인 체 적 용 시 험 결 과 보 고 서

마늘발효액의 혈압에 대한 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 8 주, 무작위배정, 이중눈가림, 플라세보-대조 인체적용시험

인체적용시험용제품	마늘발효액, 플라세보
의뢰자	㈜에이치티오라이프 대표 천 현 수
계획서번호	HL-BP-FG
인체적용시험 시작일	2015. 2. 12
인체적용시험 종료일	2015. 7. 16
인체적용시험 책임자	전북대학교 의학전문대학원 약리학교실 교수 채 수 완
결과보고서 제출일	2015. 8.

CONFIDENTIAL

본 인체적용시험은 Good Clinical Practice(GCP)를 준수하여 수행되었습니다.

이 결과보고서는 기밀사항이며, 의뢰자의 승인 없이 다시 작성되거나 공개될 수 없습니다.

요 약 (Synopsis)

인체적용시험제목: 마늘발효액의 혈압에 대한 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 8주, 무작위배정, 이중눈가림, 플라세보-대조 인체적용시험

목적

높은 혈압 소견을 보이는 자를 대상으로 마늘발효액을 1일 3회 섭취하였을 때 나타나는 다음 평가항목의 변화를 플라세보 섭취와 비교하여 살펴보고자 한다.

1) 1차 목적

수축기혈압, 이완기혈압으로 평가되는 마늘발효액의 혈압에 대한 유효성을 플라세보 섭취와 비교 평가하고자 한다.

2) 2차 목적

맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 맥파, Renin activity, Aldosterone, hs-CRP 등으로 평가되는 마늘발효액의 혈압에 대한 유효성 및 안전성을 플라세보 섭취와 비교 평가하고자 한다.

시험책임자: 전북대학교 의학전문대학원 약리학교실 교수 채 수 완 M.D., Ph.D.

공동연구자: 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터 연구교수 최 은 경 M.D.

시험담당자: 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터

소병옥, 정수진, 오미라, 박수현, 박은옥, 정은수, 오상아, 김순영, 김예리, 윤주랑, 박미현, 이소영, 서현영, 김현숙, 노순옥, 최재순, 최영미, 김두겸, 박선이, 정혜연, 최민준

의뢰자: ㈜에이치티오라이프 대표 천 현 수

전북 완주군 고산면 읍내 7길 56

선정 및 제외기준

1) 선정기준

(1) 스크리닝 검사 당시 연령이 만 19 세 이상 75 세 이하인 성인 남녀

(2) 최근 3 개월 이내에 고혈압으로 치료받은 기왕력이 없는 수축기 혈압이 120~149 mmHg 또는 이완기혈압이 80~94 mmHg 인 자

(3) 본 연구에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자

2) 제외기준

(1) 수축기혈압 160 mmHg 또는 이완기혈압 100 mmHg 이상인 자

(2) 지난 6 개월 이내에 뇌졸중, 심근경색, 경피를 통한 관동맥혈관성형술 (PTCA) 을 받았거나 관상동맥부행로 수술 (CABG) 을 받은 자

(3) 심부전, 심근경색, 뇌졸중 등의 급성 중증 심혈관계 질환을 가진 자

(4) 진단검사의학 검사 결과를 비롯한 기타 사유로 인하여 시험책임자가 연구 참여에 부적합하다고 판단한 자

(5) 암, 류마티스성 질환, 자가면역질환, 위장관계 질환 등의 급/만성 염증이 있는 자

(6) 인체적용시험용제품의 흡수에 영향을 줄 수 있는 위장관계 질환(예: 크론병)이나 위장관계 수술(단, 단순맹장수술이나 탈장수술은 제외)의 과거력이 있는 자

(7) 최근 3 개월 이내에 고혈압약을 복용한 자

(8) 약물 및 건강기능식품에 임상적으로 유의한 과민반응의 병력이 있는 자

(9) 스크리닝 검사 전 2 개월 이내에 항정신병 약물치료를 받은 경험이 있는 자

(10) 약물 또는 알코올 남용 병력이 있는 자

(11) 스크리닝 검사 전 2 개월 이내에 타 인체적용시험에 참여한 자

(12) 진단검사의학검사에서 다음에 해당하는 결과를 보이는 자

☞ AST, ALT > 정상범위 상한치의 2 배

☞ Serum Creatinine > 2.0 mg/dl

☞ Creatine Kinase (CK) < 참고범위 상한치의 2 배

(13) 임신 혹은 수유 중인 여성

(14) 임신 가능성이 있는 가임 여성 중 적절한 피임법의 시행을 수용하지 않은 경우(단, 불임수술을 받은 여성은 제외)

(15) 진단검사의학 검사 결과를 비롯한 기타 사유로 인하여 시험책임자가 연구 참여에 부적합하다고 판단한 자

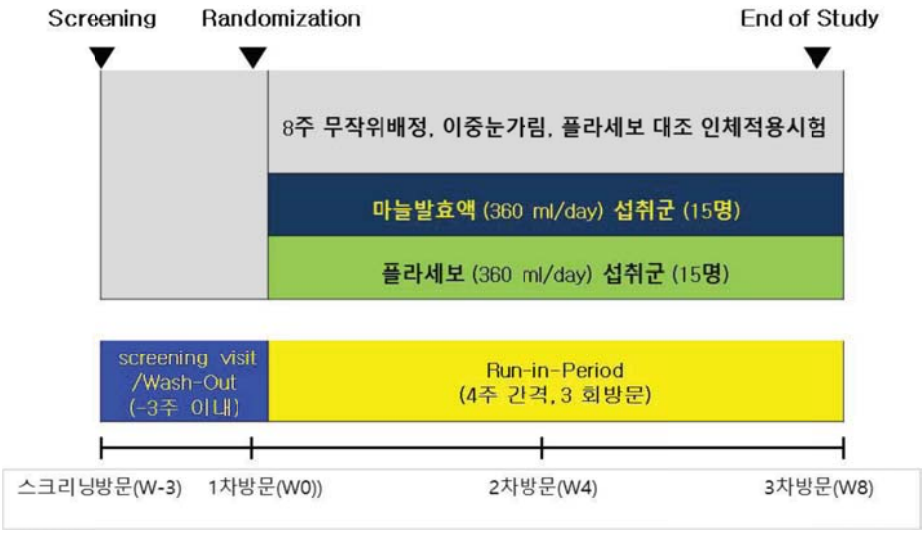
연구대상자 수: 총 30명(각 군당 15명)

시험방법:

8주, 무작위배정, 이중눈가림, 플라세보 대조 인체적용시험

시험자는 서면동의서를 작성한 자원자에 한하여 스크리닝 검사를 시행하여 본 인체적용시험에 연구대상자로서 적합하다고 판단되는 자를 선정하였다. 연구대상자는 스크리닝 방문으로부터 3주 이내에 1차방문하여 연구대상자 선정/제외기준 적합성을 재평가 받은 후 인체적용시험에 등록되었으며, 마늘발효액 섭취군과 플라세보

섭취군에 1:1 무작위배정되어 1차 방문일까지 기초평가(baseline)를 완료하였다. 이후 시험용제품을 하루 3번씩 매일 섭취하면서 4주마다 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터에 방문하여 활력징후, 약물투여력 및 의학적 상태변화, 이상반응 및 인체적용시험계획서에 명시한 검사 등을 수행하며 8주 동안 인체적용시험에 참여하였다.



평가기준 및 방법

1) 유효성 평가

(1) 1차 유효성 평가

- 수축기혈압(SBP; Systolic Blood Pressure)
- 이완기혈압(DBP; Diastolic Blood Pressure)

(2) 2차 유효성 평가

- 맥박수(PR; Pulse Rate)
- 평균동맥압(MAP; Mean Arterial Pressure)
- 평균맥압(PP; Pulse Pressure)
- 맥파(Pulse Wave)

- 혈중 레닌활성도(Renin activity)
- 혈중 알도스테론 (Aldosterone)
- 고감도 C-반응단백(hs-CRP)

2) 안전성 평가

- 자 · 타각 증상 등 이상반응 모니터링
- 진단검사의학 검사
- 활력징후, 신체검진, 심전도

3) 통계분석

- 분석에 사용할 프로그램은 Windows 용 SAS 9.3 를 이용하고, 통계학적 유의수준인 p 값을 0.05 미만으로 설정하였다.
- 집단 간 동질성 검정과 기저치 동질성 검정은 chi-square test 또는 Fisher's exact test 와 Mann-Whitney U test 를 이용하였다.
- 유효성 및 안전성 평가항목의 검사 결과는 섭취군 내, 섭취군 간 비교 시 Mann-Whitney U test, linear mixed model 등을 이용하여 검정하였다.

결론

본 연구는 마늘발효액 섭취에 의한 혈압 개선 효과와 안전성을 평가하기 위한 8주간, 무작위배정, 이중눈가림, 플라세보-대조 인체적용시험이다.

본 인체적용시험의 등록 목표 연구대상자 수는 30명으로, 서면동의서를 작성한 34명의 자원자 중 연구대상자 적합성 평가(스크리닝 검사)를 통해 선정된 30명의 연구대상자가 무작위배정, 이중눈가림 방법을 통해 본 인체적용시험에 참여(마늘발효액군 15명, 플라세보군 15명)하였다.

시험자는 모든 연구대상자를 대상으로 시험계획서에 정해진 바에 따라 혈압, 맥박수, 평균동맥압, 맥압, 맥파, 혈중 레닌 활성도(Renin activity), 혈중 알도스테론(Aldosterone), 고감도 C-반응단백(hs-CRP) 등의 유효성 평가와 이상반응 조사, 활력징후, 심전도 및 진단검사의학 검사 등의 안전성 평가를 수행하였다. 유효성 평가를 위한 주 분석군은 계획서순응연구대상자군(Per protocol Set 또는 PP분석군)으로써 플라세보군 중 2명이 동의철회로 중도탈락함에 따라, 인체적용시험 계획서에 명시된 모든 절차를 수행 완료한 총 28명(마늘발효액군 15명, 플라세보군 13명)의 연구대상자를 대상으로 유효성 평가 분석을 시행하였다. 안전성 평가를 위한 주 분석군은 인체적용시험에 참여하여 최소 1회 이상 시험용제품을 섭취한 연구대상자군(safety 군) 이었다.

본 시험에 참여한 연구대상자는 평균연령 49.30±9.85세, 평균 수축기혈압 133.36±8.42 mmHg, 이완기혈압 84.46±8.39 mmHg 로서 정상 혈압 범위(정상 수축기 혈압 120 mmHg 이하, 정상 이완기 혈압 80 mmHg 이하)보다 높은 혈압 소견을 가진 성인 남녀였다.

유효성 평가를 위해 시험용제품 단회 섭취(120 ml) 시와 장기간(360 ml/day, 8주) 섭취 시의 혈압 및 맥박수 변화를 분석한 결과, 0주차와 8주차에 시행한 시험용제품 단회 섭취에서 마늘발효액군의 수축기혈압과 이완기혈압이 시험용제품 섭취 10분, 30

분 및 60분 후 플라세보군에 비해 유의하게 감소하였다. 마늘발효액군의 맥박수는 제품 섭취 10분, 30분, 60분 후에 유의하게 증가하였다. 시험용제품 8주 섭취에 의한 혈압, 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 혈중 renin activity, aldosterone, hs-CRP 변화 비교에서는 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

안전성 평가를 위해 연구대상자 30명(safety군)을 대상으로 이상반응, 진단검사의학 검사(혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사), 활력징후(체온) 등의 측정치를 분석하였다. 이상반응 분석 결과, 총 30명의 연구대상자 중 9명의 연구대상자에서 15건의 이상반응과 교통사고로 인한 중대한 이상반응 2건이 발생하였다. 이상반응 중 두통과 소화불량 증상은 증상이 경하고 일시적이었으나 시험제품 섭취와 인과관계 가능성이 있었다. 진단검사의학 검사, 활력징후 검사에서는 임상적으로 의미 있는 변화가 없었다.

모든 연구대상자를 대상으로 식이섭취와 신체활동도 조사를 하였으며, 마늘발효액군과 플라세보군의 열량, 거대영양소 및 식이섬유 섭취량, 신체활동량(MET value) 및 활동소비열량에 있어서 섭취군 내 및 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없어서 (p>.05) 연구대상자들이 인체적용시험에 참여하는 동안 일상생활을 일정하게 유지하였음을 알 수 있었고, 식이섭취와 신체활동도가 본 시험 결과에 미치는 영향이 거의 없을 것으로 판단하였다.

요약하면, 본 탐색적 인체적용시험을 통해 높은 혈압 소견이 있는 성인에서 마늘발효액 섭취 직후 혈압이 의미 있게 감소함을 확인하여 마늘발효액 섭취가 높은 혈압 개선 기능이 있음을 알 수 있었고 대규모 확증적 인체적용시험을 수행하기 위한 과학적 토대를 마련하였다. 마늘발효액 섭취에 의한 맥박수 증가(반사성 빈맥)와 경한 두통 등의 이상반응이 관찰됨에 따라 향후 마늘발효액의 혈압 강하 기전 등을 밝히는 연구와 유효성과 안전성을 확증하는 대규모 인체적용시험이 필요하다고 판단하였다.

목 차

요 약 (SYNOPSIS) I

목 차 1

1. 약어 및 용어의 정의 4

2. 윤리적 고려 6

3. 시험자 및 기타시험참여자 6

4. 서론 7

5. 인체적용시험의 목적 9

6. 인체적용시험계획 9

6.1. 인체적용시험 방법 9

6.2. 섭취량, 섭취방법 및 섭취기간 10

6.3. 섭취용량 설정 근거 11

6.4. 검사방법 및 대조제품의 선정 12

6.4.1. 검사방법 12

6.4.2. 대조제품 선정의 근거 18

6.5. 연구대상자의 선정기준, 제외기준, 목표한 연구대상자의 수 및 그 근거 18

6.5.1. 선정기준 18

6.5.2. 제외기준 18

6.5.3. 목표한 연구대상자 수 20

6.5.4. 연구대상자 수 산정 근거 20

6.6. 인체적용시험 진행 일정 및 인체적용시험용 제품 20

6.6.1. 방문 별 인체적용시험 진행 일정 20

6.6.2. 과거병력 및 병용 투여 23

6.6.3. 인체적용시험용 제품 등의 코드명(또는 주성분의 일반명), 원료제품 및 그 분량, 제형 24

6.6.4. 인체적용시험에 사용하는 제품의 포장 25
6.6.5. 인체적용시험에 사용하는 제품의 라벨링 25
6.6.6. 인체적용시험에 사용하는 제품의 관리 26
6.7. 자료의 질 보증 26
6.8. 효과 평가기준, 평가방법 및 해석방법(통계 분석 방법) 27
6.8.1. 유효성 평가 27
6.8.2. 안전성 평가 27
6.9. 인체적용시험 수행 및 분석방법의 변경 28
7. 연구대상자 **28**
7.1. 연구대상자의 인체적용시험 참여 실태 28
7.2. 순응도 평가 30
8. 연구대상자 인구학적 정보 **31**
9. 유효성 평가 **32**
9.1. 효과 평가기준, 평가방법 및 해석방법(통계분석방법) 32
9.2. 유효성 평가항목 기저치 32
9.3. 1차 유효성 평가항목 33
9.3.1. 시험용제품 단회 섭취에 의한 혈압 변화 33
9.3.2. 시험용제품 장기섭취(8주)에 의한 혈압 변화 36
9.4. 2차 유효성 평가항목 37
9.4.1. 시험용제품 단회섭취에 의한 맥박수 변화 37
9.4.2. 시험용제품 장기섭취(8주)에 의한 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 맥파 변화 39
9.4.3. 시험용제품 장기섭취(8주)에 의한 renin activity, aldosterone, hs-CRP 변화 40
10. 안전성 평가 **41**
10.1. 자 · 타각 증상 등 이상반응 42
10.2. 진단검사의학 검사 44
10.3. 체온 변화 46
10.4. 신체계측지표 변화 47

11. 결론 48

12. 참고문헌 50

1. 약어 및 용어의 정의

AE	Adverse Event
ALP	Alkaline Phosphatase
ALT	L-Alanine Aminotransferase
AST	L-Aspartate Aminotransferase
BPM	Beat Per Minutes
BUN	Blood Urea Nitrogen
CBC	Complete Blood Count
CK	Creatine Kinase
DBP	Diastolic Blood Pressure
ECG	Electrocardiogram
GCP	Good Clinical Practice
GGT	Gamma glutamyl transferase
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematocrit
HDL-C	High Density Lipoprotein-Cholesterol
hs-CRP	High Sensitivity C-Reactive Protein
ICD	Informed Consent Document
ICH	International Conference on Harmonization
IRB	Institutional Review Board
ITT	Intention To Treat
LD	Lactate Dehydrogenase
LDL-C	Low Density Lipoprotein-Cholesterol
MAP	Mean Arterial Pressure
PLT	Platelet
PP	Per Protocol

PP	Pulse Pressure
RBC	Red Blood Cell
SBP	Systolic Blood Pressure
SG	Specific Gravity
TB	Total Bilirubin
TC	Total Cholesterol
TG	Triglyceride
TP	Total Protein
WBC	White Blood Cell

2. 윤리적 고려

(1) 인체적용시험실시기관에서의 인체적용시험계획서 심의

인체적용시험계획서는 연구대상자의 안전을 충분히 고려하여 작성되었으며, 전북대학교병원의 기능성식품인체시험윤리위원회(IRB)가 심의하여 인체적용시험 수행을 결정하였다.
전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터 기능성식품인체시험윤리위원회
(최종 승인 일자: 2015. 1. 12)

(2) 연구대상자동의

연구대상자에게 인체적용시험의 목적과 내용 및 기능성식품의 효과, 이상반응에 대하여 사전에 충분히 설명한 후, 연구대상자의 자발적 서면 동의를 받아 시험을 진행하였다.

3. 시험자 및 기타시험참여자

(1) 시험책임자

전북대학교 의학전문대학원 약리학교실 교수 채 수 완 M.D., Ph.D.

(2) 공동시험책임자

전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터 연구교수 최 은 경 M.D.

(3) 시험담당자

전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터
소병옥, 정수진, 오미라, 박수현, 박은옥, 정은수, 오상아, 김순영, 김예리, 윤주랑, 박미현, 이소영, 서현영, 김현숙, 노순옥, 최재순, 최영미, 김두겸, 박선이, 정혜연, 최민준

(4) 관리영양사

전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터
오미라, 박수현, 박은옥, 정은수, 오상아 영양사

(5) 의뢰자

㈜에이치티오라이프 대표 천 현 수
전북 완주군 고산면 읍내 7길 56

(6) 모니터링

㈜헬스케어크레임스엔드멘내지멘트
전라북도 전주시 덕진구 원장동길 111-18 전라북도 생물산업진흥원 본관 104호

4. 서론

고혈압은 전 세계적인 주요 건강문제이며, 심장 관상동맥질환의 주요 위험인자이다[1]. 최근 우리나라에서도 고혈압의 발병률이 증가하고 있으며 국민건강영양조사(제 5 기, 2010)에 따르면, 만 30 세 이상 성인의 고혈압 유병률은 2007 년 24.6% 에서 2010 년 28.9% 로 증가하였고, 연령이 높을수록 증가율이 더 높은 것으로 나타났다[2].

현재까지 고혈압의 병인은 정확하게 모르지만 여러 가지 복합적인 요인들, 즉 교감신경계의 활성화, renin-angiotensin-aldosterone 시스템의 활성화, G-protein-coupled receptor signaling 의 변화, 그리고 감염 등과 관련이 있음이 보고되었다[3]. 특히 원인불명으로 알려져 있는 본태성 고혈압이 전체 고혈압의 80% 에 해당하고 고혈압 치료에는 꾸준한 약물치료가 요구되기 때문에 의료비 부담뿐만 아니라 약물부작용을 줄이고자 항고혈압 효과가 있는 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

고혈압 환자의 치료는 식이요법 및 운동 등의 비약물 요법이 우선적으로 권장되며 환자의 상태에 따라 혈압강하제를 사용하게 된다. 현재 사용되고 있는 혈압강하제로는 이뇨제, β-차단제, 교감신경 억제제, 혈관 확장제, 칼슘길항제 및 ACE (angiotensin-converting enzyme) 저해제가 주로 사용되고 있다[4]. 그러나 이들

약물들은 대부분 혈액점도를 높이거나 전해질의 불균형 유발, 당뇨병 유발, 심부전증 악화, 기력감퇴, 신장기능 장애 등의 부작용을 야기하는 경우가 많다[5]. 또한 고혈압을 근본적으로 치료하기는 불가능하기 때문에 이러한 약제를 평생 복용해야 하는 문제점이 있다[6]. 따라서 혈압 강하 효과를 가지는 식품소재를 찾고 이를 식품형태로 개발하여 고혈압 환자에게 적용하려는 노력이 계속 이루어지고 있다[7-9].

마늘(Allium sativum L.)은 백합과에 속하는 인경 채소로 원산지는 중앙아시아와 지중해 연안 지방이다. 마늘이 전세계로 보급된 것은 고대 문명의 확장과 더불어 아라비아 아프가니스탄을 거쳐 인도 중국으로 전해져 동양 전역에 넓혀졌고, 지중해 연안에서 그리스에 전해져 유럽까지 전파되었다. 마늘은 고대로부터 한국인에게 필수적인 조미료로서 강장, 강정식품으로 우리 선조들이 널리 이용해 왔으며[10], 특유의 맛과 향기 성분이 있고, 각종 생리적 활성을 지니고 있어 최근 조미료, 육가공품 소스, 통조림, 라면 스프 등의 많은 가공식품의 향신료 및 약용으로서 그 수요가 점차 증가 추세에 있다[11].

마늘의 독특한 맛과 향은 allicin 에 의한 것으로 알려져 있는데, 마늘의 allylsulfide 가 효소에 의해 allicin 으로 변하고, 열을 가하면 효소 활성도가 떨어져 allicin 이 감소되어 마늘 특유의 독특한 맛과 향을 감퇴시키고 단맛을 높인다. 이것은 열에 의해 효소활성도가 떨어져 allicin 이 줄어들고 항산화 물질의 활성도와 폴리페놀, 플라보노이드와 당도가 증가하기 때문이다[12].

마늘은 여러 가지 생리작용을 나타내며, 마늘에 대한 연구로는 항균작용[13, 14], 항암 및 세포의 항돌연변이 효과[15,16], 항산화작용[17,18], 항고혈압작용[19-33] 등이 밝혀져 있다. 특히 동물 및 인체적용시험 등을 통해 마늘의 고혈압 개선 효과에 대한 다양한 연구가 이루어졌다.

본 원료인 마늘발효액으로 수행한 동물시험에서, 고지방 사료 투여에 의해 대조군에서 혈압이 유의적으로 증가하였으나, 마늘발효액 투여에 의해 유의적으로 감소되었다(별첨 1).

고혈압 개선에 효과가 있는 마늘을 GRAS 균주인 *Bacillus subtilis* 로 발효시켜 만들어진 발효물은 마늘 특유의 냄새나 자극을 감소시키고, 인체에 마늘 함유 성분이 갖는 고유의 효능을 발휘하는데 더욱 효과적인 것으로 사료된다.

따라서 본 연구에서는 인체를 대상으로 혈압 개선에 대한 마늘발효액의 유효성 및 안전성을 평가하기 위한 인체적용시험을 수행하여 비만 예방 및 국민건강 확보에 기여하고자 하였다.

5. 인체적용시험의 목적

높은 혈압 소견을 보이는 자를 대상으로 마늘발효액을 1일 3회 섭취하였을 때 나타나는 다음 평가항목의 변화를 플라세보 섭취와 비교하여 살펴보고자 한다.

- 수축기혈압, 이완기혈압으로 평가되는 마늘발효액의 혈압에 대한 유효성을 플라세보 섭취와 비교 평가하고자 한다.
- 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 맥파, 혈중 레닌 활성도(Renin activity), 혈중 알도스테론(Aldosterone), 고감도 C-반응단백(hs-CRP) 등으로 평가되는 마늘발효액의 혈압에 대한 유효성 및 안전성을 플라세보 섭취와 비교 평가하고자 한다.

6. 인체적용시험계획

6.1. 인체적용시험 방법

시험자는 자원자에 한하여 1 차방문 예정일로부터 3 주 이내에 서면동의서 작성, 문진, 신체검진, 진단검사의학 검사 등 스크리닝 검사를 시행하여 본 연구대상자로 적합하다고 판단되는 자를 선정하였다.

[1차방문]

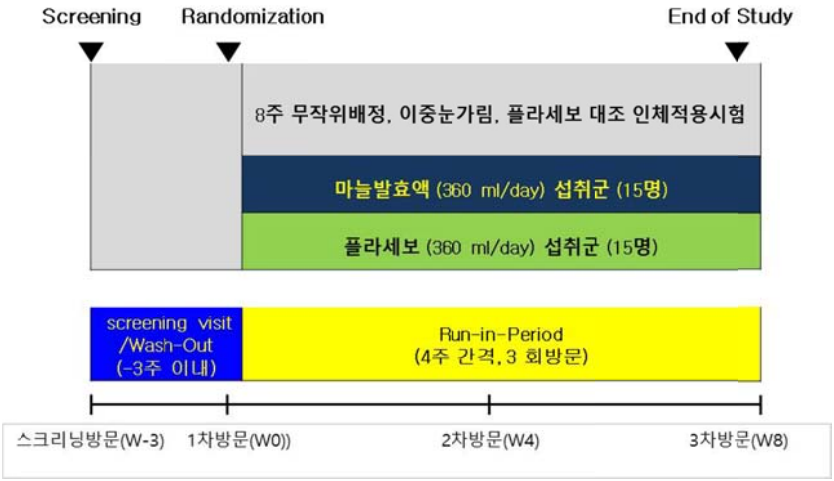
연구대상자는 1 차 방문에 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터에 방문하여 정해진 검사를 시행하였으며, 연구자는 연구대상자를 최종 선정한 후 마늘발효액 섭취군과 플라세보 섭취군에 1:1 무작위배정 하였다. 연구대상자는 4 주 분량의 인체적용시험용제품을 제공받고 이후 4 주간 인체적용시험용제품을 섭취하며 일상생활을 하였다.

[2차방문]

연구대상자는 2차방문 예정일에 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터에 방문하여 지난 4주간 섭취하고 남은 인체적용시험용제품을 반납하고, 정해진 검사를 실시하였다. 연구대상자는 다시 4주 분량의 인체적용시험용제품을 제공받고 이후 4주간 인체적용시험용제품을 섭취하며 일상생활을 하였다.

[3차방문]

연구대상자는 3 차방문 예정일에 혈압 측정 등의 정해진 검사를 수행하였으며, 지난 4 주간 섭취하고 남은 인체적용시험용제품을 반납하였고, 총 8 주간의 인체적용시험 참여를 종료하였다.



6.2. 섭취량, 섭취방법 및 섭취기간

(1) 1일 섭취량 및 섭취방법

- 마늘발효액군: 1일 3회, 1회 1팩, 아침, 점심 및 저녁 식후 경구섭취(360 ml/일)
- 플라세보군: 1일 3회, 1회 1팩, 아침, 점심 및 저녁 식후 경구섭취(360 ml/일)

(2) 섭취기간

- 마늘발효액 또는 플라세보 제품을 8주간 경구섭취

6.3. 섭취용량 설정 근거

마늘은 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등 극동(極東)에서 많이 재배되고 있으며, 세계에서 가장 널리 쓰는 향신료의 하나이다. 또한 마늘 제품이 국내외에서 액상, 추출물, 환 등 다양한 형태로 유통 · 판매 및 섭취되고 있는 원료로 이에 관한 부작용은 보고되지 않아 특징적인 이상반응이 발생하지 않을 것으로 예측되며 안전하다고 생각된다. 현재 판매되고 있는 마늘발효액 제품의 일일 섭취량은 360 ml 이다.

또한 건강기능식품 고시형원료인 마늘분말의 섭취량이 0.6~1.0 g (혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음)이며, 지표성분인 Alliin 으로서 섭취량은 6~10 mg/g/일이다[31]. 본 원료인 마늘발효액의 섭취량은 360 ml/일 (분말로서 324 mg/일, 수율 0.09%)이며, 지표성분인 alliin 함량은 0.022 mg/일로서, 고시형의 450 배가 적은 용량이라 안전하다고 판단된다.

대한약전 및 대한약전외 한약규격주해에서 생마늘(대산)으로서 일일 섭취량은 9~15 g 이며[32], Natural Medicines Comprehensive Database 에서 Garlic 은 약용 및 식용으로 사용되어 왔으며, 고혈압 개선에 대해 마늘분말을 600~2400 mg/일 섭취 하였다고 기록되었다[24, 26, 29, 30, 33].

또한 마늘발효물 1 g/kg, 5 g/kg 을 경구 투여한 마우스 실험 결과 독성과 안전성에 문제가 없음을 확인하였다(인체환산 시 5~25 g/일). SD rat 을 이용한 단회투여독성시험 결과 반수치사량(LD_{50})은 5,000 mg/kg 이상으로 사료된다(인체환산 시 50g/일, 별첨 2).

마늘발효액을 이용한 동물실험에서, C57BL/6J mice 에 마늘발효액 분말 200 mg/kg 을 투여한 결과 혈압 개선 효과를 입증할 수 있었다(인체환산 시 마늘발효액 분말로서 1 g/일, 별첨 1).

따라서 선행연구 결과 및 섭취경험 등을 토대로, 본 연구에서는 일일 섭취량을 마늘발효액로서 360 ml/일 (분말로서 324 mg/일)로 설정하였다.

6.4. 검사방법 및 대조제품의 선정

6.4.1. 검사방법

(1) 연구대상자 동의서(Informed Consent Document, ICD)

연구자는 인체적용시험 전반에 걸쳐 연구대상자가 가질 수 있는 질문에 대해 답변하고 연구대상자의 인체적용시험 참여 지속 의사에 중요할 수 있는 새로운 정보가 입수되는 대로 적절한 시한 내에 이를 공유하는 것을 포함하여 연구대상자가 인체적용시험 참여로 인한 위험 및 이익을 이해하도록 확인하는 책임이 있다. ICD 가 새로운 정보에 따라 갱신되는 경우 연구자는 갱신된 ICD 를 사용하여 연구대상자의 인체적용시험 참여 지속 의사를 다시 한번 확인하였다. ICD 는 연구대상자가 인체적용시험에 참여하기 이전에 인체적용시험 참여에 따르는 위험 및 이익을 연구대상자에게 설명하기 위해 사용되었으며, 연구대상자가 인체적용시험 참여에 따르는 위험 및 이익에 대해 만족할 만큼 이해하고 인체적용시험에 참여하고자 하는지 문서화하기 위해 사용되었다.
연구자는 각 연구대상자가 제출한 연구대상자 동의서를 확인하였으며 여기에는 모든 인체적용시험계획서 상의 절차 수행 및 시험제품의 섭취 이전에 적절한 서명 및 날짜가 기재되어야 하는 점이 포함되었다.

(2) 스크리닝 번호 및 연구대상자 번호 부여

인체적용시험에 참여하고자 서면 동의한 자원자에게 스크리닝 번호를 부여하였다. 스크리닝 번호는 S001 로 시작하고, 뒤 숫자 세 자리로 구성되었으며, 동의서를 받은 순서대로 부여하였다.
연구대상자 번호는 스크리닝 검사를 시행하여 본 인체적용시험의 연구대상자로서 적합하다고 판단되는 자를 선정하고, 1 차 방문 시 최종 통과되면 통과된 순서대로 무작위 배정하여 부여하였다. 연구대상자 번호는 FG-R 로 시작하는 전체 세 자리, 숫자 두 자리로 일정한 규칙을 갖는다. 연구대상자 번호 숫자부분의 의미는 다음과 같다. 첫 번째와 두 번째 숫자는 참여한 연구대상자의 순서를 나타내며 01~30 까지 나타냈다. 각 연구대상자에게 부여된 연구대상자 번호는 인체적용시험이 끝날 때까지 연구대상자를 인식하는 연구대상자 식별코드(subject identification code)로

사용되었다.

(3) 인구학적 정보, 흡연력, 음주력 조사

연구대상자의 신분증을 통하여 성명, 성별, 생년월일, 연령 등 인구학적 정보를 확인하였다. 연령은 만 나이로 기록하였다. 연구대상자에게 음주, 흡연력을 조사하였다.

(4) 병력 및 약물 투여력 조사

연구대상자가 동의서에 서명한 시점에서 3 년 이내에 가지고 있는 과거 병력을 확인하고, 증례기록서의 해당 페이지에 기록하였다. 인체적용시험 기간 동안 질환이 처음으로 발생하거나 병발질환이 시험기간 동안 악화된 경우에는 이상반응으로 간주하고 기록하였다. 또한 모든 병용약물의 제품명 및 성분명, 용량, 용법, 투여기간 등을 상세히 기록하였다.

(5) 활력징후, 평균동맥압, 평균맥압

- 혈압계
  혈압기는 Philips 사의 IntelliVue MP50® 을 이용하여 가능한 동일한 시험자가 측정하였다. 또한 적절한 크기의 표준화된 커프(cuff)를 사용하였다.

- 혈압 측정 팔의 선택
  연구대상자의 혈압 측정 팔의 선택은 기능적, 해부학적 이상이 없는 팔로, 스크리닝 방문 시 양쪽 팔의 혈압을 각각 2회 측정하여 그 중 평균 sitDBP 의 최고치를 기록한 팔을 본 인체적용시험의 평가 및 이후 평가 시마다 이용하여 측정하였다. 그리고 향후 같은 팔에서 측정이 불가능한 경우, 해당 사유를 기록하고, 가능한 팔에서 측정하였다.

- 혈압 측정 방법
  혈압 측정 시 연구대상자를 최소 5 분 이상 편안히 앉아 안정을 취하게 한 뒤에 약 2 분 간격을 두고 혈압을 2 회 측정하였다. 단위는 mmHg 이고 정수로 표기하였다. 각 측정 사이에는 커프(Cuff)를 완전하게 풀어주며 2 회 측정 결과를 기록하고 측정 차이가 5 mmHg 이상 나는 경우 2 분 뒤 추가 측

정하여 좌위 확장기 혈압 평균 및 수축기 혈압 평균을 구했다. 활력징후 측정 시기가 채혈시기와 일치할 경우, 가급적 활력징후를 먼저 측정한 후 채혈을 하였다. 불가피하게 활력징후를 채혈 후 실시할 경우, 가급적 5 분 이상의 간격을 두고 활력징후를 측정하였다.

- 체온

  체온계는 BRAUN ThermoScan IRT 4020 를 이용하여 가능한 동일한 시험자가 측정하였다. 체온 측정 시 연구대상자를 최소 5 분 이상 편안히 앉아 안정을 취하게 한 뒤에 양쪽 귀의 체온을 각각 측정하였다.

- 평균동맥압 = (SBP + 2 DBP) / 3

- 평균맥압 = SBP − DBP

(6) 혈압변화 패턴

1 차와 3 차 방문 시에 실시하였으며, 시험방문일 당일 전북대학교병원 기능성식품임상시험지원센터를 방문하여 혈압변화패턴 평가를 위한 혈압측정을 실시하였다. 인체적용시험용제품 섭취 전(0 min) 혈압을 측정한 뒤, 인체적용시험용제품을 섭취하였다. 인체적용시험용제품 섭취 후 10 min, 30 min, 60 min 에 혈압을 측정하였다.

(7) 맥파

맥파는 맥파 측정 장치(uBioClip)를 이용하여 측정하였으며, 3 회 측정하여 측정치의 평균을 표기하였다. 측정을 시작하기 전 5 분간 안정을 취하였다. 프로브 내의 손가락(왼손 검지)을 고무패드와 수평으로 하여 빛 반사를 고르게 하여 측정하였다. 연구대상자들이 측정 전 음주/흡연은 삼가 하고 검사 중 말하거나 하품, 심호흡 등 자율신경에 이상을 주는 행동은 자제하도록 교육하였다.

(8) 신체계측

신장과 체중은 시험 기간 중 동일한 기계를 사용하였다. 신장은 단위를 cm 로 하였으며, 스크리닝 방문 시의 측정값으로 연구종료 시까지 기재하고, 소수점 첫째 자리에서 반올림하여 정수로 표기하였다. 체중은 단위를 kg 으로 하며, 소수점 첫째 자리까지 표기하였다.

체질량지수 (body mass index, kg/m^2)는 체중(단위: kg)을 신장(단위: m)의 제곱으로 나눈 값이며, 소수점 둘째 자리에서 반올림하여 소수점 첫째 자리까지 표기하였다.

(9) 진단검사의학검사

진단검사의학검사는 12 시간 이상 공복상태에서 채혈하여 측정하였으며, 채취된 샘플은 분석 후 폐기하였다. 검사항목은 다음과 같다.

- 혈액학적 검사: WBC, RBC, Hb, Hct, platelet count
- 혈액생화학적 검사: total bilirubin, ALP, gamma-GT, ALT, AST, total cholesterol, triglyceride, LDL-C, HDL-C, glucose, total protein, albumin, BUN, creatinine, creatine kinase (CK), LD (LDH)
- 뇨 검사: Specific gravity, pH, WBC, nitrite, protein, glucose, ketone, urobilinogen, bilirubin, blood

✓ LDL-C 은 계산공식에 의하여 산출하였으며(중성지방이 400 mg/dl 를 초과하지 않는 경우 Friedwald 계산 공식에 의해 산출함), 소수점 첫째 자리에서 반올림하여 정수로 표기하였다.

✓ 스크리닝 전 최근 1개월 이내의 심전도 및 진단검사의학검사 결과는 스크리닝 검사 결과로 대체하였다. 추가로 필요한 진단검사의학 검사항목은 해당 인체적용시험 스크리닝 방문일에 검사하였다.

(10) Renin activity, Aldosterone, hs-CRP

Renin activity, Aldosterone, hs-CRP 검사를 위해 12 시간 이상 공복을 유지한 상태에서 채혈하여 측정하는 것을 원칙으로 하였고, 채취된 샘플은 분석 후 폐기하였다.

(11) 식이섭취조사 및 신체활동조사

식이섭취조사는 식사기록법에 따랐으며 연구대상자는 스크리닝, 2 차 방문 시 식이기록지를 교부 받아, 1 차, 3 차 방문 전 3 일(주중 2 일, 주말 1 일) 동안 섭취한 음식물을 가능한 모두 기록하였고, 시험자는 1 차, 3 차 방문 시 식이기록지를 회수하여 식이섭취조사 및 분석을 시행하였다.
연구대상자는 1 차, 3 차 방문 시 Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ)에 의한 신체활동조사 설문지를 작성하였다.

(12) 인체유래물 검사

인체유래물은 연구의 대상이 되는 인간으로부터 유래한 물질을 지칭하며 조직, 세포, 혈액, 체액 또는 이들로부터 분리된 혈청, 혈장, 염색체, DNA 등을 포함한다.
본 시험에서는 Homocysteine, Plasminogen Activator Inhibitor-1(PAI-1) 등을 측정하고자 인체유래물을 수집, 보관하였다.
Homocysteine, Plasminogen Activator Inhibitor-1(PAI-1) 검사를 위하여 2 ml 의 혈액을 채취하여 실온에 방치 후 3000 rpm 에서 15 분 동안 원심분리 하였다. 분리된 혈청 1 mL 을 채집하여 초저온 냉동저장(-70 ℃) 후 분석하며, 채취된 혈액은 분석 후 폐기하였다.

(13) 이상반응모니터링

이상반응에 대한 정보는 수시로 연구대상자에게 자발적인 보고를 하도록 하였으며, 그 외에 섭취 기간 동안 전화 방문과 정기 방문 시 시험담당자의 면담 및 문진 등 진료를 통하여 확인하였다. 이상반응 조사에는 발현일 및 소실일, 이상반응의 정도 및 결과, 인체적용시험용제품과 관련하여 취해진 조치 및 인체적용시험용제품의 인과관계, 시험제품 이외 의심되는 약제명, 이상반응에 대한 치료 여부 및 내용 등이 포함되었다.

(14) 선정기준/제외기준확인 (연구대상자 적합성평가)

스크리닝 방문 시에 수행한 연구대상자 동의 여부와 인구학적 조사, 병력 및 약품 투여력 조사, 이학적 검사 소견, 심전도, 기타 검사결과를 종합하여 선정기준/제외기준에 합당하는 연구대상자 선정이 이루어졌는지 평가하여 기록하였다.

(15) 무작위 배정 및 시험제품/위약 제품처방

선정기준/제외기준에 합당한 연구대상자를 시험군 또는 플라세보군으로 무작위배정 하였다. 무작위배정은 선정기준/제외기준 평가일인 1 차방문에 이루어졌으며, 이때에 최초 섭취가 이루어졌다. 이후 섭취 시작 4 주, 8 주에 연구대상자가 방문하여 인체적용시험용제품을 처방 및 반납하였다.

(16) 반납제품 회수 및 순응도 확인

2 차방문부터 매 방문 시마다 연구대상자가 지참하고 온 인체적용시험용제품의 잔량을 관리 영양사가 점검하였다. 섭취하고 남은 잔량은 약국에 반납하여 관리영양사가 수불 장부에 기록하였다. 각 방문 별 순응도는 100%를 초과할 수 없으며, 초과할 경우 100%로 간주하였다. 순응도는 정수로 표기하였다.

$$\text{제품순응도(\%)} = \frac{\text{실제 섭취한 제품 수}}{\text{섭취하여야 할 제품 수}} \times 100$$

(17) 신체검진

신체검진은 문진, 시진, 청진, 타진, 촉진 등을 수행하였다. 연구대상자가 오한을 느끼지 않도록 수행장소는 적절한 온도를 유지하였다. 연구대상자와의 면담을 통해 병용약물 등을 확인하였다.

(18) 심전도

연구대상자가 앙와위로 5 분 이상 안정을 취한 후 수행하였다
심전계의 감도 1 (10 mm/Mv), 기록지 이동속도 25 mm/sec, 휠터 off 등의 표준측정조건으로 기록하였다.

6.4.2. 대조제품 선정의 근거

마늘발효액의 유효성을 비교평가하기 위한 대조제품은 마늘발효액의 유효성분이 함유되어 있지 않은 플라세보이다. 동시에 혈압에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되는 인체에 무해한 식품 성분으로 마늘발효액과 중량 및 외향이 거의 동일하게 만들어졌다.

6.5. 연구대상자의 선정기준, 제외기준, 목표한 연구대상자의 수 및 그 근거

6.5.1. 선정기준

모든 연구대상자는 다음 기준을 만족하여 인체적용시험에 참여하였다.

(1) 스크리닝 검사 당시 연령이 만 19세 이상 75세 이하인 성인 남녀

(2) 최근 3개월 이내에 고혈압으로 치료받은 기왕력이 없는 수축기혈압이 120~149 mmHg 또는 이완기혈압이 80~94 mmHg인 자

(3) 본 연구에 대한 자세한 설명을 듣고 완전히 이해한 후, 자의로 참여를 결정하고 주의사항을 준수하기로 서면 동의한 자

6.5.2. 제외기준

연구대상자들이 다음 기준 중 하나라도 해당될 경우 인체적용시험의 참여에서 배제되었다.

(1) 수축기혈압 160 mmHg 또는 이완기혈압 100 mmHg 이상인 자

(2) 지난 6 개월 이내에 뇌졸중, 심근경색, 경피를 통한 관동맥혈관성형술(PTCA)을 받았거나 관상동맥부행로 수술(CABG)을 받은 사람

(3) 심부전, 심근경색, 뇌졸중 등의 급성 중증 심혈관계 질환을 가진 자

(4) 급만성 신부전, 신증후군 등의 신장질환을 앓고 있는 자

(5) 암, 류마티스성 질환, 자가면역질환, 위장관계 질환 등의 급/만성 염증이 있는 자

(6) 인체적용시험용제품의 흡수에 영향을 줄 수 있는 위장관계질환 (예: 크론병)이나 위장관계 수술 (단, 단순맹장수술이나 탈장수술은 제외)의 과거력이 있는 자

(7) 최근 3 개월 이내에 고혈압약을 복용한 자

(8) 약물 및 건강기능식품에 임상적으로 유의한 과민반응의 병력이 있는 자

(9) 스크리닝 검사 전 2 개월 이내에 항정신병 약물치료를 받은 경험이 있는 자

(10) 약물 또는 알코올 남용 병력이 있는 자

(11) 스크리닝 검사 전 2 개월 이내에 타 인체적용시험에 참여한 자

(12) 진단검사의학검사에서 다음에 해당하는 결과를 보이는 자
- ☞ AST, ALT > 정상범위 상한치의 2 배
- ☞ Serum Creatinine > 2.0 mg/dL
- ☞ Creatine Kinase(CK) > 참고범위 상한치의 2 배

(13) 임신 혹은 수유중인 여성

(14) 임신 가능성이 있는 가임 여성 중 적절한 피임법의 시행을 수용하지 않은 경우(단, 불임수술을 받은 여성은 제외)

(15) 진단검사의학 검사결과를 비롯한 기타 사유로 인하여 시험책임자가 연구참여에 부적합하다고 판단한 자

6.5.3. 목표한 연구대상자 수

본 인체적용시험에는 총 30 명(각 군당 15 명)의 연구대상자가 무작위배정되어 시험을 실시하였다.

6.5.4. 연구대상자 수 산정 근거

본 연구는 마늘발효액 혹은 플라세보 섭취 전 · 후의 수축기혈압, 이완기혈압, 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 맥파, Renin activity, Aldosterone, hs-CRP 등을 평가하는 것을 목적으로 하는 인체적용시험이다. 이는 전형적인 통계적 가설 검정을 위한 연구와는 성격이 다르며, 어떤 수식에 의한 근거보다는 그 목적을 충족시키는 한도 내에서 경험적으로 요구되는 최소한의 연구대상자 수로 진행하는 것이 바람직하다.
그리하여 본 인체적용시험 연구대상자 수를 각 섭취군 당 15 명씩 총 30 명으로 설정하였다.

6.6. 인체적용시험 진행 일정 및 인체적용시험용 제품

6.6.1. 방문 별 인체적용시험 진행 일정

(1) 스크리닝 검사(-4주, -28 ~ -1일)

이 연구에 참가하도록 선택된 연구대상자는 시험에 대한 설명을 듣고 다음 순서에 따라 평가를 받았다.

① 연구대상자를 시험에 참여시키기 전에 시험 과정을 설명하고, 연구대상자에게 서면 동의서를 받았다.

② 연구대상자는 순서대로 스크리닝 번호를 지정 받았다.

③ 연구대상자의 인구학적 정보와 병력(외과적 수술력을 포함한 과거력 및 현 병력) 및 약물 투여력을 조사/기록하였다.

④ 음주/흡연력을 조사하였다.

⑤ 신체검진을 실시하였다.

⑥ 활력징후(혈압, 맥박수 및 체온)를 측정하였다.

⑦ 신체계측을 실시하였다.

⑧ 선정/제외기준을 만족시키지 못하는 연구대상자는 이후 계획된 검사를 실시하지 않았다.

⑨ 진단검사의학검사, 심전도 및 임신반응 검사를 실시하였다.

⑩ 다음 방문일을 지정하였다.

(2) 1차방문 (0주, 제1일)

이 방문은 스크리닝 방문일 이후에 이루어졌으며, 다음의 항목을 평가하였다.

① 활력징후(혈압, 맥박수 및 체온)를 실시하였다.

② 약물투여력 변화 및 의학적 상태변화를 확인하였다.

③ 연구대상자 선정/제외기준을 최종평가하고, 무작위배정을 실시하였다. 단, 선정/제외기준 최종평가에 통과하지 못한 자는 이후 계획한 검사를 실시하지 않았다.

④ 평균동맥압, 평균맥압, 혈압변화패턴, 맥파, Renin activity, Aldosterone, hs-CRP, 인체유래물 검사를 실시하였다.

⑤ 식이섭취조사 및 신체활동조사를 실시하였다.

⑥ 시험용제품 섭취방법에 대하여 교육을 하고 인체적용시험용제품을 처방하였다.

⑦ 다음 방문일을 지정하였다.

(3) 2차방문 (4주, 제29일)

인체적용시험용제품의 최초 섭취 이후 4 주째에 2 차방문이 이루어졌으며, 다음의 평가항목을 평가하였다.

① 약물투여력 변화를 확인하였다.

② 활력징후(혈압, 맥박수 및 체온)를 측정하였다.

③ 연구대상자로부터 남은 인체적용시험용제품을 회수하여 개수를

확인하고 순응도를 평가하였다.

④ 시험용제품 섭취 방법에 대하여 교육을 하고, 인체적용시험용제품을 처방하였다.

⑤ 이상반응 발생유무를 확인하였다.

⑥ 다음 방문일을 지정하였다.

(4) 3차방문 (8주, 제57일)

인체적용시험용제품의 최초 섭취 이후 8 주째에 3 차방문이 이루어지며, 다음의 평가항목을 평가하였다.

① 약물투여력 변화를 확인하였다.

② 음주/흡연력을 조사하였다.

③ 신체검진을 실시하였다.

④ 활력징후(혈압, 맥박수 및 체온)를 측정하였다.

⑤ 신체계측을 실시하였다.

⑥ 평균동맥압, 평균맥압, 혈압변화패턴, 맥파, Renin activity, Aldosterone, hs-CRP, 인체유래물 검사를 실시하였다.

⑦ 식이섭취조사 및 신체활동조사를 실시하였다.

⑧ 진단검사의학 검사, 심전도 및 임신반응검사를 실시하였다.

⑨ 연구대상자로부터 남은 인체적용시험용제품을 회수하여 개수를 확인하고 순응도를 평가하였다.

⑩ 이상반응 발생유무를 확인하였다.

(5) 추적/추가방문(필요 시)

섭취 종료 이후 추가적인 추적관찰이 필요하다고 시험책임자 또는 연구대상자에 의해 요청이 있을 경우 연구대상자는 재방문하여 다음의 항목을 평가하였다.

① 활력징후(혈압 및 맥박수)를 실시하였다.

② 신체검진을 실시하였다.

③ 지난 방문 이후로 연구대상자의 병력이나 치료제품의 변화가 있는 경우 또는 병용제품이 있는 경우 증례기록서에 기록하였다.

④ 이상반응 발생유무와 내용을 조사하였다.

⑤ 시험자의 판단에 따라 비정상적인 결과에 대한 진단검사의학검사가 시행되었다.

6.6.2. 과거병력 및 병용 투여

(1) 과거 병력

연구대상자가 동의서에 서명한 시점에서 3 년 이내에 가지고 있는 과거 병력을 확인하고, 증례기록서의 해당 페이지에 기록하였다

시험기간 동안 질환이 처음으로 발생하거나 병발질환이 시험기간 동안 악화된 경우에는 이상반응으로 간주되고 증례기록서의 이상반응 페이지에 기록하였다.

(2) 병용가능 약물

① 연구대상자가 시험에 참가하기 4 주 이전부터 복용하고 있던 약물 중 본 시험의 결과해석에 영향을 미치지 않을 것으로 판단되는 병용약물(제품)은 연구책임자의 판단 하에 허용하였다.

② 기타 질환 또는 이상반응의 치료를 목적으로 일과성으로 사용되는 약제는 담당의사와 상의를 통하여 병용 투여하기로 하였다.

③ 투여한 모든 제품 및 투여사유는 증례기록서에 기재하고 연구책임자가 서명하였다.

(3) 병용금지 약물

다음의 약물은 시험기간 동안 병용투여를 금지하였다.

- 혈압강하제
- 혈압에 영향을 미칠 수 있는 약물(Corticosteroids 및 thyroid 호르몬제제, NSAIDs, PPA 등 교감신경작용의 약물, 면역억제제, 향정신성의약품 등)
- 사이클로스포린, 전신용 이트라코나졸 또는 케토코나졸, 에리스로마이신, 텔리스로마이신, 클레리스로마이신, 네파조돈, 아미오다론, 베라파밀 또는 다나졸
- 혈압에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품(정어리펩타이드, 가쓰오부시올리고펩타이드, 카제인 가수분해물, 올리브잎추출물, L-글루타민산 유래 GABA 함유 분말, 코엔자임 Q10 등)
- 기타 시험책임자가 인정하지 않는 제제나 제품

6.6.3. 인체적용시험용 제품 등의 코드명(또는 주성분의 일반명), 원료제품 및 그 분량, 제형

(1) 인체적용시험용제품의 개요

- 성상 및 제형: 연한 노란색의 액상
- 사용기간: 12 개월
- 저장방법: 고온다습 및 직사광선을 피하고 서늘한 곳에 보관

성분명	마늘발효액(%)	플라세보(%)
마늘(국내산)	6	-
효모균(Bacillus subtilis)	0.01	-
정제수	93.99	99.88
치자황색소	-	0.0001
둥굴레차 티백(1.2 g/티백)	-	0.12
	100	100

(2) 섭취방법 및 일정

모든 연구대상자가 무작위배정된 시험군에 따라 마늘발효액 또는 플라세보를 1 일 3 회 섭취함으로써 인체적용시험을 수행하였다.

① 마늘발효액군
: 1 일 3 회, 1 회 1 팩, 식후 경구섭취(360 ml/일)

② 플라세보군
: 1 일 3 회, 1 회 1 팩, 식후 경구섭취(360 ml/일)

6.6.4. 인체적용시험에 사용하는 제품의 포장

인체적용시험용제품은 제조 후 인체적용시험 기관의 관리영양사에게 공급하였다. 각각의 인체적용시험용제품은 외형 및 성상이 동일하여 육안으로는 차이가 관찰되지 않았으며, 중량 차이도 없었다. 인체적용시험용제품은 28 일 간격으로 제공하였으며, 3 일분의 여유분을 합하여 1 회에 31 일분을 포장하여 연구대상자에게 제공하였다.

6.6.5. 인체적용시험에 사용하는 제품의 라벨링

인체적용시험용제품의 라벨에는 다음의 정보가 포함되었다.

- **"인체적용시험용"이라는 표시**
- **제품의 코드명 또는 주성분명의 일반명**
- **연구대상자 코드**
- **제조번호 및 재검사일자**
- **저장방법**
- **제품제조업자의 상호 (위탁제조의 경우에는 제조원 포함)**
- **"인체적용시험 외의 목적으로 사용할 수 없음"이라는 표시**

6.6.6. 인체적용시험에 사용하는 제품의 관리

인체적용시험책임자 또는 관리영양사는 시험기관에서 수령한 모든 인체적용시험용제품을 인체적용시험 기간 중 보관하고 수량을 관리할 책임이 있다. 연구대상자에 대한 인체적용시험용제품의 배분 및 회수는 시험제품 수량 관리 양식에 기록하였다.

인체적용시험용제품의 관리는 인체적용시험계획서와 용기 라벨에 따라 엄격하게 행해졌으며, 적합한 환경조건에서 접근이 제한된 장소나 시건 장치가 부착된 캐비닛에 보관하였다. 사용되지 않은 인체적용시험용제품과 연구대상자에게서 회수된 모든 인체적용시험용제품들은 시험제품 회수 양식에 기록하였다.

인체적용시험용제품은 관리영양사의 감독 하에 배분되었다. 인체적용시험용제품은 연구에 참여하는 연구대상자들에게만 공급하였다.

6.7. 자료의 질 보증

인체적용시험 자료의 정확성 및 신뢰성을 보증하기 위한 조치로는 적합한 자격 요건을 가진 인체적용시험자와 시험기관을 선정하여 인체적용시험이 실시되기 이전에 인체적용시험책임자 및 담당자에 의한 인체적용시험계획서의 검토, 인체적용시험 의뢰자에 의한 주기적인 시험기관 모니터링 방문, 진단검사의학 검사로부터 얻은 인체적용시험 자료들을 인체적용시험 의뢰자에게 자료파일로 전송하는 일 등이 포함되었다. 혈액, 혈청 및 소변 샘플의 수집, 준비와 운송에 대한 서면으로 된 지시사항이 제공되었다. 인체적용시험 시작 전에 증례기록서 완성 지침이 제공되고, 인체적용시험 담당자들 사이에서 검토되었다. 인체적용시험 의뢰자는 시험기관 방문 동안, 그리고 증례기록서가 의뢰자에게 회수된 후에 증례기록서의 정확성과 완결성을 검토하였다. 내용이 일치하지 않을 때에는 인체적용시험책임자 또는 담당자와 함께 적절한 방법으로 해결하였다. 자료는 인체적용시험 데이터베이스로 보내져 정확성을 확인 받았다.

6.8. 효과 평가기준, 평가방법 및 해석방법(통계 분석 방법)

본 인체적용시험의 연구대상자로부터 얻어진 자료는 크게 Safety군, ITT(Intent-to-treat)군과 PP(per protocol)군으로 나뉘어 분석되었다.

- Safety군은 인체적용시험에 참여하여 최소한 1회 이상 시험제품을 섭취한 자를 대상으로 하였다.
- ITT군은 시험제품 섭취 후, 최소한 1회 이상 주 평가변수에 대한 측정이 이루어진 자를 대상으로 하였다.
- PP군은 ITT군에 포함되는 연구대상자 중 인체적용시험계획서에 따라 인체적용시험을 완료한 자를 대상으로 하였다.
- 유효성 평가에 대한 자료는 PP군을 주분석 대상으로 하였고, 안전성 평가에 대한 자료는 Safety 군에 대해 분석하여 본 인체적용시험용제품에 대한 안전성을 평가하였다.

6.8.1. 유효성 평가

평가항목의 검사결과를 섭취군 내, 섭취군 간 비교 시 Mann-Whitney U test 또는 linear mixed model 등을 적용하였다.
인체적용시험용제품 섭취에 따른 단기 효과는 1차, 3차방문 시 혈압변화 패턴으로, 장기 효과는 매 방문 시 측정한 혈압 변화로 분석하였다.

6.8.2. 안전성 평가

(1) 이상반응

인체적용시험 기간 동안 보고된 모든 이상반응을 도표화한 후 이상반응의 발생률을 구하였다. 시험군 간 이상반응이 발생한 연구대상자의 비율을 산정하고, 피셔 검정법(Fisher's exact test)을 이용하여 분석하였다.

(2) 진단검사의학검사

계획된 시점의 각 분석 대상 검사자료에 대해서는 기술통계량이 제공되었다. 기초 평가일 결과로부터의 변화 정도가 제시되었으며, 섭취군의 반복 측정에 대해서 섭취군 내, 섭취군 간 비교 시 linear mixed model 등을 적용하였다.

6.9. 인체적용시험 수행 및 분석방법의 변경

인체적용시험 수행 중 몇몇 항목에 대하여 최초 승인된 계획서로부터 변경사항이 있었다. 그러나 인체적용시험 전체 일정에 영향을 줄 정도의 중대한 사항은 없었다.

7. 연구대상자

7.1. 연구대상자의 인체적용시험 참여 실태

본 인체적용시험 등록 목표 연구대상자 수는 30명으로, 총 34명의 자원자가 서면동의서를 자발적으로 작성한 후 스크리닝 검사를 받았고, 연구대상자 적합성 평가를 통해 30명이 연구대상자로 선정되었다. 선정된 연구대상자는 무작위배정, 이중눈가림 방법을 통해 인체적용시험에 참여(마늘발효액군 15명, 플라세보군 15명)하였다. 인체적용시험 수행 도중 2명(플라세보군 2명)이 동의철회에 의해 중도탈락하여 총 28명(마늘발효액군 15명, 플라세보군 13명)이 인체적용시험계획서에 명시된 모든 절차를 수행 완료하였다.

표 1. 탈락 및 계획서 위반 현황 및 사유

그룹	사유	N(명)
플라세보군	동의철회	2

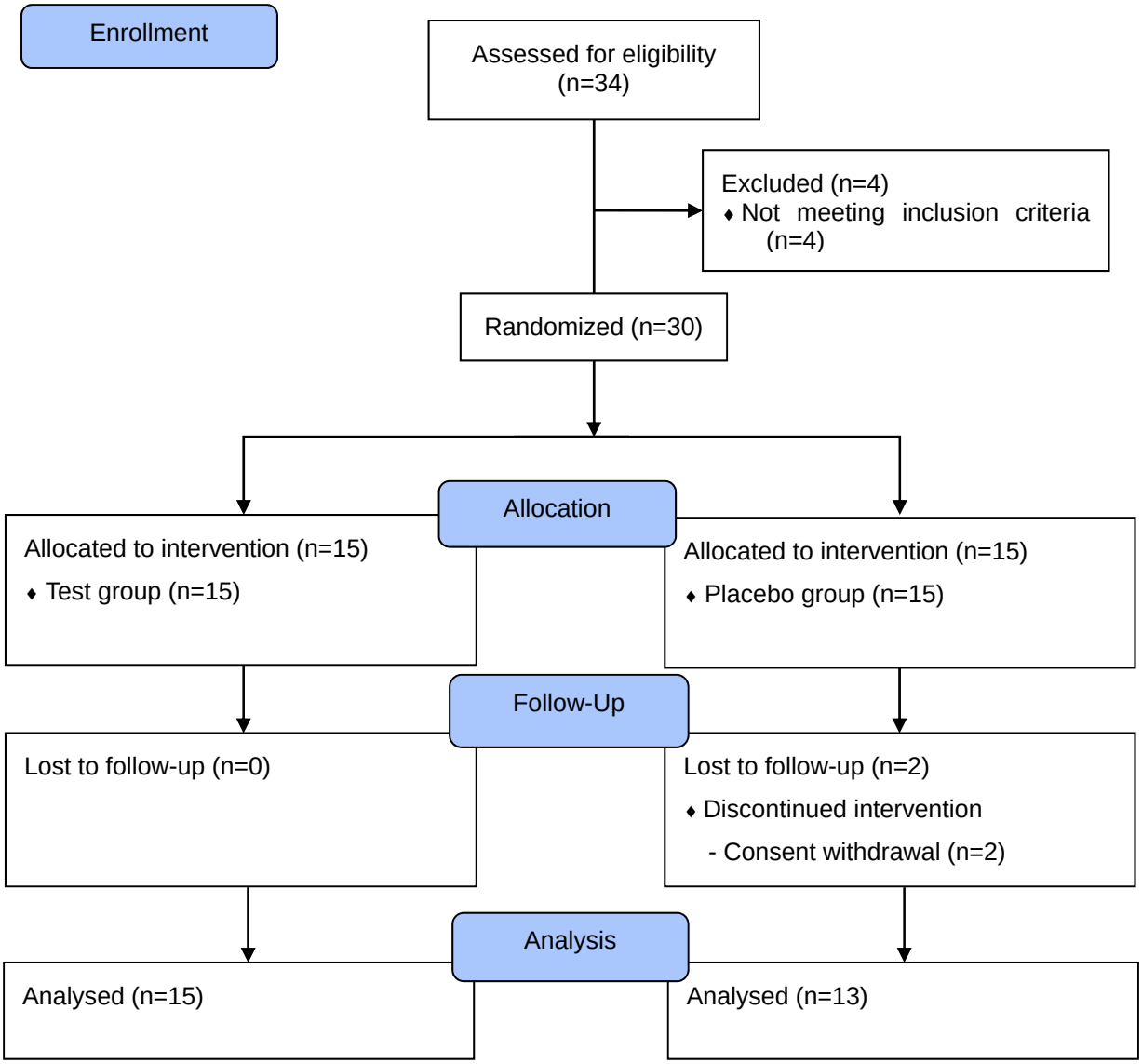


그림 1. 연구대상자 참여실태

7.2. 순응도 평가

인체적용시험용제품의 섭취 상황에 대하여 매 방문마다 연구대상자가 지참하고 온 인체적용시험용제품의 잔여량을 반납 받고 순응도를 확인하였다. 평가 방법은 아래와 같았다.

$$\text{제품순응도(\%)} = \frac{\text{실제 섭취한 제품 수}}{\text{섭취하여야 할 제품 수}} \times 100$$

연구대상자 일인 당 섭취해야 할 제품의 수는 169.32±4.35 팩, 실제로 섭취한 제품 수는 152.89±17.55 팩이며 마늘발효액군과 플라세보군 간 유의한 차이가 없었다(p=0.980, p=0.146). 제품 순응도는 마늘발효액군 91.87±7.95%, 플라세보군 87.85±10.71%으로 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었으며 (p=0.230), 연구기간 중 순응도 미달에 의한 연구계획서 위반은 없었다 (표 2).

표 2. 순응도

	마늘발효액군 (n=15)	플라세보군 (n=13)	Total (n=28)	*P*-value[1)]
섭취해야 할 제품 수	169.80±4.60	168.77±4.15	169.32±4.35	0.980
섭취한 제품 수	156.93±15.69	148.23±19.03	152.89±17.55	0.146
순응도 (%)	91.87±7.95	87.85±10.71	90.00±9.38	0.230

Compliance was calculated by total intakes by prescriptions.

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by Mann-Whitney U test

8. 연구대상자 인구학적 정보

인구학적 정보 분석에 포함되는 연구대상자는 총30명(safety군)으로 마늘발효액군(15명), 플라세보군(15명)으로 나뉘었다. 연구대상자의 자세한 인구학적 정보를 표 3에 요약하였다. 본 연구 스크리닝 당시 전체 연구대상자 30명 중 남성이 15명, 여성이 15명(마늘발효액군 남성 8명/여성 7명, 플라세보군 남성 7명/여성 8명), 평균 연령은 49.30±9.85세(마늘발효액군 50.53±11.22세, 플라세보군 48.07±8.49세)로 두 섭취군 간 성별 분포 및 평균 연령에 유의한 차이가 없었다.

평균 신장은 164.70±9.14 cm (마늘발효액군 166.73±9.97 cm, 플라세보군 162.67±8.06 cm), 평균 체중은 71.84±14.87 kg (마늘발효액군 75.08±18.09 kg, 플라세보군 68.61±10.40 kg), 체질량지수는 26.28±3.58 kg/m^2 (마늘발효액군 26.72±4.39 kg/m^2, 플라세보군 25.85±2.62 kg/m^2)으로 두 섭취군 간 유의한 차이가 없었다.

연구대상자 30명 중 음주자는 15명, 비음주자는 15명(마늘발효액군 음주자 9명/비음주자 6명, 플라세보군 음주자 6명/비음주자 9명)으로 섭취군 간 유의한 차이가 없었고, 흡연자 7명, 비흡연자 23명(마늘발효액군 흡연자 5명/비흡연자 10명, 플라세보군 흡연자 2명/비흡연자 13명)으로 섭취군 간 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합할 때 섭취군 간 의미 있는 차이가 없었으므로 연구대상자의 무작위배정이 잘 이루어졌다고 판단하였다(표 3).

표 3. 연구대상자의 인구학적 정보

	마늘발효액군 (n=15)	플라세보군 (n=15)	Total (n=30)	*P*-value[1)]
성별 (M/F)	8/7	7/8	15/15	0.715[2)]
나이 (years)	50.53±11.22	48.07±8.49	49.30±9.85	0.372
신장 (cm)	166.73±9.97	162.67±8.06	164.70±9.14	0.228
체중 (kg)	75.08±18.09	68.61±10.40	71.84±14.87	0.455
체질량지수 (kg/m^2)	26.72±4.39	25.85±2.62	26.28±3.58	0.917
음주자 (N, %)	9/6	6/9	15/15	0.273[2)]
음주량 (unit)	15.72±13.04	6.83±3.80	12.17±11.08	0.440
흡연자 (N, %)	5/10	2/13	7/23	0.390[3)]
흡연량 (N)	16.20±8.50	4.50±0.71	12.86±8.99	0.285

Values are presented as mean±SD or number

[1)]Analyzed by Mann-Whitney U test, [2)]Analyzed by Fisher's exact test

9. 유효성 평가

9.1. 효과 평가기준, 평가방법 및 해석방법(통계분석방법)

연구결과의 내적 타당성과 외적 타당성을 확보하기 위하여 일반적으로 적용되는 연구방법론과 통계방법론의 원칙을 준용하였으며, 인체적용시험계획서에 따라 인체적용시험을 완료한 연구대상자(PP 군)을 대상으로 분석하였다.

9.2. 유효성 평가항목 기저치

PP 분석군을 대상으로 두 섭취군 간 유효성 평가항목의 기저치를 분석한 결과, 평균 수축기혈압은 133.36±8.42 mmHg (마늘발효액군 131.80±8.29 mmHg, 플라세보군 135.15±8.53 mmHg), 이완기혈압은 84.46±8.39 mmHg (마늘발효액군 83.07±9.57 mmHg, 플라세보군 86.08±6.80 mmHg)으로서 정상 혈압 범위(정상 수축기 혈압 120 mmHg 이하, 정상 이완기 혈압 80 mmHg 이하)보다 높은 혈압 소견을 가졌으며, 2차 유효성 평가항목인 맥파(p=0.038)를 제외한 모든 항목에서 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 4. 유효성 평가항목 기저치

	마늘발효액군 (n=15)	플라세보군 (n=13)	Total (n=28)	*P*-value[1)]
수축기혈압 (mmHg)	131.80±8.29	135.15±8.53	133.36±8.42	0.344
이완기혈압 (mmHg)	83.07±9.57	86.08±6.80	84.46±8.39	0.369
맥박수 (BPM)	68.00±5.81	65.69±8.20	66.93±6.98	0.534
평균동맥압 (mmHg)	99.47±8.63	102.38±6.24	100.82±7.63	0.321
평균맥압 (mmHg)	48.73±5.71	49.08±8.37	48.89±6.94	>.999
맥파	2.2±11.57	12.69±11.3	7.07±12.43	0.038*
Renin Activity (ng/mL/hr)	1.73±1.29[a]	2.15±1.75	1.93±1.51	0.423
Aldosterone (ng/dL)	7.47±2.19	9.01±6.30	8.18±4.56	0.945
hs-CRP (mg/L)	0.87±1.74[b]	0.70±0.64	0.79±1.31	0.593

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by Mann-Whitney U test

[a]R-18(마늘발효액군) 이상치 제외, [b]R-19(마늘발효액군) 이상치 제외

*P<.05

9.3. 1차 유효성 평가항목

9.3.1. 시험용제품 단회 섭취에 의한 혈압 변화

혈압 변화 평가를 위해 0주와 8주 방문 시 연구대상자들의 혈압을 시험용제품 섭취 전(0분)과 1회 섭취량(120 ml) 섭취 후 1시간 동안(10분, 30분, 60분) 측정하였다 (표 5~6, 그림 2~5).

분석 결과, 0주와 8주 방문에 측정한 수축기혈압, 이완기혈압 기저치에 두 시험군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

0주차 시험용제품 단회 섭취 시, 10분, 30분, 60분 후 수축기혈압 및 이완기혈압 감소값($\Delta_{10-0\ min}$, $\Delta_{30-0\ min}$, $\Delta_{60-0\ min}$)이 마늘발효액군에서 플라세보군보다 커서 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

8주차 시험용제품 단회 섭취 시, 섭취 30분, 60분 후 수축기혈압 감소값($\Delta_{30-0\ min}$, $\Delta_{60-0\ min}$)과 섭취 10분, 30분, 60분 후 이완기혈압 감소값($\Delta_{10-0\ min}$, $\Delta_{30-0\ min}$, $\Delta_{60-0\ min}$)이 마늘발효액군에서 플라세보군보다 커서 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 섭취 10분의 수축기혈압 감소값($\Delta_{10-0\ min}$)은 두 군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었지만 마늘발효액군이 플라세보군에 비해 감소하는 경향이었다.

표 5. 0주 방문 시 시험용제품 단회 섭취 후 시간대 별 혈압 변화

		마늘발효액군 (n=15)		플라세보군 (n=13)		*P*-value[2]
		mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1]	mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1]	
수축기 혈압 (mmHg)	0 분	131.80±8.29	-	135.15±8.53	-	0.344[3]
	10 분	116.67±15.23	-15.13±10.18	131.38±6.24	-3.77±6.13	0.005**
	30 분	116.87±13.63	-14.93±9.10	130.85±9.36	-4.31±7.09	0.003**
	60 분	117.20±12.82	-14.60±8.80	131.08±7.91	-4.08±8.05	0.005**
이완기 혈압 (mmHg)	0 분	83.07±9.57	-	86.08±6.80	-	0.369[3]
	10 분	74.40±9.78	-8.67±5.37	86.38±6.41	0.31±4.73	<.001***
	30 분	72.07±8.10	-11.00±6.38	85.38±7.54	-0.69±3.40	<.0001***
	60 분	73.73±8.16	-9.33±7.03	85.92±7.08	-0.15±3.44	<.001***

Values are presented as mean±SD

[1]Changes from baseline value (0 min), [2]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between Δ values), [3]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between mean values)

**P<.01, ***P<.001

표 6. 8주 방문 시 시험용제품 단회 섭취 후 시간대 별 혈압 변화

		마늘발효액군 (n=15)		플라세보군 (n=13)		*P*-value[2]
		mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1]	mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1]	
수축기 혈압 (mmHg)	0 분	129.07±10.26	-	133.08±10.58	-	0.580[3]
	10 분	117.93±14.63	-11.13±11.60	129.38±10.02	-3.69±6.61	0.058
	30 분	110.93±12.42	-18.13±11.34	129.69±11.45	-3.38±8.32	<.001***
	60 분	115.07±11.83	-14.00±12.40	132.15±10.58	-0.92±8.96	0.008**
이완기 혈압 (mmHg)	0 분	79.73±12.23	-	85.23±6.62	-	0.188[3]
	10 분	72.87±12.85	-6.87±3.50	84.23±6.64	-1.00±3.85	<.001***
	30 분	68.13±8.63	-11.60±7.43	84.00±7.45	-1.23±3.24	<.001***
	60 분	73.00±12.71	-6.73±6.61	84.23±8.71	-1.00±5.34	0.015*

Values are presented as mean±SD

[1]Changes from baseline value (0 min), [2]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between Δ values), [3]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between mean values)

*P<0.05, **P<.01, ***P<.001

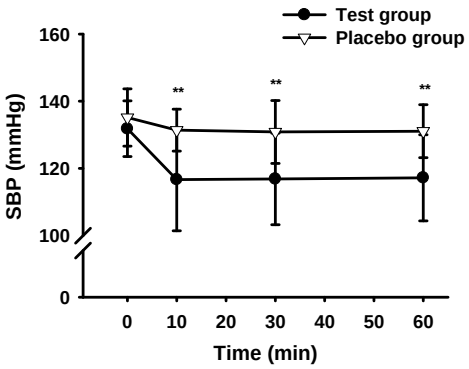


그림 2. 0주 방문 시 수축기혈압 변화

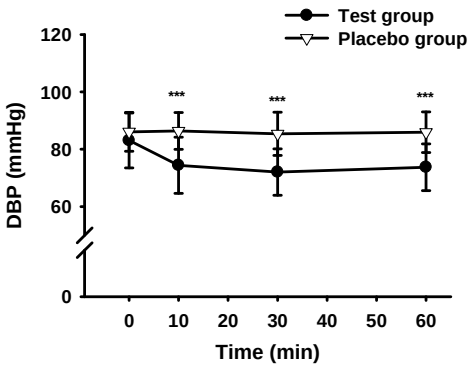


그림 3. 0주 방문 시 이완기혈압 변화

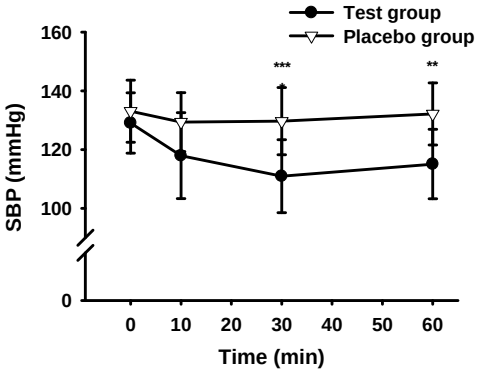


그림 4. 8주 방문 시 수축기혈압 변화

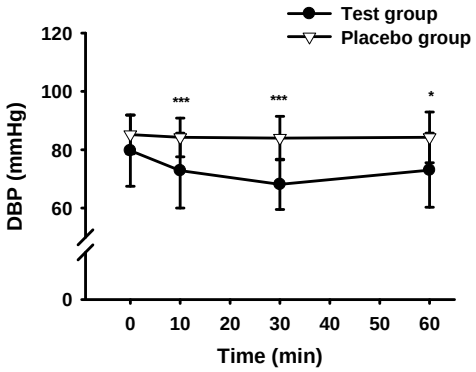


그림 5. 8주 방문 시 이완기혈압 변화

9.3.2. 시험용제품 장기 섭취(8주)에 의한 혈압 변화

매 방문 시(0주, 4주, 8주)마다 연구대상자들의 수축기혈압 및 이완기혈압을 측정하였다(표 7~8).

분석 결과, 방문 별, 섭취 전 · 섭취 8주 후 섭취군 내 및 섭취군 간 비교 시 수축기혈압과 이완기혈압 측정치에 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 7. 방문 별 혈압변화

	마늘발효액군 (n=15)				플라세보군 (n=13)				*P*-value[1)]
	0 w	4 w	8 w	*P*-value[1)]	0 w	4 w	8 w	*P*-value[1)]	
수축기혈압 (mmHg)	131.80 ±8.29	125.33 ±14.41	129.07 ±10.26	0.151	135.15 ±8.53	131.54 ±12.31	133.31 ±10.37	0.468	0.802
이완기혈압 (mmHg)	83.07 ±9.57	80.40 ±10.57	79.73 ±12.23	0.315	86.08 ±6.80	86.46 ±9.23	85.23 ±6.62	0.731	0.528

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

표 8. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 혈압 변화

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=13)			*P*-value[1)]
	0 w	8 w	*P*-value[1)]	0 w	8 w	*P*-value[1)]	
수축기혈압 (mmHg)	131.80 ±8.29	129.07 ±10.26	0.316	135.15 ±8.53	133.31 ±10.37	0.456	0.807
이완기혈압 (mmHg)	83.07 ±9.57	79.73 ±12.23	0.099	86.08 ±6.80	85.23 ±6.62	0.436	0.280

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

9.4. 2차 유효성 평가항목

9.4.1. 시험용제품 단회 섭취에 의한 맥박수 변화

맥박수 변화 평가를 위해 0주, 8주 방문 시 연구대상자들의 맥박수를 시험용제품 섭취 전(0분)과 1회 섭취량(120 ml) 섭취 후 1시간 동안(10분, 30분, 60분) 측정하였다(표 9~10, 그림 6~7).

분석 결과, 0주와 8주 방문에 측정한 맥박수 기저치에 두 시험군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

0주차와 8주차 시험용제품 단회 섭취 시, 10분, 30분, 60분 후 맥박수 증가값($\Delta_{10-0\ min}$, $\Delta_{30-0\ min}$, $\Delta_{60-0\ min}$)이 마늘발효액군에서 플라세보군보다 커서 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었다.

표 9. 0주 방문 시 시험용제품 단회 섭취 후 시간대 별 맥박수 변화

		마늘발효액군 (n=15)		플라세보군 (n=13)		*P*-value[2)]
		mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1)]	mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1)]	
맥박수 (BPM)	0 분	68.00±5.81	-	65.69±8.20	-	0.534
	10 분	76.93±8.75	8.93±6.53	64.77±7.82	-0.92±2.33	<.001***
	30 분	74.60±10.25	6.60±8.66	63.31±6.98	-2.38±3.10	<.001***
	60 분	70.87±8.63	2.87±7.09	62.00±7.39	-3.69±3.45	0.003**

Values are presented as mean±SD

[1)]Changes from baseline value (0 min), [2)]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between Δ values), [3)]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between mean values)

**P<.01, *** P<.001

BPM; beat per minutes

표 10. 8주 방문 시 시험용제품 단회 섭취 후 시간대 별 맥박수 변화

		마늘발효액군 (n=15)		플라세보군 (n=13)		*P*-value[2)]
		mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1)]	mean±SD	$\Delta_{N-0\ min}$[1)]	
맥박수 (BPM[a])	0 분	70.53±7.45	-	69.31±11.22	-	0.747
	10 분	77.13±9.36	6.60±5.82	65.00±8.24	-4.31±3.79	<.0001***
	30 분	77.40±9.86	6.87±5.36	65.46±8.17	-3.85±4.74	<.0001***
	60 분	72.53±8.68	2.00±6.12	64.00±7.95	-5.31±5.98	0.006**

Values are presented as mean±SD

[1)]Changes from baseline value (0 min), [2)]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between Δ values), [3)]Analyzed by Mann-Whitney U test (difference between mean values)

**P<.01, ***P<.001

BPM; beat per minutes

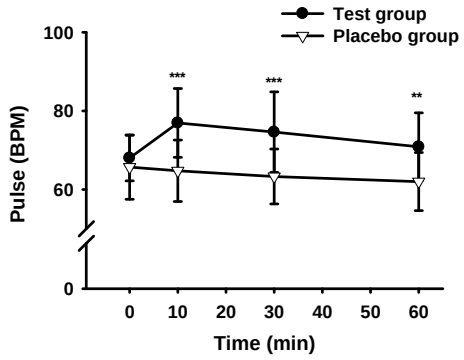


그림 6. 0주 방문 시 맥박수 변화

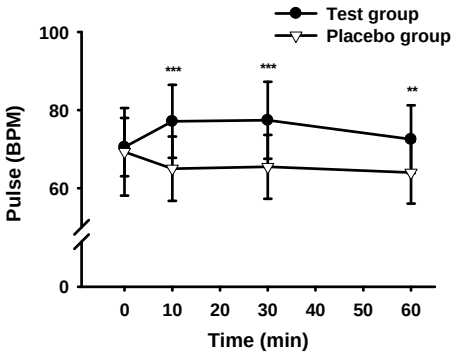


그림 7. 8주 방문 시 맥박수 변화

*BPM: beat per minutes

9.4.2. 시험용제품 장기섭취(8주)에 의한 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 맥파 변화

매 방문 시(0주, 4주, 8주)마다 연구대상자들의 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압을 측정하였고, 시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 맥파를 측정하였다(표 11~12).

분석 결과, 모든 항목에서 방문 별 및 시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 두 섭취군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 11. 방문별 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압 변화

	마늘발효액군 (n=15)				플라세보군 (n=13)				*P*-value[1)]
	0 w	4 w	8 w	*P*-value[1)]	0 w	4 w	8 w	*P*-value[1)]	
맥박수 (BPM)	68.00 ±5.81	73.67 ±8.30†	70.53 ±7.45	0.010*	65.69 ±8.20	72.69 ±10.51†	69.31 ±11.22	<.001***	0.831
평균동맥압 (mmHg)	99.47 ±8.63	95.33 ±11.35	96.20 ±10.19	0.157	102.38 ±6.24	101.46 ±9.74	101.23 ±6.87	0.814	0.544
평균맥압 (mmHg)	48.73 ±5.71	44.93 ±7.12	49.33 ±12.43	0.311	49.08 ±8.37	45.08 ±7.19	47.85 ±9.22	0.168	0.871

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

†Statistically significant compared to the baseline, *$P<.05$, ***$P<.001$

BPM; beat per minutes

표 12. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 맥파 변화

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=13)			*P*-value[2)]
	0 w	8 w	*P*-value[1)]	0 w	8 w	*P*-value[1)]	
맥박수 (BPM)	68.00 ±5.81	70.53 ±7.45	0.101	65.69 ±8.20	69.31 ±11.22	0.012*	0.579
평균동맥압 (mmHg)	99.47 ±8.63	96.20 ±10.19	0.095	102.38 ±6.24	101.23 ±6.87	0.427	0.378
평균맥압 (mmHg)	48.73 ±5.71	49.33 ±12.43	0.815	49.08 ±8.37	47.85 ±9.22	0.531	0.576
맥파	2.20 ±11.57	−0.47 ±22.04	0.610	12.69 ±11.30	12.46 ±17.79	0.949	0.707

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

*$P<.05$

BPM; beat per minutes

9.4.3. 시험용제품 장기섭취(8주)에 의한 renin activity, aldosterone, hs-CRP 변화

시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주에 연구대상자들의 renin activity, aldosterone, hs-CRP를 측정하였다(표 13).

분석 결과, 모든 항목에서 방문 별 및 시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 두 섭취군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 13. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 Renin activity, Aldosterone, hs-CRP 변화

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=13)			*P*-value[2)]
	0 w	8 w	*P*-value[1)]	0 w	8 w	*P*-value[1)]	
Renin Activity (ng/mL/hr)	2.19 ±2.16	2.04 ±2.43	0.795	2.15 ±1.75	2.28 ±2.23	0.812	0.870
Aldosterone (ng/dL)	7.47 ±2.19	11.28 ±8.41	0.102	9.01 ±6.3	12.68 ±10.87	0.252	0.971
hs-CRP (mg/L)	0.87 ±1.74	0.50 ±0.56	0.450	0.70 ±0.64	0.56 ±0.77	0.540	0.669

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

10. 식이섭취량 및 활동량 변화

시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후의 식이섭취량 및 활동량 변화 정도를 분석하여 유효성 평가에 미치는 영향을 평가하였다(표 14~15).

식이섭취량 및 활동량 분석 결과, 모든 항목에서 각 섭취군 내 및 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 14. 시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 식이섭취량 변화

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=13)			p-value[1)]
	0 w	8 w	p-value[1)]	0 w	8 w	p-value[1)]	
섭취열량 (kcal)	1682.22 ±448.54	1626.73 ±321.64	0.684	1795.58 ±392.08	1605.39 ±447.35	0.065	0.407
탄수화물 (g)	222.13 ±71.36	213.11 ±57.70	0.566	252.04 ±59.72	226.33 ±71.86	0.125	0.446
지방 (g)	44.24 ±12.71	38.20 ±11.42	0.205	49.75 ±17.13	42.62 ±15.59	0.159	0.859
단백질 (g)	65.52 ±15.10	58.96 ±11.93	0.172	67.50 ±16.56	66.61 ±17.72	0.705	0.406
식이섬유 (g)	19.89 ±7.27	19.40 ±6.49	0.711	21.80 ±5.8	19.13 ±6.81	0.020	0.172
수분 (g)	949.37 ±310.83	953.09 ±306.91	0.962	1014.14 ±356.84	975.37 ±401.01	0.628	0.620

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

표 15. 시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 신체활동도 변화

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=13)			p-value[1)]
	0 w	8 w	p-value[1)]	0 w	8 w	p-value[1)]	
MET value (min/week)	1693.33 ±1408.19	1706.67 ±1457.56	0.965	2183.08 ±2784.41	2107.69 ±1863.29	0.918	0.905
Calorie (kcal/week)	1954.33 ±1781.62	1950.3 ±1791.26	0.991	2592.32 ±3663.98	2255.68 ±1957.21	0.704	0.714

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

MET value; Metabolic equivalent of task

11. 안전성 평가

본 인체적용시험은 마늘발효액과 플라세보를 섭취하였을 때, 체내 변화를 살펴보는 것을 목적으로 하였으며, 안전성 평가는 시험에 참여하여 최소한 1회 이상 인체적용시험용제품을 섭취한 연구대상자 30명(safety 분석군)을 대상으로 분석하였다.

11.1. 자 · 타각 증상 등 이상반응

이상반응 발생률에 대한 결과를 표 16~17에 요약하였다. 인체적용시험용제품을 섭취한 30명의 연구대상자 중 시험기간 동안 9명의 연구대상자에서 총 15건의 경도 또는 중등도의 이상반응과 2건의 중대한 이상반응이 발생하였다. 발생한 이상반응은 소화불량 2건, 두통 11건, 무기력증 1건, 설사 1건이었고, 중대한 이상반응은 교통사고로 인한 현기증 1건, 오른쪽 어깨 통증 1건이었다.

이상반응 중 두통과 소화불량의 발생 건수가 플라세보군에 비해 마늘발효액 섭취군에서 많았으며(표 17), 시험용제품 섭취 직후 발생하여 제품 섭취와 인과관계 가능성이 있다고 판단하였다. 두통과 소화불량 증상의 중증도는 경증이었다. 시험용제품 섭취 일시중단에 의한 증상 소실을 확인한 후 재섭취 할 수 있도록 하였으며 재섭취 시에는 해당 이상반응이 발생하지 않았다.

전체 이상반응 발생 수 및 이상반응 증상 별 발생 수에 대한 통계분석 결과, 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었으나 (표 16~17), 통계적 타당성을 구명하기에는 연구대상자 수가 적은 탐색적 연구임에 따라 향후 보다 큰 규모의 확증적 인체적용시험을 통한 이상반응 평가가 필요하다.

표 16. 이상반응 발생 여부

	마늘발효액군 (n=15)	플라세보군 (n=15)	Total (n=30)	*p*-value[1)]
이상반응 발생 (Yes/No)	7/8	2/13	9/21	0.109

Values are presented as number

[1)]Analyzed by Fisher's exact test

표 17. 증상 별 이상반응 발생 여부

증상	마늘발효액군 (n=15)	플라세보군 (n=15)	*p*-value[1)]
소화불량(Yes/No)	2/13	0/15	0.483
두통(Yes/No)	5/10	1/14	0.169
무기력(Yes/No)	1/14	0/15	>.999
설사(Yes/No)	1/14	0/15	>.999

Values are presented as number

[1)]Analyzed by Fisher's exact test

11.2. 진단검사의학 검사

시험제품 섭취 전과 섭취 8주 후 측정한 진단검사의학검사 결과를 표 18에 요약하였다.

분석 결과, WBC 수치가 시험군에서 증가하고 대조군에서 감소하여 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었으나(p=0.003), 참고치 범위 내에서 일어난 임상적인 의미가 없는 변화라고 판단하였다.

표 18. 진단검사의학검사 결과

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=15)			p-value[1)]
	0 w	8 w	p-value[1)]	0 w	8 w	p-value[1)]	
WBC ($\times 10^3$/μl)	5.68 ±2.16	6.14 ±2.06	0.042*	5.97 ±1.20	5.49 ±0.98	0.024*	0.003**
RBC ($\times 100^3$/μl)	4.65 ±0.47	4.61 ±0.41	0.322	4.64 ±0.50	4.52 ±0.38	0.122	0.621
Hb (g/dl)	14.57 ±1.61	14.52 ±1.45	0.733	14.34 ±1.38	14.09 ±1.37	0.097	0.506
Hct (%)	42.33 ±4.32	41.80 ±3.85	0.199	41.85 ±3.82	40.22 ±3.10	0.003**	0.084
PLT ($\times 10^3$/μl)	240.87 ±46.06	249.93 ±46.86	0.177	249.40 ±48.23	257.85 ±50.67	0.602	0.610
ALP (IU/L)	64.60 ±15.08	63.20 ±15.88	0.506	56.93 ±10.22	56.08 ±13.7	0.787	0.721
GGT (IU/L)	48.67 ±53.14	52.47 ±52.46	0.297	37.13 ±45.21	38.31 ±61.53	0.526	0.900
AST (IU/L)	24.53 ±5.73	23.8 ±7.48	0.524	22.33 ±5.70	20.77 ±4.51	0.336	0.803
ALT (IU/L)	28.27 ±15.86	27.13 ±18.14	0.627	23.47 ±11.88	20.23 ±10.8	0.335	0.866
TB (mg/dL)	0.84 ±0.24	0.84 ±0.32	0.883	0.86 ±0.22	0.87 ±0.21	0.154	0.384
TP (g/dL)	7.27 ±0.32	7.18 ±0.26	0.169	7.35 ±0.53	7.15 ±0.32	0.066	0.343
Albumin (g/dL)	4.31 ±0.19	4.25 ±0.16	0.199	4.36 ±0.25	4.23 ±0.21	0.013*	0.280

BUN (mg/dL)	14.33 ±4.32	14.60 ±4.22	0.755	13.20 ±2.93	12.69 ±3.12	0.599	0.563
Creatinine (mg/dL)	0.69 ±0.16	0.71 ±0.15	0.277	0.63 ±0.13	0.64 ±0.10	0.567	0.620
TC (mg/dl)	190.80 ±30.82	192.00 ±33.92	0.791	213.40 ±35.28	213.23 ±41.45	0.802	0.948
TG (mg/dL)	158.80 ±93.77	197.87 ±135.30	0.067	133.87 ±59.34	161.46 ±132.32	0.155	0.894
HDL-C (mg/dL)	46.40 ±10.48	46.40 ±9.30	>.999	55.80 ±5.72	53.77 ±5.61	0.092	0.214
LDL-C (mg/dL)	112.53 ±31.44	111.38 ±30.79	0.315	130.87 ±30.5	132.46 ±35.54	0.731	0.381
Glucose (mg/dL)	94.20 ±9.13	92.67 ±14.04	0.512	90.53 ±9.55	88.46 ±9.94	0.318	0.793
CK (IU/L)	119.33 ±73.20	103.60 ±49.88	0.352	89.71 ±37.60	99.08 ±41.47	0.443	0.236
LD (IU/L)	365.67 ±52.85	351.93 ±36.81	0.328	363.27 ±43.67	371.23 ±51.00	0.347	0.190
SG	1.02 ±0.01	1.02 ±0.00	0.967	1.02 ±0.01	1.02 ±0.00	0.575	0.635
pH	6.00 ±0.57	5.77 ±0.59	0.264	6.03 ±0.72	6.08 ±0.84	0.925	0.429

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$

11.3. 체온 변화

매 방문 시(0주, 4주, 8주)마다 연구대상자들의 체온을 측정한 결과를 표 19~20에 요약하였다.

분석 결과, 플라세보군의 체온이 섭취 전에 비해 섭취 8주 후 통계적으로 유의하게 증가하였으나(p=0.007), 참고치 범위 내에서 일어난 임상적인 의미가 없는 변화라고 판단하였으며, 방문 별 및 시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 두 섭취군 간 비교 시, 체온 변화에 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 19. 방문 별 체온 변화

	마늘발효액군 (n=15)				플라세보군 (n=15)				P-value[1)]
	0 w	4 w	8 w	P-value[1)]	0 w	4 w	8 w	P-value[1)]	
Temperature : Left(℃)	36.47 ±0.20	36.51 ±0.21	36.57 ±0.19	0.243	36.45 ±0.22	36.54 ±0.25	36.61 ±0.22	0.063	0.827
Temperature : Right(℃)	36.47 ±0.19	36.48 ±0.20	36.40 ±0.26	0.386	36.38 ±0.20	36.49 ±0.25	36.40 ±0.22	0.133	0.399

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

표 20. 인체적용시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 체온 변화

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=15)			P-value[1)]
	0 w	8 w	P-value[1)]	0 w	8 w	P-value[1)]	
Temperature : Left(℃)	36.47 ±0.20	36.57 ±0.19	0.124	36.45 ±0.22	36.61 ±0.22	0.007**	0.544
Temperature : Right(℃)	36.47 ±0.19	36.40 ±0.26	0.246	36.38 ±0.20	36.40 ±0.22	0.751	0.275

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

**P <.01

11.4. 신체계측지표 변화

시험용제품 섭취 전과 섭취 8주 후 측정한 체중 및 체질량지수를 표 21에 요약하였다.

분석 결과, 두 섭취군의 체중과 체질량지수가 제품 섭취 전에 비해 섭취 8주 후 통계적으로 유의하게 감소하는 경향이었으나, 시험용제품 섭취 전 · 섭취 8주 후 두 섭취군 간 비교 시 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

표 21. 신체계측 지표 변화

	마늘발효액군 (n=15)			플라세보군 (n=15)			*P*-value[1)]
	0 w	8 w	*P*-value[1)]	0 w	8 w	*P*-value[1)]	
체중 (kg)	75.08 ±18.09	74.55 ±18.68	0.070	68.61 ±10.40	67.46 ±10.18	0.036*	0.828
체질량지수 (kg/m^2)	26.72 ±4.39	26.50 ±4.58	0.055	25.85 ±2.62	25.39 ±2.59	0.030*	0.934

Values are presented as mean±SD

[1)]Analyzed by linear mixed model for repeated measures data

*$P<.05$

12. 결론

본 연구는 마늘발효액 섭취에 의한 혈압 개선 효과와 안전성을 평가하기 위한 8주간, 무작위배정, 이중눈가림, 플라세보-대조 인체적용시험이다.

본 인체적용시험의 등록 목표 연구대상자 수는 30명으로, 서면동의서를 작성한 34명의 자원자 중 연구대상자 적합성 평가(스크리닝 검사)를 통해 선정된 30명의 연구대상자가 무작위배정, 이중눈가림 방법을 통해 본 인체적용시험에 참여(마늘발효액군 15명, 플라세보군 15명)하였다.

시험자는 모든 연구대상자를 대상으로 시험계획서에 정해진 바에 따라 혈압, 맥박수, 평균동맥압, 맥압, 맥파, 혈중 레닌 활성도(Renin activity), 혈중 알도스테론(Aldosterone), 고감도 C-반응단백(hs-CRP) 등의 유효성 평가와 이상반응 조사, 활력징후, 심전도 및 진단검사의학 검사 등의 안전성 평가를 수행하였다. 유효성 평가를 위한 주 분석군은 계획서순응연구대상자군(Per protocol Set 또는 PP분석군)으로써 플라세보군 중 2명이 동의철회로 중도탈락함에 따라, 인체적용시험 계획서에 명시된 모든 절차를 수행 완료한 총 28명(마늘발효액군 15명, 플라세보군 13명)의 연구대상자를 대상으로 유효성 평가 분석을 시행하였다. 안전성 평가를 위한 주 분석군은 인체적용시험에 참여하여 최소 1회 이상 시험용제품을 섭취한 연구대상자군(safety군) 이었다.

본 시험에 참여한 연구대상자는 평균연령 49.30±9.85세, 평균 수축기혈압 133.36±8.42 mmHg, 이완기혈압 84.46±8.39 mmHg 로서 정상 혈압 범위(정상 수축기 혈압 120 mmHg 이하, 정상 이완기 혈압 80 mmHg 이하)보다 높은 혈압 소견을 가진 성인 남녀였다.

유효성 평가를 위해 시험용제품 단회 섭취(120 ml) 시와 장기간(360 ml/day, 8주) 섭취 시의 혈압 및 맥박수 변화를 분석한 결과, 0주차와 8주차에 시행한 시험용제품 단회 섭취에서 마늘발효액군의 수축기혈압과 이완기혈압이 시험용제품 섭취 10분, 30분 및 60분 후 플라세보군에 비해 유의하게 감소하였다. 마늘발효액군의 맥박수는 제품 섭취 10분, 30분, 60분 후에 유의하게 증가하였다. 시험용제품 8주 섭취에 의한 혈압, 맥박수, 평균동맥압, 평균맥압, 혈중 renin activity, aldosterone, hs-CRP 변화 비교에서는 두 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

안전성 평가를 위해 연구대상자 30명(safety군)을 대상으로 이상반응, 진단검사의학 검사(혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사), 활력징후(체온) 등의 측정치를 분석하였다. 이상반응 분석 결과, 총 30명의 연구대상자 중 9명의 연구대상자에서 15건의 이상반응과 교통사고로 인한 중대한 이상반응 2건이 발생하였다. 이상반응 중 두통과 소화불량 증상은 증상이 경하고 일시적이었으나 시험제품 섭취와 인과관계 가능성이 있었다. 진단검사의학 검사, 활력징후 검사에서는 임상적으로 의미 있는 변화가 없었다.

모든 연구대상자를 대상으로 식이섭취와 신체활동도 조사를 하였으며, 마늘발효액군과 플라세보군의 열량, 거대영양소 및 식이섬유 섭취량, 신체활동량(MET value) 및 활동소비열량에 있어서 섭취군 내 및 섭취군 간 통계적으로 유의한 차이가 없어서 (p>.05) 연구대상자들이 인체적용시험에 참여하는 동안 일상생활을 일정하게 유지하였음을 알 수 있었고, 식이섭취와 신체활동도가 본 시험 결과에 미치는 영향이 거의 없을 것으로 판단하였다.

요약하면, 본 탐색적 인체적용시험을 통해 높은 혈압 소견이 있는 성인에서 마늘발효액 섭취 직후 혈압이 의미 있게 감소함을 확인하여 마늘발효액 섭취가 높은 혈압 개선 기능이 있음을 알 수 있었고 대규모 확증적 인체적용시험을 수행하기 위한 과학적 토대를 마련하였다. 마늘발효액 섭취에 의한 맥박수 증가(반사성 빈맥)와 경한 두통 등의 이상반응이 관찰됨에 따라 향후 마늘발효액의 혈압 강하 기전 등을 밝히는 연구와 유효성과 안전성을 확증하는 대규모 인체적용시험이 필요하다고 판단하였다.

13. 참고문헌

1) Saulnier L, Sado PE, Branlard G, Charmet G, Guillon F. (2007) Wheat arabinoxylans: Exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties. J Cereal Sci 46:261-281.
2) 농촌진흥청 국립농업과학원, 전통 향토음식 용어사전, 교문사, 2010
3) 이한창. (1991) 발효식품. 신광출판사. 189-194.
4) Jang JH, Kim CY, Lim SH, Yang CH, Song KS, Han HS, Lee HK, Lee JW. (2010) Neuroprotective effects of Triticum aestivum L. against beta-amyloid-induced cell death and memory impairment. Phytotherapy Research 24:76-84.
5) Han HS, Jang JH, Jang JH, Choi JS, Kim YJ, Lee C, Lim SH, Lee HK, Lee JW. (2010) Water extract of Triticum aestivum L. and its components demonstrate protective effect in a model of vascular dementia. J Med Food 13:572-578.
6) Han HS, Choi JS, Kim YJ, Lim SH, Lee HK, Jang JH, Moon YS, Lee JW. (2008) Protective effect of Triticum aestivum L. extract and its components, starch, in rat focal cerebral ischemia. Current Topics in Nutraceutical Research 6:47-54.
7) Guidance for industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. July 2005
8) Macrae FA, Kilias D, Abbott M, Sharpe K, Young GP. (1997) Effect of cereal fibre source and processing on rectal epithelial cell proliferation. Gut 41:239-244
9) Alberts DS, Martinez ME, Roe DJ, Guillen-Rodriguez JM, Marshall JR, Van Leeuwen JB, Reid ME, Ritenbaugh C, Vargas PA, Bhattacharyya AB, Earnest DL, Sampliner RE. (2000) Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. The New England Journal of Medicine 342:1156-1162
10) Jacobs ET, Giuliano AR, Roe DJ, Guillen-Rodriguez JM, Hess LM, Alberts Ds, Martinez ME. (2002b) Intake of supplemental and total fiber and risk of colorectal adenoma recurrence in the wheat bran fiber trial. Cancer Epideiology, Biomarkers & Prevention 11:906-914.
11) Pomare EW, Heaton KW, Low-Beer TS, Espiner HJ. (1976) The effect of wheat bran upon bile salt metabolism and upon the lipid composition of bile in

gallstone patients. Digestive Disease 21:521-526.

12) Park JH, Park YN, Ko HJ. (1991) Modification of the mini-mental state examination for use in the elderly in a non-western society: Part Ⅱ. Cutoff points and their diagnostic validities. Int J Geriatr Psychiatry 6:875-882.