuffermann index review를 통하여 대상자 선별.

국내산 천연추출물 "BMO-30"의

**여성 갱년기 증상개선 효과에 대한  
인체적용시험**

**■ 개요**  
강북삼성병원에서 [국내산 식물성 천연추출물의 여성갱년기 증상 개선 효과]를 검증하기 위해 지원자를 모집합니다.

**■ 기간**  
2014년 1월부터 경쟁적 접수 00명

**■ 대상**  
40세 이상 70세 이하의 갱년기증상을 동반하는 여성  
(Kupperman index 15점 미만인 자는 대상에서 제외됩니다)

**■ 방법**  
시험식품(BMO-30:천연제제)과 대조식품(시험성분이 아닌 기타식품 원료로 채워진 제제)을 각 12주 동안 1일 2회 복용하며 복용 전후에 갱년기 평가지수 설문검사 및 혈액 검사를 실시하게 됩니다. 대상자로 선정되신 분들은 시험식품을 복용하는 군과 대조식품을 복용하는 군으로 무작위 배정됩니다. 연구 기간 동안 총 3회 병원을 방문하게 됩니다.

**■ 참가시 제공**  
기본적인 혈액검사와 갱년기 평가지수 설문검사를 받게 되며, 방문 시마다 30,000원의 교통비를 지급합니다.

참여를 원하시는 분은  
평일 오전 9시~오후 5시에 아래 문의처로 전화주시면 상세한 상담을 받을 수 있습니다.

시험 책임자 : 강북삼성병원 산부인과 김계현 교수  
문의처 : 02)2001-2188-9

그림 44 연구대상자 모집광고문

## 나. 사전 동질성 분석 결과

연구 시작 시 시험식품과 대조식품을 섭취한 그룹 간의 기본적인 검사항목에 대한 사전 동질성 분석을 위하여 independent t-test를 실시한 결과, 두 그룹 간에는 나이, BMI, 혈압(수축기, 이완기)의 4가지 항목에 대해 동질한 것으로 나타났다( $p>.05$ ). 유효평가 변수에 대한 동질성 검정 결과 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 동질한 것으로 드러났다( $p>.05$ ). 혈액검사 항목에 대한 동질성 검정 결과 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 동질한 것으로 드러났다( $p>.05$ ).

표24 집단간 동질성

	대조식품	시험식품	t	p
나이	51.92± 3.88	51.50± 5.95	.217	.830
BMI	23.34± 2.31	24.35± 2.27	-1.150	.261
혈압(수축기)	121.39±10.44	125.64±19.70	-.694	.494
혈압(이완기)	71.85±5.87	70.07±9.75	.567	.575

표25 유효평가 변수 동질성

	대조식품	시험식품	t	p
KI 점수	29.85±8.14	28.00±7.50	.613	.545
MRS(성적)	0.46±0.78	0.21±0.43	1.015	.323
MRS(배뇨)	0.77±0.93	0.79±0.89	-.047	.963

표26 혈액검사 동질성

	대조식품	시험식품	t	p
WBC	5.93± 1.20	6.42± 1.63	-.885	.385
RBC	4.38± 0.29	4.16± 0.29	1.962	.061
PLT	247.77±64.03	278.00±61.31	-1.253	.222
Hb	13.18± 0.65	13.15± 0.74	.100	.921
Hct	38.75± 1.91	38.28± 2.11	.603	.552
T-protein	6.98± 0.27	7.08± 0.37	-.745	.463
Albumin	4.40± 0.21	4.52± 0.15	-1.758	.091
ALT	18.38± 7.48	15.29± 5.09	1.267	.217
AST	20.08± 4.79	18.64± 3.82	.864	.396
BUN	13.61± 3.53	16.20± 4.71	-1.610	.120
Cr	0.61± 0.05	0.61± 0.16	.060	.953

TC	184.38±27.83	191.50±27.99	-.662	.514
TG	138.69±56.47	161.79±81.65	-.848	.404
HDL	56.77±13.98	52.21±11.33	.933	.360
LDL	118.92±23.35	126.79±28.12	-.787	.439
Ca	9.34± 0.26	9.42± 0.24	-.858	.399
P	5.95± 8.13	3.66± 0.38	1.017	.329
TSH	2.20± 0.89	2.04± 0.87	.468	.644
T3	1.48± 0.74	1.37± 0.61	.412	.684
Free T4	1.10± 0.13	1.08± 0.12	.257	.799
FSH	56.07±31.52	51.94±29.52	.352	.728
s-CTx	0.21± 0.12	0.22± 0.12	-.272	.788
Osteocalcin	16.39± 6.32	15.25± 6.54	.463	.648

## 다. 유효성 분석 결과

### (1) 설문검사(KI, MRS) 결과

시험식품의 효과를 알아보기 위하여 Kupperman Index의 시간의 흐름에 따른 변화와 그룹간의 변화에 대한 반복측정 분산분석을 실시한 결과, 시간의 흐름( $p < .001$ )에 따라 Kupperman Index는 유의하게 감소하는 것으로 나타났고 효과를 검정하는 상호작용 효과(Interaction effect)도 유의하게 나타났다( $p < .05$ ).

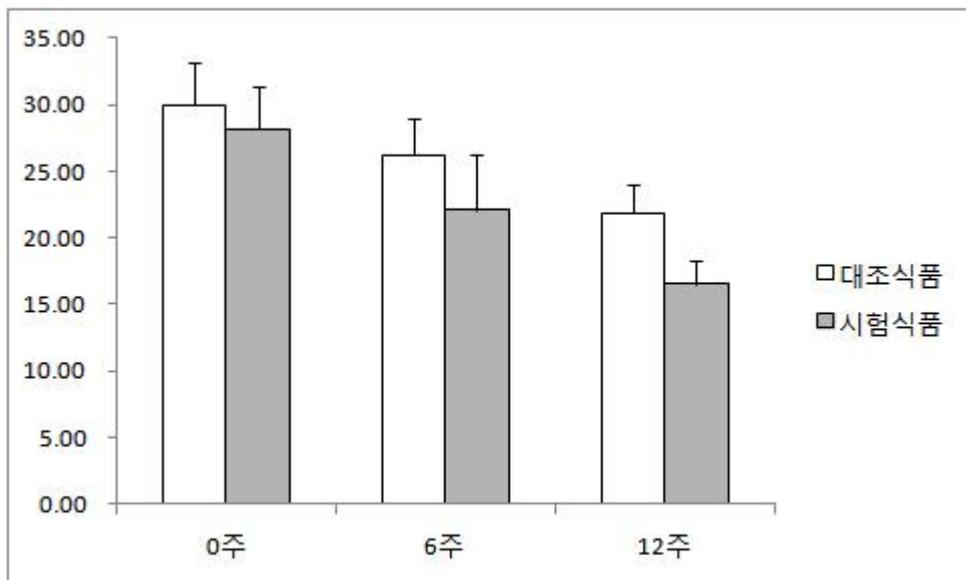


그림 45 Kupperman index 변화

MSR 성적 변화에 미치는 영향에 대한 분석을 실시한 결과 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. MSR 배뇨 변화에 미치는 영향에 대한 분석을 실시한 결과 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

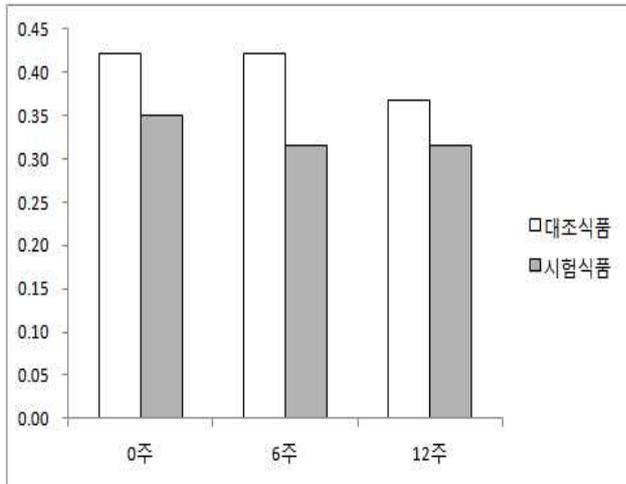


그림 46 MRS(성적문제) 점수 변화

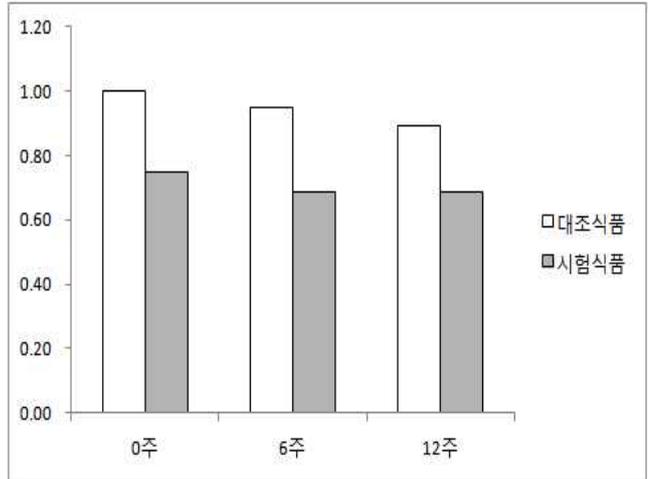


그림 47 MRS(배뇨문제) 점수 변화

아래 그래프는 Kupperman index의 개별적인 11가지 항목에 대한 대조식품과 시험식품 간의 차이와 시간의 흐름에 따른 변화추이를 나타내었다. 각 항목에 대한 분석 결과, 가슴두근거림 ( $p=.027<.05$ )의 상호작용 효과가 유의한 것으로 나타났으며, 시험식품군의 가슴 두근거림은 1.10에서 6주후 0.79로 감소하였으며, 12주후에 다시 0.47로 다시 감소하는 것으로 나타나 대조식품군보다 가슴 두근거림이 감소하는 효과가 있는 것으로 나타났다. 또한 안면홍조, 진땀, 불면증, 신경과민, 우울증 항목에서 시험식품을 섭취한 군에서 시간의 흐름에 따라 유의적인 감소를 나타내었다.

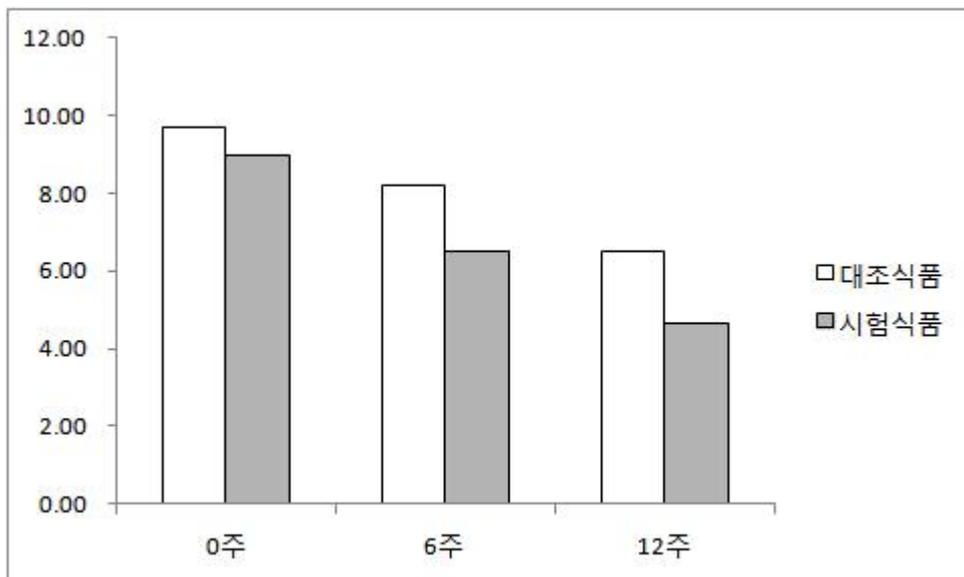


그림 48 KI(안면홍조)에 대한 변화

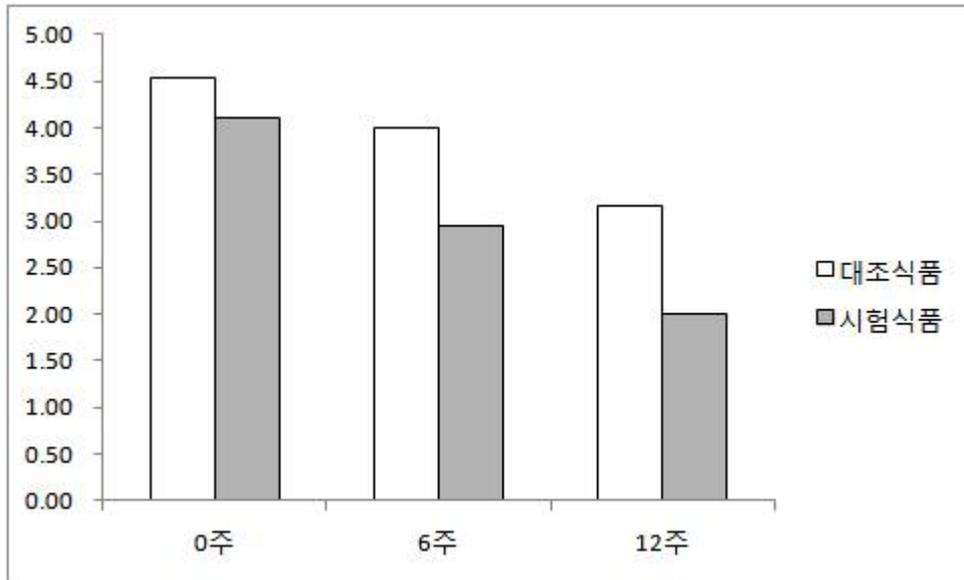


그림 49 KI(진땀)에 대한 변화

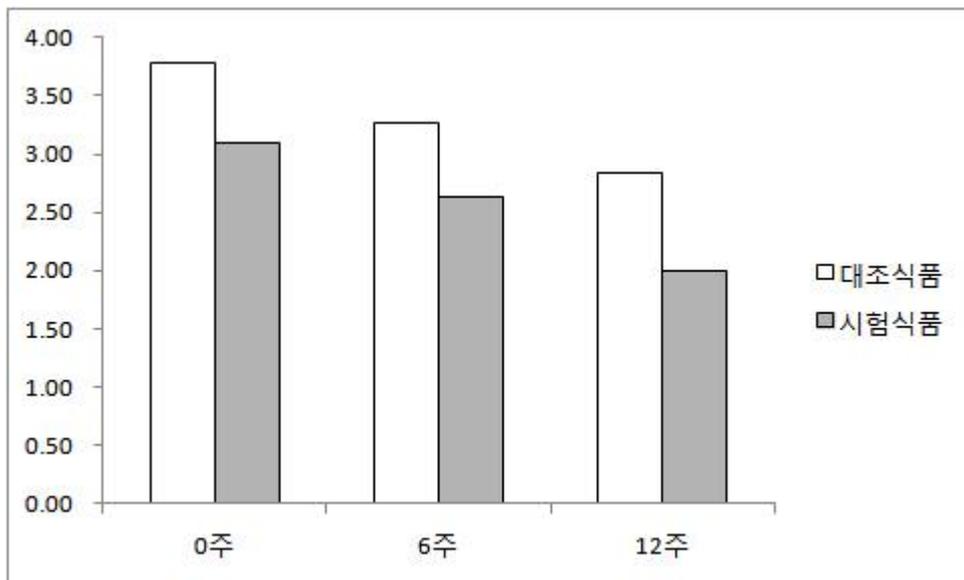


그림 50 KI(불면증)에 대한 변화

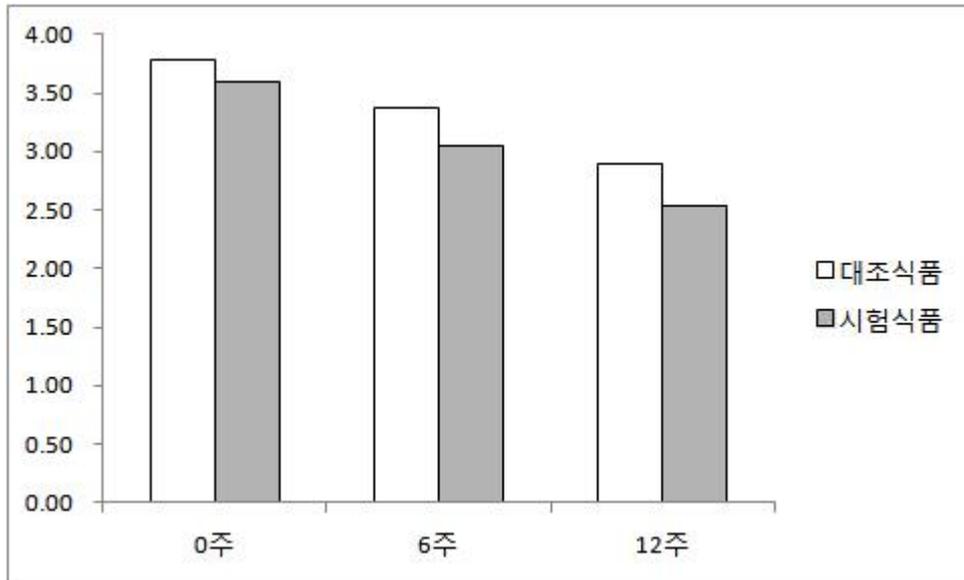


그림 51 KI(신경과민)에 대한 변화

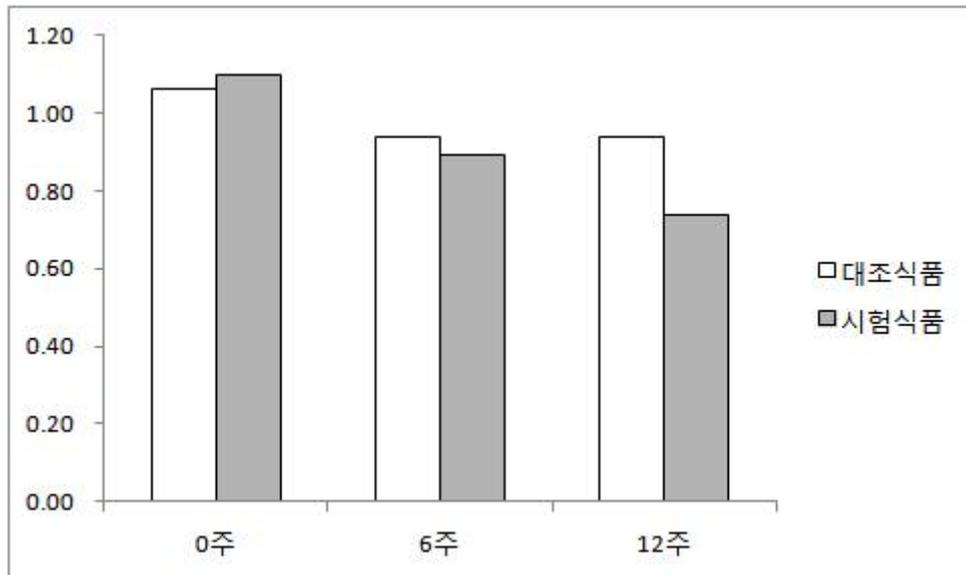


그림 52 KI(우울증)에 대한 변화

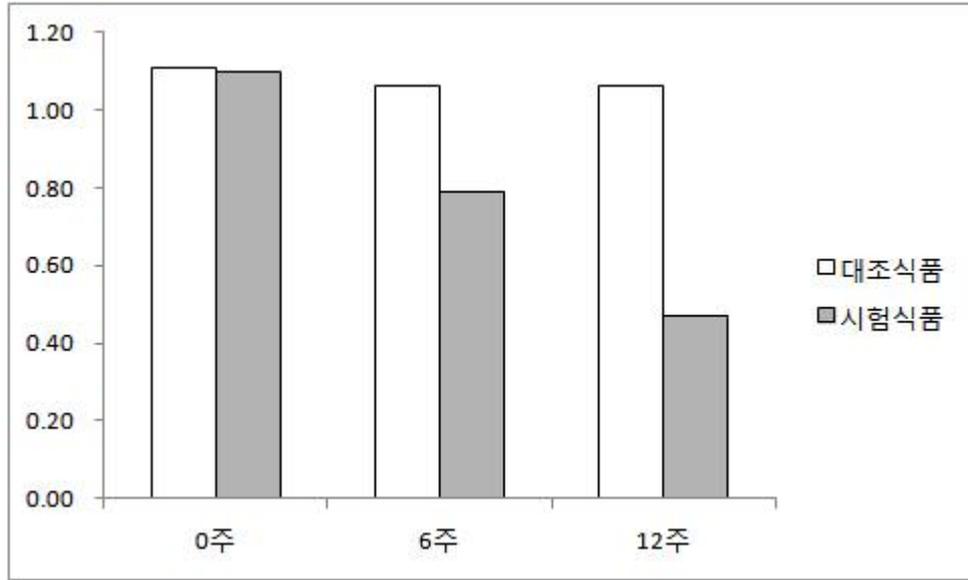


그림 53 KI(가슴두근거림)에 대한 변화

## (2) 혈액검사 지표 결과

혈액 검사 결과에 대한 차이를 분석한 결과, RBC( $p=.048<.05$ ), PLT( $p=.048<.05$ )의 상호작용 효과가 유의한 것으로 나타났다. 대조식품군의 RBC는 4.37에서 4.23으로 감소하였으나 시험식품군은 4.18에서 4.20으로 증가하는 것으로 확인되었으며, PLT는 시험식품군이 269.20에서 274.89로 증가하는 것으로 나타났다. 그 외의 혈액검사 항목들에 있어서는 임상적인 유의성을 보이지 않았으며 두 군 간에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 안전성 검사 항목 중의 ALT, AST, BUN, Creatinine 등의 항목에서 12주간의 시험식품 투여한 결과 유의적인 변화 등이 나타나지 않았고 연구 중 보고된 심각한 이상반응이 없었기 때문에 시험식품의 안전성은 증명되었다고 할 수 있겠다.

### <표27> 집단간 혈액검사 결과 분석

		pre		12week		F	p
		M	SD	M	SD		
WBC	대조식품	6.05	1.39	6.34	1.27	group(G)	.005
						time(T)	.426
	시험식품	6.22	1.53	6.23	1.96	G×T	.406
RBC	대조식품	4.35	0.25	4.21	0.26	group(G)	1.458
						time(T)	2.934
	시험식품	4.18	0.30	4.18	0.26	G×T	2.790
PLT	대조식품	251.17	52.73	245.28	49.45	group(G)	1.176
						time(T)	.080
	시험식품	265.22	64.08	273.22	68.34	G×T	3.480

Hb	대조식품	13.31	0.82	12.96	0.74	group(G)	.001	.970
						time(T)	3.075	.088
	시험식품	13.14	0.73	13.11	0.63	G×T	2.249	.143
Hct	대조식품	39.12	2.10	38.02	2.02	group(G)	.079	.780
						time(T)	1.763	.193
	시험식품	38.37	2.21	38.46	1.70	G×T	2.438	.128
T-protein	대조식품	7.02	0.30	6.98	0.33	group(G)	2.125	.154
						time(T)	.852	.363
	시험식품	7.17	0.38	7.10	0.30	G×T	.059	.810
Albumin	대조식품	4.46	0.22	4.42	0.14	group(G)	3.003	.092
						time(T)	1.764	.193
	시험식품	4.56	0.22	4.51	0.18	G×T	.055	.816
ALT	대조식품	16.67	4.26	16.44	4.31	group(G)	.598	.445
						time(T)	.253	.618
	시험식품	15.78	3.70	15.39	4.45	G×T	.019	.892
AST	대조식품	18.61	3.36	17.50	3.09	group(G)	.012	.912
						time(T)	3.079	.088
	시험식품	18.39	3.26	17.50	4.03	G×T	.038	.847
BUN	대조식품	13.26	4.13	12.82	3.21	group(G)	1.235	.274
						time(T)	.322	.574
	시험식품	14.33	3.66	14.23	3.56	G×T	.121	.731
Cr	대조식품	0.61	0.08	0.62	0.10	group(G)	.038	.847
						time(T)	.636	.431
	시험식품	0.64	0.09	0.61	0.11	G×T	2.542	.120
TC	대조식품	193.56	35.80	191.50	27.22	group(G)	.379	.542
						time(T)	.169	.684
	시험식품	199.33	37.87	198.39	28.92	G×T	.023	.880
TG	대조식품	160.56	92.21	168.22	101.53	group(G)	.002	.966
						time(T)	1.158	.290
	시험식품	157.83	87.20	173.44	89.23	G×T	.135	.716
HDL	대조식품	58.00	14.14	58.78	17.00	group(G)	.012	.912
						time(T)	.016	.900
	시험식품	58.39	14.68	57.28	15.83	G×T	.518	.477
LDL	대조식품	125.17	34.10	119.67	21.85	group(G)	.432	.515
						time(T)	1.698	.201
	시험식품	130.28	36.46	127.22	27.58	G×T	.139	.712
Ca	대조식품	9.36	0.37	9.28	0.30	group(G)	2.992	.093
						time(T)	.495	.487
	시험식품	9.48	0.32	9.47	0.27	G×T	.266	.609
P	대조식품	3.66	0.36	3.82	0.40	group(G)	.015	.902
						time(T)	.594	.446
	시험식품	3.76	0.43	3.74	0.51	G×T	.914	.346
TSH	대조식품	3.02	1.94	2.67	1.32	group(G)	.864	.359

	시험식품	2.24	1.68	2.51	1.63	time(T)	.025	.874
						G×T	1.840	.184
T3	대조식품	1.32	0.67	1.24	0.47	group(G)	.002	.967
	시험식품	1.30	0.50	1.24	0.51	time(T)	4.300	.046
						G×T	.161	.691
Free T4	대조식품	1.08	0.11	1.11	0.16	group(G)	.216	.645
	시험식품	1.12	0.10	1.11	0.12	time(T)	.595	.446
						G×T	1.470	.234
Estradiol	대조식품	36.44	56.40	45.72	112.50	group(G)	.708	.406
	시험식품	61.31	161.74	75.56	148.08	time(T)	.193	.664
						G×T	.009	.927
FSH	대조식품	51.91	29.89	52.63	28.98	group(G)	.086	.771
	시험식품	58.22	31.01	51.96	33.19	time(T)	.608	.441
						G×T	.966	.333
s-CTx	대조식품	0.24	0.13	0.23	0.13	group(G)	.207	.652
	시험식품	0.22	0.12	0.21	0.11	time(T)	.383	.540
						G×T	.004	.947
Osteocalcin	대조식품	14.49	4.89	16.72	5.69	group(G)	.252	.619
	시험식품	16.43	5.65	16.44	4.62	time(T)	4.314	.045
						G×T	4.204	.048

## 5. 오미자 추출물의 활성성분 연구

### 가. 오미자 추출 및 분획 결과

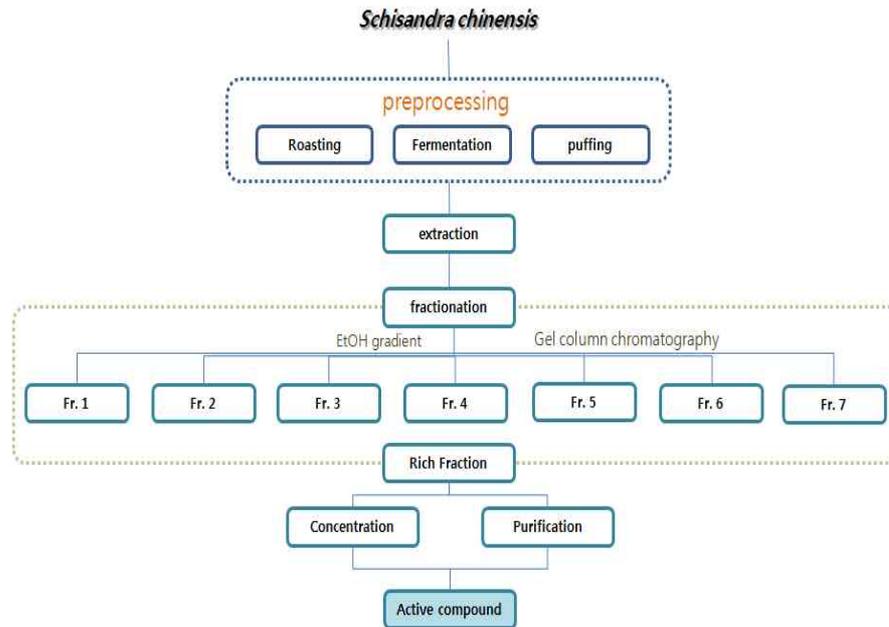


그림 54 오미자 추출 및 분획 공정도

오미자 분획물을 선정하는데 있어 친환경적인 연구방법을 획득하기 위하여, 유독한 유기용매를 배제하고 물과 에탄올만 사용하여 분획물을 받고자 하였다. 이때 오픈 컬럼 상에서 오미자 성분의 분리능을 예측하기 위해 TLC를 이용하여 전개용매를 결정하였다. 에탄올을 20~100%가 되도록 농도별로 제작하여 TLC 전개용매로 사용하였다. 이때 사용한 표준품은 Schizandrin, Gomisin A, Gomisin N으로 하였고 표준품의 밴드가 20~80% 수준에 독립적으로 분리가 되는 에탄올 농도를 확인하였다.

각각의 농도별로 TLC를 실시한 결과는 60~100%의 에탄올 농도에서 각 표준품의 밴드가 상단의 거의 동일선에 위치하고 있으나, 40% 에탄올 농도에서는 Gomisin N만 중간쯤에 동떨어져서 밴드가 나타나고 있다. 이로써 물과 에탄올만 가지고 오픈 컬럼에서 Gomisin N을 기준으로 하여 분리할 수 있음을 확인할 수 있었다.

전개 용매 결정 후 실리카겔 오픈 컬럼에 오미자 농축물을 샘플 전처리한 후 적재하였다. 전처리는 오미자 농축물에 에탄올을 이용하여 불용성 물질을 제거하는 방법을 통하여 최대한 불순물을 처리 하였다. 오픈 컬럼을 통하여 오미자 농축물은 초기 500ml씩 20개의 분획물을 획득하였고, 이는 TLC를 통하여 유사한 성상끼리 합하여 7개의 분획물로 확정하였다. 7개의 분획물은 다시 컬럼상의 분획물의 색, HPLC 상의 Lignan 패턴 등을 고려하여 최종 3개의 분획으로 결정하였고, Fr.3, 4, 6번을 기준으로 하여 유효물질 예비군으로써 효능시험에 사용하였다.

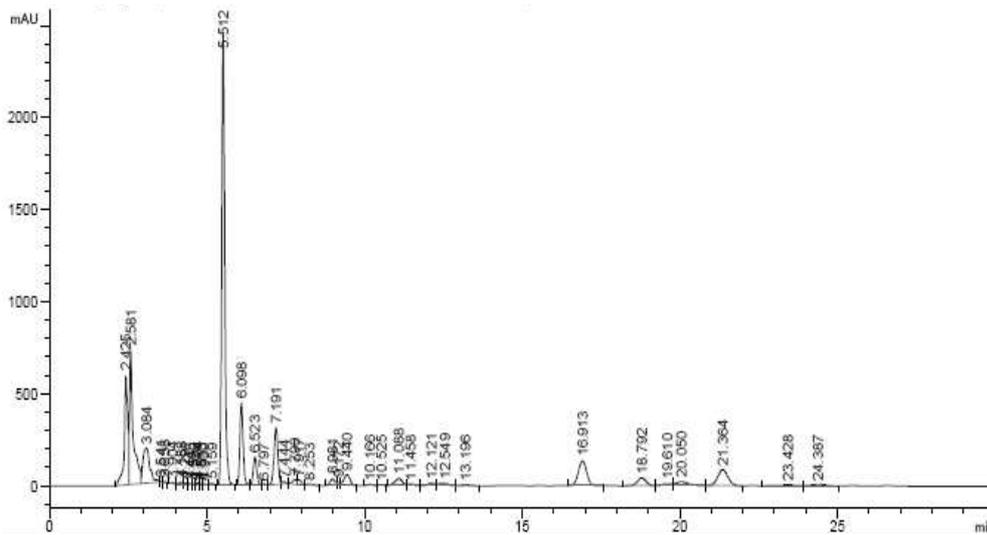
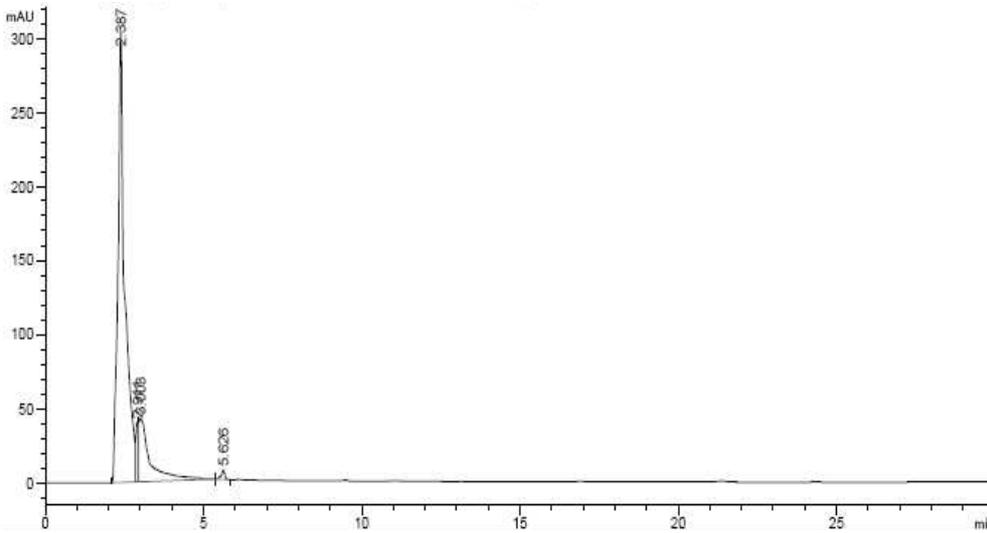
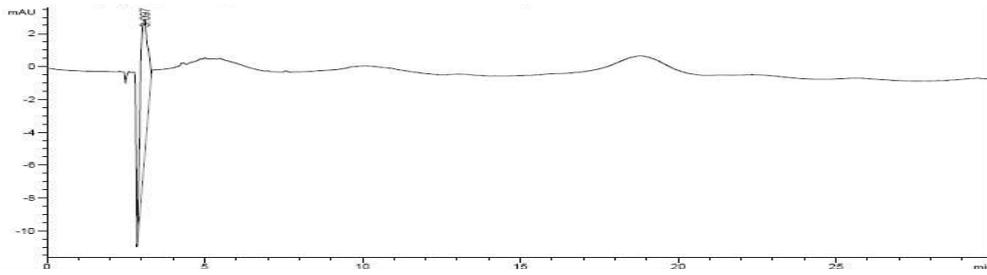
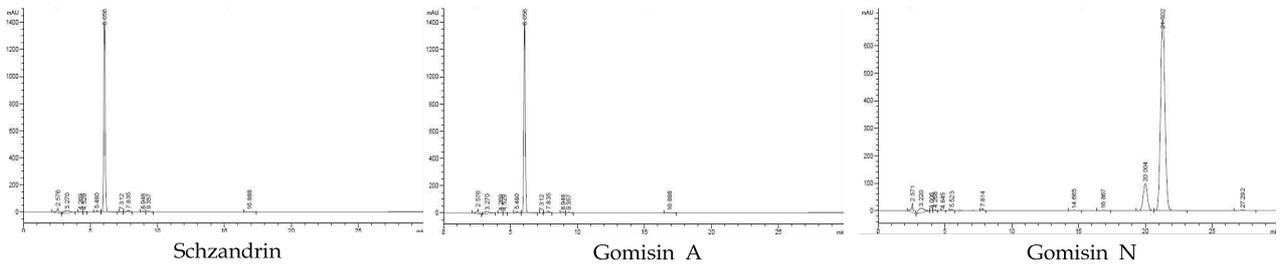
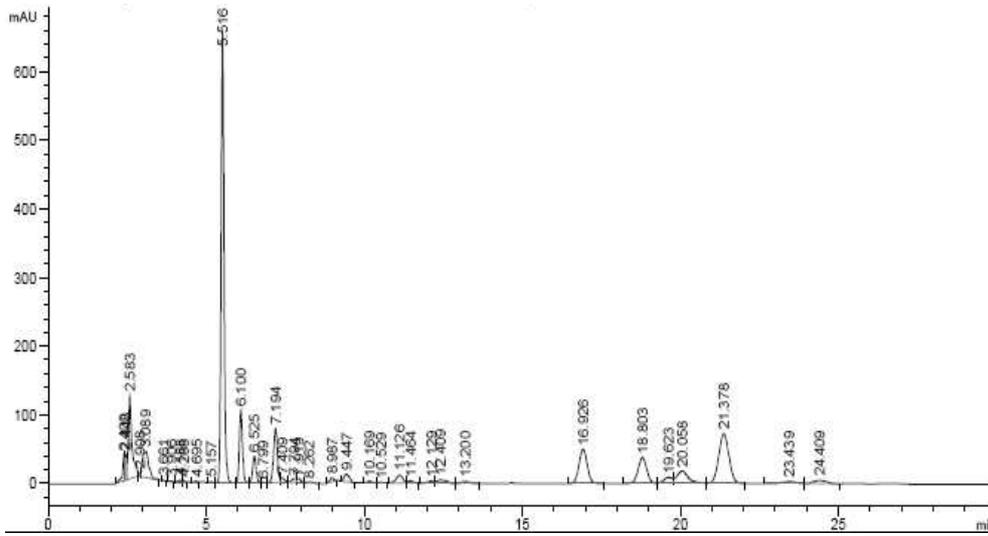
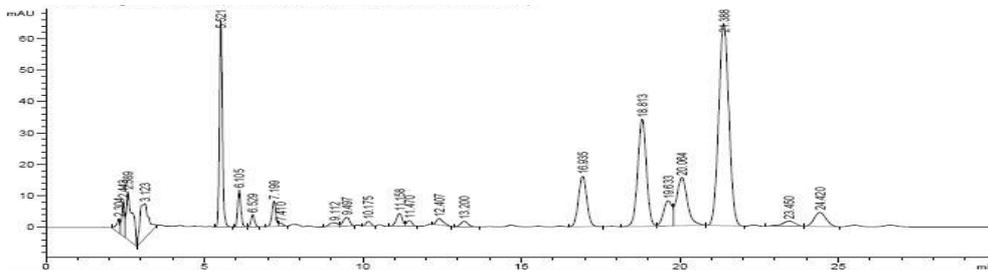


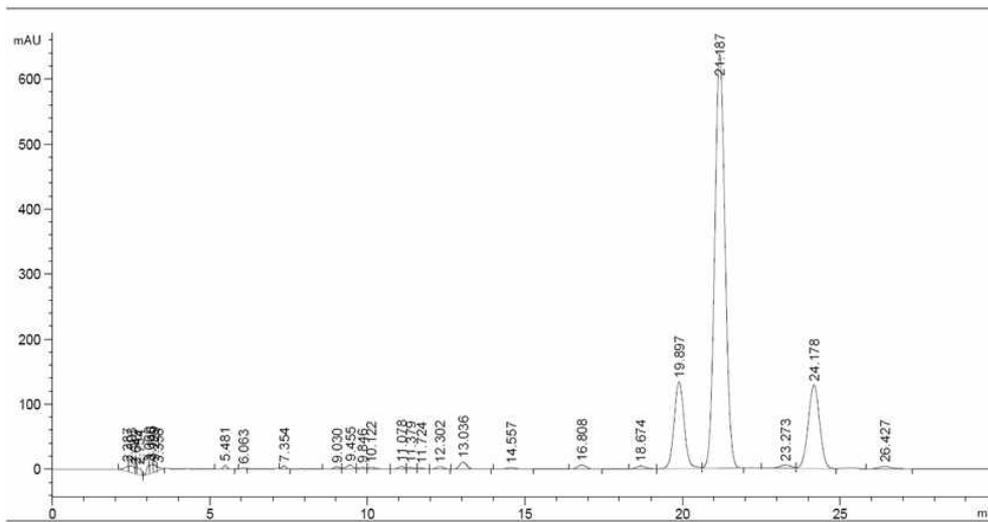
그림 55 오미자 분획물의 HPLC 분석 결과-1



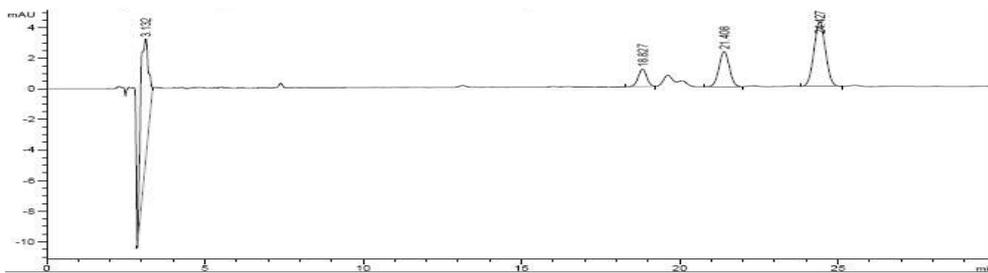
Fraction 4



Fraction 5



Fraction 6



Fraction 7

그림 56 오미자 분획물의 HPLC 분석 결과-2

## 나. 오미자추출물 내의 유효성분 연구

### (1) Lignan류

Lignans은 식물에 소량 존재하며 세포벽에서 lignins합성 시 뼈대를 구축하는 물질로 알려져 있으며, 섭취 시 장내 세균에 의해 enterodiol이나 enterolactone으로 전환된 후 glucuronide conjugate 형태로 오줌으로 배출된다. Lignans는 곡류에 2-7mg/kg 정도이나 곡류에 따라 다양하다.

아마인(flax seeds)은 lignans를 많이 함유하나 콩에도 lignans이나 lignan전구체를 많이 갖고 있는 것으로 알려지고 있다. Lignans는 estrogen구조의 유사함으로 estrogen의 성질을 갖고 있으며 또한 estrogen 조절 기능이 있어 phytoestrogen이라 불려진다.

Lignans을 많이 섭취하면 유리 estrogen함량을 저하시킨다는 연구 보고가 있다. 연구 결과에 의하면 lignan전구체를 갖고 있는 식품을 섭취하면 estrogen에 의한 암 즉 유방암의 위험을 줄일 수 있으며, 또한 조직배양에 있어 유방암세포의 성장을 저해시킴이 보고되었다. Lignans는 생체 내 estrogen의 생합성이나 대사에 관여하는 5 $\alpha$ -reductase, 17 $\beta$ -hydroxysteroid drhydrogenase의 활성을 저해하거나, 콜레스테롤로부터 담즙산 형성에 관여하는 7- $\alpha$ -hydroxylase활성을 저해하여 성호르몬이 관련되는 암이나 결장암에 걸릴 위험을 낮추는 것으로 보고되고 있다. 그 외에도 Cardiovascular Disease나 Osteoporosis, Hormone-associated Cancers 등의 질병을 예방하는 효과를 가지고 있다는 몇몇의 연구 결과들이 보고되어 있다.

그러나 여러 역학적 조사결과로 lignan만 섭취할 경우 암 위해성을 줄이기보다는, lignans을 많이 함유한 식품은 암과 관련된 flavonoid를 비롯해서 다른 phytochemicals를 많이 함유하고 있어 항암성 성질을 갖고 있음이 밝혀지고 있다.

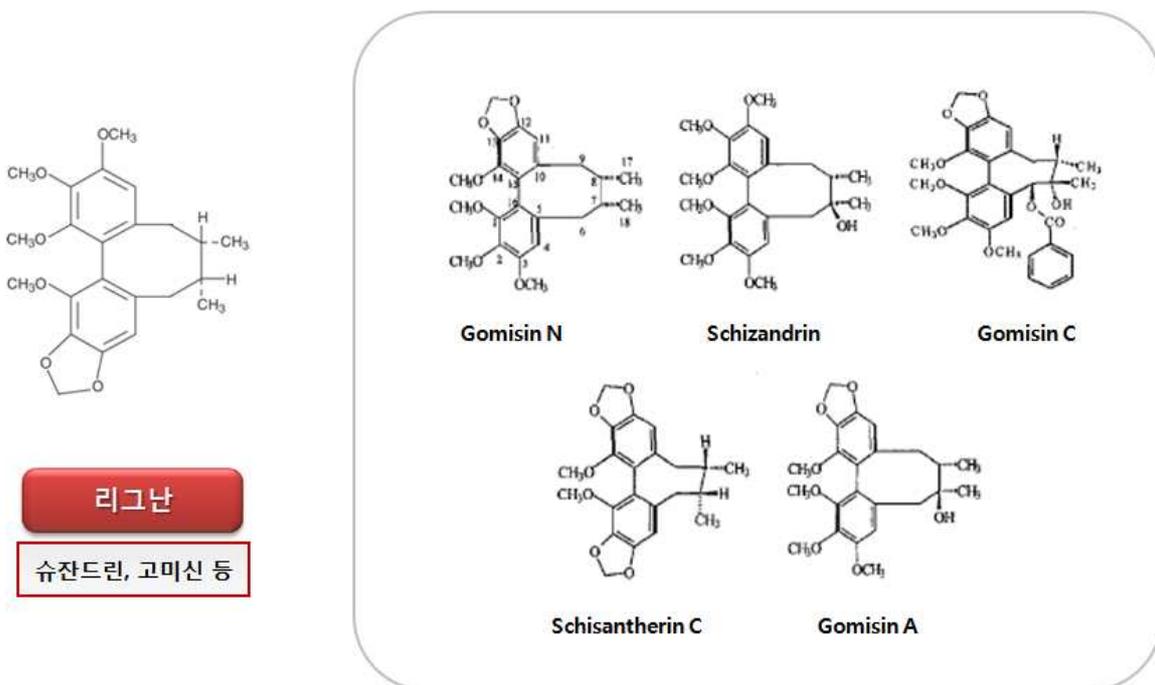


그림 57 리그난 종류 및 구조

▶ BMO-30 내에 존재하는 리그난 성분 및 함량

리그난 성분	함량
① 수잔드린	약 0.652mg/g
② 고미신N	0.570mg/g
③ 고미신A	약 0.244mg/g

자사원료(BMO-30)를 가지고 HPLC분석을 통해서 리그난 성분들의 함량을 분석한 결과 수잔드린 함량이 가장 높게 나왔고 그 다음이 고미신 N, 고미신 A 순이었고 그 함량은 0.652, 0.570, 0.244mg/g이었다. 오미자추출물을 통해서 고미신A 함량을 높게 한 분획물에서 Estrogen receptor-β의 expression이 높게 나왔기 때문에 오미자 STD 중 고미신 A와 유사한 구조를 가진 리그난 계열이 좋게 나온 것이라 해석할 수 있겠고 갱년기 효능논문에서도 dibenzocyclooctadiene skeleton을 가진 리그난 계열(schizandrin, gomisin A, deoxyschizandrin, r-schizandrin, wuweizisu C)들을 효능성분으로 추측한 것을 확인할 수 있었다. [참고논문] Growth inhibition and cell cycle arrest in the G0/G1 by schizandrin, a dibenzocyclooctadiene lignan isolated from schisandra chinensis, on T47D human breast cancer cells

(2) Polyphenol류

(가) 폴리페놀 종류별 기능성 탐색

- ① Caffeic acid는 당귀추출물의 유효성분으로 제시되었고, 오미자추출물 내에서는 매우 미량 존재함을 확인하였다.
- ② Protocatechuic acid는 Anti-oxidative effect, 항고지혈효과, 항암효과 anti-inflammatory, antihyperglycemic, neuroprotective activities등의 효과가 있다고 보고되었다.
- ③ Chlorogenic acid는 오미자 내에서는 Gallic acid나 Caffeic acid보다는 함량이 어느 정도 존재하기는 하며 여러 연구 논문들에서 항산화, 항염효과 등이 있음이 보고되었다.
- ④ Coumaric acid는 주로 peanuts에 존재하는 폴리페놀로써 bone과 관련하여 bone mass/body mass ratio를 증가시키는 효능과 함께 heart disease, Promotes Weight loss, Combats Prostate Cancer, Lowers cholesterol, Aggravates diverticulitis 등의 효능을 보이고 있다.
- ⑤ Ferulic acid는 알츠하이머와 관련연구들이 보고되어 있고 그 외에도 항산화능, 혈전생성 억제, 항암효과 등이 보고되어 있다.
- ⑥ Gallic acid는 항산화, 항염, 뇌기능향상, 치매예방, 간기능 보호 효과 등이 있다.

⑦ 기타 양파추출물의 주성분인 quercetin과 뿌리줄기잎에 존재하는 O-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid 성분들이 Trichomonas성 질염의 치료에 사용되고 있다.

(나) 오미자추출물 내의 폴리페놀 분석

오미자추출물 내에는 Table2에 제시된 바와 같이 chlorogenic acid와 p-coumaric acid, protocatechuic acid 등의 폴리페놀이 존재한다는 내용을 확인할 수 있었다. 또한 표 28에서 보는 바와 같이 자사 원료(BMO-30)를 HPLC분석을 통해 폴리페놀 정성 분석을 실시한 결과 protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, coumaric acid, quercetin 등의 총 5가지 폴리페놀을 확인하였으며 정량분석을 실시한 결과 함량은 가장 많은 순서대로 나열하면 chlorogenic acid, protocatechuic acid, coumaric acid, quercetin, caffeic acid 순이고 각 함량은 0.479, 0.251, 0.046, 0.045, 0.017(ug/ml) 이었다. in vitro 실험을 통해 확인한 바로는 폴리페놀류가 다량 함유된 분획물인 Fr.2에서 ER-β의 발현이 높게 측정되었으므로 다양한 폴리페놀이 갱년기 효능성분과 관련이 있을 것으로 판단되며 향후 폴리페놀류 단일std를 이용한 ER -α, β biding affinity 측정 실험을 통하여 확인이 가능할 것으로 판단된다.

**Table 2** Contents (in milligrams/100 g d.w.) of free phenolic acids in fruits and leaves of *Schisandra chinensis* growing in vivo and their maximal contents in biomass from in vitro cultures

Phenolic acids	Fruits	Leaves	Shoot-differentiating callus culture	Undifferentiating callus culture
Chlorogenic acid	1.98	1.37	22.60	38.43
p-Coumaric acid	23.36	1.27	15.39	7.28
p-Hydroxybenzoic acid	2.60	0.20	12.66	4.43
Protocatechuic acid	5.81	0.33	7.22	20.95
Salicylic acid	7.01	0.92	21.17	0.67
Syringic acid	14.96	0.46	6.92	9.51
Total content	55.73	4.55	60.05	78.24

표 28 오미자추출물(BMO-30) 내 존재하는 폴리페놀 종류 및 함량

폴리페놀 종류	존재여부	함량(ug/ml)
① PCA(250nm)	○	0.251
② CHA(306nm)	○	0.479
③ Caffeic acid(306nm)	○	0.017
④ Coumaric acid(306nm)	○	0.046
⑤ FA(306nm)	X	-
⑥ Quercetin(306nm)	○	0.045

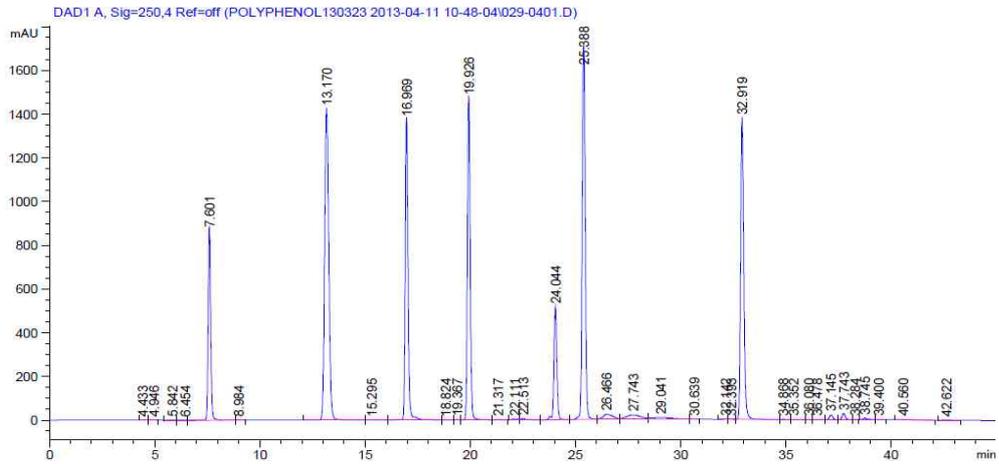


그림 58 폴리페놀 STD 7종에 대한 크로마토그램

구분	Name	RT 값
1	Tannic acid	7.601
2	Protocatechuic acid	13.170
3	Chlorogenic acid	16.969
4	Caffeic acid	19.926
5	Coumaric acid	24.044
6	Ferrulic acid	25.388
7	Quercetin	31.919

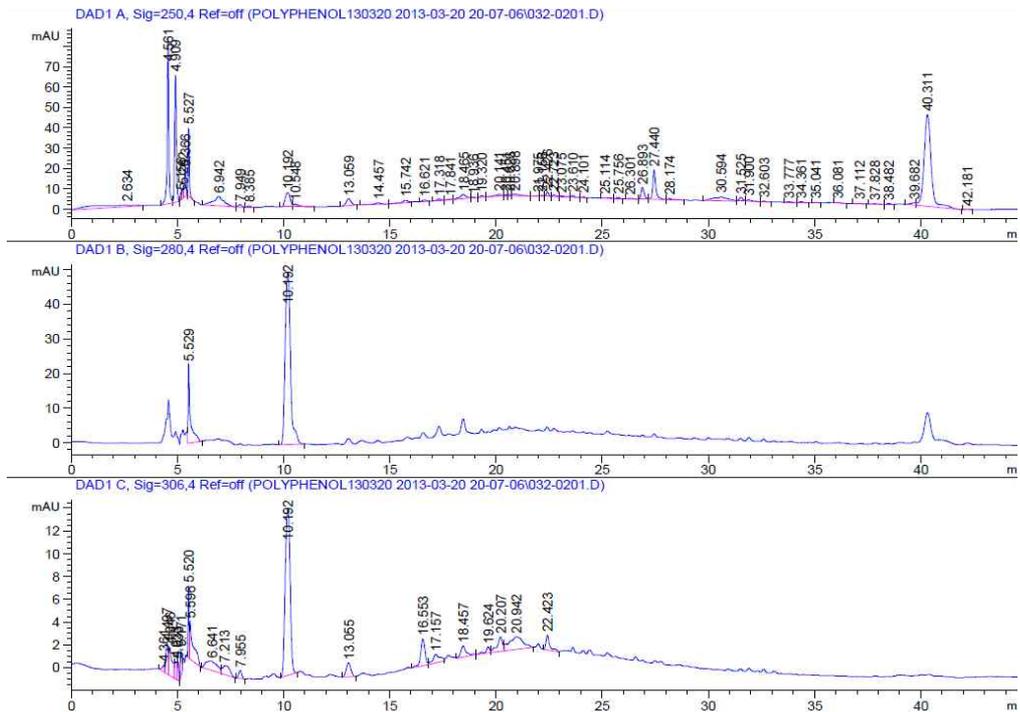


그림 59 오미자추출물의 폴리페놀류 HPLC분석

### 다. 오미자 내 유효성분의 ER- $\alpha$ $\beta$ Expression 확인

lignan과 polyphenol이 MCF-7 cell의 Estrogen receptor- $\alpha$ ,  $\beta$ 의 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 lignan과 polyphenol의 단일성분 Standard를 가지고 ERs 발현정도를 스크리닝하였다. 그 결과 모든 compound가 대조군에 비하여 ERs expression을 증가시켰고, 그 중에서도 Gomisin A, PCA, FA가 대조군에 비하여 ER- $\beta$ 를 좀 더 발현시킴을 확인하였다.

Protocatechuic acid의 경우 승마에도 존재하는 물질이고, Ferulic acid의 경우 breast cancer와 bone mass와도 관련 있다는 논문이 존재하며, 또한 PCA, Coumaric acid, Quercetin, CHA 등의 물질들이 Caffeic acid보다 유방암세포 유전자의 발현억제능이 높다는 연구결과도 존재하기에 이러한 phenolic acids들이 부작용 없이 selective estrogen receptor modulator의 기능을 한다고 설명할 수 있겠다.



그림 60 Effect of compounds on ERs expressions

### 라. 오미자추출물의 GC-MS분석

HPLC분석을 통해서 분석한 성분 외의 오미자 내에 함유되어 있는 방향족 정유 성분들에 대한 분석을 실시하고자 GC-MS를 추가로 실시하였다. 오미자 부위 중에서 종피와 씨부분에는 다양한 정유(citronellol, terpineol, trimethylcitrate) 성분들이 존재하고 있다. GC-MS를 통해서 자사원료 내의 성분들을 분석한 Library는 아래와 같다.

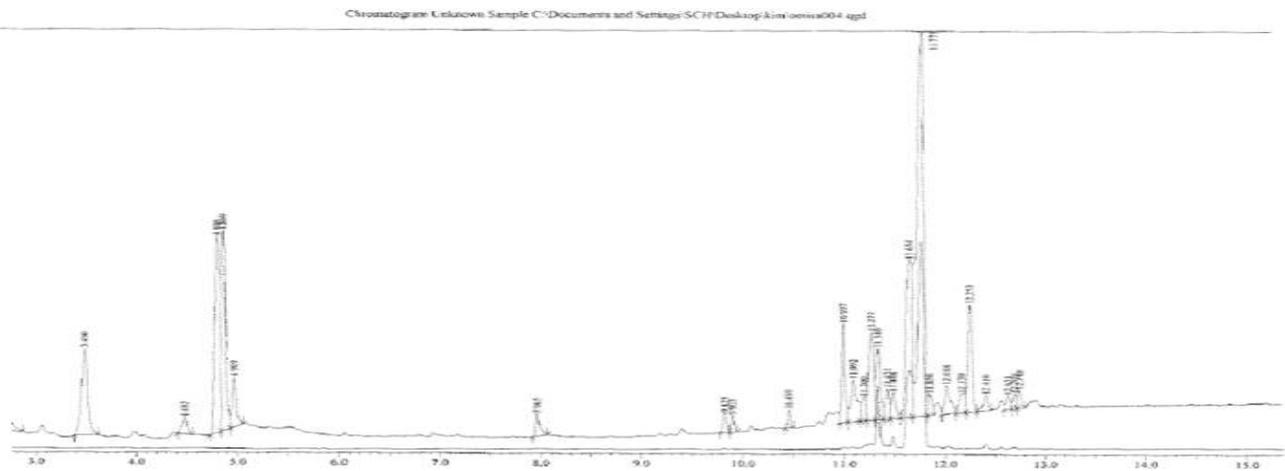


그림 61 오미자추출물의 GC-MS 분석

	CompName(총 125개)	Fomula	CAS No.	M.W
1	Malic Acid \$\$ Butanedioic acid	C4H6O5	6915-15-7	134
2	dI-Malic disodium salt \$\$ Butanedioic acid	C4H6O5	617-48-1	134
3	2-Propoxy-succinic acid	C9H16O5	325984-06-3	204
4	Pentanoic acid	C8H16O3	40309-42-0	160
5	Citric acid	C6H8O7	77-92-9	192
6	Heptanoic acid	C9H18O2	106-30-9	158
7	L-Glutamic acid 5-ethyl ester	C7H13NO4	1119-33-1	175
8	Butanedioic acid, Hydroxy-, diethyl ester.	C8H14O5	626-11-9	190
9	Adipic acid, Ethyl pentyl ester	C13H24O4	0-00-0	244
10	ethyl citrate \$\$ 1,2,3-Propanetricarboxylic acid. 2-hydroxy-, triethyl ester \$\$ Cirtoflex 2 \$\$ Triethyl cirtate \$\$ TEC	C12H20O7	77-93-0	276
11	Adipic acid, Ethyl 3-pentyl ester	C13H24O4	0-00-0	244
12	Adipic acid, Ethyl octyl ester	C16H30O4	0-00-0	286
13	O-Acetylcitric acid triethyl ester \$\$ 1,2,3- Propane tricarboxylic acid, 2-(acetyloxy)-, triethyl ester \$\$ Acetyl triethyl citrate \$\$ ATEC \$\$ citric ac	C14H22O8	77-89-4	318
14	Aipic acid, Ethyl-2-octyl ester	C16H30O4	0-00-0	286
15	Ethyl-4-heptyl ester	C15H28O4	0-00-0	272
16	7-Tetracyclo[6,2,1,0(3,8)0(3,9)]undecanol, 4,4,11,11-tetramethyl-	C15H24O	74842-43-6	220
17	Cyloisolongifolene, 8,9-dehydro-	C15H22	0-00-0	202
18	Aromadendrene, dehydro-	C15H22	0-00-0	202
19	Isolongifolene, 4,5-dehydro-	C15H22	0-00-0	202
20	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7,	C15H24O	6750-60-3	220
21	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- \$\$ cis-9, cis-12-Octadecadienoic acid \$\$ cis,cis-Linoleic acid \$\$ Grape seed oil \$\$ Linoleic \$\$ Linoleic acid \$\$	C18H32O2	60-33-3	280
22	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester \$\$ Linoleic acid, methyl ester \$\$ Methyl cis,cis-9,12- octadecadienoate \$\$ Methyl linoleate \$\$ M	C19H34O2	112-63-0	294
23	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester \$\$ Methyl (9E,12E)-9,12-octadecadienoate # \$\$	C19H34O2	2462-85-3	294

24	Linoleic acid ethyl ester \$\$ Ethyl ilnoleate \$\$ 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, ethyl ester \$\$ Ethyl cis,cis-9,12-octadecadienoate \$\$ Ethyl lino	C20H36O2	544-35-4	308
25	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester \$\$ Mono(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ Phthalic acid, mono(2-ethylhexyl) ester, Mehp	C16H22O4	4376-20-9	278
26	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester \$\$ Diisooctyl phthalate \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Isooctyl phthalate \$\$ Corflex 880 \$\$ DIOP \$\$ Flex	C24H38O4	27554-26-3	390
27	Bis(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl)ester \$\$ Phthalic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Bis(2-ethylhexyl)	C24H38O4	117-81-7	390
28	2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,8a-hexahydro-,alpha., alpha.,4a,8-tetramethyl-,[2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a .alpha.)]-\$\$ 2-(4a,8-Dimethyl-1,2,	C15H24O	29484-47-7	220
29	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester \$\$ Linoleic, 1-mono- \$\$ .alpha.-Glyceryl linoleate \$\$ Glycerol 1-monolinolate \$\$	C21H38O4	2277-28-3	354
30	9,12-Octadecadien-1-ol, (Z,Z)- \$\$ (9Z,12Z)-9,12- Octadecadien-1-ol # \$\$	C18H34O	506-43-4	266
31	(R)-(-)-14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol	C17H32O	64566-18-3	252
32	9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester \$\$ Ethyl (9E,12E)-9,12-octadecadienoate # \$\$	C20H36O2	7619-08-1	308
33	Podofilox \$\$ Furo[3',4',6,7]naphtho[2,3-d]-1,3-dioxol- 6(5aH)-one,5,8,8a,9-tetrahydro-9-Hydroxy-5- (3,4,5-trimethoxyphenyl)-,[5R-(5.alpha.,5	C22H22O8	518-28-5	414
34	Estra-1,3,5(10)-triene-6,17-dione, 3-[(trimethylsilyl)oxy]-, bis(O-methyloxime) \$\$ 3-[(Trimethylsilyl)oxy]estra-1,3,5(10)-triene-6,17-dione bis(	C23H34N2OSi	69833-98-3	414
35	Iron, bis[tetramethyl[2-(methoxy)ethyl] cyclopenta- dienyl]-	C24H3FeO2	0-00-0	414
36	Silane, dimethyl(2-naphthoxy)tetradecyloxy-	C26H42O2Si	0-00-0	414
37	Ethanone, 2-hydroxy-1,2-bis(4-methoxyphenyl)- \$\$ Benzoin, 4,4'-dimethoxy-\$\$ 4,4'-Dimethoxybenzoin \$\$p,p'-Dimethoxybenzo	C16H16O4	119-52-8	272
38	(4-Methoxy-phenyl)-(2-nitrocyclohexyl)-methanol	C14H19NO4	103077-68-5	265
39	Benzenemethanol, 4-methoxy-.alpha.-(2-nitrocyclo-pentyl <td>C13H17NO4</td> <td>103130-05-8</td> <td>251</td>	C13H17NO4	103130-05-8	251

	l)methanol # \$\$			
40	6-Amino-2,4-dimethylphenol \$\$ 6-Amino-2,4-xylenol \$\$ Phenol, 2-amino-4,6-dimethyl-\$\$ 2-Amino-4,6- dimethylphenol # \$\$	C8H11NO	41458-65-5	137
41	19-Norethandrolone tbdms	C26H44O2Si	0-00-0	416
42	5,5'-Bis[2-(4-aminophenyl)-1H01,3-benzimidazol	C26H20N6	0-00-0	416
43	A \$\$ (+)-(6S,7S, Bias-R)-5,6,7,8-tetrahydro-1,2,3,13 -tetramethoxy-6,7-dimethyl benzo[3,4]cycloocta[1,2-f] [1,3]benzodiazol-6-ol \$\$ 1	C23H28O7	58546-54-6	416
44	Methane, bis(fluoranthren-3-yl)-	C33H20	0-00-0	416
45	2,3-Dibromo-6-chlorophenanthrene-9-carboxylic acid	C15H7Br2ClO2	0-00-0	412
46	Schizandrin \$\$ Dibenzo(a,c)cycloocten-6-ol.-5,6,7,8- tetrahydro-6,7-dimethyl 1,2,3,10,11,12-hexamethoxy-, stereoisomer \$\$ Schisandrin \$\$ Sch	C24H62O7	7432-28-2	432
47	9,11,;15,17:26,28:32,34-Tetraethenmo-12H,14H,29H,31H-letraind eno[2,10c:1',2'-f:2'',1''-o:1''',2''-p][1,22]dioxacycloeicosin,[4bs-(4br '',21br'')]-	C54H36O2	73100-21-7	716
48	Spiro[9,9;]difluorene-2,2'-diol,diacetate	C29H20O4	70657-79-3	432
49	5-Methyltetrazolo-pi,-pentamethylcyclopentadienyl-tricarbonyl- tungsten	C15H18N4O3 W	0-00-0	486
50	4H-1-Benzopytan-4-one,2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-hydroxy-3,7- dimethoxy- \$\$ Flavone, 5-hydroxy- 3,3',4',7-tetramethoxy- \$\$ Quercetin 3,7,3	C19H18O7	1245-15-4	358
51	Xanthine, 1,3-diethyl-8-[4-[[[isopropylloxy]carbonyl] methoxy]phenyl]-\$\$ Isopropyl [4-(1,3-diethyl-2,6- dioxo-2,3,6,7 -tetrahydro-1H-purin-8-y	C20H24N4O5	104576-47-8	400
52	Benzo[1,2-c:4,5-c']dipyrrole-1,3,5,7(2H,6H)-tetrone, 2,6-bis(2-hydroxyphenyl)- \$\$ Isopropyl [4-(1,3- diethyl-2,6-dioxo-2,3,6,7-tetrahydro-1H-purin-8-y	C20H24N4O5	31664-79-6	400
53	Dibenzo[a,j]coronene	C32H16	190-72-7	400
54	Diindeno[1,2,3-cd:1',2',3'-Im]perylene \$\$ periflanthen \$\$ periflanthene \$\$ Diindeno[1,2,3-cd:1,2,3-Im]perylene # \$\$	C32H16	188-94-3	400
55	3-Nor-3,7-secodichorine, 2,7-didehydro-2-deoxy-14- hydroxy-25-oxo-. (14.alpha.)- \$\$ 3-Hydroxy-13- methoxy-2-methyl- 14-oxo-2,3,3a,4,5,7,8	C21H24N2O6	55320-19-9	400
56	Colchiceinamide	C21H24N2O5	0-00-0	384
57	3-Demethylcolchicinemethylamide \$\$ N-[3-Hydroxy- 1,2-dimethoxy-10-(methylamino)-9-oxo-5,6,7,9-tetrahydrobenzo[ a]heptalen07-yl]acetamik	C21H24N2O5	77409-66-6	384
58	Naphtho2,3-c]furan-1(3H)-one, 4-(3,4-dimethoxy-, [3aS-(3.alpha,4.alpha.,9a.bcta)]- \$\$ Naphito	C22H24O6	25925-39-7	304.5
59	7-Chloro-2,3-dimorpholinophenazine \$\$ 7-Chloro-2,3- di(4-morpholiny)phenazine # \$\$	C20H21ClN4O 2	4559-66-4	384
60	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymemthyl)- \$\$ 5-Hydroxymethylfurfural \$\$ Hydroxymethylfurfurole \$\$	C6H6O3	67-47-0	126
61	Furan, 2,3-dihydro-4-(1-methylpropyl)-, (S)- \$\$ 4-see-butyl-2,3-dihydrofuran \$\$	C8H14)	34379-54-9	126
62	2-Hexene, 3,4,4-trimethyl- \$\$3,4,4-trimethyl-2-hexene \$\$	C9H18	53941-19-8	126

	(2E)-3,4,4-Trimethyl-3-hexene # \$\$			
63	4-Pyrimidinol, 5-methoxy- \$\$ 5-Methoxy-4- pyrimidinol # \$\$	C5H6N2O2	695-87-4	126
64	2-Propoxy-duccinic acid, dimethyl ester \$\$ Dimethyl 20propoxyduccinate # \$\$	C9H16O5	325984-06-3	204
65	di-Malic disodium salt \$\$ Butanedioic acid, hydroxy-, (+/-)- \$\$ +/-,-Malic acid \$\$ di-Hydroxybutandioic acid \$\$ di-Malic acid \$\$ FDA 2018	C4H6O5	617-48-1	134
66	Butanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester, (+/-)- \$\$ di-malate \$\$ Ethyl di-malate \$\$ Butanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester, (+/-)- \$\$	C8H14O5	626-11-9	190
67	Malic Acid \$\$ Butanedioic acid, hydroxy- \$\$ .alpha.-Hydroxysuccinic acid \$\$ Hydroxyethane-1,2-dicarboxylic acid \$\$ Hydroxysuccinic acid \$\$	C4H6O5	6915-15-7	134
68	2,6-Dihydroxyisonicotinic acid \$\$ Citrazinic acid \$\$ 4-Pyridinecarboxylic caid, 1,2-dihydro-6-hydroxy-2- oxo- \$\$ Issonicotinic acid, 2,6-dihydro	C6H5NO4	99-11-6	155
69	1-Propene-1,2,3-ricarboxylic acid \$\$ Achillcaic acid \$\$ Achilleic acid \$\$ Aconitic acid \$\$ Cirtidic acid \$\$ Citridimic acid \$\$ Equisetic acid \$\$	C6H6O6	499-12-7	174
70	4-Chlorobenzoic acid, 4-methylpentyl ester	C13H17ClO2	0-00-0	240
71	4-Chlorobenzoic acid, 6-ethyl-3-octyl ester	C17H25ClO2	0-00-0	296
72	Butanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester, (+/-)- \$\$ di-malate \$\$ Ethyl di-malate \$\$ Butanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester, (+/-)- \$\$	C8AH14O5	626-11-9	190
73	Pentanoic acid, 3-hydroxy-4-methyl-, ethyl ester \$\$ Ethyl 3-hydroxy-4-methylpentanoater # \$\$	C8H16O3	40309-42-0	160
74	Citric Acid \$\$ 1,2,3-propanetricarboxylic acid, 2-hydroxy-\$\$ Aciletten \$\$ Citretten \$\$ Citro \$\$ 2-Hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylic acid \$\$	C6H8O7	77-92-9	192
75	L-Glutamic acid 5-ethyl ester \$\$ L-Glutamic acid-.gamma.-ethyl ester \$\$ Ethyl.gamma.-L-glutamater \$\$ .gamma.-Ethyl L-glutamate \$\$ .gamma.	C7H13NO4	1119-33-1	175
76	di-Serine, N-acetyl-, methyl ester \$\$ Methyl 2-(acetylamino)-3-hydroxypropanoate # \$\$	C6H11NO4	55299-56-4	161
77	4-Ethoxycarbonyl-2-methyl-2-pxazoline \$\$ Ethyl 2-methyl-4,5-dihydro-1,3-oxazole-4-carboxylate # \$\$	C7H11NO3	68683-04-5	157
78	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z')-, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester \$\$ Linolein, 2-mono-\$\$ .beta.-Monolimplein \$\$ 2-Hydroxy-1-(hydro	C21H38O4	3443-82-1	354
79	1,3,12-Nonadecatriene	C19H34	0-00-0	262
80	4-(Acridin-9-ylamino)-2,6-di-tert-butyl-phenol	C27H30N2O	0-00-0	398
81	Furo[3',4':6,7]naphtho[2,3-d] 1,3-dioxol-6(5aH)-one, 5,8,8a,9-tetrahydro-5-(3,4,5-rimethoxyphenyl)-, [5R-(5.alpha.5a.beta.8a.alpha)]- \$\$ Po	C22H22O7	19186-65-7	398
82	Silane, dimethyl(4-phenylphenoxy)undecyloxy-	C25H38O2Si	0-00-0	398
83	2,4-Dibenzyl-5,8-dimethoxy-6-methyl-1-naphthol	C27H26O3	86649-80-1	398
84	Estra-1,3,5(10)-triene-16,17-dione, 3-[(trimethylsilyl) oxy]-, bis(O-methyloxime) \$\$ 3-[(Trimethylsilyl)oxy] i	C23H34N2O3Si	75113-02-9	414

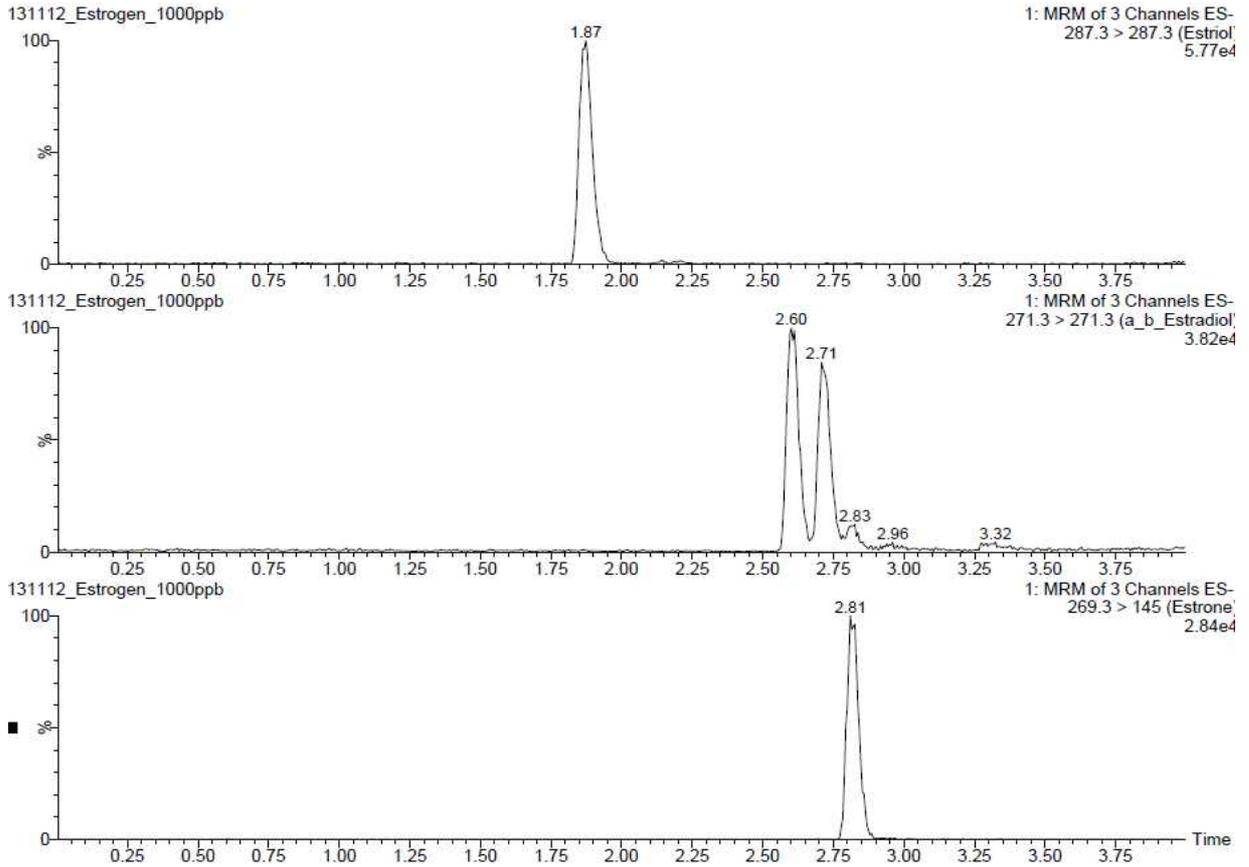
	estra-1,3,5(10)-triene-16,17-dione			
85	.beta.-Peltatin      \$\$      Furo[3',4':6,7]naphtho[2,3-d]-1,3-dioxol-5(5aH)-one,      5,8,8a,9-tetrahydro-10-hydroxy-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-, [5R-(5.alpha.9,11:15,17:26,28:32,34-Tetraetheno-12H,14H,29H,31H-tetrainden	C22H22O8	518-29-6	414
86	o[2,1-e:1',2'-f:2",1"-o:1'",2'"-p][1,11]dioxacycloeicosin,      [4bs-(4br°;21br°)]-	C54H36O2	73100-21-7	716
87	Silane,      tetrakis(phenylethynyl)-      \$\$ Tetrakis(phenylethynyl)silane #      \$\$	C32H20Si	18769-86-3	432
88	1,3-Isobenzofurandione,      5,5'-[2,2,2-trifluoro-1-(trifluoromethyl)ethylidene]bis-      \$\$      4,4'-(Hexafluoroisopropylidene)bis(phthalic anhydride)      \$\$	C19H6F6O6	1107-00-2	444
89	Silane, dimethyl(4-phenylphenoxy)heptadecyloxy-	C31H50O2Si	0-00-0	482
90	5-(4-Butoxyphenyl)-2'-(4-hexyloxyphenyl)-2,5'-bipyrimidine	C30H34N4O2	131548-30-6	482
91	Acetic acid,      4,4,6a,8a,11,12,14b-heptamethyl-7,13-dioxo-1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,8,8a,9,10,11,12,12a,13,14,14a,14b-eicosahydripeen-3yl	C31H46O4	0-00-0	482
92	3,3-Diethoxy-1-propyne      \$\$      1-Propyne,      3,3-diethoxy-      \$\$ Propargylaldehyde diethyl acetal      \$\$	C7H12O2	10160-87-9	128
93	naphtho[2,3-c[furan-1(3H)-one,      4-(3,4-dimethoxyphenyl)-3a,4,9,9a-tetrahydro-6,7-dimethoxy-,      [3aR-(3a.alpha,4a.alpha,9a.alpha.)]      \$\$      Naphth	C22H24O6	25253-30-9	384
94	n a p t h o [ 2 , 3 - c [ f u r a n - 1 ( 3 H ) - o n e ,      4-(3,4-dimethoxyphenyl)-3a,4,9,9a-tetrahydro-6,7-dimethoxy-,      [3aS-(3a.alpha,4a.alpha,9a.neta.)]      \$\$      Naphth	C22H24O6	25925-39-7	384
95	Silane, dimethylisohexyloxyheptadecyloxy-	C25H54O2Si	0-00-0	414
96	1,3-Benxenediol,      O-cyclobutanecarbonyl-O'-pantafuoropropionyl-	C14H11F5O4	0-00-0	338
97	Gomisin A      \$\$      (+)-(6S,7S,      Biar-R)-5,6,7,8-tetrahydro-1,2,3,13-tetramethoxy-6,7-dimethylbenzo[3,4]cycloocta[1,2-f][1,3]benzodioxol-6-ol      \$\$	C23H28O7	58546-54-6	416
98	Colchicine,      N-deacetyl-N-(O,O'-diacetyl_fluoroscinyll-      \$\$ 6-(Acetyloxy)-9-(2-{{(1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxo-5,6,7,9-tetrahydronbenzo[a]hepta	C44H39NO11	89759-27-3	757
99	Cholest-7-en-3-ol,      trifluoroacetate,      (3.beta.)-      \$\$ Cholest-7-en-3-yl-trifluoroacetate #      \$\$	C29H45F3O2	55515-22-5	482
100	Spiro[9,9']difluorene02,2'-dimethanol, diacetate	C31H24O4	73100-14-8	460
101	n-Hexadecanoic acid      \$\$      Hexadecanoic acid      \$\$      n-Hexadecoic acid      \$\$      Palmiric acid      \$\$      pentadecanecarboxylic acid      \$\$ 1-Pentadecanecarboxylic	C16H32O2	57-10-3	256
102	Pentadecanoic acid      \$\$      Pentadecylic acid      \$\$      n-Pentadecanoic acid      \$\$      n-Pentadecylic acid      \$\$	C15H30O2	1002-84-2	242
103	1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	C38H68O8	28474-90-0	652
104	oxacycloheptadec-8-en-2-one      \$\$      Ambrettolid      \$\$      Ambrttolide      \$\$      Musk ambrette      \$\$      Musk ambrette, natural      \$\$      Musk natural      \$\$      7-Hexadecno	C16H28O2	123-69-3	252
105	1-oxaspiro[2,5]octane,      5,5-dimethyl-4-(3-methyl-1,3-butadienyl)-	C14H22O	0-00-0	206

106	Aromadendrene oxide-(1)	C15H24O	0-00-0	220
107	2-Propen-1-ol, 3-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)- .beta-Citrylideneethano] (2E)-3-(2,6,6- Trimethyl-1-cyclohexem-1-yl)-2-propen-1-ol	C12H20O	4808-04-9	180
108	Caryophyllene oxide 5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,5)-] dodecane, 4,12,12-trimethyl-9-methylene-, [1R- (1R*,4R*,6R*,10S*)]- 5-Oxatricyclo(8.	C15H24O	1139-30-6	220
109	n-Propyl 9,12-octadecadienoate	C21H38O2	0-00-0	322
110	Butyl 9,12-octadecadienoate	C19H34O2	0-00-0	336
111	7 - O x a b i c y c l o [ 4 . 1 . 0 ] h e p t a n e , 1-(2,3-dimethyl-1,3-butadienyl)-2,2,6-trimethyl-, 1-[(1E)=2,3-Dimethyl-1,3-butadienyl]-2,2,6- trimethyl-7-	C15H24O	59744-12-6	220
112	2,4-Dimethoxybenzyl alcohol Benzenemethanol, 2,4-dimethoxy- (2,4-Dimethoxyphenyl)methanol #	C9H12O3	7314-44-5	168
113	Benzaldehyde, 3,5-dichloro-2-hydroxy-, diphenylhydrazone	C19H14Cl2N2 O	0-00-0	356
114	2,5-Dimethoxybenzyl alcohol Benzenemethanol, 2,5-dimethoxy- (2,5-Dimethoxyphenyl)methanol #	C9H12O3	33524-31-1	168
115	Benzoic acid, 4-(methylthio)- Benzoic acid, p-(methylthio)- v p-(Methylthio)benzoic acid para-(Methylthio	C8H8O2S	13205-48-6	168
116	Benzoic acid, 3-(methylthio)- Benzoic acid, m-(methylthio)- 3-(Methylthio)benzoic acid 3-Mercaptobenzoic acid S-methyl ether	C8H8O2S	825-99-0	168
117	4',6'-Bis(1,1-dimethylethyl)-4,4"-dimethyl-1,1':3',1"-terphenyl-2'- ol	C28H34O	0-00-0	386
118	3,5,3',5'-Tetramethyl-4,4'-bis(trimethylsiloxy)biphenyl 3,5,3',5'-Tetramethyl-4,4'-bis(trimethylsilyloxy)biphenyl 3,3',5,5'-Tetramethyl-4,4'-	C22H34O2Si2	16286-53-6	386
119	Estra-1,3,5(10)-trien-17-ol, 3-[(trimethylsilyl)oxy]-, (17.beta.)- 3-[(Trimethylsilyl)oxy]estra- 1,3,5(10)-trien-17-yl acetate #	C23H34O3Si	29825-36-3	386
120	N-(2,7-Dipropoxy-fluoren-9-ylidene)-N'-phenyl-hydrazine	C25H26N2O2	0-00-0	386
121	Cobalt, 1,2-bis(diisopropylphosphino)ethane- cyclopentadienyl-	C19H37CoP2	0-00-0	386
122	1,3,7,1',3',7'-Hezamethyl-3,7,3',7'-tetrahydro-[8,8']biparinyl-2,6,2 '6'-tetraone	C16H18N8O4	126126-51-0	386
123	3,6,8-Trimethoxy-2-(4-acetoxyphenyl)-5-acetoxy-4H-1-benzopyr an-4-one [4-(Acetyloxy)phenyl]-3,6,8-timethoxy-4-oxo-4H-chromen-5-y	C22H20O9	112667-13-7	428
124	[6-Ethoxy-5-(1,1,2,2,3,3,4,4-octafluoro-butyl)-2-oxo-4-thia-1-aza-b icyclo[3.2.0]hept-3-ylidene]-acetic acid methyl ester	C14H13F8NO4 S	0-00-0	443
125	Cycloheptaneacetic acid, .alpha.-ethyl-, 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-dodecafluoroheptyl ester	C17H20F12O2	0-00-0	484
126	4H-1-Benzopyran-4-one, 3,5,7-trimethoxy-2-(3,4,5- trimethoxyphenyl)- Flavone, 3,3',4',5,5',7'- hexamethoxy- Hexa-O-methylmyricitin	C21H22O8	14813-27-5	402

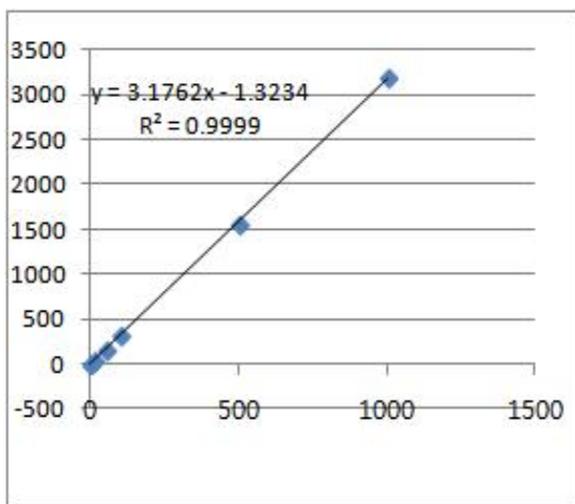
마. 오미자추출물 내의 에스트로젠 분석

(1) 분석 결과

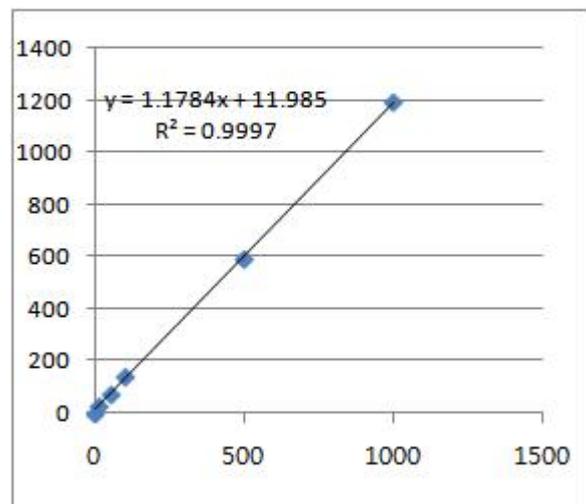
(가) 에스트로젠 MRM 그래프



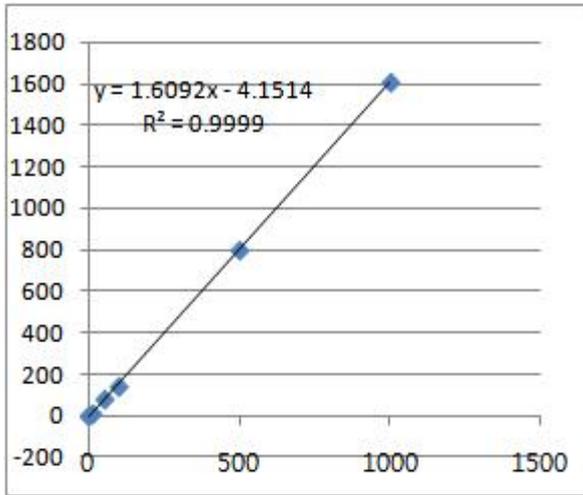
(나) 에스트로젠 std 4종 검량선 데이터



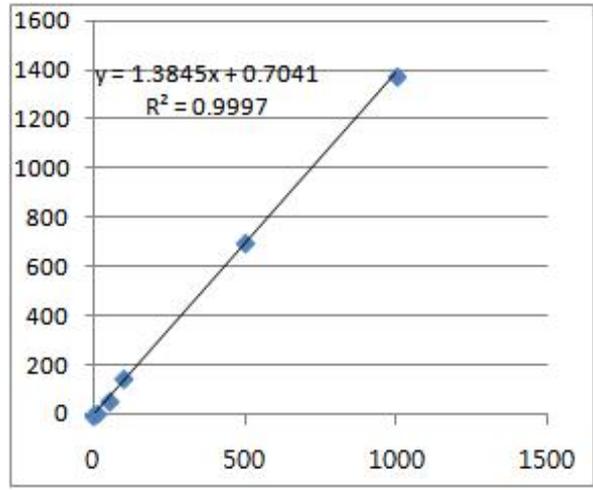
Estriol



α-Estradiol



**β-Estradiol**



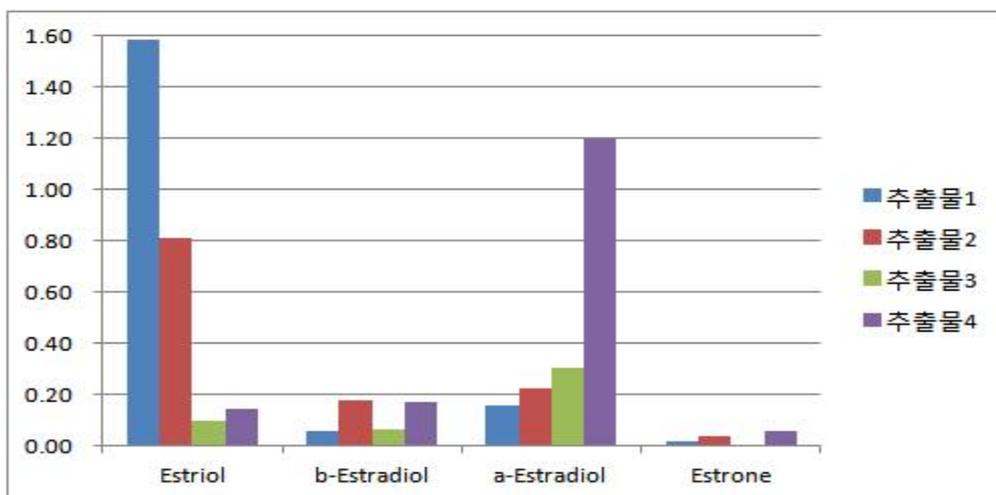
**Estrone**

(다) 오미자추출물의 조건별 에스트로겐 함량 비교

에스트로겐은 3종류가 있는데 E1(Estrone), E2(α-Estradiol, β-Estradiol), E3(Estriol)가 존재하고 E2가 주요 에스트로겐으로써의 작용을 하며 E2 중 α-Estradiol은 화학구조상 β-Estradiol과 방향성 달라서 성호르몬 글로불린과 결합하지 않아서 여성호르몬으로서의 작용은 미흡하다고 할 수 있다. 따라서 β-Estradiol이 주된 에스트로겐 작용을 한다고 볼 수 있다. 아래의 그래프에서 확인된 바와 같이 BMO-30의 경우 β-Estradiol이 다른 조건의 추출물에 비해 가장 많이 함유하고 있고 α-Estradiol과 β-Estradiol이 균등하게 분배되어 Balance를 이루고 있다.

그리고 Estriol의 함량은 추출물1, BMO-30가 높게 함유하고 있다고 분석된다. Estriol과 β-Estradiol의 경우 폐경기 증상과 관련한 증상 개선 효과를 나타낸 논문 및 연구 결과들이 존재하는 것으로 보아서 좋은 방향으로 해석해도 될 것으로 판단된다.

오미자는 유방조직 및 기타 암 조직에서는 α보다는 β의 발현을 증가시키는 쪽으로 작용하여 부작용 없이 선택적인 에스트로겐 수용체 조절(SERM)작용을 통해 골조직 및 자궁조직 등에서 좋은 효과를 보이고 있다고 할 수 있겠다.



## 바. 종합 해석 및 결론

폐경기와 갱년기에서 비만의 원인으로 지목된 에스트로겐 결핍으로 인해 제 2형 당뇨, 대사성증후군, 심혈관계 질환 등의 대사적 기능 이상을 나타내고 있고, 이들의 기전을 확인한 바 남성에게 비해 상대적으로 fat 양이 높은 여성의 경우 에스트로겐과 같은 성호르몬의 감소는 지방 대사의 이상으로 인한 피하지방의 손실과 내장성 지방의 축적을 야기 시킨다고 볼 수 있다. 또한 피하와 복부의 지방세포에서 estrogen receptors들이 발현되고 특히나 Estrogen Receptor- $\alpha$ 의 mRNA는 갈색지방 세포에서 중점적으로 발현되게 되며 ER- $\alpha$ 는 지방세포의 합성과 분해에서의 활성화 역할을 하는 주된 인자로서 작용하게 된다. 여기서 에스트로겐은 PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ), UCP2-UCP3(uncoupling proteins), AMP-kinase(AMPK) 등의 기작을 통하여 간과 근육에서의 lipogenesis, lipid oxidation 등을 조절함으로써 fat metabolism에 관여한다고 한다. 이러한 에스트로겐이 비만과 관련한 기전들에 영향을 미치기 때문에 폐경기와 갱년기 여성에게 있어서는 감소된 에스트로겐의 보충이 필수적인 요소로서 작용하게 된다. 아울러 에스트로겐의 HRT에 의한 경구 또는 경피로의 보충요법 외에 부작용이 없는 식물성 에스트로겐의 보충이 필요할 것으로 보여 진다.

에스트로겐이 estrogen receptor와 결합하여 작용을 하는 것과 마찬가지로 작용효과가 미약하기는 하나 phytoestrogen도 receptor와 결합하여 작용을 하며 조직에 따라서 estrogenic effect 또는 anti-estrogenic effect를 나타내는 것으로 보고되고 있다. 본 실험 결과 오미자 내에 E2가 존재한다는 것을 확인하였고, 이는 자체적으로 그 작용을 한다는 것을 의미함과 동시에 폴리페놀 등 E2 이외의 유사한 효능 물질을 가진 물질들이 phytoestrogen으로써 estrogenic effect를 상승시키는 역할을 한다는 것을 알 수 있었다.

앞서 제시된 바와 같이 Estrogen Receptor- $\alpha$ ,  $\beta$  발현 및 조골세포 분화실험에서 오미자 추출물인 BMO-30은 물론 친환경 컬럼 분획물인 EF-02와 EF-03에서도 우수한 효능을 보이고 있음이 확인되었다. 특히 lignan 및 polyphenol의 HPLC분석을 통해서 살펴본 바 EF-02는 폴리페놀류, EF-03은 Gomisins A를 고농도로 함유하고 있음이 확인되어 오미자에서 갱년기 효과는 어느 단일 물질에 기인하기 보다는 17- $\beta$ -estradiol과 폴리페놀류(Protocatechuic acid, caffeic acid) 및 리그난류(schizandrin, Gomisins A) 등 다양한 성분들의 복합적인 작용에서 발현되고 있음을 확인 할 수 있었으며 향후 이 물질들을 대상으로 하여 세부적인 효능 평가 및 물질 비교분석 등의 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

따라서, 연구자들은 본 실험을 통하여 오미자 추출물인 BMO-30에서 여성 호르몬인 estrogen 중 active estrogen인 17- $\beta$ -estradiol이 함유되어 있음을 세계 최초로 밝혀내는 쾌거를 이루었으며 또한 다수의 polyphenol compound를 분리 규명하여 이들 polyphenol과 17- $\beta$ -estradiol 등의 작용이 여성 갱년기에 효과적인 효능을 발현하는 것을 확인하게 되었다.

## 6. 오미자 추출물을 이용한 제형 연구

### 가. 오미자농축액 개발 결과

#### (1) 오미자 농축액 평가 결과

- 향 : 보편적으로 A번 향을 선호하는 의견이 많았으며 D번의 경우 시판용 오미자액이기에 당이 첨가된 상태라 감미취가 높다는 의견, C번의 경우 구수한 맛 품미 의견이 있었다.
- 색 : 색의 경우 A, B가 거의 독단적으로 높은 만족감을 나타내었다.
- 향미: 첫맛, 끝맛은 강한 신 맛으로 인해 전체적으로 첫,끝 맛의 만족감이 높은 점수를 나타 내지는 않았으나 특유의 오미자 향 자체 그대로 남아있는 A, B sample의 기호도가 높게 평가 되었다. 신맛은 당 무첨가 sample이여서 신 맛이 강하여 만족감이 전체적으로 낮다. 단맛은 D번을 제외하고는 단 맛이 전혀 없다는 의견들이 대부분이다. 쓴 맛, 떼은맛은 전체 적으로 다양한 평가가 나왔다.
- 바디감은 A, B sample이 대체적으로 높게 평가되었다.
- Balance는 전체적인 평가항목들을 고려했을 때에 A sample이 평가점수 높았다.

표 29 오미자 농축액의 관능평가 결과

	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
항목별 평가점수 (평균)	33.714/50	27.143/50	20.714/50	19/50
Defects	•	•	0.571	1.143
Final scoring	<b>33.714</b>	<b>27.143</b>	<b>20.143</b>	<b>17.857</b>
순위	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>

#### (2) 오미자 농축액 평가 결론

4가지 오미자 농축액의 관능평가를 실시한 결과 대체적인 만족도 면에서 A sample이 우수한 성적을 거두었다. A sample은 당사 오미자 착즙농축액으로 씨를 제거한 상태에서 착즙농축을 진행한 것이기 때문에 오미자 본연의 쓴맛을 제거하고 맛에 대한 호감도를 높였다고 볼 수 있다.

시판 오미자 추출농축액의 경우 다른 sample들에 비해 단맛이 강하게 느껴졌는데, 이는 울리고당과 같은 당이 추가적으로 첨가되었기 때문이라 생각된다.

당사 오미자 착즙농축액은 오미자 희석액의 그림에서 보는바와 같이 색에 있어서 본연의 오미자 색을 나타내고 있고, 별도의 단맛을 가미하지 않았음에도 쓴맛이 제거되어 충분한 바디감을 가지고 있음이 확인되었다.

## 나. 당첨가 오미자농축액 개발 결과

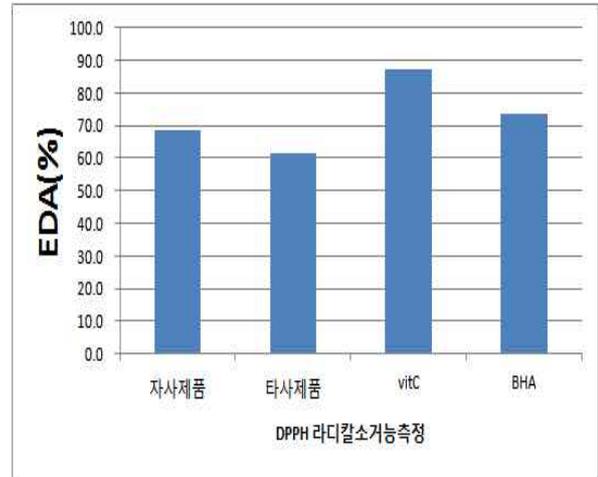
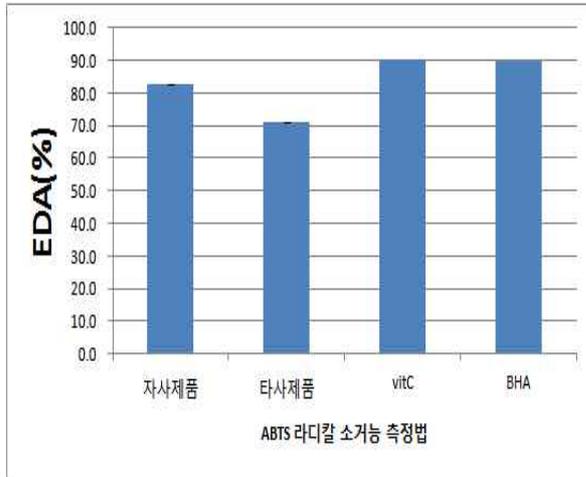
### (1) 비교분석 종합결과

구분	비교 항목	자사제품	타사제품
1	색상	 <p>[원액상태 비교]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>자사제품이 오미자고유의 붉은 색을 좀 더 많이 가지고 있음.</li> </ul>	 <p>[10배 희석상태 비교]</p>
2	당도	58brix	58brix
3	pH	2.67	2.96
4	수잔드린 함량(Area)	268	169
5	관능평가 점수	66.4점	33.8점
결론	<p>상기 제품 비교 시 같은 당도를 기준으로 가격적인 면에서도 우수하고, 타사제품 대비 23% 더 많은 수잔드린을 가지고 있음.</p> <p>관능평가 결과 색, 향, 향미, 바디감 및 balance 평가에서 좀 더 좋은 점수를 나타내었으며, 기타 실험결과(항산화능, 폴리페놀 함량, 수잔드린 함량 등)에서도 마찬가지로 자사제품이 좀 더 우수한 것으로 확인됨.</p>		

### (2) 비교분석 결과 데이터

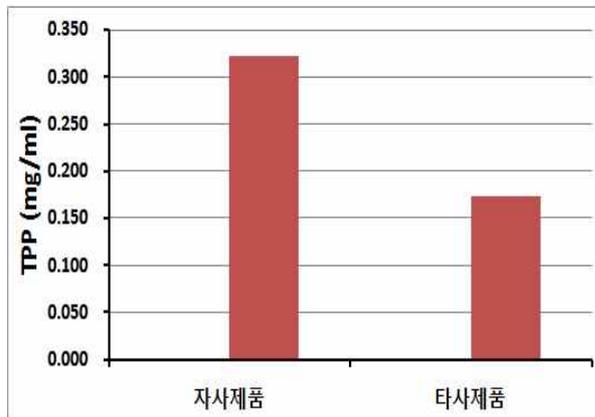
#### (가) 항산화능 비교 분석

자사제품과 타사제품과의 항산화능 지표인 ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과 자사제품이 비타민 C, BHA 만큼의 항산화능을 가지고 있다는 것을 확인한 것은 물론 타사제품보다 더 높은 항산화능을 가지고 있음을 확인하였다.



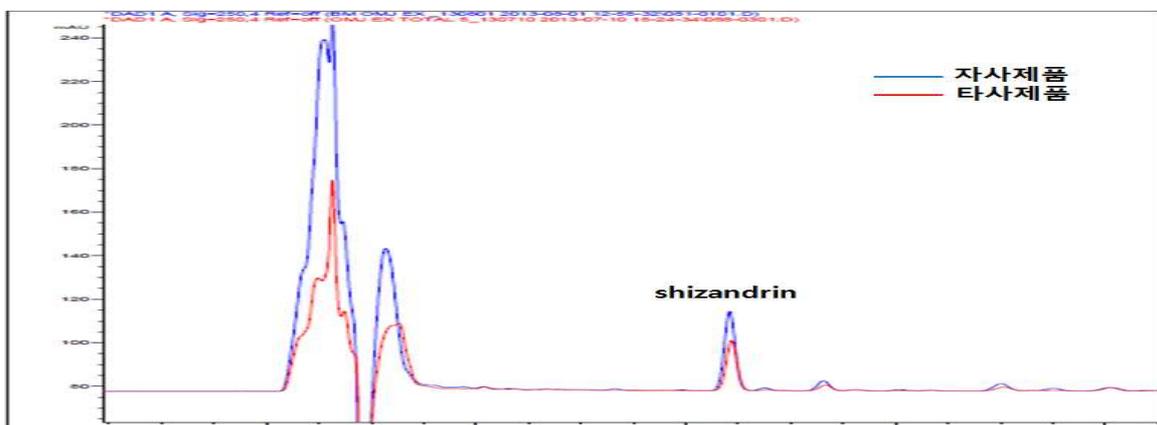
(나) 폴리페놀 비교 분석

총 폴리페놀 분석결과 자사제품이 타사제품보다 2배가량 높음을 알 수 있었다.



(다) 쉬잔드린 함량 HPLC 비교 분석

쉬잔드린 함량 비교결과 자사제품이 타사제품보다 좀 더 많은 쉬잔드린 함량을 함유하고 있음을 확인하였다.



(라) 관능평가 결과

자사제품이 향, 색, 향미, 바디감, Balance 각 항목에서 65%, 74%, 59%, 71%, 63%의 비율을 차지하여 타사제품보다 우위에 있음을 확인하였다.

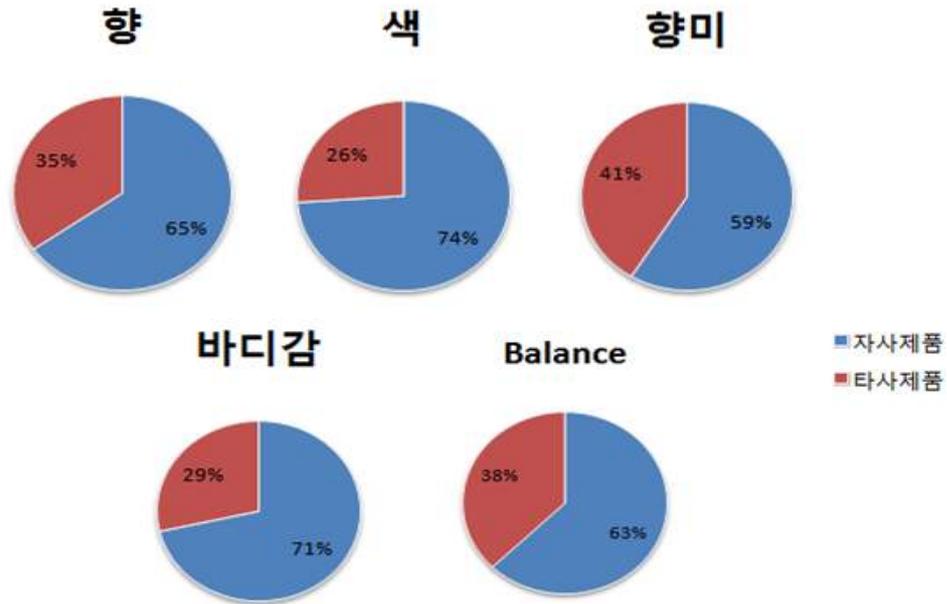


그림 62 자사와 타사제품에 대한 항목별 기호척도(%)

다. 오미자티백차 개발결과

(1) 1차 TEST 결과

건오미자의 가공조건을 달리하여 4가지로 제조한 후 색, 투명도, 침출속도, 맛 등을 비교한 결과 오미자를 볶을 경우 색이 갈색으로 변하여 볶는 가공은 하지 않기로 결정을 하였다. 또한 분쇄가 너무 잘될 경우 티백 내포장지 밖으로 미세분말들이 빠져나와 좋지 않은 성상을 볼 수 있었다. 그래서 오미자를 적당히 분쇄하여 과육, 씨 및 종피를 분리시킨 후 적절하게 어우러진 비율의 티백샘플을 찾았고 온차와 냉차 및 끓임 실험을 통해 적당한 침출색을 나타내고 쓴맛도 강하지 않으며 5가지 맛이 밸런스를 갖춘 샘플을 선정하였다.

항목	A샘플	B샘플	C샘플	D샘플
색	붉은색	붉은색	연한갈색	진한갈색
투명도	투명	불투명	투명	투명
침출속도	느림	느림	빠름	빠름
맛	맛과 색이 가장 좋음	이물감이 있음	오미자특유의 맛이 나타나지 않음	가볍고, 밋밋하며 단순함, 산미 ↓

A. 건오미자 → 분쇄(믹서기) → 중간분류물, B. 건오미자 → 분쇄(믹서기) → 마지막분류물 (미세분말), C. 건오미자 원물 1차 볶음 → 분쇄(탈피), D. 건오미자 원물 2차 볶음 → 분쇄(탈피)

## (2) 2차 TEST 결과

제조방법을 결정하여 제작한 샘플 선정 후 티백양 결정을 위한 관능평가 분석 결과 1.1g의 경우 맛이 너무 밋밋하고 싱거운 느낌이 강하여 제외시켰고, 1.3g과 1.5g을 비교한 경우 1.3g 샘플은 50점 만점의 38.6점의 점수를 기록했고, 1.5g 샘플은 30.3점의 점수를 기록하였다. 관능미와 더불어 경제성 등의 복합적이 요인들을 고려하여 최종 1.3g으로 확정하였다.



그림 63 2차 Test 샘플

## (3) 자사제품과 타사제품과의 비교 실험 결과

- 향 : 자사제품이 가장 오미자의 본래의 향과 비슷하였고 B,C는 향이 사라졌다.
- 색 : 색의 경우 자사제품과 B가 거의 독단적으로 높은 만족감을 나타내었다.
- 향미 : 첫맛, 끝맛은 강한 신 맛으로 인해 전체적으로 첫,끝 맛의 만족감이 높은 점수를 나타내지는 않았으나 특유의 오미자 향 자체 그대로 남아있는 자사제품, A의 기호도가 높게 평가 되었다. 신맛은 당 무첨가 sample이여서 신 맛이 강하여 만족감이 전체적으로 낮지만, 자사제품, A의 기호도가 높게 평가 되었다. 단맛은 전체적으로 단맛의 기호도는 높지 않았다. 쓴 맛, 떫은맛은 B,C에서 기호도가 낮게 평가되었다.
- 바디감은 자사제품, A가 대체적으로 높게 평가되었다.
- Balance : 전체적인 평가항목들을 고려했을 때에 자사제품이 평가점수가 가장 높았다.

항 목	자사제품	A사제품	B사제품	C사제품
시료양	1.1g	1.2g	1.5g	1g
탁도	투명	약간 탁함	탁함	약간 탁함
색도	연한 홍색	갈색	갈색	밝은 핑크색
산미	산미 부족	산미 부족	산미 적음	산미 좋음
당도	당도부족	당도부족	약간 존재	약간 존재
전체적인 맛	심심한 맛	색, 맛 변화	쓴맛	진한맛, 떫은맛
잔사물 정도	없음	약간 존재	심함	약간 존재
특징	침출능력 부족 진한느낌 부족	색과 맛이 변화 되어 기호성 감소	기름향이 강해 기호성 감소	내용물이 많아 침출의 어려움

위 4종의 오미자 티백 제품들의 관능평가를 실시한 결과 대체적인 만족도 면에서 자사제품이 우수한 성적을 거두었다. 오미자 특유의 향을 가지고 있으며 색 또한 붉은 색을 유지하도록 개발하였으며 신맛과 단맛 등의 당산비를 고려하여 전체적인 balance를 조화롭도록 만든 것이기 때문에 호감도가 높았다고 볼 수 있다. 자사 오미자 티백제품은 본연의 오미자 색을 나타내고 있고, 별도의 단맛을 가미하지 않았음에도 쓴맛이 제거되어 충분한 바디감을 가지고 있음이 확인 되었고, 이를 이용한 현재 제품판매가 진행 중이다.



그림 64 오미자 티백차 자사제품

#### 라. 오미자함유 혼합액상차(생맥산) 개발 결과

20~50대의 남녀 성인들을 대상으로 시음회를 실시하여 최종 제품은 추출액B로 선정하였고, 관능평가 시 평가자에게 배부되었던 관능평가지는 <별첨2>에 첨부하였다. 현재 생맥산 제품은 포장 디자인이 완료되었고 현재 생산 중에 있고 판매를 앞둔 상태이다.



그림 65 오미자 혼합액상차 자사제품

<별첨2> 관능평가지

최종 제품 결정을 위한 관능평가				
시험일		성 별	남 / 여	시험자
평 가 목 적	최종제품의 레시피 결정을 위한 관능평가			
평 가 방 법	아래의 평가척도를 잘 읽어보시고 제시된 각 시료의 맛을 보아 그 시료에 대하여 귀하가 느끼는 만족, 불만족의 느낌을 가장 잘 묘사한 <b>기호척도의 해당 번호와 의견을 적어주십시오.</b>			
평 가 척 도	<p>1)향: 향이 좋을수록 높은 점수를 부여해주세요.</p> <p>2)색: 시각적으로 좋은 색감을 가지고 있는지 색에 만족할수록 높은 점수를 부여해주세요.</p> <p>3)향미: 각각의 맛에 대한 느낌을 평가하는 항목</p> <p>4)바디감: 음료의 부드러운 느낌을 평가하는 항목. 부드럽거나 청량감이 느껴질수록 높은 점수를 부여해주세요.</p> <p>5)Balance: 앞서 느낀 향, 뒷맛, 신맛, 바디감을 종합적으로 고려해 평가하게 되는 항목. 이 네 가지 항목이 얼마나 조화롭게 맛을 구성하고 있는지 평가한 후 <b>조화로우수록 높은 점수를 부여</b>해주세요.</p> <p>6)Defects : 맛과 향에 있어 심각한 결점이 있을 경우에만 표시해주세요.</p> <p>(이상이 없을 시 <b>0점</b>, 맛or향에 이상이 있을 시 <b>2점</b>, 맛과 향 모두 이상이 있을 시 <b>4점</b>으로 표시해 주세요.)</p>			
항 목	[기호척도]		항목별 기타의견	
1)향				
2)색				
3)향미	첫 맛			
	끝 맛			
	신 맛			
	단 맛			
	쓴 맛			
	떫은 맛			
4)바디감				
5)Balance				
6)Defects				
[종합 의견] 전체적인 느낌 혹은 개선사항 및 추가할 사항에 대한 의견을 작성해 주세요				

## 제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절. 목표 달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구수행내용	달성도 (%)	
1차 년도 (2011)	오미자추출물의 갱년기 장애 개선 기능성 물질 탐색 및 임상시험 수행	○ 생과/건과, 각 전처리별 유효 성분 함량 비교 ○ 오미자 전처리 방법 확립	○ 생과/건과 준비 ○ roasting, puffing, Fermentation, 초임계 등의 전처리 방법 탐색 ○ 유효성분 함량 비교	100	
		○ 대량생산을 위한 경제적 추출공정 확립 ○ 유효성분 rich fraction 추출 공정 개발 ○ 활성 성분에 대한 NMR을 통한 구조 동정	○ 친환경적 추출 및 분획 설정을 통한 경제적 공정 확립 ○ 유효성분 후보군에 대한 rich fraction 설정 및 공정 개발 ○ 효능 시험 등을 통한 활성 성분 탐색 진행	100	
		○ 건강식품시장 현황조사 및 구매 예상처 공동 기술 개발 협력	○ 건강식품시장 현황조사 ○ 구매 예상처 공동 기술 개발 협력 구축	100	
	오미자 추출물의 에스트로겐 활성 물질 효능 검증	○ 활성 성분의 에스트로겐 활성 탐색	○ 에스트로겐 수용체 반응 탐색 (ER competitive binding assay): radioactivity measurement를 활용한 17-estradiol과 오미자 추출물의 estrogen 수용체 결합 반응 평가 ○ 세포증식도 실험 (MCF-7 cell proliferation assay): MTT를 활용하여 estrogen에 활성을 보이는 MCF-7 cell의 세포 증식도 평가	100	
		○ 조골세포증식도 실험 - UMR106 cell에 대한 세포 증식도 평가	○ 조골세포증식도 실험 (osteoblast like cell line): UMR106 cell에 대한 세포증식도 평가	100	
	오미자 전처리 공정 연구 및 안전성 평가	○ 오미자 샘플 확보	○ 국내 오미자의 수확시기별 및 산지별 시료 수집	100	
		○ 1차 위해성 평가	○ 수집된 오미자 샘플에 대하여 위해성 평가를 위한 잔류농약 및 중금속잔류 분석	100	
	1차년도 소계				100

2차 년도 (2012)	오미자추출물 규격 확립 및 임상연구 준비	○ 원료제형 공정 연구 및 확립	○ 유효성분의 loss를 최소화 하는 원료제형 공정 연구 및 확립 ○ 친환경 추출공정 확립 ○ 기존 시판 오미자 제품과의 비교 연구	100	
		○ 안전성 검토 및 유효성 검증	○ 안전성 및 유효성 관련 자료 문서화 작업 ○ 지표물질 선정 확인 및 동정	100	
		○ 임상시험용 건강기능식품 생산	○ 정제를 통한 임상시험용 건강기능식품 생산	100	
		○ IRB 제출 및 승인	○ 안전성 및 유효성 관련 자료 작업을 통한 임상시험기관 IRB 제출 및 승인 =>IRB 제출자료 작성완료하였으며, 임상기관 변경으로 인하여 지연	100	
		○ 개별인정형 건강기능식품 식약청 규격 설정	*당초 3차년도에 수행 계획되었으나 인체실험 적용 전에 규격화 완료하기 위하여 당해 년도에 추진하여 완료하였음.  ○ 지표물질 기준규격 설정 ○ 중금속, 미생물, 잔류농약 규격 설정 ○ 영양성분 분석	100	
	오미자추출물의 비임상 효능 연구	○ 식물성에스트로겐의 비임상 효능 검증	○ 갱년기 및 골다공증 모델을 이용한 효능 및 활성 평가 -갱년기 및 골다공증 동물 모델 (난소적출모델) 구축 : 체중, 난소 무게의 변화 측정 -serum analysis를 통하여 혈중 estradiol 농도 확인 -histology : 대퇴골의 head의 비대증 확인 -bone mineral density (BMD) : 골밀도 변화 측정	100	
		○ 오미자 추출물의 안전성 연구	○ 간, 신 독성 평가를 위한 병리 검사 및 평가 - 간독성 지표물질 확인 : AST (SGOT), ALT (SGTP) - 신독성 지표물질 확인 : BUN (blood urea nitrogen), creatinine	100	
	2차년도 소계				100

3차 년도 (2013)	오미자 추출 물 임상연구 및 식약청 규 격 설정, 시제품 제작	○ IRB 제출용 결과보고서 작성	○ IRB 종료보고서 제출 ○ IRB 제출용 결과보고서 작성	100
		○ 효능물질 확인 및 동정	○ 효능물질 탐색 및 확인 ○ 시판 갱년기 여성용 제품 원료들에 대한 비교 실험	100
		○ 개별인정형 건강기능식 품 식약청 규격 설정	○ 개별인정형 건강기능식품 식약청 규격 설정 및 자료 확보	100
		○ 임상시험 진행 : Kufferman Index	○ 임상시험 완료 : Kufferman Index, MRS	100
		○ 이상반응 보고	○ 이상반응 보고	100
		○ 세계시장 기호도 조사 및 기초 마케팅 조사	○ 세계시장 기호도 조사 및 기초 마케팅 조사	100
		○ 식품의 완제형 연구(음 료, 캡셀, 정제, 산제 등)	○ 식품의 완제형 연구(음료, 캡셀, 정제, 티백, 농축액 등)	100
오미자 추출 물의 갱년기 개선 효능 기 전 연구	○ 자궁의 Estrogen receptor- $\alpha$ , - $\beta$ expression 확인 및 골다공증 개선 기 전 연구	○ 자궁조직의 Estrogen receptor- $\alpha$ , - $\beta$ expression 및 c-fos, c-Jun expression 확인	100	
	○ 조골세포 분화 효능 확 인	○ 골세포 Histology 및 혈중 osteocalcin 확인 ○ 갱년기 비민모델 구축 -체중변화, 자궁두께측정, 식이효율 측정, 골수세포 양 측정, 지방함 량 측정, 지방조직 Histology 등	100	
3차년도 소계				100
총 계				100

## 제 2 절. 관련분야 기여도

### 1. 오미자의 새로운 생리 기능성 검증

- 오미자는 그동안 주로 건조물로써 한약재로만 사용되어 왔으며 최근 4~5년 전부터 설탕절임 방식의 오미자 청으로 이용되면서 식품으로 사용되기 시작하였음.
- 오미자는 한약재에서 주로 심장, 간장, 기, 혈의 부족 증상에 사용되어 왔으며 동의보감에서도 내경편에서 인신의 형기를 양생하며 정액, 기의 변조, 신경정신에 작용하는 증후를 다스리며 체내의 비생리적 작용을 조절하는 역할을 한다고 하였고, 외형편에서는 눈, 피부, 맥박, 생식기, 항문의 이상 현상을 다스리는 효력이 있다고 하였으며, 잡병편에서는 노약자와 허약하고 마른자, 해수, 응저, 심한 갈증을 느끼는 자 등에 효능을, 탕액편에서는 담, 폐, 신장을 보호하는 기능을 말하고 있는 등 주로 虛와 精, 腎에 해당되는 증상에 사용되고 있음.
- 또한 동의약학에는 주로 기(氣)와 폐를 보하여 기침을 멈추게 하고 신장을 보하고 정(精)도 보하여 눈을 밝게 한다고 되어 있으며, 향약대사전에는 중추신경의 흥분과 기능을 높이고 심장혈관 계통을 조정하여 혈액순환을 개선할 수 있으며 중심 및 주위시력의 민감성을 현저하게 증가시키고 자궁을 흥분시켜 자궁의 수축을 증가시킨다. 또 혈압을 강하시키며 뚜렷한 진해거담작용이 있다. 위액의 분비를 조절하고 담즙분비를 촉진하며 특히 간염환자에 현저한 효과를 나타낸다고 기록되어 있고, 방약합편에는 갈증을 멎게 하고 오래된 해수와 허로를 치료하고 폐, 신장을 보해 준다는 기록이, 신농본초경에는 기를 늘리고 기침과 천식, 노상(勞傷), 쇠약증을 다스린다. 허약을 보하고 정력을 기른다고 기록되어 있으며,
- 특히 천금방에는 양사불기(陽事不起)에 효과를 본다고 되어있고, 외방유취에서는 오미자를 식사 전에 내복하면 자양 강장제, 거담, 진해제 또는 수렴제로 정(精)을 증진하고 내분비액의 분비를 촉진시킨다고 하는 등 허와 신, 정에 연관되는 해설이 다수 있어왔음.
- 오미자에 대한 과학적 연구는 주로 관절염, 비만, 간보호, 항산화 등에 대하여 시행되어 왔을 뿐 호르몬 대체제로서의 연구는 시행된 바가 없었음.
- 금번 연구에 참여한 연구자들은 기존 한의학 서적에 기록된 오미자의 대중적 효능을 해석하는 한편 기존 학술지에 게재된 오미자의 생리활성 등을 분석하여 오미자의 호르몬 대체제로서의 가능성을 확인하고 실험에 착수하게 되었으며,
- 세포실험과 동물실험을 통하여 여성호르몬 수용체에 대한 민감도 및 유사호르몬으로서의 생리기능 활성을 검증하였으며
- 특히 여성호르몬의 생리적 기능을 담당하는 Estradiol 성분이 오미자 추출물에 직접 함유되어 있음을 세계 최초로 밝혀내는데 성공하였고
- 인체적용시험을 통한 대조군 실험 결과 갱년기 여성에서 안면홍조, 우울감 등 대표적 갱년

기 증상 인자들이 개선되었음을 확인하여 오미자 추출물이 그동안 알려지지 않았던 새로운 기능활성인 여성호르몬 대체제로서 활용가능하게 되었음을 확인하는 획기적 성과를 거두게 되었음.

## 2. 오미자 신규 생리활성물질 분석 규명

- 오미자의 주요 성분은 Lignan류로, Schizandrin, deoxyschizandrin, r-schizandrin, gomisins A-J, N-Q, wuweizi A, B, gomisins K1, K2, K3, acetylgomisin P, tigloygomisin, benzoylgomisin H, angeoylgomisin Q. 등이 알려져 있으며
- Sesquiterpene으로서  $\alpha,\beta$ -chamigrene,  $\beta$ -chamigrenal,  $\delta$ -ylangene, sesquicarene., 유기산류로서 Citric acid, malic acid, tartaric acid, succinic acid, ascorbic acid, protocatechuic acid. 등이 보고되어 있음.
- 본 연구를 통하여 연구자들은 그동안 오미자에서는 존재 유무를 확인할 수 없었던 Estrogen의 구조가 존재하고 있으며 그 중 Estrogen 활성이 높은 Estradiol 성분의 함량이 높게 함유되어 있음을 규명하였고, 특히 유방암 등의 발생 인자와 관련이 없는  $\beta$ -estradiol의 함량이 높게 함유되어 있음을 규명하였음.
- 이는 그동안 식물성 에스트로겐 제제로서 각광을 받아왔지만 최근 다양한 부작용이 보고되면서 활용 빈도가 떨어진 승마 추출물, 이소플라본 등과는 대조적인 결과를 가져올 수 있는 긍정적인 결과로 받아들여지고 있으며 향후 대조군 비교 및 조건별 함량 비교연구 등 추가 연구를 통하여 오미자의 에스트로겐 성분에 대한 연구를 지속할 예정임.

## 3. 여성갱년기 건기식 분야 신규원료 등록

- 2014년 현재 국내 여성갱년기 증상개선 시장은 의약품인 승마추출물을 비롯하여 건강기능식품인 석류농축액과 회화나무열매추출물, 백수오복합추출물이 식약처의 승인을 득하여 공급 중에 있으나 대부분의 시장을 백수오복합추출물이 과점하고 있는 형태임.
- 본 연구에 의한 오미자추출물은 기존 건강기능식품 원료에 비해 보다 높은 생리활성으로 시장을 선점할 수 있을 것으로 예상되며 국산 원료의 안전성과 높은 기호성 등으로 소비자의 사랑을 받을 수 있을 것으로 판단됨.
- 또한 이제껏 알려지지 않았던 오미자의 새로운 인체 생리활성이 규명되어 새로운 소비를 창출하는 효과를 가져오는 성과를 기대할 수 있음.

## 4. 오미자 기능성 원료규격 표준화

- 그동안 오미자는 건조하여 한약재로 사용하거나 생과 그대로를 당침용 오미자청으로 담가 먹는 방식으로만 이용해 왔기 때문에 건강기능식품으로서의 안전성, 안정성 및 유효성 확보를 위한 품질관리 기준 및 관리규격 설정이 되어있지 않았던 상황임.
- 본 연구를 통하여 오미자 추출물의 신규 생리활성 및 기능성을 과학적으로 증명하는 한편, 섭취 안전성 및 물질 안정성을 확보하고 품질관리 지표 설정 등 기능성식품 원료로서의 규격을 설정하였음.

## 5. 오미자 농산물 신규 소비처 창출

- 본 연구를 통하여 기존에는 전혀 사용된 바 없는 새로운 시장인 여성갱년기 건강기능식품 시장에 오미자를 론칭하는 절대적인 계기를 마련하게 되었음.
- 백수오 복합추출물로 인해 대폭적인 성장이 지속되어온 국내 여성갱년기 건강기능식품 시장은 2013년 1,500억원 가까이 성장하였고 2014년에는 2천억원을 상회할 것으로 전망되며 오미자 추출물의 론칭으로 시장은 더욱 큰 폭으로 성장할 것으로 예상함.
- 특히 그동안 설탕을 이용한 당 절임 형태의 오미자 청 용도에 생산 오미자의 대부분을 소비하고 있었으나 최근 설탕음료, 설탕발효 등의 문제점이 언론에 보도되면서 침체 위기에 직면한 오미자 시장에 과학적이고도 체계적인 연구 결과에 의한 기능성 식품의 등장은 새로운 활로를 개척해주는 긍정적 효과를 연출할 것으로 확신함.
- 여성갱년기 시장은 앞으로도 잠재 수요가 폭발적으로 증가하여 향후 현재의 5배 이상으로 확대될 전망이며 이와같은 시장의 성장에 따라 주원료인 오미자의 수요도 급성장하여 당초 목표 성과지표인 농산물 소비증대의 목적에 부합하는 결과를 가져오게 될 것으로 판단됨.

## 제 5 장. 연구개발 성과 및 성과활용 계획

### 제 1 절. 연구개발 성과

#### 1. 건강기능식품원료 표준 규격 확립

##### 가. 효능 규명

- 세포실험 및 동물실험을 통하여 오미자추출물이 Estrogen Receptor- $\alpha, \beta$  expression, c-Fos 및 c-Jun expression 등에서 여성갱년기 증상 개선에 유의한 효과를 나타내는 것을 확인하였으며 조골 세포의 분화 효능을 유의성 있게 나타내어 phyto-estrogenic effect가 큰 것으로 확인되었음.
- 또한 오미자추출물이 자궁 무게를 증가시키고 혈중 estradiol 농도를 유의성 있게 증가시키는 것을 확인하였으며
- 골밀도를 농도 의존적으로 증가시키고 대퇴골 head의 성장판 비대증을 완화시키며 세포간의 구멍크기를 유의성 있게 감소시켜 갱년기의 대표적 증상인 골다공증에도 큰 효과를 나타내는 것을 확인하였음.
- 이중맹검 대조군 인체적용시험을 통하여 안면홍조 및 우울감 등 유의적 개선이 있음을 확인하였음.

##### 나. 원료 기준규격 설정

- 품질관리 지표물질로서 Gomisin-N을 설정하여 오미자 추출물의 관리규격을 설정하였으며, 원재료에서 각 가공과정별 관리지표 시험법을 설정하여 제조공정을 확립하였음.
- 유효농도를 설정하여 1일 섭취량을 결정하였으며 이에 대한 안전성 검토를 마쳤음.
- 식약처 건강기능식품 원료 기준규격에 부합하는 원료의 표준규격을 설정하였음.

##### 다. 안전성 확보

- 오미자추출물의 납, 비소 등 중금속과 잔류농약성분 함량기준을 설정하여 공인기관의 분석 검증을 완료하였으며 섭취근거 및 섭취량 근거를 확보하였음.

## 2. 식약처 건강기능식품 개별인정형 원료 기준규격서 작성

항 목	주요 내용
1.원료명	오미자추출물
2.기능 (지표)성분	지표성분 : Gomisin N
3.제조공정	<div style="text-align: center;"> <hr/> <p>(1) 제조공정</p> <hr/> <div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center; gap: 10px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;">원재료</div> <div style="font-size: 20px;">↓</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;">세척</div> <div style="font-size: 20px;">↓</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;">추출</div> <div style="font-size: 20px;">↓</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;">여과</div> <div style="font-size: 20px;">↓</div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px;">농축</div> </div> <hr/> </div>
4. 규격 및 시험방법	<p>1) 색상 : 이미 이취가 없고 고유의 향미가 있는 진한 적갈색 점조성 액상</p> <p>2) Gomisin N (지표성분) : 0.456~0.684mg/g</p> <p>3) 납(mg/kg) : 7.0 이하</p> <p>4) 총비소(mg/kg) : 1.0 이하</p> <p>5) 카드뮴(mg/kg) : 1.0 이하</p> <p>6) 총수은(mg/kg) : 1.0 이하</p> <p>7) 세균수: 음성, 대장균군 : 불검출</p>
기능(지표) 성분 시험 방법	<p>① 시험용액의 조제 및 정량시험</p> <p>가. 시험은 대한약전 오미자의 정량법에 준하여 진행하였다.</p> <p>나. 시험용액의 제조</p> <p>ㄱ) 시료 약 500 mg을 정밀히 달아 메탄올 20 ml에 용해한 후 20분간 초음파 추출하여 여과한다.</p> <p>ㄴ) 잔류물에 MeOH 20 ml을 넣어 20분간 초음파 추출, 여과한다.</p> <p>ㄷ) 여액을 합하여 메탄올로 최종 50ml 정용한 후 0.45 μm PTFE membrane syringe filter로 여과하여 시험용액으로 사용한다.</p>

		<p>② 시험조작</p> <hr/> <p>고속액체크로마토그래피 조건</p> <hr/> <table border="0"> <tr> <td>검출기</td> <td>자외부흡광광도계 (측정과장 254nm)</td> </tr> <tr> <td>컬럼</td> <td>Shiseido Capcell PAK C18 MG, 4.6 mm×250 mm</td> </tr> <tr> <td>컬럼온도</td> <td>30℃</td> </tr> <tr> <td>이동상</td> <td>acetonitrile : water : formic acid = 70 : 30 : 0.1</td> </tr> <tr> <td>유량</td> <td>0.6ml/min</td> </tr> </table> <hr/> <p>③ 계산</p> $\text{고미신 N의 양 (mg/g)} = \frac{\text{검량선결과(ug/ml)} \times \text{최종량(ml)} \times \text{희석배수} \times \text{표준품순도}}{\text{시료채취량(mg)}}$	검출기	자외부흡광광도계 (측정과장 254nm)	컬럼	Shiseido Capcell PAK C18 MG, 4.6 mm×250 mm	컬럼온도	30℃	이동상	acetonitrile : water : formic acid = 70 : 30 : 0.1	유량	0.6ml/min
검출기	자외부흡광광도계 (측정과장 254nm)											
컬럼	Shiseido Capcell PAK C18 MG, 4.6 mm×250 mm											
컬럼온도	30℃											
이동상	acetonitrile : water : formic acid = 70 : 30 : 0.1											
유량	0.6ml/min											
	규격외 (잔류농약)	BHC 외 58종 불검출 또는 기준치 이하 검출										
5. 안전성	(1)의사결정도	의사결정도 “나”에 해당										
	(2)섭취근거	<p>&lt;인정현황&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 : 식품공전 상 사용가능 원료로 등재 되어 있음</li> <li>- 미국 : FDA New Dietary Ingredient(NDI)로 오미자차, 오미자청 등의 유사원료가 등재(“2011)</li> <li>- 중국 : 보건식품 원료관리에 관한 규범 통지(2002) 51호에 따르면 오미자는 보건식품 품목으로 등록되어 있음.</li> </ul> <p>&lt;사용현황&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 : 신청원료 함유 제품이 국내에서 문경오미자 등의 제품명으로 판매되고 있음</li> <li>- 미국, 일본, 중국 등 : Nature’s Way schisandra Berry Fruit 제품명으로 신청원료가 580mg 함유된 제품이 판매되고 있음</li> </ul>										
	(3)안전성 정보	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 세포 독성 시험 결과 500ug/ml 수준 까지 XTT 실험에서 세포 독성이 나타나지 않음</li> <li>◦ 오미자가 약용으로 사용될 경우, 자료에 의하면 5~15 g/day가 사용되었다.</li> <li>◦ Crude schisandra decoction (달임액)의 형태로는 5-15 g/day가 사용됨</li> </ul>										
	(4)섭취량 평	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 원재료의 섭취량 : 원재료로서 1,741mg/일 (수율 환산 적용)</li> </ul>										

	가	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 신청원료의 섭취량 : 신청원료로서 783mg/일</li> <li>◦ 신청원료와 관련한 전통적 사용량 : 동의보감에서 오미자당은 적용증에 따라 1-3전(錢) (3.75-11.25g)의 범위로 사용됨.</li> </ul>				
	(5)인체적용시험	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 연구디자인: Double blind, Randomized, Placebo controlled Trial</li> <li>◦ 연구대상자: KI&gt;15 인자, 40~70세, 여성 40명</li> <li>◦ 심각한 이상반응은 확인되지 않음(783mg/day 기준)</li> </ul>				
	(6)독성 시험 기타 사항	불필요				
	(7)섭취 시 주의사항	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ 위 및 십이지장 궤양 환자는 섭취 시 주의</li> <li>◦ 고혈압, 뇌압 환자는 섭취 시 주의</li> <li>◦ 기침이나 발진 등의 초기 증상일 때, 몸에 열이 있는 사람 등은 복용을 피해야 함</li> <li>◦ 전초에는 알레르기 작용이 있어 피부병과 같은 발진이 발생할 수 있음</li> </ul>				
25. 기능성	신청 기능성	여성 갱년기에 도움을 줄 수 있음				
	신청 일일섭취 량	신청원료로서 783mg/일(627.0-940.5mg/일)				
	시험관시험	실험물 질	실험계	실험방법	결과	비고
		오미자 추출물	MCF- 7Cell, UMR1 06Cell	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 추출물의 Estrogen Receptor-<math>\alpha</math>, Estrogen Receptor-<math>\beta</math> Expression 확인</li> <li>• 추출물의 c-Jun, c-fos Expression 확인</li> <li>• 추출물의 조골세포 분화 효능 확인</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estrogen Receptor-<math>\alpha</math>,<math>\beta</math>expression, c-Fos 및 c-Jun expression 등에서 유의한 효과를 나타내었음.</li> <li>• 조골 세포의 분화 효능을 유의성 있게 나타내어 phyto-estrogenic effect가 큰 것으로 확인되었음.</li> </ul>	SCI 계재
동물시험	시험물 질	실험동 물	섭취량/ 섭취기간	바이오마 커	결과	비고
	오미자 추출물	ICR mouse, 4주령	1,10,100 mg/kg,, 6주	Uterine weight Estradiol , BMD, 대퇴골 histology	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 추출물이 자궁무게를 증가시켰고, 혈중 estradiol 농도를 유의성 있게 증가시켰음.</li> <li>• 추출물이 골밀도를 농도 의존적으로 증가시켰음.</li> <li>• 추출물이 대퇴골 head의 성장판 비대증을 완화시켰고 세포간의 구멍크기를 유의성있게 감소시켜 골다공증 증상에 효과가 큰 것으로 확인됨.</li> </ul>	SCI 계재

	인체적용시험	시험물질	디자인	대상자	섭취량/ 섭취기간	바이오마 커	결과	비고
		오미자 추출물	Double blind, Randomiz ed, Plecebo controlled Trial	KI>15, 40~70세, 여성 40명	783mg/d ay, 12주	KI지수, MRS점수, Estradiol, hormone, 골밀도	KI지수에 대한 유의적인 차이를 보였고, 혈액검사 항목에 대한 임상적 유의성은 보이지 않음	IRB에 결과보 고

### 3. 논문 및 특허

#### 가. 논문 게재

##### (1) SCI

- Ameliorative effects of schisandra chinensis on osteoporosis via activation of estrogen receptor ER- $\alpha$ / $-\beta$ , Food&Funtion, 15(7), 1594-601, 2014

##### (2) SCIE

- schisandra chinensis exhibits phytoestrogenic effects by regulating the activation of estrogen receptor- $\alpha$  and  $-\beta$ , Chinese Journal of Integrative Medicine, 2014

##### (3) 기타

- 국내 KCI, 폐경학회 등에 추가 연구사항 논문 발표 예정

#### 나. 특허 출원

##### (1) 출원완료

- 오미자추출물을 포함하는 갱년기증후군 개선용 조성물 및 이를 이용한 건강기능식품 (출원번호 10-2013-0133864),
- PCT 국제출원 진행 중.

### 4. 산업화 홍보

## 가. CJ제일제당(주)

- 국내 식품분야 대규모기업인 CJ제일제당(주)과 비밀보장 계약 체결 후 건강기능식품 사업부의 사업부장 및 마케팅 담당, 연구소장 등 사업 관련자에게 원료특징 설명회 개최 (2013.10.15.)하였으며 향후 원료제품 완료 시 제품화 출시하기로 함.
- 2014년 하반기 남양유업, 대상(주) 등 대규모업체 설명회 추가 개최 예정

## 나. 기타

- CJ오쇼핑, GS홈쇼핑, NS홈쇼핑 등 홈쇼핑 벤더사 상품설명회 개최
- 기타 이마트 등 대형 유통업체 설명회 개최 예정.

## 제 2 절. 성과활용 계획

### 1. 식약처 건기식 개별인정형 원료 인정 획득

- 현재 인체적용시험 기관의 IRB 최종 보고서 승인 대기 중이며 2014년 10월 경 식약처 건강기능식품 개별고시형 인정 신청 예정임.
- 건강기능식품 개별고시형 원료인정 신청의 행정처리 기한은 90일로 휴무일 포함 약 5~6개월 소요되어 2015년 상반기 중 인정 승인 완료될 것으로 예상.
- 국내산 오미자로서 식약처의 건강기능식품으로 인정되는 첫 번째 사례가 됨.

### 2. FDA NDI notification 제출자료 임상연구

- 1994년 10월 15일 이전에 미국에서 시판되지 않은 기능성 소재는 NDI notification 제출 의무 Dietary Supplement Health and Education Act (USA, 1994)
- 미주 시장 진출을 위해 미국 FDA NDI certify 추진을 준비하는 한편 Health Canada의 NPN(Natural Product Number) 승인을 위한 준비 추진 중.

### 3. 천연물 신약 개발 연구 추진

- 건강기능식품을 넘어 천연물 신약으로 발전한 연구 추진 계획 중.

### 4. 제형화 및 산업화(기술실시)

- 본 과제에 의한 제품은 갱년기 장애 개선용 건강기능식품으로서 천연물 호르몬 대체요법

- 일환으로 사용될 수 있음. 따라서 원료와 완제품의 2단계로 개발되어 사업화할 예정.
- 건강기능식품 개별고시형 원료로 개발되어 국내 및 해외의 대규모 건강기능식품 제조업체에 납품 공급할 예정임. 특히 당사는 이미 국내 건강기능식품 대규모 기업과의 협력관계를 유지하고 있어 제품 적용이 용이한 장점이 있음.
  - 중소규모 건강기능식품 OEM 업체에 공급하여 중소 건강기능식품 유통판매업체에 공급
  - 직접 완제품으로 개발하여 국내 홈쇼핑, 대형 유통채널에 공급하며 해외 전시회 등을 통하여 해외 시장에 자체 브랜드로 직접 진출함으로써 수출을 통한 외화획득.

## 5. 세미나 및 홍보

- 국내 식약처 허가 기간에 맞추어 대기업, 학회, 문경시 등과 함께 공동 세미나를 개최하여 언론 홍보에 나설 예정임.

## 제 6 장. 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 제 1절. 천연물 신약 정보

1981년도부터 2010년까지 30년 동안의 세계의약품 시장의 전체 신규화합물을 분석해 보면 천연물 유래 화합물을 직접 이용하는 것이 4%, 천연물 유래 화합물이 22%, pharmacophore가 천연물 유래인 것, 천연물을 mimic 한 것 등을 모두 합하여 천연물 유래의 화합물은 전체 NCE의 50%를 차지하였다. 보건복지부에서는 2000년에 천연물과학의 육성 등 천연물 신약연구 개발의 기반을 조성하고 천연물을 이용한 신약연구개발과 그 개발기술의 산업화를 촉진하여 국민건강의 증진과 국가경제의 발전에 기여하고자 하여 2010년 10월 대한민국을 먹여 살릴 5대 기술 중의 하나로 선정되었음(출처: 서울경제신문).

#### 1. 국내천연물신약 현황

- 국내에서도 인구의 고령화가 지속되고, 생활습관이 서구형으로 변화하면서 만성질환의 수가 늘어나고 치료에서 예방으로의 약물에 대한 인식변화로 천연물신약의 중요성이 커지고 있는 가운데 국내에서 최초로 개발에 성공한 천연물신약은 조인스정이며 2012년까지 총 8개의 천연물신약이 국내에서 개발되었고 전체 신약개발의 약 24%를 차지하고 있음.
- 국내에서 개발된 천연물신약들의 누적매출액을 비교하여 보면 SK케이칼의 조인스정이 1589억원, 스티렌정이 3158억원의 매출을 올리는 등 천연물신약이 국내개발 합성신약보다 두배 이상 많은 매출액을 기록하였음.
- 국내의 신약 파이프라인을 보유하고 있는 주요 35개 제약기업 중에서 24개에 해당되는 기업이 천연물 신약을 연구개발 하고 있으며 천연물신약의 임상시험계획 승인 건수는 늘고 있어 천연물 신약의 개발연구가 활발하게 진행되고 있음을 시사하는 바임.

#### 2. 국외 천연물신약 현황

- 전 세계 천연물의약품 시장은 연평균 30% 이상의 가파른 성장률을 보이고 있으며 전체 천연물의약품 시장규모는 23조원 이상을 추정되고 있으며 이 중 전문의약품이 18조원 이상의 규모를 가지고 있음. 최근 세계적인 천연물 의약품 개발 추세는 합성의약품과 동일하게 전 임상, 임상 연구에 근거한 자료를 기반으로 허가 당국의 승인 규정에 부합하게 개발되고 있음. 지역별 시장규모로는 북미와 유럽이 전체의 약 74%를 차지하고 있으며 한국은 전 세계 시장의 약 2%규모로 적은 시장을 형성하고 있고 최근 중국 브라질 터키 등이 높은 성장률을 보이고 있음.
- 미국의 경우 1998년 이후 천연물의약품에 대한 집중적인 연구를 수행하였으며 2000년 미국

FDA의 CDER(Center for Drug Evaluation and Research)에서 “Guide for industry-botanical drug products”를 발표하여 천연물 제제를 의약품으로 인정하기 위한 기준을 설정하였음. 유럽과 중국에서도 최근 연평균 천연물신약의 고성장을 기록하고 있고 향후에도 그 성장세가 이어질 것으로 예상됨(출처: 천연물신약의 미래, bio medicine issue paper, July 2013).

## 제 2절. 천연물관련 여성갱년기 최신 정보

### 1. 비임상연구

- 해외에서 최근 발표된 여성갱년기 증상과 관련한 in vitro 연구에서 *Larrea nitida* 식물의 MCP-7 cell 분화와 관련한 SERM의 효과를 입증하였다. *Larrea nitida*는 Zygophyllaceae과 속에 속하며, South America에서 염증성 질환, 종양 및 생리통 치료에 널리 사용되는 식물이다. 위의 연구에서 *Larrea nitida* extract(LNE)의 SERM 특성을 평가하기 위하여 MCF-7 세포 증식 assay, 에스트로겐 반응 요소 (ERE)-luciferase report gene assay, human estrogen 수용체 (HER) 결합 assay와 생체 비대 반응 분석을 수행하였다. LNE는 hER $\alpha$ 와 hER $\beta$ 의 IC<sub>50</sub>값이 각각 1.20×10<sup>-7</sup>g/ml과 1.00×10<sup>-7</sup>g/ml로 높은 결합 친화도를 나타내었다. LNE에 의하여 유도된 17 $\beta$ -estradiol(E2)은 MCF-7 cell의 증식을 유도했지만, E2의 존재 하에 증식이 감소되었다. 또한 LNE는 hER $\alpha$ 보다 hER $\beta$ 에 대한 결합 친화력이 높고, MCF-7 유방암 세포 및 쥐의 자궁에서 SERM특성을 보였기에 여성 암 및 폐경 같은 estrogen과 관련된 질환의 치료제로 사용될 수 있다고 제시하고 있다(Hye-Na Ahn, Biomol Ther. 22(4):347-354, 2014).

**Table 1.** Ligand-binding affinities of LNE and LNs for hER $\alpha$  and hER $\beta$

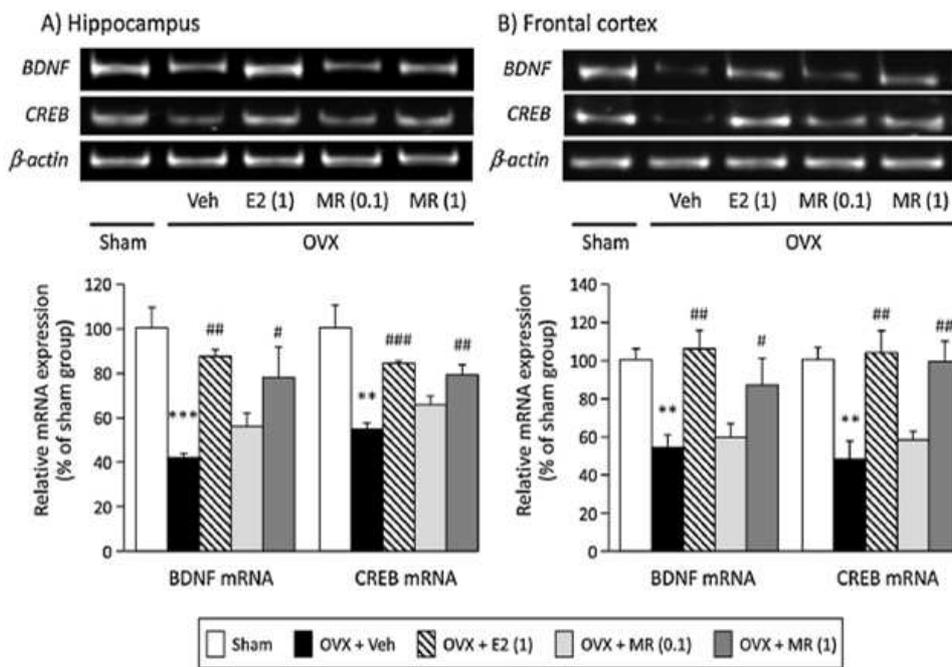
Treatment	hER $\alpha$		hER $\beta$	
	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)	RBA (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)	RBA (%)
E2	0.0012 $\pm$ 0.0003	100	0.0025 $\pm$ 0.0004	100
Genistein	1.36 $\pm$ 0.10	0.09	0.055 $\pm$ 0.0083	4.55
LNE	0.12 $\pm$ 0.02	1.00	0.10 $\pm$ 0.01	2.50
LN08	1.10 $\pm$ 0.01	0.11	0.53 $\pm$ 0.01	0.47
LN09	9.11 $\pm$ 2.27	0.01	6.60 $\pm$ 0.38	0.04
LN10	0.38 $\pm$ 0.02	0.32	3.18 $\pm$ 0.31	0.08
LN11	20.08 $\pm$ 1.04	0.01	8.05 $\pm$ 0.69	0.03
LN12	9.52 $\pm$ 1.58	0.01	7.54 $\pm$ 1.60	0.03

Values are means of three experiments; standard errors (SE) are shown in parentheses.

Relative binding affinity; RBA =  $[\text{IC}_{50(\text{E}2)} / \text{IC}_{50(\text{LNE})}] \times 100$ .

- 다른 해외 문헌에 의하면 태국에서 원기회복을 위해 사용되는 약용 식물인 Miroestrol (MR)은 *Pueraria candollei* var. *mirifica* (KwaoKrueaKhao)에서 분리된 식물에스트로젠으로 설명하면서 난소 절제 (OVX) 쥐에서 인지기능, 산화 뇌 손상, 뇌 유래 신경 영양 인자 (BDNF) 발현, and cyclic AMP-반응 요소 결합 단백질 (CREB), 신경과 synapticplasticity 연

관 요인에 대한 MR의 효과를 입증하였다. OVX군은 혈청  $17\beta$ -estradiol 농도, 자궁 무게 감소와 함께 손상 물체 인식 성능과 Y-미로, water-미로 시험에서 공간적 인지 성능이 저하되었다. 또한, OVX 마우스는 TBA 반응성의 수준과 해마와 전두엽 피질에서 CREB mRNA, BDNF의 발현 수준을 증가시켰고 MR과  $17\beta$ -estradiol의 호르몬 대체 요법은 이를 감소시켰으므로 난소 절제에 의한 신경 화학적 변화를 반전시켰다. 이러한 결과에서 MR은 OVX로 유도된 산화적 스트레스의 감소를 통해 인지 결손과 뇌에서 BDNF와 CREB mRNA 전사의 하향 조절을 개선시켰다고 보며, AD의 인지 결손에서 유리한 효과를 가진다고 입증하였다 (Orawan M., *Phytomedicine* 21:1249 - 1255, 2014).



**Fig. 4.** Effects of miroestrol on the expression levels of BDNF and CREB mRNAs in the hippocampus and frontal cortex of sham and OVX mice. The expression of BDNF and CREB mRNAs was semi-quantitatively analyzed as described in the text. Each data column represents the mean  $\pm$  S.E.M. ( $n=4-5$ ). \*\* $p < 0.01$  and \*\*\* $p < 0.001$  vs. the sham-operated group. # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  and ### $p < 0.01$  vs. the OVX group.

## 2. 임상연구

- 아시아 인구를 대상으로 Shanghai Women's Health Study 전향적 cohort 연구를 수행하여 초경과 폐경이 나타난 나이와 총 사망률과의 관련성을 조사하였다. 본 연구에서는 자연적으로 폐경한 중국 여성 31,955명을 대상으로 초경, 폐경, 전체 및 특정 원인에 의한 사망에 따른 수명 나이의 효과를 분석하였다. 11.2년 추적 관찰 동안 총 3,158 사망이 발생하였고 젊은 나이의 폐경(<46.64)은 총 사망의 위험과 높은 관련이 있었다. 초경의 이른 나이는 뇌졸중과 당뇨병에 의한 사망의 위험과 높은 연관이 있었지만, 호흡기 계통의 암 사망률의 위험은 낮았다. 본 연구는 생물학적 노화에서 성 호르몬이 중요한 역할로서 작용한다는 것을 제시하였고 사망의 중요한 예측 인자가 될 수 있다는 것을 증명하였다(Xiaoyan Wu1, PLoS

ONE, 9(8):1-10, 2014).

- 2014년 Greenle H가 발표한 논문에서 premenopausal women의 성호르몬 대사에 있어서 자연요법과 식이적인 조절의 효과에 대한 placebo-controlled, parallel-arm pilot 연구를 진행하였다. 투여한 식물성 제제는 *Curcuma longa*, *Cynara scolymus*, *Rosmarinus officinalis*, *Schisandra chinensis*, *Silybum marinum* 등 오미자를 포함하여 총 6가지의 복합물이었고 추가적으로 섬유소, 물, 카페인, 알콜 등의 식품들의 섭취를 조절하였으며 검사항목으로는 에스트로겐, 안드로겐, 테스토로겐 등의 성 호르몬 및 대사적 인자들을 측정하였다. 식물성 제제의 공급으로 인하여 dehydroepiandrosterone (13.2%; P = 0.02), dehydroepiandrosterone-sulfate (14.6%; P = 0.07), androstenedione, (8.6%; P = 0.05), estrone-sulfate (12.0%; P = 0.08) 등이 감소되었다. 이를 통해 식물성 제제의 공급으로 인해서 androgens 등 성호르몬의 변화에 영향을 미침을 알 수 있었다(Heather Greenlee, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 16:1601-1609, 2007).

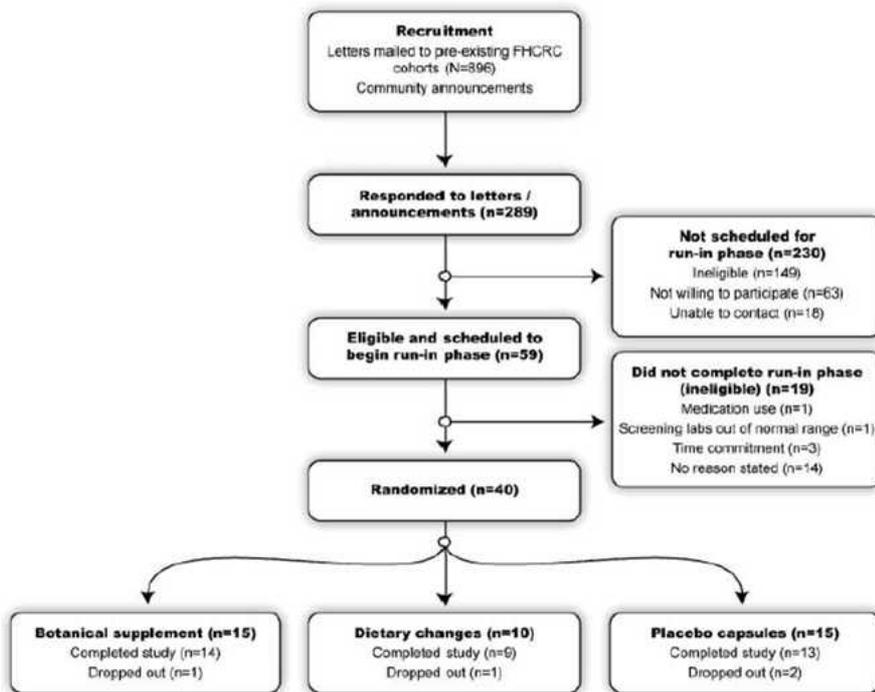


Figure 1. Study participant recruitment and randomization.

- Randomized, controlled trials의 메타분석을 통해서 갱년기 여성의 증상들과 삶의 질에 있어 침술의 효과를 살펴본 논문에 의하면 장기간의 침술은 안면홍조의 빈도, 정도 등을 유의적으로 감소시켰고 menopause rating scale의 점수 또한 감소시켰으며 Menopause-Specific Quality of Life questionnaire를 개선시킴을 확인하였다(Chiu HY, *Menopause.*, 2014).
- 최근 들어 estrogen receptor- $\alpha$ 의 역할이 주목을 받게 되면서 ER- $\alpha$ 의 gene들과 mRNA variants들이 human의 다른 장기에서도 발현된다는 것이 밝혀졌다. Lan YL의 논문에 의하면 ER- $\alpha$ 는 치매와 연관되어서도 중요한 역할을 한다고 제시하고 있다. Alzheimer's disease (AD) 알츠하이머는 기억력 감퇴와 인지력 상실의 신경병성의 질환으로 에스트로겐

의 결핍은 AD의 발병기전과 연관이 높기 때문에 에스트로겐이 부족하게 되는 갱년기 여성들은 남성에 비하여 그 질병에 걸릴 위험이 높다고 한다. 아울러 에스트로겐과 에스트로겐의 수용체의 중요성이 더욱 강조되면서 특히나 ER- $\alpha$ 는 Death domain-associated protein (Daxx) translocation 등의 신경보호와 관련한 여러 가지 signaling에 있어서의 중요한 역할을 한다고 하였고, 또한 에스트로겐 매커니즘을 통해서 AD의 잠재적인 보호 역할을 한다고 결론을 내리고 있다. 하지만 ER type과 splice variant들의 존재를 명확히 밝히는 데는 많은 어려움이 있기 때문에 세부적인 연구는 더 필요할 것으로 보인다(Lan YL, J Alzheimers Dis., 2014).

- 여성들은 남성들에 비하여 기분장애 및 우울증에 있어서 더 큰 위험성이 있다고 보여진다. 지금까지 여성의 biology의 특성과 연관된 연구들이 진행되어 왔고 여러 주요 논문들에서는 경피용 에스트로겐 보충요법은 기분 장애 개선에 효과적이라고 주장을 하는가 하면 경우에 따라서는 우울증을 더 가중시킨다고 한다. The KEEPS Cognitive and Affective (C/A) Study에서 주요한 HRT와 기분관련 이슈들을 제시하고 있는데 결론적으로 기분장애를 예방하기 위해서는 기초 과학, 관찰 및 임상 연구, estrogen제제, 폐경 관리와 progestins의 첨가 등의 고려요소들과 접근하여 폐경 내인성, 외인성 호르몬 제제의 개발이 필요할 것 보여지며, 아래의 그래프에서 보는 바와 같이 여성의 생리적인 노화 단계 동안의 에스트로겐의 유동성을 고려한 추가적인 연구들이 필요할 것으로 보고 있다(Whitney Wharton, Curr Psychiatry Rev. 8(3):247 - 256, 2012).

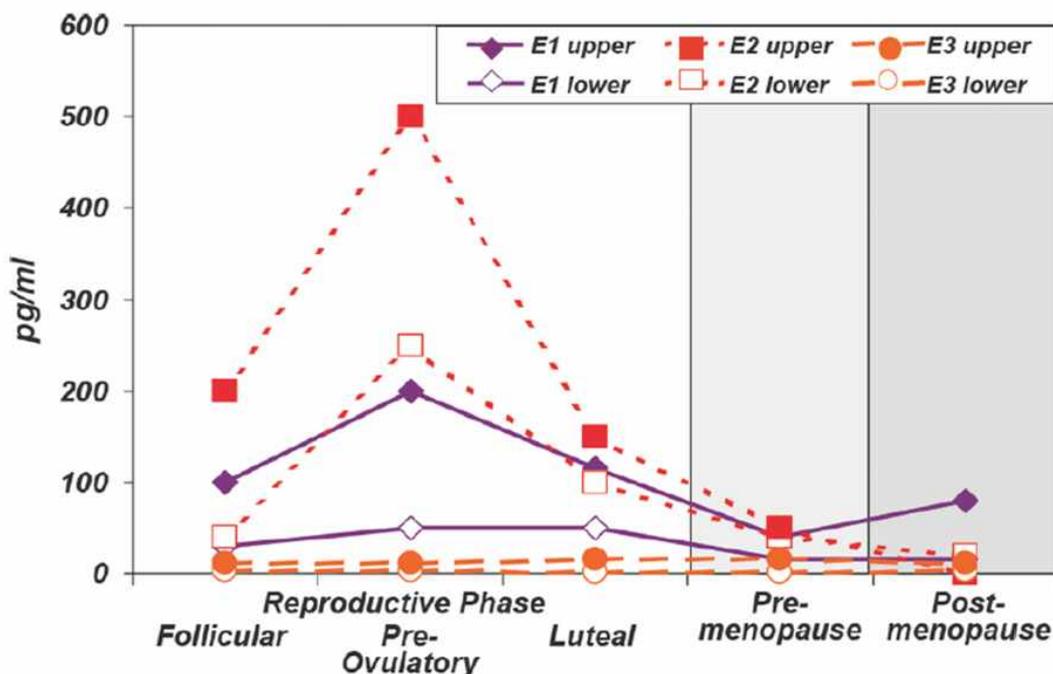


Figure 1.  
Endogenous Estrogen Levels

## 제 7 장. 참고문헌

Ishtiaq S1, Fogelman I, Hampson G, Treatment of post-menopausal osteoporosis: beyond bisphosphonates., *J Endocrinol Invest*, 7 (2014)

Fernando Lizcano, Guillermo Guzmán, Estrogen Deficiency and the Origin of Obesity during Menopause., *BioMed Research International*, 11page (2014)

Suk-woo lee, Mee-ran KIM, Young-oak you, Adipokines, the obesity and metabolic complications in the postmenopausal women., *korean journal of obstetrics and gynecology*, 52 (2009)

Sung rim kang , Mihyang kim, The effect of ecklonia cava extracts on bone turnover markers in ovariectomized rats,, *Journal of life science*, 19: (2009)

Jonathan S Berek, *Gynecology, NWW.*, 14:1323-1340 (2007)

Y. Lee et. al., Effect of Water Extract of Schisandra Chinensis on Osteoclast Differentiation., *Korean journal of oriental physiology & pathology*, 24:848-853 (2010)

Y. J. Lee et. al., Extracts from schisandra chinensis fruit activate estrogen receptors, a possible clue to its effects on nitric oxide-mediated vasorelaxation., *Biological & pharmaceutical bulletin*, 27:1066-1069 (2004)

E. Y. Kim et. al., Cardioprotective effects of aqueous schisandra chinensis fruit extract on ovariectomized and balloon-induced carotid artery injury rat models: Effects on serum lipid profiles and blood pressure., *Journal of ethnopharmacology* 134:668-675 (2011)

Jung-suk Lee, Literature Review on the Omija activities in The DONGEUIBOGAM., *Journal of the East Asian Society of Dietary Life* 5:1-6 (1995)

Ki-chun Sung, A study on the Pharmaceutical & Chemical Characteristics and Analysis of Natural Omija Extract., *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, 28:290-298 (2011)

S. J. Kim et. al., Growth inhibition and cell cycle arrest in the G0/G1 by schizandrin, a dibenzocyclooctadiene lignan isolated from Schisandra chinensis, on T47D human breast cancer cells., *PTR.*, 24:193-197 (2010)

E. Schmitt and H. Stopper, Estrogenic Activity of Naturally Occurring Anthocyanidins., *Nutrition and cancer*, 41:145-149 (2001)

J. S. Lee, M. G. Lee and S. W. Lee, A study on the General Components and Minerals in Parts of Omija, *Korean J. Dietary culture.*, 4:173-176 (1989)

K. Y. Kim, J. H. Nam, and T. O. Kwon, General component of Omija, Organic Acid and Anthocyanin Color of Omija, *Korean J. Food sci. Technol.*, 5:178 (1973)

Y. IKeya, H. Taguchi, I. Yosioca, H. Kobayashi, The Constituents of schisandra Chinensis B., I. Isolation and Structure Determination of Five New Lignans Gomisin-A, B, C, F and

- G, and the Absolute Structure of Schizandrin., *Chem. Pharm. Bull.*, 27:1383-1394 (1979)
- Piao, L., Lee, Y., PhamPhu, T. T. and Shin, J., Dibenzocyclooctene lignan compounds isolated from the fruits of *Schisandra chinensis* Baill., *Nat. Prod. Sci.*, 11:248-252 (2005)
- D. C. Koo, W. S. Suh, S. Y. Baek and S. H. Shim, Quantitative Determination of Lignans from *Schisandra chinensis* by HPLC., *Kor. J. Pharmacogn.*, 42:233-239 (2011)
- Lu, Y. and Chen, D. F. Analysis of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera*., *Chromatogr. A.*, 1216:1980-1990 (2008)
- M. J. Kim and E. J. Park, Antioxidative and Antigenotoxic Effect of Omija (*Schisandra chinensis* B.) Extracted with Various Solvents., *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, 39:487-493 (2010)
- H. J. Kwon and C. S. Park, Biological Activities of Extracts from Omija., *Korean J. Food Technol.*, 15: 587-592 (2008)
- Jung-hee Lee, Sang-cheol Chi, Seok-hwan Kim, Young-ho Shin, Hee-juhn Park, and Jong-won Chio, Preventive effect of a Schizandrin C derivative DDB-mixed preparation (DWP-04) against hepatotoxicity induced by Carbon Tetrachloride., *Kor. J. Pharmacogn.*, 36(1):44-49 (2005)
- S. C. Lim and E. Lee, Effects of *Schisandra chinensis* BAILL on Lipid Lowering and Antioxidant in Hyperlipidemic Rat., *Plant resources.*, 7(3):216-221 (2004)
- B. S. Ko, S. K. Park, S. B. Choi, D. W. Jun, M. K. Choi and S. M. Park, A Study on Hypoglycemic Effects of Crude Extracts of *Schisandrae Fructus*., *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 47(2): 258-264 (2004)
- S. H. Park and T. S. Hahm, Effects of *Schizandriae fructus* Extract on the Renal Function by Cardiovascular Regulation., *Journal of the East Asian Society of Dietary Life.*, 15(5):558-565 (2005)
- Sun Young Park, Hong Yeon Hwang, Eun A Seo<sup>1</sup>, Kang Beom Kwon, Do Gon Ryu, Inhibition Effects of *Galla Chinensis* Extract on Adipocyte Differentiation in OP9 Cells, *Korean J. Oriental Physiology & Pathology.*, 26(4):455-461 (2012)
- D. H. Ju, G. C. Shin and I. S. Moon, Prevention of ROS Production and MMP Dissipation by *Fructus Schisandrae*(FS) in a Hypoxic Model of Cultured Rat Hippocampal Neuron. *Korean J. Orient. Int. Med.*, 29(4):835-845 (2008)
- K. S. Kang, I. D. Kim, R. H. Kwon, Y. Y. Heo, S. H. Oh, M. A. Kim, H. J. Jung, H. Y. Kang and B. J. Ha, The Evaluation of Anti-wrinkle Effects in Oriental Herb Extract., *Journal of life science.*, 17(8):147-1151 (2007)
- M. Y. Song, A Study on the Cosmetics Pharmaceutical Effect of *Schisandra Chinensis* and Application of Cosmetics Industry, Master Thesis, Daegu Oriental Medicine Graduated

School, 1 (2007).

J. C. Yang, The Evaluation on the Effectiveness as a Cosmetic Material of Oil Extracted from schisandra Chinensis Seed., *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, 29(2):231-237 (2012)

Yanikkerem E, Koltan SO, Tamay AG, Dikayak S. Relationship between women's attitude towards menopause and quality of life., *Climacteric*, 15:552-62 (2012)

Nelson HD., *Menopause.*, *Lancet.*, 371(9614):760-70 (2008)

Poomalar GK, Arounassalame B., The quality of life during and after menopause among rural women., *Journal of clinical and diagnostic research*, 7(1):135-139 (2013)

Hyoung Sook Park, Yun Mi Lee, Gyoo Yeong Cho, A Study on Climacteric Symptoms, Knowledge of Menopause, Menopausal Management in Middle-Aged Women., *Korean J Women Health Nurs.*, 8(4):521-528 (2002)

Chen Y, Lin SQ, Wei Y, Gao HL, Wu ZL, Menopause-specific quality of life satisfaction in community-dwelling menopausal women in China. *Gynecological Endocrinology.*, 23(3):166-172 (2007)

Su-kyoung jung, Dong-il kim, Clinical trial to evaluate the hot flush relief efficacy and safety of yiseontang-gami in climacteric women with hot flushes, *J. of Oriental medical Thermology*, 7(1):1-13 (2009)

Won-jun Lee, Effects of caffeic acid, chlorogenic acid, and EGCG on the methylation status of p16 gene in T-47D breast cancer cells, *Journal of Life Science*, 17(4):522-528 (2007)

Tanaka, T. Tanaka, T. Tanaka, M., Potential Cancer Chemopreventive Activity of Protocatechuic Acid, *Journal of experimental and clinical medicine*, 3(1):27-33 (2011)

Akiyo Hyogo, Toshihiro Kobayashi, Eva Garcia del Saz, and Harumichi Seguchi, Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid, Ferulic Acid, and Caffeic Acid in Human Neutrophils Using a Fluorescent Substance, *Int. J. Morphol.*, 28(3):911-920 (2010)

Nakamura Y., Torikai K., Ohto Y., Murakami A., Tanaka T., Ohigashi H., A simple phenolic antioxidant protocatechuic acid enhances tumor promotion and oxidative stress in female ICR mouse skin:dose-and timing-dependent enhancement and involvement of bioactivation by tyrosinase, *Carcinogenesis* 21(10):1899-1907 (2000)

Sindhu Mathew, T. Emilia Abraham, Ferulic acid: an antioxidant found naturally in plant cell walls and feruloyl esterases involved in its release and their application, *Critical Reviews in Biotechnology*, 24(2-3):59-83 (2004)

Kanski, J. Aksenova, M. Stoyanova, A. Butterfield, D.A., Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: structure-activity studies, *The Journal of nutritional biochemistry* 13(5):273-281 (2002)

Marzia Perluigi, Gururaj Joshi, Rukhsana Sultana, Vittorio Calabrese, Carlo De Marco, Raffaella Coccia, Chiara Cini, and Allan Butterfield, In vivo protective effects of ferulic acid ethyl ester against amyloid-beta peptide 1 - 42-induced oxidative stress, *Journal of Neuroscience Research*, 84(2):418 - 426 (2006)

Agnieszka Szopa & Halina Ekiert, In Vitro Cultures of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.(Chinese Magnolia Vine)—a Potential Biotechnological Rich Source of Therapeutically Important Phenolic Acids, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 166:1941 - 1948 (2012)

Agnieszka Szopa, Halina Ekiert, In vitro cultures of *schisandra chinensis*(Turez.) Baill.(chinese Magnolia Vine)--a Potential Biltechnological Rich source of Therapeutically Important Phenolic acids.,*Appl Biochem Biotechnol*, 166:1941-1948 (2012).

B. I. Jung, M. S. Kim, H. A. Kim, D.S. Kim, J. W. Yang, S. Her and Y. S. Song, Caffeic Acid Phenethyl Ester, a Component of Beehive Propolis, is a Novel Selective Estrogen Receptor Modulator., *Phytother. Tes.* 24:295-300 (2010).

T. L. Serafim, F. S. Carvalho, M. p. M. Marques, R. Calheiros, T. Silva, J. Garrido, N. Milhazes, F. Borges, F. Roleira, E. T. Silva, J. Holy and P. J. Oliveira, Lipophilic Caffeica and Ferulic Acid Derivatives Presenting Cytotoxicity against Human Breast cancer Cells., *Chem. Res. Toxicol.* 24:763-776 (2011).

A. M. Mileo, D. D. Venere, V. Linsalata, R. Fraioli and S. Miccadei, Artichoke Polyphenols Induce Apoptosis and Decrease the Invasive Potential of the Human Breast Canver Cell Line MDA-MB231., *J. Cell. Physiol.* 227:3301-3309 (2011).

S. Bord, A. Horner, S. Beavan and J. Compston, Estrogen Receptors  $\alpha$  and  $\beta$  Are Differentially Expressed in Developing Human Bone., *J Clin Endocrinol Metab* 86:2309-2314 (2001).

S-I. Hayashi, H. Eguchi, K. Tanimoto, T. Yoshida, Y. Omoto, A. Inoue, N. Yosida and Y. Yamaguchi, The expression and function of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  in human breast cancer and its clinical application., *Endocrine-Related cancer.*, 10:193-202 (2003).

M. Zych, J. Folwarczna and H.I. Trzeciak, Natural phenolic acids may increase serum estradiol level in ovariectomized rats., *Acts Biochimica Polonica*, 56:503-507 (2009).

J. Folwarczna, M. Zych, J. burczyk, H. Trzeciak, H.I. Trzeciak, Effects of natural Phenolic Acids on the skeletal system of Ovariectomized Rats., *planta Med.* 75:1567-1572 (2009).

S. J. Pragasam, B. Murunikara, E. P. sabina, M. Rasool, Antiperoxidative potential of p-coumaric acid, a common dietary phenol, in adjuvant-induced arthritis in rats., *J Chin Lntegt Med.* 6:606-610 (2009).

E. A. Hudson, P. A. Dinh, T. Kokubun, M. S. J. Simmonds, and A. Gescher, Characterization of potertially Chemopreventive Phenols in Extracts of Brown Rice That

Inhibit the Growth of Human Breast and Colon Cancer Cells., *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 9:1163-1170 (2000).

Michael A. Bolognese, SERMs and SERMs with estrogen for postmenopausal osteoporosis., *Rev Endocr Metab Disord* 11:253-259 (2010).

Orawan M., Wichitsak S., Kaoru U., Hiroshi N., Yaowared C., Kinzo M., Effect of miroestrol on ovariectomy-induced cognitive impairment and lipid peroxidation in mouse brain., *Phytomedicine* 21:1249 - 1255 (2014).

Xiaoyan Wu<sup>1</sup>, Hui Cai<sup>1</sup>, Asha Kallianpur<sup>1</sup>, Yu-Tang Gao, Gong Yang, Wong-Ho Chow, Hong-Lan Li, Wei Zheng, Xiao-Ou Shu, Age at Menarche and Natural Menopause and Number of Reproductive Years in Association with Mortality: Results from a Median Follow-Up of 11.2 Years among 31,955 Naturally Menopausal Chinese Women., *PLoS ONE*, 9(8):1-10 (2014).

Hye-Na Ahn, Si-Yeon Jeong, Gyu-Un Bae et al., Selective Estrogen Receptor Modulation by *Larrea nitida* on MCF-7 Cell Proliferation and Immature Rat Uterus., *Biomol Ther.* 22(4):347-354 (2014).

Yong Cui,<sup>1</sup> Sandra L. Deming-Halverson,<sup>1</sup> Martha J. Shrubsole,<sup>1</sup> Alicia Beeghly-Fadiel et al., Associations of Hormone-Related Factors With Breast Cancer Risk According to Hormone Receptor Status Among White and African American Women., *Clinical Breast Cancer*, June:1-9 (2014).

Youhua Xu, Jing Lin, Shanshan Wang, Jianfeng Xiong, Quan Zhu, Combined estrogen replacement therapy on metabolic control in postmenopausal women with diabetes mellitus., *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 30:350-361 (2014).

Naugle MM<sup>1</sup>, Nguyen LT, Merceron TK, Filardo E, Janssen WG, Morrison JH, Rapp PR, Gore AC., G-protein coupled estrogen receptor, estrogen receptor  $\alpha$ , and progesterone receptor immunohistochemistry in the hypothalamus of aging female rhesus macaques given long-term estradiol treatment., *J. Exp. Zool.*, 321:399 - 414 (2014)

Whitney Wharton, Carey E. Gleason, Sandra R. M. S. Olson, Cynthia M. Carlsson and Sanjay Asthana, Neurobiological Underpinnings of the Estrogen - Mood Relationship., *Curr Psychiatry Rev.* 8(3):247 - 256 (2012).

Heather Greenlee, Charlotte Atkinson, Frank Z. Stanczyk, et al., A Pilot and Feasibility Study on the Effects of Naturopathic Botanical and Dietary Interventions on Sex Steroid Hormone Metabolism in Premenopausal Women., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 16:1601-1609 (2007).

Chiu HY, Pan CH, Shyu YK, Han BC, Tsai PS, Effects of acupuncture on menopause-related symptoms and quality of life in women on natural menopause: a

meta-analysis of randomized controlled trials., Menopause., (2014).

Lan YL, Zhao J, Li S1., Update on the Neuroprotective Effect of Estrogen Receptor Alpha Against Alzheimer's Disease., J Alzheimers Dis., (2014).

남기열, 식물성에스트로겐: 내분비교란물질인가 호르몬대체요법을 위한 대체제인가?, 한국과학기술정보연구원 (2008)

통계청, 2012 통계로 보는 여성의 삶, 2012.

서울시, 통계로 본 서울여성의 삶, 2011.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.