



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년01월22일

(11) 등록번호 10-1578705

(24) 등록일자 2016년01월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 33/06 (2006.01) A61K 33/14 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0024421

(22) 출원일자 2014년02월28일

심사청구일자 2014년02월28일

(65) 공개번호 10-2015-0102484

(43) 공개일자 2015년09월07일

(56) 선행기술조사문헌

JP2011006383 A*

KR1020050015350 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

정한성

서울 강남구 압구정로33길 70, 52동 404호 (압구정동, 현대아파트)

최병로

경기도 화성시 덕영대로1376번길 15

김명옥

경기도 김포시 양촌읍 황금로89번길 25, 103동 1503호 (골드벨리자연앤데시아파트)

(74) 대리인

특허법인 정안

전체 청구항 수 : 총 15 항

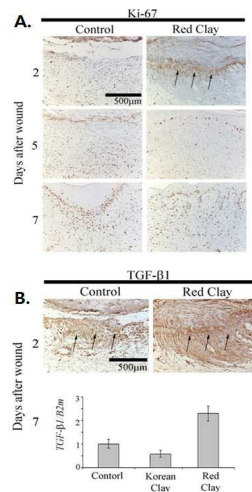
심사관 : 윤동준

(54) 발명의 명칭 적색 점토를 포함하는 피부 재생 촉진용 조성물

(57) 요약

본 발명은 고비사막으로부터 채취한 적색 점토를 포함하는 피부 재생 촉진용 조성물에 관한 것으로, 뛰어난 보습력을 가지고 있으며, 섬유아세포성장인자, TGF-beta1 등 다양한 성장인자의 발현을 증가시켜 피부의 재생피해를 촉진시키기 때문에, 피부 재생을 위한 다양한 분야에 폭넓게 사용될 수 있다.

대표도 - 도6



명세서

청구범위

청구항 1

Na/Ca의 질량비 비율이 1.0 내지 1.9이며, Mg/Na의 질량비 비율이 1.3 내지 2.8이며, 입자크기가 800 내지 5,000nm인 고비사막의 적색 점토를 포함하는, 피부 재생 촉진용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 6.5 내지 8의 pH를 가지는, 피부 재생 촉진용 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 적색 점토는 미네랄 성분으로서, 마그네슘 15,000 내지 25,000mg/kg 및 칼슘 6,000 내지 8,000mg/kg을 포함하는 것을 특징으로 하는, 피부 재생 촉진용 조성물.

청구항 6

삭제

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 적색 점토는 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor)의 분비를 촉진시키는 것을 특징으로 하는, 피부 재생 촉진용 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 적색 점토는 형질변환 성장인자-베타1(transforming growth factor-beta1)의 발현을 촉진시키는 것을 특징으로 하는, 피부 재생 촉진용 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 적색 점토는 시토케라틴(cytokeratin)의 발현을 촉진하는 것을 특징으로 하는, 피부 재생 촉진용 조성물.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 적색 점토는 피부의 재생피화(re-epithelialization)를 촉진하는 것을 특징으로 하는, 피부 재생 촉진용 조성물.

청구항 11

제1항, 제4항 및 제7항 내지 제10항 중 어느 하나의 조성을 포함하는, 피부 재생 촉진용 약학 조성물.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 약학 조성물은 캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 또는 분말 형태임을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 13

제 11 항에 있어서,

상기 약학 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 하는, 약학 조성물.

청구항 14

제1항, 제4항 및 제7항 내지 제10항 중 어느 하나의 조성을 포함하는, 피부 재생 촉진용 화장품 조성물.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 화장품 조성물은 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 왁스 또는 스프레이 형태임을 특징으로 하는, 화장품 조성물.

청구항 16

제1항, 제4항 및 제7항 내지 제10항 중 어느 하나의 조성을 포함하는, 피부 재생 촉진용 적색 점토백 조성물.

청구항 17

제1항, 제4항 및 제7항 내지 제10항 중 어느 하나의 조성을 포함하는, 상처 치료용 조성물.

청구항 18

제1항, 제4항 및 제7항 내지 제10항 중 어느 하나의 조성을 포함하는, 파상 도포제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 적색 점토를 포함하는 피부 재생 촉진용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부는 인체의 일차 방어막으로서 체내의 기관들을 온도와 습도 변화, 자외선, 공해물질 등 외부환경의 자극으로부터 보호해 주며, 체온조절 등의 생체 항상성 유지에 중요한 역할을 한다. 이런 피부의 맨 바깥에 있는 각질은 피부의 세포가 변화되어 생긴 조직이며 각질층은 완전히 죽은 세포로 구성되어 있다. 진피층에서 피부 결합조직 안에 성기게 형성된 세포층은 표피층으로 올라가면서 세포의 생명력이 없어지고 견고하고 규칙적인 세포층으로 변한다. 핵과 세포질이 빠져나가서 벽돌과 같이 단단한 각질층을 형성하게 된다. 이러한 각질층은 피부를 견고하게 하면서 피부조직 가장 외부에서 우리 몸의 수분을 지켜주고 밖에서 들어오는 여러 가지 물질들을 방어하는 방어선과 같은 역할을 한다. 즉, 피부의 표면에 상처가 생길 경우, 표피의 빠른 재생 능력은 상처의 회복을 촉진하여 상처를 통한 추가 감염을 방지하며, 피부 표면의 흉터를 줄여주는 역할을 할 수 있다(한국특허출원번호제10-2008-0101820호).

[0003] 한편, 고비사막은 몽골과 중국에 걸쳐 있는 중앙아시아의 사막이며, 남서쪽에서 북동쪽까지 1,610km이고 북쪽에서 남쪽까지 800km로 알려져 있다. 고비란 몽골어로 '풀이 잘 자라지 않는 거친 땅'이란 뜻으로, 고비라는 말의 뜻처럼 고비사막 대부분의 지역은 암석사막을 이루어져 있다. 또한 넓은 초원지대도 포함되어 있다. 이러한 고비사막은 아시아에서 가장 큰 사막으로 알려져 있지만, 그 효용가치에 대해서는 잘 알려져 있지 않다.

[0004] 이에 본 발명자들은 고비사막에서 채취한 적색 점토(red clay)에 대하여 연구한 결과, 적색 점토가 높은 보습력을 가지고 있으며, 다양한 성장인자의 발현을 촉진하여 피부의 재생을 촉진한다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 적색 점토를 포함하는 피부 재생 촉진용 조성물을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.
 [0006] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 이하, 본원에 기재된 다양한 구체예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물, 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구체예는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구체예" 또는 "구체예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구체예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구체예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현 "한 가지 구체예에서" 또는 "구체예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구체예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구체예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.

[0008] 본 명세서에 있어서, "피부세포"는 피부(표피, 진피, 피하지방층)를 이루는 세포를 말하며, 특별히 제한되는 것은 아니다. 상기 피부세포의 예로서는 표피에 존재하는 각질형성세포(keratinocyte), 멜라닌 세포(melanocyte), 진피에 존재하며 콜라겐 및 엘라스틴의 생합성을 담당하는 섬유아세포 등이 있다.

[0009] 본 명세서에 정의된 용어 "피부재생"은 전반적인 피부 노화 및 피부 표피 등에 유발된 상처 등에 대응하여 새로운 피부각질세포를 생성하는 능력을 포함하는 광의의 개념이다.

[0010] 구체적으로, 본 발명에서 피부 재생은 피부 표피의 기저층에 존재하는 피부각질줄기세포의 분열에 의해 생성된 전이-증폭 세포들이 더욱 증폭하고, 초기 분화하여 각질 세포가 되고, 피부 표면으로 밀려 올라가 분화(differentiation), 각화(keratinazation) 등을 일으키면서 재상피화와각질층을 이루게 되는 모든 과정을 의미한다.

[0011] 따라서, 본 발명은 치료적인 목적 뿐만 아니라 노화 방지, 주름 개선 등의 다양한 목적으로 이용될 수 있으며, 이 경우 약제학적 조성물, 화장품조성물 등은 각각 본 발명의 일 실시예에 따른 피부 재생 촉진용 조성물을 유효성분으로 포함하며, 그 제형은 특별히 한정되지 않는다.

[0012] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 Na/Ca의 비율이 1.0 내지 1.9인 적색 점토를 포함하는, 피부 재생 촉진용 조성물을 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 구체예로, 상기 적색 점토의 Mg/Na의 비율이 1.3 내지 2.8인 것을 특징으로 한다.

[0014] 본 발명의 다른 구체예로, 상기 적색 점토는 입자크기가 800 내지 5,000nm이며, 6.5 내지 8의 pH를 가지는 것을 특징으로 한다. 본 발명의 또 다른 구체예로, 상기 적색 점토는 미네랄 성분으로서, 마그네슘 15,000 내지 25,000mg/kg 및 칼슘 6,000 내지 8,000mg/kg을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0015] 본 발명의 또 다른 구체예로, 상기 적색 점토는 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor)의 분비, 형질변환 성장인자-베타1(transforming growth factor-beta1)의 발현 등 피부 재생과 관련된 다양한 성장인자의 발현을 촉진시키는 것을 특징으로 한다.

[0016] 본 발명의 또 다른 구체예로, 상기 적색 점토는 시토케라틴(cytokeratin)의 발현을 촉진하는 것을 특징으로 한

다.

- [0017] 본 발명의 또 다른 구체예로, 상기 적색 점토는 피부의 재생피화(re-epithelialization)를 촉진하는 것을 특징으로 한다.
- [0018] 상기 적색 점토는 고비사막으로부터 채취될 수 있으나 이에 제한되지는 않는다. 또한 상기 점토는 높은 보습력을 가지고 있으며, 다양한 성장인자의 발현을 촉진하여 피부 재생 촉진 효과가 있다면, 흑색 점토, 황색 점토, 암갈색 점토 동일 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.
- [0019] 또한 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 피부 재생 촉진용 약학 조성물을 제공한다.
- [0020] 본 발명에 있어서 상기 약학 조성물은캡슐, 정제, 과립, 주사제, 연고제, 분말 또는 음료 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 약학 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0021] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장이 포함된다. 경구 또는 비경구 투하가 바람직하다. 본원에 사용된 용어 "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 경막내, 병소내 및 두개골내 주사 또는 주입기술을 포함한다. 본 발명의 약학 조성물은 또한 직장 투여를 위한 좌제의 형태로 투여될 수 있다.
- [0022] 본 발명의 약학 조성물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 캡슐, 정제, 수성 현탁액 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 약제적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는 경구투여시에는 결합제, 활탁제, 붕해제, 부형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소, 향료 등을 사용할 수 있으며, 주사제의 경우에는 완충제, 보존제, 무통화제, 가용화제, 등장제, 안정화제 등을 혼합하여 사용할 수 있으며, 국소투여용의 경우에는 기제, 부형제, 유허제, 보존제 등을 사용할 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물의 제형은 상술한 바와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 다양하게 제조될 수 있다. 예를 들어, 경구투여시에는 정제, 트로키, 캡슐, 엘릭서(elixir), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 제조할 수 있으며, 주사제의 경우에는 단위 투약 앰플 또는 다수회 투약 형태로 제조할 수 있다. 기타, 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 서방형 제제 등으로 제형할 수 있다.
- [0023] 한편, 제제화에 적합한 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말디톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸셀룰로즈, 미정질셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 또는 광물유 등이 사용될 수 있다. 또한, 충전제, 향응집제, 유허제, 습윤제, 향료, 유화제, 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0024] 또한 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 피부 재생 촉진용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0025] 본 발명에 있어서 상기 화장료 조성물은 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 크림, 로션, 파우더, 왁스 또는 스프레이 형태임을 특징으로 할 수 있으며, 상기 화장료 조성물은 인간을 대상으로 하는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0026] 본 발명에 따른 화장료 조성물은 화장품학 또는 피부과학적으로 허용 가능한 매질 또는 기제를 함유하여 제형화될 수 있다. 이는 피부에 적합한 모든 제형으로서, 예를 들면, 용액, 젤, 고체, 반죽 무수 생성물, 수상에 유상을 분산시켜 얻은 에멀전, 현탁액, 마이크로에멀전, 마이크로캡슐, 미세과립구 또는, 이온형(리포솜) 및 비이온형의소낭 분산제의 형태로, 또는 크림, 스킨, 로션, 파우더, 연고, 스프레이 또는 콘실스틱의 형태로 제공될 수 있다. 이들 조성물은 당해 분야의 통상적인 방법에 따라 제조될 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 또한 포말(foam)의 형태로 또는 압축된 추진제를 더 함유한 에어로졸 조성물의 형태로도 사용될 수 있다.
- [0027] 본 발명에 의한 화장료 조성물은 지방 물질, 유기용매, 용해제, 농축제, 겔화제, 연화제, 향산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 또는 비이온형유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 또는 친유성 활성제, 지질소낭 또는 화장품에 통상적으로 사용되는 임의의 다른 성분과 같은 화장품학 또는 피부과학 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 함유할 수 있다. 상기 보조제는화장품학 또는 피부과학 분야에서 일반적으로 사용되는 양으로 도입된다.
- [0028] 또한 본 발명은 상기 조성물을 포함하는, 피부 재생 촉진용 점토팩 조성물을 제공한다.

[0029] 또한 본 발명은 상기조성물을 포함하는, 상처 치료용 조성물을 제공한다.

[0030] 또한 본 발명은 상기조성물을 포함하는, 파상 도포제를 제공한다.

발명의 효과

[0031] 본 발명에 따른 적색 점토를 포함하는 피부 재생 촉진용 조성물은 적색 점토가 가지고 있는 보습력으로 인하여 상처가 치료되는 것을 도와주며, 또한 내피세포의 세포막을 붕괴시켜 섬유아세포성장인자의 분비를 촉진하여 섬유아세포의 분화를 증가시킬 뿐만 아니라, TGF-beta1의 발현을 촉진하여 새로운 세포 층의 형성을 도와주어, 결과적으로 상처가 난 피부의 재생피화를 촉진시켜 피부 재생을 효과적으로 촉진시키기 때문에 피부 재생을 위한 다양한 분야에 폭넓게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 적색 점토와 국내 점토의 pH 완충능력을 비교한 결과이다.

도 2는 적색 점토와 국내 점토의 용혈작용능력을 비교한 결과이다.

도 3은 적색 점토와 국내 점토의 입자를 주사전자현미경을 이용하여 관찰한 결과이다.

도 4는 헤마톡실린-에오진 염색법을 이용하여 재생피화를 확인한 결과이다.

도 5는 시토케라틴(cytokeratin)의 발현을 확인한 결과이다(A. 면역학적 염색법으로 염색한 결과; B. 새롭게 생성된 상피조직의 두께(1. 음성대조군, 2. 국내 점토 처리 3. 적색 점토 처리, 4. 정상 피부)).

도 6은 A. Ki-67의 발현 패턴 확인한 결과, B. TGF-beta1의 발현 패턴을 확인한 결과, C. TGF-beta1의 발현량을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0034] **실시예**

[0035] **실시예 1: 적색 점토(red clay)의 성분 분석**

[0036] 중앙아시아에 위치한 고비사막(중국 내몽골 자치구 우란차부시)에서 채취한 적색 점토의 성분 분석을 위하여, 국내에서 흔하게 볼 수 있는 점토(국내 점토)와 함께 한국과학기술연구원 분석기관에 의뢰하였다. 그 결과는 표 1에 나타내었다.

표 1

| | 적색 점토 | 국내 점토 |
|------|-------------------------------|------------------------------|
| pH | 7.46±0.17 | 5.92±0.55 |
| 건조중량 | 40.1±2.47 | 19.1±1.67 |
| 습윤중량 | 59.9±2.47 | 80.9±1.67 |
| 탄소 | 0.20% | 0.82% |
| 수소 | 0.12% | 0.16% |
| 질소 | 0.04% | 0.20% |
| 입자크기 | 911.4±12.34 nm, 4698±23.91 nm | 172.1±8.07 nm, 4070±19.12 nm |
| 표면전하 | -20.6±0.54 mV | - 9.64±0.18 mV |

[0038] 표 1에 나타난 바와 같이, 고비사막의 적색 점토(Red clay)은 국내 점토에 비하여 중성 pH를 띠고 있었으며, 국

내 점토의 경우에는 건조중량(dry weight)과 습윤중량(wet weight)의 차이가 큰 것에 비하여 적색 점토의 경우에는 차이가 크지 않다는 것을 확인하였다 또한, 적색 점토의 입자가 국내 점토에 비하여 크다는 것을 확인할 수 있었다.

[0039] 또한 적색 점토와 국내 점토의 미네랄 성분을 유도결합플라즈마 질량분석기(Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)를 이용하여 분석하였다. 유도결합플라즈마 질량분석기를 이용한 성분 분석(단위: mg/kg) 결과는 표 2에 나타내었다.

표 2

| | Na | Fe | Pb | Mg | Al | K | Ca | As |
|----------------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|--------|
| 적색점토 | 9318.52 | 36075.9 | 24.025 | 19152.6 | 83367.8 | 14122.3 | 7020.08 | 11.312 |
| 국내점토 | 6281.59 | 37253.1 | 28.503 | 6708.4 | 93509.7 | 15733.8 | 2911.19 | 9.197 |
| 적색점토 상대성분비율 | 4.51 | 21.3 | 0.014 | 11.3 | 49.3 | 8.35 | 4.15 | 0.007 |
| 국내점토 상대성분비율 | 3.87 | 23.0 | 0.018 | 4.13 | 58.0 | 9.69 | 1.79 | 0.006 |

[0041] 표 2에 나타난 바와 같이, 적색 점토는 국내 점토에 비하여 마그네슘(Mg)은 약 2.9배 정도의 양을 포함하고 있고, 칼슘(Ca)은 약 2.4배 정도의 양을 포함하고 있고, 나트륨(Na)은 약 1.5배의 양을 포함하는 것을 확인하였다. 또한, 원소간 비율도 상대적으로 나트륨, 마그네슘 및 칼슘의 함량이 높았다.

[0042] **실시예 2: 적색 점토의 특성 분석**

[0043] **2.1. pH 완충능력 비교**

[0044] 적색 점토의 pH 완충능력을 확인하기 위하여, 적색 점토와 국내 점토를 각각 150mM의 NaCl 용액 1mL에 혼합하고, 0.1M의 HCl 용액을 첨가하였다. 그 결과는 도 1에 나타내었다.

[0045] 도 1에 나타난 바와 같이, pH 완충능력은 적색 점토와 국내 점토가 차이가 없다는 것을 확인하였다.

[0046] **2.2. 용혈작용능력 비교**

[0047] 적색 점토의 용혈작용능력을 확인하기 위하여, 혈액 1mL에 적색 점토와 국내 점토를 각각 2, 4, 6, 8, 10mg씩 혼합하고, 10분간 실온에서 반응시켰다. 그리고 적혈구로부터 유출된 헤모글로빈의 양을 시안메트헤모글로빈(Cyanmethemoglobin) 방법으로 측정하였다. 그 결과는 도 2에 나타내었다.

[0048] 도 2에 나타난 바와 같이, 국내 점토와 비교하여 적색 점토가 용혈작용능력이 높다는 것을 확인할 수 있었다. 상기 결과를 통하여, 상처가 치유되는 동안 고비사막의 적색 점토는 내피세포(endothelial cell)의 세포막을 붕괴시켜 세포질 저장소(cytosolic storage)로 부터 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor)의 분비를 촉진시킬 수 있다는 것을 확인할 수 있었다. 섬유아세포성장인자는 조직의 유지 및 손상 후의 복구를 위해 필요한 세포의 성장을 촉진시키는 "상처 호르몬(wound hormone)"으로 잘 알려져 있다.

[0049] **2.3. 적색 점토의 입자 확인**

[0050] 적색 점토의 입자를 확인하기 위하여, 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope)을 이용하여 적색 점토와 국내 점토를 관찰하였다. 그 결과는 도 3에 나타내었다.

[0051] 도 3에 나타난 바와 같이, 적색 점토의 입자(오른쪽 도면)는 국내 점토(왼쪽 도면)에 비하여 큰 것을 확인하였으며, 또한 국내 점토와 비교하여 느슨하게 뭉쳐져 있어 입자들의 틈 사이로 물을 함유할 수 있는 반면, 국내

점토의 경우에는 표면에만 물을 함유할 수 있어 쉽게 증발될 수 있다는 것을 알 수 있었다. 상기 결과를 통하여, 적색 점토의 건조중량과 습윤중량의 차이가 크지 않은 이유를 확인할 수 있었고(표 1 참조), 적색 점토의 경우 상처에 처리 시 장기간 보습력을 유지하여 상처 치료에 도움을 줄 수 있다는 것을 확인하였다.

실시예3: 적색 점토의 상처 치유 효능 확인

3.1. 재상피화(re-epithelialization) 확인

적색 점토의 상처 치유 효능을 확인하기 위하여, 실험용 쥐를 이용하였다. 실험용 쥐는 상처를 내기 전에 마취제 용액을 복강 내 주사하여 마취시키고, 등의 털을 제거하였다. 그리고 4mm 생검편치를 이용하여 쥐의 등 피부 전층(full-thickness)에 상처를 내고, 바로 상처 위에 국내 점토, 적색 점토를 각각 처리하였다. 음성대조군에는 아무 것도 처리하지 않았다. 0, 2, 5, 7, 10, 및 14일에 각각 최소 6 마리의 실험용 쥐의 상처를 6mm 생검편치를 이용하여 상처 부위 피부를 추출하였다. 추출한 피부는 헤마톡실린-에오진염색법(Hematoxylin and eosin staining)을 이용하여 염색하고 관찰하였다. 그 결과는 도 4에 나타내었다.

도 4에 나타난 바와 같이, 적색 점토(red clay)을 처리한 상처의 경우에는 음성 대조군에 비하여 재상피화가 잘 일어난 것을 확인할 수 있었으며, 국내 점토(KC)를 처리한 상처의 경우에는 재상피화는 잘 일어났으나, 적색 점토와 같이 치밀하고 얇게 재상피화가 일어나지 않은 것을 확인하였다. 상기 결과를 통하여, 적색 점토를 처리한 경우에 피부의 재상피화가 촉진되는 것을 확인할 수 있었다.

3.2. 시토케라틴(cytokeratin) 발현 확인

실시예 3.1의 방법으로 추출한 피부를 시토케라틴 항체를 이용한 면역학적 염색법으로 염색하여, 시토케라틴의 발현을 확인하여 표피를 관찰하였다. 그 결과는 도 5에 나타내었다.

도 5A에 나타난 바와 같이, 적색 점토를 처리한 경우에 시토케라틴이 기저층(basal layer) 뿐만 아니라 새롭게 생성된 상피조직(epithelium)의 전 층에 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 14일째 새롭게 생성된 상피조직의 두께를 확인한 결과, 음성대조군과 국내 점토를 처리한 경우와 비교하여 50% 이상 두께가 감소한 것을 확인할 수 있었으며, 이는 정상 피부에서 나타난 상피조직 두께와 유사하였다(도 5B 참조). 상기 결과를 통하여, 상처에 적색 점토를 처리한 경우 각질화(keratinization)가 촉진되는 것을 확인할 수 있었다.

3.3. 세포 분화 및 형질변환 성장인자-베타1(transforming growth factor-beta1, TGF-beta1)의 발현 확인

실시예 3.1의 방법으로 추출한 2일, 5일, 및 7일째 피부를 anti-Ki-67 항체를 이용한 면역학적 염색법으로 염색하여 상처 주변의 세포 분화 패턴을 관찰하고, 2일째 피부를 anti-TGF-beta1 항체를 이용한 면역학적 염색법으로 염색하여 TGF-beta1의 발현 패턴을 확인하고, 또한 7일째 피부로 real-time PCR을 수행하여 TGF-beta1의 발현량을 확인하였다. 그 결과는 도 6에 나타내었다.

도 6A에 나타난 바와 같이, 적색 점토를 처리하고 이틀이 경과한 시료의 경우 Ki-67의 발현이 음성 대조군에 비하여 크게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 상기 결과를 통하여, 상처에 적색 점토를 처리하면 섬유아세포 분화가 증가하여, 육아조직(granulation tissue)의 생성을 촉진하는 것을 확인할 수 있었다.

도 6B에 나타난 바와 같이, 적색 점토(Red Clay)를 처리한 경우 이틀째 피부 전체적으로 TGF-beta1의 발현이 증가된 것을 확인하였다. TGF-beta1은 상처 치료를 위한 주요 성장 인자로서, 근섬유아세포(myofibroblast) 및 혈관평활근세포(vascular smooth muscle cell)의 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있다.

또한, 도 6B에 나타난 바와 같이, 7일째 상처에서도 음성대조군 또는 국내 점토(KC)에 비하여 고비사막을 처리한 경우에 TGF-beta1의 발현이 2배 이상 증가하는 것을 확인하였다.

상기 결과들을 통하여, 상처에 적색 점토를 처리한 경우 TGF-beta1의 발현을 촉진시켜, 상처의 회복을 도와주어 육아조직이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

상기 결과들을 통하여, 적색 점토를 상처에 처리(도포) 시, 고비사막 모래가 가지고 있는 보습력으로 인하여 상

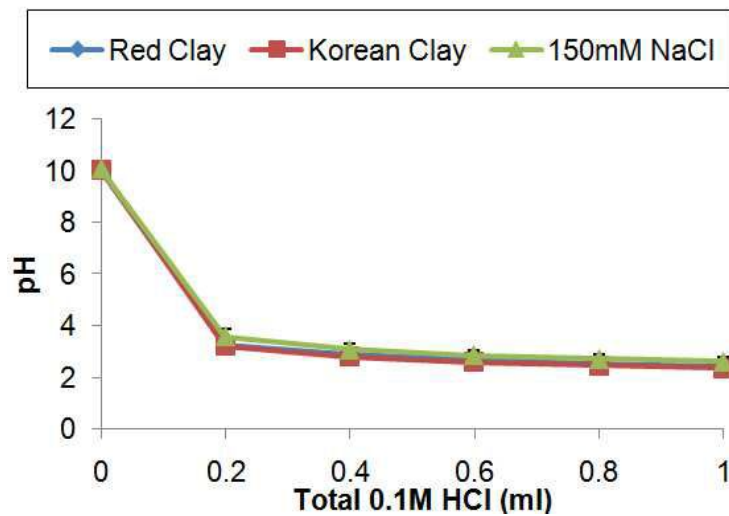
처가 치료되는 것을 도와주며, 또한 내피세포의 세포막을 붕괴시켜 섬유아세포성장인자의 분비를 촉진하여 섬유아세포의 분화를 증가시킬 뿐만 아니라, TGF-beta1의 발현을 촉진하여 새로운 세포 층의 형성을 도와주어, 결과적으로 상처가 난 피부의 재생피화를 촉진시켜 피부 재생을 촉진시킨다는 것을 확인할 수 있었다.

[0066]

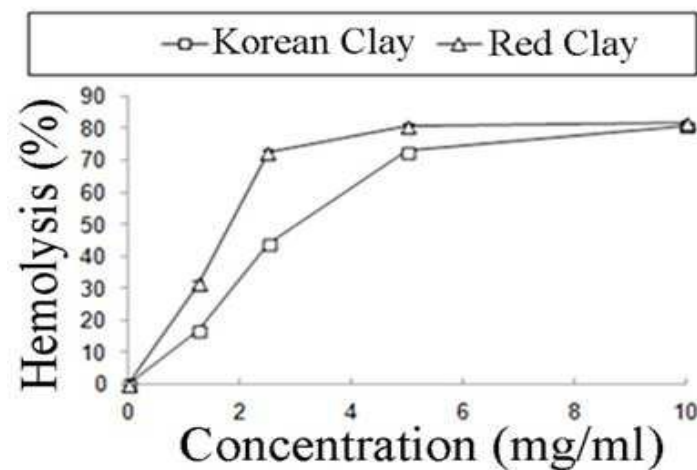
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

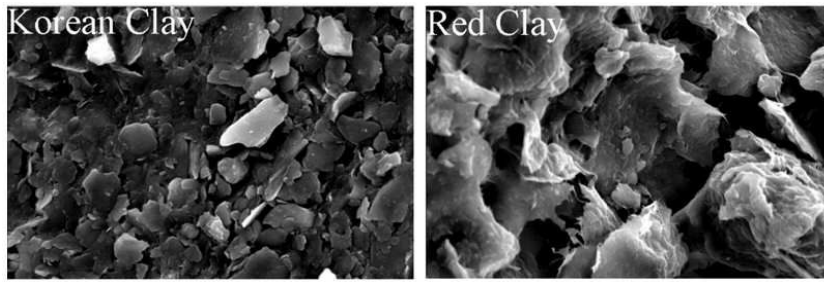
도면1



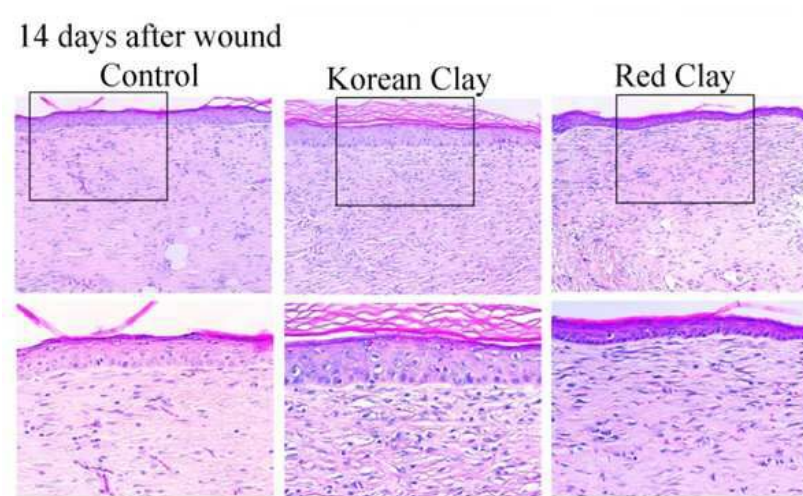
도면2



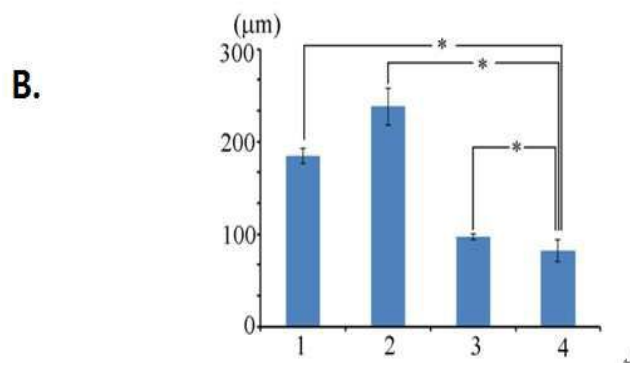
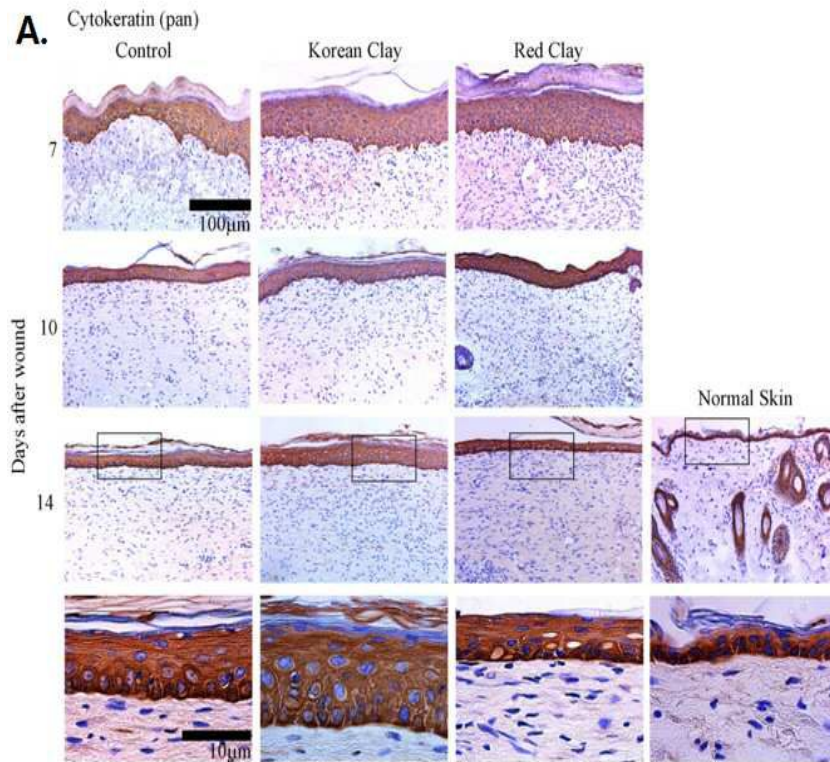
도면3



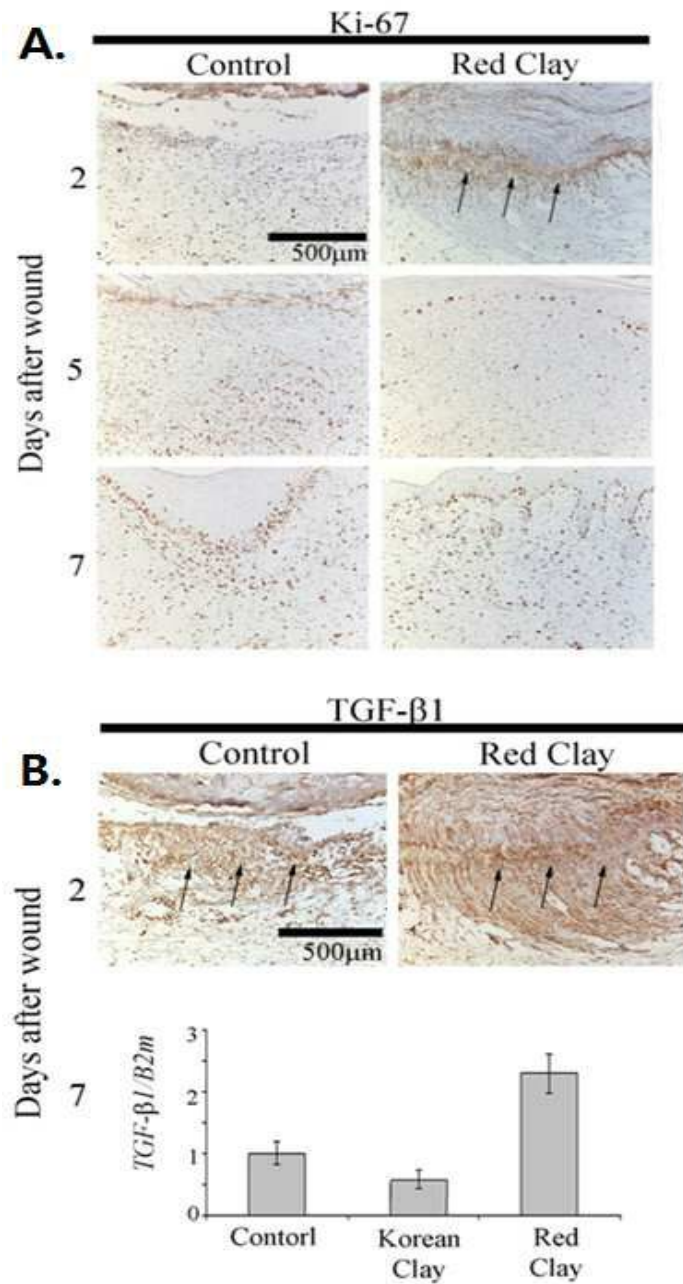
도면4



도면5



도면6



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 11항, 14항, 16항 내지 18항

【변경진】

제1항 내지 제10항 중

【변경후】

제1항, 제4항 및 제7항 내지 제10항 중