

곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 개별인정형 식품소재 개발 및 사업화 최종보고서

2017. 12. 22.

주관연구기관 / (주)한국파비스제약

세부연구기관 / (주)한국파비스제약

협동연구기관 / 팜투팜(주)

위탁연구기관 / 경희대학교 산학협력단

대구대학교 산학협력단

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 개별인정형 식품소재 개발 및 사업화”(개발기간 : 2014. 08. ~ 2017. 07.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017 . 12 . 22 .

주관연구기관명 : (주)한국파비스제약 (대표자) 최 용 은



협동연구기관명 : 팜투팜(주) (대표자) 오 성 근



참여기관명 : 경희대학교 산학협력단 (대표자) 홍 충 선



대구대학교 산학협력단 (대표자) 윤 재 응

주관연구책임자 : 김 학 형

협동연구책임자 : 오 성 근

참여기관책임자 : 강 세 찬

박 태 호

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	114020-03	해당 단계 연구 기간	2014. 08. 01 ~ 2017. 07. 31	단 계 구 분	3/3
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	고부가가치식품기술개발사업			
연구 과제 명	대 과 제 명	곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 개별인정형 식품소재 개발 및 사업화			
	세 부 과 제 명	곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 개별인정형 식품소재 개발 및 사업화			
연구 책임 자	김학형	해당단계 참 여 연구원 수	총: 14명 내부: 14명 외부: 0명	해당단계 연구 개발비	정부: 250,000천원 민간: 90,000천원 계: 340,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 57명 내부: 57명 외부: 0명	총 연구개발비	정부: 750,000천원 민간: 270,000천원 계: 1,020,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)한국파비스제약 연구소			참여기업명: 팜투팜(주)	
위탁 연구	연구기관명: 경희대학교 산학협력단 대구대학교 산학협력단			연구책임자: 강세찬 박태호	
요약				보고서 면수	
<ol style="list-style-type: none"> 1. 국내산 곰취 및 여주 원재료의 최적 소재 선정 및 확보 2. 곰취추출물의 α-glucosidase 억제 효과 및 여주추출물의 PPARγ agonist 효능 검증 3. 곰취 및 여주추출물의 지표성분 설정 4. 곰취 및 여주추출물의 최적혼합비율 설정 및 최적추출공정 확립 7. 곰취 및 여주추출물, 혼합추출물의 혈당강하 바이오마커 분석 및 조절효과 확인 6. 곰취 및 여주단독추출물을 활용한 혼합추출물의 혈당강하 신규 작용점 분석 (타겟 유전자: Gp1r) 7. 비만형 및 유전자 조작 제2형 당뇨 동물모델에서의 혈당강하 개선 효과 확인 8. 제형 개발 완료에 따른 인체적용시험용 시제품 제작 9. 인체적용시험 프로토콜 작성에 따른 시험기관 선정 완료 및 IRB 승인 완료 					

		코드번호	D-01
<p style="text-align: center;">연구의 목적 및 내용</p>	<p>□ 연구목적</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취와 여주의 2중 복합물인 “곰취/여주 혼합물”로부터 혈당강하 목적의 개별인정형 식품원료 인허가 및 제품개발 ▪ 의약품 수준의 기능을 보유하면서 부작용이 없는 건강기능식품 개발 <p>□ 연구내용</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 국내산 원료 수급방법 확립 및 원생약 규격화 ▪ 계약재배에 따른 국내산 원료 벨리데이션 ▪ 곰취 및 여주추출물의 혈당강하 유효성분 규명 및 지표성분 설정 ▪ 곰취 및 여주추출물의 in vitro 효능 및 바이오마커 확인 ▪ 혼합물의 최적추출공정 개발 ▪ II형 당뇨 동물모델에서 혼합물의 항당뇨 효능 연구 ▪ 작용기전 규명을 위한 신규 작용점 분석 ▪ 인체적용시험을 위한 혼합물의 시제품 생산 및 IRB 승인 ▪ 혼합추출물의 혈당개선 인체적용시험 ▪ 곰취 혼합물의 기능성 원료 인허가를 위한 자료 보완 <ul style="list-style-type: none"> - 사업기간 내 신청, 사업종료 후 인허가 예정 ▪ 혈당조절 건강기능식품 제품생산 및 마케팅 계획 수립 		
<p style="text-align: center;">연구개발성과</p>	<p>1) 원재료 (농산물, 식물자원)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취재배단지의 최적 수확시기 확립 및 1차 가공 ▪ 혼합식물소재의 착색도별/성분별/기능별 최적 수확시기 확립 ▪ 유효성분 규명 및 혼합성분의 유효성분, 지표성분 확립 ▪ 시험법 개발 및 validation ▪ 혼합비율 및 조성/기능에 대한 특허출원 완료 <p>2) 비임상시험</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 식품원료로 식약처 등재되어 있으며(농산물), 30%주정추출물로 안전성평가 면제 ▪ 광고표시 : 혈당강하 ▪ 주효능 : 장에서의 당흡수 억제, 말초조직에서의 당이용률 증대, 인슐린 분비 증가를 포함한 작용기전 규명 ▪ 비임상 유효성 평가 : Chemical 유도모델 완료, 유전자 변형 당뇨모델 (dbdb mouse) 시험평가 완료에 따른 효능 확인 <p>3) 제제/제형개발</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 국내외 원료공급을 위한 원료 spec.개발 ▪ 주관기관 자체 제품화를 위한 제제/제형개발 : 봉해도, 안정성, 방출, 가속/가혹시험 (유통기간) ▪ 300 mg함유 482 mg 코팅정 (PVA코팅) 개발 ▪ 파우치 등 음료적용을 위한 원료개발 : 용해성 증가 ▪ 개별인정형 소재 인허가시의 제제/제형 규격기준 마련 <p>4) 인체적용시험</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 인체적용시험 프로토콜 완성 (선행연구) 및 임상기관 선정, CRO선정 ▪ 전당뇨 및 대사증후군 대상자에서의 12주간 인체적용시험평가 예정 (IRB 		

	<p>승인 완료)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 6군 102명으로 내당능장애 대상자 51명, 대사증후군 대상자 51명, 중도 탈락률 15%를 고려하여 6군 84명으로 설정완료 <p>5) 사업화 (예정)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 주관기관에서 제조, 자회사에서 판매 (자회사의 경우 건강기능식품 년 600억원 매출) ▪ 비타민뱅크 등 수입 및 국내우수제품 대형마트, 백화점 입주기업과의 공동프로모션 ▪ SFI에서 글로벌 마케팅 (호주기업으로 최근 진사나 인수 등 국내진출, 주관기관과의 LOI완료) 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>1) 농가소득 증대</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 인체적용시험 완료 후 개별인정형소재 인허가 : 소재 국내외 공급 및 공동제품개발/마케팅 ▪ 계약재배로 인한 농가의 직접적 소득증대 (원가의 45%가 원료가격: 25억/년 농가소득) ▪ 연간 100억원 매출 기대 및 성장률 20% (2020년까지 국내 당뇨환자수 전체국민의 20%예상 및 당뇨치료제에 대한 보조역할로 건강기능식품 복용률 증가추세 감안) <p>2) 사업방안</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 콜마비엔에이치로 기술이전 완료 ▪ 2018년 이후 출시 예정 				
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>곰취</p>	<p>여주</p>	<p>혼합추출물</p>	<p>항당뇨</p>	<p>인체적용시험</p>

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<input type="checkbox"/> Purposes <ul style="list-style-type: none"> ▪ Licensing and product development of individual authorized food ingredients for blood glucose lowering purpose from “Gomchi/Yeoju mixture” which is the two kinds of mixture of Gomchi and Yeoju ▪ Development of health functional foods without the side effects while maintaining the function of medicine level <input type="checkbox"/> Contents <ul style="list-style-type: none"> ▪ A establishment for supply and demand of domestic raw material and a standardization of raw material ▪ Validation of domestic raw material by contract cultivation ▪ Establishment of an index ingredient and identification of blood glucose lowering active ingredient of Gomchi and Yeoju extract ▪ Identification of biomaker and in vitro efficacy of Gomchi and Yeoju extract ▪ Development of optimal extraction process of mixture ▪ Study on antidiabetic efficacy of mixture in Type II diabetic animal models ▪ Analysis of new active point for investigation of mechanism of action ▪ IRB approval and manufacture of test product for human study ▪ Human study on blood glucose lowering of mixture extract ▪ Supplement of data for licensing functional ingredients of Gomchi mixture <ul style="list-style-type: none"> - application within business period, approve after business termination ▪ Establishment of marketing plan and product manufacturing of health functional food for blood glucose control 		
Results	1) Raw material <ul style="list-style-type: none"> ▪ Establishment of the best period of Gomchi harvesting and primary processing ▪ Establishment of the best period of harvesting of complex plan material on color/ingredient/functional ▪ Identification of active ingredient and establishment of active and index ingredient of mixture ▪ Development and validation of analysis method 2) Non-clinical trial <ul style="list-style-type: none"> ▪ It is listed as food raw medicine(agricultural products), and the extract of 30% EtOH is exempt from safety evaluation ▪ Advertise display : Blood glucose lowering ▪ Main efficacy : Investigation of mechanism of action including the increase in insulin secretion, the increased glucose utilization in peripheral tissues and suppression of glucose absorption in the intestine ▪ Non-clinical efficacy evaluation : Completion the Chemical induction model and verify the efficacy of the gene strain diabetic model(dbdb mouse) test 		

	<p>evaluation</p> <p>3) Preformulation</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Development of raw material specification for domestic and foreign raw material supply ▪ Preformulation for self product processing: disintegrant, stability, dissolution, acceleration/stress test(shelf life) ▪ Development of PVA coated tablet of 482mg unit containing 300mg ▪ Development of raw material for beverage applications such a pouches : increase : solubility increase ▪ Establishment of standards for formulation and formulations at the time of licensing of individual authorized functional materials <p>4) Human study for the evaluation</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Completion the human application test protocol(prior research) and selection a clinical institution, and CRO ▪ Pre-diabetic and metabolic syndrome subjects will be assessed for 12-week human body application(IRB approved) ▪ In the 6 groups consisting of 102 candidates, there were selected as 51 subjects with impaired glucose tolerance, 51 subjects with metabolic syndrome, and 84 candidates as 6 groups considering the middle dropout rate of 15%. <p>5) Commercialization(plan)</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Manufactured by principal institution. Sold by subsidiary (600 billions of annual sales of health functional food in subsidiaries) ▪ Vitamin Bank, etc. import and domestic excellent products joint promotion with a large discount mart and a tenant company in department store ▪ Global marketing in SFI(Entry in the domestic market the Ginsana company as Australia. Completion LOI with the principal institution) 				
Expected Contribution	<p>1) The improvement of farm household income</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ After the human body test, licensing of the individual authorized health food material: Supply of domestic and foreign materials and development/marketing of joint products ▪ Increasement direct income of farm household due to contract cultivation (45% of cost is raw material price: KRW 2.5 billion per year farm household income) ▪ Expecting annual sales of 10 billion and a growth rate of 20% (considering 20% of the total number of domestic diabetic patients by 2020, and considering the trend of increasing use of dietary supplement with diabetes treatment) <p>2) Business plan</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Completion of technology transfer to Kolmar B&H ▪ Expectation of product launching since 2018 				
Keywords	<i>Ligularia fischeri</i> (Ledeb.) Turcz	<i>Momordica charantia</i>	Mixed extract	anti-diabetes	human study

< CONTENTS >

1. Overviews of R&D project	
2. Status of domestic and overseas technology development	
3. Research content and results	
4. Achievement of goal and contribution to related field	
5. Plan for utilization of research results	
6. Overseas science and technology information collected during the research process	
7. Security rating of R&D achievement	
8. Research facilities registered in National Science and Technology Comprehensive Information System	
9. Implementation of safety measures in laboratories based on R&D tasks	
10. Representative research achievements of R&D tasks	
11. e.t.c	
12. References	

<Attachment> Self-Assessment Opinion

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	
2. 국내외 기술개발 현황	
3. 연구수행 내용 및 결과	
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	
5. 연구결과의 활용계획 등	
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	
7. 연구개발성과의 보안등급	
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	
11. 기타사항	
12. 참고문헌	

<별첨> 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

1-1. 연구개발 목적

- 본 연구의 목적은 곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 기능의 개별인정형 건강기능식품 소재를 개발하는 것으로 주소재(곰취, *Ligularia fischeri*) 및 혼합식물소재(여주, *Momordica charantia*)의 PPAR γ agonist 및 α -glucosidase 억제 등의 혈당강하 효능과 기전을 밝힘으로써, 다기전을 포함하는 고기능성의 안전한 혈당강하 기능성 원료를 개발하고자 함
 - 즉, 곰취의 혈당강하의 신규 유효성분 규명측면 또는 여주를 중심으로 한 상승효과를 갖는 신규 혼합 조성을 대상으로 산업재산권 확보 후, 이를 통한 기능성 원료 등록 및 제품화 추진 (사업기간 내 기능성 원료 신청 후 사업종료 1차년도 인증)

○ 최종목표

- 원재료의 생산체계 확립을 통한 원료 규격화 및 안정적 원재료 공급체계 구축
- 곰취/여주 혼합추출물의 전임상 및 인체적용시험을 통한 안전성 및 유효성 확보
- 곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 목적의 개별인정형 원료 신청
- 혼합추출물을 이용한 혈당개선 건강기능식품 제품화

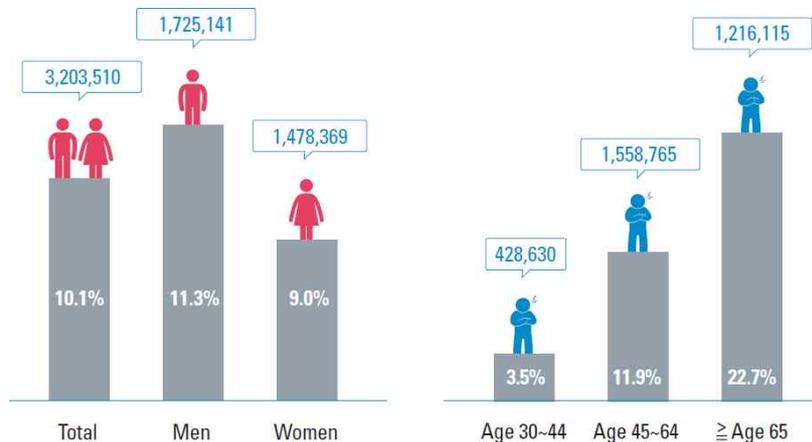
1-2. 연구개발의 필요성

○ 농산물로부터 혈당개선 건강기능식품 개발의 중요성

- 천연물은 대부분 오랜 섭취 경험을 통하여 그 효능과 안전성을 확보하고 있어 제품개발이 용이하며, 소비자에게 친숙한 소재이므로 마케팅에 유리함
- 식품은 영양기능, 감각기능 외에 생체조절기능을 가지고 있어 생체 방어, 신체리듬조절, 노화억제, 질환예방, 질병회복 등의 부가적인 기능을 수행하며, 특히 합병증이 심각한 당뇨병성 질환을 개선하려는 목적으로 천연물 소재 건강기능식품의 수요가 매우 높아지고 있음

○ 당뇨병의 위험성 및 환자 현황

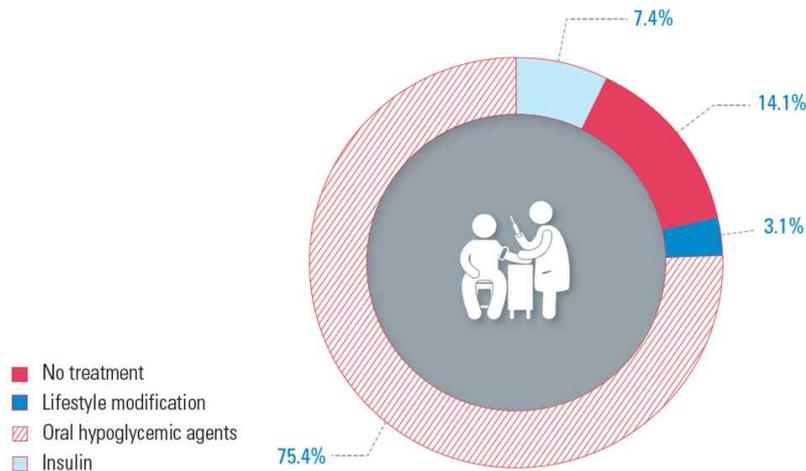
- 당뇨병은 현대인에게 가장 많이 발생하는 비전염성 만성질환으로 혈액순환 장애, 만성피로, 고혈압, 심근경색, 신경병증, 망막병증, 백내장, 신증 등의 합병증을 동반할 수 있음
- 경제발전에 따른 생활환경과 식생활의 변화로 국내 당뇨병 유병률은 10%에 달하며 (320만명 추산, 그림 1), 전 세계적으로 3번째로 심각한 질병으로, 합병증으로 인해 국내 사망원인 중 4번째를 차지함
- 또한, 공복혈당장애 유병률은 2010년 기준 19.9%에 달하므로, 성인 10명중 3명이 당뇨 환자 및 잠재적 당뇨이며, 2050년에는 183% 증가한 600만명이 당뇨 질환을 나타낼 것으로 예측 (국민건강영양조사, 2011)



<그림. 당뇨병 환자 추이 및 유병률 (Diabetes fact sheet in Korea, 2012)>

○ 당뇨병 환자의 치료 현황 및 천연 소재 개발의 필요성

- 당뇨병 환자 중 약 73.4%만이 당뇨병을 인지하고 있으며, 그 중 14.1%는 당뇨 치료를 전혀 하고 있지 않으므로 약 37.9%의 당뇨환자들은 당뇨병 치료를 받지 않고 있는 상태임 (Diabetes fact sheet in Korea, 2012)
- 당뇨병을 치료중인 환자 (85.9%) 중 대부분은 경구혈당강하제로 치료 (75.4%)
- 당뇨병 환자 중 90% 이상은 II형 당뇨 질환을 앓고 있으며, 이에 당뇨 치료관련 연구 또한 II형 당뇨를 중심으로 이루어짐
- 유용성을 보이는 경구혈당강하제 metformin과 thiazolidinedione (TZD) 계열의 약물은 미흡한 근본적 치료와 여러 부작용의 보고로 섭취에 제한적임
- 따라서, insulin 저항성을 획기적으로 해결할 수 있으며, 효능이 우수하고, 부작용이 적은 안전한 천연물 소재 개발의 필요성이 대두됨



<그림. 당뇨병 치료 현황 (Diabetes fact sheet in Korea, 2012)>

○ 당뇨병 환자의 경제적·산업적 중요성

- 당뇨병 관련 세계시장은 2010년 기준 약 344억 달러이며, 국내시장은 약 4,500 억원으로 현재 당뇨병 치료에 지출하는 의료비는 전체의료비의 20%에 육박함
- 당뇨병은 만성질환의 특성상 장기간 약물을 복용해야하며, 완치가 어려워 젊은 당뇨병 환자의 증가는 사회적 비용 측면에서도 큰 문제로 인식
- 당뇨병은 치료가 어려우나 식이, 운동, 약물 등으로 조절이 가능하므로 혈당치를 정상 범위에 가깝도록 올바르게 조절하여 심각한 당뇨 합병증을 예방하여야 함
- 그러나 당뇨 관리는 그 기간이 평생 이어져야 하는 힘든 과정이며, 약물 치료만 받는 것이 아니라 생활습관과 관련된 사항들이 모두 관리되어야 함으로 실제로 관리되기가 매우 힘들
- 당뇨병은 쉽게 발병될 수 있는 질환이며, 진단이 되지 않은 채 지내는 환자가 전체 예상 당뇨병 환자의 50%에 이르고 있어 의약품이 아닌 건강기능식품으로 쉽게 이용될 수 있는 안전한 천연물 유래 소재가 필요

○ 곰취의 개요 및 중요성

- 본 연구 소재인 곰취 (*Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcz.)는 여러 깊은 산에서 자생하는 국화과의 다년생 초본식물로 독특한 쓴맛을 지니고 있으며, 생체로 식용이 가능한 산나물임 (식용근거 및 식품의약품 안전청 식품 원재료 등재)
- 곰취는 단백질, 탄수화물, 회분, 칼슘 및 비타민 등이 풍부할 뿐만 아니라 뛰어난 풍미와 향, 그리고 높은 식이섬유소를 함유하고 있어 식용과 약용이 모두 가능하며, 일반적으로 쌈채용 생식, 무침나물, 짬아찌등 식용으로 이용되고 있고, 한방에서는 곰취의 뿌리와 근경을 타박상, 요통, 진해, 거담의 치료에 이용하고 있음
- 곰취의 주요 약리성분으로는 Ligularone, Chamomile, Jacobine, Ameleme 등을 비롯한 비타민

A, B1, B2, C 및 β -carotene, niacin 등 여러 가지 영양 성분들이 함유되어 있어 진정작용, 피로회복은 물론 최근에는 항암작용이 있는 것으로 밝혀져 건강식품으로도 가치가 높으며, 산채류인 참취 및 엽채류 작물인 배추와 식품성분비교를 한 결과 단백질, 지질, 탄수화물, 칼륨, 비타민 A, 비타민 C 등이 모두 산채류인 곰취와 참취가 배추보다 높은 것으로 조사되고, 특히 곰취는 비타민 A와 β -carotene의 함량이 작물 중 비교적 높은 함량을 보이는 배추 비타민 당근 β -carotene 보다 높은 영양소 함량을 보임

- 곰취, 참취, 배추의 식품성분 영양가 비교

(생체 100 g 당)

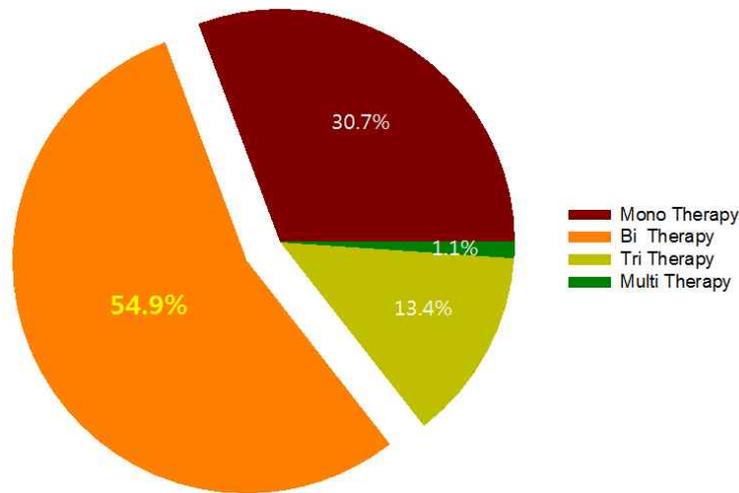
구 분	단백질 g	지질 g	탄수화물 g	회분 g	칼슘 mg	비타민	
						A(IU)	C(mg)
곰 취	4.6	0.7	5.4	1.6	107	1,941	20
참 취	2.3	0.1	8.5	1.5	8	3,504	4
배 추	1.3	0.2	3.4	0.5	70	255	25

(자료 : 한국식품성분표)

- 최근 곰취(취나물)를 비롯한 산채는 건강증진 또는 약리활성이 뛰어난 것으로 밝혀짐에 따라 새로운 웰빙채소로 소비가 증가하여, 경관농업의 새로운 소재와 소득작물로 생산자 선택이 늘고 있음
 - 본 연구팀은 현재 1,000여 종의 국내 자생식물 및 한약재 추출물 library를 구축하고 있으며, 이에 α -glucosidase 억제 소재를 선별하고자 연구를 거듭한 결과 곰취 추출물에서 매우 우수한 α -glucosidase 억제 효과가 나타남을 확인함
 - 이에 본 연구팀은 각각 다른 기전의 새로운 소재를 확보하고자 하였으며, α -glucosidase inhibitor 효능을 나타내는 곰취와 PPAR γ agonist 효능을 나타내는 여주를 혼합하는 획기적인 방안을 제시하고자 함
- 여주 (*Momordica charantia*)의 개요 및 중요성
- 여주는 조롱박과로 아시아 열대지방이 원산지이며, 수년전부터 우리나라에서도 재배되기 시작함
 - 비타민 A, C와 철 등을 다량함유하고 있으며, 일본에서는 각종 차와 음료 및 건강기능 식품들이 개발되어 시판되어지고 있음
 - 최근 여주의 다양한 생리적 기능을 나타내는 성분들이 보고되고 있으며, 특히 vegetable insulin 과 charantin은 당뇨병을 가진 환자들의 혈당강화에 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 동물의 인슐린과 비슷한 구조를 가지는 것으로 보고되고 있음
 - 이렇게 여주에 대한 연구는 지속적으로 이루어지고 있으며, 이미 당뇨와 관련된 특허는 6건에 달하고 있고, 관련 논문은 20여편이 보고되어 있어 주원료로 사용하기 어려운 실정임
- α -glucosidase inhibitor / PPAR γ agonist 병합요법 및 제품 개발의 중요성
- α -glucosidase inhibitor는 내인성 인슐린의 과분비 없이 소장에서 탄수화물의 흡수를 지연시켜 식후혈당치를 감소
 - 이러한 α -glucosidase inhibitor는 저혈당이 발생하지 않고, 체중 증가 현상이 나타나지 않는 장점이 있으나, 복부팽만, 방귀, 설사 같은 위장관련 증상이 나타나는 부작용이 있음
 - PPAR γ 는 에너지 대사에서 인슐린의 감수성을 증가시키는 thiazolidinedione (TZD) 계열에 대한 수용체로 알려져 있으며, 간의 포도당 생성을 약하게 억제하지만 체내 포도당 이용률을 증가시켜 인슐린 감수성을 향상시킴
 - 이러한 PPAR γ agonist는 말초조직에서의 인슐린 효과 증진 및 낮은 저혈당 빈도의 장점이 보고되어 있으나, 효능이 나타나기까지의 기간이 길며 (4주 이후), 수분저류, 부종, 체중증가 등의 부작용이 나타나기도 함
 - 이러한 당뇨 관련 기전 중 특히, α -glucosidase inhibitor는 단독요법보다 병합요법이 더 효율적

이라고 보고되어 있으며, 실질적인 당뇨병 치료를 위한 당뇨치료제 처방에서도 각각의 다른 기전 약제를 병용처방 하고 있음 (그림3)

- 또한 PPAR γ agonist는 인슐린과 병용투여 시 심각한 부작용을 나타낼 수 있으며, 효능을 나타내는 기간이 길어 단독투여 시 그 효과를 체감하기 어려우므로, 병용투여를 통한 synergy 효과를 창출하여야 함
- Costa 등 (1997)은 단독 치료에서 실패한 65명의 환자들을 대상으로 acarbose (α -glucosidase inhibitor)군과 위약군으로 나눈 후 24주간 사후 조사한 결과 acarbose를 기준으로 병합처방 하였을 때 혈당 조절 효과가 더욱 우수하였음을 보고
- Boniface 등 (2002)은 식이요법으로 혈당 조절이 잘 되지 않은 아시아인 69명을 대상으로, acarbose 병합치료한 군과 위약군으로 분류하여, 24주간 이중맹검, 다기관, 위약대조 연구를 진행한 결과, acarbose 병합 치료군에서 보다 나은 혈당 조절 효과를 보이는 것으로 보고



<그림. 경구용 당뇨치료제 병용처방 현황 (약사신문, 2011)>

- 이에 본 사업팀은 α -glucosidase 억제 효능을 나타내는 곰취와 병합요법을 나타낼 수 있는 PPAR γ agonist 소재를 찾고자 하였으며, 그 중 여주 추출물에서 PPAR γ agonist 효능이 우수함을 확인함
- 곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강화 건강기능식품 개발의 필요성
 - 천연물 간의 성분 및 천연물 내의 유효 성분이 식품내의 성분과 공존할 경우, synergistic effect를 나타내어 면역시스템 중 보체계의 활성화, cytokine의 활성화, 질병에 대한 생체방어시스템 보강에 효능을 나타낼 수 있음
 - 현재 당뇨병으로 인한 의료비 지출은 연간 약 1조 3,000억원에 이르고 있으며, 긴 유병기간으로 인해 활동성과 생산성의 손실이 다른 질환에 비해 상대적으로 크므로 경제·산업적 활동에 막대한 악영향을 미침
 - 특히 젊은 층의 2형 당뇨 급증은 산업계 및 의료계에 커다란 파장을 일으키고 있으며, 따라서 우리 고유 자생식물을 이용하여 혈당강화 활성이 뚜렷한 식품을 개발할 경우 수입 원료에 대한 대체효과는 물론 수출을 통한 우리 경제 및 산업에 막대한 영향을 미칠 것으로 사료됨
 - 본 연구개발 소재인 곰취 및 여주는 이미 몇몇 문헌에서 항당뇨 효능과 유효성분을 구명하였으나, 아직 유효성분 함량을 비롯한 인체적용시험 단계에 이르지 못하고 있음

1-3. 연구개발 범위

- 국내산 원료 공급방법 확립 및 원생약 규격화
 - 기원 정립, 분석방법, 안정성 평가를 통한 원생약 기시법 개발
 - 강원도 양구에서 곰취 재배농가와의 계약재배를 통한 원료 공급
 - 수집된 여주의 소재 선별에 따른 여주 생산 조건 확립 및 여주 공급 루트 확보

- 유효성분 규명 및 지표성분 설정 (기존 정립된 성분 포함, 곰취 및 여주 각각 1종 규명)
 - 혼합추출물의 경우 원료 1개당 각각의 원료 validation이 필요하므로 여주 및 곰취 각각의 혈당강하 효능을 나타내는 지표성분 1종 규명 및 설정
- HPLC 분석을 통한 지표성분 함량 표준화
- 국내산 원료 밸리데이션
 - 곰취 지표성분 함량 및 in vitro 효능 측정
 - 여주 최종 선발 소재의 지표성분 함량 및 in vitro 효능 측정
 - 곰취 및 여주 원료 기시법 개발 및 밸리데이션 확립
 - 원료생산에 대한 시험성적 및 validation (HPLC)
 - 생산년도와 관계없이 유효성 범위내의 표준물질 범위 관리를 통한 원재료의 안정적인 확보 및 원료생산관리
- 곰취 추출물의 α -glucosidase inhibition assay를 통한 in vitro 효능 및 바이오마커 확인
 - α -glucosidase inhibition assay를 통한 곰취 추출물의 최적 추출조건 확립 (30% 주정)
 - 곰취 추출물, 분획물, 유효성분의 α -glucosidase 억제 효능 확인
 - 지방세포 및 근육세포에서 곰취 추출물 및 유효성분의 혈당강하 관련 바이오마커 측정
 - qRT-PCR을 이용한 mRNA level 측정 (Glut2, Glut4 등)
- 여주 추출물의 PPAR γ agonist test를 통한 in vitro 효능 및 바이오마커 확인
 - PPAR γ agonist test를 통한 여주 추출물의 최적 추출조건 확립 (30% 주정)
 - 여주 추출물, 분획물, 유효성분의 PPAR γ agonist 효능 확인
 - 지방세포 및 근육세포에서 여주 추출물 및 유효성분의 혈당강하 관련 바이오마커 측정
 - qRT-PCR을 이용한 mRNA level 측정 (PPAR γ , Glut2, Glut4 등)
- 혼합추출물의 최적추출공정 개발
 - 혈당강하 기능성 검증을 통한 최적혼합비율 설정
 - 최적 혼합비율 설정 및 유효성분 함량 분석에 따른 대량생산 체계 구축
 - 각각의 원료에 대한 기준시험법 확립 및 안정성 평가
- II형 당뇨 동물모델에서 혼합추출물의 항당뇨 효능 연구
 - 최적추출공정 원료를 이용하여 전임상 유효성 평가 진행
 - II형 당뇨 모델 (비만형, 유전자 변형 모델)을 이용하여 항당뇨 효능 측정
 - 곰취 및 여주 단독추출물의 비교
 - 곰취와 여주는 각각의 혈당강하 기전이 다르므로 in vitro에서는 효능 차별화를 측정하기 어려우며, 이에 본 과제에서는 전임상 유효성 평가에서 각 단독추출물과의 비교를 통해 우수성을 입증할 계획임
 - 양성대조군으로 바나바잎추출물 비교
 - 현재 혈당강하 식품원료인 바나나잎추출물과의 비교
 - 시험 종료 후 혈액을 채취하여, glucose, triglyceride, FFA, total-, HDL-, LDL-cholesterol, insulin, 당화혈색소, adiponectin 등을 분석
 - 췌장을 적출한 후 조직병리 (췌장샘의 β -cell 확인)
 - 근육조직에서의 바이오마커 mRNA level 측정
- 작용기전 규명을 위한 신규 작용점 분석
 - 곰취 및 여주 추출물, 유효성분의 신규 작용점 분석
 - PCR array를 이용한 혈당조절 관련 타겟 유전자 탐색
 - 본 과제에서는 언급한 기전 규명 이외에 당뇨 타겟 PCR array를 활용한 신규 작용점 분석을 실시하며, PCR array는 단기간에 할 수 있는 타겟 유전자 분석이므로 실질적인 기전연구에 유용함
 - qRT-PCR을 통한 타겟 유전자 발현유무 확인

- Up-, down stream 유전자 분석
- 전임상 및 인체적용시험을 위한 혼합추출물의 제제 및 제형 개발 (고형 및 액상)
 - 고품제 개발 : pH, 함량 균일성, 용출시험을 통한 개발
 - 용액제 또는 반고형제 개발
 - 보존제, 항산화제 등의 첨가여부 확인
 - 안정성 시험을 통한 유통기간 및 유효기간 설정
 - 곰취/여주 혼합추출물의 정제 및 캡슐의 제조
 - 곰취/여주 혼합추출물의 경우 인습이 잘되지 않으며, 성상이 좋으므로 직타법에 의한 정제 제조 예정
 - 국내용, 수출용 캡셀제 제작 (연질캡슐 및 경질캡슐)
 - 인체적용시험 : 용량에 따라 조절 예정이며, 복용의 편의성 등을 고려하여 제작
 - 액상제제로 제조 시, 부원료의 쓴맛제거 필요성 검토
- 혼합추출물의 제조 공정 개발
 - 공정개발 연구는 공정 개선, 공정 검증, 지속적인 공정 입증 (해당되는 경우), 공정관리 기준의 근거를 제공하며, 필요한 경우에는 물리화학적 특성뿐만 아니라 미생물학적 특성도 감안하여 공정개발 연구를 실시
 - 제조공정 개발 프로그램이나 공정개선 프로그램을 통해 원하는 품질의 제품을 입증하기 위해 모니터링하거나 관리해야 할 중요한 파라미터 (예 : 제립종말점)를 결정
 - 주요임상시험 (안전성, 유효성) 또는 안정성 시험용 배치 생산을 위한 제조공정
- 혼합추출물의 혈당개선 인체적용시험
 - 인체적용시험 시, 혼합추출물임을 감안하여 임상프로토콜 작성
 - 인체적용시험을 통한 혈당조절 기능성 성분의 작용효과와 체내작용, 안전성, 적정 섭취량을 입증하는 것을 목적으로, 인체적용시험은 피험자의 건강에 직접적인 영향을 미칠 수 있으며, 이에 본 연구에서는 세명대학교 부설 한방병원에서 실시
 - 12주간 총 102명의 (군당 17명) 대상자에 실시
- 곰취 혼합추출물의 개별인정형 원료 등록을 위한 제출자료의 내용 및 요건
 - 협동 및 위탁기관에서의 자료 수집 및 제출자료 비교 보완
 - 식약처 Q&A를 통한 기능성 원료 자료 확보 후 신청
- 제품생산 및 마케팅 계획 수립
 - 원생약 / 원료 관리 방안 확보
 - 제품 생산을 위한 대량생산공정 확립 (OEM 생산)
 - 제품 생산을 위한 제품 디자인 및 포장재 개발
 - 시제품 생산 및 제품 생산

2. 국내외 기술개발 현황

코드번호 D-04

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

1) 기술현황

가) 혈당조절 건강기능식품의 기술 및 제품개발 현황

원료명	인정 등급	기능(지표)성분	일일섭취량
1 난소화성 말토덱스트린	2	난소화성 말토덱스트린	난소화성 말토 덱스트린으로서 4.6~9.8 g/day
2 바나바 추출물	2	Corosolic acid	바나바 추출물로서 50~100 mg/day
3 피니톨	3	피니톨	피니톨로서 1.2 g/day
피니톨 분말	3	캐롭 빈 pods(Carob bean pods)	피니톨로서 1.2 g/day
4 홍경천등 복합추출물	3	홍경천추출: Salidroside 계피추출물: Cinnamic acid	씨제이 홍경천등 복합추출물로서 900 mg/day
5 구아바일 추출물	2	Total polyphenol	총 폴리페놀로서 120 mg/ day 123.5 mg/ day
6 탈지 달맞이꽃 종자추출물	2	Total polyphenol Penta-O-galloyl beta-D-glucose	탈지 달맞이꽃 종자추출물로서 200~300 mg/day
7 솔잎 증류농축액	2	3-carene Limonene Terpinolene	솔잎 증류농축액으로서 1,350 mg/day
8 콩밭효추출물	2	α-glucosidase 활성 억제능(IC50) Tris(2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3- propanediol	콩밭효추출물로서 900 mg/day
9 알부민	2	0.19-albumin	PMO 알부민으로서 1.2~1.5 g/day (식사와 함께 1일 3회 섭취)
10 Nopal추출물	2	수용성 식이섬유	수용성식이섬유로서 4.3 g/day
11 동결건조 누에분말	2	1-deoxynojirimycin	동결건조분말로서 2.7 g/day
12 지각상엽 추출혼합물	2	Naringin Astragalin	지각상엽추출혼합물로서 2.8 g/day
13 서목태(쥐눈이콩)펩타이드 복합물	3	Arginine Leucine	서목태(쥐눈이콩)펩타이드복합물로서 4.5 g/day
14 인삼 가수분해농축액	2	Ginsenoside Rg1	인삼 가수분해농축액으로서 960 mg/day
15 마추정추출물	3	Allantoin	마추정추출물로서 900 mg/day
16 타가토스	2	D-tagatose	D-tagatose로서 5~7.5 g/day
17 실크단백질 효소가수분해물	3	Serine, Glycine, Alanine	실크단백질 효소가수분해물로서 6 g/day
18 히드록시프로필 메틸셀룰로오스	2	히드록시프로필 메틸셀룰로오스	히드록시프로필 메틸셀룰로오스로서 4~8 g/day
19 상업추출물	3	1-deoxynojirimycin	상업추출물로서 6 g/day
20 계피추출분말	2	Cinnamic acid	계피추출분말로서 336 mg/day
21 L-arabinose	2	L-arabinose	신청원료로서 설탕 섭취량의 3% L-arabinose를 포함하는 설탕으로서 6 g/day

■ 식품의약품안전처에 등재된 혈당 조절 원료는 총 21가지로, 이 중 난소화성 말토 덱스트린, 바나바 주정추출물, 구아바일 추출물, 탈지달맞이꽃종자 주정추출물의 4종은 고시형 원료로 전환되었으며, 잔나비겉상버섯균사체는 인정 취소 됨

■ 혈당조절 건강기능식품 제품 현황

- 당뇨는 대사성 질환에 속하며, 대사성 질환과 관련된 (간 건강, 체지방 감소, 혈중 콜레스테롤 개선, 혈당조절, 혈압조절, 혈행개선) 기능성 원료는 2004년 이후 지속적으로 인정받고 있으며, 이러한 이유로 대사성 질환 예방에 대한 꾸준한 관심 및 다양한 원료에 대한 관심에 의한 것으로 판단 됨
- 2004년부터 2015년까지 혈당 조절 기능성원료 인정 건수는 41건으로 체지방 감소에 대한 기능성 원료 인정 건수 (88건) 다음으로 많았음



<그림. 국내 유통중인 혈당조절 건강기능식품>

2) 혈당조절 건강기능식품 시장현황 (참조: 건강기능식품 시장 동향, 연구성과실용화진흥원, 2016)

- 2016년 발표된 '2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석' (한국식품안전관리인증원)에 따르면, 2015년 건강기능식품의 총 생산액은 1조 1,332억원으로 2014년 대비 1.1% 증가하였으며, 총 매출액은 1조 8,230억원으로 11.8% 증가, 총 매출량은 3만 4,568톤으로 13.2% 증가함

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

- 품목별 매출 현황을 보면, 2015년 향산화 제품이 8,956억 원으로 가장 높은 비중을 차지했으며 혈당조절 건강기능식품은 18번째로써 총 매출액은 126.2억 원을 기록하였음
- 혈당조절 건강기능식품 판매는 2014년 93.3억 원인 데에 비해 2015년에는 126.2억 원을 기록하며 35.38% 증가를 확인함
- 품목별 매출현황을 살펴보았을 때 주로 고시형 제품의 판매가 두드러지는데 그 중에서도 난소활성 말토 덱스트린의 매출이 가장 높음
- 혈당조절 건강기능식품은 수출보다는 대부분 내수용으로 판매되고 있으며, 피니톨만이 내수용보다 수출용 매출액이 높았음

구분		매출 순위	비율 (%)	총 매출액 (억원)	내수용 (억원)	수출용 (억원)
고 시 형	구아바이 추출물	48	0.0	2.4	2.4	-
	바나바이 추출물	37	0.1	11.6	11.6	-
	달맞이꽃 종자 추출물	50	0.0	0.8	0.8	-
	귀리 식이섬유	38	0.1	10.2	10.2	-
	난소활성 말토 덱스트린	20	0.5	74.4	73.9	0.5
개 별 인 정 형	이눌린/치커리 추출물	41	0.0	7.2	7.2	-
	피니톨	51	0.1	3.9	1.3	2.7
	솔잎증류농축액	54	0.1	3.5	3.5	-
	서목태(쥐눈이콩) 펩타이드 복합물	77	0.0	0.6	0.6	-

3) 혈당조절 건강기능식품 경쟁기관 현황 (참조: 한국식품안전관리인증원, 2016)

- 혈당조절 고시형 원료 및 건강기능식품은 난소활성 말토 덱스트린으로서 대상(주)에서 50억 원으로 가장 많은 매출을 달성하였으나 수출 매출은 (주)삼양사만이 보유함
- 난소활성 말토 덱스트린 다음으로 (주)뉴트리바이오텍의 귀리식이섬유가 9.2억 원으로 매출이 높았으나 (주)삼양사의 1/5에도 미치지 못해, 소재 및 회사별 매출 차이가 상당히 큼

구분		매출 순위	총 매출액 (억원)	내수용 (억원)	수출용 (억원)
구아바이 추출물	안국건강(주)	1	1.0	1.0	-
	코스맥스바이오(주)	2	0.7	0.7	-
	극동에치팜(주)	3	0.2	0.2	-
	(주)로제트	4	0.2	0.2	-
	(주)상일제약	5	0.1	0.1	-
귀리식이섬유	(주)뉴트리바이오텍	1	9.2	9.2	-
	주식회사 노바렉스	2	0.4	0.4	-

	(주)오투바이오	3	0.4	0.4	-
	(주)팜크로스	4	0.1	0.1	-
	주식회사 굿씨드	5	0.0	0.0	-
난소화성말토 텍스트린	대상(주)	1	50.0	50.0	-
	(주)참다운녹즙	2	6.8	6.8	-
	콜마비앤에이치(주)푸드팜사업부문	3	6.4	6.4	-
	(주)삼양사	4	2.1	1.7	0.5
	(주)네이처텍	5	1.7	1.7	-
달맞이꽃종자 추출물	코스맥스바이오(주)	1	0.5	0.5	-
	(주)한풍네이처팜	2	0.3	0.3	-
바나바잎 추출물	(주)한국인삼공사	1	5.8	5.8	-
	(주)네이처텍	2	2.9	2.9	-
	(주)바이오랜드	3	1.3	1.3	-
	코스맥스바이오(주)	4	0.7	0.7	-
	(주)알피코프 제2공장	5	0.5	0.5	-
이눌린/치커리 추출물	주)건강을 지키는 사람들	1	3.8	3.8	-
	극동에치팜(주)	2	2.4	2.4	-
	엘라이프주식회사	3	0.3	0.3	-
	(주)더존피에이치씨	4	0.2	0.2	-
	주식회사 노바렉스	5	0.2	0.2	-

- 혈당조절 개별인정형 원료 및 건강기능식품은 피니톨로서 아미코젠(주)문산공장에서 3.2억 원의 매출을 달성하였으며, 수출 매출 또한 피니톨로서 아미코젠(주)문산공장만이 보유하고 있으나, 고시형 원료 및 건강기능식품 매출 1위인 대상(주)의 난소화성 말토 텍스트린에 대비하여 6.4% 수준의 매출액을 달성함
- 본 연구결과로 인한 제품개발이 진행될 경우 기존 식품에서 나타나지 않는 다기전의 혈당강하 제품으로 활용될 수 있으며, 의약품 수준의 결과를 예측할 수 있음 (혈당강하 3중 기전 활용)

구 분		매출 순위	총 매출액 (억원)	내수용 (억원)	수출용 (억원)
구아바잎추출물등 혼합물	주식회사 벤스랩	1	2.4	2.4	-
	안국건강(주)	2	0.3	0.3	-
서목태(취논이콩)캡타이드	(주)서흥 오창공장	1	0.6	0.6	-
솔잎증류농축액	코스맥스바이오(주)	1	1.4	1.4	-
	(주)상일제약	2	1.1	1.1	-
	주식회사한미양행	3	0.6	0.6	-
	조선무약합자회사	4	0.3	0.3	-
	극동에치팜(주)	5	0.2	0.2	-
피니톨	아미코젠(주)문산공장	1	3.2	0.6	2.7
	(주)한국씨엔에스팜	2	0.5	0.5	-
	아미코젠(주)	3	0.3	0.3	-

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

1) 기술 현황

가) 시장현황 및 경쟁기관 현황 (참조: 건강기능식품 시장 동향, 연구성과실용화진흥원, 2016)

- 세계건강기능식품 시장 규모는 2015년 기준 1,179억 달러 (약 131조원)로 연평균 7.3%의 성장을 이루고 있으며, 2020년도에는 약 1,677억 달러 (약 180조원)에 이를 전망
- 국가별로 건강기능식품을 이르는 용어는 조금씩 다르지만 의미는 비슷함 (미국; 식이보충제

_Dietary supplements, 유럽; 식품보충제_Food supplements, 일본; 보건기능식품, 중국; 보건식품)



<그림. 세계 건강기능식품 시장 규모 및 성장률 (2009~2020년)>

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

- 세계 시장에서 가장 큰 규모를 차지하는 곳은 미국으로 약 404억 달러 (약 45조원, 점유율 34.3%)이며, 우리나라와 가까운 중국은 약 163억 달러 (약 18조원, 점유율 13.8%), 일본은 약 109억 달러 (약 12조원, 점유율 9.2%) 수준임
- 한국은 약 21억 달러 (약 2조원, 점유율 1.78%) 규모의 시장을 형성하고 있음

(단위: 억 달러 또는 %)

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

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

■ 주요 국가의 시장 규모 및 연구 분야

구분	미국	중국	일본
시장 규모	<ul style="list-style-type: none"> 404억 달러 (45조 원) 연평균 성장률 7.1% 	<ul style="list-style-type: none"> 163억 달러 (18조 원) 연평균 성장률 13.8% 	<ul style="list-style-type: none"> 109억 달러 (12조 원) 연평균 성장률 2.3%
주요 소비 분야	<ul style="list-style-type: none"> 멀티 비타민 천연물/전통 식품보충제 	<ul style="list-style-type: none"> 비타민 및 무기질 	<ul style="list-style-type: none"> 비타민 및 무기질
성장 분야	<ul style="list-style-type: none"> 비타민 B, D 프로바이오틱스 	<ul style="list-style-type: none"> 칼슘제 	<ul style="list-style-type: none"> 시력보호 수면보조
기업 동향	<ul style="list-style-type: none"> 대형 기업이 시장 선점 대규모 유통망을 통해 판매 	<ul style="list-style-type: none"> 점유율 10위 기업 중 외국기업 3개 포함 직소판매형식 	<ul style="list-style-type: none"> 드럭 스토어, 통신판매 등 다양한 판로 자체 브랜드 제품 성장

■ 미국의 제품개발 및 시장 현황

- 미국의 건강기능식품 시장은 비타민 및 식품보충제 시장이 272억 달러 (약 30조 원, 2015년)의 규모를 형성하며 그 중에서도 비타민 시장이 104.9억 달러 (약 11조 7,907억 원)의 규모를 형성함
- 비타민 시장에서 비타민 B와 D가 가장 높은 성장률 (전년 대비 각각 7.7%, 6.8%)을 나타내며 20.7억 달러와 8.8억 달러 규모를 형성함
- 식품보충제 시장은 천연물/전통 식품 보충제가 가장 큰 시장을 형성하고 있으며 34.7억 달러의 규모를 형성함
- 소화기능이 저하된 미국인들의 소화 기능 촉진을 위한 보조제로서 프로바이오틱스 제품은 17.2억 달러 규모를 형성하며 식품보충제 시장 중 가장 높은 성장률을 기록하였음 (14.2%)

구분	2014년	2015년	성장률 (%)	점유율 (2015년 기준)
멀티 비타민	50.2	51.7	3.0	49.3
비타민 A	4.1	4.2	2.4	4.0
비타민 B	19.3	20.8	7.7	19.8
비타민 C	11.3	11.9	5.1	11.4
비타민 D	8.3	8.9	6.8	8.5
비타민 E	2.8	2.7	-2.5	2.6
그 외 비타민	4.6	4.8	4.2	4.6
합계	100.5	104.9	4.3	100.0

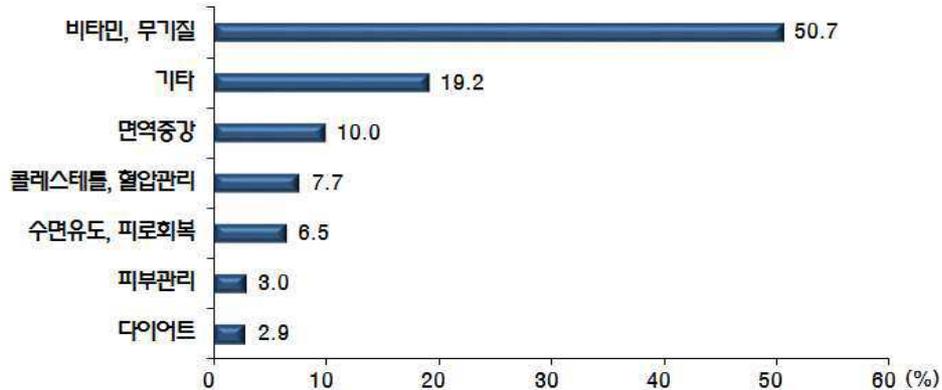
(단위: 억 달러 또는 %)

- 수출입 현황: 소비자의 대부분이 자국 제품을 이용하고 있으나, 인삼 및 홍삼 제품은 중국과 한국 등에서 수입
- 기업 동향: 대형 기업이 시장을 선점, 중소형 후발업체가 틈새시장 공략 중
- NBTY: 대규모 유통망 확보를 통해 주요 브랜드의 Nature's Bounty와 Sundown을 소매점에서 판매, 자사브랜드 인터넷과 건강식품 전문점 운영을 통해 판매
- GNC: General nutrition center는 비타민, 식이보조제품, 운동보조제, 체중 감량제를 주로 제조, 미국 전역에서 5,300여개 전문 상점 운영
- CVS health: 미국 전역에 1,660개 이상의 매장 보유한 약국 및 클리닉 사업부 인수를 통해 오프라인 매장 확대
- 소규모업체: 다른 시장의 대형업체와 파트너 십 맺어 시장 경쟁력 확보
- 한국제품: 미국 내 한국 건강기능식품 인지도 낮으나 고려인삼의 우수한 효능 인정 받음 KT&G, 대상(주), NH한삼인 등 독립점포 통해 운영, 주로 한인교포 대상 판매

■ 중국의 제품개발 및 시장 현황

- 중국 건강기능식품 시장은 약 163억 달러의 규모로 연평균 13.8% 성장하여 2020년에는 약 267억 달러의 규모에 이를 것으로 전망됨
- 건강관리에 대한 인식 확산 및 인구 규모 등을 고려할 때 중국 시장은 더욱 성장할 것으로 예측
- 2009년 의료제도 개혁에서 국민 건강의 중점을 예방에 두고 있음
- 사스, 조류인플루엔자 등의 전염병 발생으로 인해 면역력 강화를 목적으로 건강기능식품 이용 증가
- 건강기능식품은 중국 정부의 가격 간섭으로부터 자유롭기 때문에 최근 가격상승 경향이 지속됨
- 중국 건강기능식품 소비계층은 중·노년층이 약 50%, 여성이 35%를 차지하고 있으며 나머지 부분은 아동 및 청소년이 차지해 점차 소비자 평균 연령이 낮아지는 추세

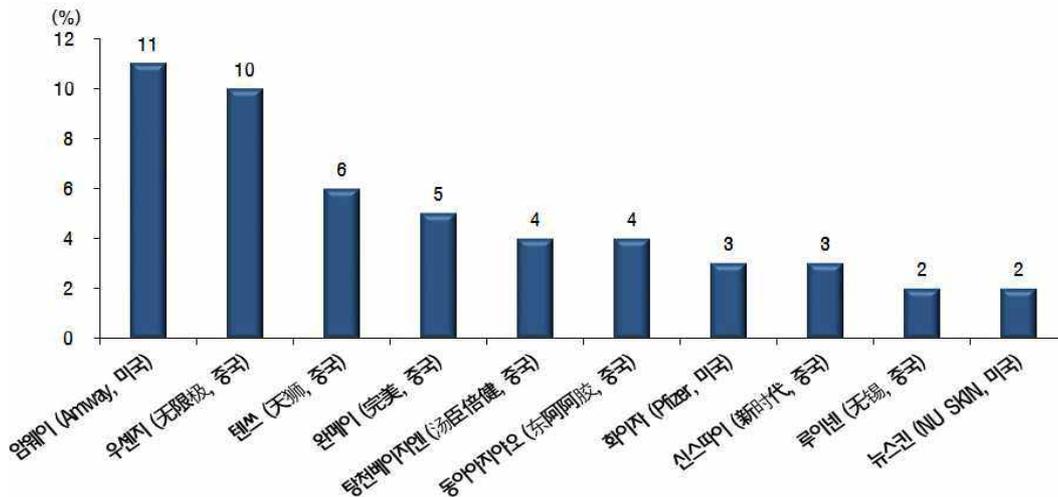
- 가장 많은 점유율을 차지하고 있는 것은 비타민 및 무기질로 50.7%를 차지하며, 최근 인기품목은 칼슘제로 2014년 판매액이 약 24억 달러를 달성함



<그림. 중국 건강기능식품 동향>

출처: 중국 건강보조식품산업 현황분석, 한국무역협회, 2016

- 보건식품 소비 품목은 주로 면역 조절, 항피로, 항노화, 혈중 지방 조절 등의 기능에 집중되어 있으며 천연 보건식품의 끊임없는 요구로 천연 영양 보건식품 수요가 증가할 것으로 예측됨
- 수출입 현황: 2011년 중국 국가발전개발위원회에서 영양과 보건식품 제조업 육성방안 제시 이후 수입제품 시장이 빠르게 성장
 - 수출: 2.7억 달러로 전년대비 8.9% 증가, 주요 품목은 어유, 레시틴, 로열젤리 등
 - 수입: 11.8억 달러로 전년대비 8.3% 증가, 비타민류, 식물 추출물, 아미노산류, 연골소 등
- 2016년 10월부터 식품안전법 시행에 따라 건강기능식품 생산·제조·유통에 있어 철저한 관리 요구
- 기업 동향: 1~10위 기업이 전체 시장의 50%를 차지하고 있으며, 그 중 외국 기업은 3개 (암웨이, 화이자, 뉴스킨)로 초기 중국시장에 진출하여 직판 형식으로 영업활동 진행
 - 암웨이가 11%의 점유율을 차지하고 있고 화이자는 칼슘제의 판매량이 높음
 - 우셴지(无限极)는 아동 건강보건식품 수요증가와 함께 매출이 매해 증가하고 있으며 탕첸베이제엔(汤臣倍健)은 주로 면역력 증진 기능 제품을 판매함



<그림. 중국 건강기능식품 기업 동향 >

출처: 중국 건강보조식품산업 현황분석, 한국무역협회, 2016

- 한국제품: 중국의 한국 건강기능식품 수입 금액은 2015년 0.4억 달러로 증가, 연평균 44% 증가하고 있는 추세이며, (주)KT&G, 일양약품(주), 일동제약(주), (주)풀무원, (주)개성인삼협동조합 등에서

제조한 건강기능식품이 수출등록 되어 있음

■ 일본의 제품개발 및 시장 현황

- 일본 건강기능식품 시장은 약 109억 달러 규모로 연평균 2.3% 성장하여 2020년에는 122억 달러에 이를 것으로 전망
- 급격한 고령화 사회, 라이프 스타일의 변화로 야기된 질병, 건강관리에 대한 관심 등이 꾸준하므로 완만한 성장이 계속 될 것으로 예측
- 시력보호 및 수면보조 관련 제품이 2015년에 주목받았고 시력보호 제품의 경우 중년 이후 원시 증상을 완화해주는 영양제를 기능성식품으로 출시하며 전년 대비 7.6% 성장함
- 수출입 현황: 대부분 완제품 형태는 식품위생법이나 건강증진법의 엄격한 규제를 피하기 위해 일본 내에서 제조
비타민 제품의 경우 완제품 (미국) 또는 원재료 (중국) 형태로 수입
- 기업 동향: 방문판매에 한정되어 있다가 규제 완화로 인해 드럭 스토어, 통신판매 등으로 다양해짐
가격대비 가치를 따지는 소비성향이 강해지며 유통업체의 자체 브랜드 제품 성장세 두드러짐
드럭 스토어 연합인 HapYCom은 자체 브랜드 비타민 및 식이보조 제품을 출시하여 유통
마츠모토키요시 (드럭스토어)의 경우에도 비타민 제품 및 식이보조 제품군 출시하여 유통
- 한국제품: 한국산 인삼 및 홍삼제품의 고급품 인식이 강해 50대 이후 중장년층의 구매가 높음
전통적 이미지에 머물러 있고 신제품 개발이 미흡하여 선물용 및 건강에 도움 되는 정도로 인식
인삼제품은 주로 한국산이 많으나 원료를 한·중으로부터 수입하여 자체적으로 가공해 제품 생산하는 경향 증가 추세

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호	D-05
------	------

제1절 연구개발의 목표 및 주요내용

가. 최종목표

- 원재료의 생산체계 확립을 통한 원료 규격화 및 안정적 원재료 공급체계 구축
- 곰취/여주 혼합추출물의 전임상 및 인체적용시험을 통한 안전성 및 유효성 확보
- 곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 목적의 개별인정형 원료 신청
- 혼합추출물을 이용한 혈당개선 건강기능식품 제품화

나. 주요내용

- 1) 국내산 원료 수급방법 확립 및 원생약 규격화
- 2) 계약재배에 따른 국내산 원료 밸리데이션
- 3) 곰취 및 여주 추출물의 혈당강하 유효성분 규명 및 지표성분 설정
- 4) 곰취 추출물의 α -glucosidase inhibition assay를 통한 in vitro 효능 및 바이오마커 확인
- 5) 여주 추출물의 PPAR γ agonist test를 통한 in vitro 효능 및 바이오마커 확인
- 6) 혼합추출물의 최적추출공정 개발
- 7) II형 당뇨 동물모델에서 혼합추출물의 항당뇨 효능 연구
- 8) 작용기전 규명을 위한 신규 작용점 분석
- 9) 전임상 및 인체적용시험을 위한 혼합추출물의 제제 및 제형 개발 (고형 및 액상)
- 10) 혼합추출물의 제조 공정 개발
- 11) 혼합추출물의 혈당개선 인체적용시험
- 12) 곰취 혼합추출물의 개별인정형 원료 등록을 위한 제출자료의 내용 및 요건
- 13) 제품생산 및 마케팅 계획 수립

제2절 연구개발 추진전략·방법 및 추진체계

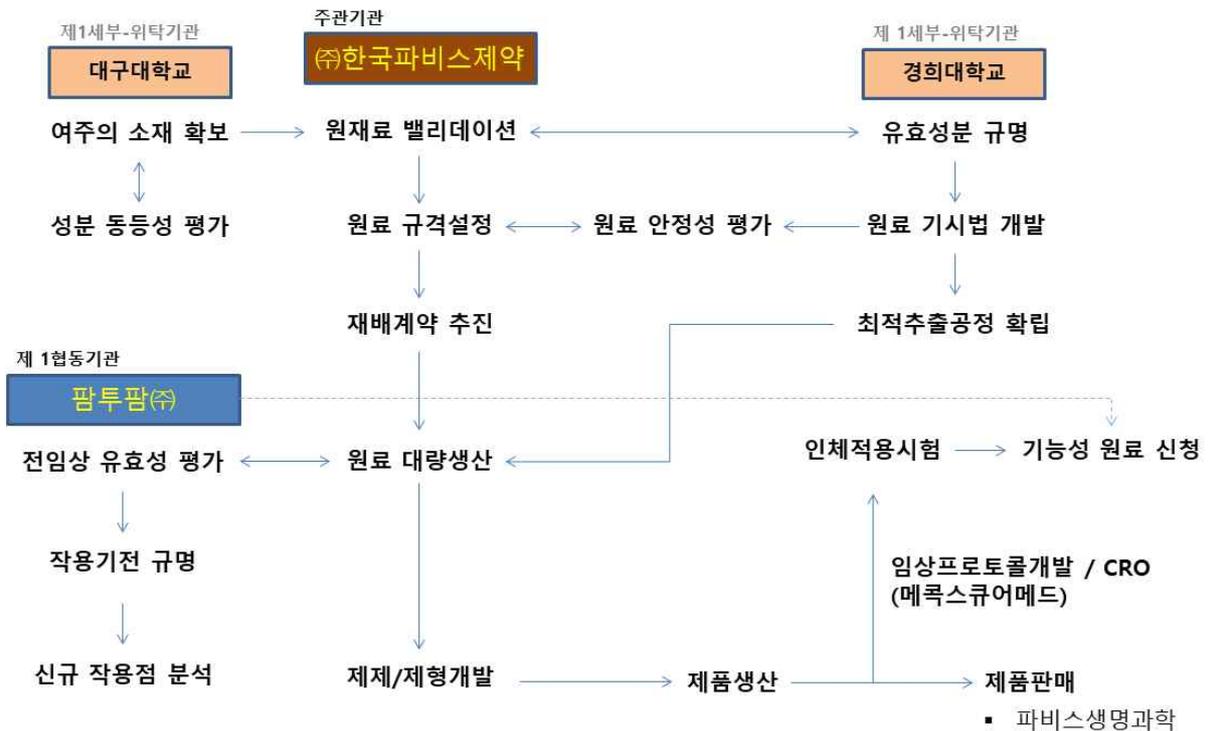
가. 연구개발의 추진전략 및 방법

- 주관기관 : (주)한국파비스제약 (제제 및 제형 개발, 개별인정형 원료 등록, 제품 생산)
- 협동기관 : 팜투팜(주) (전임상 유효성 평가 및 작용기전 규명)
- 위탁기관 : 경희대학교 (곰취 및 여주의 기시법 개발 및 혼합추출물의 최적추출공정 개발)
대구대학교 (여주의 소재확보 및 생산조건 확립, 성분 동등성 평가)
- 단순 참여기관 : 메콕스큐어메드(주) (혈당강하 인체적용시험 연구)
(주)한국파비스생명과학 (마케팅 및 제품 판매)

참여기관	1차년도	2차년도	3차년도
<주관기관> (주)한국파비스 제약	<ul style="list-style-type: none"> ▪재배농가에서의 곰취 수급 ▪곰취 및 여주의 자원 확보 확립에 따른 원재료 validation ▪원료 규격 설정 및 안정성 평가 ▪전임상 평가를 위한 제제 및 제형 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ▪원료 규격 설정 및 안정성 평가 ▪원료 공급을 위한 재배 계약 추진 ▪인체적용시험을 위한 제제 및 제형 개발 ▪임상프로토콜 개발 (CRO 연계) ▪혼합 추출물의 인체적용시험 (CRO/임상기관 연계) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪혼합 추출물의 인체적용시험 (CRO 기관 연계) ▪자료수집 및 정리 ▪개별인정형 원료 신청 ▪마케팅 계획 수립 및 제품 생산

<p><협동기관> 팜투팜(주)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪혼합 추출물의 in vitro 효능 측정 (유효성분 규명을 위한 기관 연계) ▪전임상 유효성 평가 측정을 위한 실험계획 수립 ▪혼합추출물의 전임상 유효성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> ▪혼합 추출물의 전임상 유효성 평가 ▪혼합 추출물의 혈당강하 작용기전 분석 	<ul style="list-style-type: none"> ▪혼합 추출물의 혈당강하 신규 작용점 분석
<p><1세부 위탁> 경희대학교</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪곰취 및 여주 최적 소재 선정 ▪유효성분 규명 및 지표 성분 설정 ▪혼합추출물의 최적추출 공정 개발 (혼합비율 설정) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪곰취 및 여주의 원료 기시법 개발 ▪혼합추출물의 최적추출 공정 확립 	<ul style="list-style-type: none"> ▪개별인정형 원료 등록을 위한 원료 자료 확보 및 미비자료 보완
<p><1세부 위탁> 대구대학교</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪여주의 지역별, 채취시기별 소재 확보 ▪최적소재 선정에 따른 생산 조건 검토 	<ul style="list-style-type: none"> ▪최적소재의 생산 조건 및 관리방법 확립 ▪성분 동등성 평가 	
<p><참여기관> (주)메콕스큐어메드</p>		<ul style="list-style-type: none"> ▪임상 프로토콜 개발 ▪IRB 승인 및 인체적용시험 (세명한방병원) 	
<p><참여기관> (주)한국파비스생명과학</p>			<ul style="list-style-type: none"> ▪마케팅 계획 수립 및 제품생산 ▪산업화를 위한 판매 네트워크 설정

나. 연구개발의 추진체계



제3절 연차별 연구개발 목표 및 내용

가. 1차년도

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
1차년도	2014	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취 및 여주의 원료 validation 	<ul style="list-style-type: none"> - 곰취의 지역별 자원 확보 (3개 시료 중 1개 선정) - 여주의 품종별, 성숙도별 자원 확보 (140개 시료 중 5개 선별, 최종 1개 선정) - 혈당강하 효능 확인과 산업화를 고려한 곰취 및 여주의 최종 원료 선정 (각각 1종 선정) - α-glucosidase inhibition assay를 통한 곰취의 유효성분 분리/규명 (activity guided fractionation, 1종 규명) - PPARγ agonist test를 통한 여주의 유효성분 분리/규명 (1종 규명) - 선정소재의 원재료 validation - 유효성분 분리/규명에 따른 곰취 및 여주의 지표성분 설정 (각각 1종) - 곰취 및 여주의 혼합비율별 혼합물 제작 (1:9-9:1) - 혼합추출물의 당뇨 관련 bio-marker 분석에 따른 최적혼합비율 설정 - 최적혼합비율 설정에 따른 제제 및 제형 개발 (전임상 시험용 제작) - 원료 규격설정 및 안정성 평가 (2차년도 연계) - 원료 대량 추출공정 확립
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 전임상 효능 확인 	<ul style="list-style-type: none"> - α-glucosidase inhibition assay를 통한 곰취의 in vitro 효능 측정 - PPARγ agonist test를 통한 여주의 in vitro 효능 측정 - 최적 혼합비율별 설정을 위한 혼합추출물의 당뇨 바이오마커 분석 (Glut4, adiponectin 등) - 전임상 유효농도 설정 및 적정 모델 선정을 위한 실험계획 수립 (비만형 혹은 비비만형 당뇨모델 선정) - 전임상 유효성 평가 (db/db mouse 등)를 활용한 제 2형 당뇨 유효성 평가, 2차년도 연계) 	

나. 2차년도

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
2차년도	2015	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취 및 여주의 기시법 확립 및 최적추출공정 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 여주의 최적시기 및 성숙도 조사를 위한 성분 동등성 평가 (최적 열매 생산 조건 확립) - 곰취 및 여주의 원료 기시법 확립 (각각 1건) - 곰취 및 여주의 원료 규격화 및 안정성 시험 (각각 1건, 공인기관 의뢰) - 각 소재의 기시법 확립 및 혼합비율설정을 통한 최적추출공정 개발 - 최종 원료 및 혼합비율을 이용한 대량추출 공정 확립 (OEM 추출 에 따른 원료 생산) - 원료 공급을 위한 재배계약 추진 및 생산체계 확립 - 기시법 확립에 따른 IRB 승인 (혼합추출물)
		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 전임상 유효성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> - 전임상 유효성 평가 (db/db mouse 등)를 활용한 제 2형 당뇨 유효성 확인 (1차년도 연계) - 당뇨관련 혈액분석 및 조직병리 확인 - 조직에서의 당뇨관련 bio-marker 측정 - 최종 결과를 활용한 임상 dose 설정 및 인체적용시험 계획 수립
		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 혈당강하 인체적용 시험 	<ul style="list-style-type: none"> - 인체적용시험을 위한 혼합추출물의 제제 및 제형 개발 (타블렛 1건, 캡슐 1건) - 혈당강하 목적을 위한 임상 프로토콜 개발 (1건) : CRO 참여 (메콕스큐어메드) - 임상기관 선정 - CRO 참여 혈당강하 목적의 인체적용시험 (2차년도 후반기 실행 후 3차년도 연계)
		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취 및 여주, 유효성분의 혈당 조절 작용기전 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 지방세포 및 근육세포에서의 항당뇨 bio-marker 비교 분석 - Real-time PCR / western blot을 이용한 mRNA / protein level 분석

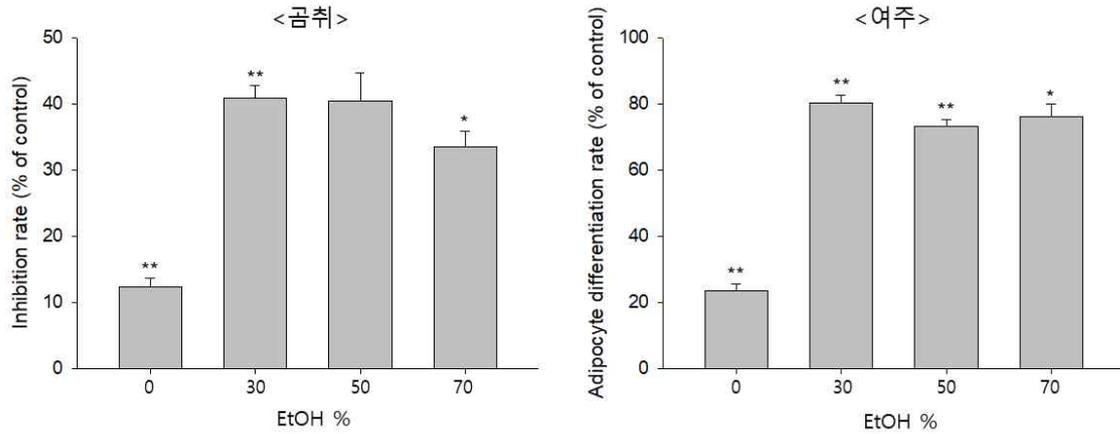
다. 3차년도

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용
3차년도	2016	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 혈당강하 인체적용 시험 	<ul style="list-style-type: none"> - 2차년도 연계 - 인체적용시험 결과 자료수집 및 정리 (1차 / 2차 유효성) - 실험실 및 임상적 이상반응, 저혈당 빈도 등의 안정성 조사
		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 혈당조절 작용점 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 곰취/여주 혼합추출물 및 유효성분의 타겟 유전자 규명 (PCR array를 활용) 및 혈당조절 작용점 분석 - 타겟 유전자의 up-, down stream 분석 (mRNA / protein level)
		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혈당강하 목적의 개별인정형 원료 신청 	<ul style="list-style-type: none"> - 곰취 및 여주의 기연구된 자료 수집 및 연구결과 정리 - 식약처 Q&A를 통한 미비 자료 보완 - 개별인정형 원료 신청 (과제종료 전)
		<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 건강기능식품 제품화 	<ul style="list-style-type: none"> - 국내 산업화를 위한 자료 수집 및 마케팅 계획 확립 (한국파비스생명과학 연계) - 제품화를 위한 제제 및 제형 개발 (파우치, 액상, 타블렛, 캡셀 등) - 시제품 생산 및 제품화 (자회사인 한국파비스생명과학 기존 유통 라인 이용)

제3절 세부연구수행 결과

가. 연구소재 선정

- 본 연구개발 과제는 여러 가지 치료기전을 가지는 당뇨병에 대하여 단일기전의 효과를 가지는 물질이 아닌 다기전의 효능을 나타내는 소재를 이용하여 당뇨병에 대한 고기능성의 안전한 천연물 건강기능식품을 개발하는 것이 목적이며, 이에 본 연구개발 팀은 선행연구를 통하여 α -glucosidase 억제효과를 나타내는 소재와 PPAR γ agonist 효능을 나타내는 소재를 선정하여 혈당강하 효능의 개별인정형 기능성 원료를 연구개발하고자 하였음
 - α -glucosidase 억제 소재: 곰취 추출물
 - PPAR γ agonist 소재: 여주 추출물
- 최적추출용매 선정
 - 곰취 추출물과 여주 추출물의 최적추출용매 선정을 위해 각 0~70%의 주정을 이용하여 각 타겟 효능을 조사함 (단일농도 50 μ g/mL, 70%를 초과한 농도는 사업성이 없을 것으로 판단함)
 - 그 결과, 곰취 및 여주 모두 30% 주정추출물에서 의미있는 효능을 나타내어 곰취 및 여주 모두 30% 주정추출물을 사용하기로 결정함



<그림. 금취 및 여주 주정 농도별 추출물의 항당뇨 효과>

나. 금취 및 여주의 원재료 확보 및 표준추출물 제조

- 국내산 금취의 원재료 확보를 위해 진부령, 태백, 인제에서 원재료 확보



<그림. 금취재배 및 수급농가 현황>

- 수급된 원재료의 가공
 - 이물질 제거, 건조상태 확인, 동결건조 분말 가공, 기준규격 및 관능, 중량 확인

문서번호	SJ-QI-01
제개정일	2014.03.22
Rev. No.	0

QC 공정도

작성	검토	승인
이한도		

대상품목 : 동결건조분말

PAGE : 1 / 4

공정구분 내외	공정도 (공정번호)	공정명	설비 및 공구	공정관리항목 (체크항목)	담당자 (책임자)	관련표준	품질관리기준						이상처리
							검사항목	검사기준	검사빈도	검사자	검사구	기록	
○	▽	원료		원료 적합성			(생산년수)	(4년 이상)					반품처리
○	↓	선별		이물질제거			이물질	이물질 없을 것			육안		제선별
○	↓	동결건조		건조상태			수분함량	6% 이하			수분 측정기		제분쇄
○	◇	↓		입도			입도	100mesh			mesh		제건조
○	↓	분쇄		입도			혼합상태	충분히 혼합될 것			육안		제혼합
○	↓	혼합		혼합조건			습도	작업장 습도 45%이하			중량		제포장
○	↓	충진		충진조건			기준규격	기준규격, 판능			판능		제가공or 패기
○	↓	집사		기준규격, 판능			중량	98~102%			중량		제포장
○	↓	포장		중량			향, 맛, 중량, 수분	관리기준 이내					
○	↓	출하											
○	□												
○	△												

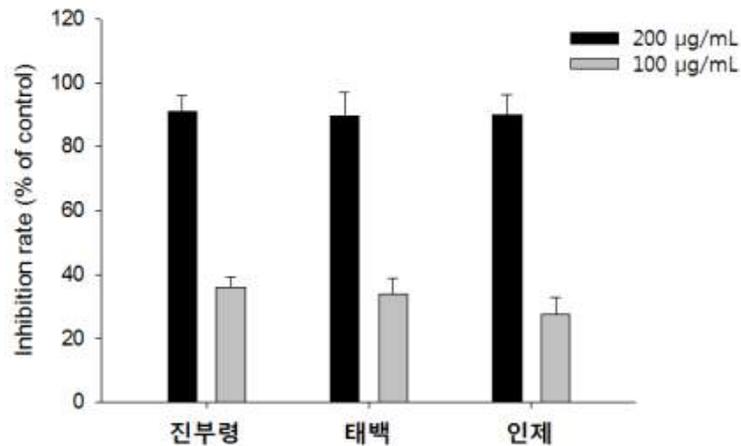
<그림. 곰취 원재료의 QC 공정도>



<그림. 수급된 지역별 곰취의 가공 성상>

▪ 최종 곰취 원재료의 선정

- 수급된 진부령, 태백, 인제의 곰취를 30% 주정추출물로 제조한 후 200, 100 µg/mL의 농도로 α-glucosidase 억제 효과를 측정함



<그림. 지역별 곰취의 α-glucosidase 억제 효과 비교>

- 각 지역별 곰취 추출물은 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 지리적 위치에서도 크게 차이가 나지 않으므로 원료수급이 용이한 원재료를 사용하기로 결정함
- 여주의 원재료는 종자 및 태좌의 성숙도에 따라 수집함
 - 본 연구팀은 KS, 다농, 청농, 백여주 등 여주의 4개 품종을 플라스틱 온실에서 약 5개월 간 재배한 후 5단계의 성숙도에 따라 수확하여 시료를 확보함 (총 140개 시료 확보)

등급	과피과육				태좌종자			
	KS	다농	청농	백	KS	다농	청농	백
1	7	8	12	3	7	6	9	2
2	7	7	14	1	11	4	11	1
3	7	8	12	0	4	7	14	1
4	7	8	12	0	8	14	15	1
5	7	6	12	2	5	6	13	1
계	35	37	62	6	35	37	62	6

Description	종자 및 태좌 성숙도			품종명	종자 및 태좌 성숙도
	다농	KS	청농		
미숙과 0% 착색 과피 단단 종자미숙 0% 착색				다농	
				KS	
				청농	

Description	종자 및 태좌 성숙도			품종명	종자 및 태좌 성숙도
	다농	KS	청농		
약 10-30% 착색과 (착색 시작) 과피 단단 종자미숙 종자 약 0-20% 붉은색 (착색 시작)				다농	
				KS	
				청농	

Description	종자 및 태좌 성숙도			품종명	종자 및 태좌 성숙도
	다농	KS	청농		
약 50% 착색과 과피 단단 종자미숙 종자 약 50% 붉은색				다농	
				KS	
				청농	

Description	종자 및 태좌 성숙도			품종명	종자 및 태좌 성숙도
	다농	KS	청농		
약 70-80% 착색과 과피 단단 종자완숙 태좌부위 무르지 않음 종자 100% 붉은색				다농	
				KS	
				청농	

Description	종자 및 태좌 성숙도			품종명	종자 및 태좌 성숙도
	다농	KS	청농		
열매과 및 100% 착색 과피 단단 또는 약간 무름 종자과육 태좌부위 무름 종자 100% 붉은색				다농	
				KS	
				청농	

<그림. 성숙도에 따른 여주의 분류 및 수집>

- 여주의 최적 원재료 선정을 위한 시료 확보 및 생산조건 검토

- 여주 성숙도별 추출물의 PPAR γ agonist 효능을 측정한 결과 4단계의 성숙도를 가지고 있는 여주추출물에서 가장 우수한 효과를 나타냄

	농도	여주 성숙도				
		1	2	3	4	5
여주추출물	25	101.7 \pm 2.2	107.3 \pm 5.5	123.3 \pm 6.8	177.9\pm10.4	133.1 \pm 8.3
	10	100<	100<	100<	152.2\pm7.0	132.2 \pm 7.3
RGZ (양성대조군)	25	194.6 \pm 26.1				
	10	173.2 \pm 9.8				

- 여주 계통별 추출물의 PPAR γ agonist 효능을 측정한 결과 청농4-14 시료에서 가장 우수한 효능을 나타냄

	농도	여주 청농 계통				
		4-5	4-8	4-10	4-11	4-14
여주추출물	25	84.7 \pm 14.8	81.8 \pm 13.4	68.1 \pm 5.9	48.2 \pm 4.1	163.1\pm10.0
	10	90.6 \pm 10.1	80.0 \pm 12.3	103.9 \pm 13.0	65.2 \pm 1.6	160.1\pm19.3
RGZ (양성대조군)	10	168.4 \pm 12.1				

- 여주의 품종별, 채취 시기별 혈당강하 효능 측정을 통한 최적 소재 선정
 - 품종 및 성숙도: 청농(CN), 4단계 (4-14)
 - 총 222과 수확(총 FW: 약 33.4 kg, 평균 약 150g)
 - 총 동결건조 시료 확보(3,138 g)
- 건조방법에 따른 시료 확보
 - 재배품종 및 수확단계를 동일하게 분류하여 동결건조 샘플과 열풍건조 샘플 시료를 확보
 - 조건: 동결건조, 35도 열풍건조, 50도 열풍건조, 70도 열풍건조(4반복)

Rep	Date	Freezing-dried		35°C		50°C		70°C	
		FW(g)	DW(g)	FW(g)	DW(g)	FW(g)	DW(g)	FW(g)	DW(g)
1	2015.08.14	1,830	107	1,810	99	1,800	105	1,790	98
2	2015.08.24	2,000	117	2,000	108	2,000	120	2,000	112
3	2015.09.03	2,020	130	2,190	135	2,020	128	2,020	128
4	2015.09.15	2,070	155	2,140	176	2,090	147	2,080	141

- 곰취 및 여주 표준추출물 제조
 - 상기 시험에 근거하여 곰취 및 여주 30% 주정 표준추출물을 각각 제조함
 - 제조처: 수수보리농업회사법인(주)

(추출&혼합) 제조지시기록서	작업장	추출&농축실&샤프코
-----------------	-----	------------

제 품 명	여주추출동결건조분말	유통기한	2014. 05. 24 까지	유 형	다 류
작업일자	2012. 05. 25.	작업자	이한도	생산관리자(확인자)	이한도

작업 전 점검사항	1 차 확인	확 인 자	2 차 확인	확 인 자	설 명
입고 시 부착된 원료 검수 및 원·부자재 재고 확인	합	이한도	합 불합	-	합 : 생산 불합 : 보완
작업자 개인위생 확인	합		합 불합		
작업장과 작업에 필요한 기계, 기구의 청결상태	합		합 불합		

공정명	작업공정	공정기록 및 확인사항		작업자	확인자
작업장 확인	작업장 내의 작업 전 온·습도를 확인 후 기록	온 도	24°C	이한도	
		습 도	31%		
원료칭량	품 명	함 량	지시량(kg)	투입량(kg)	원료 적부
	여주	100.00%	10.00	10	합
	합 계	100.00%	10.00		
1 차추출용매	주정	30.00%	24.00	24	합
	정제수	70.00%	56.00	56	합
	합 계	100.00%	80.00		
1 차추출	1. 추출 원료를 추출자루에 넣고 추출탱크에 투입		원료 중량	10,00	이한도
	2. 추출용매 추출탱크에 투입		추출 용매	80,00	
	3. 탱크 뚜껑을 닫고 볼트를 조여 완전히 밀폐		추출시작시간	14일 14시	
	4. 82±2°C에서 5 시간 추출		추출종료시간	14일 19시	
	5. 추출액을 압착 120mesh 와 1 μm여과하여 농축탱크				
	1 차 추출액 생산량		55 kg	Brix	
2 차추출용매	주정	30.00%	12.00	12	합
	정제수	70.00%	28.00	28	합
	합 계	100.00%	40.00		
2 차추출	1. 추출 원료를 추출자루에 넣고 추출탱크에 투입		원료 중량	1 차 량	이한도
	2. 정제수 추출탱크에 투입		추출 용매	40,00	
	3. 탱크 뚜껑을 닫고 볼트를 조여 완전히 밀폐		추출시작시간	14일 22시	
	4. 82±2°C에서 5 시간 추출		추출종료시간	15일 03시	
	5. 추출액을 압착 120mesh 와 1 μm여과하여 농축탱크				
	2 차 추출액 생산량		39 kg	Brix	
농축	1. 1 차와 2 차 농축탱크로 이송된 추출액양을 확인		원료 중량	106,00	이한도
	2. 85±2°C에서 14±1Brix 가 될 때까지 농축		농축시작시간	14일 19시	
	3. 수시로 Brix 확인		농축종료시간	16일 07시	
	농축액 생산량		29,4 kg	Brix	
샤프코동결건조	1. 동결건조 의뢰일자		의뢰 일자	18일 11시	이한도
	2. 동결건조 수령일자		수령 일자	25일 12시	
	건조물 생산량		3,5 kg		

작업&검사 완료일	작업량	생산량	수율	공 장 장	품질검사	외부검사	품질관리인
2012년 05월 27일	10 kg	3,5 kg	35%	이한도	합	-	이한도
수수보리농업회사법인(주)		작업지시자	이한도	작업지시일	05월 11일	SB-PC-OD1	

<그림. 여주의 표준추출물 제조>

(추출&혼합) 제조지시기록서	작업장	추출&농축실&샤프코
-----------------	-----	------------

제 품 명	곰취추출동결건조분말	유통기한	2014. 06. 25 까지	유 형	다 류
작업일자	2012. 06. 26.	작업자	이한도	생산관리자(확인자)	이한도

작업 전 점검사항	1 차 확인	확 인 자	2 차 확인	확 인 자	설 명
입고 시 부착된 원료 검수 및 원·부자재 재고 확인	합		합 불합		합 : 생산 불합 : 보완
작업자 개인위생 확인	합	이한도	합 불합	-	
작업장과 작업에 필요한 기계, 기구의 청결상태	합		합 불합		

공정명	작업공정	공정기록 및 확인사항		작업자	확인자
작업장 확인	작업장 내의 작업 전 온·습도를 확인 후 기록	온 도	24°C	이한도	
		습 도	31%		
원료 칭량	품 명	함 량	지시량(kg)	투입량(kg)	원료 적부
	곰취	100.00%	10.00	10	합
	합 계	100.00%	10.00		
1 차 추출용매	주정	30.00%	24.00	24	합
	정제수	70.00%	56.00	56	합
	합 계	100.00%	80.00		
1 차 추출	1. 추출 원료를 추출자루에 넣고 추출탱크에 투입		원료 중량	10,00	
	2. 추출용매 추출탱크에 투입		추출 용매	80,00	
	3. 탱크 뚜껑을 닫고 볼트를 조여 완전히 밀폐		추출시작시간	15일 14시	
	4. 82±2°C에서 5 시간 추출		추출종료시간	15일 19시	
	5. 추출액을 압착 120mesh 와 1 μm여과하여 농축탱크				
	1 차 추출액 생산량		51 kg	Brix	5,3
2 차 추출용매	주정	30.00%	12.00	12	합
	정제수	70.00%	28.00	28	합
	합 계	100.00%	40.00		
2 차 추출	1. 추출 원료를 추출자루에 넣고 추출탱크에 투입		원료 중량	1차량	
	2. 정제수 추출탱크에 투입		추출 용매	40,00	
	3. 탱크 뚜껑을 닫고 볼트를 조여 완전히 밀폐		추출시작시간	15일 22시	
	4. 82±2°C에서 5 시간 추출		추출종료시간	16일 03시	
	5. 추출액을 압착 120mesh 와 1 μm여과하여 농축탱크				
	2 차 추출액 생산량		36 kg	Brix	3,4
농 축	1. 1차와 2차 농축탱크로 이송된 추출액양을 확인		원료 중량	87,00	
	2. 85±2°C에서 14±1Brix 가 될 때까지 농축		농축시작시간	15일 19시	
	3. 수시로 Brix 확인		농축종료시간	17일 07시	
	농축액 생산량		24,1 kg	Brix	13
샤프코 동결건조	1. 동결건조 의뢰일자		의뢰 일자	19일 11시	
	2. 동결건조 수령일자		수령 일자	26일 12시	
	건조물 생산량		2,9 kg		

작업&검사 완료일	작업량	생산량	수 율	공 장 장	품질검사	외부검사	품질관리인
2012년 06월 28일	10 kg	2,9 kg	29%	이한도	합	-	이한도
수수보리농업회사법인(주)		작업지시자	이한도	작업지시일	06월 12일	SB-PC-OD1	

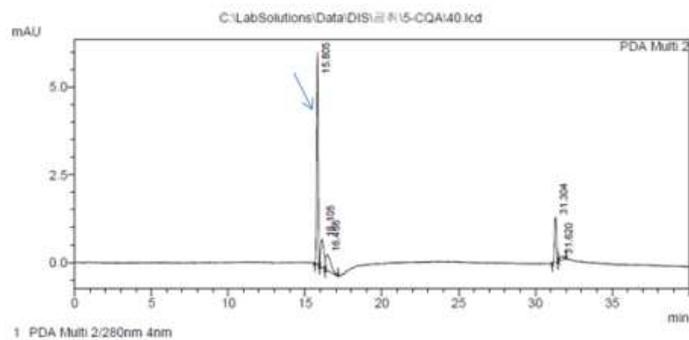
<그림. 곰취의 표준추출물 제조>

다. 곰취 및 여주 추출물의 지표성분 설정

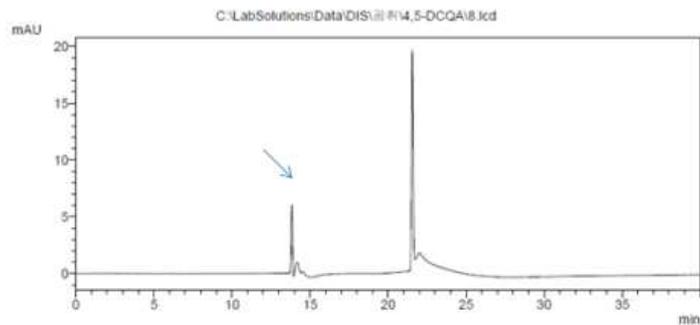
▪ 곰취 추출물의 지표성분 설정

- 곰취에 대한 선행연구결과 Chlorogenic acid류가 다량 확인되었으며, 이에 대한 유도체를 구입하고 곰취에 함유되어 있는지 확인하였음
- 총 4종의 유도체 중에서 5-CQA (5-O-caffeoylquinic acid), 4,5-DCQA 및 iso-chlorogenic acid (3,5-DCQA)가 확인되었으며, 3,4-DCQA는 거의 없는 것으로 확인 됨
- 또한, 확인된 3종의 유도체에서 함량이 높으면서 분석이 용이한 5-CQA와 chlorogenic acid를 대상으로하여 원료와 원재료의 기시법을 개발하고자 하였음
- 곰취의 성분 중 Chlorogenic acid 유도체에 대하여 항산화, 항염, 항당뇨에 대한 효력이 타 식물성분에 대한 연구보고가 있어, 이에 대한 성분 함량을 분석하였음

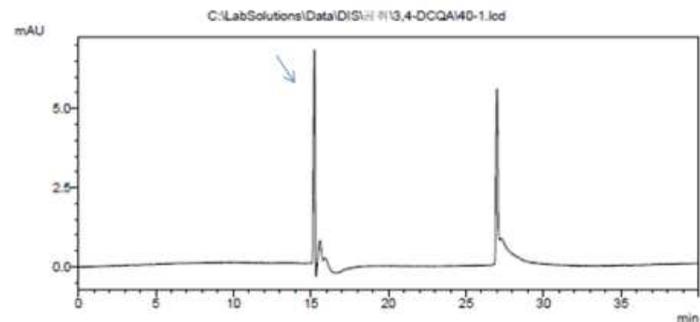
5-O-caffeoylquinic acid (5-CQA)



4,5-di-O-caffeoylquinic acid (4,5-DCQA)



3,4-di-O-caffeoylquinic acid (3,4-DCQA)

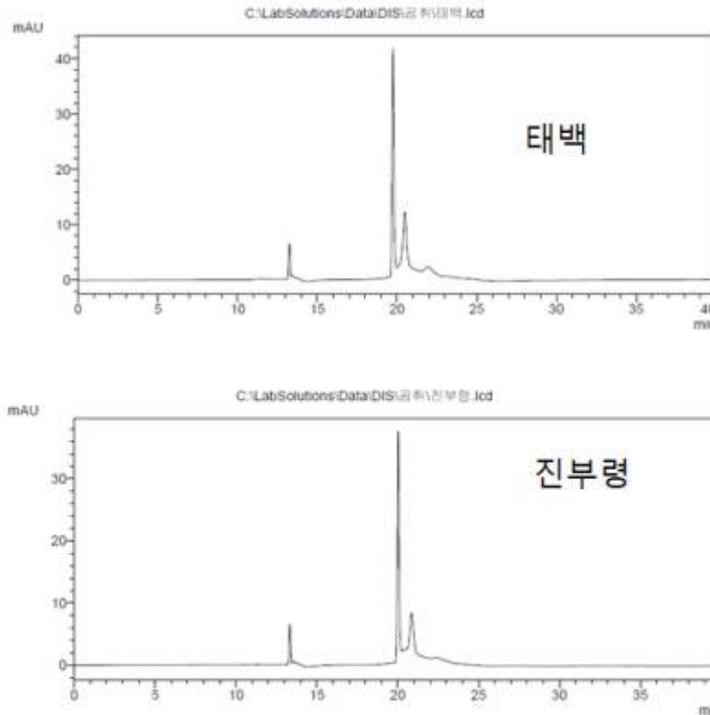


<그림. 곰취추출물의 지표성분 함량 분석>

- 최종 곰취추출물의 지표성분을 설정하기 위한 시험에서 chlorogenic acid를 선정하고, 이에

따른 곰취 산지별 함량을 분석한 결과, 지역별 지표성분 함량 변화에는 차이가 없는 것으로 나타났음

iso-chlorogenic acid

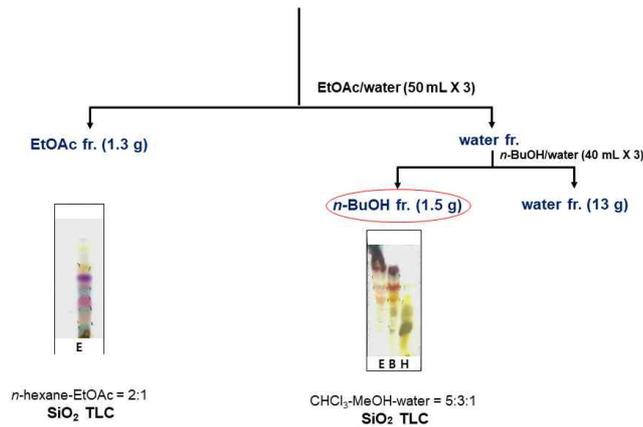


<그림. 곰취산지별 지표성분 함량 분석>

■ 여주 추출물의 지표성분 설정

- 여주의 성분에는 모모르데신, 베타카로틴, 비타민C, P-인슐린, 카란틴 등의 성분이 알려져 있으며, 특히 charantin은 췌장세포 활성화에 대한 보고가 있으나 지표성분으로 선정하였을 경우, 이에 대한 성분구입이 용이하지 않으며, HPLC detector와 column조건이 까다롭고 비교적 성분을 분석하는데 필요한 비용이 높아 타 성분으로 설정하고자 하였음
- 베타카로틴 등은 다양한 식물에 많이 함유되어 있으며, 특히 여주의 경우 성숙도에 따라 효력이 다르게 나타나므로 베타카로틴 등의 색소 및 비타민류는 지표성분으로 부적절함
- 현재 PPARs를 조절하는 물질로 여주의 알칼로이드를 분리하였으며, 이들은 기존의 보고된 문헌에서 peptide류로 분류하고 있으나, sterol과 alkaloids로 예측됨.

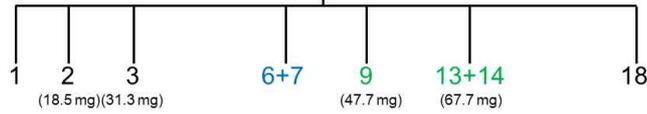
Momordica charantia EtOH ext. (15.8 g)



MCB (1.5 g)

Momordica charantia n-BuOH fr.

SiO₂ c.c.
 Φ 4 x 15 cm
 CHCl₃-MeOH-water = 18:3:1 → 13:3:1 → EtOAc-n-BuOH-water = 10:3:1



CHCl₃-MeOH-water = 7:3:1

SiO₂ TLC

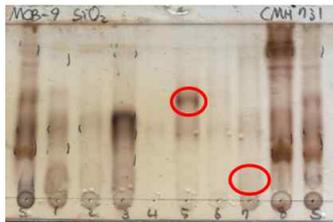
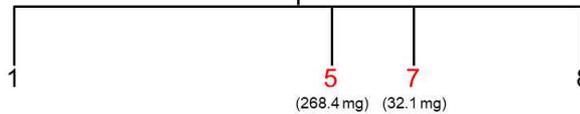


acetone-water = 2:1

ODS TLC

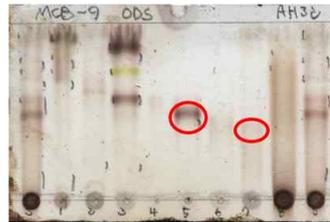
MCB-9 (47.7 mg)

ODS c.c.
 Φ 1 x 5 cm
 acetone-water = 1:3



CHCl₃-MeOH-water = 7:3:1

SiO₂ TLC

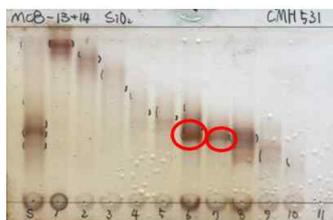
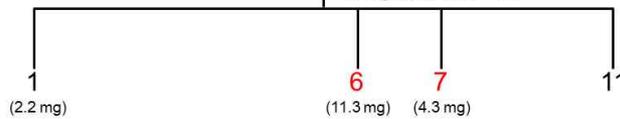


acetone-water = 3:2

ODS TLC

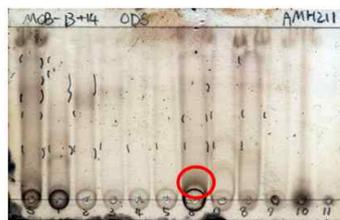
MCB-13+14 (67.7 mg)

SiO₂ c.c.
 Φ 1 x 5 cm
 CHCl₃-MeOH-water = 1:3



CHCl₃-MeOH-water = 5:3:1

SiO₂ TLC

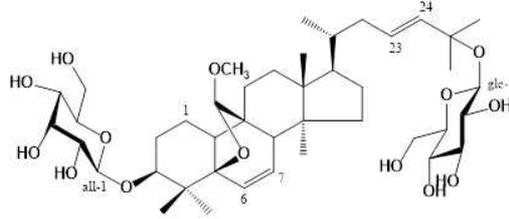


acetone-MeOH-water = 2:1:1

ODS TLC

<그림. 여주추출물의 유효성분 분리도>

- 최종 분석결과 MCB-9의 5번 fraction에서 분리한 성분의 항당뇨 효능이 가장 우수하였으며, 분석결과 goyaglycoside G로 판정됨



· Goyaglycoside G의 구조 분석

Goyaglycoside G: A white powder (MeOH); positive FAB/MS m/z 833 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5 , δ_H) 6.15 (1H, br. d, $J=9.6$ Hz, H-6), 6.01 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-24), 5.79 (1H, m, H-23), 5.61 (1H, dd, $J=9.6, 3.2$ Hz, H-7), 5.46 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-all-1), 5.38 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-glc-1), 4.98 (1H, overlapped, H-19), 4.29 (1H, br. s, H-3), $-OCH_3$ (3H, s), 1.61 (3H, s, H-27), 1.61 (3H, s, H-27), 1.54 (3H, s, H-26), 1.48 (3H, s, H-28), 0.92 (3H, d, $J=5.2$ Hz, H-21), 0.84 (6H, s, H-18, 30), 0.73 (3H, s, H-29); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5 , δ_C) 138.5 (C-24), 133.2 (C-6), 131.6 (C-7), 128.4 (C-23), 112.5 (C-19), 102.5 (C-all-1), 99.8 (C-glu-1), 85.6 (C-5), 83.7 (C-3), 78.8 (C-glu-3), 78.0 (C-glu-5), 77.6 (C-25), 76.4 (C-all-5), 75.3 (C-glu-2), 73.7 (C-all-2), 71.9 (C-glu-4), 71.8 (C-all-3), 69.3 (C-all-4), 63.3 (C-all-6), 63.0 (C-glu-6), 57.7 (C- OCH_3), 50.6 (C-17), 48.4 (C-14), 48.2 (C-9), 45.4 (C-13), 42.3 (C-8), 41.7 (C-10), 39.9 (C-22), 39.1 (C-4), 36.5 (C-20), 33.9 (C-15), 31.0 (C-12), 28.7 (C-26), 28.2 (C-16), 27.7 (C-27), 27.4 (C-2), 24.9 (C-29), 23.3 (C-11), 21.2 (C-28), 20.0 (C-30), 19.1 (C-21), 18.7 (C-1), 14.9 (C-18).

· Goyaglycoside G의 PPAR γ agonist 효능

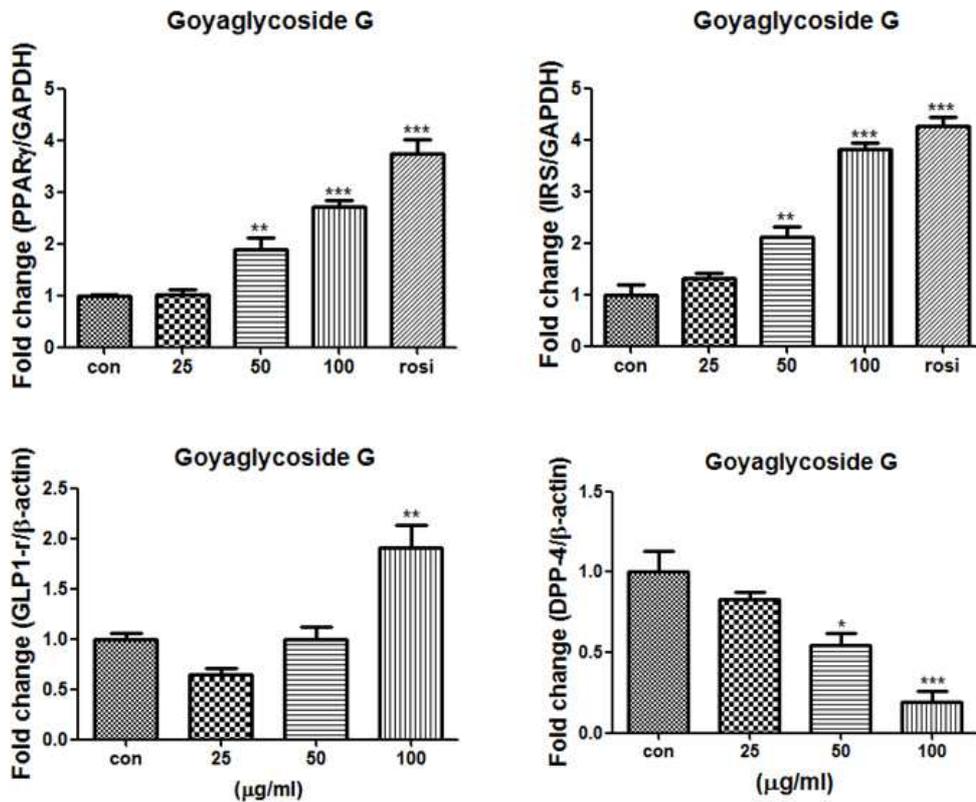
	지방세포 분화율 (%)	
	Goyaglycoside G	Rosiglitazone
100	227.78±4.36	340.25±5.21
50	207.69±7.33	304.37±7.26
25	154.31±9.36	267.27±5.67
12.5	116.44±8.39	249.38±9.07
6.25	107.35±8.94	218.69±6.57

· Goyaglycoside G의 지표성분 설정을 위한 함량대비 효능 평가

주정함량(%)	지방세포 분화율(%)	Goyaglycoside G(mg/g)
0	95.2±8.45	9.9±4.34
5	97.5±8.33	10.1±2.67
10	102.6±4.75	11.3±2.24
15	115.8±8.37	16.9±3.16
20	120.6±6.48	17.2±4.24
25	121.5±7.50	17.4±2.63
30	128.3±5.68	17.9±1.81
35	134.6±2.32	18.2±2.17
40	142.6±8.46	19.0±3.11

45	148.9±3.68	18.4±2.17
50	151.6±4.44	20.4±1.48
55	159.6±7.89	20.7±0.89
60	168.3±9.64	21.9±5.26
65	173.4±3.95	22.6±6.22
70	192.7±8.44	23.8±3.21
75	200.9±2.09	24.4±4.22
80	207.2±4.75	25.9±8.19
85	214.8±8.22	27.5±4.55
90	221.5±5.11	28.7±1.89
95	242.6±3.74	30.4±2.44
100	218.5±9.07	27.9±3.41
RGZ	275.8±7.32	-

· Goyaglycoside G의 당뇨관련 바이오마커 분석

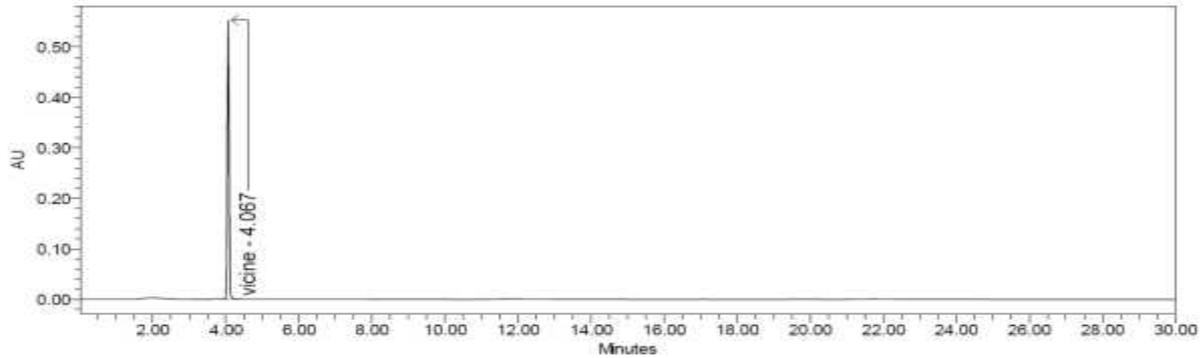


▪ 곰취 및 여주 추출복합물의 지표성분 설정

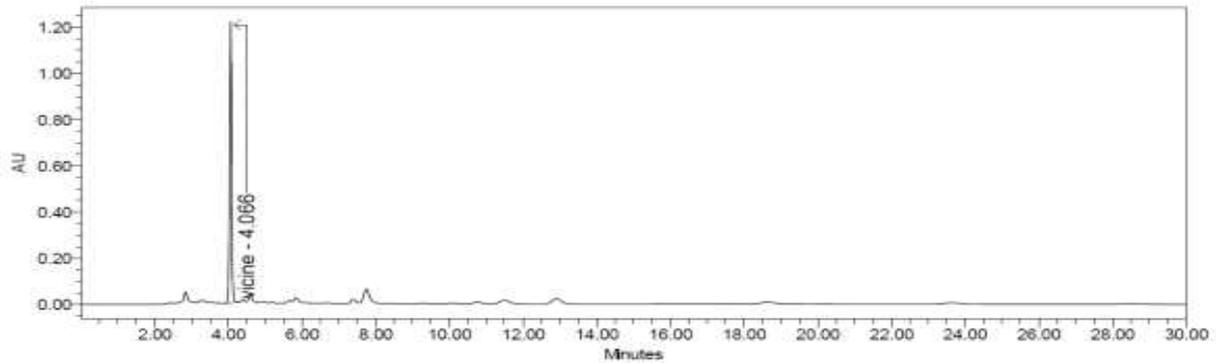
- 곰취 및 여주 혼합추출물에 동시 적용이 가능한 지표성분 vicine이 예비시험을 통해 검출되었으며, 동일 지표성분 설정이 가능한지 분석하였음
- 그 결과, 동일한 RT 값을 나타내는 vicine 성분이 곰취 및 여주에서 확인되었으며, 이 중 여주에서는 다량으로 곰취에서는 소량으로 검출됨
- HPLC 조건
 - 기기 : Waters Alliance 2695
 - 컬럼 : Capcellpak MG C18 5um 4.6×250mm

- 이동상 : 0.1% 인산 : 아세토니트릴 = 98 : 2
- 검출기 : UV 272nm
- 유속 : 1mL/min
- 주입량 : 20uL
- 지표성분 : vicine (CAS 152-93-2)

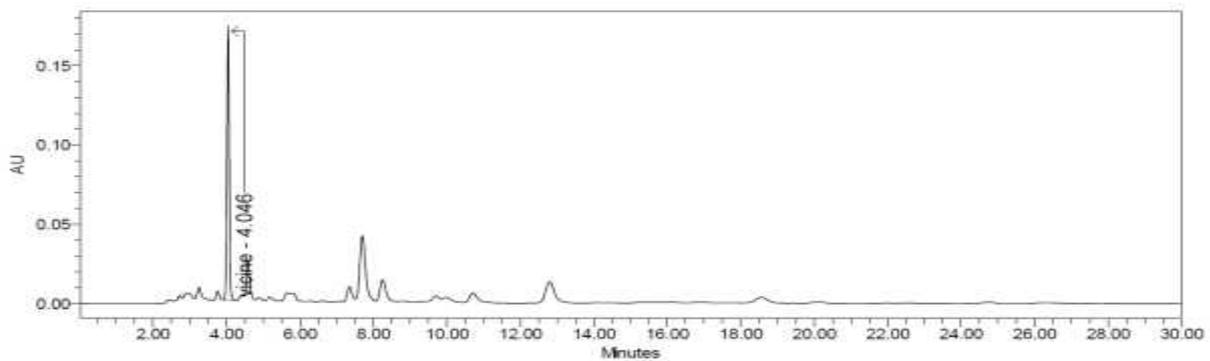
vicine



여주



곰취



<그림. 여주 및 곰취 추출물의 vicine 함량 분석>

라. 곰취 및 여주 표준추출물의 항당뇨 바이오마커 분석

- C2C12 mouse myoblast cell line을 활용한 바이오마커 분석
 - C2C12 cell을 1% horse serum을 이용하여 근육세포로 분화
 - 각각의 곰취 및 여주 30% 주정추출물을 근육세포에 3가지 농도로 처리 (25, 50, 100 μ g/mL)
 - Primer list

Gene name	Forward primer	Reverse primer
-----------	----------------	----------------

β -Actin	TGCCACCTTCCAGCAGATGT	AGCTCAGTAACAGTCCGCCTAGA
PPAR γ	CGCTGATGCACTGCCTATGA	AGAGGTCCACAGAGCTGATTCC
PPAR α	AGGCTGTAAGGGCTTCTTTCG	GGCATTGTTCCGGTTCTTC
GLUT1	CCATCCACCACACTCACCAC	GCCCAGGATCAGCATCTCAA
GLUT4	AGAGTCTAAAGCGCCT	CCGAGACCAACGTGAA

- PPAR γ agonist 바이오마커 : PPAR α , γ mRNA level 측정

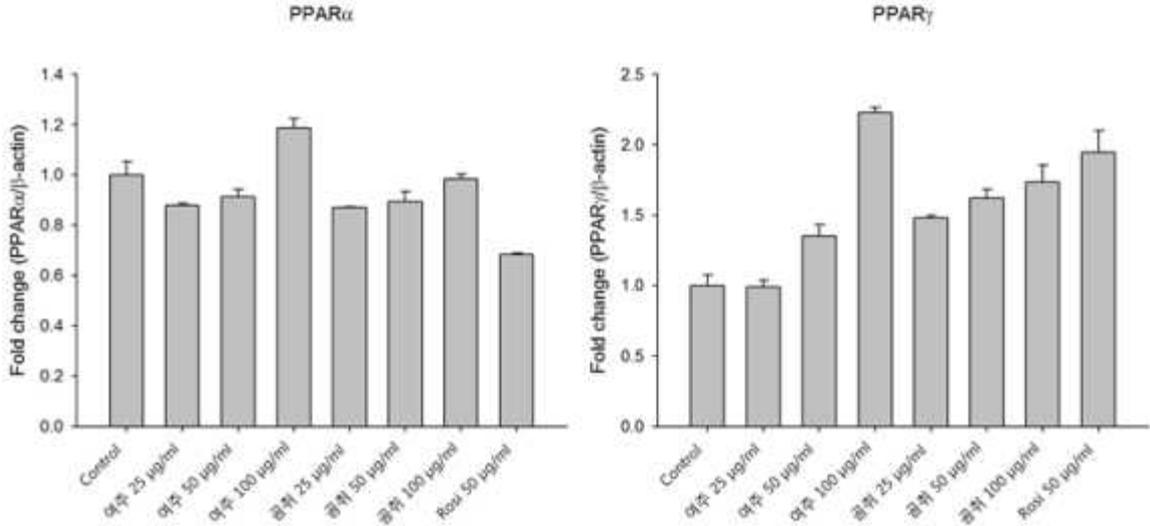


그림. 곰취 및 여주추출물의 PPAR 발현 양상 측정

- 곰취 및 여주추출물의 PPAR α 의 발현 양상을 측정한 결과 여주 100 μ g/mL에서 다소 증가되는 양상을 나타내었으나, 곰취와 다른 농도의 여주추출물에서는 변화가 없거나 다소 감소하는 양상을 나타냄
- 그러나, 포도당 이용성 증대 효과를 나타낸다고 알려진 PPAR γ 는 곰취와 여주추출물에서 증가하는 양상을 나타내었으며, 특히 여주 100 μ g/mL 처리군은 양성대조군인 rosiglitazone (TZD계 약물 성분) 보다 더 우수한 PPAR γ 발현증가 효과를 나타냄

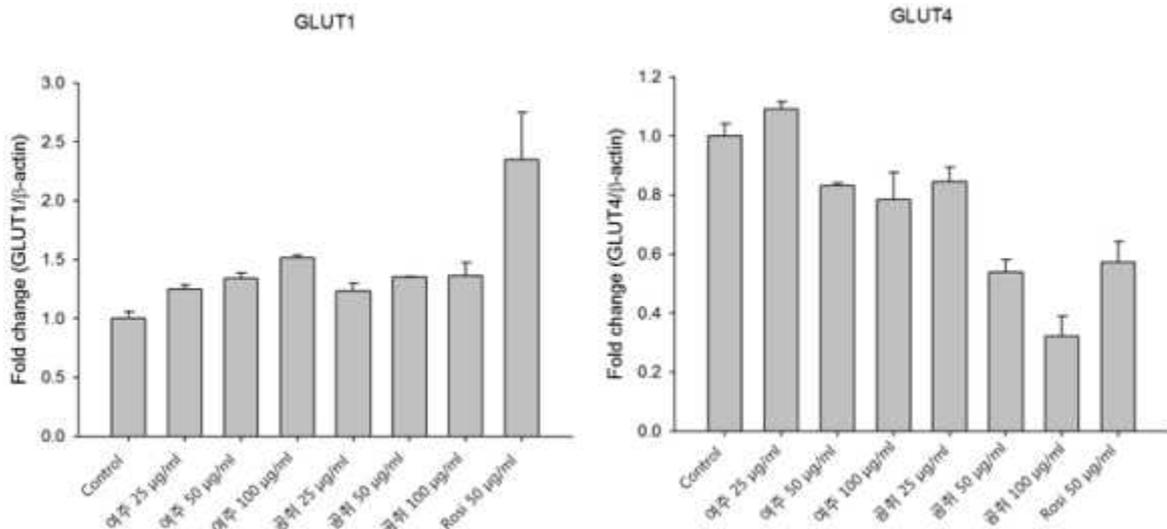


그림. 곰취 및 여주추출물의 glucose uptake 관련 유전자 발현양상 측정

- 또한 세포내 포도당 흡수 관련 유전자의 발현양상을 측정한 결과 GLUT1의 발현은 다소 증가하는 양상을 나타내었으나, GLUT4의 발현은 감소하는 양상을 나타냄

마. 혼합비율설정 및 혼합추출물의 in vitro 효능 검증

- 곰취 및 여주 30% 주정추출물의 혼합비율을 설정하기 위해 예비 동물시험을 이용하여 혈당강하 효능을 측정함
 - 각각의 소재는 다른 기전을 포함하고 있으므로 생체내에서 혈당을 측정하여 최적 혼합비율을 설정함
 - 고지방식이+STZ 유도 2형당뇨 동물모델에서 시험물질 투여 4주 후 혈당 측정

곰취:여주	0주	4주	억제율 (%)
대조군	370 ± 31.2	504 ± 43.9	-
10:0	376 ± 100.5	473 ± 78.3	6.1
9:1	357 ± 48.1	465 ± 71.7	7.7
7:3	352 ± 62.2	421 ± 70.5	16.4
5:5	369 ± 61.5	433 ± 83.6	14.0
3:7	341 ± 51.6	393 ± 71.0	22.1
1:9	367 ± 40.2	435 ± 28.5	13.6
0:10	363 ± 47.5	444 ± 53.5	12.0

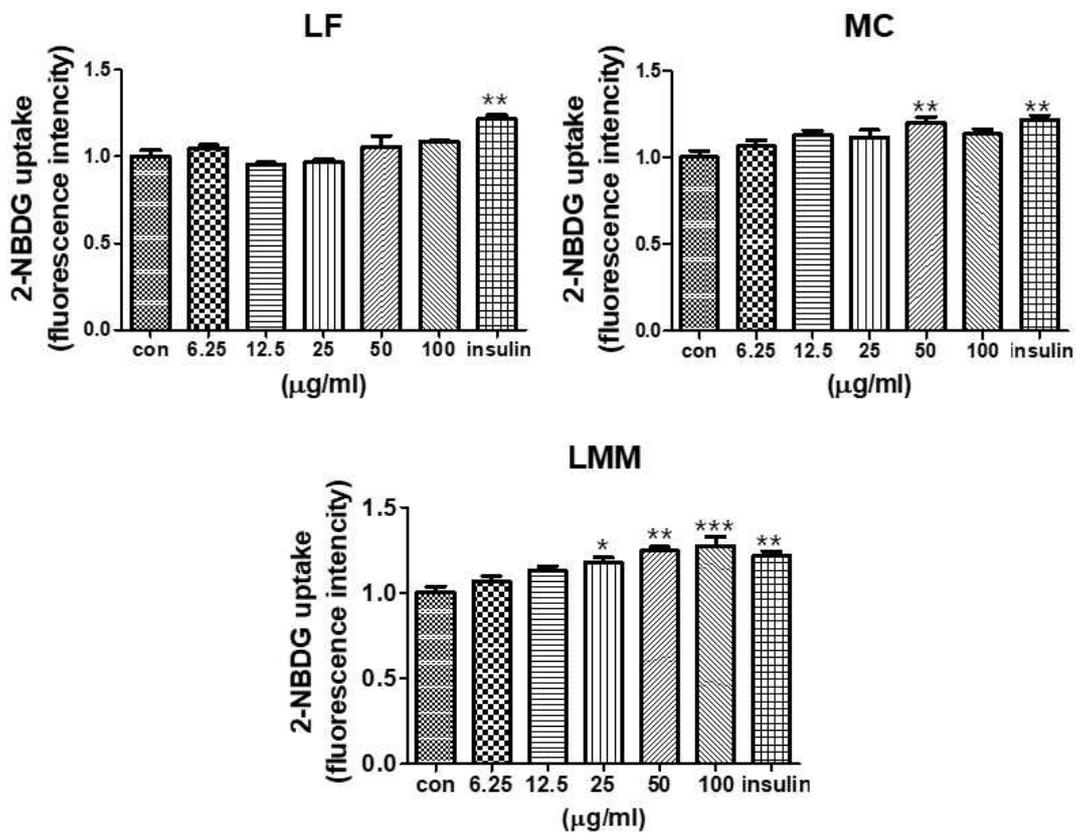
- 시험결과, 곰취 및 여주 30% 주정추출물 3:7 추출복합물에서 가장 우수한 혈당강하 효능이 측정되었으며, 본 연구개발을 위한 최종 복합원료로 선정함
- 곰취 및 여주 30% 주정추출물, 곰취:여주=3:7 혼합추출물의 α-glucosidase 억제 효능 측정
 - 혼합추출물의 α-glucosidase 억제 상승효과를 관찰하기 위해서 각각의 추출물과 비교분석 함
 - 그 결과, 고농도의 경우 변화가 없었으나, 저농도에서 혼합추출물의 경우 α-glucosidase 억제 효과가 유지됨을 확인하였음

농도 (μg/mL)	곰취추출물	여주추출물	곰취:여주=3:7 혼합추출물	Acarbose (양성대조군)
100	44.40±1.51	NE	44.24±1.01	48.87±1.05
50	41.77±1.80	NE	39.02±0.61	38.20±1.41
25	23.98±0.89	NE	27.91±0.98	32.70±1.65
12.5	6.84±2.43	NE	23.84±0.79	23.66±0.92
6.25	1.99±1.53	NE	24.97±1.88	31.81±3.31

- 곰취 및 여주 30% 주정추출물, 곰취:여주=3:7 혼합추출물의 PPARγ agonist 효능 측정
 - 혼합추출물의 PPARγ agonist 상승효과를 관찰하기 위해서 각각의 추출물과 비교분석 함
 - 그 결과, 곰취추출물 단독의 경우 PPARγ agonist 효능이 관찰되지 않았으며, 혼합추출물의 경우 여주단독추출물 보다 약 2배 가량의 상승효과가 관찰됨

Adipocyte differentiation rate (% of control)				
농도 (µg/mL)	곰취추출물	여주추출물	곰취:여주=3:7 추출복합물	Rosiglitazone (양성대조군)
100	NE	60.73±1.17	112.54±3.72	323.53±0.71
50	NE	42.97±6.73	78.79±1.60	269.24±1.88
25	12.12±0.80	32.75±2.66	72.51±1.70	259.97±7.77
12.5	24.36±4.32	35.60±3.68	18.05±1.95	234.06±0.53
6.25	26.51±1.18	6.00±5.33	29.94±6.49	245.47±5.75

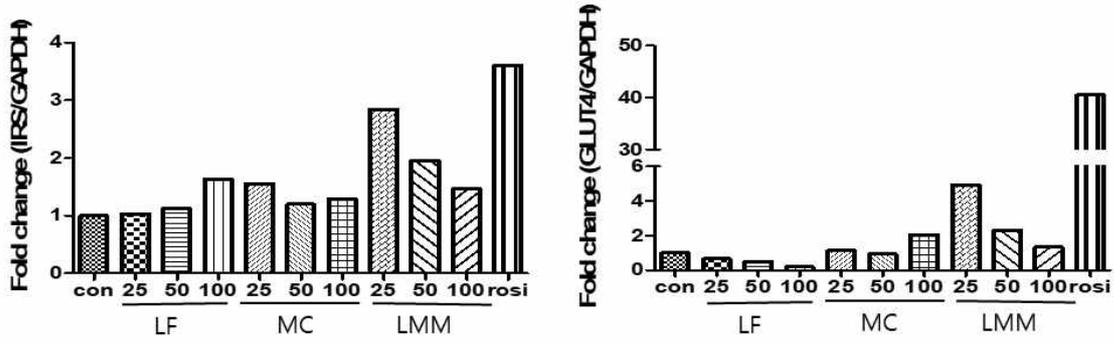
- 곰취 및 여주 30% 주정추출물, 곰취:여주=3:7 혼합추출물의 glucose uptake 효능 측정
 - 혼합추출물의 glucose uptake 상승효과를 관찰하기 위해서 각각의 추출물과 비교분석 함
 - 그 결과, α-glucosidase 억제 효능을 나타내는 곰취단독추출물의 경우 소화되는 당의 흡수를 저해하는 기능으로 glucose uptake 효능과는 연관성이 없었으며, 여주단독추출물 보다는 곰취 여주혼합추출물에서 glucose uptake가 증가하는 양상을 나타내었음 (LF : 곰취추출물, MC : 여주추출물, LMM : 곰취여주혼합추출물)



<그림. 여주 및 곰취 추출물, 혼합추출물의 glucose uptake 효능 비교>

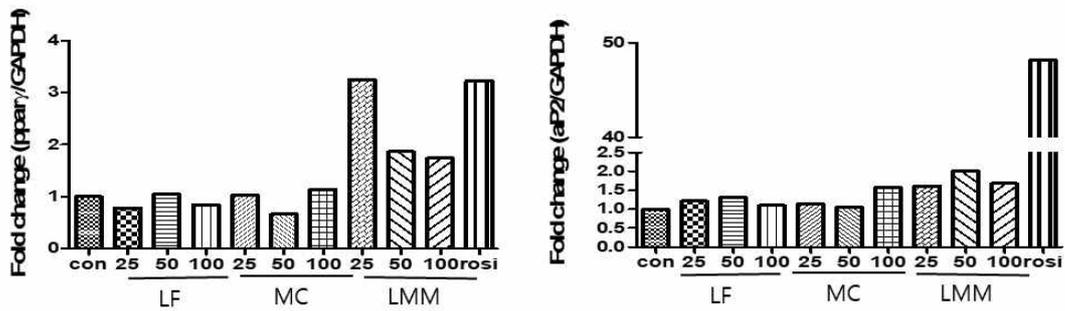
- 곰취 및 여주 30% 주정추출물, 곰취:여주=3:7 혼합추출물의 glucose uptake 관련 바이오마커 분석
 - Glucose uptake 효능과 관련된 유전자 (IRS와 GLUT4)들의 발현양상을 qRT-PCR을 이용하여 분석함
 - 그 결과, 혼합추출물에서 매우 우수한 증가양상을 나타내었으며, glucose uptake 효능과 유사

한 결과를 도출함 (LF : 곰취추출물, MC : 여주추출물, LMM : 곰취여주혼합추출물)



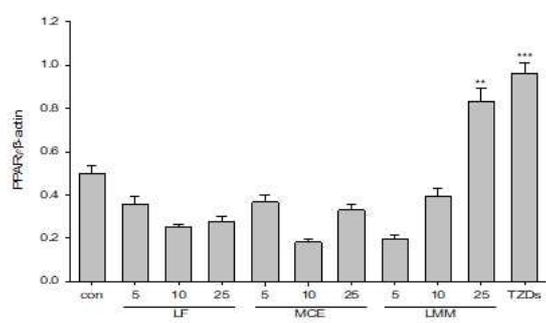
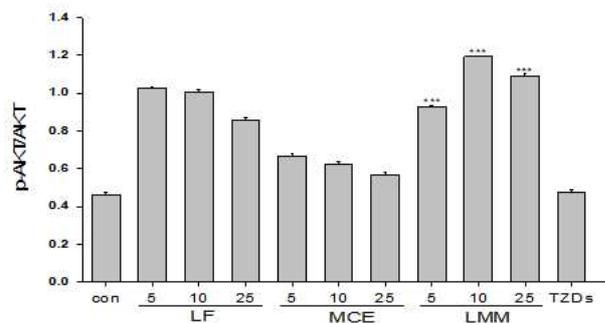
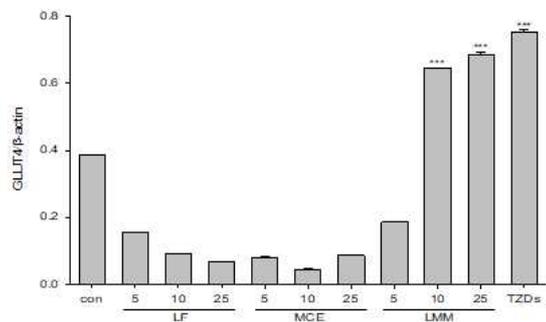
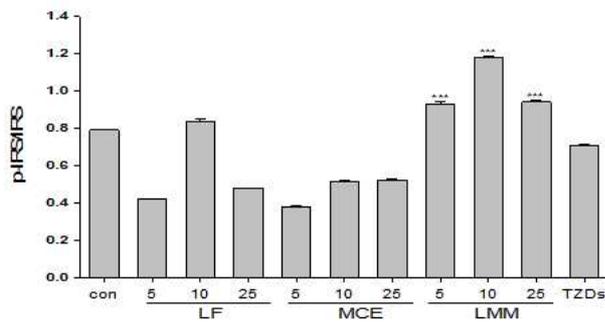
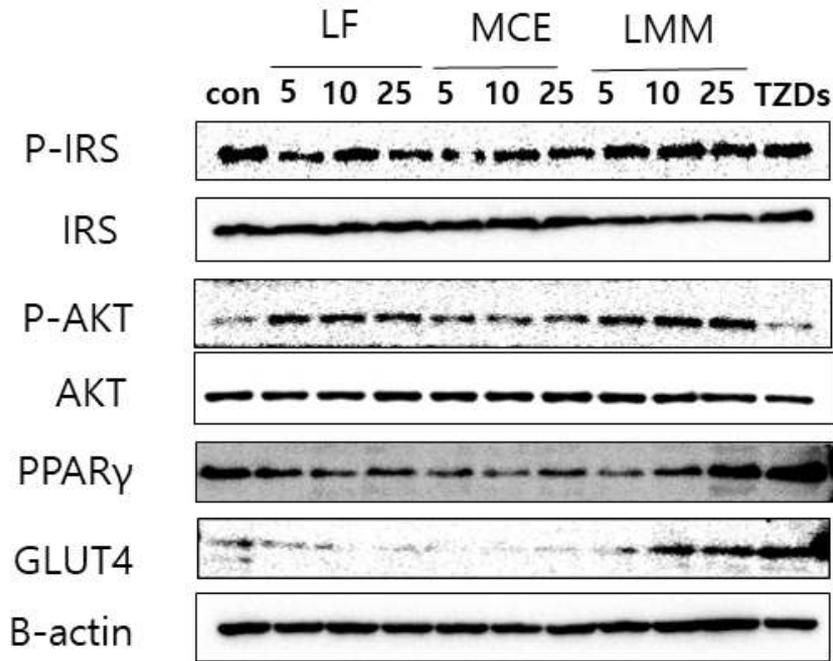
<그림. 여주 및 곰취 추출물, 혼합추출물의 glucose uptake 관련 유전자 분석>

- 또한, PPAR γ agonist 효능과 관련된 유전자 (PPAR γ , aP2)들의 발현양상을 qRT-PCR을 이용하여 분석함
- 그 결과, 혼합추출물에서 매우 우수한 증가양상을 나타내었음 (LF : 곰취추출물, MC : 여주추출물, LMM : 곰취여주혼합추출물)



<그림. 여주 및 곰취 추출물, 혼합추출물의 PPAR γ agonist 관련 유전자 분석>

- 상기 결과에 대한 바이오마커 조절 효과를 western blot으로 분석하였음
- 그 결과, 혼합추출물은 각 단독추출물 보다 매우 우수한 증가양상을 나타내었음 (LF : 곰취추출물, MC : 여주추출물, LMM : 곰취여주혼합추출물)



<그림. 여주 및 곰취 추출물, 혼합추출물의 항당뇨 바이오마커 단백질 수준 분석>

바. 곰취 및 여주 혼합추출물 및 단독추출물의 혈당강하 관련 신규작용점 분석

- 당뇨 관련 신규작용점 분석을 위하여 PCR array를 활용한 타겟 유전자 분석
 - C2C12 근육세포 분화에 따른 곰취/여주 3:7 혼합추출물의 당뇨관련 타겟 유전자 분석

- Receptors, Transporters & Channels
Adra1a, Adb3, Aqp2, Ccr2, Cd28, Ceacam1, Ctla4, Gcgr, Glp1r, Icam1, Il4r (Il4ra), Nsf, Rab4a, Sell (LECAM-1), Slc2a4 (Glut4), Slc14a2, Snap23, Snap25, Stx4, Stxbp1, Stxbp2, Stxbp4, Tnfrsf1a (Tnfr1), Tnfrsf1b, Vamp2, Vamp3, Vapa.
- Nuclear Receptors
Ppara, Pparg.

- Metabolic Enzymes
Ace, Acly, Parp1 (Adprt1), Dpp4, Enpp1, Fbp1, G6pc, Gck, Gpd1, Gsk3b, Hmox1, Ide, Nos3 (eNos), Pygl, Sod2.
- Cytokines & Growth Factors
Agt, Ccl5 (RANTES), Gcg, Ifng, Il6, Il10, Il12b, Ins1, Retn, Tgfb1, Tnf, Vegfa.
- Signal Transduction
Akt2, Dusp4, Igfbp5, Ikbkb (IKK2), Inpp1 (Ship2), Irs1, Irs2, Mapk8 (Jnk1), Mapk14 (p38alpha), Pik3cd, Pik3r1 (PI3KA), Ptpn1 (Ptp), Trib3 (Skip3).
- Transcription Factors
Cebpa, Foxc2, Foxg1, Hnf4a, Foxp3, Neurod1, Nfkb1, Nrf1, Pdx1 (Ipf1), Ppargc1a (Ppargc1), Srebf1, Hnf1b (Tcf2), Nkx2-1.
- Other Diabetes Genes
Serpine1 (PAI-1), Ucp2.

Refseq	Symbol	Description	Fold Regulation
NM_009598	Ace	Angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 1	4.4076
NM_134037	Acly	ATP citrate lyase	16.4498
NM_013461	Adra1a	Adrenergic receptor, alpha 1a	15.6707
NM_013462	Adrb3	Adrenergic receptor, beta 3	15.0324
NM_007428	Agt	Angiotensinogen (serpin peptidase inhibitor, clade A, member 8)	16.9123
NM_007434	Akt2	Thymoma viral proto-oncogene 2	9.9866
NM_009699	Aqp2	Aquaporin 2	3.3636
NM_013653	Ccl5	Chemokine (C-C motif) ligand 5	12.5533
NM_009915	Ccr2	Chemokine (C-C motif) receptor 2	-1.4439
NM_007642	Cd28	CD28 antigen	-19.5622
NM_011926	Ceacam1	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1	1.1647
NM_007678	Cebpa	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), alpha	-7.4643
NM_009843	Ctla4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4	11.4716
NM_010074	Dpp4	Dipeptidylpeptidase 4	8.515
NM_176933	Dusp4	Dual specificity phosphatase 4	10.6295
NM_008813	Enpp1	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1	9.3179
NM_019395	Fbp1	Fructose biphosphatase 1	21.4068
NM_013519	Foxc2	Forkhead box C2	22.4711
NM_008241	Foxg1	Forkhead box G1	3.2043
NM_054039	Foxp3	Forkhead box P3	14.2215
NM_008061	G6pc	Glucose-6-phosphatase, catalytic	-6.1475
NM_019468	G6pd2	Glucose-6-phosphate dehydrogenase 2	-43.5855
NM_008100	Gcg	Glucagon	1.8404
NM_008101	Gcgr	Glucagon receptor	-1.3013
NM_021332	Glp1r	Glucagon-like peptide 1 receptor	39.6706
NM_010271	Gpd1	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (soluble)	11.0809
NM_019827	Gsk3b	Glycogen synthase kinase 3 beta	11.9588
NM_010442	Hmox1	Heme oxygenase (decycling) 1	9.7811
NM_009330	Hnf1b	HNF1 homeobox B	28.84
NM_008261	Hnf4a	Hepatic nuclear factor 4, alpha	29.6508
NM_010493	Icam1	Intercellular adhesion molecule 1	7.3615

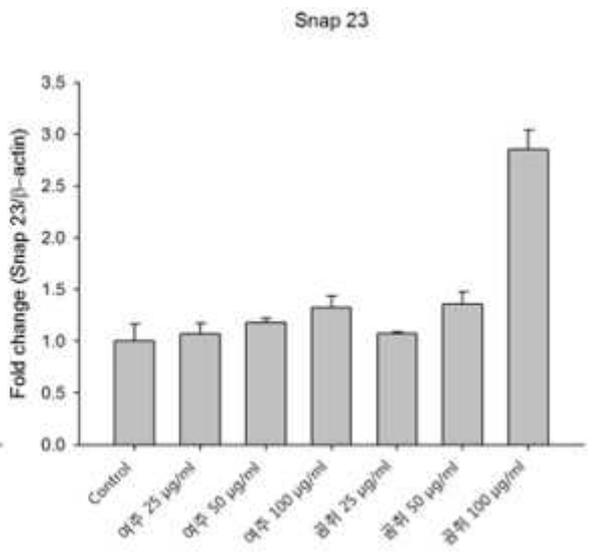
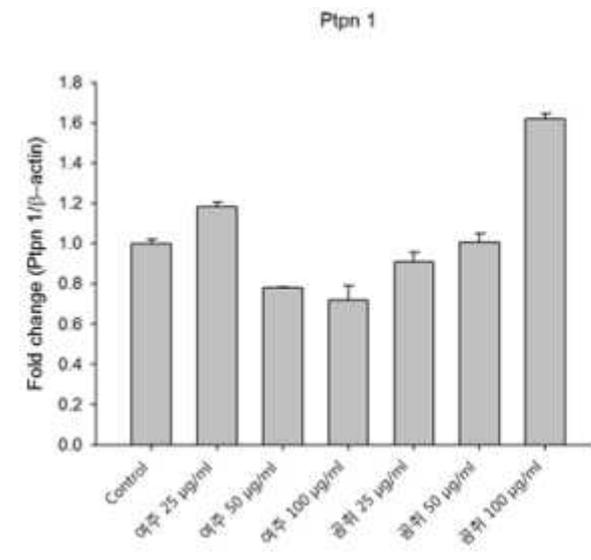
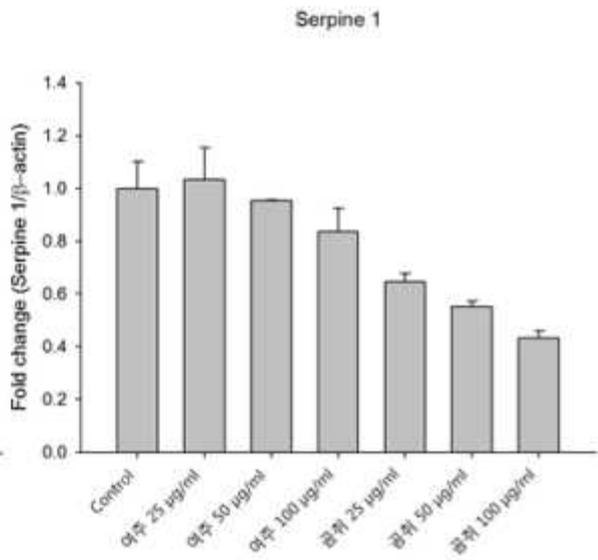
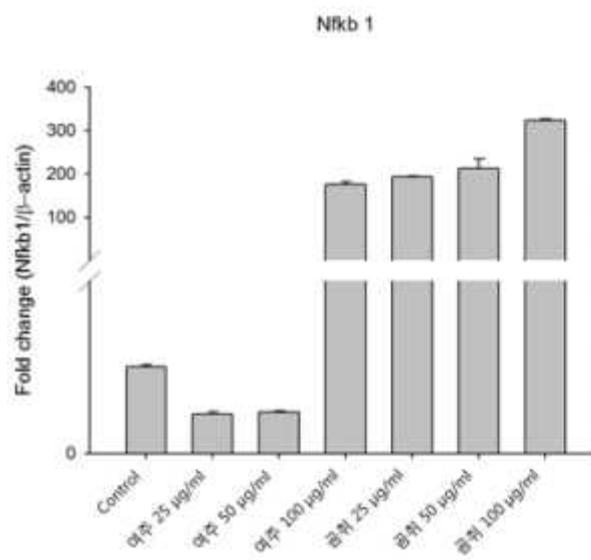
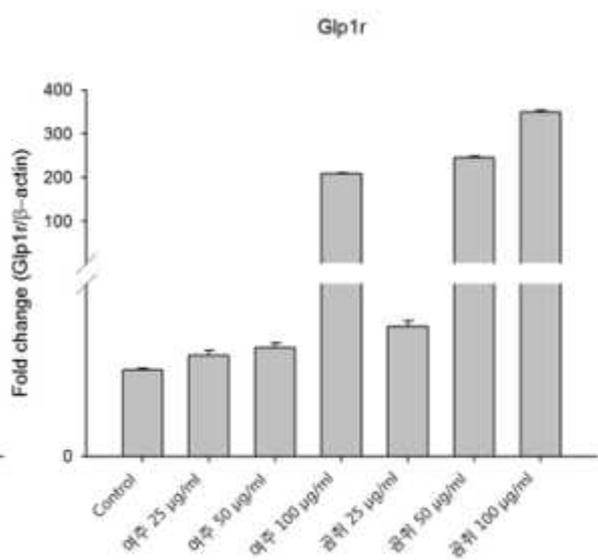
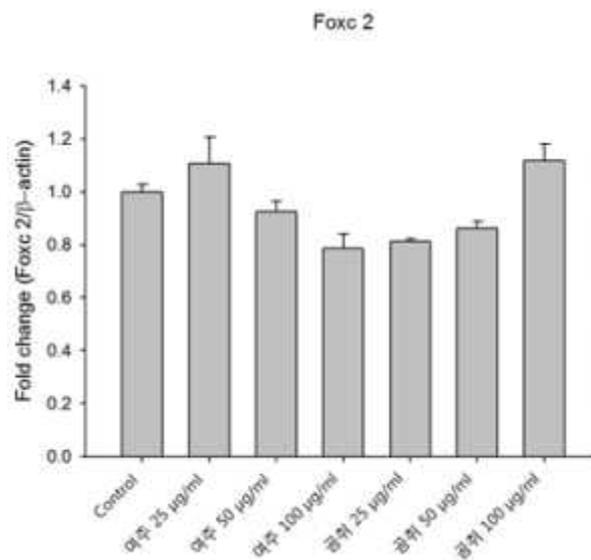
NM_031156	Ide	Insulin degrading enzyme	2.0279
NM_008337	Ifn γ	Interferon gamma	-1.7171
NM_010518	Igfbp5	Insulin-like growth factor binding protein 5	-42.6395
NM_010546	Ikbkb	Inhibitor of kappaB kinase beta	-58.6826
NM_010548	Il10	Interleukin 10	1.5157
NM_008352	Il12b	Interleukin 12B	23.2636
NM_00100870 0	Il4ra	Interleukin 4 receptor, alpha	9.1261
NM_031168	Il6	Interleukin 6	13.2691
NM_010567	Inpp1	Inositol polyphosphate phosphatase-like 1	9.9177
NM_008386	Ins1	Insulin I	18.7654
NM_010570	Irs1	Insulin receptor substrate 1	9.8492
NM_011951	Mapk14	Mitogen-activated protein kinase 14	8.1681
NM_016700	Mapk8	Mitogen-activated protein kinase 8	-16.9123
NM_010894	Neurod1	Neurogenic differentiation 1	-1.1329
NM_008689	Nfkb1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1, p105	-385.3432
NM_008713	Nos3	Nitric oxide synthase 3, endothelial cell	-1.434
NM_010938	Nrf1	Nuclear respiratory factor 1	-29.2055
NM_008740	Nsf	N-ethylmaleimide sensitive fusion protein	10.0561
NM_007415	Parp1	Poly (ADP-ribose) polymerase family, member 1	10.8528
NM_011038	Pax4	Paired box gene 4	3.8106
NM_011044	Pck1	Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, cytosolic	6.2333
NM_008814	Pdx1	Pancreatic and duodenal homeobox 1	5.3517
NM_133232	Pfkfb3	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphate 3	9.3827
NM_008840	Pik3cd	Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic delta polypeptide	-7.6211
NM_00102495 5	Pik3r1	Phosphatidylinositol 3-kinase, regulatory subunit, polypeptide 1 (p85 alpha)	-93.0542
NM_011144	Ppara	Peroxisome proliferator activated receptor alpha	-2.4623
NM_011146	Pparg	Peroxisome proliferator activated receptor gamma	-51.6251
NM_008904	Ppargc1a	Peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1 alpha	-26.9087
NM_011201	Ptpn1	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	-584.071
NM_133198	Pygl	Liver glycogen phosphorylase	11.4716
NM_009003	Rab4a	RAB4A, member RAS oncogene family	15.5625
NM_022984	Retn	Resistin	3.3404
NM_011346	Sell	Selectin, lymphocyte	4.4076
NM_008871	Serpine1	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade E, member 1	-103.2501
NM_030683	Slc14a2	Solute carrier family 14 (urea transporter), member 2	-3.2944
NM_009204	Slc2a4	Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 4	-8.8152
NM_009222	Snap23	Synaptosomal-associated protein 23	-272.4788
NM_011428	Snap25	Synaptosomal-associated protein 25	-2.3457
NM_013671	Sod2	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	-39.2917

NM_011480	Srebf1	Sterol regulatory element binding transcription factor 1	-592.2244
NM_009294	Stx4a	Syntaxin 4A (placental)	-58.1336
NM_009295	Stxbp1	Syntaxin binding protein 1	8.9383
NM_011505	Stxbp4	Syntaxin binding protein 4	-3.7321
NM_011577	Tgfb1	Transforming growth factor, beta 1	3.9177
NM_013693	Tnf	Tumor necrosis factor	-1.1487
NM_011609	Tnfrsf1a	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1a	-35.7634
NM_011610	Tnfrsf1b	Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1b	-24.0668
NM_175093	Trib3	Tribbles homolog 3 (Drosophila)	-451.9439
NM_011671	Ucp2	Uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)	-1082.3865
NM_009497	Vamp2	Vesicle-associated membrane protein 2	-22.3215
NM_009498	Vamp3	Vesicle-associated membrane protein 3	-87.5317
NM_013933	Vapa	Vesicle-associated membrane protein, associated protein A	-62.8894
NM_009505	Vegfa	Vascular endothelial growth factor A	-48.2528

- 선정된 타겟 유전자를 활용한 곰취 및 여주 추출물의 발현양상 측정
 - PCR array 분석 결과 중 실제적으로 혈당조절 개선 시 발생할 수 있는 유전자 발현양상과 비교하여 타겟 유전자 9개 선별하고 이에 대한 primer를 제작
 - ① Up-regulation gene : Foxc2, Glp1r
 - ② Down-regulation gene : Nfkb1, Ptpn1, Serpine1, Snap23, Srebf1, Trib3, Ucp2
 - ③ Primer list

Gene name	Forward primer	Reverse primer
β-Actin	TGTCCACCTTCCAGCAGATGT	AGCTCAGTAACAGTCCGCCTAGA
Foxc2	TGTCAGCTGCCCTATCGAGCTA	ACAGCCTCAGTATTTGGTGCAGTC
Glp1r	ATGGTGGCTATCCTGTACTGCTTTG	GCTGCTGGTGGGACACTTGA
Nfkb1	ACCACTGCTCAGGTCCACTGTC	GCTGTCACTATCCCGGAGTTCA
Serpine1	CCAAGGCATTGAGAAGCAGAGA	CCGGAATGACACATTGAAGTGAG
Ptpn1	TGGATCTCAGACATTCCACACTCAC	AGCTGCCTTGCTTCCAGTCC
Snap23	TGACATTGCCAATACAAGAGCAAAG	AGAAATGACTCAGCGGAGCTAGAGA
Srebf1	GGTACCTGCGGGACAGCTTA	CCGTGAGCTACCTGGACTGAA
Ucp2	CTTCAGCACACAAGGGCACA	AGGCCAACTGACAGCATTCCCTA
Trib3	TCAAGCTGCGTCGCTTTGTC	CGCATGCTTGTCCCACAGA

- 선별 타겟 유전자의 mRNA 발현 양상 확인



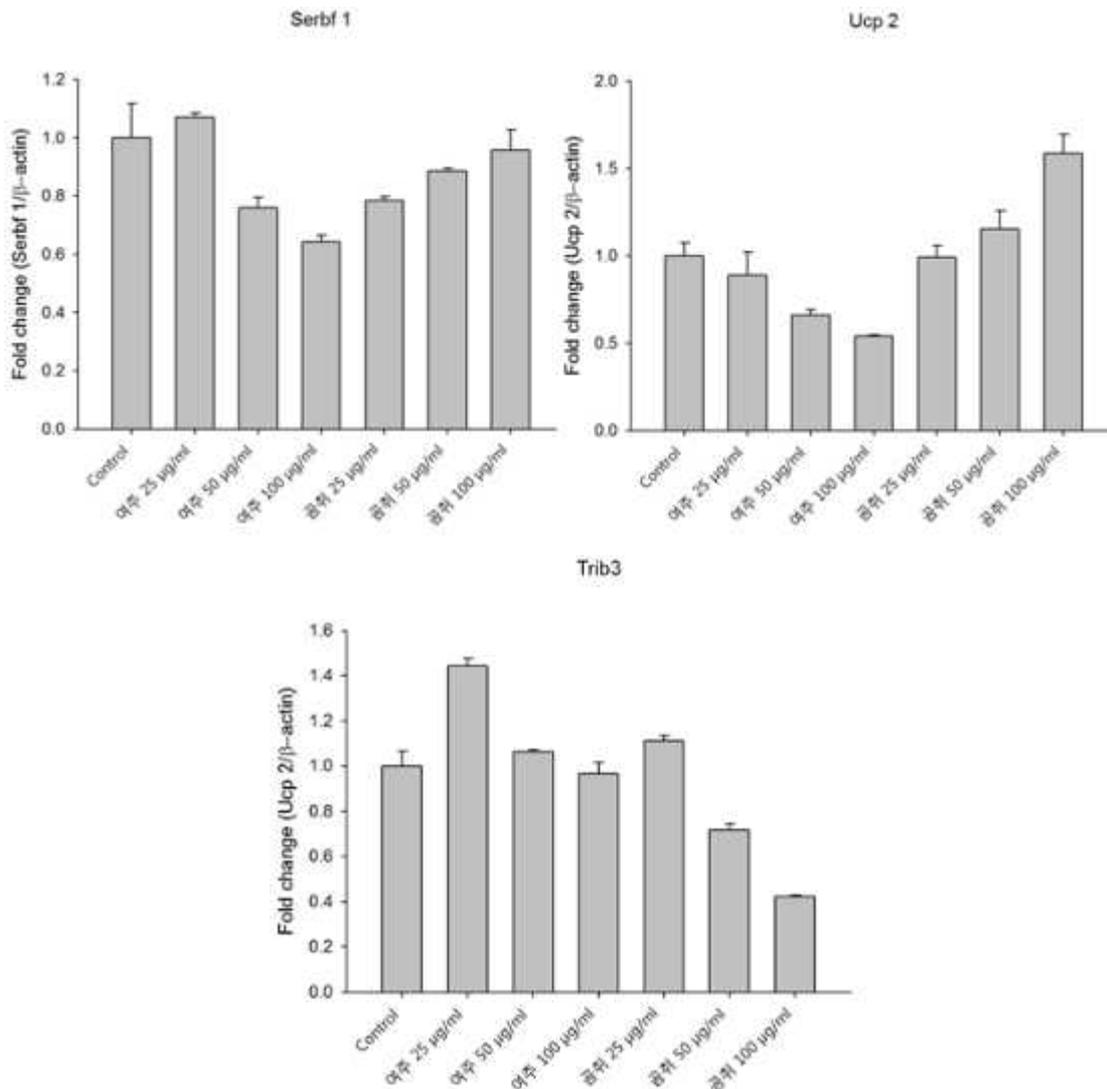


그림. 곰취 및 여주추출물의 glucose uptake 관련 유전자 발현양상 측정

- 이들 중 곰취에서 유의성 있는 결과를 나타낸 유전자는 Glp1r, serpine1, Trib3이며, 여주는 Ptpn1, Sreb1, Ucp2에서 유의성 있는 결과를 나타냄
- 특히, Glp1r는 GLP-1 (glucagon-like peptide-1)과 결합하는 수용체로 췌장 베타세포에서 발현이 증가되어 인슐린 합성과 분비를 증가시키는 기전을 가지고 있음. 본 연구결과에서 나타나듯이 곰취 및 여주추출물에서 매우 우수한 발현 증가 효과를 나타내었으며, 특히, 곰취 추출물 50 μ g/mL 이상의 농도 처리 시 대조군에 비해 약 300배가 넘는 발현 증가 효과를 나타내었음
- 이들 선정된 유전자의 당뇨와의 상관관계 분석과 당뇨동물모델에서의 연관성을 검토하고자 하였으며, 2가지 동물모델에서의 변화를 관찰함
- 혼합추출물의 타겟 유전자 발현양상 비교분석
 - 상기의 유전자 중 가장 조절능력이 우수한 Glp1r에 대한 발현조절 효능을 확인하기 위해 곰취 및 여주 단독추출물과 혼합추출물의 발현양상을 비교함
 - 또한, Glp1를 조절하는 DPP-4의 발현양상을 분석함으로써, 기존 Glp1 조절 약물의 효능을 저해하는 인자를 분석하였음
 - 그 결과, 상기 Glp1r의 증가양상과 같지는 않지만, 단독추출물 보다 혼합추출물에서 매우 우수한 발현증가양상을 나타내었으며, 그 활성을 방해하는 DPP-4의 발현을 효과적으로 저해하

였음

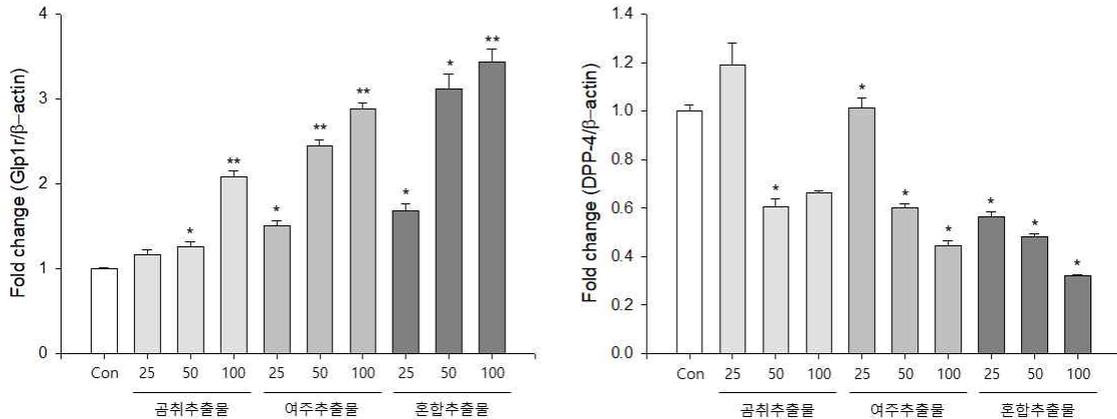


그림. 혼합추출물의 Glp1 조절 효능

▪ 해당 연구결과에 대한 고찰

- 과제 수행 초기 α-glucosidase 억제 효과를 나타내는 곰취추출물과 PPARγ agonist 효능을 나타내는 여주추출물을 이용하여 2중기능성의 기능성 원료를 개발하려는 목적을 가지고 있었음
- in vitro 실험결과, 혈당강하 또는 항당뇨 효능을 나타내는 바이오마커의 조절효과를 관찰함
- 곰취:여주=3:7 혼합추출물 제조 후 정확한 혈당강하 기전을 확립하기 위하여 신규 작용점을 분석한 결과, 그 중 Glp1r의 발현조절 효과가 매우 우수하게 관찰되었으며, 각각의 단독추출물 보다 우수한 조절 상승효과를 나타냄
- 따라서, 본 연구개발 소재인 곰취 및 여주 혼합추출물의 경우 α-glucosidase 억제 및 PPARγ agonist 효과는 물론, 신규 항당뇨 기전으로 급부상하고 있는 Glp1 및 DPP-4 조절 효과를 포함하고 있다고 할 수 있음 (천연물 또는 혼합물의 장점인 다기전의 활용도가 매우 높음)

사. 당뇨 동물모델을 활용한 전임상 유효성 측정

- 저용량 streptozotocin + 고지방식이 유도 2형 당뇨모델에서의 곰취/여주 혼합추출물의 혈당강하 효능 평가
 - 시험물질: 30% 주정 곰취 및 여주 혼합추출물, 30% 주정 곰취 및 여주 단독추출물
 - 실험군 설정 : 대조군 4군, 양성대조군 (바나바잎추출물) 2군, 시험물질 투여군 총 9군

No.	군	투여약물 (p.o.)
1	정상식이 섭취군(NC)	Saline
2	고지방식이 섭취군(HFDC)	Saline
3	STZ 투여군(STZC)	Saline
4	STZ+고지방식이 섭취군(VC)	Saline
5	양성대조군 (저농도)(BLE 50)	바나바잎추출물 50 mg/kg
6	양성대조군 (고농도)(BLE 100)	바나바잎추출물 100 mg/kg
7	곰취/여주 혼합추출물 저농도 투여군 (LMM 50)	곰취/여주 혼합추출물 50 mg/kg
8	곰취/여주 혼합추출물 중농도 투여군 (LMM 100)	곰취/여주 혼합추출물 100 mg/kg
9	곰취/여주 혼합추출물 고농도 투여군	곰취/여주 혼합추출물 200 mg/kg

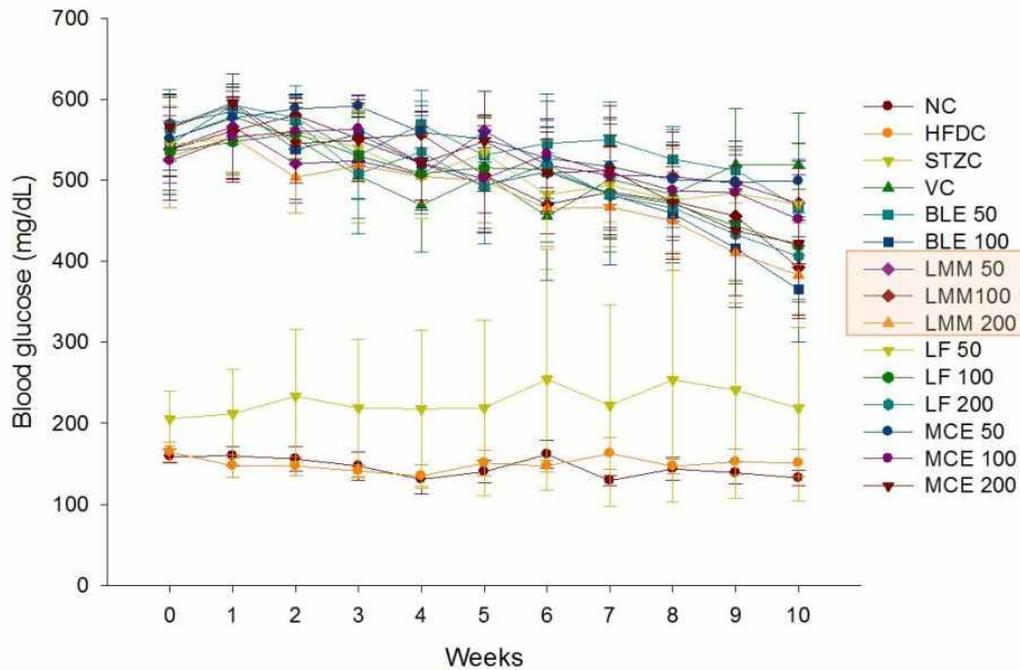
(LMM 200)		
10	곰취추출물 저농도 투여군 (LF 50)	곰취추출물 50 mg/kg
11	곰취추출물 중농도 투여군 (LF 100)	곰취추출물 100 mg/kg
12	곰취추출물 고농도 투여군 (LF 200)	곰취추출물 200 mg/kg
13	여주추출물 저농도 투여군 (MCE 50)	여주추출물 50 mg/kg
14	여주추출물 중농도 투여군 (MCE 100)	여주추출물 100 mg/kg
15	여주추출물 고농도 투여군 (MCE 200)	여주추출물 200 mg/kg

- 실험일정 및 측정마커

- 군 분리 후 1주 순화
 - 4주 동안 고지방식이 급여 (60 kcal% fat, Research diets, D12492)
 - 4주 후 STZ 60 mg/kg 투여
 - 7일 후 혈당체크기를 통해 당뇨 유발 확인 (혈당 300 mg/dL 이상)
 - 매일 1회 10주간 시험물질 경구 투여
 - 매주 2회 체중, 사료, 물 섭취량 및 혈당 측정
 - 시험 종료 후 혈액채취 및 조직 적출 (간, 췌장)
 - 혈액분석 항목 : Triglyceride, Total-, HDL-cholesterol, glucose, 당화혈색소, adiponectin, insulin, FFA 등
 - 간과 췌장을 적출하여 그 무게를 측정하고, 조직병리 및 췌장섬의 β -cell 확인
- 10주간 시험물질 투여 결과, 혼합추출물을 처리한 군에서 당뇨에 의한 체중 감소가 억제 되는 것을 확인하였고, 혈중 glucose 농도도 가장 높은 감소율을 보이는 것을 확인함

<표. HFD/STZ 당뇨 모델 마우스에서의 체중 변화>

Groups	Body weight (g)		weight gain (g)
	Initial	Final	
NC ²⁾	29.9±1.65 ¹⁾	33.3±1.72	4.4±2.28
HFDC	34.3±1.92*	46.0±6.38**	11.8±8.01*
STZC	34.8±1.07*	36.6±1.71**	1.8±2.12
VC	28.7±4.41	31.7±1.55	3.0±3.14
BLE 50	28.3±4.94	33.5±4.07	5.2±1.67
BLE 100	29.1±3.25	33.1±2.47	4.0±1.83
LMM 50	27.0±3.26	29.7±3.68	2.6±1.18
LMM 100	29.4±4.06	32.2±5.12	2.8±2.69
LMM 200	28.7±3.68	31.7±3.71	3.1±0.87
LF 50	31.2±3.52	33.0±3.39	1.8±0.84
LF 100	28.4±2.96	30.8±2.65	2.4±0.67
LF 200	29.8±4.08	32.3±3.76	2.4±0.39
MCE 50	31.2±3.92	33.5±3.75	2.4±1.07
MCE 100	29.2±3.22	31.8±2.98	2.5±0.36
MCE 200	31.8±2.82	35.8±2.40*	4.0±0.74



<그림. HFD/STZ 당뇨 모델 마우스에서의 혈중 glucose 농도 변화>

- 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 음수 섭취량이 유의하게 감소하였으며, 식이 섭취량은 크게 영향을 받지 않음. 또한, 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 모든 실험군에서 유의적인 차이를 보이지 않음

<표. HFD/STZ 당뇨 모델 마우스에서 식이섭취량 및 음수 섭취량 측정과 식이효율 분석>

Groups	Water intake (mL/day)	Food intake (g/day)	FER ²⁾ (g/g)
NC ³⁾	4.5±0.37 ¹⁾	4.6±0.30	1.4
HFDC	4.3±0.58	3.5±0.27 ^{**}	3.4
STZC	6.2±1.36 ^{**}	5.3±0.37 ^{**}	0.3
VC	13.9±1.34 ^{**}	8.3±0.69 ^{**}	0.4
BLE 50	12.9±1.79	9.1±0.70 ^{##}	0.6
BLE 100	10.0±1.07 ^{##}	8.3±0.71	0.5
LMM 50	13.0±1.46	6.6±1.02^{##}	0.4
LMM 100	11.6±1.37^{##}	8.2±0.57	0.3
LMM 200	10.8±1.55^{##}	8.4±0.91	0.4
LF 50	13.8±1.50	8.2±0.52	0.2
LF 100	13.6±1.29	9.1±0.95 [#]	0.3
LF 200	13.6±1.53	10.0±1.62 ^{##}	0.2
MCE 50	11.7±1.12 ^{##}	8.7±0.61	0.3
MCE 100	10.9±1.39 ^{##}	8.3±0.68	0.3
MCE 200	9.9±1.36 ^{##}	7.4±1.06 ^{##}	0.5

- 마우스 혈청에서 혈당, 당화혈색소, 지질, adiponectin 및 인슐린의 농도를 측정한 결과, 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 혈당, 당화혈색소, 콜레스테롤 및 adiponectin이 유의하게 감소하였고, 인슐린이 유의하게 증가하는 것을 보여 혈당강하 또는 항당뇨 효능이 우수함을 확인하였음

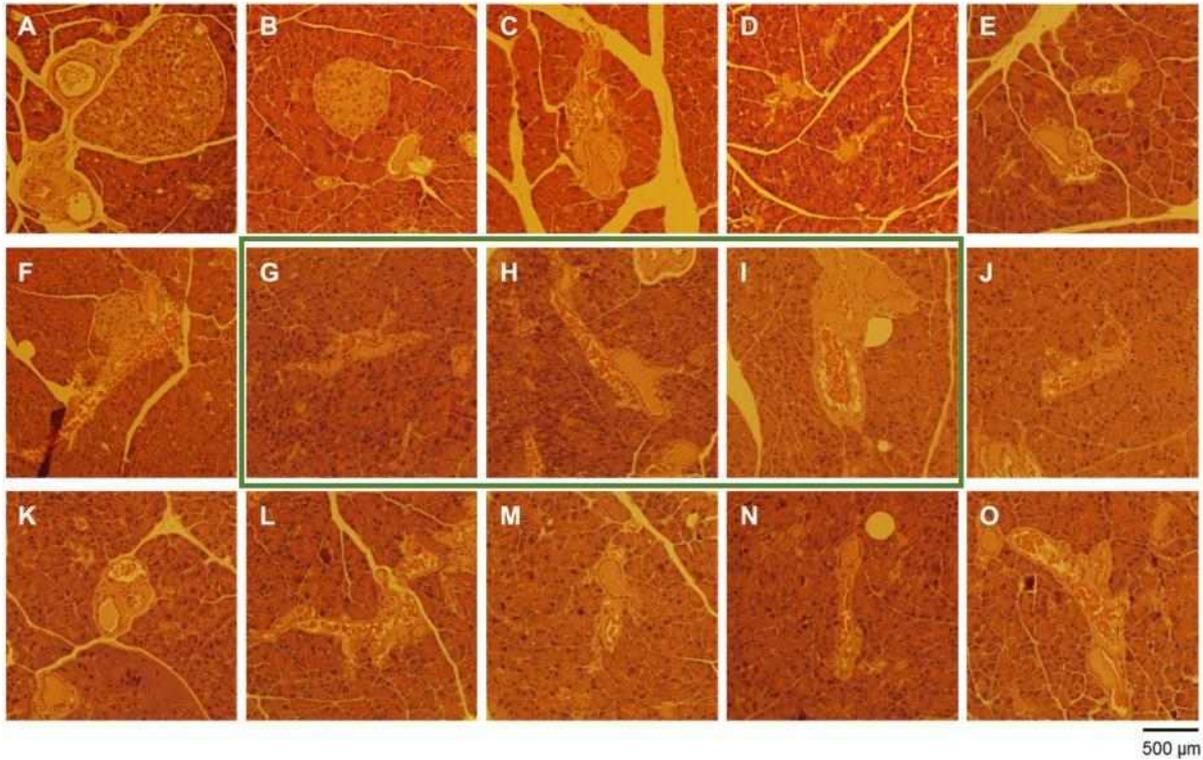
<표. HFD/STZ 당뇨 모델 마우스에서 식이섭취량 및 음수 섭취량 측정과 식이효율 분석>

Groups	Glucose (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)		HBAC1 (%)	NEFA (mEq/L)	Adiponectin (ng/mL)	Insulin (ng/mL)
			Total	HDL				
NC ²⁾	56.0±11.7 ¹⁾	67.0±9.4	158.0±6.9	60.9±6.71	4.1±0.19	3.27±0.643	2.64±0.283	0.26±0.041
HFDC	85.0±12.2 ^{**}	64.0±7.3	183.0±17.2 ^{**}	79.2±11.19 ^{**}	4.2±0.41	3.62±0.563	4.02±0.397 ^{**}	0.45±0.149 ^{**}
STZC	99.0±16.8 ^{**}	50.0±8.7 ^{**}	152.0±16.9	57.8±9.81	5.4±0.80 ^{**}	2.95±0.496	3.15±0.878	0.09±0.078 ^{**}
VC	519.0±48.8 ^{**}	137.0±22.2 ^{**}	277.0±24.8 ^{**}	104.3±4.64 ^{**}	8.9±0.96 ^{**}	6.62±1.335 ^{**}	1.22±0.247 ^{**}	0.23±0.054
BLE 50	474.0±61.3	149.0±25.2	202.0±32.3 ^{##}	75.3±15.65 ^{##}	8.6±0.64	5.30±0.987	1.28±0.439	0.27±0.078
BLE 100	350.0±58.7 ^{##}	98.0±10.1 ^{##}	196.0±11.6 ^{##}	76.5±9.89 ^{##}	5.2±0.57 ^{##}	4.56±0.431 ^{##}	1.84±0.249 ^{##}	0.42±0.131 [#]
LMM 50	451.0±44.7[#]	132.0±28.7	206.0±26.6^{##}	75.5±10.30^{##}	7.9±1.05	5.23±0.604[#]	1.16±0.293	0.21±0.028
LMM 100	382.0±54.9^{##}	119.0±32.2	168.0±18.4^{##}	71.2±13.75^{##}	7.0±0.75^{##}	4.82±0.956[#]	1.34±0.370	0.29±0.060
LMM 200	373.0±64.2^{##}	93.0±19.7^{##}	149.0±21.5^{##}	71.4±5.34^{##}	6.8±0.68^{##}	4.14±0.514^{##}	1.69±0.328[#]	0.43±0.067[#]
LF 50	460.0±66.9	122.0±27.2	193.0±25.0 ^{##}	75.9±11.74 ^{##}	8.1±0.61	5.22±0.655 [#]	1.24±0.295	0.22±0.046
LF 100	399.0±63.3 ^{##}	103.0±14.0 [#]	153.0±12.1 ^{##}	66.1±9.08 ^{##}	7.5±0.78 [#]	4.74±0.731 [#]	1.52±0.423	0.23±0.075
LF 200	388.0±46.0 ^{##}	101.0±17.1 [#]	159.0±21.2 ^{##}	72.4±4.72 ^{##}	7.3±0.50 [#]	4.02±0.659 ^{##}	1.60±0.609	0.25±0.095
MCE 50	470.0±34.4	132.0±15.5	202.0±29.1 ^{##}	80.6±9.05 ^{##}	7.9±0.52	5.63±0.718	1.28±0.367	0.23±0.028
MCE 100	408.0±57.3 ^{##}	127.0±17.6	193.0±20.0 ^{##}	81.8±11.42 ^{##}	7.6±1.01	5.57±0.585	1.31±0.266	0.26±0.048
MCE 200	390.0±90.6 [#]	131.0±17.9	184.0±27.6 ^{##}	77.7±14.17 ^{##}	7.5±0.94 [#]	4.56±0.685 [#]	1.32±0.292	0.39±0.136 [#]

- 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 간 조직 및 부고환 지방량이 유의하게 감소하는 것을 확인하였고, H&E staining을 통해 손상된 췌장의 랑게르한섬이 회복되는 것을 확인하였음 (A, NC; B, HFDC; C, STZC; D, VC; E, BLE 50; F, BLE 100; G, LMM 50; H, LMM 100; I, LMM 200; J, LF 50; K, LF 100; L, LF 200; M, MCE 50; N, MCE 100; O, MCE 200.)

<표. HFD/STZ 당뇨 모델 마우스에서 간, 췌장 및 부고환 지방 무게 측정>

Groups	Liver (g)	Pancreas (g)	Epididymal fat (g)
NC ²⁾	1.38±0.116 ¹⁾	0.23±0.017	1.26±0.201
HFDC	1.48±0.119	0.22±0.028	1.83±0.347 ^{**}
STZC	1.41±0.102	0.20±0.018 ^{**}	0.63±0.108 ^{**}
VC	2.39±0.252 ^{**}	0.22±0.031	0.71±0.138 ^{**}
BLE 50	2.14±0.232	0.24±0.023	0.46±0.159 [#]
BLE 100	1.71±0.190 ^{##}	0.21±0.014	0.49±0.117 [#]
LMM 50	1.92±0.241[#]	0.19±0.021	0.27±0.076^{##}
LMM 100	1.92±0.209[#]	0.23±0.053	0.42±0.112^{##}
LMM 200	1.89±0.326[#]	0.21±0.026	0.48±0.117[#]
LF 50	2.10±0.283	0.19±0.025	0.26±0.079 ^{##}
LF 100	1.95±0.253 [#]	0.21±0.038	0.29±0.092 ^{##}
LF 200	1.91±0.287 [#]	0.20±0.045	0.26±0.076 ^{##}
MCE 50	2.07±0.374	0.19±0.024	0.41±0.130 ^{##}
MCE 100	1.97±0.253 [#]	0.21±0.020	0.49±0.147 [#]
MCE 200	1.95±0.148 ^{##}	0.23±0.036	0.52±0.084 [#]

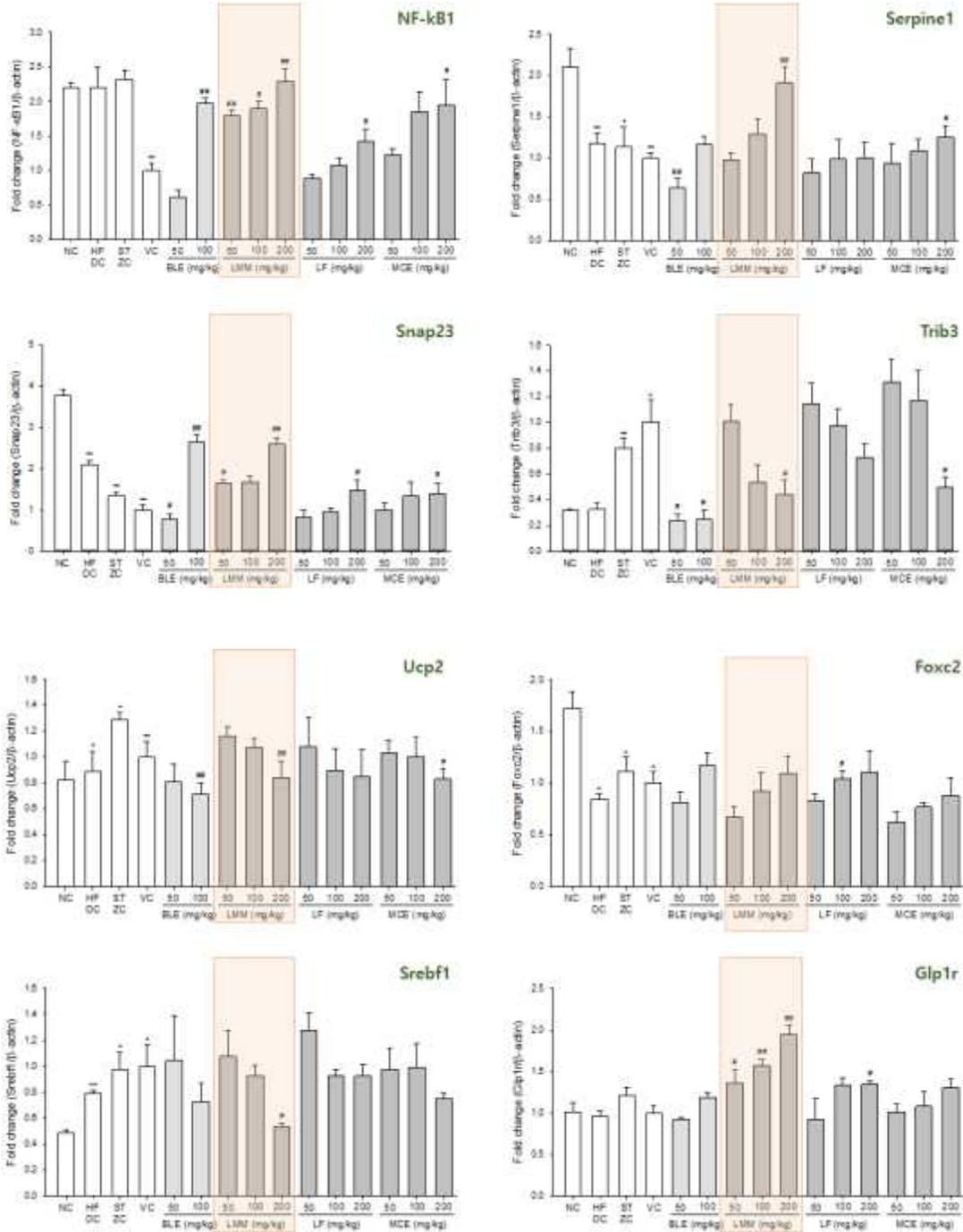


<그림. HFD/STZ 당뇨 모델 마우스에서 손상된 췌장의 랑게르한스섬 복구 효과 확인>

- PCR array를 이용하여 선정되었던 유전자들을 대상으로 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 당뇨 관련 유전자들을 분석한 결과, 아래의 표와 같이 9종의 당뇨 관련 유전자가 유의하게 증감하는 것을 확인하였고, 이러한 결과를 간 조직에서의 유전자 발현을 측정하여 동일한 변화를 확인하여 항당뇨 효과를 확인하고 작용 기전을 예측할 수 있었음

<표. PCR array 분석을 통해 선정된 유전자를 이용한 곰취/여주 혼합추출물 관련 항당뇨 바이오 마커 변화 분석>

Refseq	Symbol	Description	Fold Regulation
NM_013519	Foxc2	Forkhead box C2	22.5
NM_021332	Glp1r	Glucagon-like peptide 1 receptor	39.7
NM_008689	Nfkb1	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1, p105	-385.3
NM_011201	Ptpn1	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1	-584.1
NM_008871	Serpine1	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade E, member 1	-103.3
NM_009222	Snap23	Synaptosomal-associated protein 23	-272.5
NM_011480	Srebf1	Sterol regulatory element binding transcription factor 1	-592.2
NM_175093	Trib3	Tribbles homolog 3 (Drosophila)	-451.9
NM_011671	Ucp2	Uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)	-1082.4



<그림. 간조직에서 곰취/여주 혼합추출물의 항당뇨 바이오마커 변화 분석>

- db/db (BKS.Cg-Dock7m +/+ Leprdb/OlaHsd) mouse 2형 당뇨모델에서의 곰취/여주 혼합추출물의 혈당강하 효능 평가
 - 시험물질: 30% 주정 곰취 및 여주 혼합추출물
 - 실험군 설정 : 대조군 1군, 양성대조군 (바나바잎추출물) 2군, 시험물질 투여군 총 3군

No.	군	투여약물 (p.o.)
1	db/db 마우스 음성 대조군 (CON)	Saline
2	양성대조군 (저농도)(BLE 50)	바나바잎추출물 50 mg/kg

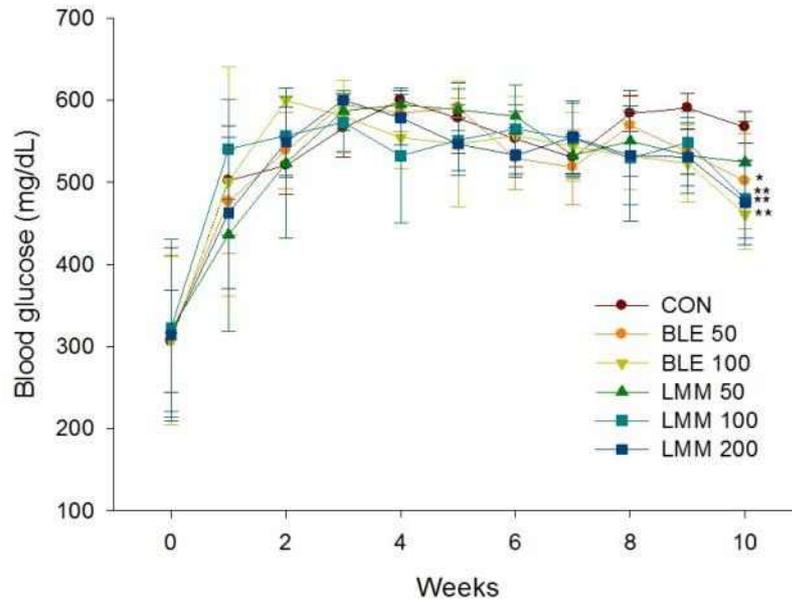
3	양성대조군 (고농도)(BLE 100)	바나바잎추출물 100 mg/kg
4	곰취/여주 혼합추출물 저농도 투여군 (LMM 50)	곰취/여주 혼합추출물 50 mg/kg
5	곰취/여주 혼합추출물 중농도 투여군 (LMM 100)	곰취/여주 혼합추출물 100 mg/kg
6	곰취/여주 혼합추출물 고농도 투여군 (LMM 200)	곰취/여주 혼합추출물 200 mg/kg

- 실험일정 및 측정마커

- 군 분리 후 1주 순화
 - 7일 후 혈당체크기를 통해 당뇨 유발 확인 (혈당 250 mg/dL 이상)
 - 매일 1회 10주간 시험물질 경구 투여
 - 매주 2회 체중, 사료, 물 섭취량 및 혈당 측정
 - 시험 종료 후 혈액채취 및 조직 적출 (간, 췌장)
 - 혈액분석 항목 : Triglyceride, Total-, HDL-cholesterol, glucose, 당화혈색소, adiponectin, insulin, FFA 등
 - 간과 췌장을 적출하여 그 무게를 측정하고, 조직병리 및 췌장섬의 β -cell 확인
- 10주의 시험물질 투여기간 동안 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 체중 증가가 감소되는 것을 확인하였고, 혈중 glucose 농도도 가장 높은 감소율을 보이는 것을 확인함

<표. db/db 당뇨 모델 마우스에서 체중 측정 및 체중 변화 확인>

Groups	Body weight (g)		weight gain (g)
	Initial	Final	
CON ²⁾	31.3±2.15 ¹⁾	56.5±1.23	25.2±1.91
BLE 50	34.5±3.34	58.9±1.25 ^{**}	24.4±2.30
BLE 100	33.0±4.80	57.3±1.96	24.3±5.28
LMM 50	33.8±2.26	58.8±2.33	25.0±1.82
LMM 100	34.3±1.97 [*]	57.2±1.84	22.9±2.77
LMM 200	33.3±2.86	54.4±2.89	21.1±3.72



<그림. db/db 당뇨 모델 마우스에서 혈중 glucose 농도 변화>

- 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 음수 섭취량이 유의하게 감소하였으며, 식이 섭취량은 크게 영향을 받지 않는 것으로 확인됨

<표. db/db 당뇨 모델 마우스에서 식이섭취량 및 음수 섭취량 측정과 식이효율 분석>

Groups	Water intake (mL/day)	Food intake (g/day)
CON ²⁾	11.3±1.64 ¹⁾	5.7±0.82
BLE 50	8.9±1.83**	6.1±0.89
BLE 100	7.9±1.64**	5.7±0.75
LMM 50	10.7±1.52	6.4±0.50*
LMM 100	9.7±1.70*	6.3±0.72
LMM 200	9.2±1.51**	5.3±0.87

- 마우스 혈청에서 혈당, 당화혈색소, 지질, adiponectin 및 인슐린의 농도를 측정한 결과, 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 혈당, 당화혈색소, 콜레스테롤 및 adiponectin이 유의하게 감소하였고, 인슐린이 유의하게 증가하는 것을 보여 항당뇨 효과를 확인할 수 있었음

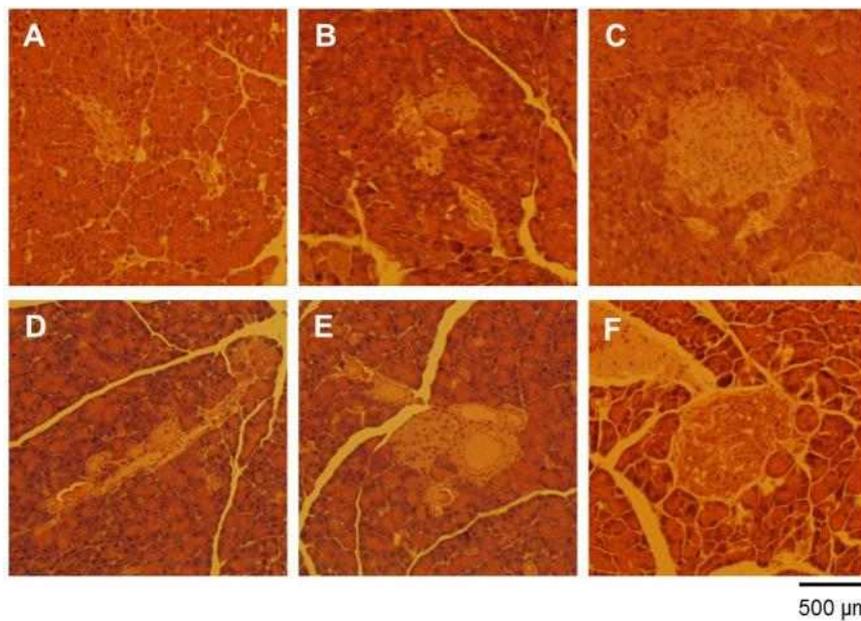
<표. db/db 당뇨 모델 마우스에서 혈중 바이오마커 분석>

Groups	Glucose (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)		NEFA (mEq/L)	Adiponectin (ng/mL)	Insulin (ng/mL)
			Total	HDL			
CON ²⁾	563.0±16.0 ¹⁾	100.0±8.1	223.0±25.1	110.0±3.37	3.37±0.494	1.44±0.120	4.04±0.593
BLE 50	514.0±64.0	118.0±14.3*	231.0±30.7	111.1±14.39	3.65±0.430	1.33±0.144	3.97±0.604
BLE 100	472.0±47.6**	108.0±10.9	228.0±34.7	114.5±19.12	3.61±0.485	1.45±0.213	3.15±0.980
LMM 50	550.0±69.5	115.0±14.7*	226.0±36.4	109.5±18.73	3.64±0.582	1.35±0.301	3.92±0.863
LMM 100	503.0±54.7*	99.0±7.7	213.0±20.9	107.8±13.33	3.33±0.447	1.46±0.151	3.28±1.169
LMM 200	478.0±36.7**	90.0±7.2	212.0±25.6	103.0±13.51	3.55±0.547	1.48±0.152	3.13±1.186

- 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군에서 간 조직 및 부고환 지방량이 유의하게 감소하는 것을 확인하였고, 손상된 췌장의 랑게르한섬이 회복되는 것을 확인하였음

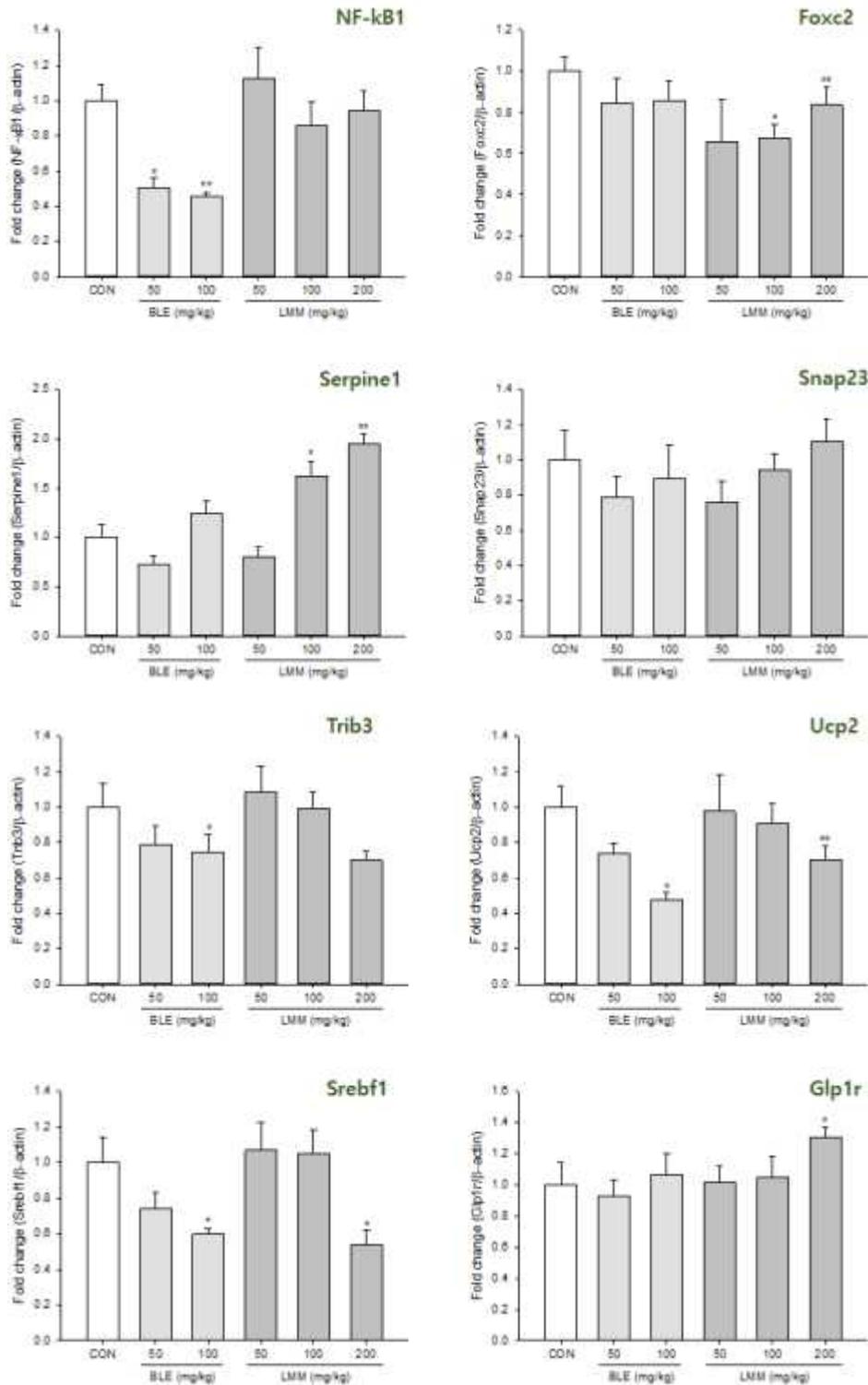
<표. db/db 당뇨 모델 마우스에서 간, 췌장 및 부고환 지방 무게 측정>

Groups	Liver (g)	Pancreas (g)	Epididymal fat (g)
CON ²⁾	3.28±0.295 ¹⁾	0.34±0.046	3.15±0.315
BLE 50	3.53±0.263	0.27±0.041*	3.29±0.282
BLE 100	3.31±0.172	0.24±0.049**	3.07±0.340
LMM 50	3.54±0.310	0.26±0.034*	3.25±0.407
LMM 100	3.14±0.322	0.23±0.047**	2.78±0.432
LMM 200	2.80±0.291**	0.20±0.023**	2.57±0.457*



<그림. db/db 당뇨 모델 마우스에서 손상된 췌장의 랑게르한섬의 복구 효과 확인>

- PCR array에서 선정된 유전자를 이용하여 곰취/여주 혼합추출물을 처리한 군의 간조직에서 당뇨 관련 유전자들을 분석한 결과, 당뇨 관련 유전자가 유의하게 증감하는 것을 확인하여 항당뇨 효과 및 관련 작용 기전을 예측할 수 있었음



<그림. PCR array 분석을 통해 선정된 유전자를 이용한 곰취/여주 혼합추출물의 해당노 바이오 마커 변화 분석>

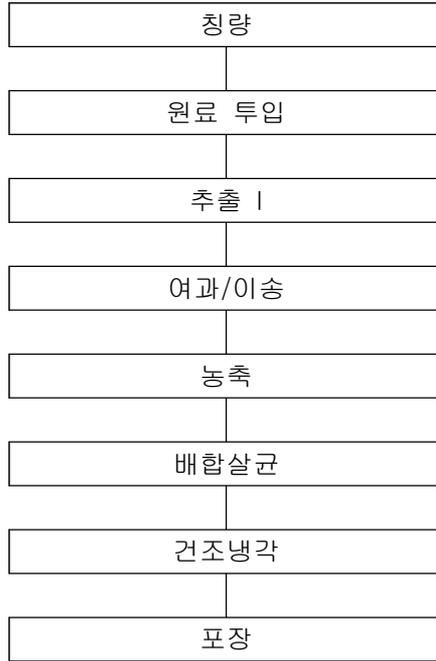
▪ 해당연구에 대한 고찰

- 고지방식이와 STZ 유도 당뇨동물 모델에서 본 연구팀은 곰취/여주 혼합추출물 외에도 곰취 및 여주 단독추출물, 바나바잎추출물의 혈당강하 효능을 측정하여 비교분석 하였으며, 관찰항목, 혈중 마커, 관련 유전자 조절효과가 단독추출물에 비해 혼합추출물의 효과가 우위에 있음을 확인하였음

- 이와 같은 연구결과를 통해, 당뇨관련 유전자 조작 마우스 모델인 db/db (BKS.Cg-Dock7m +/+ Leprdb/OlaHsd) mouse에서 혼합추출물의 혈당강하 효능을 검증하고자 하였으며, 그 결과, 고지방식이+STZ 유도 당뇨모델에서의 효능과 일치함을 확인함

사. 시제품 생산 (인체적용시험용 제품 포함)을 위한 제형 검토 및 제품생산

- 제형 연구 및 시제품 생산을 위한 곰취 및 여주 혼합추출물 대량 생산
 - Lab scale 제조 및 표준추출공정을 기반으로 하여 주정 30% 곰취 및 여주 혼합추출물 제조 공정 최종 확립



- 최종 여주곰취주정추출분말 원료 대량 제조

(주)대호양행	제 조 지 시 기 록 서 (여주곰취주정추출분말)		문서번호		DHP-201-207	
			보존	3년	Page	1/6

제 품 명	여주곰취주정추출분말
-------	------------

Lot No.	팜투팜	유통기한		제조단위	kg
제조지시일	2017.05.01	제조시작일	2017.05.01	제조완료일	2017.05.03
성상 및 유형	갈색의 분말			제조지시자	김상준

No	Lot No	시험번호	원 료 명	배합비율 (%)	기준량 (kg)	사용량 (kg)	칭량자	확인자
1			여주곰취주정추출물 (수분 100% 이하)	80				신삼현
2	2017.01.08		덱스트린	20				신삼현
	* 여주곰취 추출물 여주(곰취산) 71.43%, 곰취(쿠베산-강원점선) 성분 28.57%							
합계				100				신삼현

칭량시 확인사항	저울 영점 확인	확인	
	칭량실 온-습도 확인	온도 : 20.6 °C	습도 : 61 %

특기사항

공정명	추출/농축	배 합	건조(SD)/완포장	기 타
제조일자	2017.04.01 ~ 04.02	2017.04.03	2017.04.03	
공정투입량	280	77.5t	77.5t	
실제생산량	65.0t	77.5t	77.0	
수 율(%)	23.16%	100%	73.50%	

비 고	결 재		
	제조관리책임자	품질관리책임자	총괄책임자

제 품 시 험 성 적 서

결 재	담당자	연구 소장
		

제품명 : 여주곰취주정추출분말(임가공)

시 험 항 목	규 격 기 준	시 험 결 과	비 고
성 상	고유의 색택과 향미를 가지고 이미 · 이취가 없어야 한다.	적합	
이물	적합	적합	
타르색소	불검출	불검출	
수분(%)	8.0이하	적합	
일반세균(cfu/g)	1,000이하	적합	
대장균군(/g)	n=5, c=1, m=0, M=10	음성	
제조연월일	2017년05월03일		
Lot No.	팜투팜		
판 정	적 합		

상기와 같이 제품시험성적서를 제출합니다.

2017년 05월 12일

주식회사 대 호 양 행 품 질 관 리 과

경기도 화성시 팔탄면 온천로 49-4

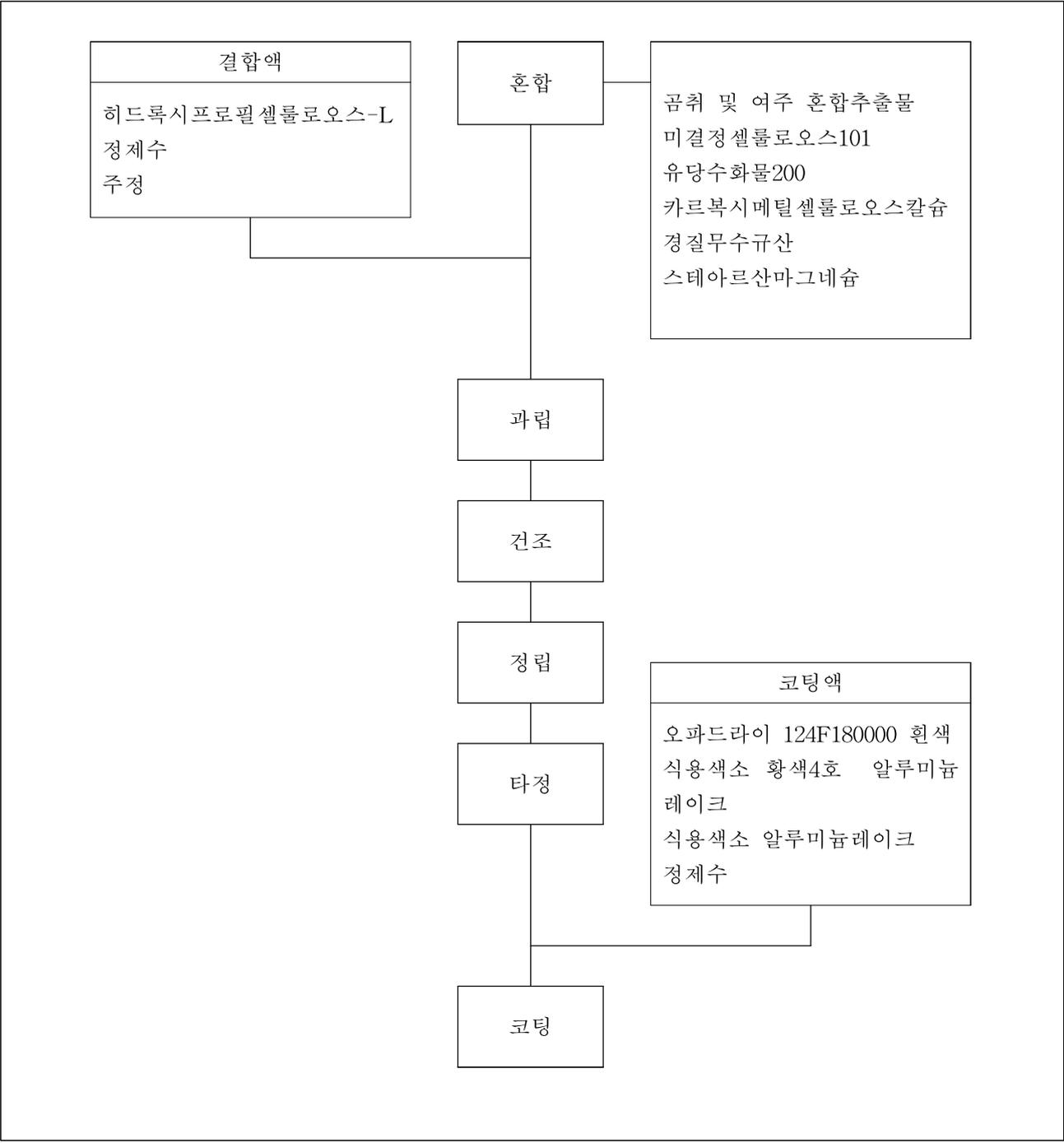
대표전화 : (031)354-8321 팩스 : (031)354-8323

www.daehocorp.co.kr



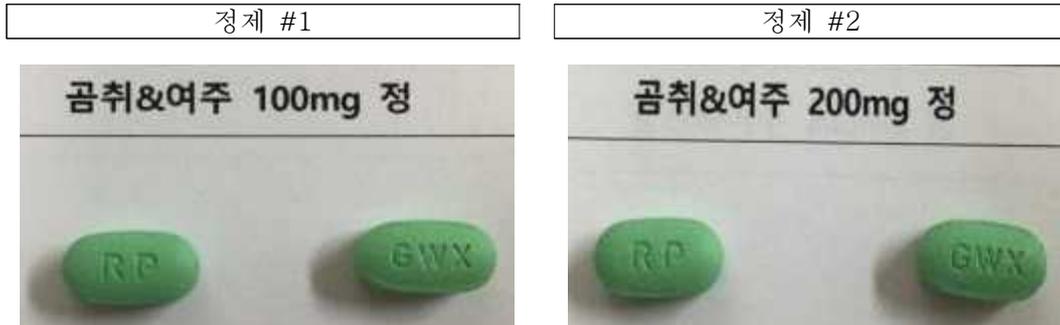
<그림. 여주곰취주정추출분말 제품시험성적서>

- 1차 곰취 및 여주 혼합추출물의 정제 및 캡슐 제조
 - 부피밀도의 증가와 타정의 용이성을 위해 습식법에 의한 정제 제조

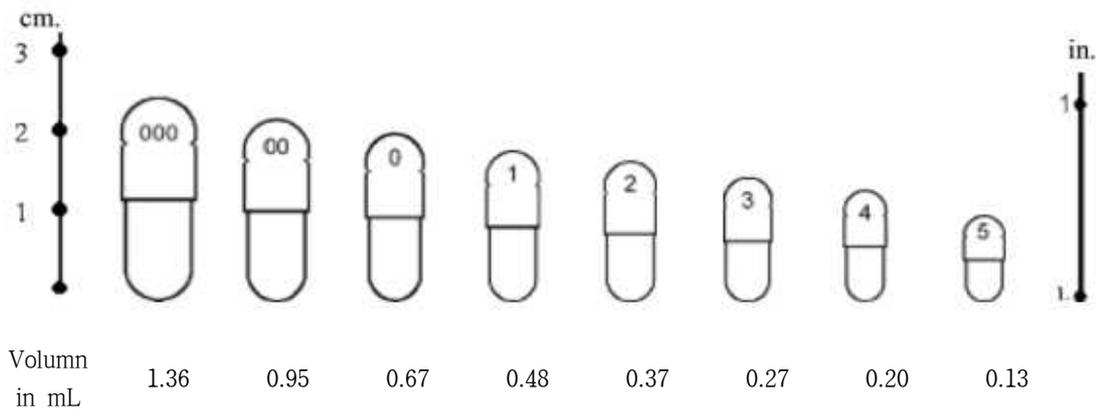


배합목적	성분	정제 #1	정제 #2
주성분	곰취 및 여주 혼합추출물	100 mg	200 mg
부형제	미결정셀룰로오스	170 mg	94 mg
부형제	유당수화물	84 mg	50 mg
붕해제	카르복시메틸셀룰로오스칼슘	10 mg	20 mg
부형제	경질무수규산	10 mg	10 mg
결합제	히드록시프로필셀룰로오스-L	16 mg	16 mg
활택제	스테아르산마그네슘	10 mg	10 mg
나정 합계		400 mg	400 mg
코팅제	오파드라이 124F180000 흰색	28 mg	28 mg
착색제	식용색소 황색4호 알루미늄레이크	qs	qs
착색제	식용색도 청색1호 알루미늄레이크	qs	qs
코팅정 합계		428 mg	428 mg

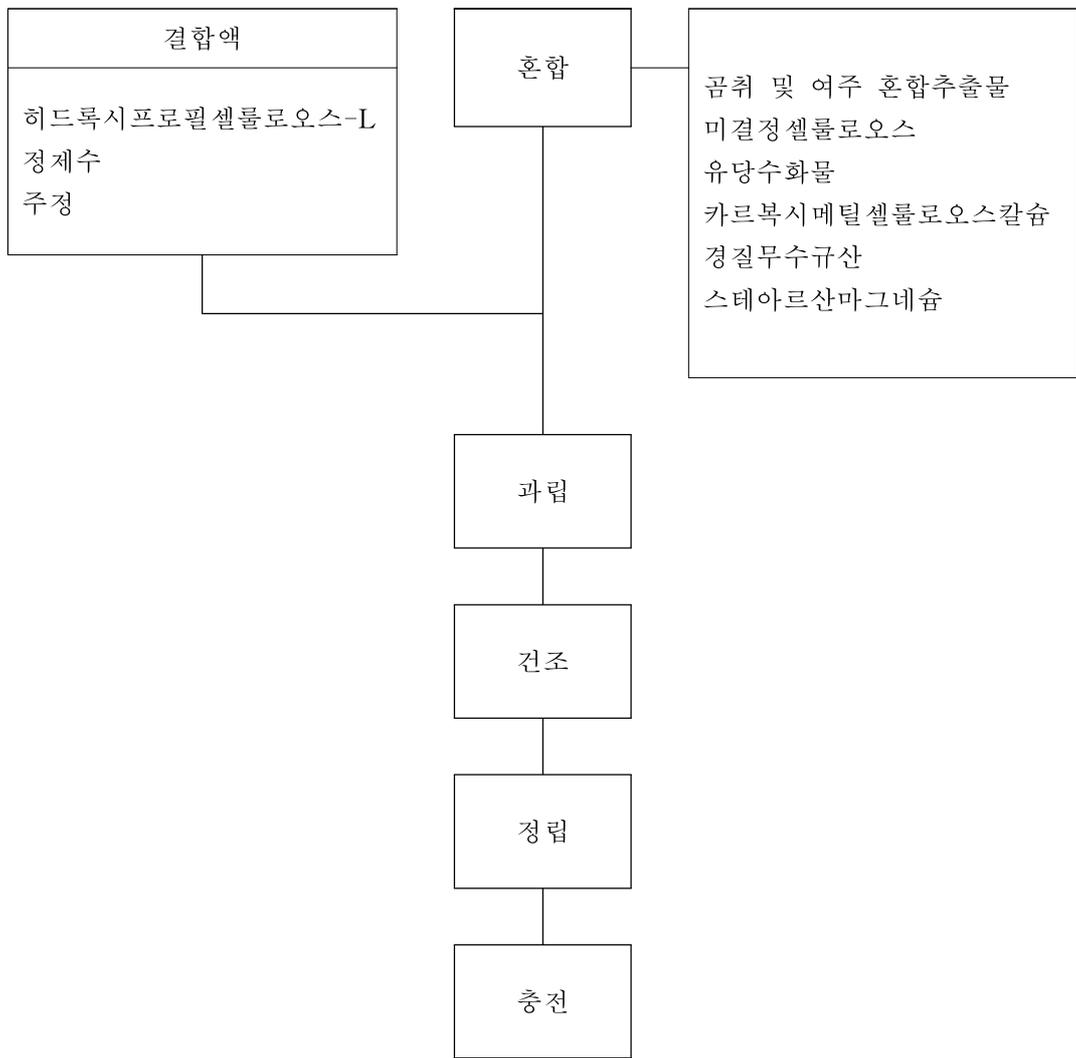
<정제 샘플>



- 국내용 캡셀제는 젤라틴 캡셀의 외피로 연질캡슐을 이용할 계획이며, 수출용은 해외 기호에 맞게 경질캡슐로 제조할 계획임. 또한 본 추출물의 경우 원료의 안정성이 높아 일반 충진을 진행할 예정임



- 복용의 편의성 및 과립물의 density를 고려해 0호 캡슐 선정



배합목적	원료명	캡슐 #1	캡슐 #2
주성분	곰취 및 여주 혼합추출물	100 mg	200 mg
부형제	미결정셀룰로오스	100 mg	36 mg
부형제	유당	54 mg	18 mg
붕해제	카르복시메틸셀룰로오스칼슘	10 mg	10 mg
부형제	경질무수규산	10 mg	10 mg
결합제	히드록시프로필셀룰로오스(L)	16 mg	16 mg
활택제	스테아르산마그네슘	10 mg	10 mg
내용물 합계		300 mg	300 mg
캡슐제	공캡슐(0호)	95 mg	95 mg
캡슐 합계		395 mg	395 mg

<캡슐 샘플>

캡슐 #1



캡슐 #2



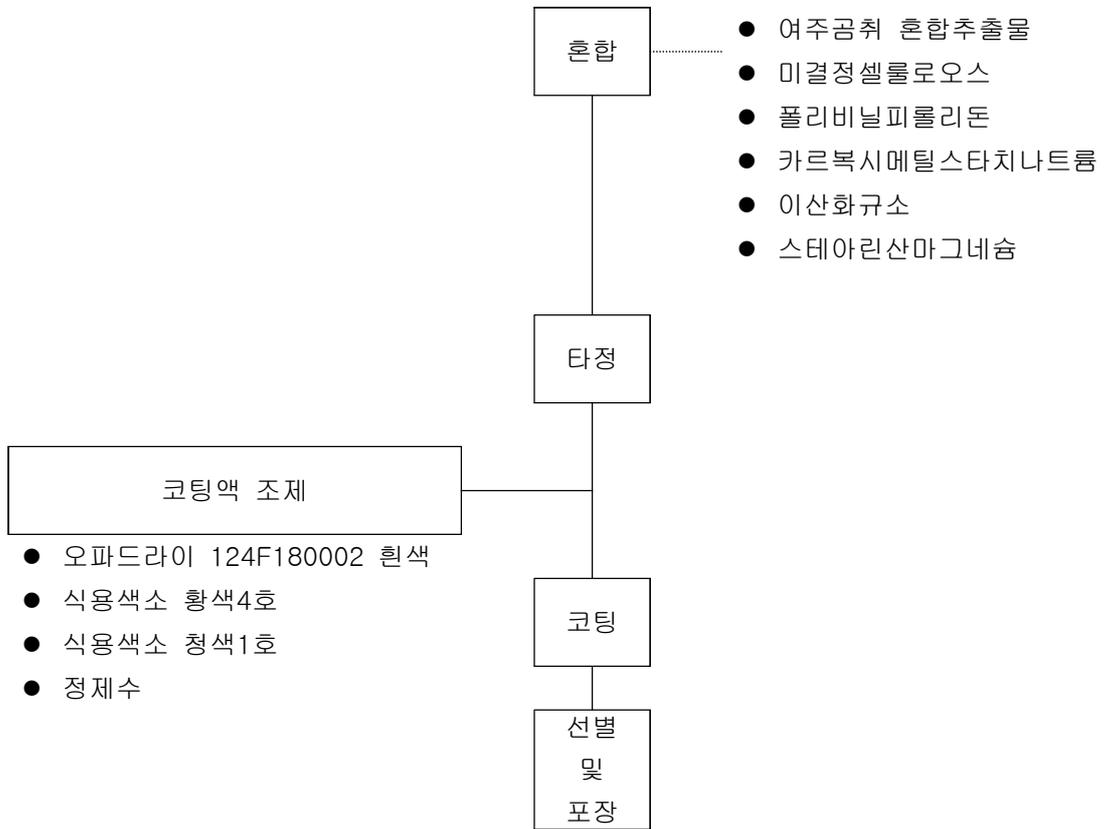
▪ 인체적용시험용 시제품 제작

- 캡슐의 경우 인체적용시험에 적용이 용이하지 않아 정제로 진행하기로 결정함
- LME300정 (여주곰취주정추출분말 300 mg 함유) 분량 및 제조방법

원료명	1정 중
여주곰취 혼합추출물	300 mg
미결정셀룰로오스	50 mg
폴리비닐피롤리돈	12 mg
카르복시메틸스타치나트륨	20 mg
이산화규소	10 mg
스테아린산마그네슘	8 mg
오파드라이 124F180002 흰색	28 mg
식용색소 황색4호	q.s.
식용색소 청색1호	q.s.
합계	428 mg

- 제조방법

- ① 혼합 : 여주곰취 혼합추출물과 부형제를 15분간 혼합한다.
- ② 타정 : 타정기를 이용하여 ①의 혼합물을 기준질량으로 타정한다.
- ③ 코팅 : 오파드라이 124F180002(흰색)를 정제수에 녹여 코팅한다.



- 제조장비



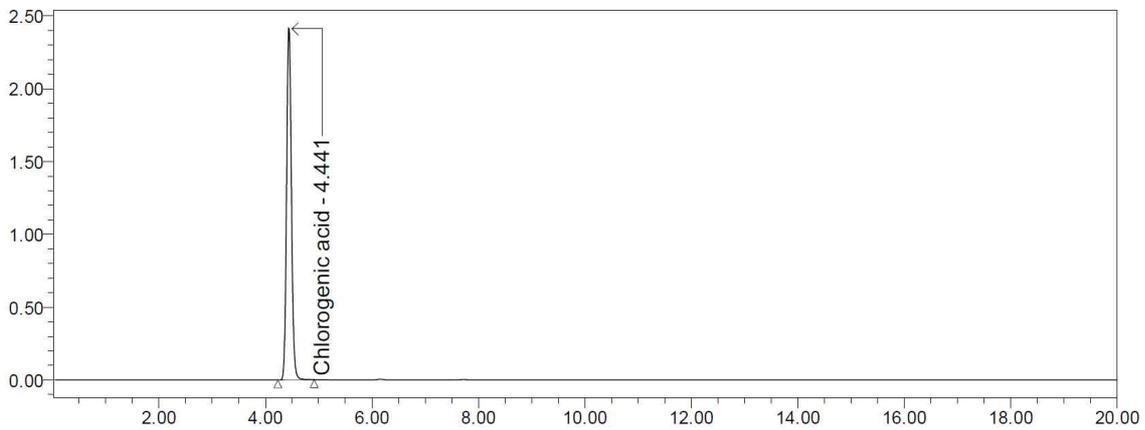
- HPLC 분석조건

- 컬럼 : CapcellPak MG C18 5um 4.6×250mm
- 검출기 : UV 326nm
- 이동상 : 용액 A - 아세토니트릴
용액 B - 0.1% 인산 수용액

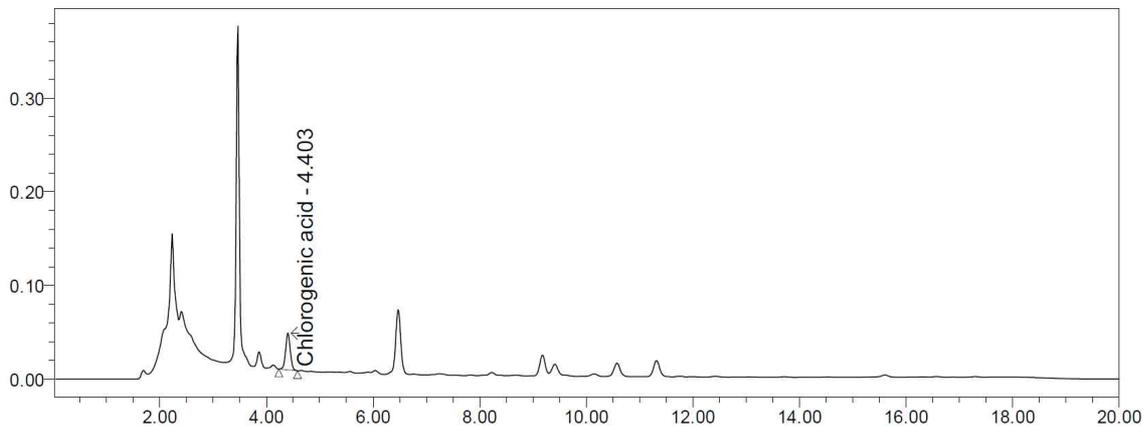
분	용액 A	용액 B
0	20	80
15	35	65
15.1	20	80
20	20	80

- 유속 : 1mL/min
- 주입량 : 20uL
- 희석액 : 물

- 표준액 크로마토그램



- 검액 크로마토그램



아. 인체적용시험

- 시험기관: 세명대학교 부설 한방병원 (담당자: 김기태)
- 투여용량: 2형당뇨 전임상 유효성 평가 시 유효 용량은 100 mg/kg/day로 나타났으며, 200

mg/kg/day 투여 시 가장 우수한 효능이 나타났으므로 인체에 적용할 수 있는 용량은 200 mg/day 이상이라 할 수 있음. 따라서 본 연구에서는 적정 용량 200 mg/day 이상인 300 mg (저용량)과 600 mg (고용량)을 일일섭취량으로 설정하여 인체적용시험을 진행하고자 하였음

Pharvis Korea Pharmaceutical.
PT_PVP2017001

May. 08. 2017
Version_1.2

인체시험계획서

기능성 식품(금취 여주 복합 추출물)의 인체시험

계획서 번호	PT_PVP2017001
프로젝트 코드	PV-LM 200
제 목	공취와 여주의 복합 추출물(PV-LM 200)이 견당노 및 대사증후군 대상자에 미치는 기능성, 유효 용량 및 안전성을 평가하기 위한 12주 섭취, 단일기관, 무작위배정, 이중맹검, 위약대조 인체시험
의 회 자	㈜한국파비스제약
계획서 Version	2017.05.08, V1.2

~~-Confidential-~~

이 문서는 ㈜한국파비스제약의 소유 자산입니다. 이 문서의 전체 또는 일부 내용은 ㈜한국파비스제약이
나 계열사의 사전 동의 없이 전달, 복제, 출판, 사용될 수 없습니다.

**This protocol is the property of Pharvis Korea Pharmaceutical Co., Ltd and may not -
in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise use without the
express permission Pharvis Korea Pharmaceutical Co., Ltd**

용어 및 약어

AE	Adverse Event
ALT	Alanine aminotransferase
Apo A1	Apolipoprotein A1
Apo B	Apolipoprotein B
AST	Aspartate aminotransferase
AUC	Area Under Concentration
BMI	Body Mass Index
BUN	Blood Urea Nitrogen
CBC	Complete Blood Count
CRO	Contract Research Organization
CRP	c-reactive protein
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events
DPP4	Dipeptidyl peptidase-4 (
DSMB	Data and Safety Monitoring Board
ECG	Electrocardiography
ESR	Erythrocyte Sedimentation Rate)
F/U	Follow up
FPFV	First Patient First Visit
FPG	Fasting Plasma Glucose
GCP	Good Clinical Practice
HbA1c	Hemoglobin A1c
HDL	High Density Lipoprotein
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance
HOMA-β	Homeostasis Model Assessment of β-cell function
ICH	International Conference on Harmonization
IFG	Impaired Fasting Glucose
IGT	Impaired Glucose in Tolerance
IRB	Institutional Review Board
ITT	Intent-To-Treat
LDL	Low Density Lipoprotein
LOCF	Last Observation Carried Forward
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
PP	Per Protocol
PPARγ	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma

QUICKI	Quantitative Insulin Sensitivity Check Index
RBC	Red Blood Cell
SAE	Serious Adverse Event
SUSAR	Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction
WBC	White Blood Cell

인체시험 요약(Synopsis)

Study Title	<p>공취와 여주의 복합 추출물(PV-LM 200)이 전당뇨 및 대사증후군 대상자에 미치는 기능성, 유효 용량 및 안전성을 평가하기 위한 12주 섭취, 단일기관, 무작위배정, 이중맹검, 위약대조 인체시험</p> <p>Randomized, Double-blinded, Placebo-controlled 16 Weeks Treatment Study of Ligularia Fischeri and Momordica Charantia Mixture(PV-LM 200) to Evaluate effects and effective dosage and Safety on Prediabetes and Metaboic syndrome Subjects</p>
Study number	PT_PVP2017001
Project Code	PV-LM 200
Sponsor	㈜한국파비스제약
Phase	건강기능식품 단상시험
KFDA IND	<input checked="" type="checkbox"/> 해당 <input type="checkbox"/> 해당 안됨
인체시험 실시 기관/국가	단일기관/ 대한민국
예상 인체시험 기간	IRB 승인 후 약 15개월
요구사항	본 연구는 전당뇨 및 대사증후군 대상자들이 공취와 여주의 복합추출물을 12주간 섭취하였을 때 위약대조군 대비 당화혈색소, 당부하검사, 공복시 혈당, 바이오마커 그리고 유효 용량과 안정성 평가를 향으로서 건

	강기능식품으로서 기능성과 안정성을 확인하고자 함에 있다.
인체시험 디자인 계획	Randomized, Double-blinded, Placebo-controlled, Parallel group, Single center
계획된 연구 참여 대상자수	6군 84명으로 내당능장애 대상자 42명, 저용량 14명, 고용량 14명, 대조군 14명 대사증후군 대상자 42명, 저용량 14명, 고용량 14명, 대조군 14명 중도 탈락을 15%를 고려하여, 각 군당 17명 총 102명이 연구에 참여할 예정임
방문 일정 및 평가	<ol style="list-style-type: none"> 1. 총 14주 (Washout period 별도최대 2주) <ul style="list-style-type: none"> ■ Screening period: 병용 금기약 섭취대상자는 최장 14일의 wash-out 기간을 두며, 무작위 배정일 기준 -14일~ -1일이다. ■ Treatment period: 12주 (WK0-WK12) ■ Safety F/U period: 2주 (Telephone visit) 2. 측정과 투약을 위한 방문일정 <ul style="list-style-type: none"> ■ Visit 1: Screening and wash-out, Day-1 ~ Day-14 ■ Visit 2: Randomization, 시험식품(또는 위약) 제공, Day0 ■ Visit 3: The Interim Evaluation, 시험식품(또는 위약) 제공, Day 28±4 ■ Visit 4: The Interim Evaluation, 시험식품(또는 위약) 제공, Day 56±4 ■ Visit 5: The End of Treatment, 주 평가 변수 평가일, Day 84±4 ■ Visit 6: The End of Study - Telephone visit(Safety F/U),

	<p style="text-align: center;">Day 98±4</p> <p style="text-align: center;">3. 검사일정</p> <p style="text-align: center;">*Page 11 의 인체시험일정 table 참조.</p>
<p style="text-align: center;">선정기준</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 본 연구에 참여하기로 적극적으로 서면 동의한 자 ■ 본 연구의 절차를 이해할 수 있고, 문맹이 아닌 자. ■ 만 20세 이상 80세 미만인 자 ■ 여성으로서 시험기간 동안 피임에 동의한 자(만, 폐경 후 12개월이 지난 여성은 피임 동의 대상에서 제외된다). <내당능장애 대상군> ■ HbA1C: 5.0% 이상 9%이하인 자 ■ 당뇨병 전 단계로서 공복혈당이 100~125mg/dl 이거나 식후 2시간 혈당이 140 mg/dl 이상, 200 mg/dl 미만인 자. <대사증후군 대상군> <p>아래의 기준 중 세 가지 이상이 해당</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 허리둘레 : 남자 90 cm, 여자 80 cm 이상 2) 중성지방 : 150mg/dL 이상 3) 고밀도지방 : 남자 40mg/dL 미만, 여자 50 mg/dL 미만 4) 혈압 : 130/85 mmHg 이상 또는 고혈압약 투약 중 5) 공복혈당 : 100mg/L 이상 또는 혈당조절약 투약 중
<p style="text-align: center;">제외기준</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 1형 또는 2형 당뇨병으로 확진 받은 자. ■ 본 인체시험용 식품의 성분예(여주, 꿀취를 포함하여) 대한 과민증 환자 또는 기왕력이 있는 경우. ■ 감상선 기능 항진증 또는 저하증으로 확진받은 자. ■ 당뇨를 보충기 위한 약, 건강기능식품 또는 인슐린 주사를 섭취한 자 ■ 현재 인체(또는 인체)시험에 참여 중이거나 참여 후 30일이 경과하지 않은 자 ■ 임신 또는 수유 중지를 원하지 않는 수유 중인 여성 ■ 가임기 여성일 경우 효과적인 피임을 약속하지 않은 자 (효과적인 피임방법: 불임수술, 피임약, 자궁내장치, 콘돔, 살정제를 이용한 barrier methods) ■ 스크리닝 전 3개월 기준으로 알코올 및 기타 약물 남용 기왕력자 ■ 스크리닝 전 3년내 악성 종양 진단을 받은 경우 ■ 심한 신기능 장애 나 간기능장애가 있는 대상자 (serum creatinine > 2.0 mg/dl, ALT, AST, alkaline phosphatase > 정상 상한치 × 2.5) ■ 위장장애 또는 정신학적으로 중요한 병력이 있거나 현재 질환을 앓고 있는 대상자 (정신분열증, 간질, 알콜중독, 거식증, 이상식욕항진 등) ■ 조절이 안 되는 부정맥 ■ 백혈구 (leukocytes) 수 3.0×10^9 /L 미만 ■ 절대호중구수 (Absolute Neutrophil Count) 1.5×10^9/L 미만 ■ 혈소판 수 100×10^9/L 미만 ■ 악성 림프관 병력 ■ 본 인체시험 참여로 안전을 위협할 수 있는 기타 의학적 상태의 환자 또는 연구자가 시험 참여에 부적합하다고 판단한 자 ■ 본 인체시험 참여 이전 경과된 Wash-out period 가 경과하지 않은 자
<p>시험군: 용량 및 섭취 경로, 용법</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 시험 1군: PV-LM 200 을 일일 회 식전 12주간 경구 섭취 (내당능장애 및 대사증후군 저용량 군으로서) 1일 2회, 1회 1정 섭취

	<p>■ 시험 2군: PV-LM 200 을 일일 회 12주간 경구 섭취 (내당능장애 및 대사증후군 고용량 군으로서) 1일 2회, 1회 1정 섭취</p>
대조군: 용량 및 섭취 경로, 용법	내당능장애 및 대사증후군 위약 대조군으로서 PV-LMP 을 일일 회 12주간 경구 섭취
구제약물 지급 계획	없음.
대상자 당 계획된 인체시험 기간	총 14주 (Washout period 별도 최대 2주)
일차평가변수	<p>■ 베이스라인 대비 12주 시점의 당화혈색소(Hemoglobin A1C)의 변화율.</p>
이차 평가변수	<p>■ 베이스라인 대비 4주, 8주 시점의 당화혈색소(Hemoglobin A1C)의 변화율. ■ 베이스라인 대비 4주, 8주 12주 시점의 경구 당부하 검사(OGTT)로서 60분, 120분 과 혈당농도의 변화량 ■ 베이스라인 대비 4주, 8주 12주 시점의 공복 시 혈당 변화량 ■ 베이스라인 대비 4주, 8주 12주 시점의 Lipid Parameters: Total cholesterol, triglyceride, LDL cholesterol, HDL cholesterol, non-HDL-cholesterol, Small Dense LDL-C, sCRP, Free fatty acid, apolipoprotein A I, apolipoprotein B, adiponectin ■ 베이스라인 대비 4주, 8주 12주 시점의 BMI 변화량. ■ 인체시험식품 복용과 관련된 이상반응의 발생률(빈도)과 특성 (저혈당을 포함하여 발생 빈도, 양상, 심각한 정도, 결과)</p>
약동학	해당 없음
기타 평가	해당 없음
통계 분석 (대상자 수 산출 포함)	<p><u>분석군의 정의</u></p> <p>■ 유효성 평가군:</p> <p>1) PP (Per Protocol): ITT 분석 대상자 중 무작위 배정 이후 인체시험용 의약품을 한번도 섭취 받지 않았거나 인체시험용 의약품 섭취 후 주 유효성 평가변수에 대해 한번도 평가가 이루어지지 못한 대상자를 제외한 집단 중에서 인체시험을 종료하고, 종대한 위반사항</p>

(선정/제외 기준 위반, 순응도 위반 등)이 없는 대상자 집단을 의미하며 주분석 방법으로 한다(본 시험의 PP 분석의 기준: 복용 순응도가 80% 이상의 자 등).

2) ITT 분석: 본 인체시험에 무작위 배정을 받은 모든 대상자 집단을 Intent-To-Treat 분석(ITT 분석)으로 정의한다. 인체시험 중 결측치가 발생한 경우, LOCF(Last Observation Carried Forward) 방법을 이용하여 분석을 실시한다.

■ 안전성 평가군:

무작위 배정 후 인체시험용 의약품을 한번이라도 섭취 받고 안전성 관련 Follow-up 이 이루어진 대상자 집단을 의미한다.

통계분석방법

본 연구는 우위성시험으로서 ITT 군과 PP 군 모두에 유효성 분석을 실시한다.

주평가 변수를 포함한 모든 통계분석은 유의수준(α) 0.05 하에서 양측검정(Two-sided)을 원칙으로 한다. 두 군간의 평가는 시험군 1 군-대조군, 시험 2 군-대조군 그룹간의 평균 변화량의 차이를 95% 신뢰구간을 이용한 양측 검정이며, 즉 유의 수준 0.05 검정으로 한다. 총화모집이나 중간분석은 실시하지 않는다.

■ 유효성 평가

유효성 평가지표에 대한 분석 시, 본 연구에서 관찰된 모든 점수들은 기저치 대비 개선량을 산출하여 군 간 Unpaired t-test 를 이용하여 통계적 유의성이 있는지 결정한다. 시험군과 대조군 간 시점별 자료들을 함께 고려하여 분석할 때에는 repeated measured ANOVA 등의 반복측정 분석기법으로 결정한다

■ 안전성 평가

1) 이상반응

시험기간 동안 보고된 모든 이상반응을 도표화한 후 이상반응의 발현율을 구한다. 각 군간 이상반응이 발생한 대상자의 비율을 계산하고 Chi-square test 또는 Fisher's Exact test 를 이용하여 비교한다.

2) 임상병리검사 결과

각 실험실 결과치를 기저치 대비 시험식품 섭취 종료 후 변화가 있는지 관찰된 결과치를 제시하고, 군간 변화량에 차이가 있는지 t-test 를 이용하여 분석한다. 또한, 식품 섭취 전(스크리닝) 대비 시험식품 섭취 종료 시 군내 변화량에 차이가 있는지 paired t-test 를 이용하여 분석한다.

3) 신체검사 및 활력징후 검사 결과

- 신체검사

기저치 대비 시험식품 섭취 종료 후 측정된 신체검진 결과를 비교하여 정상/비정상 변화율을 빈도 및 백분율로 요약하여 제시하고, Chi-square test 또는 Fisher's Exact test 를 이용하여 군간 차이를 비교한다.

- 활력징후

기저치 대비 시험식품 섭취 종료 후 변화가 있는지 관찰된 결과치를 제시하고, 군간 변화량에 차이가 있는지 t-test 를 이용하여 분석한다. 또한, 치료 전(스크리닝) 대비 시험식품 섭취 종료 시 군내 변화량에 차이가 있는지 paired t-test 를 이용하여 분석한다.

인체시험 일정표

Visit	스크리닝6)	무작위배정6)	공간 평가		최종 평가 또는 중도탈락5)	전환방문
	1	2	3	4	5	6
Schedule	~-W2	W0	W4	W8	W12	W14
서면동의서	✓					
인구학적 조사	✓					
활력징후자	✓	✓	✓	✓	✓	
병력 조사	✓					
약물 섭취력 조사	✓					
기존치료약물 중지	✓					
임상실험실검사 ²⁾	✓	✓	✓	✓	✓	
ECG 가	✓	(✓)	(✓)	(✓)	(✓)	
체중, BMI	✓	✓	✓	✓	✓	
Chest X-ray ³⁾	✓	(✓)				
이상반응 검사 ⁴⁾	(✓)	✓	(✓)	(✓)	(✓)	
기존치료약물 중지확인		✓				
적합성 평가 ⁴⁾	✓	✓				
무작위배정		✓				
시험식품 지급		✓	✓	✓		
반납 식품 회수			✓	✓	✓	
순응도 확인			✓	✓	✓	
OGTT	✓	✓				
Fasting Plasma Glucose	✓	✓				
Lipid Parameters		✓				
병용약물 확인			✓	✓	✓	
이상반응 확인		✓	✓	✓	✓	✓

제4절 연구개발 성과

가. 연구개발 성과목표 대비 실적

(단위 : 건수)

성과목표	지식재산권		논문		학술 발표	기술 실시 (이 전)	제품 화	기술 인 증	인력 양 성	정책 활 용	홍보 전 시	기타 (규격 시험 자료 생산)
	출원	등록	SCI	비 SCI								
최종목표	2	2	5	3	6	2	2	1	4	1	3	4
1차년도					2							
2차년도			1		4				1			
3차년도	1					1			1			
소 계	1		1		6	1			2			
종료 1차년도	1		1	1	1	1	1		1		1	
종료 2차년도		1	1						1		1	
종료 3차년도			1									
종료 4차년도												
종료 5차년도												
소 계	1	1	3	1	1	1	1	0	2	0	2	0
합 계	2	2	5	3	6	2	2	1	4	1	3	4

나. 지식재산권

구 분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기 타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
특허	곰취 추출물 및 여주 추출물을 포함하는 예방 및 치료용 조성 물 및 이의 제조 방법	대한민국	경희대 학교 산학협 력단	2017.06 .02.	10-2017- 0068934	-	-	-	-
특허	여주 추출물로부터 분리된 고야 글리코사이드지 를 유효성분으로 포함하는 항당뇨 예방 또는 치료 용 조성물	대한민국	(주)한국 파비스 제약	2017.12 .20.	10-2017- 0176463	-	-	-	-

※ 신규 특허 출원을 통한 주관기관의 연구결과 권리 확보

※ 기존 위탁기관의 특허의 경우 특허등록 시점에서 권리를 유상으로 양도받아 권리를 행사할 계획
임

다. 논문게재 및 학술회의 발표

1) 논문게재

논문(국내외 전문학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	Anti-obesity effect of Crinum asiaticum var. japonicum Baker extract in high-fat diet-induced and monogenic obese mice	Biomedicine & Pharmacotherapy	정용준	82	영국	Elsevier	SCI

- 추가적으로 “Anti-hyperglycemic and anti-lipidemic effects of the ethanol extract mixture Ligularia fischeri and Momordica charantia in type II diabetes-mimicking mice” 제목으로 BMC complementary and alternative medicine 저널에 submission 진행 중

2) 국내 및 국제 학술회의 발표

국내 및 국제 학술회의 발표					
번호	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	곰취 및 여주 혼합추출물의 항당뇨 효과	정용준	2014.09.24.	제천한방엑스포공원	대한민국
2	Regulatory effects of diabetes-related genes of Luaularia fischeri and Momordica charantia extracts	정용준	2015.09.15.	제천한방엑스포공원	대한민국
3	매엽의 항당뇨 효과	권정은	2015.04.24.	2015년 한국자원식물학회	대한민국
4	Identification of Optimal Extracts for Anti-diabetic Effects of momordica charantia	김수정	2015.10.28.	원예과학기술지	대한민국
5	HFD/STZ로 유도된 제2형 당뇨병 동물 모델에서 천연자원 혼합물의 항당뇨 효과 확인	박대원	2016.04.28.	2016년 한국자원식물학회 정기총회 및 춘계학술발표회	대한민국
6	제2형 당뇨병 동물 모델 db/db 마우스에서 천연자원 혼합물의 항당뇨 효과 확인	권정은	2016.04.28.	2016년 한국자원식물학회 정기총회 및 춘계학술발표회	대한민국

라. 기술실시 (이전)

(주)콜마비엔에치로 기술료 1억에 계약완료. 임상완료 후 과제종류 후 1차년도인 2018년에 개별인정 신청 및 출시에정

마. 제품화

상기의 기술이전에 따라, 2018년에 상용화 예정

바. 인력활용/양성

연구인력 활용/양성 성과					
번호	분류	기준년도	인력양성 현황		
			학위별	성별	지역별

			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	인력양성	2016			1			1				1	
2	인력양성	2017		1			1		1				

사. 정책활용

아. 홍보/전시

자. 기타

차. 사업화 성과 및 매출실적

1) 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	100억원
		관련제품	개발후 현재까지	억원
			향후 3년간 매출	억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 :100 % 국외 : %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		위

2) 사업화 계획 및 매출실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	2~3			
	소요예산(백만원)	200			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		-	100	200	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	-	2	5
국외		-	0.5	1	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		차, 음료 등의 일반식품			

무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후
	수입대체(내수)	-	20	50
	수출	-	-	1

카. 연구개발 성과 세부내용

1) 기술적 성과

가) 신규의 다기전을 포함하는 기능성 원료 제공

- 당뇨병은 여러 기전을 통해 발병하나, 현재 유통되고 있는 건강기능식품과 의약품의 경우 하나의 당뇨 발병기전에 맞추어 개발되고 있으며, 이러한 이유로 당뇨병의 치료는 2가지 이상의 약물을 혼합처방하고 있는 추세이고, 이러한 혼합처방은 당뇨병 개선에 도움이 된다고 알려져 있음
- 본 연구개발 소재는 천연자원을 이용한 추출물 형태로써, 추출물 내의 상호작용이 가능한 성분들이 다량함유되어 있으며, 또한, 본 연구개발 소재는 다른 항당뇨 기전을 가지는 원료를 혼합하여, 다기전을 포함하는 기능성 원료로 개발하고자 하였음
- 특히, 본 연구개발 소재의 경우 α -glucosidase 억제효과 (장에서 당 흡수 저해 효과)를 가지는 곰취추출물과 PPAR γ agonist 효능 (세포의 포도당 이용성 증대 효과)을 가지는 여주추출물을 혼합하였으며, 그 외에 항당뇨 타겟 유전자 연구에서 본 연구개발 원료 (여주곰취주정추출분말)는 Glp1 수용체의 활성화 기능과 DPP-4 억제 기능을 통해 인슐린 분비를 촉진시킬 수 있는 효과를 추가로 규명함에 따라 3중 기능성, 즉 다기전의 고기능성 원료로 제시가 가능함

나) 혈당강하 건강기능식품 또는 항당뇨 신약 개발을 위한 가이드라인 제공

- 본 연구팀은 연구개발 과제를 통하여 다기전의 당뇨 개선 효능을 나타내는 물질 선별, 후보물질의 효능평가 방법, 유효성분 규명 및 지표성분 설정, 원료 표준화, 제제/제형 개발 등의 연구를 수행하였으며, 이는 향후 다기전의 복합원료로써 건강기능식품은 물론 항당뇨 천연물 의약품에도 가이드라인을 제공할 수 있음

2) 경제적 성과

가) 다기전의 고기능성 혈당강하 개별인정형 건강기능식품으로써의 의의

- 대사성질환과 관련된 기능성 원료는 2004년 이후 지속적으로 인정받고 있는 실정이고, 이는 대사성 질환 예방에 대한 꾸준한 관심 및 다양한 원료에 대한 관심이 반영된 것으로 판단됨
- 혈당조절 건강기능식품의 매출은 2014년 93.3억 원인 데에 비해 2015년에는 126.2억 원을 기록하며 35.38% 증가하였기에 여기에 발맞추어 본 과제를 통해 개발되는 건강기능식품은 과제 종료 후 초기 3년간의 기간 동안 약 100억 원 이상의 매출을 기대할 수 있음
- 특히, 다기전의 고기능성 건강기능식품으로써, 안전한 국내 농산물을 사용하였다는 인식과 함께 기능성에 대한 충분한 홍보가 이루어질 경우 기존에 판매되고 있는 건강기능식품과 차별화된 전략으로 매우 큰 사업성을 나타낼 것으로 사료됨

나) 본 기술의 경제적/산업적 파급효과

- 본 연구개발 소재는 농산물을 이용한 소재로써, 국내 재배단지 구축 또는 농가의와의 계약재배가 가능하며, 본 개발 기술을 통해 사업화가 이루어질 경우 6차산업의 활성화를 기대할 수 있음 (원재료 생산 농가 초기 3년간 약 20억원의 매출 생성 가능)
- 안전한 고기능성의 건강기능식품 개발은 국내 대사성 질환 의료비를 절감시킬 뿐만 아니라 이에 대한 의약품 수입대체 효과를 가져와 2중 또는 3중의 경제사회적 파급효과를 도출할 수 있음
- 또한, 기존 수입제품의 대체는 건강기능식품은 물론 신약으로써의 도출이 가능하며, 해당 소재를 이용한 타제품 개발, 원료의 공급을 통한 연구활성화 등이 가능하여 산발적인 매출을 기대할 수 있음

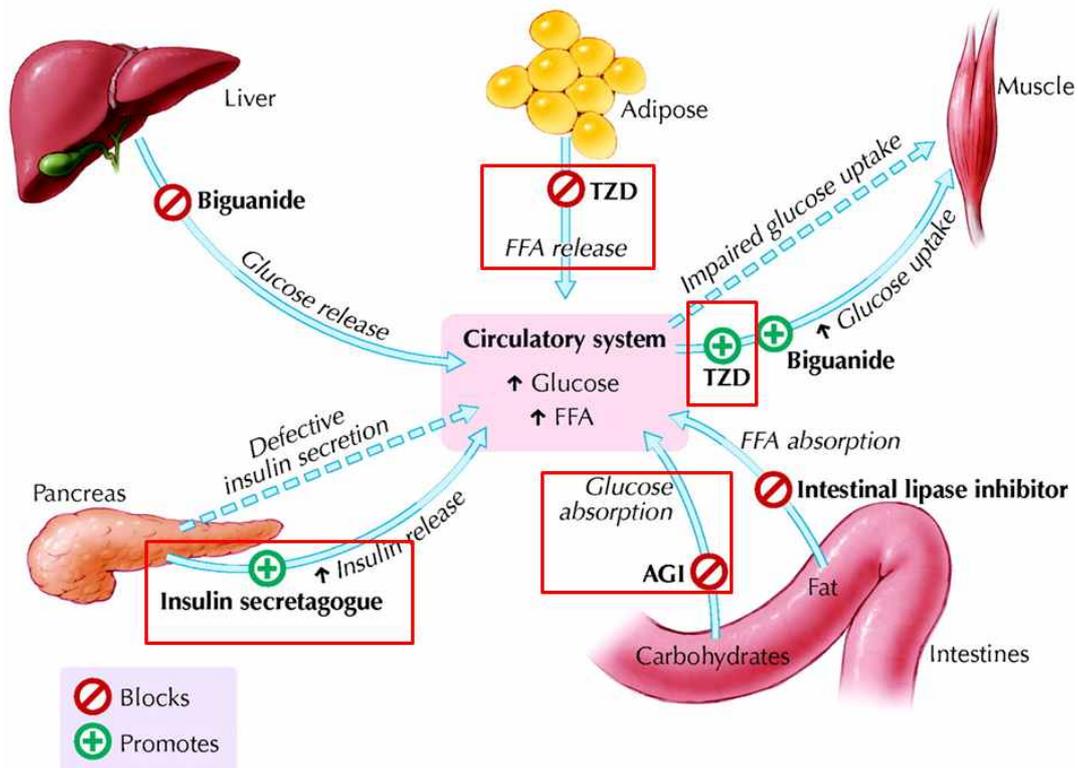
- 현재, 콜마비앤에치로 기술이전을 완료하였으며 (1억원 및 순매출의 3%)이에 따라 2018년도에 제품출시에정으로, 애틀미를 통하여 판매예정 (50억/년 예상)

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06
4-1. 목표달성도			
목 표	내 용	달성도 (%)	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취 및 여주의 원료 validation 	<ul style="list-style-type: none"> - 곰취 및 여주 추출물의 혈당강하 유효성분 또는 지표성분 규명 - 곰취 및 여주의 산업화를 위한 최종 소재 선정 (곰취 1종, 여주 1종) - 곰취 및 여주 추출물의 원료 규격화, 안정성 평가 	100	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 전임상 효능 확인 	<ul style="list-style-type: none"> - 세포에서 혼합추출물의 단독추출물 및 바나바추출물 대비 당뇨 바이오마커 활성 여부 (Glut4, adiponectin 등) 	100	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취 및 여주의 기시법 확립 및 최적추출공정 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 혼합추출물의 혼합비율 1건 설정 (곰취:여주=1:9-9:1, 중 선택) - 혼합추출물의 각각의 유효성분 함량 1% 이상 함유 - 곰취 및 여주 원료 규격 설정을 위한 기시법 작성 (곰취 1건, 여주 1건) 	100	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 전임상 유효성 평가 (in vivo) 	<ul style="list-style-type: none"> - 2형당뇨 동물 모델에서 혼합추출물의 단독 및 바나바추출물 대비 혈당강하 효능 증강 여부 (당뇨 바이오마커 최소 5% 증강) 	100	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 곰취 및 여주, 유효성분의 혈당 조절 작용기전 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 지방세포 및 근육세포에서의 혈당 조절 바이오마커 비교분석 여부 (대조군 대비 증강 여부) 	100	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 혈당강하 인체적용 시험 	<ul style="list-style-type: none"> - 혈당강하 인체적용시험을 위한 임상프로토콜 1건 작성 - 당화혈색소, 공복혈당, 식후혈당 개선여부 (최소 5%) 	80	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 혈당조절 작용점 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 타겟 유전자 발현 여부 (최소 2종 발현) - Up-, down stream 관련 유전자 분석 여부 (각각 1종 이상 탐색) 	100	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혈당강하 목적의 개별인정형 원료 신청자료 생산 	<ul style="list-style-type: none"> - 식약처 Q&A를 통한 혼합추출물의 기능성 원료 등록 가능 여부 - 각 기관별 연구내용 수집에 따른 혼합추출물의 기능성 원료 신청여부 	80	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혼합추출물의 건강기능식품 제품화 	<ul style="list-style-type: none"> - 제제/제형 개발을 통한 시제품의 생산 여부 	100	
4-2. 관련분야 기여도			
<ul style="list-style-type: none"> ○ 당뇨병의 경우 그 자체로도 심각하지만, 저혈당, 고혈당성 혼수, 케톤산 혈증 등의 만성합병증과 심혈관계 질환; 동맥경화증·고혈압·뇌혈관 경색증, 신장질환; 당뇨병성 신증, 안질환; 당뇨병성 망막증, 피부질환; 농피증·습진·가려움증·괴저 및 구강질환; 치조농루·충치 등의 급성합병증이 발생할 가능성이 높다는데 그 위험성이 있음 ○ 당뇨 발병 및 치료 기전 <ul style="list-style-type: none"> ▪ α-glucosidase inhibitor는 내인성 인슐린의 과분비 없이 소장에서 탄수화물의 흡수를 지연시켜 			

식후혈당치를 감소

- 이러한 α -glucosidase inhibitor는 저혈당이 발생하지 않고, 체중 증가 현상이 나타나지 않는 장점이 있으나, 복부팽만, 방귀, 설사 같은 위장관련 증상이 나타나는 부작용이 있음
- PPAR γ 는 에너지 대사에서 인슐린의 감수성을 증가시키는 thiazolidinedione (TZD) 계열에 대한 수용체로 알려져 있으며, 간의 포도당 생성을 약하게 억제하지만 체내 포도당 이용률을 증가시켜 인슐린 감수성을 향상시킴
- 이러한 PPAR γ agonist는 말초조직에서의 인슐린 효과 증진 및 낮은 저혈당 빈도의 장점이 보고되어 있으나, 효능이 나타나기까지의 기간이 길며 (4주 이후), 심혈관계 질환, 수분저류, 부종, 체중증가 등의 부작용이 나타나기도 함
- 아반디아 같은 TZD계 약물들은 심혈관계 질환의 부작용으로 인해 시장에서 퇴출되었으나, 약물의 효능에 비해 단점이 너무 부각되었다는 의식이 높아지면서 재평가의 필요성이 대두되고 있으며, 최근 미 FDA에서도 아반디아의 안전성 제한 완화 권고 등이 내려지면서 TZD계 약물들의 부활이 예견되고 있음
- 인크레틴 호르몬인 GIP와 GLP-1는 각각 인슐린을 분비하는 베타세포에 작용하여 인슐린 분비를 촉진시키나, DPP-4 효소에 의해 생리적으로 분해되어 그 활성이 저하됨
- DPP-4의 억제는 인슐린의 분비를 더욱 촉진시키므로 혈당만 감소시키는 기존 혈당조절 식품과는 다르게 치료 개념의 소재로 이용될 수 있음
- 또한 차세대 당뇨치료 기전으로 각광 받고 있는 PPAR α/γ dual agonist나 DPP4 억제제는 HDL-cholesterol과 TG의 level을 개선 시킬 뿐만 아니라 낮아진 CV risk가 강점인 항당뇨 기전이라 볼 수 있음



<그림> 다른 혈당조절 효과를 나타내는 각각의 기전들 (CMAJ, 2005)

- 이러한 당뇨 관련 기전 중 각각의 약물은 단독요법보다 병합요법이 더 효율적이라고 보고되어 있으며, 실질적인 당뇨병 치료를 위한 당뇨치료제 처방에서도 대부분 각각의 다른 기전 약제를 병용처방 하고 있음
- 현재 시판되고 있는 개별인정형 혈당조절 건강기능식품 중, 콩 (대두)발효추출물의 경우만이 α -glucosidase의 활성을 억제함으로써 식후혈당, 공복혈당, 당화혈색소의 감소를 보이는 것으로 확인

이 되었고 다른 원료들은 단순히 혈당 조절에 도움을 줄 수 있거나, 식후혈당 상승 억제에 도움을 줄 수 있다고 공지함 (명확한 타겟 기전이 없음)

- 단순히 소화효소 활성의 억제, 단당류 흡수의 억제만을 통한 혈당조절 건강기능식품은 이미 시장에 널리 유통되고 있음

○ 본 연구개발 제품의 우월성

- 본 연구개발 제품은 다른 건강기능식품과는 다르게 명확한 3종의 타겟 기전을 제시할 수 있으며, 이는 의약품에 준하는 기능성이지만, 식품소재의 사용으로 안전하게 섭취가 가능함
- 따라서, 기존에 알려진 제품과는 차별화가 매우 크다 할 수 있으며, 이러한 전략은 기존 당뇨 치료제 및 건강기능식품 시장에서 큰 우위를 차지할 수 있을 것으로 사료됨



5. 연구결과의 활용계획

코드번호	D-07
------	------

1) 제품화 / 산업화 활용방안 : 과제 종료 후 초기 3년간 약 100억 원의 매출 기대

■ 혈당강하 목적의 개별인정형 건강기능식품 개발

- 대사성질환과 관련된 기능성 원료는 2004년 이후 지속적으로 인정받고 있는 실정이고, 이는 대사성 질환 예방에 대한 꾸준한 관심 및 다양한 원료에 대한 관심이 반영 된 것으로 판단됨
- 혈당조절 건강기능식품의 매출은 2014년 93.3억 원인 데에 비해 2015년에는 126.2억 원을 기록하며 35.38% 증가하였기에 여기에 발맞추어 본 과제를 통해 개발되는 건강기능식품은 과제 종료 후 초기 3년간의 기간 동안 약 100억 원의 매출을 기대하고 있음

■ 원재료생산 기준 농가소득 초기 3년 간 15억원 이상 발생 가능 (20,000원 /kg 계약 재배 시)

■ 국내외 판매: (주)한국파비스생명과학 연계 사업화 진행 및 콜마비앤에치로 기술이전완료(1억, 순매출의 3%)에 따라, 콜마비앤에치에서 애터미를 통하여 2018년부터 판매예정

2) 본 연구개발 원재료의 수집, 자원평가 및 생산체계 확립은 환경변화에 대응한 자생식물자원 보존 및 확대방안으로 활용

■ 본 연구결과는 식물자원분야 기초 및 응용학문분야의 발전에 활용 가능

■ 재배단지 조성을 통해 작약을 친환경 생산에 활용함으로써 농업생산성 확대 가능

■ 자원특성판별 및 식물기원정립을 위한 연구결과는 앞으로 산업화 자원가치가 높은 농산물의 기능성 원료 소재개발 및 산업화에 활용도가 높음 (특히 본 연구에서는 여주의 품종별, 성숙도별 개체를 수입하여 연구를 진행하였으므로 산업화에 기초자료로 제공될 수 있음)

3) 곰취 및 여주의 혈당조절 기능을 검증함으로써 혈당강하 보조제로서 개발 가능

■ 내수시장에서 활발히 소비되고 있는 식의약(한약재) 원료 이용한 제품 개발을 통해 효능 입증 가능하므로 안전한 원료로 개발되는 건강기능식품을 구매하고자 하는 소비자의 니즈를 충족시킬 수 있음

■ 곰취 및 여주추출물의 혈당조절 효능을 과학적 검증을 통하여 소비자들의 신뢰를 높이고 소재의 확보를 통해 식의약 개발 분야에서 국제적 경쟁력을 갖출 수 있을 것으로 판단됨

■ 혼합추출물의 다중 기전의 역할을 분명히 하여 마케팅으로 활용할 경우 기존 제품 대비 시장성이 매

우 뛰어날 것으로 사료됨

- 4) 곰취 및 여주는 국내에서 자생 및 재배되고 있는 자원으로써 내수시장에서 활발히 소비되고 있는 자원이기에 이를 이용한 제품의 출시는 소비자로부터 선호도를 높일 수 있을 것으로 기대함
 - 천연자원을 이용한 식의약품 시장은 다양하고 새로운 천연소재의 개발 또는 익히 알려진 소재의 과학적 효능 검증을 필요로 하는데, 곰취 및 여주의 경우 친숙하게 잘 알려진 소재이지만 혈당조절 가능성이 새로이 밝혀졌기에 두 가지 조건을 모두 충족시킨다고 할 수 있음
 - 국산 식물자원의 개발에 기여가 가능하며 이를 통한 신약 및 기능성식품의 개발로 인한 유효물질의 검증을 통해 원료 약품의 수입대체 효과를 기대할 수 있음
- 5) 당뇨를 앓는 환자의 유병률이 증가하는 추세로 인하여 의료비 증가에 따른 국가 부담은 점점 높아지고 있는 실정이며, 라이프 스타일의 변화, 고령화 사회로의 진입 등의 이유들로 건강기능식품의 수요는 앞으로도 계속적으로 증가할 것이라고 전망하고 있음. 따라서 본 과제의 수행은 이러한 기대에 적절하게 부응하는 소재 개발 및 산업화가 가능하리라 판단됨
- 6) 본 과제 수행을 통해 출원/등록되는 지식재산권의 등록을 통해 판매 및 제품화를 이룰 수 있다면 국내 혈당강화 건강기능식품 산업의 성장에 기여할 수 있을 것으로 판단되며, 다소 침체기를 가지고 있는 혈당강화 건강기능식품 시장에 고기능성의 제품을 선보임으로써 건강기능식품의 가치를 높일 수 있음

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
○ X. Xia and J. Weng, Targeting metabolic syndrome: candidate natural agents, <i>Journal of diabetes</i> , 2010, 2 , 243-249		
- 당뇨 기전의 파악 및 본 연구개발에 응용하기 위해 수집		
○ Z. C. Thent, S. Das and N. H. Zaidun, Emerging Trends On Drug Delivery Strategy of Momordica Charantia against Diabetes and its Complications, <i>Current drug delivery</i> , 2017, DOI: 10.2174/1567201814666170525122224		
- 여주의 당뇨 개선 가능성 탐색		
○ B. Gilbert and L. F. Alves, Synergy in plant medicines, <i>Current medicinal chemistry</i> , 2003, 10 , 13-20.		
- 곰취의 당뇨 개선 가능성 탐색		
○ K. Hayashi, R. Kojima and M. Ito, Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice, <i>Biological & pharmaceutical bulletin</i> , 2006, 29 , 1110-1119.		
- 2형 당뇨 동물시험 디자인을 위해 수집		

7. 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의 4에 해당하지 않음 (일반과제)		

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

: 해당사항 없음

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

	코드번호	D-11
<ul style="list-style-type: none"> ○ 실험실 안전교육 이수 및 안전관리 <ul style="list-style-type: none"> - 본 연구에 참여하는 모든 과제책임자 및 연구원 대상 기관 내 안전교육 이수 완료 (신입 인력의 경우, 해당 기관에서 시행하는 안전교육 이수 예정) - 매년 연구기관별 정기 안전점검 실시 - 연구기관별 정기적인 자체 실험실 안전 점검을 통한 위험요소 제거 ○ 세포 및 동물 등의 인체 노출 위험요소 제거 <ul style="list-style-type: none"> - 사용 후 세포 및 실험동물에 노출된 모든 실험기기는 멸균 후 폐기 처리하여 2차 감염 미연 방지 - 실험 안전관리 도구(실험복, 마스크, 장갑, 보안경 등)을 적극 활용하여 실험자의 안전성 최우선 확보 - 실험동물 윤리교육 및 사용자 교육 습득 ○ 추출 등의 연구 조작 시 유해한 용매 사용 등으로 인체 노출 위해 가능성 최소화 <ul style="list-style-type: none"> - 연구실 안전 장비 확보 (유기용매침투방지용 보호장갑 등) ○ 연구실안전관리비 예산 책정 및 마련으로 안전사고에 대한 금전적 손실 방안 확보 <ul style="list-style-type: none"> - 연구실 연구인원 보험가입 실시 		

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재 지/ 특허등록 국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	Anti-obesity effect of Crinum asiaticum var. japonicum Baker extract in high-fat diet-induced and monogenic obese mice	팜투팜(주)/경희대학교산학협력단	협동/위탁	영국	2.326	2016.04.30.	단독	SCI
2	특허	곰취 추출물 및 여주 추출물을 포함하는 예방 및 치료용 조성물	경희대학교산학협력	위탁	대한민국	10-2017-00	2017.06.20.	단독	출원

		및 이의 제조방법 여주 추출물로부터 분리된 고야글리코사이드지를 유효성분으로 포함하는 항당뇨 예방 또는 치료용 조성물	단			68934			
3	특허		(주)한국 파비스 제약	주관	대한민국	10-20 17-01 76463	2017.12.20.	단독	출원
4	학술 발표	곰취 및 여주 혼합추출물의 항당뇨 효과	(주)한국 파비스 제약/ 경희대 학교산 학협력 단	주관/ 위탁	대한민국		2014.09.24.	단독	국제
5	학술 발표	Regulatory effects of diabetes-related genes of Luaularia fischeri and Momordica charantia extracts	경희대 학교산 학협력 단	위탁	대한민국		2015.09.15.	단독	국제
6	학술 발표	매엽의 항당뇨 효과	경희대 학교산 학협력 단	위탁	대한민국		2015.04.24.	단독	국내
7	학술 발표	Identification of Optimal Extracts for Anti-diabetic Effects of momordica charantia	경희대 학교산 학협력 단	협동/ 위탁	대한민국		2015.10.28.	단독	국내
8	학술 발표	HFD/STZ로 유도된 제2형 당뇨병 동물 모델에서 천연자원 혼합물의 항당뇨 효과 확인	경희대 학교산 학협력 단	주관/ 위탁	대한민국		2016.04.28.	단독	국내
9	학술 발표	제2형 당뇨병 동물 모델 db/db 마우스에서 천연자원 혼합물의 항당뇨 효과 확인	경희대 학교산 학협력 단	위탁	대한민국		2016.04.28.	단독	국내

11. 기타사항

	코드번호	D-13
○ 해당사항 없음		

12. 참고문헌

1. W. H. Organization, Global report on diabetes, WHO, Geneva, 2016.
2. C. D. Mathers and D. Loncar, Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030, PLOS Medicine, 2006, 3, e442.
3. P. Giovannini, M. J. Howes and S. E. Edwards, Medicinal plants used in the traditional management of diabetes and its sequelae in Central America: A review, Journal of ethnopharmacology, 2016, 184, 58-71.
4. S. Parekh and F. A. Anania, Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: implications for nonalcoholic fatty liver disease, Gastroenterology, 2007, 132, 2191-2207.
5. G. Boden, Obesity, insulin resistance and free fatty acids, Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity, 2011, 18, 139-143.
6. P. D. Patil, U. B. Mahajan, K. R. Patil, S. Chaudhari, C. R. Patil, Y. O. Agrawal, S. Ojha and S. N. Goyal, Past and current perspective on new therapeutic targets for Type-II diabetes, Drug design, development and therapy, 2017, 11, 1567-1583.
7. A. B. Medagama and R. Bandara, The use of complementary and alternative medicines (CAMs) in the treatment of diabetes mellitus: is continued use safe and effective?, Nutrition journal, 2014, 13, 102.
8. X. Xia and J. Weng, Targeting metabolic syndrome: candidate natural agents, Journal of diabetes, 2010, 2, 243-249.
9. B. Lecka-Czernik, Diabetes, bone and glucose-lowering agents: basic biology, Diabetologia, 2017, 60, 1163-1169.
10. F. Zaccardi, D. R. Webb, Z. Z. Htike, D. Youssef, K. Khunti and M. J. Davies, Efficacy and safety of sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors in type 2 diabetes mellitus: systematic review and network meta-analysis, Diabetes, obesity & metabolism, 2016, 18, 783-794.
11. Z. C. Thent, S. Das and N. H. Zaidun, Emerging Trends On Drug Delivery Strategy of Momordica Charantia against Diabetes and its Complications, Current drug delivery, 2017, DOI: 10.2174/1567201814666170525122224.
12. Z. G. Gong, J. Zhang and Y. J. Xu, Metabolomics Reveals that Momordica charantia Attenuates Metabolic Changes in Experimental Obesity, Phytotherapy research : PTR, 2017, 31, 296-302.
13. K. H. Lee and E. M. Choi, Analgesic and anti-inflammatory effects of Ligularia fischeri leaves in experimental animals, Journal of ethnopharmacology, 2008, 120, 103-107.
14. J. Choi, J. K. Park, K. T. Lee, K. K. Park, W. B. Kim, J. H. Lee, H. J. Jung and H. J. Park, In vivo antihepatotoxic effects of Ligularia fischeri var. spiciformis and the identification of the active component, 3,4-dicaffeoylquinic acid, Journal of medicinal food, 2005, 8, 348-352.
15. B. Gilbert and L. F. Alves, Synergy in plant medicines, Current medicinal chemistry, 2003, 10, 13-20.
16. X. H. Ma, C. J. Zheng, L. Y. Han, B. Xie, J. Jia, Z. W. Cao, Y. X. Li and Y. Z. Chen, Synergistic therapeutic actions of herbal ingredients and their mechanisms from molecular interaction and network perspectives, Drug discovery today, 2009, 14, 579-588.
17. E. M. Williamson, Synergy and other interactions in phytomedicines, Phytomedicine :

- international journal of phytotherapy and phytopharmacology, 2001, 8, 401-409.
18. P. Tontonoz, E. Hu and B. M. Spiegelman, Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor, *Cell*, 1994, 79, 1147-1156.
 19. J. D. Lim, S. R. Lee, T. Kim, S. A. Jang, S. C. Kang, H. J. Koo, E. Sohn, J. P. Bak, S. Namkoong, H. K. Kim, I. S. Song, N. Kim, E. H. Sohn and J. Han, Fucoidan from *Fucus vesiculosus* Protects against Alcohol-Induced Liver Damage by Modulating Inflammatory Mediators in Mice and HepG2 Cells, *Mar Drugs*, 2015, 13, 1051-1067.
 20. S.-A. Jang, S. Lee, E.-H. Sohn, J. Yang, D. W. Park, Y. J. Jeong, I. Kim, J. E. Kwon, H. S. Song, Y. M. Cho, X. Meng, H. J. Koo and S. C. Kang, *Cynanchum wilfordii* Radix attenuates liver fat accumulation and damage by suppressing hepatic cyclooxygenase-2 and mitogen-activated protein kinase in mice fed with a high-fat and high-fructose diet, *Nutrition Research*, 2016, 36, 914-924.
 21. X. G. Yao, X. Xu, G. H. Wang, M. Lei, L. L. Quan, Y. H. Cheng, P. Wan, J. P. Zhou, J. Chen, L. H. Hu and X. Shen, BBT improves glucose homeostasis by ameliorating beta-cell dysfunction in type 2 diabetic mice, *The Journal of endocrinology*, 2015, 224, 327-341.
 22. K. Hayashi, R. Kojima and M. Ito, Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice, *Biological & pharmaceutical bulletin*, 2006, 29, 1110-1119.
 23. S. Tahira and F. Hussain, Antidiabetic Evaluation of *Momordica charantia* L Fruit Extracts, *The West Indian medical journal*, 2014, 63, 294-299.
 24. C. P. Ooi, Z. Yassin and T. A. Hamid, *Momordica charantia* for type 2 diabetes mellitus, *Cochrane Database Syst Rev*, 2012, DOI: 10.1002/14651858.CD007845.pub3, Cd007845.
 25. L. Leung, R. Birtwhistle, J. Kotecha, S. Hannah and S. Cuthbertson, Anti-diabetic and hypoglycaemic effects of *Momordica charantia* (bitter melon): a mini review, *Br J Nutr*, 2009, 102, 1703-1708.
 26. J. H. Kim, H. J. Kim, J. K. Kim, E. K. Ahn, H. J. Ko, Y. R. Cho, S. J. Lee, G. U. Bae, Y. K. Kim, J. W. Park, J. S. Oh and D. W. Seo, *Ligularia fischeri* inhibits endothelial cell proliferation, invasion and tube formation through the inactivation of mitogenic signaling pathways and regulation of vascular endothelial cadherin distribution and matrix metalloproteinase expression, *Oncology reports*, 2015, 34, 221-226.
 27. K. H. Cha, D. G. Song, S. M. Kim and C. H. Pan, Inhibition of gastrointestinal lipolysis by green tea, coffee, and gomchui (*Ligularia fischeri*) tea polyphenols during simulated digestion, *Journal of agricultural and food chemistry*, 2012, 60, 7152-7157.
 28. P. Lindstrom, beta-cell function in obese-hyperglycemic mice [ob/ob Mice], *Advances in experimental medicine and biology*, 2010, 654, 463-477.
 29. A. Ortega, G. Berna, A. Rojas, F. Martin and B. Soria, Gene-Diet Interactions in Type 2 Diabetes: The Chicken and Egg Debate, *Int J Mol Sci*, 2017, 18.
 30. 식품의약품안전처, 건강기능식품 기능성 원료 인정 현황, 2016
 31. 한국식품안전관리인증원, 2015 건강기능식품 국내 시장 규모 동향 분석, 2016

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 개별인정형 식품소재 개발 및 사업화 (영문) Development of individual authorized specific-health-functional food for serum-glucose-control from <i>Ligularia fischeri</i> and <i>Momordica charantia</i> mixture					
주관연구기관	(주)한국파비스제약		주 관 연 구 책 임 자	(소속) (주)한국파비스제약		
참 여 기 업	팜투팜(주)		총 연 구 기 간	(성명) 김 학 형		
총연구개발비 (1,020,000천원)	계	1,020,000,000	총 참 여 연 구 원 수	2014.08.01. ~ 2017.07.31.(3년)		
	정부출연 연구개발비	750,000,000		총 인 원	57	
	기업부담금	270,000,000		내부인원	57	
	연구기관부담금	0		외부인원	0	
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <p>1. 최종목표</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 원재료의 생산체계 확립을 통한 원료 규격화 및 안정적 원재료 공급체계 구축 ▪ 곰취/여주 혼합추출물의 전임상 및 인체적용시험을 통한 안전성 및 유효성 확보 ▪ 곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강하 목적의 개별인정형 원료 신청 ▪ 혼합추출물을 이용한 혈당개선 건강기능식품 제품화 <p>2. 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 국내산 곰취 및 여주 원재료의 최적 소재 선정 및 확보 ▪ 곰취추출물의 α-glucosidase 억제 효과 및 여주추출물의 PPARγ agonist 효능 검증 ▪ 곰취 및 여주추출물의 지표성분 설정 ▪ 곰취 및 여주추출물의 최적혼합비율 설정 및 최적추출공정 확립 ▪ 곰취 및 여주추출물, 혼합추출물의 혈당강하 바이오마커 분석 및 조절효과 확인 ▪ 곰취 및 여주단독추출물을 활용한 혼합추출물의 혈당강하 신규 작용점 분석을 위한 타겟 유전자 선정 완료 ▪ 비만형 및 유전자 조작 제2형 당뇨 동물모델에서의 혈당강하 개선 효과 확인 ▪ 제형 개발 완료에 따른 인체적용시험용 시제품 제작 ▪ 인체적용시험 프로토콜 작성에 따른 시험기관 선정 완료 <p>○ 연구내용 및 결과</p> <p>1. 고기능성 혈당강하 최적소재 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ α-glucosidase 억제 및 PPARγ agonist 효능을 나타내는 복합원료 소재 확보 <p>2. 최적 복합원료 소재의 원재료 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 1차 가공을 통한 원재료 표준화 확립 ▪ 기능성 평가를 통한 국내산 곰취 및 여주의 지역별, 시기별, 성숙도별 최적 소재 확보 						

3. 복합원료의 최적 추출용매 선정 및 지표성분 설정

- 곰취 및 여주의 최적 추출용매 선정 완료 (30% 주정) 및 지표성분 설정 완료

4. 곰취 및 여주추출물의 기능성 검증 및 혈당강하 바이오마커 확인

- 세포레벨에서 기능성 검증 및 혈당강하 바이오마커 조절 확인

5. 곰취 및 여주추출물의 최적 혼합비율설정 및 기능성 검증

- 복합소재의 이중기전을 감안하여 동물모델에서의 혈당레벨 확인 및 이에 따른 혼합비율설정 - 30% 주정 곰취 및 여주추출물 = 7:3 혼합
- 혼합추출물의 in vitro 기능성 비교 검증 (각각 단독추출물과의 비교 분석)
- 혼합비율설정을 통한 최적추출공정 확립 및 대량생산

6. 혼합추출물의 신규 작용점 분석 및 검증

- PCR array를 이용한 직접적인 타겟 유전자 분석
- 선정된 유전자 (Glp1r, DPP-4)의 비교 분석을 통한 타겟 유전자의 조절 효과 검증

7. 제2형 당뇨 동물모델을 활용한 혼합추출물의 생체 내 기능성 검증

- HFD+STZ 유도 당뇨모델을 활용한 단독추출물과의 기능성 비교 검증
- 유전자 변형 동물모델을 활용한 혼합추출물의 혈당강하 기능성 검증
- 생체 내에서 선별된 타겟 유전자의 조절효과 검증 및 바이오마커 확인

8. 제형 연구에 따른 최종 제조공정 확립

- 제형 연구 2건에 따른 최종 인체적용시험용 시제품 생산
- 시제품의 분석조건 확립 및 지표성분 분석

9. 인체적용시험

- 시험기관 선정 완료: 세명대학교 한방병원
- 인체적용시험 프로토콜 작성 완료 및 시험자 모집

10. 혈당강하 기능성 원료 신청

- 자료 수집 및 보완
- 인체적용시험 완료 후 기능성 원료 신청 예정

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 농가소득 증대

- 인체적용시험 완료 후 개별인정형소재 인허가 : 소재 국내외 공급 및 공동제품개발/마케팅
- 계약재배로 인한 농가의 직접적 소득증대 (원가의 40%가 원료가격: 25억/년 농가소득)
- 연간 100억원 매출 기대 및 성장률 20%

(2020년까지 국내 당뇨환자수 전체국민의 20%예상 및 당뇨치료제에 대한 보조역할로 건강기능식품 복용률 증가추세 감안)

2. 사업방안

- SFI 글로벌 마케팅을 통하여 해외수출 연간 200억 이상 달성 목표
- 혼합추출물, 각각의 추출물 및 유효성분에 대한 SCI논문 추가 게재
- 인체적용시험 및 규격기준에 대한 SCI논문 1편 게재 예정
- 제약기업에서 연구개발 및 제조
- 콜마비엔에이치 기술이전 완료(2018년 이후 출시 예정)

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

			코드번호	D-15	
			과제번호	114020-03	
사업구분	고부가가치식품기술개발사업				
연구분야	기능성 식품 소재	과제구분		단위	
사업명	고부가가치식품기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	곰취/여주 혼합추출물로부터 혈당강화 개별인정형 식품소재 개발 및 사업화		과제유형	(기초,응용, 개발)	
연구기관	(주)한국파비스제약		연구책임자	김 학 형	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2014.08.01. ~2015.07.31.	250,000	90,000	340,000
	2차년도	2015.08.01. ~2016.07.31.	250,000	90,000	340,000
	3차년도	2016.08.01. ~2017.07.31.	250,000	90,000	340,000
	계	2014.08.01. ~2017.07.31.	750,000	270,000	1,020,000
참여기업	팜투팜(주)				
상대국	-	상대국연구기관	-		

2. 평가일 : 2017.09.14.

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)한국파비스제약	전무	김 학 형

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

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

확 약	
-----	---

I. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

현재 항당뇨 치료제나 건강기능식품의 경우 대부분 한가지 기전을 활용한 제품들이나, 처방은 다른기전의 약제를 복합처방하고 있음. 본 연구개발 소재는 당뇨 발병 기전 중 3가지 기전을 타겟으로 하는 소재로 제품화 시 기존의 제품보다 더욱 혈당강하 효능이 우수한 고기능성 원료로 제시가 가능함

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발 소재는 농산물을 이용한 소재로써, 국내 재배단지 구축 또는 농가와의 계약재배가 가능하며, 본 개발 기술을 통해 사업화가 이루어질 경우 6차산업의 활성화를 기대할 수 있음. 또한 국내 자원의 우수성 홍보로 기존 수입제품의 대체 가능성이 매우 높음

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

다기전의 고기능성 건강기능식품으로써, 안전한 국내 농산물을 사용하였다는 인식과 함께 기능성에 대한 충분한 홍보가 이루어질 경우 기존에 판매되고 있는 건강기능식품과 차별화된 전략으로 매우 큰 사업성을 나타낼 것으로 사료됨

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구과제를 위한 진행도는 복합원료 라는 부분 (각각의 원료의 지표성분 확립 및 기시법 설정 등), 인체적용시험을 위한 대상자 모집의 어려움 등으로 인해 다소 일정이 지연되었고, 이는 과제 종료 후에도 지속될 것이나 다소 미흡한 점이 있음

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

연구의 진행이 다소 지연되면서 이에 대한 연구개발성과의 진척도도 다소 미흡하나 핵심부분인 개별인정신청을 위한 SCI논문이 게재됨. 추가로 SCI논문이 현재 투고 되고 있으며, 국제2, 국내4의 학술발표가 수행됨

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
▪ 곰취 및 여주의 원료 validation	12	100	원재료 및 원료의 validation 확립
▪ 혼합추출물의 전임상 효능 확인	8	100	2중 기전의 복합소재 효능 검증
▪ 곰취 및 여주의 기시법 확립 및 최적추출공정 개발	13	100	곰취:여주=3:7에 대한 공정개발 및 기시법 확립 완료
▪ 혼합추출물의 전임상 유효성 평가 (in vivo)	12	100	2가지 동물모델에 대한 유효성 평가 완료
▪ 곰취 및 여주, 유효성분의 혈당조절 작용기전 분석	12	100	기존 바이오마커에 대한 검증 완료
▪ 혼합추출물의 혈당강하 인체적용시험	13	80	IRB 승인 및 프로토콜, 시험기관 선정 완료, 대상자 모집중
▪ 혼합추출물의 혈당조절 작용점 분석	10	100	PCR array를 통한 타겟 유전자 선정 및 분석 완료
▪ 혈당강하 목적의 개별인정형 원료 신청자료 생산	10	80	신청 자료 생산을 위한 자료 수집 및 보완, 인체적용시험 완료 후 신청
▪ 혼합추출물의 건강기능식품 제품화	10	100	인체적용시험을 위한 1차 제품화 완료 및 콜마로 기술이전 완료
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구개발 과제는 다기전을 포함하고 있는 당뇨병 질환에 대하여 기존 제품 대비 우수하면서 안전한 건강기능식품을 개발하는 것이 목적이며, 이에 대한 타겟으로 다기전을 함유하는 제품을 만들고자 3가지 기전을 포함하는 고기능성의 안전한 원료를 개발하고자 하였음. 복합원료의 특이성으로 인해 다소 일정이 지연되었으나, 과제 종료 후에도 지속적인 연구개발이 진행될 계획이고, 본 연구개발을 통한 사업화 진행 시 타 혈당강하 제품 개발 연구는 물론, 가이드라인 제시, 고기능성 제품의 차별성 등으로 과제를 통한 기여도가 매우 크다 할 수 있음

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

개별인정을 위한 SCI논문이 발표되었으며, 이에 따라 개별인정을 위한 인체적용시험 IRB승인 후 인체적용시험을 진행중이며, 이 결과를 통하여 (주)콜마비엔에치로 기술이전 완료됨에 따라, 애틀리미를 통하여 판매예정인 연간 50억의 매출이 기대됨.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

연구결과를 토대로 개별인정을 신청하여, 이미 (주)콜마비엔에치로 기술이전이 완료됨에 따라, 후속 사업화에 따른 사업성공이 확실시됨

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

2. 연구기관 자체의 검토결과

	허출원	허등록	중등록	수	술료	품화	출액	출액	용창출	자유치	증	SC I	비 SC I	문 평균 IF	술 발표	도	성	책 활용	보 전 시	연구 활용 등)
단위	2건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	1건	2건	3건		6건		명	건	건	
가중치	10				70						10				10					
최종목표	2				100															
연구기간 내 달성실적	1				100															
달성율(%)	50				100						50				100					

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	원료소재의 표준화 기술
②	전입상 유효성 평가 기술

5. 연구결과별 기술적 수준

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

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	원료표준화를 통하여 혈당조절 건강식품의 원료개발 완료
②의 기술	혈당조절에 대한 유효성 평가를 토대로 개별인정형원료로 신청하여 산업화

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용)
	특허	특허	품종	건수	기술	제품	매출	수출	고용	투자		논문 SC I	비 SC I	논문			학술	정책	

	출원	등록	등록	료	화	액	액	창출	유치		I	평균 IF	발표		활용	전시	등)
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명		
가중치		20			30		20			20				10			
최종목표		1		1	100	1	10000			1	2		2.0	1			
연구기간내 달성실적	1			1	100						1		2.0	6			
연구 종료 후 성과창출 계획		1				1	10000			1	1		2.0	6			

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	여주/곰취혼합물의 혈당강하 건강기능식품 개발		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	100,000천원
이전방식 ²⁾	<input checked="" type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간	완료	실용화예상시기 ³⁾	2018년
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	건강기능식품개발시까지 현재의 노하우 제공 및 협력		

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

