(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년08월10일
(11) 등록번호 10-1887578
(24) 등록일자 2018년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/22 (2006.01) *A61K 38/10* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/22 (2013.01)
A61K 38/10 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0034104
(22) 출원일자 2017년03월17일
심사청구일자 2017년03월17일
(56) 선행기술조사문헌
EP00434750 B1*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
전남대학교 산학협력단
광주광역시 북구 용봉로 77 (용봉동)
(72) 발명자
박히준
경기도 남양주시 조안면 북한강로 301번길 2-19
전송희
전라남도 나주시 그린로 153 105동 1104호
(74) 대리인
손민

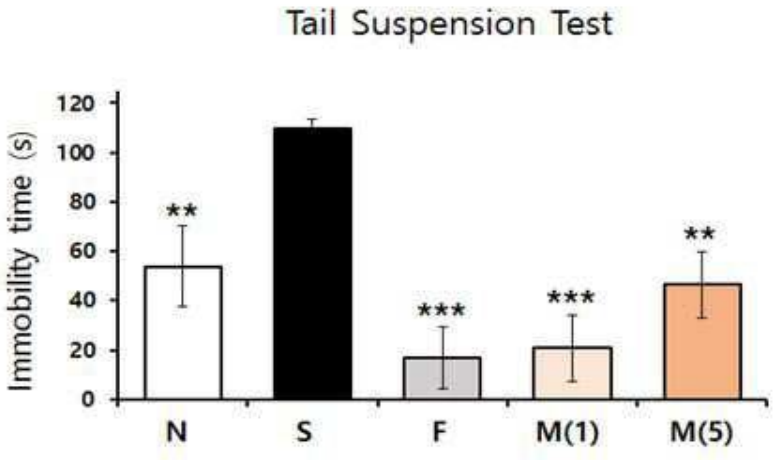
전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 이예리

(54) 발명의 명칭 **멜라닌 응집 호르몬을 유효 성분으로 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 우울증 또는 외상후 스트레스 장애에 우수한 치료효과를 가지는 멜라닌 응집 호르몬을 포함하는 예방 또는 치료용 약학 조성물의 활성성분에 관한 것이다.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 9/0043 (2013.01)
A61K 9/0073 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
KR1020170010947 A
보건의료기술진흥사업 연구발표회 초록집, 2000
Behav Pharmacol 2014 25(4) 316-324
Peptides 2013. 50. 96-99
Brain REs. 2015. 1598. 114-128
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

멜라닌 응집 호르몬을 유효성분으로 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 약학 조성물로서, 상기 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 것인, 약학 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물은 물, C1 내지 C10의 알코올, 헥산(Hexane) 및 그의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나의 용매를 포함하는 것인, 약학 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 용매는 물인 것인, 약학 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 비강 흡입 또는 분무 제형으로 제형화된 것인, 약학 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 멜라닌 응집 호르몬은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 것인, 약학 조성물.

청구항 6

멜라닌 응집 호르몬을 인간을 제외한 개체에 비강 투여하는 단계를 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 멜라닌 응집 호르몬을 유효 성분으로 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 조성물 및 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 개선용 건강기능식품 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 멜라닌 응집 호르몬은 주로 측면의 시상하부에서 많이 발현된다. 멜라닌 응집 호르몬은 항상성, 수면, 인지능력 등 많은 생리적 기능을 조절하는 데 영향을 끼친다. 그러나 체내의 항상성 조절과 그 외의 여러 생리적 기능을 담당하는 멜라닌 응집 호르몬이 우울증 개선에 효과가 있다고 규명된 연구는 없으며 그 작용기전 또한 밝혀지지 않았다.

[0004] 우울증(depression)은 의욕 저하와 우울감을 주요 증상으로 하여 다양한 인지 및 정신 신체적 증상을 일으켜 일상 기능의 저하를 가져오며 감정, 생각, 신체 상태, 그리고 행동 등에 변화를 일으키는 심각한 질환이다. 우울증은 일시적인 우울감과는 다르며 개인적인 약함의 표현이거나 의지로 없앨 수 있는 것이 아니다. 즉, 우울증은 신경전달물질의 불균형 등으로 인해 초래되는 뇌 신경계 질환으로서, 단순한 심리적 증상이 아닌 약을 복용하여

야 치료할 수 있는 질환으로 여겨진다.

[0005] 현재 개발된 항우울제로는 아미트립틸린등 삼환계 항우울제(Tricyclic antidepressants: TCAs)와 선택적 세로토닌 재흡수 억제제 등이 사용되고 있지만 다양한 부작용들이 보고되어 있어 우울증 치료에 있어서 부작용이 적고, 치료가 용이한 새로운 치료법의 개발이 절실하다.

[0006] 따라서, 본 발명자들은 효과적인 우울증 치료제를 개발하기 위해 예의 노력한 결과, 멜라닌 응집 호르몬이 우울증 모델에서 우울행동을 의미있게 감소시키는 것을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) BMC neuroscience 4.1 (2003): 19.

(비특허문헌 0002) Journal of Comparative Neurology 319.2 (1992): 218-245.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 주된 목적은 멜라닌 응집 호르몬을 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 멜라닌 응집 호르몬을 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 멜라닌 응집 호르몬을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기의 목적을 달성하기 위한 하나의 양태로서, 본 발명은 멜라닌 응집 호르몬을 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

[0014] 이하, 본 발명에서의 멜라닌 응집 호르몬을 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 약학 조성물을 구체적으로 설명한다.

[0015] 본 발명에서 사용되는 용어, “멜라닌 응집 호르몬”은 어류의 흑색소포내의 멜라닌 소체를 응집시키는 작용을 하는 펩티드 호르몬으로, 동물모델을 대상으로 한 멜라닌 응집 호르몬 기능에 관한 연구를 통해 항상성, 수면, 인지능력, 감정 등 많은 생리적 기능을 조절하는 데 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다.

[0016] 예를 들어 상기 멜라닌 응집 호르몬은 서열번호 1로 표시되는 아미노산 서열로 이루어지는 것일 수 있으나, 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 예방 또는 치료 효과를 나타내는 한, 서열번호 1로 표시되는 서열과 높은 상동성을 갖는 서열, 예를 들면 그 상동성이 70% 이상, 구체적으로 80% 이상, 더욱 구체적으로 90% 이상의 높은 상동성을 갖는 아미노산 서열도 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

[0017] 본 발명에서 사용되는 용어, “우울증”은 의욕 저하와 우울감을 주요 증상으로 하여 다양한 인지 및 정신 신체적 증상을 일으켜 일상 기능의 저하를 가져오는 질환을 의미한다.

[0018] 본 발명에서 사용되는 용어, “외상후 스트레스 장애(post traumatic stress disorder)”는 사람이 전쟁, 고문, 자연재해, 사고 등의 심각한 사건을 경험한 후 그 사건에 공포감을 느끼고 사건 후에도 계속적인 재경험을 통해 고통을 느끼며 거기서 벗어나기 위해 에너지를 소비하게 되는 질환이다.

[0019] 본 발명에서 사용되는 용어, “예방”은 본 발명에 따른 멜라닌 응집 호르몬을 개체에 투여하여 우울증 또는 외상후 스트레스 장애를 억제하거나 지연시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.

[0020] 본 발명에서 사용되는 용어, “치료” 또는 “개선”은 본 발명의 상기 조성물을 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 발병 의심 개체에 투여하여 우울증 또는 외상후 스트레스 장애의 증세가 호전되도록 하거나 이롭게 되도록

하는 모든 행위를 의미할 수 있다.

[0021] 본 발명의 약학 조성물은 단일제제로도 사용할 수 있고, 공인된 우울증 또는 외상후 스트레스 장애 치료 효과를 가진다고 알려진 약물을 추가로 포함하여 복합제제로 제조하여 사용할 수 있으며, 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.

[0022] 또한, 필요한 경우 항산화제, 완충액 및/또는 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가하여 사용할 수 있으며, 희석제, 분산제, 계면 활성제, 결합제, 윤활제 등을 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제 등으로 제제화하여 사용할 수 있다.

[0023] 본 발명에서 제공되는 조성물은 물, C1 내지 C10의 알코올, 헥산(Hexane) 및 그의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나의 용매를 포함하는 것일 수 있으며, 구체적으로 상기 용매는 물일 수 있으나, 특별히 이에 제한되지 않는다.

[0024] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 약제학적으로 유효한 양의 멜라닌 응집 호르몬을 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약제학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 일반적으로 0.001 내지 1000 ㎎/㎏의 양, 바람직하게는 0.05 내지 200 ㎎/㎏, 보다 바람직하게는 0.1 내지 100 ㎎/㎏의 양을 일일 1회 내지 수회로 나누어 투여할 수 있다. 그러나 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

[0025] 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여할 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용을 유발하지 않으면서 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0026] 본 발명에 따른 약학 조성물의 투여 방식은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방식에 따를 수 있다. 상기 투여 방식의 비제한적인 예로, 조성물을 경구 투여 또는 비경구 투여 방식으로 투여할 수 있다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 목적하는 투여 방식에 따라 다양한 제형으로 제작될 수 있다.

[0027] 본 발명에 따른 조성물의 투여 방식은 특별히 이에 제한되지 않으나, 코로 흡입하는 방식일 수 있다. 이를 위하여, 본 발명에 따른 조성물은 비강 흡입 또는 분무 제형으로 제형화된 것일 수 있다.

[0028] 본 발명에 따른 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다.

[0029] 본 발명에 따른 조성물의 농도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 0.01㎍/30㎕ 이상 20㎍/30㎕ 미만, 구체적으로 0.1㎍/30㎕ 이상 10㎍/30㎕ 미만, 더욱 구체적으로 1㎍/30㎕ 이상 5㎍/30㎕ 미만으로 포함되는 것일 수 있다.

[0031] 다른 양태로서, 본 발명은 상기 멜라닌 응집 호르몬을 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는 우울증 또는 외상후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0032] 본 발명에서 사용되는 용어, "개체"란, 우울증 또는 외상후 스트레스 장애가 발병되었거나 발병할 가능성이 있는 인간을 포함한 모든 동물을 의미할 수 있다. 상기 동물은 인간뿐만 아니라 이와 유사한 증상의 치료를 필요로 하는 소, 말, 양, 돼지, 염소, 낙타, 영양, 개, 고양이 등의 포유동물일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0033] 본 발명의 상기 예방 또는 치료 방법은 구체적으로, 우울증 또는 외상후 스트레스 장애가 발병하였거나 발병할 위험이 있는 개체에 상기 조성물을 약학적으로 유효한 양으로 투여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0034] 본 발명에서 사용된 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 약학적 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다. 예를 들어 비강 투여되는 것일 수 있다.

[0035] 본 발명에서 제공되는 조성물의 투여 방식은 상기한 것과 같다.

발명의 효과

[0037] 본 발명에 따른 멜라닌 응집 호르몬을 포함하는 예방 또는 치료용 약학 조성물은 두 종의 우울증 동물 모델을 통해 우울증 유사 행동과 불안 효과의 감소를 나타내어 우울증 또는 외상후 스트레스 장애에 우수한 치료효과를 가지므로 예방 또는 치료용 약학 조성물의 활성성분으로 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0039] 도 1은 본 발명의 일 실시예에서 측정한 실험동물 마우스의 체중 변화, 사료 섭취량 변화 및 식이 효율을 나타낸다: (A) 전체 마우스 평균 체중변화, (B) 전체 마우스 평균 일일 섭취량, (C) 전체 마우스 평균 식이 효율; 모든 데이터는 means ± SE (Student's t-test; *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 vs N, n = 5)로 하였다; N, 정상; S, 스트레스; F, 플루옥세틴 염산염 + 스트레스; M(1), MCH 1 μg + 스트레스; M(5), MCH 5 μg + 스트레스.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물 마우스의 강제 수영 검사 결과를 나타낸다: (A) 버둥거리는 시간(Climbing time), (B) 수영 시간(Swimming time).

도 3은 본 발명의 일 실시예의 실험동물 마우스의 꼬리 매달림 검사에 따른 부동 시간(immobility time)을 나타낸다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물 마우스의 혈청 내 코르티코스테론 수치를 나타낸다: (A) 혈청 내 코르티코스테론 상태치, (B) 혈청 내 코르티코스테론 농도.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물 마우스의 대뇌피질에서 ERK, Akt 인산화 관찰 결과를 나타낸다: pERk, 인산화된 ERK; ERK, 정상 ERK; pAkt, 인산화된 Akt; Akt, 정상 Akt.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물 랫의 개방 영역 실험 결과를 나타낸다: (A) 중앙 영역에 들어가는 횟수, (B) 총 이동 거리, (C) 중앙 영역에서 머무른 시간, (D) 상자 안에서의 이동 경로; Nor, 정상; SPS, 일회성 지속 스트레스 유발 우울증 모델; 2, MCH 2μg/30μl + SPS; 8, MCH 8μg/30μl + SPS; 18, MCH 18μg/30μl + SPS; Flu, 플루옥세틴 염산염 + SPS.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물 랫의 고가식 십자 미로 실험 결과를 나타낸다: (A) 벽이 없는 부분으로 이동한 횟수, (B) 벽이 있는 부분으로 이동한 횟수.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물 랫의 강제 수영 실험 결과를 나타낸다. (A) 부동 시간, (B) 발버둥친 시간, (C) 수영 시간.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 이하 본 발명을 하기 예에 의해 상세히 설명한다. 다만, 하기 예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 하기 예에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

[0042] **실시예 1. 구속 스트레스 유발 우울증 모델에서 멜라닌 응집 호르몬의 우울증 치료 효과**

[0044] **1-1. 우울증 동물 모델 제작 및 실험군 구성**

[0046] 실험동물은 7주령 ICR 수컷 마우스를 구입하여 사용하였으며 항온 항습 및 12시간 주기로 명/암이 조절되는 환경을 유지 하였다. 실험 시작 전 최소 1주일 이상의 적용 기간을 두었으며 사료 음수는 제한을 두지 않았다.

[0047] 구속 스트레스 유도 시에는 마우스 크기에 적당한 투명한 삼각비닐을 사용하였으며, 실험동물의 머리 부분이 들어가는 구속의 한쪽은 원추형이고 호흡을 위해 충분한 구멍이 나 있으며 다른 끝은 개방되어 있는 형태로 실험동물은 호흡은 자유로우나 움직일 수 없게 되어 있다.

[0048] 구속 스트레스를 유도한 실험군은 7주령 ICR 수컷 마우스 25마리를 각 군당 5마리씩 5개 군으로 나누었다. 멜라닌 응집 호르몬(MCH, sigma)은 각각 1μg, 5μg의 용량을 증류수 30μl에 녹여서 실험 시작 30분전 비강 내에 투여하였고, 양성 대조군 플루옥세틴 염산염은 10mg/kg의 용량을 0.9% 생리식염수에 녹여 구강 투여 하였으며, 대조군은 동일한 양의 생리 식염수를 비강 내에 투여하였다.

[0050] **1-2. 동물의 체중 변화 및 식이량, 식이 효율 확인**

[0052] 실시예 1-1에 따른 실험동물의 무게 변화 및 식이량, 식이 효율의 확인을 위해 7일 간격으로 체중 및 사료 감소

량을 일정한 시간(AM 10:00)에 디지털 계량기를 사용하여 측정하였다. 체중 변화는 '(실험 종료 체중 - 실험 시작 체중)' 으로 계산하고, 식이량은 사료 감소량으로 측정하였으며, 식이 효율(feed efficiency ratio)은 '(4주간의 증체량/4주간의 식이량)' 으로 계산하였다.

[0053] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이 사료 섭취량에서 스트레스 가한 군(S)은 정상군(N) 대비 유의미한 차이가 나타났으며, 체중변화에서도 유의미한 차이를 보였다.

[0055] **1-3. 강제 수영 검사(forced swim test : FST)**

[0057] 강제 수영 검사는 탈출할 수 없는 수조에서 나타나는 무력의 정도를 검사 하는 실험이다. 강제 수영 검사를 위하여 투명한 재질의 원통형 아크릴 수조 (높이 30cm, 지름 20cm)에 24℃ 가량의 수돗물을 20cm 높이로 채우고 주변의 조명을 어둡게 조절하였다. 실시예 1-1에 따른 실험동물을 수조에 투하하여 총 6분간의 움직임을 측정하였다. 6분간의 수영시간 중 처음의 2분을 뺀 4분 간의 부동 시간(immobility time) 및 버둥거리는 시간(climbing time)을 측정 하였으며, 4분에서 부동시간 및 버둥거리는 시간을 뺀 나머지 시간을 수영시간(swimming time)으로 판단하였다. 상기 부동 시간의 부동성(immobility)은 물에 떠있기 위한 최소한의 움직임으로 판단하였으며 부동성 시작(immobility onset)은 2초 이상의 부동성이 최초로 나타날 때까지의 시간으로 판정하였다.

[0058] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이 강제 수영 검사에서 수영시간은 MCH 저농도군이 양성대조군과 비슷한 수준으로 유의하게 증가하였고(B), 버둥거리는 시간은 MCH 저농도군이 양성대조군 보다 더 길게 나타났다(A).

[0060] **1-4. 꼬리 매달림 검사 (tail suspension test : TST)**

[0062] 꼬리 매달림 검사를 위하여, 실험 시작 30분전에 실시예 1-1에 따른 실험동물에게 약물을 투여 하였고, 꼬리 끝 1cm 전에 스카치 테이프를 감아서 바닥으로부터 50cm 이상의 높이에서 공중에 거꾸로 매달은 후 실험동물의 움직임을 총 6분간 측정하였다. 실험 중 꼬리를 잡고 올라오는 실험동물은 실험 결과에서 제외시켰다. 6분 동안 움직이지 않고 가만히 매달려 있는 시간 (immobility)을 측정하여 군간 비교하였다. 부동성 시작(immobility onset)은 2초 이상의 부동성이 최초로 나타날 때까지의 시간으로 판정하였다.

[0063] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, MCH 저농도군(M(1))의 부동시간은 양성대조군(F)과 비슷한 정도이며, 스트레스 가한 군(S)과 비교하여 유의적으로 낮게 나온 것을 확인 하였다.

[0065] **1-5. 코르티코스테론 수치 측정**

[0067] 코르티코스테론 수치는 행동 실험이 끝난 직후 실험동물의 혈액을 채취하여 분리한 혈청을 EIA based kit (cat#ADI-900-097, Enzo Life Sciences, Inc., NY, USA)를 이용하여 측정, 분석하였다. 코르티코스테론을 항원으로 인식하는 항체가 코팅 되어 있는 키트의 96 well에 혈청을 50ul씩 넣은 후, 50ul의 희석제를 넣고 2시간 동안 실온에서 배양 하였다. 2시간 후 세척 버퍼를 이용하여 5회 세척하고, 100ul의 conjugate를 넣고, 2시간 동안 실온에서 배양하였다. 2시간 후에 세척 버퍼를 이용하여 5회 세척하고 100ul의 기질 용액을 넣어 30분 동안 배양한 후 50ul의 정지 용액을 넣고 405nm에서 광학 밀도를 측정하였다.

[0068] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, MCH 저농도군(M(1))이 스트레스 가한 군(S)과 비교하여 유의적으로 낮은 코르티코스테론 수치를 나타내는 것을 확인하였다.

[0070] **1-6. 신호전달 단백질의 인산화 측정**

[0072] 대뇌피질의 조직을 채취해 샘플용액에 넣어 조직을 용해한 후 조직 샘플을 SDS gel에 전기영동을 한 후 세포내 신호전달 단백질인 ERK, Akt, p-ERK, p-Akt항체를 이용해 4℃에서 16시간 반응시킨 후 2차 항체를 붙여 주고. 막을 TBS-T에서 10분씩 3회 세척한 후 blot을 2차 항체와 함께 1시간 동안 반응시켰다. 2차 항체 반응 후 막을 씻고 enhanced chemiluminiscence system(ECL, Pierce)으로 원하는 단백질을 가시화 하였다. 단백질의 가시화 및 정량 분석은 image 장비(LAS-3000, Fuji)를 이용하였다.

[0073] 그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 스트레스 가한 군(S)에서는 ERK, Akt 인산화가 현저하게 저하되었으나, MCH 투여 군(M(1), M(5))에서는 정상 군(N) 수준이거나 그 이상으로 인산화가 유의하게 증가함을 확인하였다

[0075] **실시예 2. 일회성 지속 스트레스 유발 PTSD 모델에서 멜라닌 응집 호르몬의 우울증 치료 효과**

[0077] **2-1. PTSD 동물 모델 제작 및 실험군 구성**

[0079] 실험동물은 Sprague Dawley Rat 6주령을 사용하였으며 각 그룹 당 10마리씩 배분하였다. 모델 유발은 PTSD 모델

중에서 가장 많이 쓰이고 있는 일회성 지속 스트레스(SPS) 방법으로 유발하였다. SPS의 유발 방법은 2시간의 부동화(Immobilization), 20분의 강제 수영(Forced Swim)을 한 후, 15분의 휴식 후에 에테르 호흡 마취를 하는 것이다.

[0080] 상기 일회성 지속 스트레스 유발 모델에 멜라닌 응집 호르몬(MCH)을 각 개체 당 2㎍/30㎕, 8㎍/30㎕, 18㎍/30㎕의 용량으로 비강 내에 투여하였다. 양성 대조군 그룹에는 플루옥세틴 염산염을 1mg/kg의 용량으로 복강 내에 투여하였다.

[0081] 모델 유발 일주일 후 모든 약물 처리를 8일간 실행하였으며, 약물 처리 후 4일째에 불안 효과를 측정하기 위해 개방 영역 실험(Open field activity test, OFT)과 고가식 십자미로(EPM)를 실행하였고 마지막 8일째 약물 처리 후 우울증을 측정하기 위해 강제 수영 실험(FST)을 실행하였다.

[0083] **2-2. 개방 영역 실험(OFT)**

[0085] 가로 60cm, 세로 60cm 상자에 테이프로 아홉 칸을 표시하였다. 정가운데에 생기는 네모칸을 중앙 영역으로 표시하고, 나머지 여덟 칸은 주변 영역으로 표시하였다. 동물을 중앙 영역에 내려놓고 5분 동안 비디오 촬영을 진행한 후, 비디오 판독을 통해 중앙 영역으로 동물의 귀 두 개가 들어가는 순간을 기준으로 중앙 영역에 들어간 횟수 및 시간을 측정하였고 총 이동 거리와 동선을 확인하였다.

[0086] 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, MCH 투여군은 SPS군과 비교하여 중앙 영역에 들어가는 횟수 및 시간이 증가하였으며 총 이동거리 또한 증가하여 불안 증상이 감소한 것으로 확인되었다.

[0088] **2-3. 고가식 십자미로 실험(EPM)**

[0090] 벽이 없는 부분(open arm, 50cm x 10cm), 벽이 있는 부분(closed arm, 50cm x 10cm x 30cm) 및 가운데 이어주는 부분(central, 10cm x 10cm)으로 이루어져 있는 십자 모양 미로를 바닥으로부터 50cm 위에 배치하였다. 동물을 십자 미로 가운데에 올려놓은 뒤 5분간 비디오 촬영을 진행하였다. 동물의 두 귀가 각 영역에 들어가는 것을 기준으로 벽이 없는 부분과 벽이 있는 부분에 진입한 횟수를 각각 측정하였다.

[0091] 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이, MCH 투여시 벽이 없는 부분으로 이동하는 횟수는 농도 의존적으로 증가하여 고농도 MCH 투여군에서는 플루옥세틴 투여군과 비슷한 수준으로 증가하는 것을 확인할 수 있다. 벽이 있는 부분으로 이동한 횟수 또한 고농도 MCH 투여군이 SPS군과 비교하여 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이를 종합해보면, SPS 유발 이후 불안 효과가 증가하였음을 알 수 있었고, MCH 투여 이후에 고농도일수록 양성 대조군인 플루옥세틴 투여군과 비슷한 수준으로 불안이 줄어들었음을 확인할 수 있었다.

[0093] **2-4. 강제 수영 실험(FST)**

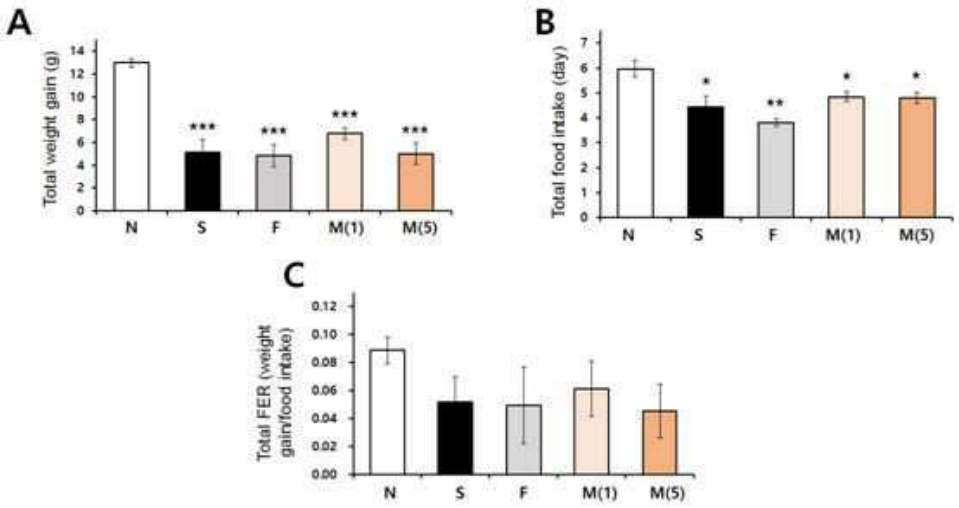
[0095] 지름 20cm, 높이 60cm인 실린더에 25℃의 물을 약 35cm 높이로 채운 후, 동물을 물 안에 넣고 5분간 비디오 촬영을 진행하였다. 동물이 물에서 나오려고 발버둥치는 시간(Climbing time), 부동 시간(immobility time) 및 상기 두 시간을 총 촬영시간(5분)에서 뺀 수영시간(swimming time)을 측정하였다.

[0096] 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, MCH 투여군은 SPS군과 비교하여 부동 시간이 유의적으로 감소하였으며, 발버둥치는 시간 및 수영 시간이 유의적으로 증가함을 확인하여 MCH를 투여한 동물에서 우울증 유사 행동이 회복되는 것을 확인할 수 있었다.

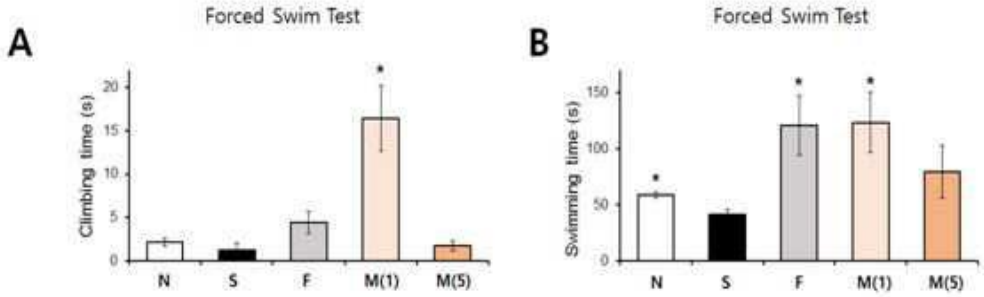
[0098] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

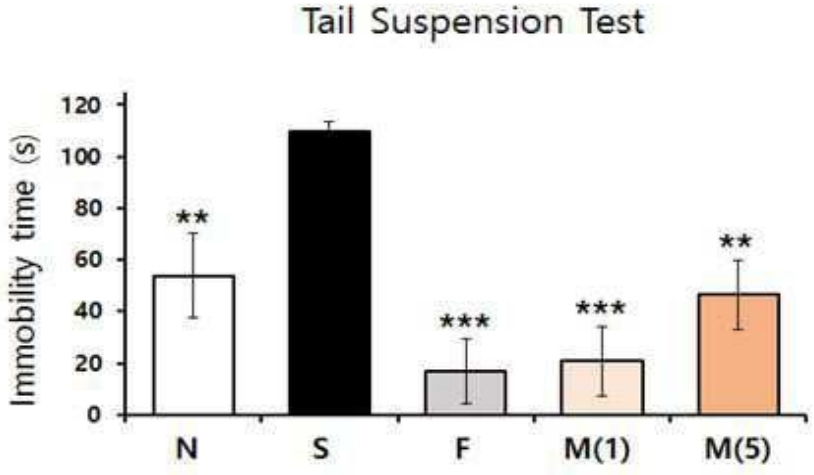
도면1



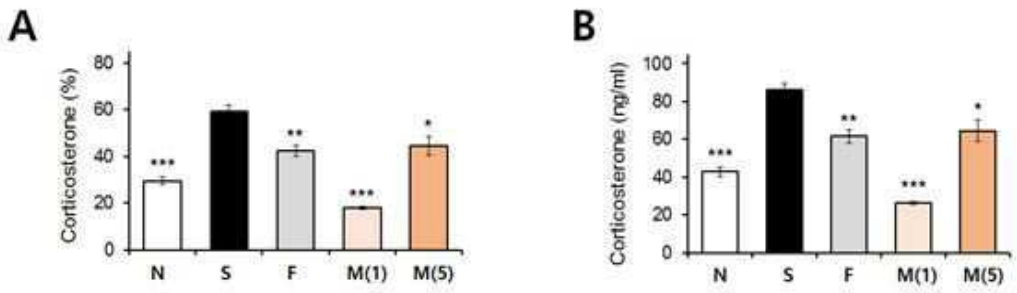
도면2



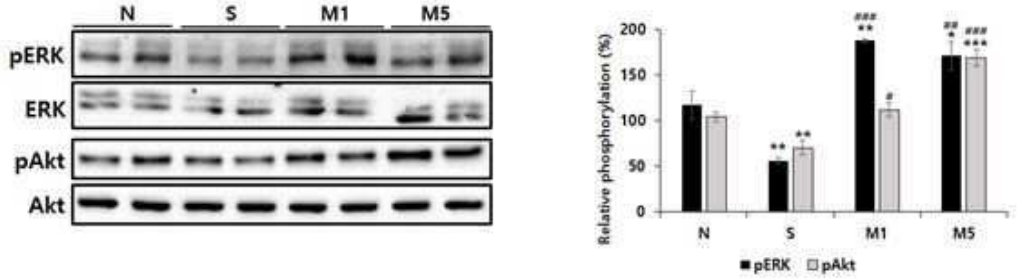
도면3



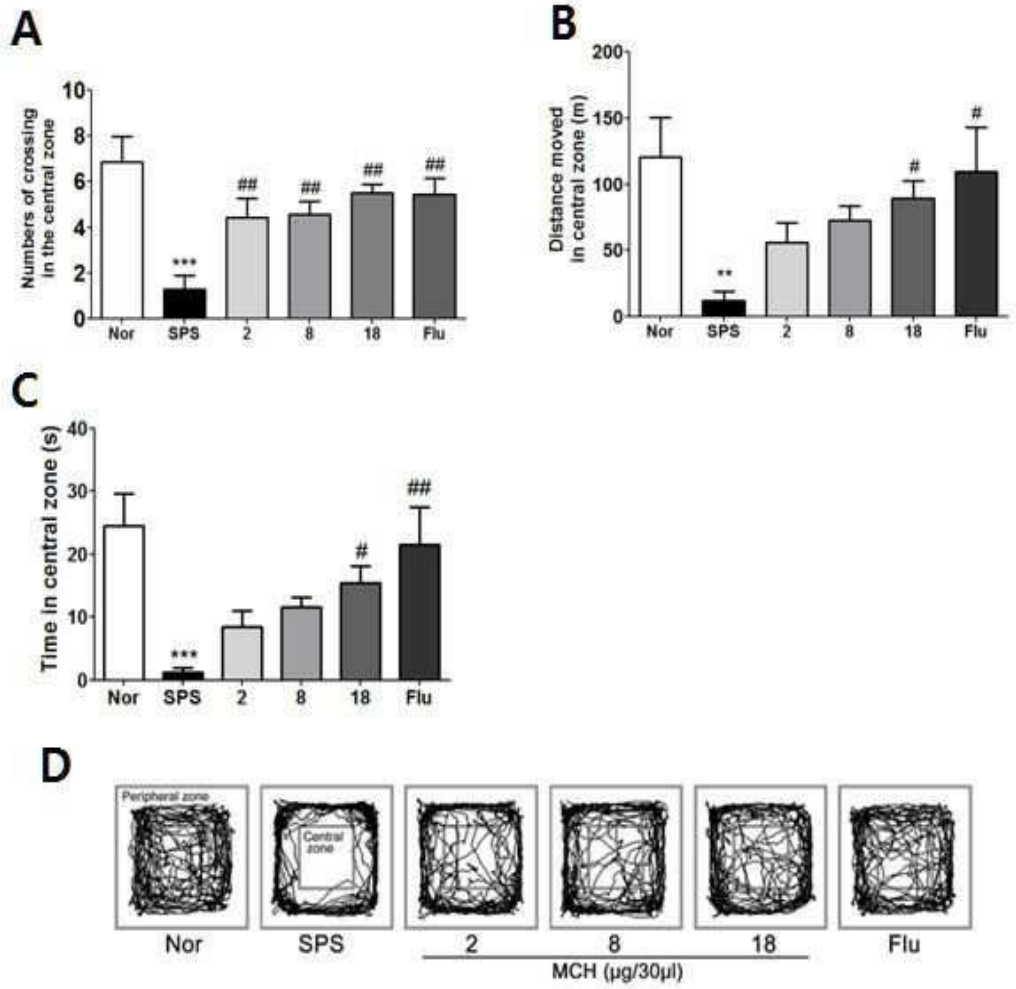
도면4


A
Corticosterone (%)
80
60
40
20
0
N
S
F
M(1)
M(5)
B
Corticosterone (ng/ml)
100
80
60
40
20
0
N
S
F
M(1)
M(5)

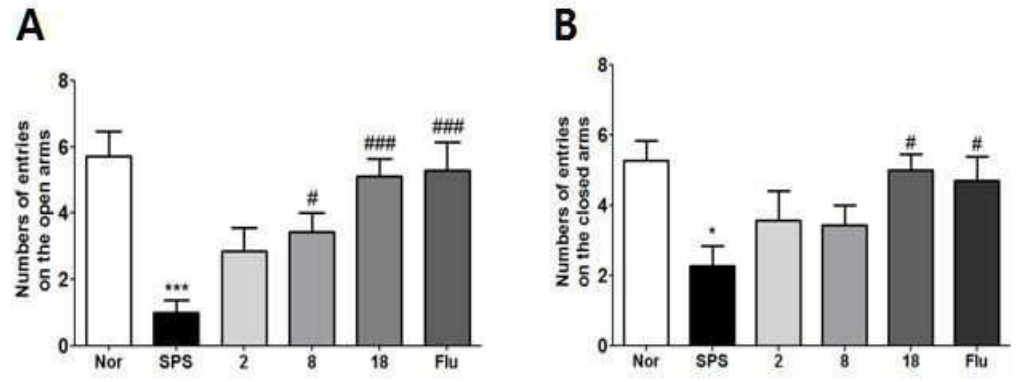
도면5


N
S
M1
M5
pERK
ERK
pAkt
Akt
Relative phosphorylation (%)
200
150
100
50
0
N
S
M1
M5
pERK
pAkt

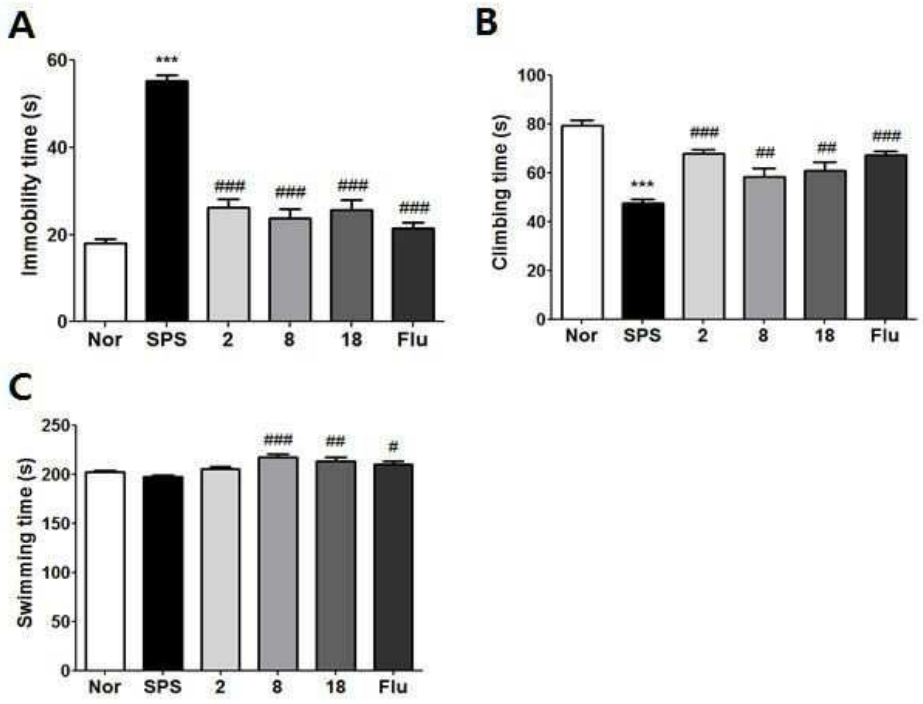
도면6


A
Numbers of crossing in the central zone
Nor
SPS
2
8
18
Flu
B
Distance moved in central zone (m)
C
Time in central zone (s)
D
Peripheral zone
Central zone
MCH (μg/30μl)

도면7


A
Numbers of entries on the open arms
Nor
SPS
2
8
18
Flu
B
Numbers of entries on the closed arms

도면8



서 열 목 록

<110> University-Industry Cooperation Group of Kyung Hee University

<120> A composition for prevention and treatment of depression or post traumatic stress disorder, comprising Melanin-concentrating hormone

<130> KPA161712-KR

<160> 1

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Melanin-concentrating hormone

<400> 1

Asp Thr Met Arg Cys Met Val Gly Arg Val Tyr Arg Pro Cys Trp Glu
1 5 10 15

Val