



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년11월16일

(11) 등록번호 10-1798665

(24) 등록일자 2017년11월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/48 (2006.01) *A61K 36/185* (2006.01)
A61K 36/889 (2006.01) *A61K 8/97* (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61L 15/40* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01) *A61Q 19/08* (2006.01)
A61Q 3/00 (2006.01) *A61Q 5/00* (2006.01)
A61Q 7/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7028528
(22) 출원일자(국제) 2010년05월04일
심사청구일자 2015년05월01일
(85) 번역문제출일자 2011년11월29일
(65) 공개번호 10-2012-0014574
(43) 공개일자 2012년02월17일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2010/000519
(87) 국제공개번호 WO 2010/127396
국제공개일자 2010년11월11일
(30) 우선권주장
2009901952 2009년05월04일 오스트레일리아(AU)
(56) 선행기술조사문헌
JP2004359732 A*
W02007067347 A2*
JP2006160666 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
씨아이엠테크 피티와이 리미티드
오스트레일리아 뉴 사우스 웨일즈 2302, 뉴캐슬
웨스트, 763 헌터 스트리트, 씨/- 라울러 파트너
스
(72) 발명자
매서슨, 그라함
오스트레일리아 뉴 사우스 웨일즈 2230,
크로눌라, 3/16 오존 스트리트
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 18 항

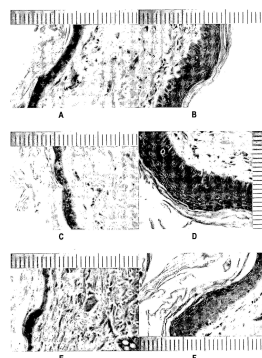
심사관 : 정의준

(54) 발명의 명칭 상처, 피부 질환 및 모발 상실을 치유하기 위한 비그나 마리나 (*Vignamarina*), 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 또는 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)중에서 한 가지 이상의 추출물

(57) 요약

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 또는 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 중에서 한 가지 이상의 생물학적 활성 추출물 및 이들 추출물 중에서 하나 이상을 포함하는 조성물이 기술된다. 또한, 본 발명에서는 특히, 상처 치유를 촉진하고 피부 질환을 치료하기 위한 이들 추출물 및 조성물의 치료적 및 미용적 용도를 제시한다.

대표도 - 도3



명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 추출물; 및

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 부터 선택되는 하나 이상의 추출물

의 조합을 포함하는 생물학적 활성 추출물, 및 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 상처의 치료 또는 상처의 치료적 촉진을 위한 약제학적 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 개체의 피부 또는 표피 부속물 (epidermal appendage)에 국소 적용되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 표피 부속물은 모발, 모낭, 손발톱, 또는 각피 (cuticle)인 약제학적 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 상처는 외과적 또는 비-외과적 상처인 약제학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 비-외과적 상처는 화상, 찰과상, 자상 또는 벗겨짐 (abrasion)인 약제학적 조성물.

청구항 17

종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 추출물; 및

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 부터 선택되는 하나 이상의 추출물

의 조합을 포함하는 생물학적 활성 추출물, 및 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 피부 질환의 치료적 처치를 위한 약제학적 조성물.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 피부 질환은 노화 관련된 피부 위축 또는 스테로이드 관련된 피부 위축인 약제학적 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 노화 관련된 피부 위축은 에스트로겐 결핍과 연관되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 추출물; 및

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 부터 선택되는 하나 이상의 추출물

의 조합을 포함하는 생물학적 활성 추출물, 및 약제학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는, 피부 또는 표피 부속물의 두께 또는 기계적 강도를 증가시키기 위한 약제학적 조성물.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 추출물; 및

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 부터 선택되는 하나 이상의 추출물

의 조합을 포함하는, 상처의 치료 또는 상처 치유의 치료적 촉진을 위한 약제 또는 제약학적 조성물의 제조에 사용하기 위한, 생물학적 활성 추출물.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 상처는 외과적 또는 비-외과적 상처인 추출물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 비-외과적 상처는 화상, 찰과상, 자상 또는 벗겨짐인 추출물.

청구항 36

종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 추출물; 및

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 부터 선택되는 하나 이상의 추출물

의 조합을 포함하는, 피부 질환의 치료적 처치를 위한 약제 또는 제약학적 조성물의 제조에 사용하기 위한, 생물학적 활성 추출물.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 피부 질환은 노화 관련된 피부 위축 또는 스테로이드 관련된 피부 위축인 추출물.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 노화 관련된 피부 위축은 에스트로겐 결핍과 연관되는 것인 추출물.

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 추출물; 및

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 부터 선택되는 하나 이상의 추출물

의 조합을 포함하는, 피부의 두께 또는 기계적 강도를 증가시키기 위한 약제 또는 제약학적 조성물의 제조에 사용하기 위한, 생물학적 활성 추출물.

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 생물학적 활성 추출물의 치료학적 유효량을 포함하는, 상처의 치료 또는 상처 치유의 치료적 촉진을 위한 약제학적 조성물.

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 생물학적 활성 추출물의 치료학적 유효량을 포함하는, 피부의 두께 또는 기계적 강도를 증가시키기 위한 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명의 기술분야

[0002] 본 발명은 일반적으로, 상처 치유를 촉진하고 피부 질환을 치료하기 위한 식물 추출물 및 이들을 포함하는 조성물의 용도에 관계한다.

배경 기술

[0003] 본 발명의 배경기술

[0004] 피부는 보호에서 중요한 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, 3가지 중복 단계를 수반하는 것으로 간주되는 복잡한 과정이다: 염증 (inflammation), 증식 (proliferation) 및 개조 (remodelling). 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 개조 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. 이런 이유로, 피부 및 표피 조직을 재생시키는 신체의 자연 과정을 가속화시키는 조성물이 유익하다.

[0005] 본 발명자들은 놀랍게도, 본 명세서에서 개시된 식물 추출물 및 이들을 포함하는 조성물이 상피의 조기 증식을 유도함으로써 상처 치유 및 피부 수복을 촉진한다는 것을 발견하였다. 더 나아가, 이들 조성물은 치유된 상처 부위의 두께 및 기계적 강도 (mechanical strength)를 증가시킨다. 이에 더하여, 이들 조성물은 또한, 다른 치료적 이점을 제공할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 요약

[0007] 본 발명의 첫 번째 측면에 따라서, 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 또는 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 중에서 한 가지 이상의 생물학적 활성 추출물이 제시된다.

[0008] 상기 추출물은 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)를 더욱 포함한다.

[0009] 한 구체예에서, 추출물은 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물이다. 추출물은 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 조합, 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 및 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 조합, 또는 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 조합으로부터 유래될 수 있다. 추출물은 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합으로부터 유래될 수 있다.

[0010] 추출물은 잎, 덩굴, 열매 (bean), 껍질 또는 나무열매 (nut) 추출물 중에서 한 가지 이상일 수 있다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)로부터 유래되는 경우에, 전형적으로 추출물은 잎, 덩굴 및/또는 열매 추출물이다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.으로부터 유래되는 경우에, 전형적으로 추출물은 껍질 및/또는 나무열매 추출물이다.

[0011] 추출물은 식물계 (plant-based) 오일, 탄화수소 및/또는 알코올을 이용하여 제조되고 및/또는 이들을 포함할 수 있다. 식물계 오일은 예로써, 종자 또는 수확물로부터 유래될 수 있다. 특정 구체예에서, 추출물은 코코넛 오일을 이용하여 제조되고 및/또는 이를 포함한다. 코코넛 오일은 처음으로 짜서 얻어진 (virgin) 코코넛 오일, 정제된 코코넛 오일, 경화된 코코넛 오일 또는 분별된 코코넛 오일일 수 있다.

[0012] 본 발명의 두 번째 측면에서는 선택적으로 하나 이상의 제약학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 어쥬번트와 함께, 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 또는 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 중에서 한 가지 이상의 적어도 하나의 생물학적 활성 추출물을 포함하는 조성물을 제시한다. 상기 조성물은 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)로부터 유래된 추출물을 더욱 포함할 수 있다.

[0013] 전형적으로, 조성물은 개체의 피부 또는 표피 부속물 (epidermal appendage)에 국소 적용된다. 표피 부속물에

는 모발, 모낭, 손발톱, 그리고 표피가 포함된다. 한 구체예에서, 조성물은 상처 치유의 촉진 또는 피부 질환의 치료를 위하여 치료적으로 및/또는 미용적으로 이용된다. 상처는 외과적 또는 비-외과적 상처일 수 있다. 비-외과적 상처의 실례에는 화상, 찰과상, 자상 및 벗겨짐 (abrasion) 이 포함된다. 피부 질환에는 노화 관련된 피부 위축 또는 스테로이드 관련된 피부 위축이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 노화 관련된 피부 위축은 에스트로겐 결핍과 연관될 수 있다.

- [0014] 다른 구체예에서, 조성물은 모발의 재생에 이용된다. 또 다른 구체예에서, 조성물은 피부 및/또는 표피 부속물의 두께 및/또는 기계적 강도를 증가시키는데 이용된다.
- [0015] 본 발명의 세 번째 측면에서는 상처를 치료하고 및/또는 상처 치유를 촉진하기 위한 방법을 제시하고, 상기 방법은 첫 번째 측면에 따른 추출물 또는 두 번째 측면에 따른 조성물의 치료학적 유효량을 개체의 피부에 적용하는 단계를 포함한다.
- [0016] 본 발명의 네 번째 측면에서는 피부 질환을 치료하는 방법을 제시하고, 상기 방법은 첫 번째 측면에 따른 추출물 또는 두 번째 측면에 따른 조성물의 치료학적 유효량을 개체의 피부에 적용하는 단계를 포함한다.
- [0017] 본 발명의 다섯 번째 측면에서는 모발의 재생 방법을 제시하고, 상기 방법은 첫 번째 측면에 따른 추출물 또는 두 번째 측면에 따른 조성물의 치료학적 유효량을 개체의 피부에 적용하는 단계를 포함한다.
- [0018] 본 발명의 여섯 번째 측면에서는 모발 성장을 촉진하는 방법을 제시하고, 상기 방법은 첫 번째 측면에 따른 추출물 또는 두 번째 측면에 따른 조성물의 치료학적 유효량을 개체의 피부 및/또는 모발에 적용하는 단계를 포함한다.
- [0019] 본 발명의 일곱 번째 측면에서는 피부 및/또는 표피 부속물의 두께 및/또는 기계적 강도를 증가시키는 방법을 제시하고, 상기 방법은 첫 번째 측면에 따른 추출물 또는 두 번째 측면에 따른 조성물의 치료학적 유효량을 개체의 피부 및/또는 표피 부속물에 적용하는 단계를 포함한다.
- [0020] 본 발명의 여덟 번째 측면에서는 상처의 치료 및/또는 상처 치유의 촉진을 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시한다.
- [0021] 본 발명의 아홉 번째 측면에서는 피부 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시한다.
- [0022] 본 발명의 열 번째 측면에서는 모발의 재생을 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시한다.
- [0023] 본 발명의 열한 번째 측면에서는 모발 성장을 촉진하기 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시한다.
- [0024] 본 발명의 열두 번째 측면에서는 피부 및/또는 표피 부속물의 두께 및/또는 기계적 강도를 증가시키기 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시한다.

과제의 해결 수단

- [0025] **본 발명의 상세한 설명**
- [0026] 본 명세서에서, 단수 관사는 상기 관사의 문법적 대상의 하나 또는 그 이상 (즉, 적어도 하나)을 지칭한다. 실례로써, "원소"는 하나 또는 그 이상의 원소를 의미한다.
- [0027] 본 명세서 및 아래의 특허청구범위 전반에서, 달리 정의되지 않으면, 단어 "포함한다", 그리고 이의 이형, 예를 들면, "포함" 또는 "포함하는"은 규정된 정수 또는 단계, 또는 일군의 정수 또는 단계의 포함을 의미하지만 임의의 다른 정수 또는 단계, 또는 일군의 정수 또는 단계를 배제하지 않는 것으로 해석된다.
- [0028] 본 명세서에서, 용어 "추출물"은 하나 이상의 식물로부터 유래된 활성 제조물 (active preparation)을 지칭한다. 본 명세서의 문맥에서, "활성"은 추출물이 본 명세서에서 개시된 바와 같은 원하는 치료적 또는 미용적 이점을 산출할 수 있다는 것을 의미한다. 추출물은 당업자에 의해 이해되는 "추출"의 과정에 의해 획득되고, 상기 과정은 일반적인 조건에서, 식물 물질을 용매, 액체, 또는 초임계 유체 (supercritical fluid)로 처리하여 활성 제조물을 용해시키는 단계 및 이를 잔류하는 원치 않는 식물 물질로부터 분리하는 단계를 포함한다. 추출물은 액체 형태 (가령, 달임물, 용액, 주입액 또는 텅크제로서) 또는 고체 형태 (가령, 분말 또는 과립으로서) 일 수 있다. 본 명세서에서, 용어 "조합 추출물"은 한 가지 이상의 식물 종으로부터 제조된 추출물을 지칭한다.

조합 추출물에서, 각 식물 종으로부터 식물 물질은 함께 또는 개별적으로 추출 과정에 종속될 수 있다. 다시 말하면, 일부 또는 전체 종으로부터 물질은 용매, 액체 또는 초임계 유체의 첨가에 앞서 합동되고, 및/또는 일부 또는 전체 종으로부터 물질은 독립적으로, 용매, 액체 또는 초임계 유체로 처리되고, 그리고 이렇게 획득된 제조물은 차후에 합동된다. 따라서 상이한 종으로부터 활성 제조물을 추출하기 위하여 동일한 또는 상이한 용매 (또는 액체 또는 초임계 유체)가 이용될 수 있다. 용어 "추출물" 및 "조합 추출물"은 본 명세서 전반에서 동의어로서 이용된다.

[0029] 본 명세서에서, 상처 치유의 문맥에서 용어 "촉진하는", "촉진" 및 이의 이형은 상처 치유에 관련된 자연적인 생리학적 과정(들)의 작용의 속도 또는 정도를 증강시키거나 증가시키는 본 발명의 추출물 또는 조성물의 능력, 그리고 모발 성장의 속도를 증강시키거나 증가시키는 본 발명의 추출물 또는 조성물의 능력을 지칭한다.

[0030] 본 명세서에서, 용어 "치료하는", "치료", "예방하는" 및 "예방"은 장애 또는 증상을 치료하거나, 장애 또는 질환의 확립을 예방하거나, 또는 그렇지 않으면, 장애 또는 질환 또는 기타 바람직하지 않은 증상의 진행을 어떤 방식으로든 예방, 방해, 지체, 또는 반전시키는 임의의 모든 용도를 지칭한다. 따라서 용어 "치료하는" 및 "예방하는" 등은 가장 넓은 문맥에서 고려된다. 가령, 치료는 환자가 완전 회복 때까지 치료된다는 것을 반드시 의미하지는 않는다.

[0031] 본 명세서에서, 용어 "유효량" 및 "유효 용량"에는 그들의 의미 내에, 원하는 효과를 제공하는 작용제 또는 화합물의 비-독성이지만 충분한 양 또는 용량이 포함된다. 요구되는 정확한 양 또는 용량은 치료되는 종, 개체의 연령 및 전반적인 상태, 치료되는 질환의 심각도, 투여되는 특정 작용제, 투여 방식 등과 같은 인자에 따라 개체마다 달라질 것이다. 따라서 정확한 "유효량" 또는 "유효 용량"을 명시하는 것은 불가능하다. 하지만, 소정의 경우에, 적절한 "유효량" 또는 "유효 용량"은 단지 일과적인 실험을 이용하여 당업자에 의해 결정될 수 있을 것이다.

[0032] 본 명세서에서, 용어 "개체"에는 인간, 영장류, 가축 동물 (가령, 양, 돼지, 소, 말, 당나귀), 실험실 동물 (가령, 생쥐, 토끼, 쥐, 기니 피그), 반려 동물 (가령, 개, 고양이) 및 감금된 야생 동물 (가령, 여우, 캥거루, 사슴)이 포함된다. 전형적으로, 개체는 인간 또는 실험실 동물이다. 이보다 더욱 전형적으로, 개체는 인간이다.

[0033] 본 발명은 본 명세서에서 예시된 바와 같이, 태평양 섬에서 유래된 다양한 식물의 추출물이 포유동물 피부에 투여될 때 생물학적 활성을 갖고, 상처 치유 및 피부 수복을 촉진하고, 상피 두께를 증가시키고, 그리고 피부의 기계적 강도를 증가시킨다는 본 발명자들의 놀라운 발견에 기초된다. 이론에 한정됨 없이, 이들 생물학적 활성은 상피의 조기 증식을 직접적으로 또는 간접적으로 유도하는 추출물에 기인하는 것으로 제안된다.

[0034] 따라서 본 발명의 한 측면에서는 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및/또는 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 생물학적 활성 추출물을 제시한다.

[0035] 본 발명자들은 놀랍게도, 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및/또는 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 추출물(들)이 단독으로 또는 다양한 조합으로, 피부 및 표피 조직을 재생시키는 신체의 자연적인 과정을 촉진한다는 것을 발견하였다.

[0036] 따라서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및/또는 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 추출물, 그리고 이들을 포함하는 조성물은 개체에서 상처 치유의 촉진 또는 피부 질환의 치료에서 치료적으로 및/또는 미용적으로 유용하다. 상처는 외과적 또는 비-외과적 상처일 수 있다. 비-외과적 상처의 실례에는 자상, 화상, 찰과상, 그리고 벗겨짐이 포함된다. 본 발명의 추출물은 외과적으로 유도된 상처의 치유의 외과술후 촉진에 이용될 수 있다. 본 발명의 구체예에 따라서 치료될 수 있는 피부 질환에는 노화 관련된 피부 위축 또는 스테로이드 관련된 피부 위축이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 노화 관련된 피부 위축은 에스트로겐 결핍과 연관될 수 있다.

[0037] 당업자가 인지하는 바와 같이, 본 발명의 추출물 및 조성물은 피부 또는 표피 조직 또는 표피 부속물의 발생 또는 재생을 촉진하는 것이 바람직한 임의의 상황에서 적용될 수 있다. 본 발명을 위하여, 표피 부속물에는 모발, 모낭, 손발톱, 그리고 표피가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 실례로써, 본 발명의 추출물 및 조성물은 모낭, 모발 및 손발톱의 재생을 촉진하는데 이용될 수 있다. 본 발명의 추출물 및 조성물은 또한, 피부 및/또는 표피 부속물의 두께 및/또는 기계적 강도를 증가시키는데 이용될 수 있다.

[0038] 본 발명의 추출물은 임의의 가용한 식물 물질, 예를 들면, 잎, 뿌리, 나무껍질, 수확물, 새싹, 나무열매, 종자,

꽃 및/또는 목재의 단일, 연합 및/또는 연속 추출에 의해 획득된 물, 오일 및/또는 유기 용매 기초된 추출물일 수 있다. 적절한 추출 과정, 그리고 추출을 위한 적절한 용매 및 액체는 당업자에게 공지되어 있다. 추출에 이용되는 수성 용매 (가령, 물, 산, 염기); 오일 (가령, 코코넛); 그리고 유기 용매 [이들은 극성 (가령, 알코올, 에를 들면, 에탄올)이고, 비-극성 (가령, 헥산)이고 및/또는 할로겐화 (가령, 디클로로메탄)될 수 있다]는 추출을 위하여 순차적으로 이용되거나, 또는 조합 혼합에 이용될 수 있다. 중요하게는, 본 명세서에서 예시된 바와 같이, 추출물의 활성은 코코넛 오일, 극성 용매 (가령, 에탄올) 또는 비-극성 용매 (가령, 이소펜탄) 내로 추출될 때 유지된다. 예로써, 초임계 질소 또는 이산화탄소를 이용한 초임계 유체 추출 역시 추출물을 획득하기 위하여 본 발명에 따라서 이용될 수 있다.

[0039] 게다가, 당업자가 인지하는 바와 같이, 본 발명의 추출물은 예로써, 추출물의 안정성을 증가 또는 유지시키고, 추출물의 물리적 형태를 변형 또는 변화시키고, 또는 추출물을 개체 투여용 조성물로 조제하는데 조력하기 위하여 하나 이상의 추출후 단계에 종속될 수 있다. 실례로써, 액체 형태 추출물만 추출물의 고체 형태를 산출하기 위하여 동결 건조될 수 있다.

[0040] 본 발명의 추출물은 임의의 적절한 식물 물질로부터 유래될 수 있다. 적절한 식물 물질에는 잎, 뿌리, 나무껍질, 수확물, 새싹, 나무열매, 종자, 꽃 또는 목재가 포함된다. 식물 물질은 예로써, 신선하거나, 건조되거나, 또는 동결 건조될 수 있다. 소정의 식물 종의 경우에, 하나 이상의 식물 물질이 추출물의 생산에 이용될 수 있다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 인디안 아몬드 (*Terminata catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)로부터 유래되는 경우에, 전형적으로 추출물은 잎, 덩굴 및/또는 열매 추출물이다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.으로부터 유래되는 경우에, 전형적으로 추출물은 신선한 껍질 및/또는 나무열매 추출물이다.

[0041] 본 발명의 추출물(들)은 제약학적 조성물의 형태로 본 발명에 따라서 투여될 수 있고, 이들 조성물은 하나 이상의 제약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 추출물은 예로써, 항생제 (antibiotic), 항균제 (antimicrobial agent), 방부제 (antiseptic), 마취제 (anaesthetic), 가습제 (moisturiser) 또는 미용적 기부 (cosmetic base)가 포함되지만 이들에 국한되지 않는 다른 치료적 또는 미용적 작용제와 더욱 합동될 수 있다. 이런 조성물은 임의의 편의한 또는 적절한 경로, 예를 들면, 비경구, 경구, 코 또는 국소 경로에 의해 투여될 수 있다. 전형적으로, 본 명세서에서 개시된 바와 같은 치료적 및 미용적 이점을 달성하기 위하여, 투여 경로는 국소일 수 있다. 대안으로, 주사, 예를 들면, 피하 주사에 의한 투여 역시 원하는 결과에 따라 적절할 수 있다. 임의의 특정 개체에 대한 본 발명의 조성물의 특정한 용량 수준은 예로써, 이용되는 특정 추출물(들)의 활성, 치료되는 개체의 연령, 체중, 전반적인 건강과 식이, 투여 기간, 추출물(들)의 안정성, 신체에서 적용 부위, 그리고 임의의 다른 치료 또는 요법과의 복합을 비롯한 다양한 인자에 좌우되는 것으로 이해될 것이다. 단일 또는 복수 투여는 치료되는 환경 및 개체에 따라 요구되는 것으로 결정되는 용량 수준 및 패턴으로 수행될 수 있다. 적절한 투약 섭생 (dosage regime)은 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 넓은 범위의 용량이 적용될 수 있다. 인간 개체를 고려하면, 예로써 대략 0.1 mg 내지 대략 1 mg의 추출물이 일일 체중 kg당 투여될 수 있다. 투약 섭생은 최적 치료 반응을 제공하기 위하여 조정될 수 있다. 가령, 여러 분할된 복용량 (dose)이 1시간, 1일, 1주, 1개월 또는 다른 적절한 시간 간격에서 투여되거나, 또는 용량이 상황의 긴급성에 비례하여 감소될 수 있다.

[0042] 일반적으로, 효과 용량은 24시간마다 체중 kg당 대략 0.0001 mg 내지 대략 1000 mg; 전형적으로, 24시간마다 체중 kg당 대략 0.001 mg 내지 대략 750 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 0.01 mg 내지 대략 500 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 0.1 mg 내지 대략 500 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 0.1 mg 내지 대략 250 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 1.0 mg 내지 대략 250 mg의 범위 내에 있을 것으로 예상된다. 더욱 전형적으로, 효과 용량은 24시간마다 체중 kg당 대략 1.0 mg 내지 대략 200 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 1.0 mg 내지 대략 100 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 1.0 mg 내지 대략 50 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 1.0 mg 내지 대략 25 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 5.0 mg 내지 대략 50 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 5.0 mg 내지 대략 20 mg; 24시간마다 체중 kg당 대략 5.0 mg 내지 대략 15 mg 범위 내에 있을 것으로 예상된다.

[0043] 국소 제제는 전형적으로, 하나 이상의 허용되는 담체, 그리고 선택적으로 임의의 다른 치료 성분과 함께 한 가지 이상의 본 발명의 추출물을 포함한다. 국소 투여에 적합한 제제는 예로써, 바르는 약 (liminent), 로션, 크림, 젤, 연고 또는 페이스트로서 조제되는 임의의 적절한 형태일 수 있다. 제약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제의 실례는 탈염되거나 증류된 물; 염수 용액; 식물계 오일, 예를 들면, 땅콩 오일, 잇꽃 오일, 올리브 오일, 목화씨 오일, 옥수수 오일, 참깨 오일, 낙화생 오일 또는 코코넛 오일; 폴리실록산, 예를 들면, 메틸 폴리실록산, 페닐 폴리실록산 및 메틸페닐 폴리실록산을 비롯한 실리콘 오일; 휘발성 실리콘; 무기 오일, 예를 들

면, 액상 파라핀, 연성 파라핀 또는 스쿠알렌; 셀룰로오스 유도체, 예를 들면, 메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스 또는 히드록시프로필메틸셀룰로오스; 저급 알칸올, 예를 들면, 에탄올 또는 이소-프로판올; 저급 아르알칸올; 저급 폴리알킬렌 글리콜 또는 저급 알킬렌 글리콜, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜 또는 글리세린; 지방산 에스테르, 예를 들면, 이소프로필 팔미테이트, 이소프로필 미리스테이트 또는 에틸 올레에이트; 폴리비닐피리돈; 한천; 카라게닌; 트래거캔스 검 또는 아카시아 검, 그리고 페트롤리움 젤리 (petroleum jelly)이다. 전형적으로, 담체(들)는 중량으로 조성물의 10% 내지 99.9%를 구성할 것이다.

[0044] 본 발명에 따른 로션에는 피부 또는 표피 부속물에 적용에 적합한 것들이 포함된다. 피부에 적용을 위한 로션 또는 바르는 약은 또한, 건조를 촉진하고 피부를 진정시키는 작용제, 예를 들면, 알코올 또는 아세톤, 및/또는 가습제, 예를 들면, 글리세롤, 또는 오일, 예를 들면, 코코넛 오일, 피마자 오일 또는 낙화생 오일을 포함할 수 있다.

[0045] 본 발명에 따른 크림, 연고 또는 페이스트는 외용 (external application)을 위한 추출물의 반-고형 제제이다. 이들은 미세하게 갈라진 또는 제분된 형태에서 단독으로, 또는 수성 또는 비-수성 유체에 담긴 용액 또는 현탁액에서 추출물을 기름기 많은 또는 기름기 없는 기부 (basis)와 혼합함으로써 만들어질 수 있다. 상기 기부는 알코올, 예를 들면, 프로필렌 글리콜 또는 Macrogol과 함께, 탄화수소, 예를 들면, 경성, 연성 또는 액상 파라핀, 글리세롤, 밀랍, 금속 비누 (metallic soap); 고무풀 (mucilage); 자연 기원의 오일, 예를 들면, 코코넛, 아몬드, 옥수수, 낙화생, 피마자 또는 올리브 오일; 라놀린 (wool fat) 또는 이의 유도체, 또는 지방산, 예를 들면, 스테아르산 또는 올레산을 포함할 수 있다.

[0046] 또한, 이들 추출물 및/또는 조성물은 바람직하게는, 액체 또는 반-액체 형태로 경피 패치 (transdermal patch), 고약 (plaster), 그리고 상처 드레싱 (wound dressing), 예를 들면, 붕대 또는 하이드로콜로이드 드레싱 (hydrocolloid dressing) 내로 주입될 수 있다. 단지 실례로써, 본 발명에 따른 국소 적용된 추출물 및 조성물은 손발톱 관리 제품, 얼굴 마스크와 스크럽, 모발 젤과 무스, 모발 염색제, 염료 및 표백제, 모발을 물결 파마하고 스트레이트 파마하고 고정시키는 제품, 클렌징 제품, 예를 들면, 샴푸, 컨디셔닝 제품, 예를 들면, 로션과 크림, 오일, 면도 제품, 예를 들면, 크림과 젤, 피부 세정액, 거품, 목욕과 샤워 제품, 예를 들면, 오일과 젤, 가습 제품, 예를 들면, 로션, 크림, 젤과 거품, 주름 방지 제품 및 노화 방지 제품으로 조제되거나, 또는 이들과 함께 조제될 수 있다.

[0047] 특정 상황에서, 예를 들면, 상처 치유의 외과술후 촉진 또는 특정 피부 질환의 치료에서, 주사, 전형적으로 피하 주사에 의한 조성물의 투여가 적절할 것이다. 주사가능 용도에 적합한 제약학적 형태에는 무균 수성 용액 (물 용해성) 또는 분산액 및 무균 주사가능 용액의 즉석 제조를 위한 무균 분말이 포함된다. 이것은 제조와 보관의 조건 하에 안정적이어야 하고, 그리고 미생물, 예를 들면, 세균과 진균류의 오염 작용으로부터 보호되어야 한다. 담체는 용매이거나, 또는 예로써, 물, 에탄올, 폴리올 (가령, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 적절한 혼합물, 그리고 식물성 오일을 포함하는 분산 매체일 수 있다. 적절한 유동성 (fluidity)은 예로써, 레시틴과 같은 코팅의 이용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 이용에 의해 유지될 수 있다. 미생물의 작용의 예방은 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들면, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 소르빈산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에, 등장성제 (isotonic agent), 예를 들면, 당 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사가능 조성물의 연장된 흡수는 이들 조성물 내에서 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들면, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴의 이용에 의해 달성될 수 있다.

[0048] 무균 주사가능 용액은 필요에 따라 앞서 열거된 다양한 기타 성분과 함께, 적절한 용매에서 필요한 양으로 활성 화합물의 함입 (incorporation), 그 이후에 여과된 멸균 (filtered sterilisation)에 의해 제조된다. 일반적으로, 분산액은 기초 분산 매체 (basic dispersion medium) 및 앞서 열거된 것들로부터 필요한 기타 성분을 포함하는 무균 운반제 내로 다양한 멸균된 추출물(들)을 함입함으로써 제조된다. 무균 주사가능 용액의 제조를 위한 무균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 진공 건조 (vacuum drying) 및 동결 건조 (freeze-drying) 기술인데, 이는 상기 추출물 + 이의 미리 무균-여과된 용액으로부터 임의의 추가적인 원하는 추출물의 분말을 산출한다.

[0049] 본 발명에서는 복합 요법 (combination therapy)을 계획하는데, 여기서 본 명세서에서 기술된 바와 같은 추출물 또는 조성물은 원하는 치료적 또는 미용적 효과를 촉진할 수 있는 다른 적절한 작용제 또는 치료제와 공동 투여된다. 가령, 본 발명의 추출물 또는 조성물과 공동으로, 항생제, 항균제, 또는 기타 상처 치유제로 상처 치유를

촉진하는 것이 추구될 수 있다. "공동 투여된"은 동일한 또는 상이한 경로에 의한 동일한 제제에서 또는 2개의 상이한 제제에서 동시 투여, 또는 동일한 또는 상이한 경로에 의한 순차적 투여를 의미한다. "순차적" 투여는 2 가지 유형의 작용제의 투여 사이에 수초, 수분, 수시간 또는 수일의 시간 차이를 의미한다. 이들 작용제는 임의의 순서로 투여될 수 있다.

[0050] 본 명세서에서 임의의 앞선 간행물 (또는 이로부터 도출된 정보), 또는 임의의 공지된 인쇄물에 대한 참조는 이러한 앞선 간행물 (또는 이로부터 도출된 정보), 또는 공지된 인쇄물이 본 발명이 관계하는 분야에서 통상의 일반적인 지식의 일부를 구성한다는 용인 또는 인정 또는 임의의 형태의 암시로서 간주되지 않는다.

[0051] 본 발명은 아래의 특정 실시예를 참고하여 설명되긴 하지만, 이들 실시예는 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 간주되지 않는다.

발명의 효과

[0052] 본 명세서에서 개시된 식물 추출물 및 이들을 포함하는 조성물이 상피의 조기 증식을 유도함으로써 상처 치유 및 피부 수복을 촉진한다는 것을 발견하였다.

[0053] 본 발명에서 상처의 치료 및/또는 상처 치유의 촉진을 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시; 피부 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시; 모발의 재생을 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시; 모발 성장을 촉진하기 위한 약제의 제조에서 첫 번째 측면에 따른 추출물의 용도를 제시; 피부 및/또는 표피 부속물의 두께 및/또는 기계적 강도를 증가시키기 위한 약제의 제조에서 추출물의 용도를 제시한다.

도면의 간단한 설명

[0054] 도면의 간단한 설명

본 발명은 단지 무제한적 실례로써, 하기 첨부된 도면을 참고하여 설명될 것이다.

도 1에서는 수술후 3, 5, 7 및 10일 시점에 12주령 건강한 암컷 쥐에서 치료된 (A, C, E와 G) 및 치료되지 않은 (B, D, F와 H) 외과적으로 발생된 상처 부위에서 조직학적 변화를 보여준다. 치료된 상처는 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합 추출물의 일일 적용에 종속되었다. 피부 샘플은 헤마톡실린 및 에오신으로 염색되고, 그리고 x400 배율로 도시된다.

도 2에서는 10일의 경과 동안 치료된 동물 (검사) 및 치료되지 않은 동물 (대조)의 상처 부위에 대한 기계적 상처 강도 (A) 및 평균 기계적 상처 강도 (B)에서 증가를 보여준다. 치료된 상처는 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합 추출물의 일일 적용에 종속되었다. 도 2A에서는 선형 상관을 도시하고, 그리고 도 2B는 비 선형 치유 곡선 (non linear healing curve)으로 모델링된다.

도 3에서는 18개월령, 에스트로겐 결핍 (6주령에 난소가 제거됨) 쥐의 치료된 (B, D와 F) 및 치료되지 않은 (A, C와 E) 피부에서 조직학적 차이를 보여준다. 치료된 피부는 7일 동안, 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합 추출물의 일일 적용에 종속되었다. 피부 샘플은 헤마톡실린 및 에오신으로 염색되고, 그리고 x400 배율로 도시된다.

도 4에서는 7일간 치료 (A)후 치료된 (코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합 추출물의 일일 적용) 및 대조 (치료되지 않은) 에스트로겐 결핍 피부, 그리고 21일간 치료 (B)후 치료 부위에 인접한 에스트로겐 결핍 피부의 상피 두께를 도시한다.

도 5에서는 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합 추출물의 일일 적용을 포함하는 7일간 치료후, 에스트로겐 결핍 피부에서 상피 두께의 변화 백분율을 도시한다. 막대 1 (추출전), 추출물이 코코넛 오일 내에 존재한다; 막대 2 (에탄올 추출물), 추출후 추출물로부터 코코넛 오일의 제거; 막대 3 (추출후), 에탄

을 추출 (막대 2)후 잔여 코코넛 오일 분류.

도 6에서는 7일 동안, A) 치료 없음; B) 코코넛 오일; C) 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.; D) 에탄올에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.; E) 에탄올 및 이소펜탄으로 추출 후 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.; F) 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.); G) 에탄올에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.); H) 에탄올 추출후 탄화수소에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.); I) 에탄올 및 탄화수소로 추출후 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.); 그리고 J) 에탄올 및 탄화수소로 추출후 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 일일 적용후, 10 내지 14주령 쥐의 피부의 조직학적 프로필을 도시한다. 피부 샘플은 헤마톡실린 및 에오신으로 염색되고, 그리고 x400 배율로 도시된다.

도 7에서는 A) 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Men. 추출물 (식물 P); 코코넛 오일에서 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.). 추출물 (식물 N); 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물 (식물 K); 그리고 코코넛 오일에서 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.) (식물 A), 그리고 B) 앞서 언급된 추출물의 쌍별 조합으로 7일간 치료후, 10 내지 14주령 쥐의 피부의 상피 두께에서 변화 퍼센트를 도시한다.

도 8에서는 A) 0%; B) 1%; C) 5%; D) 10%; E) 50%; 그리고 F) 100%의 농도로, 실시예 10에서 기술된 바와 같이 제조된 코코넛 오일 (100%)에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 치료된 10 내지 14주령 쥐의 피부에서 조직학적 차이를 보여준다. 피부 샘플은 헤마톡실린 및 에오신으로 염색되고, 그리고 x400 배율로 도시된다.

도 9에서는 0%, 1%, 5%, 10%, 50%, 100%의 농도로, 실시예 10에서 기술된 바와 같이 제조된 코코넛 오일 (오일에서 NPK)에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 조합 추출물의 일일 적용으로 치료된 10 내지 14주령 쥐의 피부의 상피 두께 (A) 및 상피 두께에서 변화 퍼센트 (B)를 도시한다.

도 10에서는 A) 클로르헥시딘에서 30%; B) 하이드로덤 가습제 (Hydroderm moisturizer)에서 5%; C) 클로람페니콜 용액에서 25%; D) 클로람페니콜 연고에서 50%; 그리고 E) 클로람페니콜 연고에서 0%로, 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물로 치료된 피부의 조직 구조를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055]

실시예

[0056]

실시예 1 - 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합 추출물의 제조

[0057]

코코넛 오일 (200 ml)이 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. (100 g)의 신선한 찢겨진 잎 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) (100 g)의 신선한 찢겨진 잎에 첨가되었다. 혼합물은 도가니 내에 물 중탕에서 100℃에서 20분 동안 배치되었다. 혼합물은 열기로부터 이동되고, 즉시 여과되고, 그리고 압축되어 코코넛 오일이 추출되었다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물을 포함하는 생성된 코코넛 오일은 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) (100 g)의 녹색 나무열매의 신선한 으깨어진 껍질 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.) (100 g) 짤개 깎여진 나무껍질에 첨가되었다. 혼합물은 가라앉도록 4시간 동안 방치되고, 이후 여과되고 압축되어 코코넛 오일이 추출되었다.

[0058]

코코넛 오일은 이후, 반전되고 코코넛 오일이 고형화 (solidification)될 때까지 20℃ 이하에서 보관되었다. 혼합물 내에 남아있는 수분 또는 고체는 고형화된 코코넛 오일로부터 디칸팅 (decanting)에 의해 제거되었다. 코코넛 오일은 이후, 대략 56℃에서 뜨거운 물 중탕에서 가열되고 여과되었다. 생성된 여과액은 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 조합 추출물을 포함하였다.

[0059]

실시예 2 - 상처 치유의 촉진

- [0060] 실시예 1에서 기술된 바와 같이 제조된, 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 추출물의 상처 치유 능력을 평가하기 위한 연구가 수행되었다. 이러한 연구를 위하여, 12주령 건강한 암컷 쥐가 최적 치유 모형으로서 이용되었다. 상처는 마취 및 무균 조건 하에 외과적으로 발생되고, 그리고 수술중 항생제 (intraoperative antibiotic) 및 클린 하우스 (clean housing)으로 1차 유합 (primary intention) (피부를 비롯한 모든 조직은 봉합사 물질로 봉합되었다)에 의해 봉합되었다. 1 ml 일일 용량의 추출물이 외과 부위에 국소 적용되었다. 추출물은 총 10일 동안 매일 적용되었다. 대조 동물은 치료를 받지 않았다. 상기 부위의 발생 후 3, 5, 7과 10일 시점에, 상처 조직 구조는 평가되고, 그리고 상처는 고장 시험 (failure testing)에 대한 방해 (distraction)에 의해 기계적 강도에 대하여 조사되었다.
- [0061] 치료되지 않은 상처 (대조) 및 치료된 상처 (검사)의 상처 조직 구조는 도 1A 내지 1H에서 도시된다. 치료된 상처의 조직 구조는 첫 3일 이내에 상처를 덮는 상피의 조기 증식, 그 이후에 7일 시점에 재생을 개시하고 치유를 완결하기 위한 상처 내로 세포의 침투 (infiltration) 및 10일 시점에 상처의 극미한 흔적을 보여준다. 상처 치유의 증거는 10일 시점에 치료되지 않은 상처에서도 관찰되긴 하지만, 이는 치료된 상처에서 관찰되는 것보다 느린 속도로 진행되었고, 따라서 상기 추출물이 자연 치유 과정의 속도를 증강시킨다는 것을 증명하였다.
- [0062] 치료 동안 상처 부위의 기계적 강도에서 변화의 그래프식 표현은 도 2A에 도시된다. 이들 치료된 상처 부위는 치료되지 않은 상처 부위보다 22% 높은 기계적 강도를 갖는 것으로 밝혀졌다. 도 2B에서는 기계적 강도 데이터가 비 선형 치유 곡선 (치유 패턴을 반영하기 위하여)으로 모델링될 때, 이들 차이가 보존된다는 것을 보여준다.
- [0063] 본 연구로부터 결과는 실시예 1의 조합 추출물로 상처의 치료가 상처 치유를 촉진할 뿐만 아니라 상처 부위에서 피부의 기계적 강도를 증가시킨다는 것을 증명한다.
- [0064] **실시예 3 - 에스트로겐 결합 피부의 치료**
- [0065] 에스트로겐 결합 피부에 대한 실시예 1에서 기술된 바와 같이 제조된, 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 추출물의 효과를 평가하기 위한 연구가 수행되었다. 본 연구에서, 1 ml 일일 용량의 추출물이 18개월령, 에스트로겐 결합 (6주령에 난소가 제거됨) 쥐 (10마리 동물)의 등의 상피 표면에 국소 적용되었다. 추출물은 총 7일 동안 매일 적용되었다. 대조 동물은 추출물의 국소 적용이 없는 18개월령, 에스트로겐 결합 (6주령에 난소가 제거됨) 쥐 (10마리 동물)이었다. 7일 시점에, 치료된 및 대조 피부의 조직 구조가 평가되고, 그리고 상피 두께가 결정되었다.
- [0066] 7일 시점에 개별 동물로부터 치료된 및 대조 피부의 조직학적 프로파일은 도 3A 내지 3F에서 도시된다. 대조와 비교하여 치료된 피부의 조직 구조는 두꺼운 다수 세포 상피 및 콜라겐 매트릭스의 세포질 (cellularity)에서 상대적으로 증가를 보여준다.
- [0067] 치료된 및 치료되지 않은 동물의 피부의 상피 두께의 그래프식 표현은 도 4A에서 도시된다. 치료되지 않은 동물과 비교하여 치료된 동물에서 피부의 상피 두께에서 145%의 평균 증가가 관찰되었다.
- [0068] 추출물이 3주 동안 매일 적용된 점을 제외하고, 동일한 연구가 수행되었다 (10마리 동물). 21일 시점에, 치료된 피부 (적용 부위 및 인접 부위) 및 치료되지 않은 (대조) 피부의 상피 두께가 측정되었다. 본 연구는 7일 시점에 관찰된 상피 두께 및 콜라겐 매트릭스의 세포질에서 증가 (상기 참조)가 21일간 치료 동안 유지된다는 것을 증명한다. 21일간 치료 후 상피 두께는 도 4B에 도시된다. 도 4B에서 결과는 이러한 효과가 적용 부위에서만 아니라 적용 부위에 인접한 부위에서도 관찰된다는 것을 증명하고, 이는 노화된 에스트로겐 결합 피부에 이들 효과를 유발하기 위하여 극소량이 필요하다는 것을 암시한다.
- [0069] 또한, 코코넛 오일 기초된 추출물의 생물학적 활성이 에탄올에서 용해성인 것으로 증명되었다. 코코넛 오일 내에 추출물 (추출전)은 혼합물이 균질해질 때까지 5분 동안 에탄올과 1:1로 활발하게 혼합되고, 이후 5분 동안 방치되고, 생성된 혼합물은 이후, 동결되고 에탄올이 제거되어 (에탄올 추출물) 코코넛 오일만 남겨졌다 (추출 후). 7일 시점에, 상피 두께가 측정되었다. 도 5에서는 치료 후 치료된 에스트로겐 결합 피부의 상피 두께에서 변화 백분율을 도시한다. 획득된 결과는 상기 추출물의 활성이 에탄올로 추출될 때, 유지된다는 것을 증명한다.

[0070] 실시예 4 - 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr의 추출물의 제조.

[0071] 4.1: 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr의 추출물

[0072] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. (100 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매는 코코넛 오일 (100 ml)에 담겼다. 추출물은 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 및 코코넛 오일 혼합물을 냉각 압축 (cold pressing)하거나; 또는 상기 혼합물을 가열함으로써 제조되었다. 냉각 압축은 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 및 코코넛 오일 혼합물을 새로운 커피 플런저 내부에 배치하고 혼합물을 1시간 동안 가라앉힘으로써 수행되고, 상기 플런저는 이후, 감압되어 오일이 추출되었다. 혼합물은 추가로 5분 동안 가라앉혀지고, 그리고 플런저는 다시 한 번 감압되어 더욱 많은 오일이 방출되었다. 이러한 과정은 더 이상의 오일이 획득되지 않을 때까지 5회 반복되었다. 추출물이 가열에 의해 제조될 때, 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 및 코코넛 오일 혼합물은 도가니 내에 물 증탕에서 100℃에서 20분 동안 가열되고, 열기로부터 이동되고, 이후 즉시 여과되고 압축되어 코코넛 오일이 추출되었다. 냉각 압축 또는 가열 및 여과 이후에 추출물 내에 남아있는 수분 또는 고체는 코코넛 오일 추출물을 반전시키고, 그리고 코코넛 오일이 고형화 (solidification)될 때까지 이를 20℃ 이하에서 보관하고, 이후 고형화된 코코넛 오일을 디캔팅함으로써; 또는 분리 깔때기 (separating funnel)에서 디캔팅함으로써 제거되었다.

[0073] 4.2: 에탄올에서 추출후 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr의 추출물

[0074] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매는 95-100% 에탄올 (2000 ml)에 담겨지고 24시간 동안 적셔졌다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 에탄올 추출물은 코코넛 오일 (250 ml)과 함께 교반되었다. 코코넛 오일은 디캔팅 용기 내에서 적어도 2시간 동안 방치 이후에; 또는 95%에서 더욱 낮은 농도, 명목적이지만 반드시 그러하지는 않은 50% 에탄올로 에탄올 용액의 희석에 의해 용액으로부터 디캔팅되고, 이후 층의 가라앉음 이후에 디캔팅되었다. 혼합물 내에 남아있는 수분 또는 고체는 코코넛 오일 추출물을 반전시키고, 그리고 코코넛 오일이 고형화 (solidification)될 때까지 이를 20℃ 이하에서 보관하고, 이후 고형화된 코코넛 오일을 디캔팅함으로써; 또는 분리 깔때기 (separating funnel)에서 디캔팅함으로써 제거되었다.

[0075] 4.3: 에탄올 및 이소펜탄올에서 추출후 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr의 추출물

[0076] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매는 95-100% 에탄올 (2000 ml)에 담겨지고 6시간 동안 적셔지고, 이후 에탄올이 제거되고, 그리고 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.은 추가로 6시간 동안 에탄올 (2000 ml)의 두 번째 분취액 (aliquot)에서 적셔졌다.

[0077] 결과의 에탄올은 헥산, 펜탄, 메틸 부탄, 또는 등량의 탄화수소 또는 플루오르/클로르/브로모-탄화수소 (250 ml)와 함께 교반되었다. 탄화수소는 디캔팅 용기 내에서 적어도 2시간 동안 방치 이후에; 또는 95%에서 더욱 낮은 농도, 명목적이지만 반드시 그러하지는 않은 50% 에탄올로 에탄올 용액의 희석에 의해 용액으로부터 디캔팅되고, 이후 층의 가라앉음 이후에 디캔팅되었다.

[0078] 코코넛 오일 (250 ml)이 탄화수소 용액에 첨가되고, 그리고 탄화수소를 증발시키기 위하여 탄화수소의 끓는점 (boiling point) (가령, 헥산이 이용될 때, 용액은 67℃로 가열되었다)을 초과하여 가열되었다. 95% 에탄올 (250 ml)이 탄화수소 용액에 첨가되고, 그리고 상기 탄화수소의 끓는점을 초과하여 가열되었다.

[0079] 4.4: 에탄올에서 추출후 탄화수소에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr의 추출물

[0080] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매는 95-100% 에탄올 (2000 ml)에 담겨지고 6시간 동안 적셔지고, 이후 에탄올이 제거되고, 그리고 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.은 추가로 6시간 동안 에탄올 (2000 ml)의 두 번째 분취액 (aliquot)에서 적셔졌다. 결과의 에탄올 용액은 헥산, 펜탄, 메틸 부탄, 또는 등량의 탄화수소 또는 플루오르/클로르/브로모-탄화수소 (250 ml)와 함께 교반되었다. 탄화수소는 디캔팅 용기 내에서 적어도 2시간 동안 방치 이후에; 또는 95%에서 더욱 낮은 농도, 명목적이지만 반드시 그러하지는 않은 50% 에탄올로 에탄올 용액의 희석에 의해 용액으로부터 디캔팅되고, 이후 층의 가라앉음 이후에 디캔팅되었다.

[0081] 4.5: 에탄올 및 탄화수소에서 추출후 에탄올에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr의 추출물

[0082] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매는 95-100% 에탄올

(2000 ml)에 담겨지고 6시간 동안 적셔지고, 이후 에탄올이 제거되고, 그리고 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.은 추가로 6시간 동안 에탄올 (2000 ml)의 두 번째 분취액 (aliquot)에서 적셔졌다. 결과의 에탄올 용액은 헥산, 펜탄, 메틸 부탄, 또는 등량의 탄화수소 또는 플루오르/클로르/브로모-탄화수소 (250 ml)와 함께 교반되었다. 탄화수소는 디캔팅 용기 내에서 적어도 2시간 동안 방치 이후에; 또는 95%에서 더욱 낮은 농도, 명목적이지만 반드시 그러하지는 않은 50% 에탄올로 에탄올 용액의 회식에 의해 용액으로부터 디캔팅되고, 이후 층의 가라앉음 이후에 디캔팅되었다. 95% 에탄올 (250 ml)이 탄화수소 용액에 첨가되고, 그리고 탄화수소를 증발시키기 위하여 탄화수소의 끓는점(boiling point) (가령, 헥산이 이용될 때, 용액은 67℃로 가열되었다)을 초과하여 가열되었다.

[0083] 실시예 5 - 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)의 추출물의 제조

[0084] 5.1: 코코넛 오일에서 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 추출물

[0085] 상기 추출물은 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) (100 g)의 어린 나무열매의 신선한 껍질이 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.1에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0086] 5.2: 에탄올에서 추출후 코코넛 오일에서 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 추출물

[0087] 상기 추출물은 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) (1000 g)의 어린 나무열매의 신선한 껍질이 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.2에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0088] 5.3: 에탄올 및 탄화수소에서 추출후 코코넛 오일에서 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 추출물

[0089] 상기 추출물은 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) (1000 g)의 어린 나무열매의 신선한 껍질이 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.3에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0090] 5.4: 에탄올에서 추출후 탄화수소에서 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 추출물

[0091] 상기 추출물은 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) (1000 g)의 어린 나무열매의 신선한 껍질이 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.4에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0092] 5.5: 에탄올 및 탄화수소에서 추출후 에탄올에서 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 추출물

[0093] 상기 추출물은 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) (100 g)의 어린 나무열매의 신선한 껍질이 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.5에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0094] 실시예 6 - 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물의 제조

[0095] 6.1: 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물

[0096] 상기 추출물은 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) (100 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매가 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.1에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0097] 6.2: 에탄올에서 추출후 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물

[0098] 상기 추출물은 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매가 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.2에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0099] 6.3: 에탄올 및 탄화수소에서 추출후 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물

[0100] 상기 추출물은 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매가 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.3에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0101] 6.4: 에탄올에서 추출후 탄화수소에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물

[0102] 상기 추출물은 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매가 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.4에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0103] 6.5: 에탄올 및 탄화수소에서 추출후 에탄올에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물

[0104] 상기 추출물은 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) (1000 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매가 이용된

점을 제외하고, 실시예 4.5에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0105] 실시예 7 - 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 추출물의 제조

[0106] 7.1: 코코넛 오일에서 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.) 추출물

[0107] 상기 추출물은 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.) (100 g)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매가 이용된 점을 제외하고, 실시예 4.1에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)에 대하여 기술된 바와 같이 제조되었다.

[0108] 실시예 8 - 피부의 상피 두께에 대한 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 개별 추출물의 효과

[0109] 피부의 상피 두께에 대한 각 추출물 (실시예 4 내지 7에서 기술된 바와 같이 제조됨)의 효과의 평가가 수행되었다. 1 ml 일일 용량의 추출물이 7일 동안, 10 내지 14 주령 암컷 쥐의 등의 상피 표면에 국소 적용되었다. 첫 번째 대조는 1 ml 일일 용량의 코코넛 오일로 치료되었다. 두 번째 대조는 10-14 주령 암컷 쥐의 등의 치료되지 않은 표면이었다. 7일 시점에, 치료된 및 대조 피부의 조직 구조가 평가되었다.

[0110] 도 6A 내지 6J에서는 치료된 및 대조 피부의 조직 구조를 도시한다. 획득된 결과는 코코넛 오일 단독 (도 6B)이 피부의 조직학적 프로필에 대한 명백한 효과를 갖지 못한다는 것을 증명한다. 코코넛 오일 단독으로 치료된 피부의 조직 구조는 치료되지 않은 피부 (도 6A)와 동등하다.

[0111] 도 6C 내지 6E에서는 코코넛 오일 (도 6C)에서; 에탄올 (도 6D)에서; 그리고 에탄올 및 탄화수소로 추출후 코코넛 오일 (도 6E)에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 추출물의 일일 적용 이후에 조직 구조를 도시한다. 획득된 결과는 상피 세포 두께에서 현저한 변화를 증명한다. 더 나아가, 진피 내에 혈관 구조 및 염 증성 침윤물 부재의 증거가 존재한다. 요약하면, 피부에 대한 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 효과가 모든 추출 용액에서 관찰되었는데, 이는 알코올, 그리고 탄화수소 추출에서 추출물을 농축하는 능력을 지시하였다.

[0112] 도 6F 내지 6J에서는 코코넛 오일 (도 6F)에서; 탄화수소 (도 6G)에서; 에탄올 (도 6H)에서; 에탄올로 추출후 코코넛 오일 (도 6I)에서; 그리고 에탄올 및 탄화수소로 추출후 코코넛 오일 (도 6J)에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출 제조물의 일일 적용 이후에 조직 구조를 도시한다. 이들 조직학적 프로필은 상기 추출물이 에탄올 또는 탄화수소 추출 단독에서 제한된 활성을 갖지만, 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)가 코코넛 오일로, 또는 에탄올 또는 탄화수소로 직접 추출되고, 이후 코코넛 오일로 추출되면 활성이 유지된다는 것을 증명한다.

[0113] 실시예 9 - 피부의 상피 두께에 대한 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 및 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.)의 개별 추출물 및 조합 추출물의 효과

[0114] 실시예 4.1, 5.1, 6.1 및 7.1에서 기술된 바와 같이 제조된 각 추출물의 활성의 평가가 수행되었다. 1 ml 일일 용량으로, 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 추출물 (실시예 4.1); 코코넛 오일에서 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 추출물 (실시예 5.1); 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물 (실시예 6.1); 및/또는 코코넛 오일에서 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus* L.) 추출물 (실시예 7.1)이 국소 투여되었다. 각 추출물은 1 ml의 용량을 제공하기 위하여 단독 적용되거나, 또는 두 번째 추출물과 공동으로, 예를 들면, 코코넛 오일에서 0.5 ml 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 추출물 + 코코넛 오일에서 0.5 ml 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.) 추출물이 적용되었다. 이들 추출물은 10 내지 14 주령 암컷 쥐의 등의 상피 표면에 국소 적용되었다. 7일 시점에, 피부의 상피 두께가 측정되었다.

[0115] 도 7A와 7B에서는 동일한 동물 상에서 치료되지 않은 대조 피부와 비교하여, 7일 시점에 상피 두께에서 변화 백분율을 도시한다. 도 7A에서는 코코넛 오일에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 추출물 및 코코넛 오일에서 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.) 추출물의 국소 적용이 상기 추출물이 단독으로 적용될 때, 7일 기간 동안 상피 두께에서 최대 증가를 유발한다는 것을 보여준다. 도 7B에서는 각 추출물이 다른 추출물과 공동으로 적용될 때, 상피 두께에서 변화 퍼센트를 상술한다. 획득된 결과는 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.)

추출물이 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. 추출물 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa L.*) 추출물 둘 모두와 상승효과 (synergistic effect)를 갖고, 그리고 나무목화 (*Hibiscus tiliaceus L.*)가 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.과 상승효과를 갖는다는 것을 증명한다.

[0116] 실시예 4 내지 7에서 기술된 바와 같이 제조된 각 추출물을 이용한 추가의 평가 (데이터 제시되지 않음)가 수행되었고 도 6A 내지 6J 및 7A와 7B에서 도시된 결과를 확증하였다. 상기 평가는 303마리 암컷 Sprague Dawley 쥐 및 34마리 New Zealand 화이트 토끼를 이용하였다. 추출물은 18개월령 난소절제된 및 가짜 난소절제된 쥐, 그리고 12주령 쥐의 등의 상피 표면에 최대 21일 동안 국소 적용되고, 그리고 12주령 New Zealand 화이트 토끼의 피부에 7일 동안 국소 적용되었다.

[0117] 병렬 연구에서, 가슴제 (하이드로덤), 국소 항생성 클로로마이세틴 (Chloromycetin) (클로람페니콜), 코코넛 오일, 또는 에탄올로 추출된 코코넛 오일이 18개월령 난소절제된 및 가짜 난소절제된 쥐의 등의 상피 표면에 적용되고, 그리고 인접한 치료되지 않은 부위의 상피 표면과 비교되었다. 하이드로덤, 클로로마이세틴 (클로람페니콜), 코코넛 오일, 또는 에탄올로 추출된 코코넛 오일로 치료된 동물에서, 치료되지 않은 인접한 피부와 비교하여 치료된 피부의 두께 사이에 유의한 차이가 기록되지 않았다. 획득된 결과는 상피에서 관찰된 변화가 이들 추출물의 적용에 기인하고 예로써, 추출물 내에 코코넛 오일의 가슴 효과와 무관하다는 것을 지시한다. 이들 결과는 또한, 상피에서 관찰된 변화가 이들 추출물의 임의의 항균 능력과 무관하다는 것을 지시하는데, 그 이유는 이들 변화가 클로람페니콜에 의해 재현될 수 없기 때문이다.

[0118] 모든 동물은 치료에 충분히 내성이었다. 국소 치료와 연관된 폐사 또는 질환이 관찰되지 않았다. 적용된 피부 영역은 임의의 활성 치료 동안 거시적으로 또는 현미경적으로 염증이 나타나지 않았다. 추출물의 적용 영역에서 상피에 대한 조직학적 변화가 관찰되었다. 적용 영역 및 대조 영역 사이에 차이는 상피의 많은 층의 비대 (hypertrophy) 및 성층 외관 (stratified appearance)에서 증가로 상피 구조에 변화를 확인시켰다. 상피 두께에서 증가는 100% 이상이었고, 그리고 재현가능할 뿐만 아니라 통계학적으로 정량가능하였다.

[0119] 추출물이 적용된 피부의 상피에서 관찰되는 효과는 노화된 동물 및 노화된 에스트로겐 결핍 동물에서처럼 어린 동물에서도 동일하였다. 이는 이들 각 군에서 치료되지 않은 동물의 기준선 조직 구조에서 차이에도 불구하고 그러하다. 토끼의 피부에 대한 추출물의 효과는 상피 및 상피 구조, 예를 들면, 모낭에서 관찰된 유사한 변화로, 쥐에서 관찰되는 것과 유사하였다.

[0120] 실시예 10 - 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera L.*), 그리고 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa L.*)의 조합 추출물의 제조

[0121] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr. (2.5 kg)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매, 종려나무과 (*Cocos nucifera L.*) (2.5 kg)의 어린 나무열매의 신선한 껍질 및 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa L.*) (1 kg)의 신선한 으깨어진 잎, 덩굴 및 열매는 개별적으로 피복 (mulching)되었다.

[0122] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.는 95% 에탄올 (5 ℓ)에 첨가되고 교반되고, 그리고 혼합물은 12시간 동안 방치되었다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr.의 피복된 물질은 이동되고 95% 에탄올 (5 ℓ)의 두 번째 통에 첨가되고, 그리고 혼합물은 12시간 동안 방치되었다. 첫 번째 5 ℓ의 에탄올이 큰 통에 첨가되었다.

[0123] 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)의 피복된 물질은 에탄올의 두 번째 분취액으로부터 이동되고 95% 에탄올 (5 ℓ)의 세 번째 분취액에 첨가되었다. 종려나무과 (*Cocos nucifera L.*)의 피복된 물질은 95% 에탄올의 두 번째 용기 (5 ℓ)에 첨가되고 12시간 동안 방치되었다. 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.)의 피복된 물질 (이 시점에서 거의 무색)은 95% 에탄올의 세 번째 분취액으로부터 이동되고 폐기되었다. 종려나무과 (*Cocos nucifera L.*)의 피복된 물질은 두 번째 용기로부터 이동되고 95% 에탄올의 세 번째 분취액에 배치되었다. 세 번째 분취액은 12시간 동안 방치되었다. 95% 에탄올의 두 번째 분취액은 첫 번째 분취액에 첨가되었다.

[0124] 종려나무과 (*Cocos nucifera L.*)의 피복된 물질은 95% 에탄올의 세 번째 분취액으로부터 이동되고 95% 에탄올 (5 ℓ)의 네 번째 분취액 내로 배치되었다. 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa L.*)의 피복된 물질은 95% 에탄올의 세 번째 분취액에 첨가되었다. 세 번째와 네 번째 분취액 둘 모두 12시간 동안 방치되었다.

[0125] 종려나무과 (*Cocos nucifera L.*)의 피복된 물질은 네 번째 분취액으로부터 이동되고 폐기되었다. 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa L.*)의 피복된 물질은 95% 에탄올의 세 번째 분취액으로부터 이동되고 95% 에탄올의 네 번

제 분취액 내에 배치되고 12시간 동안 방치되었다. 95% 에탄올의 세 번째 분취액은 첫 번째와 두 번째 분취액에 첨가되었다.

[0126] 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 피복된 물질은 네 번째 분취액으로부터 이동되고 95% 에탄올 (5 ℓ)의 다섯 번째 분취액에 첨가되고 12시간 동안 방치되었다. 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 피복된 물질 (이 시점에서 무색)은 다섯 번째 분취액으로부터 이동되었다. 95% 에탄올의 네 번째와 다섯 번째 분취액 둘 모두 첫 3개의 분취액에 첨가되었다. 결과의 추출된 혼합물에, 처음으로 짜서 얻어진 코코넛 오일 (1 ℓ)이 첨가되었다. 혼합물은 4시간 동안 매15분마다 5분 동안 활발하게 혼합되었다. 혼합물은 이후, 끓는점까지 가열되고, 그리고 혼합물의 부피가 26 ℓ에서 3 ℓ로 감소할 때까지 80℃ 이상에 유지되었다. 결과의 혼합물은 냉각되고 침전되었다. 코코넛 오일은 혼합물의 상부로부터 디캔팅되고 냉장고 내에 전도된 밀봉가능 용기에 배치되었다. 코코넛 오일은 고형화되고, 그리고 남아있는 수성 성분은 이동되고 폐기되었다. 코코넛 오일은 이후, 뜨거운 물 중탕에서 대략 56℃에서 가열되고 여과되었다.

[0127] 실시예 11 - 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 그리고 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 조합 추출물의 용량 의존성

[0128] 실시예 10에서 기술된 바와 같이 제조된 조합 추출물의 용량 의존성을 평가하기 위하여, 1 ml 일일 용량의 추출물이 10-14 주령 암컷 쥐의 등의 상피 표면에 국소 적용되었다. 추출물의 농도는 100%이었다. 추출물은 또한, 50%, 10%, 5% 및 1%로 적용되었다. 이들 추출물은 코코넛 오일로 100% 추출물의 희석에 의해 제조되었다. 피부는 7일 동안 일일 국소 적용으로 치료되었다. 대조 동물은 치료되지 않은 10-14 주령 암컷 쥐이었다. 도 8A 내지 8F에서는 7일 시점에 피부의 조직 구조를 도시한다. 획득된 결과는 상기 추출물의 가장 두꺼운 상피 및 세포질 (cellularity)과의 용량 의존성 상관관계가 50% 또는 100% 추출물의 일일 적용 이후에 더욱 명백하다는 것을 증명한다. 도 9A 및 9B에서는 7일 시점에, 피부의 상피 두께 및 상피 두께에서 변화 퍼센트를 도시한다. 피부의 상피 두께에서 130% 이상의 증가가 50% 또는 100% 조합 추출물로 치료된 동물에서 관찰되었다.

[0129] 실시예 12 - 혼합물 내에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 그리고 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 조합 추출물의 효과

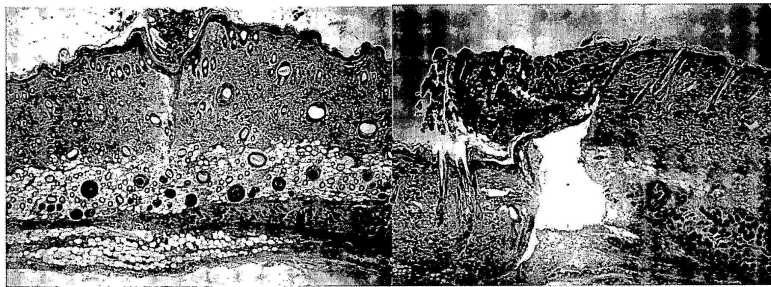
[0130] 실시예 10에서 기술된 바와 같이 제조된, 코코넛 오일 (100%)에서 비그나 마리나 (*Vigna marina*) (Burm.) Merr., 종려나무과 (*Cocos nucifera* L.), 그리고 인디안 아몬드 (*Terminalia catappa* L.)의 추출물은 클로르헥시딘; 하이드로덤 가습제; 25% 클로람페니콜 및 50% 클로람페니콜과 혼합되었다. 각 혼합물은 7일 동안, 10-14 주령 암컷 쥐의 등의 상피 표면에 국소 적용되었다 (1 ml). 7일 시점에, 치료된 피부의 조직 구조가 평가되었다.

[0131] 이들 조직학적 프로파일은 도 10A 내지 10E에서 도시되고, 그리고 추출물의 효능이 상업적 연고 또는 용액의 존재에 의해 약화되지 않고 상기 추출물이 멸균 및 항생 적용에 적합하다는 것을 증명한다.

도면

도면1

3일



A

B

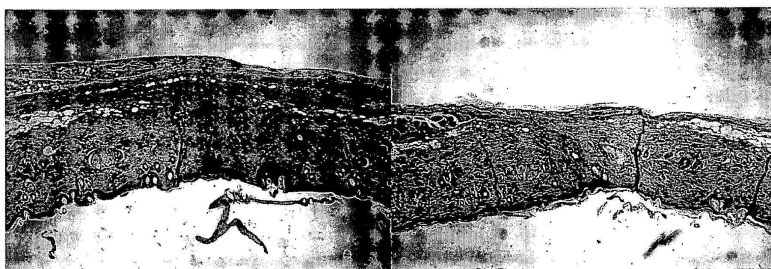
5일



C

D

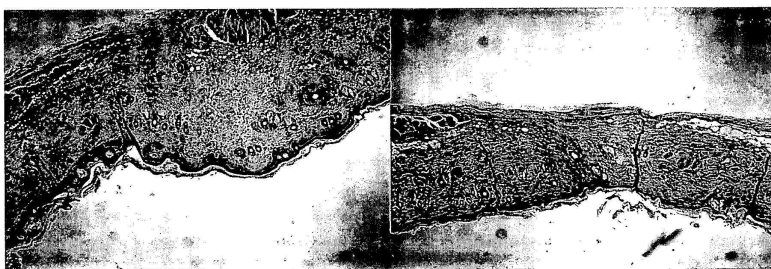
7일



E

F

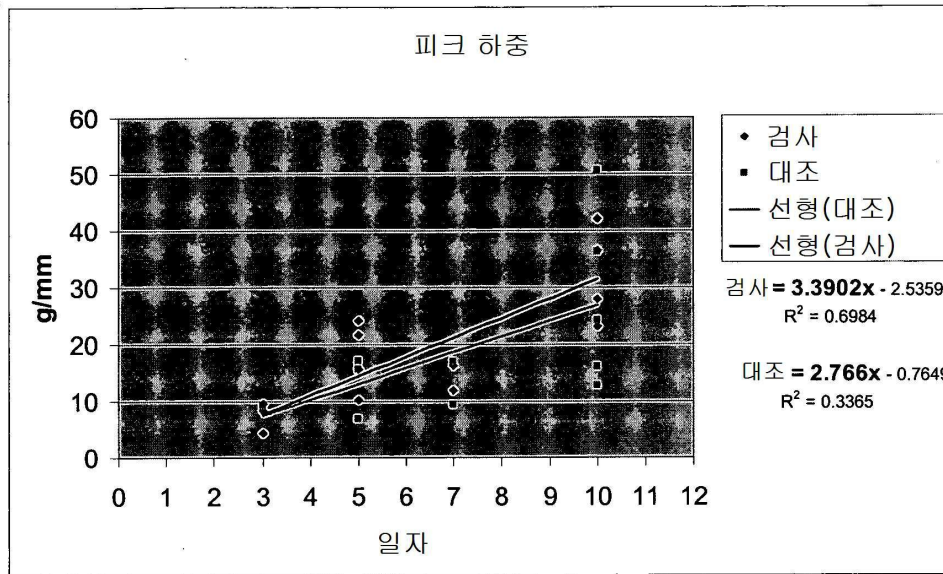
10일



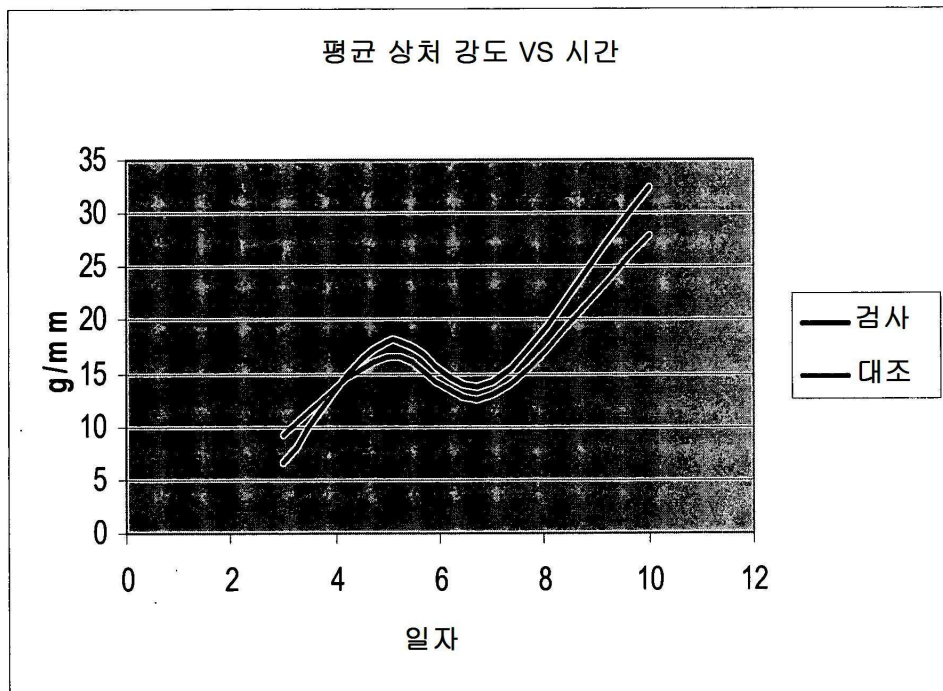
G

H

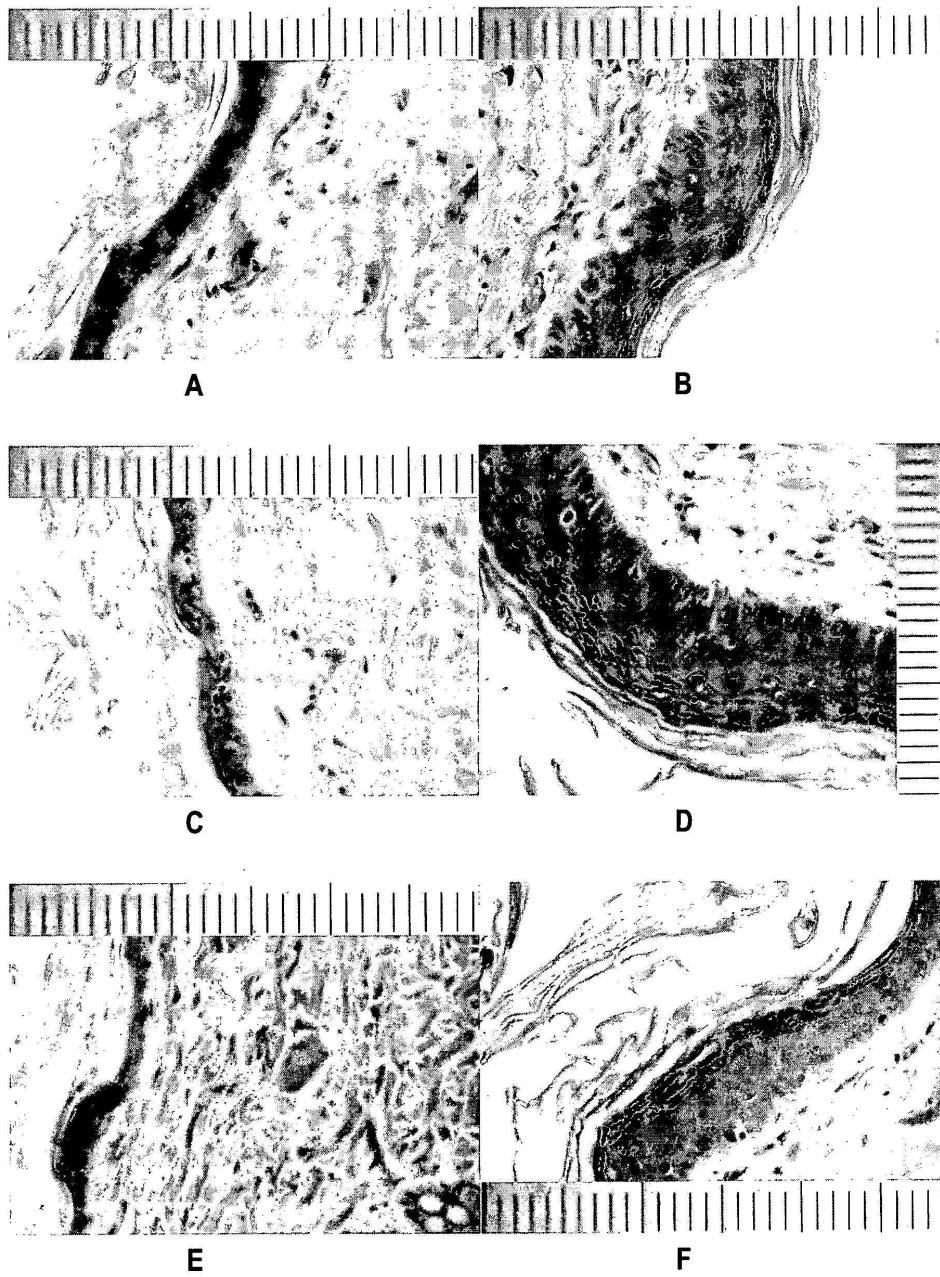
도면2a



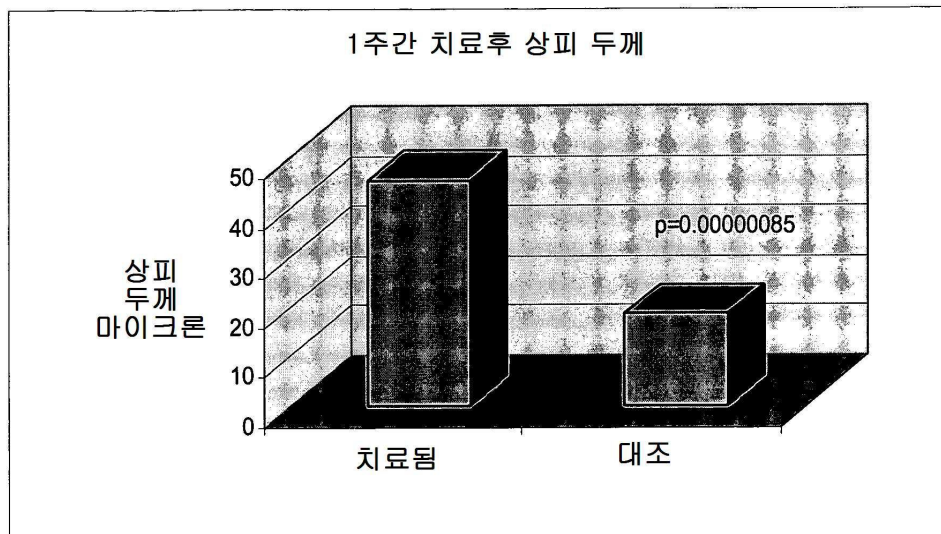
도면2b



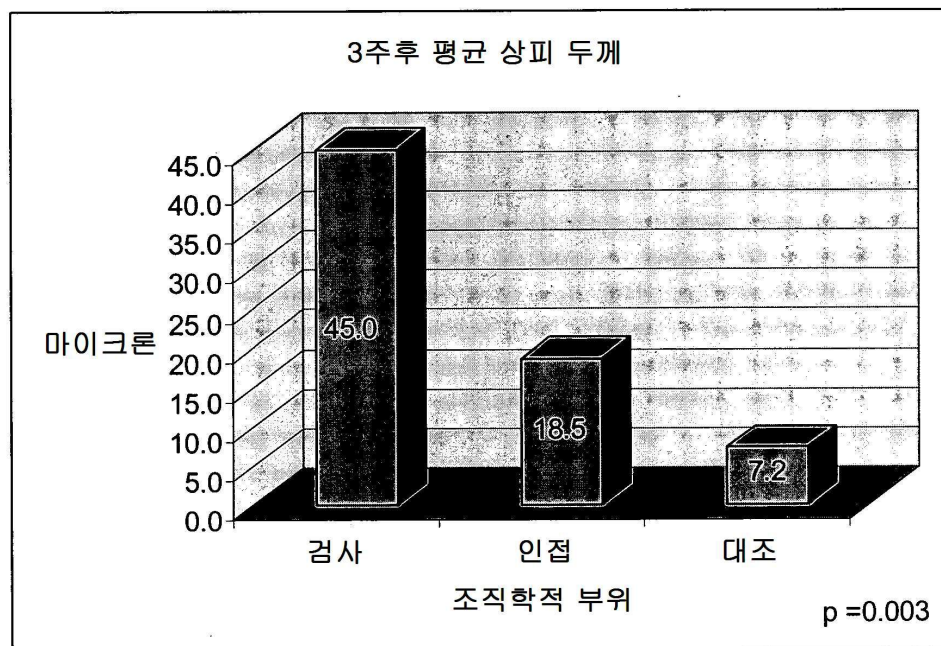
도면3



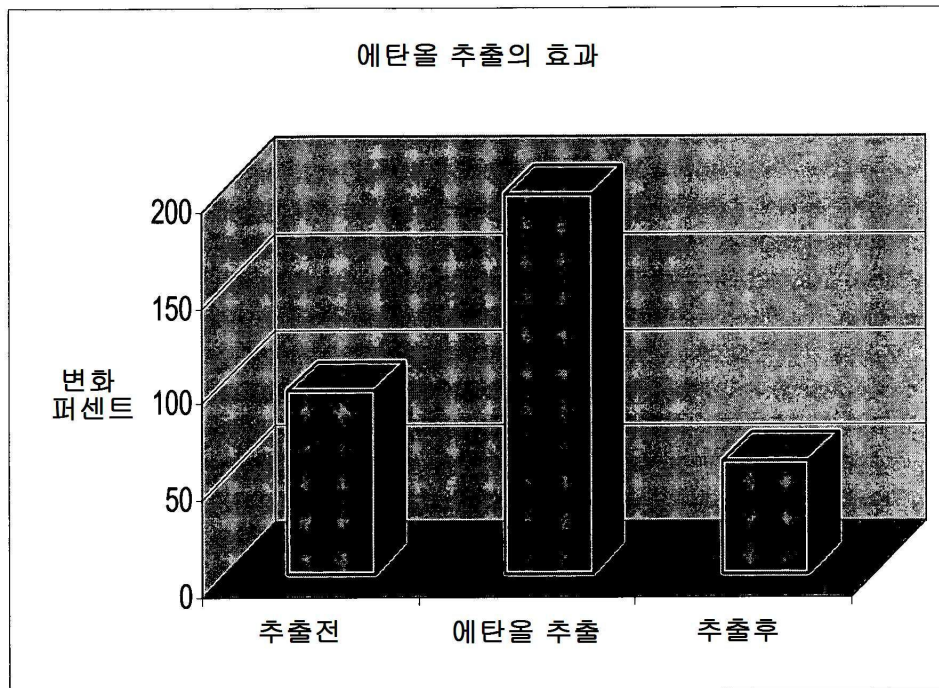
도면4a



도면4b



도면5



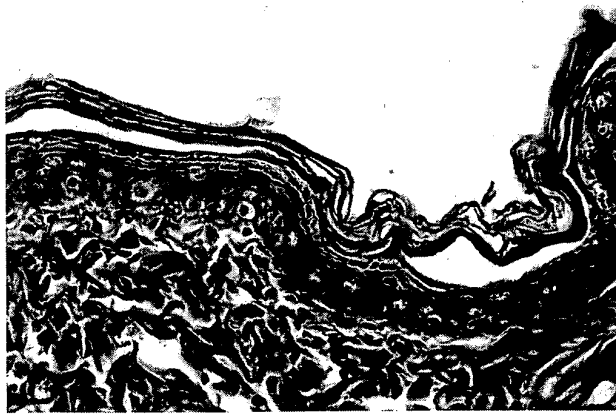
도면6a



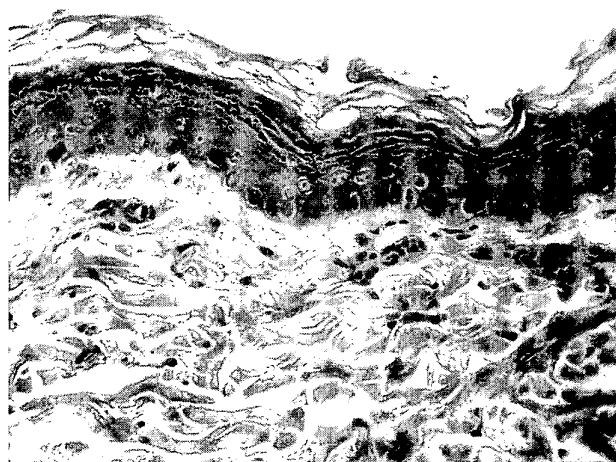
도면6b



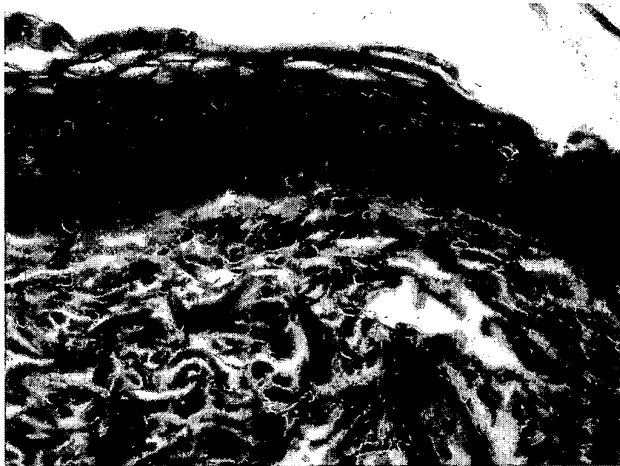
도면6c



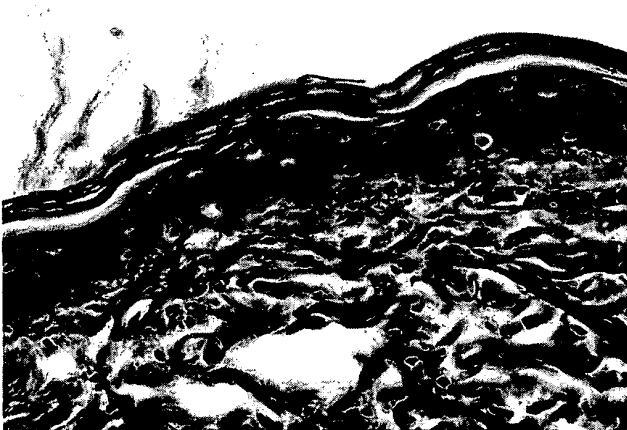
도면6d



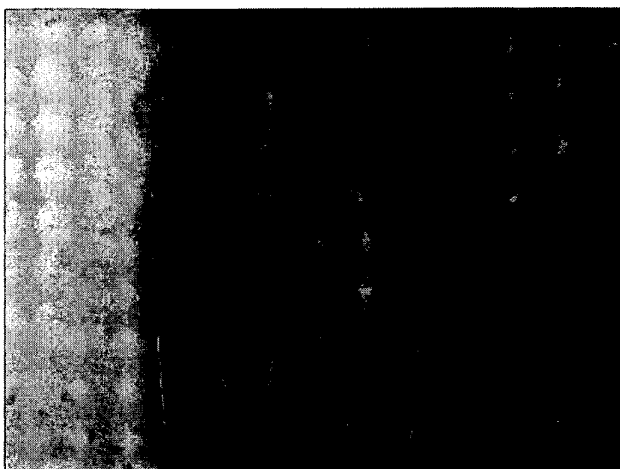
도면6e



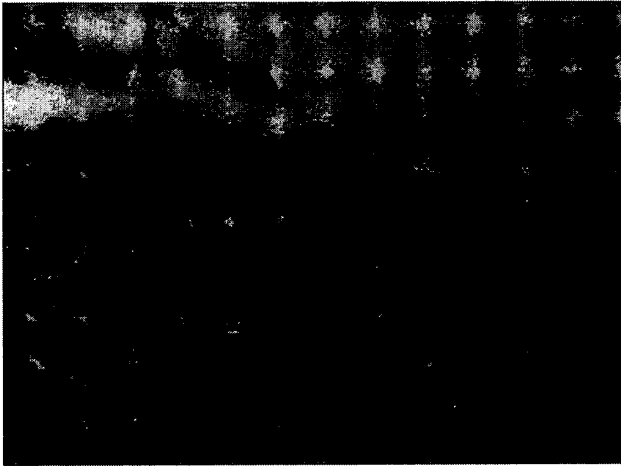
도면6f



도면6g



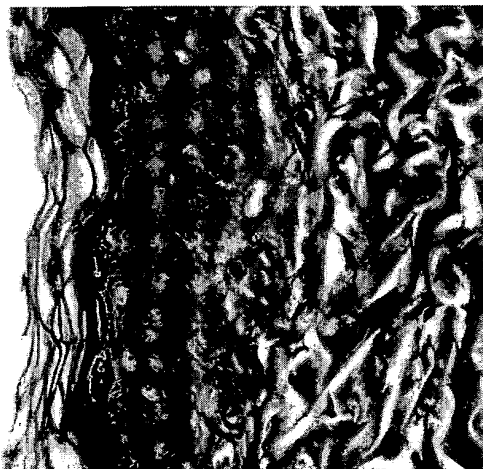
도면6h



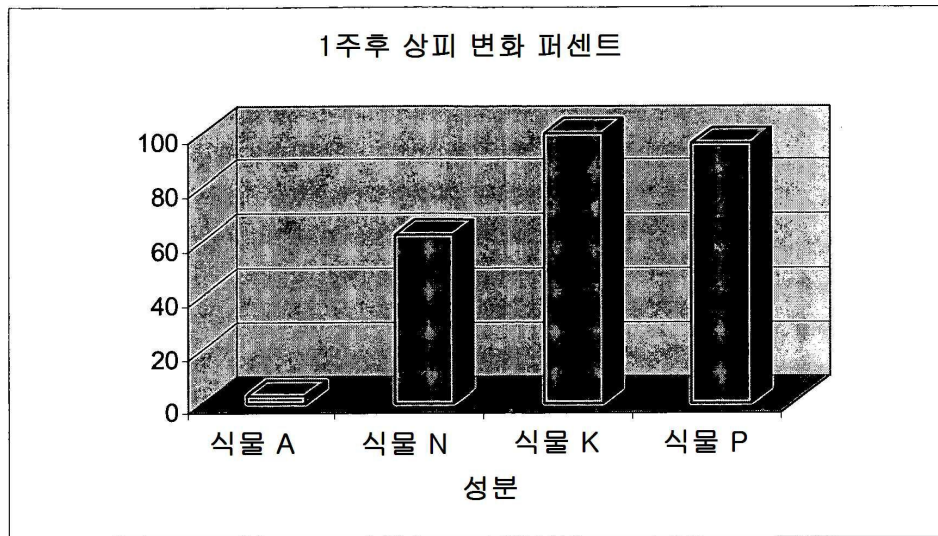
도면6i



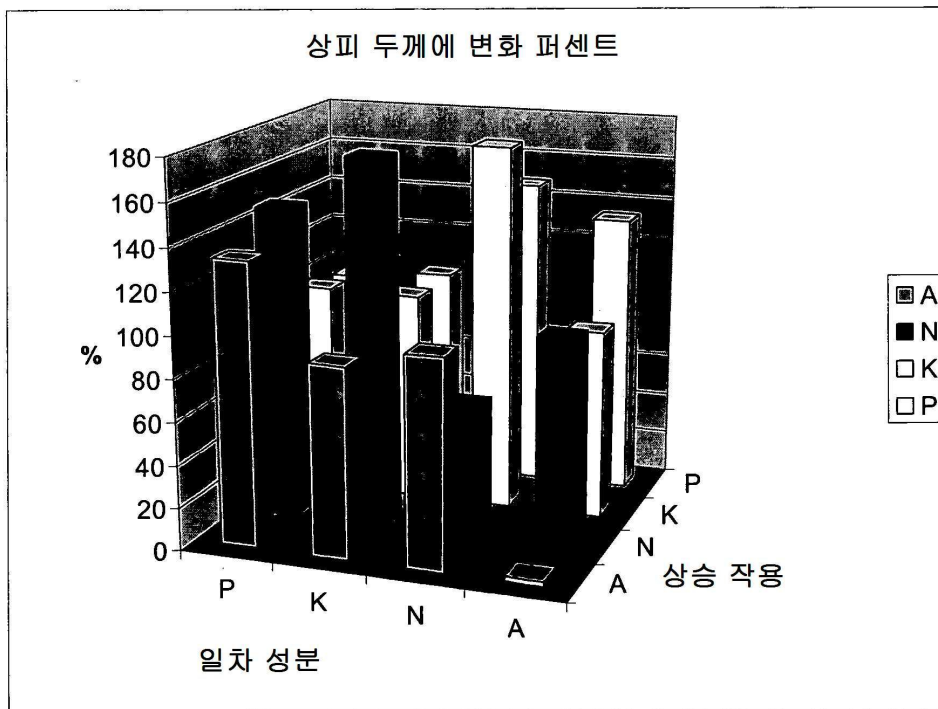
도면6j



도면7a



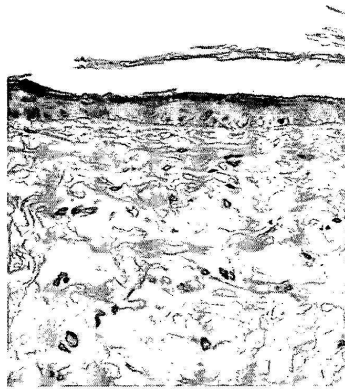
도면7b



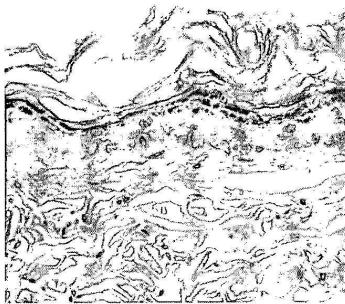
도면8



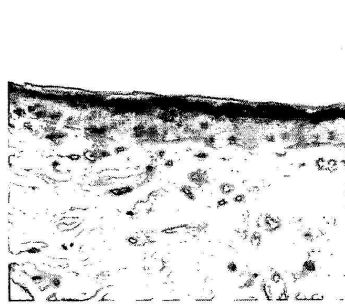
A



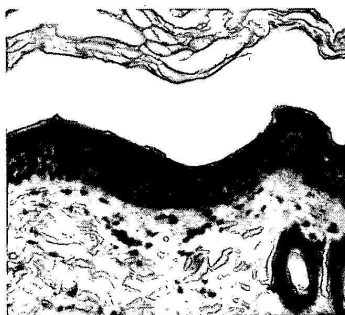
B



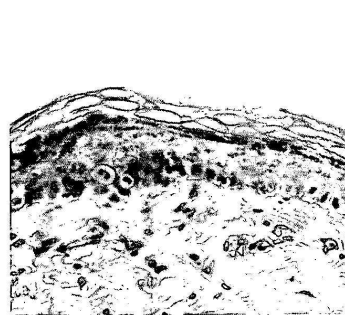
C



D

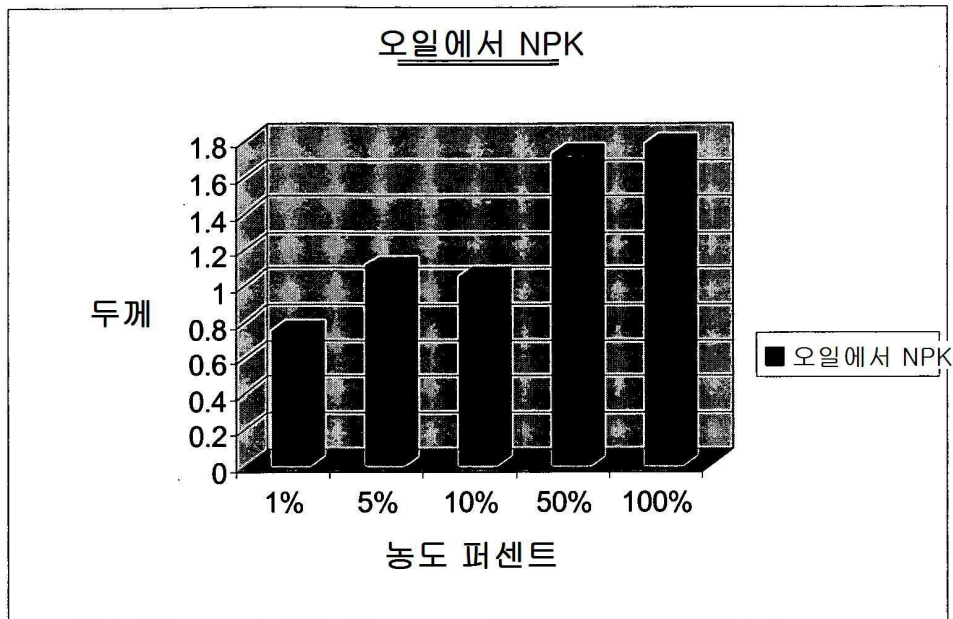


E

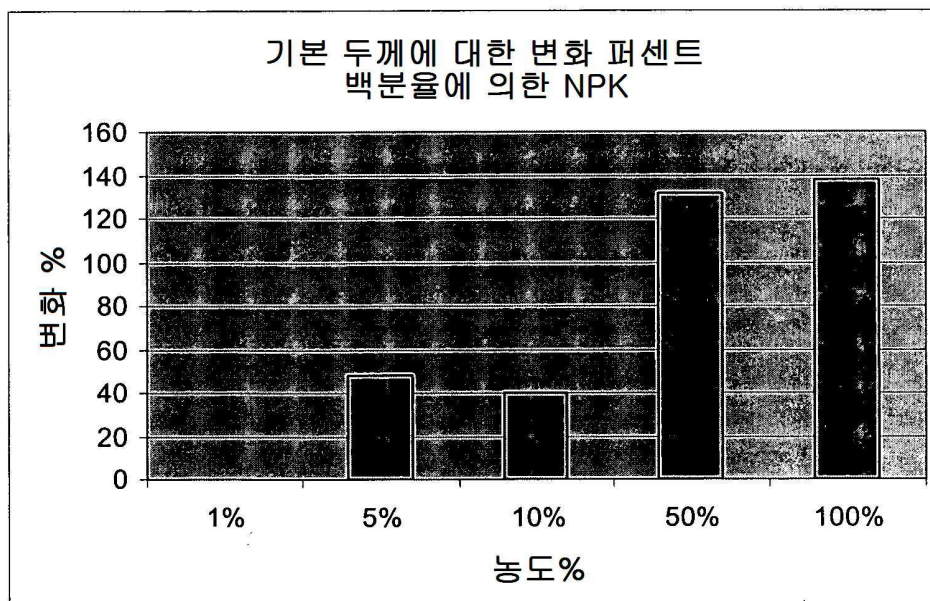


F

도면9a



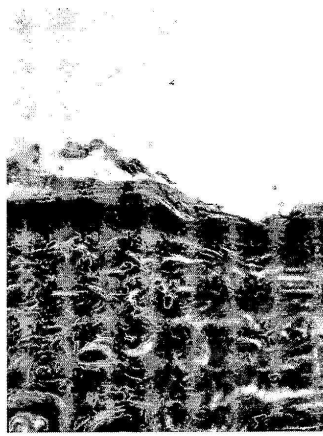
도면9b



도면10



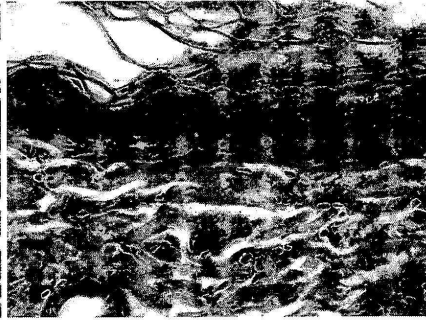
A



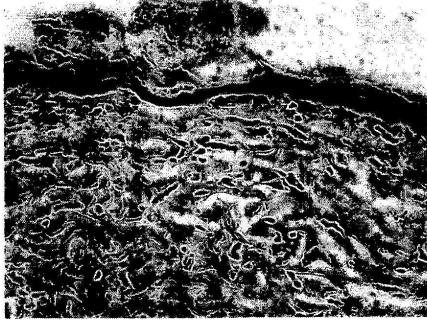
B



C



D



E