

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2016년 6월 30일 (30.06.2016)



(10) 국제공개번호
WO 2016/105035 A2

- (51) 국제특허분류:
A61K 36/28 (2006.01) A61P 19/00 (2006.01)
A61K 36/54 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/013948
- (22) 국제출원일: 2015년 12월 18일 (18.12.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2014-0187418 2014년 12월 23일 (23.12.2014) KR
- (71) 출원인: 한국 한의학 연구원 (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) [KR/KR]; 34054 대전시 유성구 유성대로 1672, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 김동선 (KIM, Dong Seon); 34049 대전시 유성구 엑스포로 448, 507동 701호, Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 최규환 (CHOI, Kyu Whan); 35209 대전시 서구 한밭대로 745, 12층 그린국제특허법률사무소, Daejeon (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,

AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

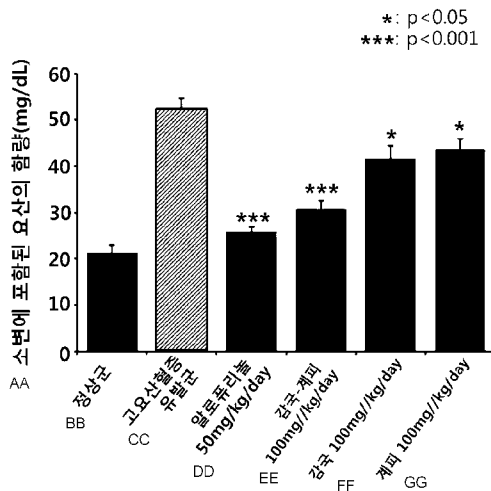
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

(54) Title: ANTI-GOUT COMPOSITION CONTAINING MIXTURE EXTRACT OF *CHRYSANTHEMUM INDICUM* AND *CINNAMOMUM CASSIA* AS ACTIVE INGREDIENT

(54) 발명의 명칭 : 감국 및 계피 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물



AA ... Content of uric acid contained in urine (mg/dL)
 BB ... Normal group
 CC ... Hyperuricacidemia inducing group
 DD ... Allopurinol 50 mg/kg/day
 EE ... *Chrysanthemum indicum*-*Cinnamomum cassia* 100 mg/kg/day
 FF ... *Chrysanthemum indicum* 100 mg/kg/day
 GG ... *Cinnamomum cassia* 100 mg/kg/day

(57) Abstract: The present invention relates to an anti-gout composition containing a mixture extract of *Chrysanthemum indicum* and *Cinnamomum cassia* as an active ingredient. It was verified that the xanthine oxidase inhibitory effect of the mixture extract of *Chrysanthemum indicum* and *Cinnamomum cassia* of the present invention was remarkable compared with the treatment with *Chrysanthemum indicum* and *Cinnamomum cassia* alone, and it was verified that the amount of uric acid in the urine was reduced by the administration with the mixture extract of *Chrysanthemum indicum* and *Cinnamomum cassia* of the present invention in an animal model. In addition, the mixture extract of *Chrysanthemum indicum* and *Cinnamomum cassia* of the present invention can be widely utilized in a gout-related industry since the mixture extract is an active ingredient derived from natural materials and thus the mixture extract is safe and the raw materials therefor are relatively easily supplied.

(57) 요약서: 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 잔틴 산화효소 저해 효과가 감국 또는 계피를 단독으로 처리한 경우보다 현저하다는 것을 확인하였으며, 동물모델에서 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 투여에 의해 소변 내의 요산량이 감소한 것을 확인하였다. 또한 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물은 천연물 유래의 유효성분이므로 안전할 뿐만 아니라, 원료의 공급이 비교적 용이하므로 통풍(gout) 관련 산업에 널리 활용될 수 있다.

WO 2016/105035 A2

명세서

발명의 명칭: 감국 및 계피 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 감국 및 계피 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 통풍은 음식을 통해 섭취되는 퓨린(purine)이라는 물질을 인체가 대사하고 남은 산물인 요산의 혈액 내 농도가 높아져 생성된 요산염결정(monosodium urate monohydrate crystals; MSU)이 관절의 연골, 힘줄, 주위 조직에 침착되는 질병이다. 이와 같은 통풍 관절염의 유병률 증가의 원인으로는 식생활의 서구화, 비만의 증가, 인구의 고령화, 신장질환과 고혈압 유병율의 증가, 티아지드(Thiazide) 등의 이뇨제와 저용량 아스피린 사용의 증가 등을 들 수 있다.
- [3] 또한, 통풍은 성인 남성에게서 매우 흔한 염증성 관절염이다. 서구에서 약 1~2%의 유병률을 보이며, 서양인에 비해 동양인에서는 질병 빈도가 낮은 것으로 알려져 왔으나, 최근 서구화된 식생활이나 생활 습관에 의해 서구와 아시아권 모두 유병률이 증가하는 것으로 보고되고 있다. 국내에서도 성인의 9.3%(남자의 14.3%, 여자의 2.2%)가 고요산혈증을 가지는 것으로 파악되고 있다. 통풍은 비만인 남자에게서 호발하는 성인병의 일종으로 혈중 내에 증가한 요산이 관절이나 주위조직에 요산결정(monosodium urate crystal; MSU) 형태로 침착되어 염증반응을 유발하여 통증, 부종, 심하면 관절의 변형을 일으킨다. 병의 경과를 혈중 내에 요산농도가 증가하나 증상이 없는 시기부터 급성으로 간헐성의 관절염이 발생하다 관절의 변형을 동반하는 만성 통풍성 관절염으로 진행된다.
- [4] 통풍은 그 치료법이 명확하고 성공적으로 치료될 수 있는 질병으로 알려져 있으나 고혈압, 만성 신부전 등 다른 질병과 동반되는 경우가 흔하여 약제 부작용을 세심하게 고려해야 하는 경우가 많고 비 약물적 치료로서 생활습관을 변화시키는 환자의 노력이 장기 치료에 예후를 좋게 하는데 필수적이다. 통풍과 고 요산 혈증은 고혈압, 고지혈증, 혈당증가, 복부 비만 등의 임상양상을 보이며 동맥경화성 심질환과 제2형 당뇨병 등의 성인병의 위험도 증가를 가져오는 복합적인 병증인 대사증후군의 진단기준에는 들어가지 않으나 대사증후군은 밀접한 관계를 가지는 것으로 생각된다. 국내에서는 통풍 환자의 44%에서 대사증후군이 동반된 것으로 보고되었다. 통풍은 대개 급성 단관절염 형태로 나타나나 소수관절 또는 드물게 다관절을 침범하기도 한다. 급성 통풍의 치료에 쓰이고 있는 비스테로이드성 항염제(non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs)는 염증반응을 억제하는 것으로 잘 알려져 있으며, 백혈구의 활성화 및 이동을 억제하여 항염증작용을 나타내는 콜키친(colchicine), 스테로이드는 모두

통풍발작을 효과적으로 치료할 수 있는 약제이며, 선택적 시클로옥시게나아제(cyclooxygenase; COX-2) 억제제 역시 기존의 비스테로이드성 항염제와 같은 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

- [5] 또한, 혈중 요산 농도를 포화상태 이하로 장기간 유지하면 급성 통풍성 관절염의 예방뿐 아니라 이미 생긴 통풍 결절(tophi)의 크기를 줄일 수 있다. 통풍 만성기에는 혈중의 요산농도를 낮추는 치료를 하는데, 요산 저하제는 기전에 따라 잔틴 산화효소(xanthine oxidase; XO) 저해제와 요산배출촉진제(uricosuric agent)로 대별되는데, 요산 합성 억제제에는 전통적으로 널리 사용되어 온 알로푸리놀(allopurinol)과 최근 신약으로 개발된 페북소스타트(febugostat)가 있다. 알로푸리놀(allopurinol)은 잔틴 산화효소(xanthine oxidase; XO) 억제제로서 고요산혈증의 원인에 관계없이 효과적으로 사용할 수 있는 약물이지만, 알로푸리놀(allopurinol)의 가장 심각한 부작용은 과민성증후군(hypersensitivity syndrome)으로 발열, 홍반, 호산구 증가, 간염, 신부전 등을 보이며 사망에 이를 수 있는 위험이 있는 것으로 알려져 있다. 페북소스타트(febugostat) 역시 잔틴 산화효소 억제제이나 알로푸리놀(allopurinol)과 달리 비퓨린계 선택적 차단제로서 주로 간에서 대사되어 글루크리로나이드(glucuronide)를 형성한다. 대부분의 통풍은 만성으로 진행되며 이때는 증상이 없다 하더라도 예방적으로 항염증 제제와 요산농도를 낮추는 치료를 한다. 이러한 예방 치료는 병이 진정상태로 일정기간 유지된 후에 사용해야 하며 그렇지 않은 경우 통풍이 더 심하게 재발한다. 하지만, 적절한 병의 진정기간에 대해서는 논쟁의 여지가 많고 또한 이러한 예방치료도 간헐적으로 재발하는 통풍의 급성적인 발병을 억제하기는 현재 개발된 약제로는 힘든 실정이며, 천연물을 이용한 통풍(gout) 유발 효소인 산화효소에 대한 저해기술은 아직까지도 미흡한 실정이다.
- [6] 통풍약은 만성적으로 사용해야 하므로 콜키친(cholchine)이나 알로푸리놀(allopurinol)이 일으키는 부작용이 심각한 문제가 된다. 따라서 예방적으로 긴 기간 동안 사용해도 부작용이 없으며 염증을 완화시킬 수 있는 천연물 제제에 연구개발이 필요하지만, 아직까지는 활발하게 진행되지 못하고 있으며, 현재까지의 연구 결과로 알려진 천연물의 일례로, 한국공개특허 제2014-0106772호에 개시된 '감국 추출물'이 통풍 억제 효과가 있다는 것이 알려져 있다.
- [7] 한편, 계피는 예로부터 체질이 허약하고 기혈이 허한 사람을 위한 한방약제로 쓰여 면역능력을 촉진하는 효과가 알려져 있으며(한국등록특허 제0842053호), 계피 추출물을 함유하는 동맥 경화증 예방 및 치료용 조성물(한국등록특허 제0294091호), 육계피 추출물을 함유하는 화장료 조성물(한국공개특허 제2001-0018668호) 및 나노입자화된 계피 추출물을 함유하는 구강위생 증진용 조성물(한국등록특허 제0489267호)에 관한 것이 개시되어 있다.
- [8] 하지만, 본 발명에서와 같이 감국 및 계피 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물에서 통풍 억제에 대한 증진된 효과에 대해서는

개시된 바가 없다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 감국 및 계피 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물이 단독으로 처리한 감국 추출물 또는 계피 추출물에 비해 잔틴 산화효소 저해율이 현저하게 증진된다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제 해결 수단

- [10] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물을 제공한다.
- [11] 또한, 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [12] 또한, 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공한다.
- [13] 또한, 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍에 의한 관절염의 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공한다.

발명의 효과

- [14] 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물에 관한 것으로, 통풍 유발 효소인 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)를 저해하며, 소변 내 요산량을 감소함으로써, 통풍의 예방, 개선 또는 치료 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [15] 도 1은 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 잔틴 산화효소의 저해 활성을 확인한 결과이다.
- [16] 도 2는 본 발명의 50, 100, 200mg/kg/day의 감국 및 계피 혼합 추출물의 농도별 처리에 따른 소변 내 포함된 요산의 함량을 확인한 결과이다. *, ***는 고 요산 혈증 유발군에 대비하는 알로푸리놀 처리군과 50, 100, 200mg/kg/day의 감국 및 계피 혼합 추출물의 농도별 처리군에서의 소변 내 포함된 요산의 함량이 통계적으로 유의하게 차이가 있다는 것을 나타내며, *는 p값이 0.05 미만이고, ***는 p값이 0.001 미만임을 의미한다.
- [17] 도 3은 100mg/kg/day의 감국 추출물, 100mg/kg/day의 계피 추출물, 및 100mg/kg/day의 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 처리에 따른, 소변 내

포함된 요산의 함량을 확인한 결과이다. *, ***는 고 요산 혈증 유발군에 대비하는 알로푸리놀 처리군, 감국 추출물 처리군, 계피 추출물 처리군, 감국 및 계피 혼합 추출물의 농도별 처리군의 소변 내 포함된 요산의 함량이 통계적으로 유의하게 차이가 있다는 것을 나타내며, *는 p값이 0.05 미만이고, ***는 p값이 0.001 미만임을 의미한다.

- [18] 도 4는 100mg/kg/day의 감국 추출물, 100mg/kg/day의 계피 추출물, 및 100mg/kg/day의 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 처리에 따른, 혈청 내 포함된 요산의 함량을 확인한 결과이다. *, ***는 고 요산 혈증 유발군에 대비하는 알로푸리놀 처리군, 감국 추출물 처리군, 계피 추출물 처리군, 감국 및 계피 혼합 추출물의 농도별 처리군의 혈청 내 포함된 요산의 함량이 통계적으로 유의하게 차이가 있다는 것을 나타내며, *는 p값이 0.05 미만이고, ***는 p값이 0.001 미만임을 의미한다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [19] 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물에 관한 것이다.
- [20] 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물은 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매로 추출하는 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않으며, 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물의 혼합 비율은 1:0.1~10의 중량비가 되도록 혼합한 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 1:1의 중량비로 혼합하는 것이다.
- [21] 본 발명의 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물은 감국 추출물과 계피 추출물을 각각 추출한 후 혼합하는 것이 바람직하지만, 감국과 계피를 혼합하여 추출하는 것도 무방하게 사용할 수 있다.
- [22] 본 발명에서 사용되는 감국은 식물 전체, 꽃, 잎, 줄기 및 뿌리 어느 부위든 모두 사용할 수 있으며, 계피는 통상의 상달나무과의 나무껍질로 만든 약재를 의미한다.
- [23] 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물은 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)를 억제하는 특징이 있다.
- [24] 또한, 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 예방 또는 개선용 건강기능식품에 관한 것이다.
- [25] 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 포함하는 통풍의 예방 또는 개선용 건강기능식품은 음료, 환, 정제(tablet), 캡슐제(capsule), 산제 중에서 선택된 어느 하나로 제조하거나, 다른 식품 또는 식품의 성분에 첨가하여 제조될 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 적절하게 제조될 수 있다.
- [26] 본 발명의 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합

추출물을 첨가할 수 있는 식품의 일례로는 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 중에서 선택된 어느 하나의 형태일 수 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.

- [27] 상기 건강기능식품은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 및 천연 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알킨산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 천연 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다.
- [28] 본 발명의 건강기능식품은 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다.
- [29] 또한, 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 예방 또는 치료용 약학조성물에 관한 것이다. 본 발명의 약학 조성물은 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물 이외에 추가로 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 바람직하게 본 발명의 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토오스, 텍스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크 및 마그네슘 스테아레이트 등이 있으며, 이에 제한되지 않는다.
- [30] 또한, 통상의 방법에 따라 경구 또는 비경구의 제형으로 투여될 수 있으며, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제,

동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 또한, 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌 글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

[31] 또한, 본 발명은 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍에 의한 관절염의 예방 또는 치료용 약학조성물에 관한 것이다.

[32]

[33] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[34]

[35] **실시예 1. 감국 및 계피 에탄올 혼합 추출물의 제조**

[36] 1kg의 감국 및 계피 각각에 대하여 15ℓ의 70% 에탄올을 가하고, 85°C에서 3시간 동안 추출한 후, 여과한 액을 50°C에서 감압 농축하여 95g의 감국 에탄올 추출물과 77g의 계피 에탄올 추출물을 수득하였다. 상기 수득한 감국 에탄올 추출물과 계피 에탄올 추출물을 1:1의 중량비로 혼합하여 감국과 계피 에탄올 혼합 추출물을 제조하였다.

[37]

[38] **실시예 2. 감국 및 계피 물 혼합 추출물의 제조**

[39] 1kg의 감국 및 계피 각각에 대하여 15ℓ의 정제수를 가하고, 100°C에서 3시간 동안 추출한 후, 여과한 액을 55°C에서 감압 농축하여 146g의 감국 물 추출물과 110g의 계피 물 추출물을 수득하였다. 상기 수득한 감국 물 추출물과 계피 물 추출물을 1:1의 중량비로 혼합하여 감국 및 계피 물 혼합 추출물을 제조하였다.

[40]

[41] **실시예 3. 감국 및 계피 에탄올 혼합 추출물의 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)의 저해 활성 분석**

[42] 본 발명의 실시예 1에서 제조한 감국 및 계피 에탄올 혼합 추출물을 이용하여 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)의 저해 활성을 분석하였다. 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)의 저해 활성 분석은 Sirpe와 Della corte의 방법[Stirpe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3563]에 따라 실시하였다.

[43]

상기 실시예 1에서 제조한 혼합 추출물을 5배로 희석한 후, 희석액 0.1ml와 0.1M 칼륨 인산염 완충용액(potassium phosphate buffer; pH 7.5) 0.6ml에 잔틴(Xanthine) 2mM을 녹인 기질액 0.2ml를 첨가하였다. 여기에 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)(0.2U/ml) 0.1ml를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨

후, 1N HCl 1ml를 가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액 중에 생성된 요산(uric acid)를 흡광도 292nm에서 측정하였다. 혼합 추출물에 대한 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)의 저해 활성은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었으며, 대조군으로 혼합 추출물이 아닌 감국 에탄올 추출물과 계피 에탄올 추출물을 혼합 추출물과 동일하게 희석하여 동일한 방법으로 잔틴 산화효소(Xanthine oxidase)의 저해 활성을 측정하여 도 1에 개시하였다.

[44] 그 결과, 동일한 농도의 감국 추출물 또는 계피 추출물을 단독으로 처리한 것에 비해 감국 및 계피의 혼합 추출물을 처리한 경우, 잔틴 산화효소의 저해 활성이 통계적으로 유의하게 상승하는 효과(synergistic effect)가 있음을 확인하였다.

[45]

[46] **실시예 4. 통풍 유발 동물모델의 뇨에 포함된 요산의 감소 효과 분석**

[47] 통풍 동물 모델인 SD-랫트에 고요산혈증을 유발하기 위하여, 칼륨 옥소네이트(150mg/kg, 0.5% 카복시메틸셀룰로스나트륨(Sodium Carboxymethylcellulose; CMC-Na with 0.1M sodium acetate, pH5)를 복강주사 하였다. 24시간 후에 소변을 받아 QuantiChrom™ 요산 어세이 키트(DIUA-250, BioAssay Systems, USA)를 사용하여 고요산 혈증이 유발된 실험 동물을 선별하였다. 선별한 실험 동물에 200mg/kg, 100mg/kg, 50mg/kg의 감국 및 계피 혼합 추출물(1:1)을 투여하였다. 마찬가지로 양성 대조군으로 50mg/kg의 알로푸리놀을 0.1% 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모놀리에이트(polyoxyethylene sorbitane monoleate)를 포함한 0.01M PBS(phosphate buffered saline) 완충용액에 현탁하여 3일간 경구투여 하였고, 부검 전날 16시간 절식시켰다.

[48] 마지막 경구 투여 후, 2시간 동안 소변을 받고, 에틸에테르(ethyl ether)로 마취 후, 혈액을 취해 QuantiChrom™ 요산 어세이 키트(DIUA-250, BioAssay Systems, USA)를 사용하여 요산량을 측정하였다.

[49] 소변에 포함된 요산량의 측정 결과는 도 2에 개시한 바와 같이, 칼륨 옥소네이트의 투여에 의해 요산량이 증가하여 약 50mg/dL로 나타났으며, 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 투여에 의해 약 32mg/dL까지 감소하여 양성대조구인 알로푸리놀과 유사한 효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[50]

[51] **실시예 5. 통풍 유발 동물모델의 혈중 및 뇨에 포함된 요산 감소에 대한 감국 및 계피 추출물의 시너지 효과 분석**

[52] 통풍 동물 모델인 SD-랫트에 고요산혈증을 유발하기 위하여, 칼륨 옥소네이트(150mg/kg, 0.5% 카복시메틸셀룰로스나트륨(Sodium Carboxymethylcellulose; CMC-Na with 0.1M sodium acetate, pH5)를 복강주사 하였다. 24시간 후에 소변을 받아 QuantiChrom™ 요산 어세이 키트(DIUA-250, BioAssay Systems, USA)를 사용하여 고요산 혈증이 유발된 실험 동물을 선별하였다. 선별한 실험 동물에 각 100mg/kg의 감국추출물, 계피추출물, 감국

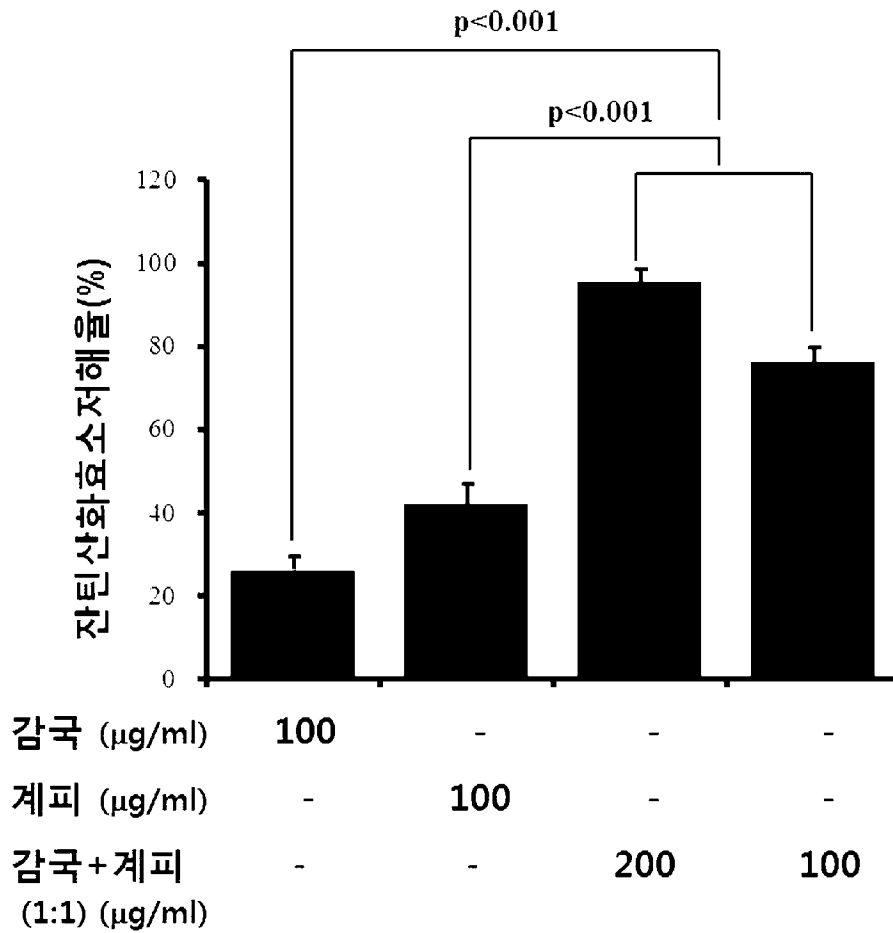
및 계피 혼합 추출물(1:1)을 투여하였다. 마찬가지로 양성 대조군으로 50mg/kg의 알로푸리놀을 0.1% 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모놀리에이트(polyoxyethylene sorbitane monoleate)를 포함한 0.01M PBS(phosphate buffered saline) 완충용액에 현탁하여 3일간 경구투여 하였고, 부검 전날 16시간 절식시켰다. 마지막 경구 투여 후, 2시간 동안 소변을 받고, 에틸에테르(ethyl ether)로 마취 후, 혈액을 취해 QuantiChrom™ 요산 어세이 키트(DIUA-250, BioAssay Systems, USA)를 사용하여 요산량을 측정하였다.

- [53] 소변 중 요산량의 측정 결과는 도 3에 개시한 바와 같이, 칼륨 옥소네이트의 투여에 의해 요산량이 증가하여 53mg/dL로 나타났으며, 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 투여에 의해 31mg/dL까지 감소하여 양성대조구인 알로푸리놀과 유사한 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 반면에 감국 추출물과 계피 단독 추출물은 42mg/dL과 44mg/dL로 감소하였으나, 감국 및 계피 혼합 추출물과 비교하여 미약하므로 감국과 계피 추출물이 혼합에 의한 시너지 효과가 있다는 것을 확인하였다.
- [54] 혈중 요산량의 측정 결과는 도 4에 개시한 바와 같이, 칼륨 옥소네이트의 투여에 의해 요산량이 증가하여 약 10.4mg/dL로 나타났으며, 본 발명의 감국 및 계피 혼합 추출물의 투여에 의해 약 6.3mg/dL까지 감소하여 양성대조군인 알로푸리놀과 유사한 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 반면에 감국 추출물과 계피 단독 추출물은 8.9mg/dL과 8.3mg/dL로 감소하였으나, 감국 및 계피 혼합 추출물과 비교하여 미약하므로 감국과 계피 추출물이 혼합에 의한 시너지 효과가 있다는 것을 확인하였다.

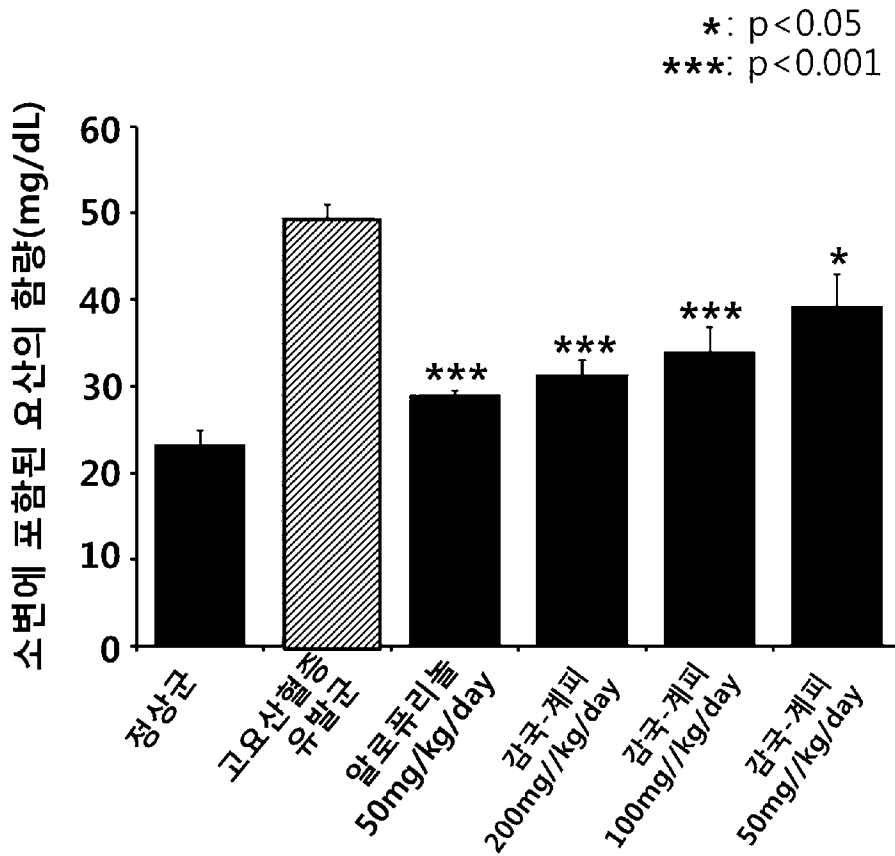
청구범위

- [청구항 1] 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 억제용 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 혼합 추출물은 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매로 추출하여 혼합한 것을 특징으로 하는 통풍 억제용 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물의 혼합 비율은 1:0.1~10의 중량비가 되도록 혼합한 것을 특징으로 하는 통풍 억제용 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물은 잔틴 산화효소(xanthine oxidase)를 억제하는 것을 특징으로 하는 통풍 억제용 조성물.
- [청구항 5] 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 예방 또는 개선용 건강기능식품.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물은 잔틴 산화효소(xanthine oxidase)를 억제하는 것을 특징으로 하는 통풍 예방 또는 개선용 건강기능식품.
- [청구항 7] 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍 예방 또는 치료용 약학조성물.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물 이외에 추가로 담체, 부형제 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 통풍 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 9] 제7항에 있어서, 상기 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물은 잔틴 산화효소(xanthine oxidase)를 억제하는 것을 특징으로 하는 통풍 예방 또는 치료용 약학 조성물.
- [청구항 10] 감국(*Chrysanthemum indicum*) 및 계피(*Cinnamomum cassia*) 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 통풍에 의한 관절염의 예방 또는 치료용 약학조성물.

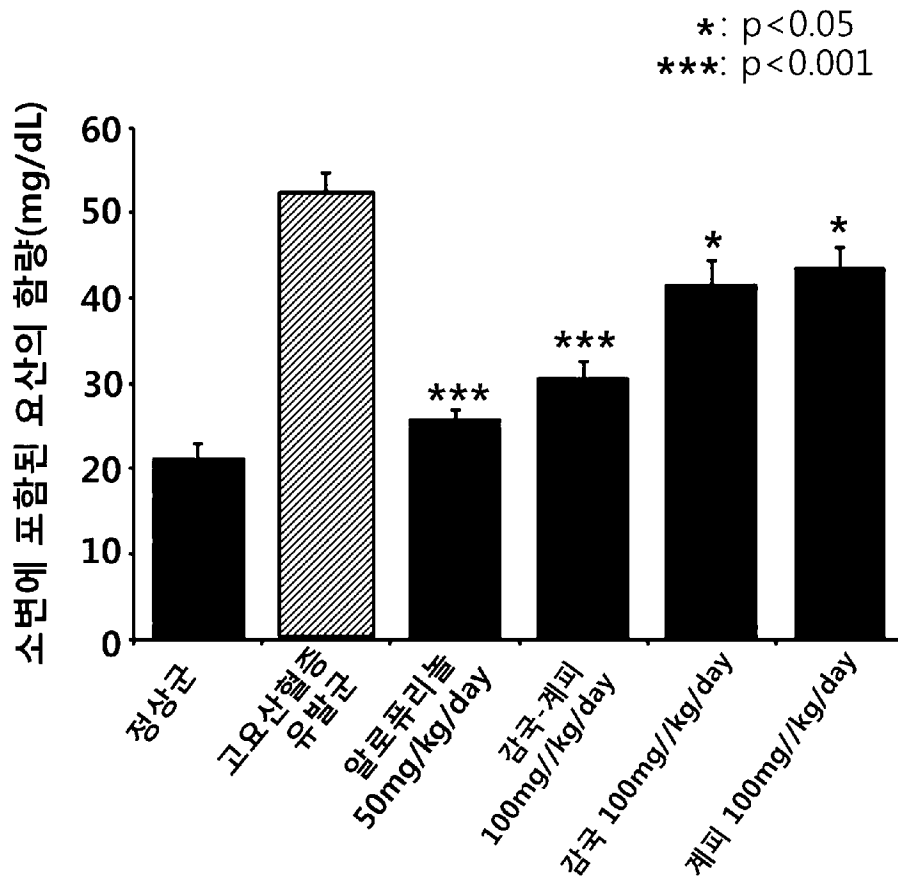
[도1]



[도2]



[도3]



[도4]

