

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2015 년 8 월 27 일 (27.08.2015)



(10) 국제공개번호
WO 2015/126151 A2

- (51) 국제특허분류:
A61K 36/899 (2006.01) A61K 36/736 (2006.01)
A61K 36/481 (2006.01) A61P 17/02 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/001614
- (22) 국제출원일: 2015 년 2 월 17 일 (17.02.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2014-0019712 2014 년 2 월 20 일 (20.02.2014) KR
- (71) 출원인: 한국한의학연구원 (KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE) [KR/KR]; 305-811 대전시 유성구 유성대로 1672, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 마진열 (MA, Jin Yeul); 305-735 대전시 유성구 덕명로 63 102 동 1803 호, Daejeon (KR). 이정진 (LEE, Jung Jin); 305-509 대전시 유성구 테크노 1 로 12-22 A 동 945 호, Daejeon (KR). 권혜은 (KWON, Hye Eun); 769-803 경상북도 의성군 의성읍 대동길 10 나동 505

호, Gyeongsangbuk-do (KR). 김애영 (KIM, Ae Yung); 306-710 대전시 대덕구 대덕대로 1555 105 동 4005 호, Daejeon (KR). 김태수 (KIM, Tae Soo); 305-761 대전시 유성구 엑스포로 448 406 동 304 호, Daejeon (KR). 조원경 (CHO, Won Kyung); 305-729 대전시 유성구 엑스포로 501 106 동 1103 호, Daejeon (KR).

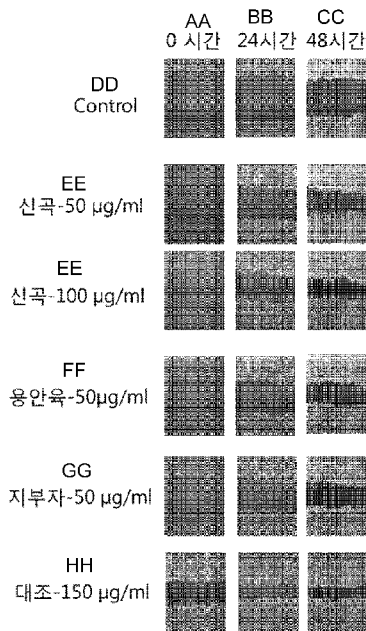
(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 135-855 서울시 강남구 양재천로 163, STX R&D 센터 6 층 (한일국제특허사무소), Seoul (KR).

(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, 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.

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR WOUND HEALING COMPRISING MASSA MEDICATA FERMENTATA EXTRACT

(54) 발명의 명칭 : 신곡 추출물을 포함하는 상처 치료용 조성물



AA ... 0 hours
BB ... 24 hours
CC ... 48 hours
DD ... Control
EE ... Massa medicate fermentata
FF ... Longan arillus
GG ... Kochia scoparia Schrad
HH ... Jujube

(57) Abstract: The present invention relates to a pharmaceutical composition for wound healing, a quasi-drug composition, and a health functional food composition, the compositions comprising a massa medicata fermentata extract as an active ingredient, and a method for wound healing comprising a step of administering the compositions to an individual or applying the compositions onto the skin of the individual. The compositions comprising a massa medicate fermentata extract of the present invention induce proliferation of keratinocytes, thereby exhibiting excellent wound healing efficacy, and thus can be usefully used in medicines for wound healing, including external skin preparations.

(57) 요약서: 본 발명은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 약학적 조성물, 의약품 조성물, 건강기능식품 조성물, 및 상기 조성물을 개체에 투여하는 단계 또는 개체의 피부에 도포하는 단계를 포함하는 상처 치료 방법에 관한 것이다. 본 발명의 신곡 추출물을 포함하는 조성물은 각질세포의 증식을 유도함으로써 상처 치료 효능이 뛰어나, 상처 치료를 위한 피부 외용제를 비롯한 의약품 등에 적용되어 유용하게 사용될 수 있을 것이다.



(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))

명세서

발명의 명칭: 신곡 추출물을 포함하는 상처 치료용 조성물 기술분야

- [1] 본 발명은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 약학적 조성물, 의약품 조성물, 건강기능식품 조성물, 및 상기 조성물을 개체에 투여하는 단계 또는 개체의 피부에 도포하는 단계를 포함하는 상처 치료 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 피부는 신체를 보호하는 방어막 역할을 수행하고 질환에 대한 신체의 일차 방어선이며, 표피(epidermis)가 미생물 침입에 대한 장벽을 제공한다. 따라서 상처, 화상, 찰과상 및 피부에 대한 기타 손상의 치료에서 일차적인 목적은 감염을 예방하기 위한 신속한 봉합(closure) 및 상처 치유이다. 상처 치유는 일반적으로, 염증(inflammation), 증식(proliferation) 및 재형성(remodelling)의 3가지 단계를 수반하는 복잡한 과정이다. 첫 번째 단계는 지혈(haemostasis)을 달성하기 위한 응고(clotting), 그리고 세균 및 괴사 조직을 파괴하기 위한 호중구의 보충, 그 이후에 대식세포의 보충을 수반한다. 두 번째 단계 동안, 혈관신생(angiogenesis)이 발생하고, 이때 내피 세포가 상처 부위로 들어가고, 이와 동시에 섬유아세포가 상처 부위로 들어가고 육아 조직(granulation tissue)을 생산하는데 도움을 준다. 육아 조직의 형성은 재상피화(reepithelialisation)가 일어날 수 있도록 한다. 최종 단계 동안, 콜라겐 생산과 파괴의 수준이 균등해지고, 그리고 치유된 상처는 최대 강도를 달성하기 위하여 천천히 변경된다. 상처 치유는 이들 과정 중에서 임의의 한 가지가 적절하게 또는 시기적절한 방식으로 기능하지 않을 때, 지연되거나 손상된다. 이것은 만성적인 상처를 유발할 수 있는데, 이러한 상처는 개인에게 중요한 문제일 뿐만 아니라 비용이 많이 드는 임상적 문제점일 수 있다. 따라서, 피부 및 표피 조직을 재생시키는 신체의 자연 과정을 가속화시키는 조성물이 필요하다.
- [4] 상기 상처 치유(wound closure)는 임상적으로 피부가 완전하게 봉합되는 것을 의미하며, 각질세포(keratinocyte), 섬유모세포(fibroblast), 혈관내피세포(endothelial cell), 대식세포(macrophage), 혈소판(platelet) 등 여러 종류의 세포가 상호작용하며 조절하는 복잡한 과정이다. 각각의 과정은 많은 성장인자(growth factor), 사이토카인(cytokine) 및 케모카인(chemokine)이 조절하는 복잡한 신호전달망에 의해 조절된다.
- [5] 상처는 빠르게 치료해야 2차 감염의 위험을 줄일 수 있다. 또한, 상처치료 과정에서 염증반응이 지속되면 염증기에서 증식기로의 진행이 이루어지지 않아 정상적인 상처치유가 지연된다. 이러한 이유로 염증반응을 유도하지 않는 상처치료제의 개발이 활발하게 진행되고 있다.

[6]

[7] 한편, 신곡은 예로부터 사용되던 한약재의 한 종류로서, 다양한 약리활성을 가지는 것으로 보고되어 왔다. 상기 신곡은 소화기의 기능을 튼튼하게 하고 산후에 어혈로 인한 복통에 효과적으로 알려져 있다.

[8]

또한, 신곡의 피부 관련 효능과 관련하여, 대한민국 공개특허 제10-2011-0112231호에서는 신곡을 비롯한 다양한 천연물의 썬 발효 추출물이 피부 항산화, 항노화, 미백 및 보습 효과 등에 효능을 가짐을 개시하고 있다. 그러나, 상기 신곡의 상처 치유 효능에 대해서는 기존에 전혀 알려진 바가 없었다.

[9]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[10]

본 발명자들은 상처 치료에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 세포 중에서 각질세포에 주목하여, 이를 이용한 상처 치료 효능을 갖는 한약재 천연물을 찾기 위해 예의 노력한 결과, 상기 신곡 추출물이 각질세포 증식 유도 활성을 가짐으로써 상처 치유 효능을 가진다는 것을 발견함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[11]

과제 해결 수단

[12]

본 발명의 하나의 목적은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[13]

본 발명의 다른 하나의 목적은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 의약품 조성물을 제공하는 것이다.

[14]

본 발명의 또 다른 하나의 목적은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[15]

본 발명의 또 다른 하나의 목적은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 상처 치료 방법을 제공하는 것이다.

[16]

본 발명의 또 다른 하나의 목적은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체의 피부에 도포하는 단계를 포함하는, 상처 치료 방법을 제공하는 것이다.

[17]

발명의 효과

[18]

본 발명의 신곡 추출물을 포함하는 조성물은 각질세포의 증식을 유도함으로써 상처 치료 효능이 뛰어나, 상처 치료를 위한 피부外用제를 비롯한 의약품 등에 적용되어 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

[19]

도면의 간단한 설명

- [20] 도 1은 본 발명의 신곡(50 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 추출물의 각질세포 증식 유도 효능을 확인한 결과이다.
- [21] 도 2a는 본 발명의 신곡(50 및 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 추출물의 각질세포 상처 치료 효과를 육안 형태로 확인한 결과이며, 도 2b는 상기 결과를 그래프로 나타낸 결과이다.

[22]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [23] 상기 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [24]
- [25] 본 발명의 신곡은 고전적으로 한약재 등으로 사용된 물질로서, 본 발명에서는 상기 신곡의 각질세포 증식 유도 활성을 확인하고, 상처를 유도한 후의 상처 치유 효과를 확인함으로써, 상처 치료 용도를 새롭게 밝힌 것이다.
- [26] 본 발명에서 용어 "신곡(Massa Medicata Fermentata)"은 신곡(神麴), 육신곡, 약누룩이라고도 하며, 한의학에서 밀가루, 밀기울, 찡이 즙, 약료 즙, 청호 즙, 행인니, 붉은팥 따위를 섞어 누룩과 같이 만들어 발효시켜 만든 약재를 의미한다. 상기 신곡은 주로 비장과 위에 작용하여 소화기의 기능을 튼튼하게 하고 소화를 돕는 작용과 함께 속을 편안하게 하는 작용을 가지고 있으며, 체했을 때, 가슴이 답답하거나 구토와 설사를 할 때, 산후에 어혈로 인한 복통 등에 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 피부학적으로는 안면의 혈액 순환에 효과가 있다고 알려져 있으나, 상처 치유와 같은 효능에 대해서는 전혀 알려지지 않았다. 이에, 본 발명에서는 상기 신곡의 상처 치료 효능을 새롭게 밝힌 것이다.
- [27]
- [28] 본 발명의 용어 "추출물(extract)"은 생약을 적절한 침출액으로 짜내고 침출액을 증발시켜 농축한 제제를 의미하는 것으로, 이에 제한되지는 않으나, 추출처리에 의해 얻어지는 추출액, 추출액의 희석액 또는 농축액, 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 이들의 조정제물 또는 정제물일 수 있다. 상기 신곡 추출물은 당업계에서 공지된 일반적인 추출방법, 분리 및 정제방법을 이용하여 제조할 수 있다. 상기 추출방법으로는, 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게 열탕 추출, 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 방법을 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 열수 추출 방법을 사용할 수 있다.
- [29] 본 발명에 있어서, 상기 추출물은 신곡을 추출용매로 추출하거나 추출용매로 추출하여 제조한 추출물에 분획용매를 가하여 분획함으로써 제조할 수 있다. 상기 추출용매는 이에 제한되지 않으나, 물, 유기용매 또는 이들의 혼합용매 등을 사용할 수 있으며, 상기 유기용매는 탄소수 1 내지 4의 알코올이나, 에틸아세테이트 또는 아세톤 등의 극성용매, 헥산 또는 디클로로메탄의 비극성용매 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있다. 또한, 바람직하게는 물,

탄소수 1 내지 4의 알코올 또는 이들의 혼합용매를 사용할 수 있으며, 보다 바람직하게는 물을 사용할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 상기 신곡을 물에 넣고 침적한 후, 열수 추출함으로써 신곡 추출물을 제조하였다.

- [30] 본 발명의 신곡 추출물은 모두 상처 치료에 유용하게 사용될 수 있다. 상기 상처는 생체가 손상된 것을 모두 아우르는 의미로서, 창상이라고도 한다. 본 발명의 일 실시예에서는 먼저 상처 치유에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 각질세포(keratinocyte)를 이용하여, 본 발명의 신곡 추출물이 각각 각질세포의 증식을 유도하는 활성이 뛰어난 것을 확인함으로써(도 1), 상처 치유 효능을 유추할 수 있었다. 또한, 다른 일 실시예에서는 이러한 확인을 바탕으로, 실제 각질세포에서 긁힘-손상을 유도하여 상처를 유도한 후, 신곡 추출물을 각각 처리함으로써 상처봉합(wound closure) 효능이 뛰어난 것을 확인함으로써(도 2a 및 2b), 최종적으로 본 발명의 신곡 추출물이 상처 치료 용도에 적합하다는 것을 밝혔다. 이에 따라, 본 발명의 상처 치료 효능은 각질세포의 증식 유도에 의해 달성되는 것일 수 있다.

[31]

- [32] 한편, 본 발명의 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 다만, 본 발명의 조성물은 상처 치료라는 목적상 피부 외용제의 형태로 제공되는 것이 가장 바람직할 수 있다. 구체적으로, 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 젤제 또는 에어로졸제 등의 피부 외용제의 형태로 사용될 수 있다.

- [33] 또한, 각각의 제형에 따라 약학적으로 허용가능한 담체, 예컨대 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제, 기제, 부형제, 유효제 등 당업계에 공지된 담체를 추가로 포함하여 제조할 수 있다. 예컨대, 상처 부위에 국부적으로 사용되는 피부 외용제인 경우에는 통상적인 첨가제, 예를 들어 보존제, 의약 침투를 보조하는 용매, 연고 및 크림의 경우 연화제 등을 포함할 수 있으며, 에탄올 또는 올레일 알코올과 같은 통상적 담체를 함유할 수 있다.

- [34] 또한, 본 발명의 약학적 조성물에는, 상처 치료에 일반적으로 사용되는 화합물, 예컨대 항생제, 항염증제, 피부치료용 조제, 마취제 및 진통제 등을 추가로 포함할 수 있다. 이는, 각각의 제형에 따라 약간씩 변화될 수 있으며, 바람직하게는 피부 외용제의 형태로 제공되는 경우에 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 일반적으로, 상처부위의 감염을 방지하거나 감염으로 인한 상처의 악화를 방지하기 위하여 상처부위에 항생제, 항균제 등의 약제를 공급할 수 있고, 또한 통증의 완화를 위하여 국소 마취제 및 진통제 등을 공급할 수 있으며, 상처 치유시 과도한 염증반응을 방지하기 위하여 항히스타민제와 같은 항염증제를 공급할 수 있다. 다양한 기능성 약제들을 함유시켜 공급함으로써, 사용상의 편리성을 도모하고, 효율적인 상처치유에 도움이 되는

환경을 조성함으로써 상처치유 효과를 더욱 향상시킬 수 있다.

- [35] 한편, 본 발명의 약학조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명의 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 상처의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[36]

- [37] 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 신곡 추출물을 포함하는 상처 치료용 의약품 조성물을 제공한다. 상기 신곡 추출물과 그의 상처 치료 효능에 대해서는 상기에서 설명한 바와 같으며, 본 발명의 조성물은 상처의 치료 또는 개선을 목적으로 의약품에 첨가될 수 있다.

- [38] 본 발명에서 용어, "의약품"은 사람이나 동물의 질병을 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유, 고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니하며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것, 감염형 예방을 위하여 살균, 살충 및 이와 유사한 용도로 사용되는 제제 중 하나에 해당하는 물품으로서, 사람이나 동물의 질병을 진단, 치료, 경감, 처치 또는 예방할 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것 및 사람이나 동물의 구조와 기능에 약리학적 영향을 줄 목적으로 사용하는 물품 중 기구, 기계 또는 장치가 아닌 것을 제외한 물품을 의미한다.

- [39] 본 발명의 조성물을 의약품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 의약품 또는 의약품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

- [40] 본 발명의 의약품 조성물은 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게는 소독청결제, 샤워폼, 구강 청정제(가그린), 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가슴기 충전제, 마스크, 연고제 또는 필터충진제일 수 있다.

[41]

- [42] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 상처 치료용 건강기능식품 조성물을 제공한다. 상기 신곡 추출물과 그의 상처 치료 효능에 대해서는 상기에서 설명한 바와 같으며, 본 발명의 조성물은 상처의 치료 또는 개선을 목적으로 건강기능식품에 첨가될 수 있다.

- [43] 본 발명의 용어 "건강기능식품"이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 정제, 캡슐, 분말, 과립, 액상 및 환 등의 형태로 제조 및 가공한 식품을 말한다. 본 발명의 건강기능식품은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 건강기능식품의

제형 또한 건강기능식품으로 인정되는 제형이면 제한없이 제조될 수 있다.

[44] 본 발명의 조성물이 사용될 수 있는 건강기능식품의 종류에는 제한이 없으며, 본 발명의 신곡은 식용 가능한 한약재로 알려져 있으므로, 피부 외용제 외에도 경구 투여 등으로 투여 가능하므로, 건강기능식품에 적용되어 이용될 수 있다.

[45]

[46] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 상처 치료 방법을 제공한다.

[47] 또 다른 하나의 양태로서, 본 발명은 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체의 피부에 도포하는 단계를 포함하는, 상처 치료 방법을 제공한다.

[48]

[49] 본 발명의 신곡 추출물 및 이를 유효성분으로 포함하는 조성물에 관해서는 전술한 바와 같으며, 이의 상처 치료 효능에 대해서도 전술한 바와 같다.

[50] 본 발명의 상기 조성물을 개체에 투여함으로써 상처를 치료하거나 상처 치료를 촉진하는 용도로 사용할 수 있으며, 바람직하게 피부 외용제의 형태로 제공되는 경우, 개체의 피부에 도포함으로써 상처를 치료하는 데에 이용할 수 있다. 또한, 상처 및 이와 관련된 국소 및 전신 염증의 치료를 위한 치료 방법뿐만 아니라 상처와 관련되거나 상처의 결과로 발생한 다양한 질환의 치료에도 이용 가능하다.

[51] 본 발명에서 사용되는 용어, "개체"는 쥐, 가축, 인간 등을 포함하는 포유 동물을 비롯한 모든 동물을 의미한다.

[52]

[53] 본 발명의 신곡 추출물은 예로부터 한약재로 사용되어 왔던 천연물을 원료로 하므로 약학적 조성물 등으로 사용할 경우에도 부작용이 발생하지 않을 수 있으므로, 안전하게 의약품, 의약외품 및 건강기능식품에 포함되어 유용하게 사용될 수 있다.

[54]

발명의 실시를 위한 형태

[55] 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구성 및 효과를 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[56]

[57] **실시예 1: 신곡 추출물의 제조**

[58] 신곡 추출물을 하기 방법에 따라 제조하였다.

[59]

[60] **1-1: 신곡 추출물의 제조**

[61] 신곡 분쇄물 50g을 물 1ℓ에 넣고 1시간 동안 침적한 후, 대웅약탕기(Daewoong EXtractor DWP-5000M, Incheon, Korea)를 이용하여 4시간 동안 열수 추출하였다.

열수 추출한 후, 감압농축하고 동결건조하여 신곡 추출물 100g을 수득하였다.

[62]

[63] **1-2: 용안육 추출물의 제조**

[64] 비교군으로서, 용안육을 이용하였다. 용안육 분쇄물 50g을 물 1ℓ에 넣고 1시간 동안 침적한 후, 대웅약탕기(Daewoong EXtractor DWP-5000M, Incheon, Korea)를 이용하여 4시간 동안 열수 추출하였다. 열수 추출한 후, 감압농축하고 동결건조하여 용안육 추출물 100g을 수득하였다.

[65]

[66] **1-3: 지부자 추출물의 제조**

[67] 비교군으로서, 지부자를 이용하였다. 지부자 분쇄물 50g을 물 1ℓ에 넣고 1시간 동안 침적한 후, 대웅약탕기(Daewoong EXtractor DWP-5000M, Incheon, Korea)를 이용하여 4시간 동안 열수 추출하였다. 열수 추출한 후, 감압농축하고 동결건조하여 지부자 추출물 100g을 수득하였다.

[68]

[69] **1-4: 대조 추출물의 제조**

[70] 양성 대조군으로서, 기존에 상처 치료 효능이 잘 알려진 대조를 이용하였다. 대조 분쇄물 50g을 물 1ℓ에 넣고 1시간 동안 침적한 후, 대웅약탕기(Daewoong EXtractor DWP-5000M, Incheon, Korea)를 이용하여 4시간 동안 열수 추출하였다. 열수 추출한 후, 감압농축하고 동결건조하여 대조 추출물 100g을 수득하였다.

[71]

[72] **실시예 2: 인간 각질세포 (Human keratinocyte, HaCat)의 증식 유도 활성 확인**

[73] 상기 실시예 1에서 제조한 신곡 추출물의 상처 치료 효능을 확인하기 위하여, 먼저 각질세포의 증식에 미치는 효과를 확인하였다.

[74] 구체적으로, 4.0×10^4 세포/ml의 인간 각질세포 HaCat 세포를 96 웰 플레이트에 옮기고, 10%(v/v)의 우태아 혈청(FBS, Fetal Bovine Serum)을 포함하는 DMEM 배지에서 24시간 동안 배양하였다. 이어서, 상기 배지에 신곡 추출물을 각각 50 또는 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 후, 다시 24시간 또는 48시간 동안 더 배양하였다. 비교군으로는 용안육 및 지부자 추출물 50 $\mu\text{g/ml}$ 을 처리하여 비교하였고, 양성 대조군으로는 대조 추출물 500 $\mu\text{g/ml}$ 을 처리하여 비교하였으며, 음성 대조군으로는 상기 추출물을 녹이는 데에 사용한 멸균 증류수를 동량 처리하였다. 그 후 22시간 또는 46시간 후에 CCK-8 (Dojindo, Japan) 키트를 처리하여 2시간 후 광학밀도를 이용하여 HaCat 세포에 대한 증식유도 효능을 측정하였으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[75] 도 1에 나타난 바와 같이, 먼저 처리시간이 24시간인 경우에 신곡 50 또는 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하였을 때, 음성 대조군(control)과 비교하여 HaCat 세포의 증식유도 효능이 현저하게 증가함을 확인할 수 있었으며, 이는 비교군인 용안육 및 지부자 추출물, 양성 대조군인 대조 추출물과 유사한 효능임을 확인할 수 있었다. 또한, 처리시간이 48시간인 경우에도 신곡 50 또는 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로

처리한 실험군 모두에서 역시 HaCat 세포의 증식유도 효능이 현저하게 증가하였으며, 24시간 처리하였을 때보다도 더 우수한 효능임을 알 수 있었다.

[76] 이러한 결과를 통하여, 각질세포 증식 유도를 통한 상처 치유 효능을 유추할 수 있었으며, 이하의 실험에서 보다 자세히 확인하였다.

[77]

[78] **실시예 3: 상처 치유 활성 확인**

[79] 실시예 2에 이어서, 신곡 추출물의 상처 치료 효능을 확인하기 위하여, 각질세포에 상처를 가한 후 상처 치유 활성을 확인하였다.

[80] 구체적으로, 2.5×10^5 세포/ml의 인간 각질세포 HaCat 세포를 6 웰 플레이트에 옮기고, 10%(v/v)의 우태아 혈청(FBS, Fetal Bovine Serum)을 포함하는 DMEM 배지에서 24시간동안 배양한 후, HaCat 세포 단일층을 p200 피펫 칩으로 "긁힘-손상"을 유도하였다. "긁힘-손상"된 HaCat 세포층에 상기 신곡 추출물을 50 또는 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 후, 다시 24시간 또는 48시간 동안 더 배양하였다. 비교군으로는 용안육 및 지부자 추출물 50 $\mu\text{g/ml}$ 을 처리하여 비교하였고, 양성 대조군으로는 대조 추출물 150 $\mu\text{g/ml}$ 을 처리하여 비교하였으며, 음성 대조군으로는 상기 추출물을 녹이는 데에 사용한 멸균 증류수를 동량 처리하였다.

[81] 그 결과, 도 2a 및 2b에 나타난 바와 같이, 신곡 50 또는 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 실험군 모두에서, 24시간 및 48시간 처리한 경우 모두 음성 대조군(control)과 비교하였을 때, 상기 "긁힘-손상"이 치유되어 긁힌 면적이 감소되었음을 확인할 수 있었다. 도 2a는 긁힌 면적을 형태학적으로 비교한 사진이며, 도 2b는 상기 결과를 Scion-Image (Scion Corporation, MA) 프로그램을 이용하여 면적비를 구하여 그래프로 나타낸 결과이다. 이러한 결과를 통하여, 신곡 추출물은 음성 대조군에 비하여 상처 치유 활성이 현저하게 높은 것을 확인할 수 있었으며, 이는 비교군인 용안육 및 지부자 추출물에 비하여 현저하게 높은 수준일 뿐만 아니라, 양성 대조군인 대조 추출물과 유사한 수준임을 확인할 수 있었다.

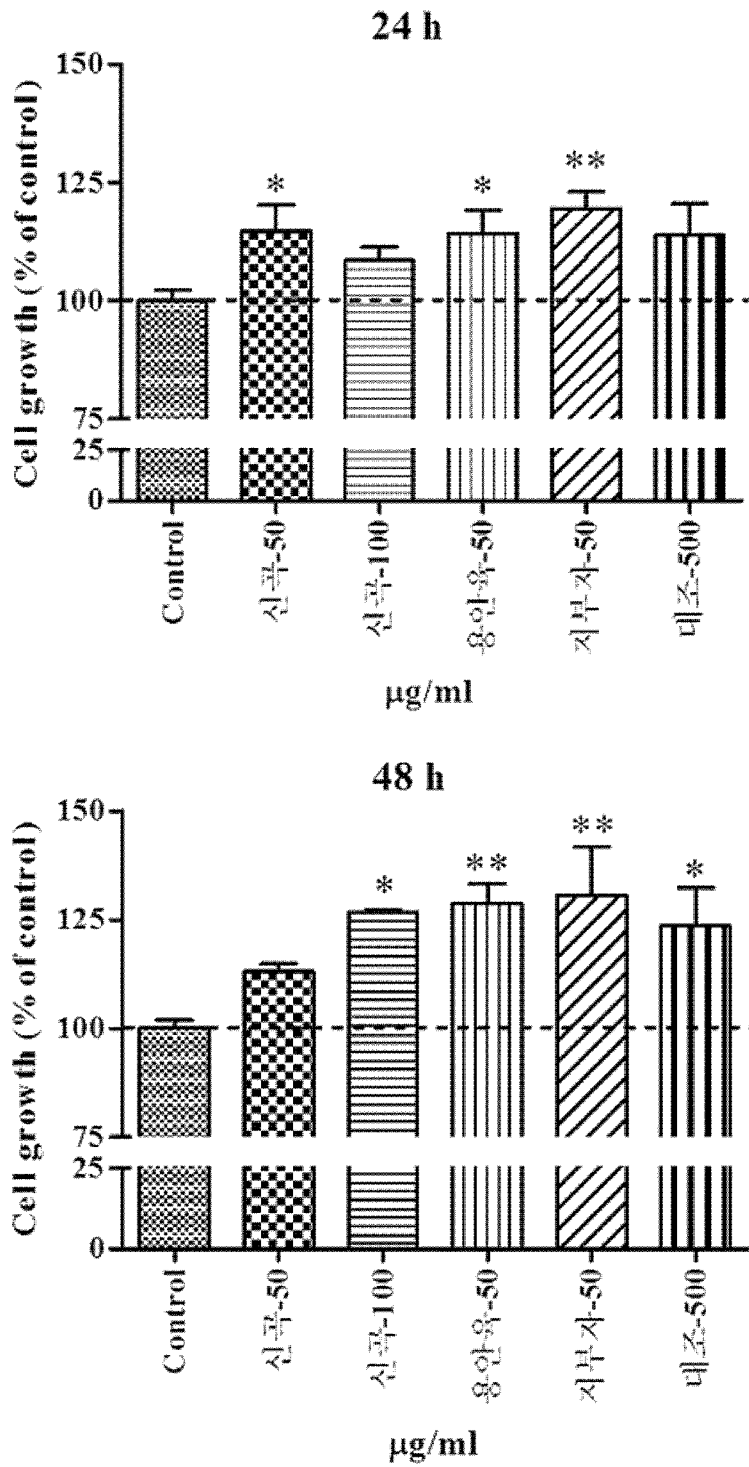
[82] 종합하면, 본 발명의 신곡 추출물이 우수한 상처 치료 효능을 가짐을 확인할 수 있었다.

[83]

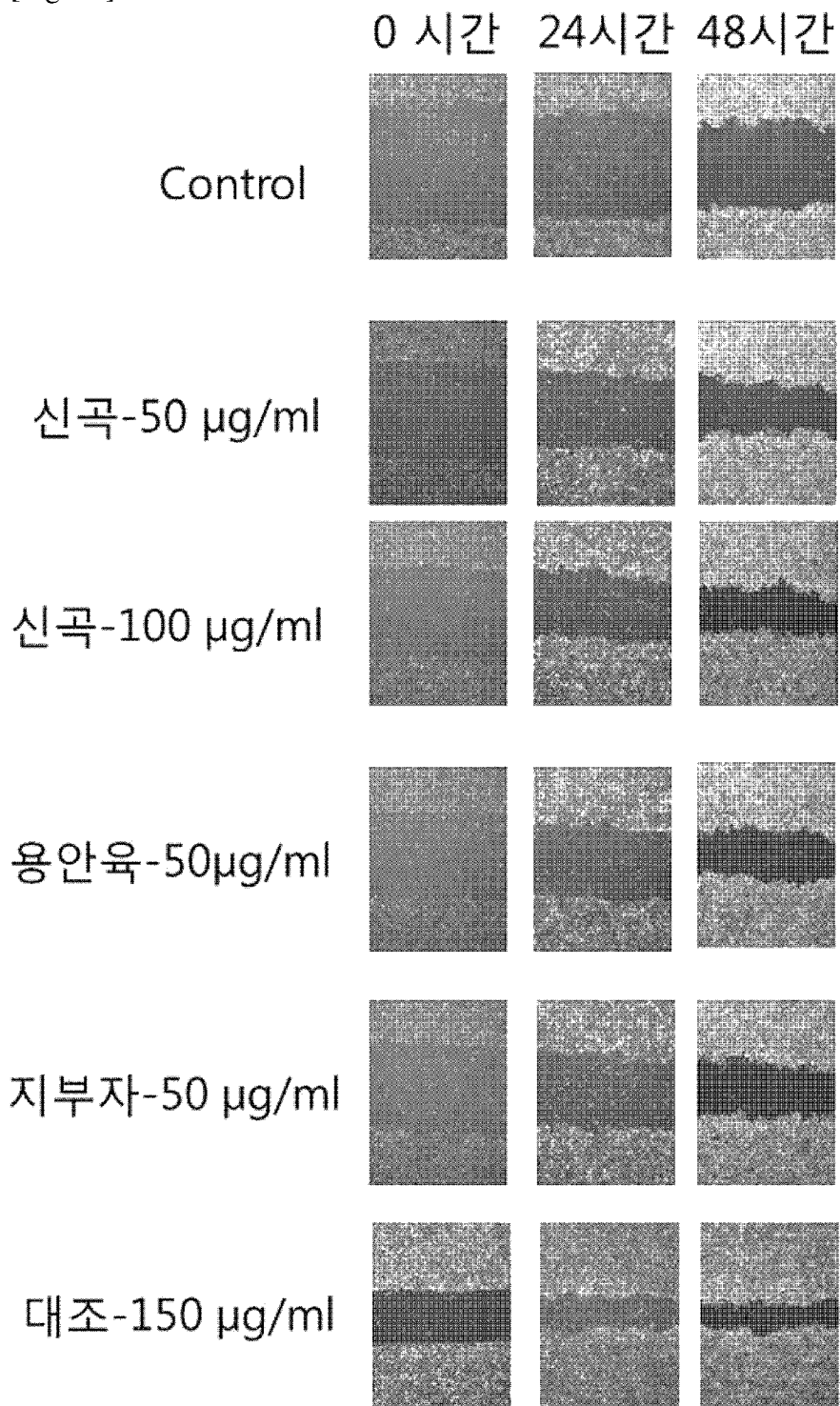
청구범위

- [청구항 1] 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 알코올, 또는 이들의 혼합용매로 추출한 것인 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 상처 치료는 각질세포의 증식 유도에 의해 달성되는 것인 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 피부 외용제의 형태로 제공되는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 조성물은 액제, 연고제, 크림제, 로션제, 스프레이제, 패취제, 겔제 또는 에어로졸제인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 6] 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 의약품 조성물.
- [청구항 7] 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는, 상처 치료용 건강기능식품용 조성물.
- [청구항 8] 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 상처 치료 방법.
- [청구항 9] 신곡 추출물을 유효성분으로 포함하는 조성물을 개체의 피부에 도포하는 단계를 포함하는, 상처 치료 방법.

[Fig. 1]



[Fig. 2a]



[Fig. 2b]

