(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2018 년 12 월 13 일 (13.12.2018)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2018/226060 A1

(51) 국제특허분류:
*A61K 31/352* (2006.01) *A23L 33/10* (2016.01)
*A61K 36/605* (2006.01) *A23L 33/105* (2016.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2018/006508

(22) 국제출원일: 2018 년 6 월 8 일 (08.06.2018)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2017-0072708 2017 년 6 월 9 일 (09.06.2017) KR

(71) 출원인: **계명대학교 산학협력단 (INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION KEIMYUNG UNIVERSITY)** [KR/KR]; 42601 대구시 달서구 달구벌대로 1095, Daegu (KR). **경북대학교 산학협력단 (KYUNGPOOK NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION)** [KR/KR]; 41566 대구시 북구 대학로 80 (산격동, 경북대학교), Daegu (KR).

(72) **발명자: 정길생 (JEONG, Gil-Saeng)**; 42919 대구시 달성군 다사읍 대실역남로 11, 503동 207호, Daegu (KR). **배종섭 (BAE, Jong-Sup)**; 42094 대구시 수성구 범어로 61, 101동 911호, Daegu (KR).

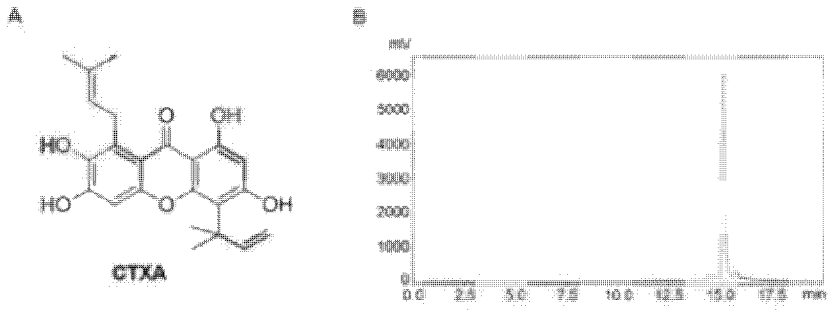
(74) **대리인: 특허법인 태백 (TAEBAEK INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM)**; 08506 서울시 금천구 가산디지털1로151 이노플렉스1차 601호, Seoul (KR).

(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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, 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).

**(54) Title:** COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING KIDNEY DISEASE INCLUDING CUDRATRICUSXANTHONE A HAVING KIDNEY-PROTECTING ACTIVITY AS ACTIVE INGREDIENT

**(54) 발명의 명칭:** 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 치료용 조성물




**(57) Abstract:** The present invention relates to a pharmaceutical composition for preventing or treating kidney disease, a health functional food composition, or a health functional food composition for protecting the kidneys, the compositions including cudratricusxanthone A having a kidney-protecting activity as an active ingredient. Cudratricusxanthone A reduces kidney toxicity in a mouse model having damaged kidney function and exhibits an effect of protecting the kidneys from oxidative stress, and thus compositions including cudratricusxanthone A as an active ingredient can be usefully utilized as compositions for preventing, improving, or treating kidney disease, or as functional health food compositions for protecting the kidneys.

**(57) 요약서:** 본 발명은 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물, 건강기능식품 조성물 또는 신장 보호용 건강기능식품 조성물에 관한 것으로, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장 기능이 손상된 마우스 모델에서 신장의 독성을 감소시키고 산화적 스트레스로부터 신장을 보호하는 효과를 나타낸 바, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 신장 질환 예방, 개선, 치료용 조성물 내지는 신장 보호용 건강기능식품 조성물로 유용하게 활용될 수 있다.

WO 2018/226060 A1

[다음 쪽 계속]

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

# 명세서

# 발명의 명칭: 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 치료용 조성물

## 기술분야

[1] 본 발명은 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물 내지는 신장 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물, 또는 신장 보호용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.

## 배경기술

[2] 신장은 인체 내 허리 부위에 있는 척추의 양옆에 2개가 위치해있으며, 체내 대사산물 및 노폐물을 걸러서 소변으로 배출하는 주 기능 이외에 체내 수분량과 전해질, 산성도 등을 좁은 범위 안에서 일정하게 유지하는 생체 항상성 유지 기능, 그리고 혈압 유지, 빈혈 교정 및 칼슘과 인 대사에 중요한 여러 가지 호르몬을 생산하고 활성화시키는 내분비 기능 등을 갖는다. 이러한 신장 기능의 약화를 초래하는 신질환에는 사구체 신염, 만성 신부전, 급성 신부전, 신증후군, 신우신염, 신장결석, 신장암 등이 있다. 신장 기능의 악화가 진행되는 속도에 따라 크게 급성 신손상(AKI: acute kidney injury)과 만성 신질환(CKD: chronic kidney disease)으로 나눌 수 있다.

[3] 만성 신질환의 경우, 신장 기능의 감소가 수개월에 걸쳐서 서서히 이루어지며 대개 회복이 불가능하고 진행성이며 종종 투석요법이나 신장이식이 필요한 상태인 말기 신질환으로 진행한다. 이에 반해, 급성 신손상은 신장 기능이 수일 혹은 수주 내에 급격히 나빠지는 것으로 흔한 원인으로는 탈수 또는 저혈압, 신독성 물질이나 약물, 요로 폐쇄 등이 있다. 대개는 수액 보충을 통한 탈수증 개선이나 신장에 무리를 일으킨 원인을 제거하는 보존적 치료로서 원래 신기능을 회복하지만, 원인 질환의 심각성에 따라서 일부에서는 만성 신부전으로 진행할 수 있다.

[4] 현대의학의 발전에도 불구하고 병원에 입원하는 많은 환자들이 신장 기능의 저하로 인하여 많은 고통을 받고 있으며, 특히 병의 중증도가 높은 환자는 신장 기능의 저하로 인하여 신대체요법이 필요한 경우가 많이 있다. 급성 신손상의 유병률은 입원환자의 약 5%에서, 중환자실에 입원하는 환자의 약 30-50%까지 보고되고 있으며 이러한 유병률은 새로운 치료법의 개발에도 불구하고 꾸준히 증가하고 있는 추세에 있다.

[5] 한편, 꾸지뽕의 학명은 "Cudrania tricuspidata"로서 뽕나무과에 속하며 한국(전남·전북·경남·경북·충남·황해)·일본·중국에 분포하고 산기슭의 양지쪽, 마을 부근에 서식하며 굿가시나무라고도 한다. 꾸지뽕은 가지에 가시가 있고, 잎은 3갈래로 갈라진 것과 가장자리가 밋밋하고 달걀 모양인 것이 있다. 3

갈래로 갈라지는 잎은 끝이 둔하고 밑이 둥글다. 달걀 모양의 잎은 끝과 밑이 뾰족하고 길이 6～10cm, 폭 3~6cm로 표면에 잔털이 있으며 뒷면에는 융모(絨毛:길이가 일정하지 않은 털이 서로 엉킨 것)가 있다. 잎자루의 길이는 15~25mm로 털이 있다. 열매는 수과이고 길이가 5mm 정도이며 열매들이 모여 덩어리를 이루는데 지름이 2～3cm로 둥근 모양이고 육질이며 9월에 붉은 색으로 익는다. 잎은 뽕잎 대용을 쓰고, 열매는 먹을 수 있으며 잼을 만들거나 술을 담그고, 나무 껍질과 뿌리는 약용이나 종이원료로 쓴다.

[6] 종래 꾸지뽕나무 추출물 및 이로부터 분리한 폴리페놀성 화합물과 관련하여 등록된 특허기술을 살펴보면, 꾸지뽕나무 추출물 또는 카테콜린잔톤 계열 화합물을 함유하는 심장순환계 질환의 예방 및 치료용 조성물(대한민국 특허등록 제10-0823155호), 꾸지뽕나무 플라보노이드 계열 화합물의 토포아이소머라제 I 저해활성에 의해 세포를 사멸시킴으로써 암 예방·치료용 약학적 조성물(대한민국특허등록 제10-0784628호) 등이 있다. 그러나 꾸지뽕나무 추출물 및 이로부터 분리한 잔톤 계열 화합물, 특히 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 신장 보호 효과, 또는 신장 질환 개선 내지 치료 효과에 대해서는 전혀 알려진 바가 없다.

## 발명의 상세한 설명

## 기술적 과제

[7] 본 발명의 목적은 효과적으로 신장 질환을 예방 또는 치료할 수 있는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[8] 본 발명의 다른 목적은 효과적으로 신장 질환을 예방 또는 개선할 수 있는 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[9] 본 발명의 또 다른 목적은 효과적으로 신장을 보호하는 효과를 나타내는 신장 보호용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

## 과제 해결 수단

[10] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[11] 상기 다른 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[12] 상기 또 다른 목적을 달성하기 위하여, 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 보호용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

## 발명의 효과

[13] 본 발명은 쿠드라트리쿠스잔톤 A를 유효성분으로 포함하는 조성물에 관한 것으로, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 세포 독성이 없으면서도, 우수한 신장

보호 효과 내지는 신장 손상을 개선하는 효과를 나타낸 바, 이를 유효성분으로 포함하는 조성물은 신장 보호 또는 신장 손상의 개선 내지 치료를 위해 유용하게 활용될 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

[14] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 구조 및 HPLC 크로마토그램 데이터를 나타낸 것이다.

[15] 도 2는 쿠드라트리쿠스잔톤 A 처리 시 신장 조직에서의 iNOS, 억제-카파 B(inhibitory kappa B; IκB) 및 핵 인자-카파 B(nuclear factor-κB; NF-κB) 의 발현량을 확인한 결과이다.

[16] 도 3은 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 세포 독성을 확인한 결과이다.

## 발명의 실시를 위한 최선의 형태

[17] 본 발명의 발명자들은 신장 손상을 개선 내지 치료할 수 있는 방법에 대해 연구하던 중, 꾸지뽕 나무에서 추출한 쿠드라트리쿠스잔톤 A를 맹장 결찰과 천자(Cecal ligation and puncture; CLP)를 이용하여 유도한 신장 손상 마우스에 처리한 결과, 신장 손상을 현저하게 개선하는 결과를 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[18] 따라서, 본 발명은 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[19] 이때, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 꾸지뽕나무(*Cudrania* tricuspidata)로부터 분리된 것일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[20] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 신장 질환은 만성 신 질환 또는 급성 신 질환일 수 있고, 바람직하게는 상기 만성 신 질환 또는 급성 신 질환은 신부전 및 신장염으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[21] 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장에서 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌 및 요 단백질의 양을 감소시킴으로써 신장 손상을 개선 또는 치료할 수 있다.

[22] 또한, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장을 산화 스트레스로부터 보호할 수 있는 바, 보다 구체적으로, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장에서 말론디알데하이드(MDA), 글루타치온(GSH), 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(SOD), 글루타치온 퍼록시다아제(GSH-Px) 및 카탈라아제(CAT)의 활성을 향상시킴으로써 산화 스트레스로부터 신장을 보호할 수 있다.

[23] 본 발명의 약학 조성물은 투여를 위하여, 상기 기재한 유효성분 이외에 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 상기 담체, 부형제 및 희석제로는 락토오스, 덱스트로오스, 수크로오스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트,

프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.

[24] 본 발명의 약학 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 또는 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용할 수 있다. 상세하게는 제형화할 경우 통상 사용하는 충진제, 중량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다. 경구투여를 위한 고형 제제로는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이러한 고형 제제는 쿠드라트리쿠스잔톤 A에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트, 수크로오스, 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다. 경구를 위한 액상물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등을 첨가하여 조제될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수용액, 비수성 용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제 및 과제를 포함한다. 비수성 용제 및 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 오일, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔, 마크로솔, 트윈 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로젤라틴 등이 사용될 수 있다.

[25] 본 발명의 조성물의 적합한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 시간에 따라 다르지만 당 업자에 의해 적절하게 선택될 수 있는 바, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 일일 투여량은 바람직하게는 1 mg/kg 내지 500 mg/kg이며, 필요에 따라 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다.

[26]

[27] 더욱이, 본 발명은 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[28] 이때, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 꾸지뽕나무(*Cudrania* tricuspidata)로부터 분리된 것일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[29] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 신장 질환은 만성 신 질환 또는 급성 신 질환일 수 있고, 바람직하게는 상기 만성 신 질환 또는 급성 신 질환은 신부전 및 신장염으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[30] 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장에서 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌 및 요 단백질의 양을 감소시킴으로써 신장 손상을 개선할 수 있다.

[31] 또한, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장을 산화 스트레스로부터 보호할 수 있는 바, 보다 구체적으로, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장에서 말론디알데하이드(MDA), 글루타치온(GSH), 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(SOD), 글루타치온 퍼록시다아제(GSH-Px) 및 카탈라아제(CAT)의 활성을 향상시킴으로써 산화 스트레스로부터 신장을 보호할 수 있다.

[32] 더불어, 본 발명은 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 보호용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[33] 즉, 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A가 손상된 신장에서 크레아티닌, 혈액요소질소, 요단백질, 젖산 탈수소효소의 양과 골수세포형과산화효소의 발현을 감소시켰고, 여러 산화 스트레스와 관련된 효소들의 활성을 증가시킨 바, 효과적으로 신장을 보호하여 신장 보호용 건강기능식품 조성물로 활용될 수 있다.

[34] 상기 건강기능식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 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, 합성 과일 주스 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 또한, 건강기능식품 조성물은 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스넥류, 과자류, 피자, 라면, 껌류, 아이스크림류, 스프, 음료수, 차, 기능수, 드링크제, 알코올 및 비타민 복합제 중 어느 하나의 형태일 수 있다.

[35] 또한, 상기 건강기능식품 조성물은 식품첨가물을 추가로 포함할 수 있으며, "식품첨가물"로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한 식품의약품 안정청에 승인된 식품첨가물공전의 총칙 및 일반 시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.

[36] 상기 "식품첨가물공전"에 수재된 품목으로 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼륨, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성품, 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고랭색소, 구아검 등의 천연첨가물, L-글루타민산나트륨 제제, 면류 첨가 알칼리제, 보존료제제, 타르색소 제제 등의 혼합 제제류 등을 들 수 있다.

[37] 이때, 건강기능식품 조성물을 제조하는 과정에서 식품에 첨가되는 본 발명에 따른 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 필요에 따라 그 함량을 적절히 가감할 수 있으며, 바람직하게는 식품 100 중량부에 1 중량부 내지 15 중량부 포함되도록 첨가하는 것이 바람직하다.

## 발명의 실시를 위한 형태

[38] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이며 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐이므로 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[39]

[40] **<실시예 1> 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 수득**

[41] 건조 및 분쇄된 꾸지뽕 나무의 뿌리 껍데기 2 kg을 메탄올(2 X 20 L)로 2시간동안 두 번 추출하였다. 추출이 완료된 후 건조한 메탄올 추출물 86 g을 같은 부피의 n-헥산과 60%의 메탄올 수용액 사이에서 분획화하였다. 이후, 메탄올 수용액 층을 $CHCl_3$로 추출하였고, 60% MeOH 수용액 혼합물을 진공 상태에서 증발시켰고, 다시 잔여물을 물과 n-BuOH로 분획화하였다. $CHCl_3$에 녹는 분획물(23.7g) 중 일부분(5.3 g)을 대상으로, $CHCl_3$/MeOH/$H_2O$를 각각 9:1:0.1, 4:1:0.1 및 6:4:1로 혼합 및 변경하여 사용하면서 실리카 겔 컬럼으로 크로마토그래피를 수행하여 총 6개의 분획물(A 내지 F)을 얻었다. 다시 분획물 C(2.02 g)를 대상으로, $CHCl_3$/MeOH를 40:1 에서 10:1로 사용하면서 실리카겔 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 5개의 분획물(C1-C5)을 얻었다. 마지막으로, C3 분획물 190 mg을 Sephadex LH-20 컬럼 크로마토그래피를 이용하여, 용매가 $CHCl_3$/MeOH(15:1)의 조건에서 정제하여 쿠드라트리쿠스잔톤 A(CTXA)를 34.6 mg을 수득하였다. 이때, 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 구조는 도 1A에 나타난 바와 같았으며, Tian et al(2005)에 개시된 스펙트럼 데이터와 비교하여 구조를 확인하였다(도 1B). 이후의 실험을 위해서, TBS(50 mM 트리스-완충 생리식염수; pH 7.4)에 녹여 사용하였다.

[42]

[43] **<실시예 2> 신장 손상 마우스 모델 및 시료 준비**

[44] **1. 마우스 모델 준비**

[45] 먼저 수컷 C57BL/6 마우스(6-7주령)를 Orient Bio Co.(성남, 한국)에서 분양받았고, 12주간의 적응 기간이 지난 후에 실험을 수행하였다. 적응 기간동안 마우스들은 조절된 온도(20-25℃)와 습도(40%-45% RH)에서 12시간:12시간의 낮/밤 싸이클에 적응되도록 하였고, 자유롭게 보통 설치류 펠렛 식이요법과 물을 얻을 수 있도록 했다. 이후, 신장 손상 내지는 신부전 또는 신장염을 유도하기 위하여, 상기 수컷 마우스들을 졸레틸(틸레타민 및 콜라제팜의 1:1 혼합물, 30 mg/kg) 및 럼푼(카일라진, 10 mg/kg)으로 마취한 후, 2 cm의 정중선 절개를 해 막창자와 부근의 대장을 노출시켰다. 이후, 막창자를 3.0 실크(silk) 구조로 막창자 끝에서 5.0 mm 떨어진 곳을 단단히 묶고 22-게이지 주사기를 이용해 천자하였다. 이후, 막창자를 부드럽게 짜서 천공에서 적은 양의 대변을 배출시킨 후, 복막강으로 돌려놓았다. 개복한 부분은 4.0 실크로 봉합하였다.
모의대조군으로는 막창자를 노출시켰지만 묶거나 천자하는 과정은 하지 않고 다시 복막강으로 돌려놓았다.

[46] 이후, 상기 마우스들을 무작위로 각각 10마리 씩 6개의 처리군으로 나누었다. 구체적으로, 모의 대조군, CLP 수술 없이 0.5% DMSO에 녹인 쿠드라트리쿠스잔톤 A(0.294 mg/kg 체중) 처리를 한 대조군, CLP 수술처리군(쿠드라트리쿠스잔톤 A 투여하지 않음) 및 CLP 수술 후 세 가지 농도의 쿠드라트리쿠스잔톤 A를 투여한 처리군(각각 0.058, 0.147, 0.294 mg/kg 체중)으로 나누었다. 쿠드라트리쿠스잔톤 A 처리군의 경우, CLP 수행 12시간

후에 한 번, 50시간 후에 한 번 정맥 주사로 투여하였고, 이때, 각각의 동물로부터 대사 케이지를 사용해, CLP 수술 12시간 이후에 소변을 얻었다. 이러한 실험 과정들은 경북대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받았다(승인번호: KNU 2016-54).

[47] **2. 샘플의 확보**

[48] 모든 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 투여가 끝나고 4일 후 마우스를 상기와 같이 마취하고 희생하였다. 혈액 샘플은 후부 대정맥(posterior vena cava)에서 얻었고 응고되도록 내버려두었다. 혈청을 4000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 분리하였고, -80℃에 저장하여 크레아티닌과 혈액요소질소(blood urea nitrogen. BUN)을 측정하는 실험에 사용하였다. 신장 조직은 마우스를 희생한 후 즉시 제거하여 무게를 잰 후, 가위로 다지고 0.1 M 인산 완충 식염수(phosphate buffer saline; pH 7.4)로 균질화하였으며, 이후 10000 xg에서 10분 동안 원심분리기를 이용해 냉동하여 분할하였다. 또한, 얻어진 파쇄액은 -80℃에 저장하여 이후 생화학적 어세이에 사용하였다. 요 단백질 농도는 브래드포드 어세이를 통해 측정하였다.

[49]

[50] **<실시예 3> 신장 손상 마우스 모델에서 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 효과 확인**

[51] **1. 실험 방법**

[52] **(1) 신 독성 측정**

[53] 신기능 장애(renal dysfunction)는 크레아티닌과 BUN, 요단백질(urine protein) 및 젖산 탈수소효소(lactate dehydrogenase; LDH)의 변화를 통해서 알 수 있는 바, 구체적으로, 상기 실시예 2에서 얻은 혈청에서 크레아티닌, BUN과 LDH는 현재 판매 중인 어세이 키트(Pointe Sceintific, Linclon Park, MI)를 통해 측정하였고, 상기에서 마우스를 희생하기 전 얻은 소변을 대상으로 요 단백질의 농도를 브래드포드 어세이를 통해 측정하였다. 이때 BSA를 단백질 표준선으로 하였다.

[54] **(2) 신장의 골수세포형과산화효소 활성 측정**

[55] 신장으로의 호중구 유입량의 양적인 지표로서, 골수세포형과산화효소(myeloperoxidase, MPO)의 활성을 ELISA kits(Abcam, UK)를 이용하여 측정하였다. 먼저 상기에서 얻은 균질화된 마우스 신장 조직을 원심분리하여 상등액을 얻었고, 이 상등액을 대상으로 MPO의 활성을 측정하였다.

[56] **(3) 신장에서의 산화 스트레스 마커 측정**

[57] 신장 조직의 말론디알데히드(MDA)는 지질 과산화 양을 알 수 있는 척도인 바, MDA의 농도를 OxiSelect TBARS assay kit(Cell Biolabs, San Diego, CA)를 이용하여 분광광도법적으로 측정하였고, 그 발현량을 nM/mg protein으로 나타내었다. 또한, 신장의 총 글루타치온(GSH)의 양을 측정하였는데, 먼저 상기에서 얻은 파쇄액을 준비하고, 메타인산에 첨가하여 5분 동안 단백질을 침전시키도록 하였다. 침전이 완료된 후, 인산 완충액과 5,

5'-디티오비스-2-니트로-벤조산(5,5'-dithiobis-2-nitro-benzoic acid)를 색이 나타나도록 첨가하였다. 이후, 415 nm에서 흡광도를 측정하였고, 절대적인 농도를 GSH 스탠다드(Sigma Aldrich, St.Louis, MO)를 이용해 계산 및 확인하였다. 총 GSH 값은 nM/mg protein으로 나타내었다.

[58] 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(Superoxide dismutase, SOD) 활성은 SOD 어세이 키트(Fluka)를 이용하여 측정하였고, SOD 값은 U/mg protein으로 표시하였다. 글루다치온 퍼록시다아제(GSH-Px) 활성은 세포 활성 어세이 키트 CGP-1(Sigma Aldrich)를 이용해 결정하였으며, 그 값을 U/mg protein으로 표시하였다. 마지막으로 타칼라아제 활성(CAT)은 $H_2O_2$ 기질의 분해 속도를 240 nm에서 관찰하면서 CAT 어세이 키트(Sigma Aldrich)를 이용해 확인하였고, 그 값을 U/mg protein으로 표시하였다.

[59] **(4) 신장 조직의 생화학적 분석**

[60] 상기에서 준비한 신장 조직 샘플을 다시 프로테아제 저해제를 포함한 RIPA 버퍼에 균질화한 후, 동량의 단백질을 SDS-PAGE(10%)로 분리하였으며, 이후 Immobilon 멤브레인(Millipore, Billerica, MA)에 일렉트로 블로팅을 밤새도록 수행하였다. 이후 상기 멤브레인을 한 시간동안 5%의 저지방 분유와, 0.05% Tween 20을 포함하는 TBS(50 mM의 트리스-HCl, pH 7.5 및 150 mM의 NaCl)을 이용해 블로킹하였다. 이후, iNOS, 억제-카파 B(inhibitory kappa B; IκB), 핵 인자-카파 B(nuclear factor-κB; NF-κB) 및 β-액틴에 대한 희석된 1차 항체를 처리하여 4℃에서 밤새도록 배양하였다. 그 뒤, 멤브레인을 홀스래디쉬-퍼록시다아제와 연결된 이차 항체로 처리한 후 배양하였고, ECL 감지 실험을 제조자의 지시에 따라 수행하였다.

[61] **(5) 세포 독성 확인**

[62] CTXA의 세포 독성을 확인하기 위하여, 먼저 1차 인간 배꼽 정맥 내피세포(primary human umbilical vein endothelial cell; HUVECs)을 Cambrex Bio Science(Charles City, IA)에서 받았고, Ku and Bae(BMB Rep., 2015, 48, 519-524.), Ku et al.,(BMB Rep., 2015, 48, 624-629.), Yoon et al.,(BMB Rep., 2015, 48, 577-582.)에 개시된 대로 배양하여 실험에 사용하였다. 이후, MTT(3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움브로마이드)를 세포 생존율의 지표로 사용하였다. 상기에서 준비한 세포들을 96-웰 플레이트에 5 X $10^3$ cell/well의 밀도가 되도록 배양하였고, 24시간 이후에 신선한 배지로 세척한 후 CTXA를 10, 25, 50 ㎛씩 각각 처리하였다. CTXA 처리 이후 48시간 동안 배양한 후, 세포를 다시 세척하고, MTT를 1 mg/mL 처리하고 4시간 동안 배양하였다. 마지막으로, 형성된 포르마잔 염을 가용화하기 위해 DMSO 150 ㎕를 첨가하였고, 마이크로플레이트 리더기(Tecan Austria GmbH, Austria)를 이용해 540 nm에서 OD를 측정하여 포르마잔의 양을 결정함으로써 세포 생존율을 확인하였다.

[63] **(6) 통계학적 분석**

[64] 모든 실험은 적어도 세 번을 독립적으로 수행하였으며, 평균 ± 표준편차로 표시하였다. SPSS(Version 16.0, Chicago, IL)을 사용하여 통계학적으로 중요한 차이점이 있는지 여부를 확인하였고, one-way analysis of variance(ANOVA) test 및 Turkey's post-test를 실시하여 통계학적 타당성을 검증하였다. 유의수준 p-value < 0.05에서 검증하였다.

[65] **2. 실험 결과**

[66] **(1) 신 독성 마커에 대한 CTXA의 효과**

[67] CLP 수술의 신장 독성 마커에 대한 효과를 측정한 결과, 하기 <표 1>에 나타난 바와 같이, 혈청에서의 BUN 및 크레아티닌의 레벨 및 요 단백질의 양은 CLP 수술 후 4일이 지난 뒤 모의 대조군에 비해 현저히 높아졌고, 모의 대조군 또는 오직 CTXA만을 처리한 마우스는 혈청의 BUN, 크레아티닌 및 요 단백질의 양에 변화가 없었다. 한편, CTXA를 한 번만 처리한 경우에는 BUN과 크레아티닌 및 요 단백질의 증가량은 블로킹되었던 바(0.058, 0.147, 0.294 mg/kg, 데이터에 나타내지 않음), 이에, 실시예 2에 개시된 바와 같이 CTXA 동량을 두 번 마우스에 처리하였고, 그 결과, CTXA의 처리가 BUN과 크레아티닌 및 요 단백질의 양을 감소시키는 것을 확인할 수 있었다.

[68] [표1]

| | BUN (mg/dL) | Creatinine (mg/dL) | Urine protein (mg/12 h) | LDH (U/dL) |
|---|---|---|---|---|
| Sham | 18.5 ± 1.5 | 0.121 ± 0.021 | 2.1 ± 0.16 | 285 ± 25.2 |
| CTXA (0.294 mg/kg) | 16.9 ± 1.2 | 0.132 ± 0.015 | 2.2 ± 0.21 | 272 ± 21.3 |
| CLP | 85.6 ± 6.5 | 0.516 ± 0.041 | 13.5 ± 1.25 | 3155 ± 189.5 |
| CLP + CTXA (0.058 mg/kg) | 82.2 ± 7.3 | 0.495 ± 0.037 | 13.2 ± 0.91 | 3089 ± 211.3 |
| CLP + CTXA (0.147 mg/kg) | 51.8 ± 4.1* | 0.313 ± 0.027* | 7.5 ± 0.53* | 2277 ± 115.2* |
| CLP + CTXA (0.294 mg/kg) | 38.5 ± 3.2* | 0.246 ± 0.032* | 4.8 ± 0.42* | 1123 ± 89.4* |

[69] (* : CLP와 비교했을 때 $p < 0.05$임)

[70] **(2) 신장의 MPO 활성에 대한 CTXA의 효과**

[71] 신장에서의 MPO 활성을 확인한 결과, 하기 <표 2>에 나타난 바와 같이, CLP 수술 이후 신장염으로 특징되는 증가한 MPO의 발현량이 나타났다. 그러나, CLP 수술 이후 CTXA를 처리한 군에서는, CLP만을 수행한 군에 비해 MPO의 농도가 현저하게 낮아지는 것을 확인할 수 있었다.

[72] [표2]

| | MPO(U/g tissue) |
|---|---|
| Sham | 0.62±0.09 |
| CTXA (0.294 mg/kg) | 0.71±0.08 |
| CLP | 4.05±0.35 |
| CLP+CTXA(0.058 mg/kg) | 4.02±0.31 |
| CLP+CTXA(0.147 mg/kg) | 2.63±0.21* |
| CLP+CTXA(0.294 mg/kg) | 1.52±0.13* |

[73] (* : CLP와 비교했을 때 $p < 0.05$임)

[74] **(3) 신장의 산화 스트레스 마커에 대한 CTXA의 효과**

[75] 신장에서의 MDA의 양을 확인한 결과, 하기 <표 3>에 나타난 바와 같이, 대조군에 비해 CLP 수술과 CTXA를 처리한 군에서 매우 낮은 MDA의 양을 나타내었다. 또한, 총 GSH, SOD, GSH-Px 및 CAT의 발현량을 측정한 결과, 모의 대조군과 비교했을 때 CLP 수술 없이 CTXA만을 처리한 군에서는 GSH, SOD, GSH-Px, CAT의 양에 변화가 없었고, 대조군들과 비교했을 때 CLP 수술을 받은 마우스에서는 GSH, SOD, GSH-Px, CAT이 매우 낮아지는 것을 확인하였다. 반면에, CTXA를 CLP 수술 이후 투여한 마우스 군들에서는 상기 신장의 효소 활성이 회복되는 것을 확인할 수 있었다.

[76] [표3]

| | MDA (nM/mg protein) | GSH (nM/mg protein) | SOD (U/mg protein) | GSH-Px (U/mg protein) | CAT (U/mg protein) |
|---|---|---|---|---|---|
| Sham | 200.36 ± 12.56 | 28.61 ± 2.15 | 1.01 ± 0.03 | 2.51 ± 0.17 | 4.65 ± 0.35 |
| CTXA (0.294 mg/kg) | 198.35 ± 17.31 | 27.95 ± 2.35 | 1.06 ± 0.05 | 2.45 ± 0.21 | 4.38 ± 0.41 |
| CLP | 315.52 ± 21.02 | 17.31 ± 1.31 | 0.78 ± 0.06 | 1.29 ± 0.13 | 2.81 ± 0.25 |
| CLP + CTXA (0.058 mg/kg) | 309.51 ± | 17.39 ± 1.61 | 0.76 ± 0.08 | 1.24 ± 0.17 | 2.89 ± 0.29 |
| CLP + CTXA (0.147 mg/kg) | 254.39 ± * | 22.18 ± 2.02* | 0.86 ± *0.09 | 1.85 ± 0.15* | 3.87 ± 0.31* |
| CLP + CTXA (0.294 mg/kg) | 215.35 ± * | 25.15 ± 2.31* | 0.92 ± *0.11 | 2.23 ± 0.19* | 4.21 ± 0.39* |

[77] (* : CLP와 비교했을 때 $p < 0.05$임)

[78] (* : CLP와 비교했을 때 $p < 0.05$임)

[79] **(4) 신장 조직의 생화학적 변화에 CTXA가 미치는 영향**

[80] 전술한 바와 같이, 신장 조직의 생화학적 변화에 CTXA가 미치는 영향을 확인하기 위해, iNOS, IκB, NF-κB 및 β-액틴의 발현량을 측정한 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 모의 대조군의 신장에서는 iNOS의 발현량이 낮게 유지된 반면, CLP 수술을 처리한 마우스의 신장에서는 iNOS의 발현량이 증가하였다. 또한, CLP 수술 후 CTXA를 처리한 마우스의 신장에서는 iNOS의 발현량이 다시

낮아진 바, CTXA가 iNOS의 발현량을 감소시킨 것을 알 수 있었다. 또한, CLP에 의해 유도된 IκB의 분해와 NF-κB p65 서브유닛의 세포질에서 핵으로의 이동을 방지하는 효과를 나타내는지를 확인한 결과, CLP에 의해 유도되는 IκB의 분해가 CTXA 후 처리군에서 현저하게 블로킹되는 것을 확인할 수 있었으며, 또한 세포질 분획에서의 NF-κB의 발현량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

[81] **(5) CTXA의 세포 독성 확인**

[82] MTT 어세이를 이용하여 HUVECs에 CTXA를 처리한 후 48 시간이 지난 뒤 독성을 확인한 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 모든 농도의 CTXA에서 세포 독성은 나타나지 않았다.

[83]

[84] 전술한 바와 같이, 꾸지뽕나무에서 추출한 쿠드라트리쿠스잔톤 A의 생물학적 효과를 확인한 결과, 세포 독성은 없으면서 CLP 수술로 인해 유도된 신장 손상 마우스에서 악화된 신장 기능을 현저하게 향상시키고, 신장의 산화 스트레스를 완화하여 신장의 산화적 손상으로부터 신장을 보호할 수 있음을 확인한 바, 쿠드트리쿠스잔톤 A를 유효성분으로 포함하는 조성물은 신장 보호, 또는 신장 손상 내지 신장 질환을 개선 내지 치료하는 데에 유용하게 활용될 수 있다.

[85]

[86] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 즉, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다.

[87]

[88]

# 청구범위

[청구항 1] 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 2] 제 1 항에 있어서, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)로부터 분리된 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 3] 제 1 항에 있어서, 상기 신장 질환은 만성 신 질환 또는 급성 신 질환인 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 4] 제 3 항에 있어서, 상기 만성 신 질환 또는 급성 신 질환은 신부전 및 신장염으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 5] 제 1 항에 있어서, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장에서 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌 및 요 단백질의 양을 감소시킴으로써 신장 손상을 개선 또는 치료하는 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 6] 제 1 항에 있어서, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장을 산화 스트레스로부터 보호하는 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 7] 제 6 항에 있어서, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 신장에서 말론디알데하이드(MDA), 글루타치온(GSH), 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제(SOD), 글루타치온 퍼록시다아제(GSH-Px) 및 카탈라아제(CAT)의 활성을 향상시킴으로써 산화 스트레스로부터 신장을 보호하는 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 치료용 약학 조성물.

[청구항 8] 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

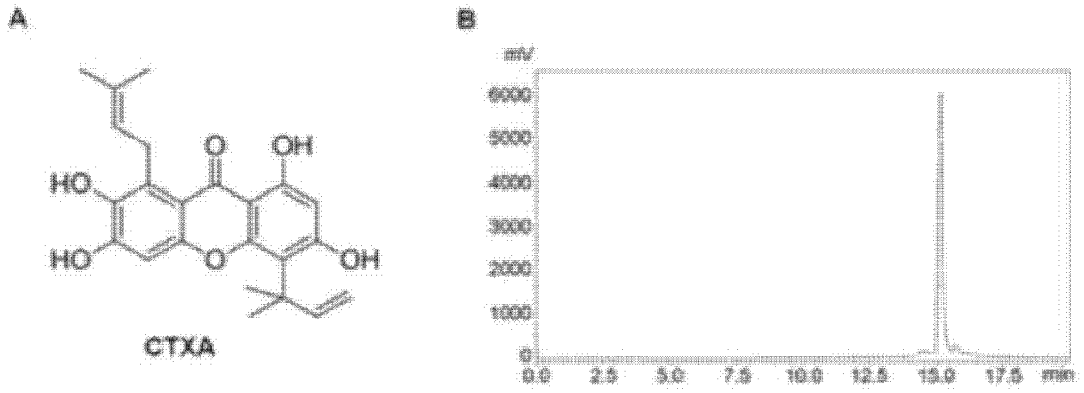
[청구항 9] 제 8 항에 있어서, 상기 쿠드라트리쿠스잔톤 A는 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)로부터 분리된 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

[청구항 10] 제 8 항에 있어서, 상기 신장 질환은 만성 신 질환 또는 급성 신 질환인 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

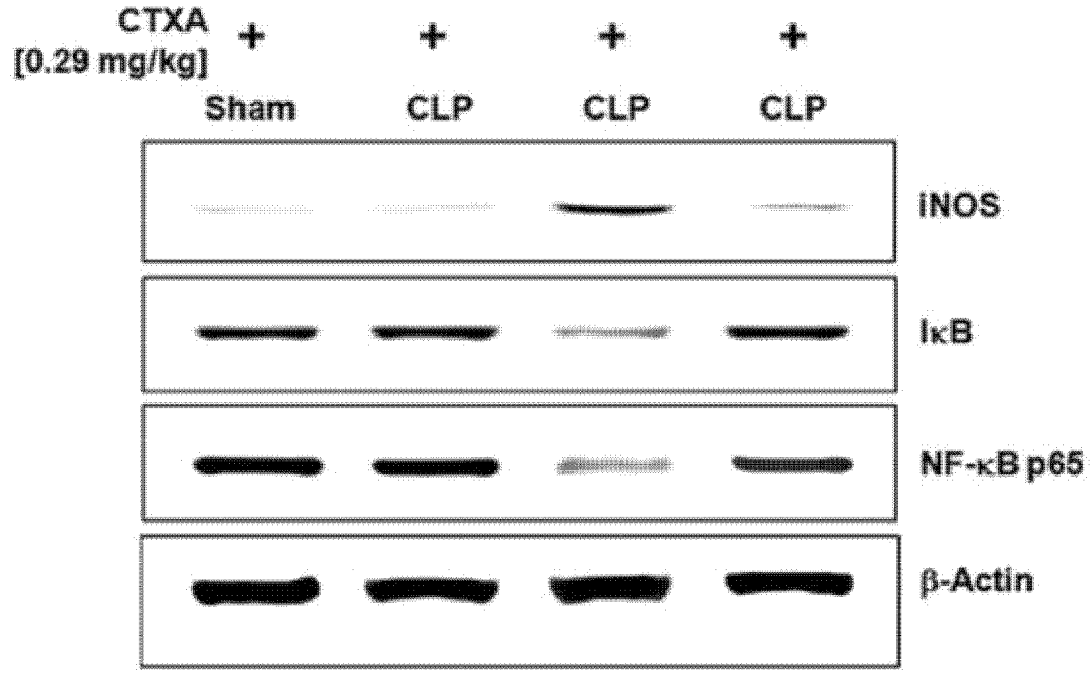
[청구항 11] 제 10 항에 있어서, 상기 만성 신 질환 또는 급성 신 질환은 신부전 및 신장염으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 신장 질환 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

[청구항 12] 신장 보호 활성을 갖는 쿠드라트리쿠스잔톤 A(Cudratricusxanthone A)를 유효성분으로 포함하는 신장 보호용 건강기능식품 조성물.

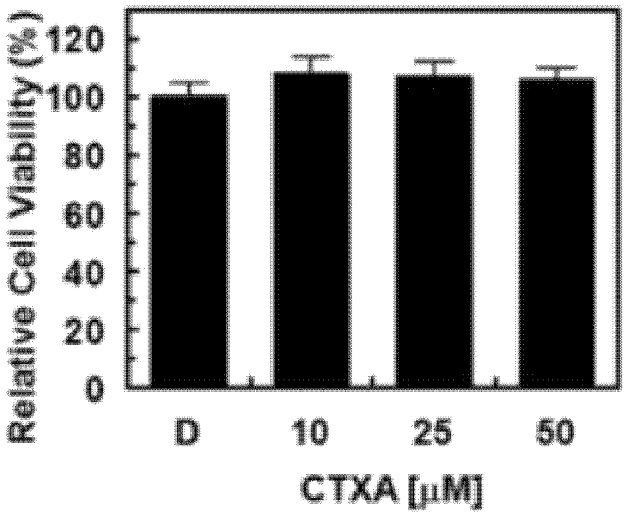
[도1]


A
B
HO
HO
O
OH
OH
CTXA
mV
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
12.5
15.0
17.5
min

[도2]


CTXA
[0.29 mg/kg]
+
+
+
+
Sham
CLP
CLP
CLP
iNOS
IκB
NF-κB p65
β-Actin

[도3]


Relative Cell Viability (%)
120
100
80
60
40
20
0
D
10
25
50
CTXA [μM]

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2018/006508

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

*A61K 31/352(2006.01)i, A61K 36/605(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A23L 33/105(2016.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/352; A61K 36/37; A61K 36/60; A61K 36/605; A61K 36/8968; A61P 17/00; A23L 33/10; A23L 33/105

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: Cudrania tricuspidata, Cudratricusxanthone A, extension, renal, nephropathy

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| A | KR 10-2014-0066846 A (KOREA FOOD RESEARCH INSTITUTE) 02 June 2014<br>See abstract; claims 1-8. | 1-12 |
| A | XIN, L.-T. et al., "Cudrania Trucuspidata: an Updated Review on Ethnomedicine Phytochemistry and Pharmacology", Royal Society of Chemistry, 2017, vol. 7, pages 31807-31832<br>See the entire document. | 1-12 |
| A | KR 10-2011-0126426 A (BUAN-GUN) 23 November 2011<br>See the entire document. | 1-12 |
| A | KR 10-2014-0034620 A (EGREEN CO., LTD.) 20 March 2014<br>See the entire document. | 1-12 |
| PX | LEE, W. et al., "Cudraricusxanthone A Attenuates Renal Injury in Septic Mice", Food and Chemicla Toxicology, 20 June 2017, vol. 106, pages 404-410<br>See abstract; pages 406, 407; and table 1. | 1-12 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 02 NOVEMBER 2018 (02.11.2018) | **02 NOVEMBER 2018 (02.11.2018)** |
| Name and mailing address of the ISA/KR<br>Korean Intellectual Property Office<br>Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea<br>Facsimile No. +82-42-481-8578 | Authorized officer<br><br>Telephone No. |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
Information on patent family members

International application No.
**PCT/KR2018/006508**

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member | Publication date |
|---|---|---|---|
| KR 10-2014-0066846 A | 02/06/2014 | NONE | |
| KR 10-2011-0126426 A | 23/11/2011 | KR 10-1223146 B1 | 18/01/2013 |
| KR 10-2014-0034620 A | 20/03/2014 | NONE | |

# 국제조사보고서

국제출원번호
**PCT/KR2018/006508**

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**

**A61K 31/352(2006.01)i, A61K 36/605(2006.01)i, A23L 33/10(2016.01)i, A23L 33/105(2016.01)i**

**B. 조사된 분야**

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/352; A61K 36/37; A61K 36/60; A61K 36/605; A61K 36/8968; A61P 17/00; A23L 33/10; A23L 33/105

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드:꾸지뽕, 쿠드라트리쿠스잔톤 A, 신장, renal, nephropathy

**C. 관련 문헌**

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재 | 관련 청구항 |
|---|---|---|
| A | KR 10-2014-0066846 A (한국식품연구원) 2014.06.02<br>초록; 청구항 1-8 참조. | 1-12 |
| A | XIN, L.-T. 등, "Cudrania trucuspidata: an updated review on ethnomedicine phytochemistry and pharmacology",<br>Royal Society of Chemistry, 2017, 제7권, 페이지 31807-31832<br>문서 전체 참조. | 1-12 |
| A | KR 10-2011-0126426 A (부안군) 2011.11.23<br>문서 전체 참조. | 1-12 |
| A | KR 10-2014-0034620 A ((주)이푸른) 2014.03.20<br>문서 전체 참조. | 1-12 |
| PX | LEE, W. 등, "Cudraricusxanthone A attenuates renal injury in septic mice",<br>Food and Chemicla Toxicology, 2017.06.20, 제106권, 페이지 404-410<br>초록; 페이지 406, 407; 및 표 1 참조. | 1-12 |

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

| 국제조사의 실제 완료일 | 국제조사보고서 발송일 |
|---|---|
| 2018년 11월 02일 (02.11.2018) | 2018년 11월 02일 (02.11.2018) |


ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
이기철
전화번호 +82-42-481-3353

# 국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
**PCT/KR2018/006508**

| 국제조사보고서에서 인용된 특허문헌 | 공개일 | 대응특허문헌 | 공개일 |
|---|---|---|---|
| KR 10-2014-0066846 A | 2014/06/02 | 없음 | |
| KR 10-2011-0126426 A | 2011/11/23 | KR 10-1223146 B1 | 2013/01/18 |
| KR 10-2014-0034620 A | 2014/03/20 | 없음 | |