(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0135834
(43) 공개일자 2021년11월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/7048 (2006.01) *A23K 20/163* (2016.01)
A23L 33/125 (2016.01) *A61P 25/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/7048 (2013.01)
A23K 20/163 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2020-0053969
(22) 출원일자 2020년05월06일
심사청구일자 2020년05월06일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
이봄비
서울특별시 중랑구 중랑천로10길 87-11 303호(상봉동, 아안채)
(74) 대리인
특허법인한얼

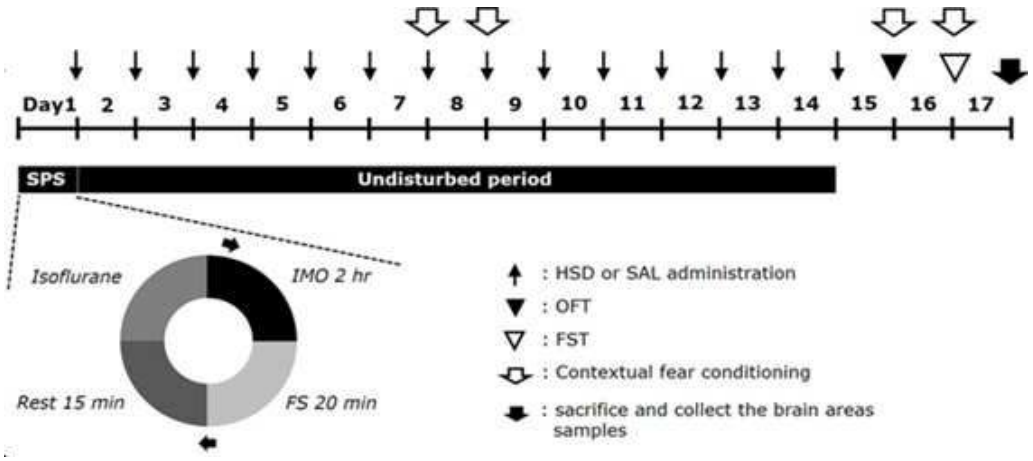
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **헤스페리딘을 유효성분으로 함유하는 외상 후 스트레스장애 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 사료 조성물 및 상기 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다. 본 발명의 헤스페리딘은 우수한 PTSD 치료 효과를 나타내므로, 약학적 조성물 또는 식품에 유효성분으로 포함되어 PTSD의 치료제 또는 개선제 등의 개발에 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A23L 33/125 (2020.05)
A61P 25/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)

명 세 서

청구범위

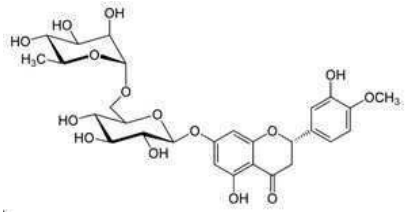
청구항 1

헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 헤스페리딘은 하기 화학식 1로 표시되는 것인, 약학적 조성물

[화학식 1]



청구항 3

제1항에 있어서, 상기 헤스페리딘은 0.01 내지 98 중량%로 포함되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 추가로 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 외상 후 스트레스 장애가 발병되거나 또는 발병될 가능성이 있는, 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 투여는 헤스페리딘을 10 내지 120 mg/kg으로 투여하는 것인, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법.

청구항 7

헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 사료 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 헤스페리딘(Hesperidin; HSD)을 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명은 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물, 식품 조성물, 사료 조성물 및 상기 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 외상 후 스트레스 장애(Post-traumatic stress disorder; PTSD)는 스트레스 관련 정신 장애로 각성과민, 도피, 외현 기억 등의 증상을 보이며 공포의 기억이 외상 후 스트레스에 큰 영향을 끼친다. 이 장애의 특징은 충격의 재경험 증상, 회피 증상 및 공포의 기억의 회상 등이 있으며, 트라우마의 경험과 비슷한 일을 겪는 재경험에 의해 포스트-트라우마성 회상이 생긴다. 재경험 증상이란, 낮 또는 밤 혹은 불현 듯 떠오르는 혐오스런 트라우마의 기억을 통해 생기며, PTSD 장애를 앓는 집단의 10%는 기억 기능 장애 및 인식 장애 등의 증상을 보인다.

[0004] 이에 따라, 외상 후 스트레스 장애의 치료방법에 대한 요구가 지속적으로 진행되었고, 이와 관련된 연구가 활발히 진행되었다. 예를 들어, 국제공개특허 WO 2015-134133 에는 클로니딘과 병용된 장시간 작용하는 국소 마취제의 병용물로 제조된 혼합물을 투여함에 의한, 외상 후 스트레스 장애(PTSD) 및/또는 안면 홍조를 앓는 환자의 치료를 위한 키트 및 방법이 개시되어 있고, 미국공개특허 2018-0340947 에는 외상 후 스트레스 장애 환자에게 부포디에노라이드(bufodienolide) 길항제를 투여하여 외상 후 스트레스 장애 환자를 치료하는 방법이 개시되어 있다. 그러나, 이들 치료방법은 신경조직의 손상을 유발시키는 부작용이 있어, 실제로 활용되지 못하고 있는 실정이므로, 부작용이 적은 치료방법의 개발이 절실히 요구되고 있다.

[0005] 한편, 헤스페리딘(Hesperidin; HSD)은 감귤류 등에 많이 존재하는 폴리 페놀의 일종으로서, 비타민과 같은 물질로 루틴, 케르세틴 등과 함께 비타민 P라고도 알려져 있다. 이는 콜라겐 생성을 돕고 항염증 작용, 노화에 관련된 질병에 효과가 있고, 관절 및 연골에 영향을 준다고 알려져 있으며(일본등록특허 제4838772호, 일본공개특허 제2005-255527호), 인체에 부족하면 비타민 C의 흡수 저하, 동맥 경화, 면역력 저하가 일어난다고 알려져 있다. 그러나, 상기 헤스페리딘의 외상 후 스트레스 장애에 대하여 유용한 효능에 대하여는 알려진 바가 없다.

[0006] 이러한 배경 하에, 본 발명자들은 부작용을 나타내지 않고, 외상 후 스트레스 장애를 치료하는 방법을 개발하고자 예의 연구노력한 결과, 인체에 무해한 천연물로부터 유래된 헤스페리딘이 외상 후 스트레스 장애에 대한 치료 효과를 나타냄을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 하나의 목적은 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다.

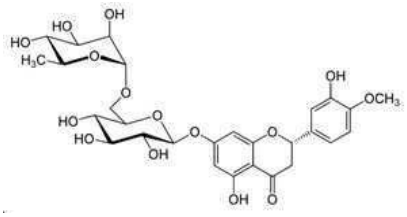
[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시양태는 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명의 용어, “헤스페리딘(hesperidin)”은 하기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물을 의미한다. 헤스페리딘은 콜라겐 생성을 돕고 항염증 작용, 노화에 관련된 질병에 효과가 있고, 관절 및 연골에 영향을 준다고 알려져 있으며, 인체에 부족하면 비타민 C의 흡수 저하, 동맥 경화, 면역력 저하가 일어난다고 알려져 있다. 반면, 이의 외상 후 스트레스 장애의 예방, 치료 또는 개선 효과는 알려진 바가 없었으며, 본 발명자에 의하여 최초로 규명되었다.

화학식 1

[0015] 

[0017] 헤스페리딘을 포함하는 조성물은 헤스페리딘에서 일부 당업자가 예상 가능한 범위의 유도체가 포함될 수 있으며, 본 발명에서의 동일한 효과가 있는 한 제한 없이 포함된다. 헤스페리딘은 이를 포함하는 추출물에서 수득될 수 있다. 또한, 공지의 방법으로 합성해서 사용 가능하다.

[0018] 본 발명의 용어, “외상 후 스트레스 장애(Post-traumatic stress disorder; PTSD)”는 충격적인 사건을 경험한 후, 비정상적인 정신 신체 증상이 지속적으로 나타나는 질환을 의미한다. 미국 정신의학회(American Psychiatric Association)의 정신장애 진단 통계편람(DSM-IV-TR)에서 제시한 기준을 만족하는 경우, 외상 후 스트레스 장애로 진단한다. 질환이 발병되는 시기는 개인마다 다르며, 충격 후 즉시 시작될 수도 있고 수일, 수주, 수개월 또는 수년이 지나고 나서도 나타날 수 있다.

[0019] 주요 증상으로는, 해리 현상, 공황 발작, 환청 등의 지각 이상, 공격적 성향, 충동조절 장애, 우울증, 약물 남용, 집중력 및 기억력 저하 등의 인지기능 문제 등이 해당된다.

[0020] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, 단일의 지속적인 스트레스를 주어 PTSD가 유발된 랫츠에 헤스페리딘을 투여한 결과, SPS 자극은 랫츠의 체중변화(도 2), 서크로스 섭취의 변화가 일어났고(도 3), 강제 수영 실험(FST)에서 부동상태의 시간이 증가하였으며(도 4A), 열린 공간 테스트(OFT)에서도 중앙을 가로 지르는 횟수의 감소(도 4D) 및 맥락적 경직 시간의 증가(도 4G) 등의 변화가 나타났으나, HSD 투여는 이를 완화하는 효능이 있음을 확인하였다. 또한, ELISA 실험을 통해 SPS 자극으로 인해 혈장 및 뇌 내에서 코르티코스테론, 세로토닌, 노르에피네프린 및 도파민 수치가 변하는 것을 확인하였으며 HSD 투여가 SPS에 의한 상기 변화들을 억제시키는 것을 확인하고(도 5 내지 6), 또한, 트립토판, 호모바닐린산, 및 5-HIAA 수치의 변화 및 HSD 투여에 의한 이의 완화를 확인하였다(도 7). 또한, RT-PCR을 통해 SPS에 의해 TPH1의 수치가 변화되며, HSD 투여가 이를 완화 하는 것을 확인하여(도 8), SPS에 의한 PTSD와 유사한 호르몬 변화들을 HSD가 억제하고 완화하는 효능이 있음을 확인하였다.

[0021] 이는, 헤스페리딘이 PTSD 랫츠 모델의 스트레스 관련 물질들의 변화를 억제함으로써 기억 손상과 관련된 행동적 및 신경화학적 변화를 회복시키는 효과를 나타내므로, PTSD의 예방, 치료 및 개선에 유용하게 사용될 수 있음을 시사하는 것이다.

[0022] 본 발명의 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질

인 염 중에서도 약학적으로 사용될 수 있는 형태의 염을 의미하며, 통상적으로 금속염, 유기염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될 수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.

[0023] 본 발명의 용어, "예방"은 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 PTSD의 발병을 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0024] 본 발명의 용어, "치료"는 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 PTSD의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0025] 본 발명의 약학적 조성물은, 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함할 수 있는데, 상기 담체는 비자연적 담체(non-naturally occuring carrier)를 포함할 수 있다.

[0026] 보다 구체적으로, 상기 약학적 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 폴리카프로락톤(polycaprolactone), 폴리락틱액시드(Poly Lactic Acid), 폴리-L-락틱액시드(poly-L-lactic acid), 광물유 등을 들 수 있다.

[0027] 상기 약학적 조성물은 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있으며, 담체의 형태로는 각종 부정형의 담체, 마이크로 스피어, 나노파이버 등을 포함할 수 있다.

[0028] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0029] 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 상기 추출물과 이의 분획물들에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제될 수 있다. 또한, 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용될 수 있다.

[0030] 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0031] 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제 등이 포함될 수 있다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다.

[0032] 본 발명의 약학적 조성물에 포함된 헤스페리딘의 함량은 특별히 이에 제한되지 않으나, 최종 조성물 총 중량을 기준으로 0.0001 내지 80 중량%, 0.0001 내지 50 중량%, 보다 구체적으로 0.01 내지 20 중량%의 함량으로 포함될 수 있다.

[0033] 본 발명의 다른 실시양태는 상기 약학적 조성물을 외상 후 스트레스 장애가 발병되거나 또는 발병될 가능성이 있는, 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0034] 이때, 상기 "외상 후 스트레스 장애", "예방" 및 "치료"에 대한 설명은 상기에서 서술한 바와 같다.

[0035] 본 발명의 약학적 조성물은 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 효과를 나타내므로, 이를 개체에 투여하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법은 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료에 유용하게 활용될 수 있다.

[0036] 본 발명의 용어, "투여"는 적절한 방법으로 개체에게 상기 조성물을 도입하는 것을 의미한다.

[0037] 본 발명의 용어, "개체"는 외상 후 스트레스 장애가 발병하였거나 발병할 수 있는 인간을 포함한 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미하고, 구체적인 예로, 인간을 포함한 포유동물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0038] 본 발명의 약학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여될 수 있는데, 상기 용어, "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료 또는 예방에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료 또는 예방하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 질환의 중증도, 약물의 활성, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 사용된 본 발명 조성물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율 치료기간, 사용된 본 발명의 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 단독으로 투여하거나 공지된 익상편 치료제와 병용하여 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하다.

[0039] 본 발명의 약학적 조성물은 경구, 정맥 내, 피하, 피 내, 비강 내, 복강 내, 근육 내, 경피 등 다양한 방식을 이용하여 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으며 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0040] 또한, 상기 약학적 조성물의 투여량은 사용목적, 질환의 중독도, 환자의 연령, 체중, 성별, 기왕력, 또는 유효성분으로서 사용되는 물질의 종류 등을 고려하여 당업자가 결정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 약학적 조성물은 성인 1인당 1mg/kg 내지 200 mg/kg, 구체적으로 1 mg/kg 내지 100 mg/kg, 더욱 구체적으로 20 내지 40 mg/kg로 투여할 수 있고, 본 발명의 조성물의 투여빈도는 특별히 이에 제한되지 않으나, 1일 1회 투여하거나 또는 용량을 분할하여 수회 투여할 수 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0041] 또한, 상기 약학적 조성물의 투여량은 헤스페리딘이 10 내지 120 mg/kg, 더욱 구체적으로 100 mg/kg로 투여되게 조절할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0042] 본 발명의 또 다른 실시양태는 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0043] 이때, 상기 용어 "헤스페리딘", "외상 후 스트레스 장애", "예방" 및 "약학적으로 허용 가능한 염"의 정의는 상기에서 서술한 바와 같다.

[0044] 본 발명의 용어, "개선"은 헤스페리딘을 포함하는 조성물의 투여로 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0045] 본 발명에 따른 헤스페리딘은 우수한 PTSD 치료 효과를 나타내므로, PTSD의 예방 또는 개선을 목적으로 식품 조성물에 포함될 수 있으며, 상기 식품 조성물은 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 PTSD의 예방 또는 개선에 대하여 높은 효과를 기대할 수 있다.

[0046] 본 발명에서 용어, "식품"은 육류, 소시지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올음료, 비타민 복합제, 건강기능식품 등의 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함하며, 본 발명의 헤스페리딘을 포함할 수 있는 한, 이에 제한되지 않는다.

[0047] 본 발명의 용어, "건강기능식품"은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, '기능성'은 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻는 것을 의미한다. 한편, 건강식품은 일반식품에 비해 적극적인 건강유지나 증진 효과를 가지는 식품을 의미하고, 건강보조식품은 건강 보조 목적의 식품을 의미하는데, 경우에 따라, 건강기능식품, 건강식품, 건강보조식품의 용어는 혼용될 수 있다.

[0048] 본 발명의 헤스페리딘은 그대로 첨가되거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0049] 본 발명의 식품은 당 업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조 가능하며, 상기 제조 시에는 당 업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 구체적으로, 상기 식품 조성물은 생리학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 담체의 종류는 특별히 제한되지 않으며 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 담체라면 어느 것이든 사용할 수 있다. 또한, 상기 식품 조성물은 방부제, 살균제, 산화방지제, 착색제, 발색제, 표백제, 조미료, 감미료, 향료, 팽창제, 강화제, 유화제, 증점제, 피막제, 검기초제, 거품억제제, 용제, 개량제 등의 식품 첨가물을 포함할 수 있다. 상기 첨가물은 식품의 종류에 따라 선별되고 적절

한 양으로 사용될 수 있다.

[0050] 또한, 상기 식품의 제형은 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품용 조성물은 다양한 형태의 제형으로 제조될 수 있으며, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있고 휴대성이 뛰어나므로, 본 발명의 식품은 PTSD의 예방 또는 개선의 효과를 증진시키기 위한 보조제로 섭취가 가능하다.

[0051] 본 발명의 헤스페리딘은 PTSD의 예방 또는 개선 효과를 나타낼 수 있다면 식품조성물에 다양한 중량%로 포함될 수 있다. 구체적으로 식품 조성물의 총 중량 대비 0.00001 내지 100 중량% 또는 0.01 내지 80 중량%로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 건강 및 위생을 목적으로 장기간 섭취할 경우에는 상기 범위 이하의 함량을 포함할 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0052] 본 발명의 또 다른 실시양태는 헤스페리딘 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.

[0053] 이때, 상기 용어 "헤스페리딘", "외상 후 스트레스 장애", "예방", "개선" 및 "약학적으로 허용 가능한 염"의 정의는 상기에서 서술한 바와 같다.

[0054] 본 발명에 따른 헤스페리딘은 우수한 PTSD 치료 효과를 나타내므로, PTSD의 예방 또는 개선을 목적으로 사료 조성물에 포함될 수 있으며, 상기 사료 조성물은 동물이 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 PTSD의 예방 또는 개선에 대하여 높은 효과를 기대할 수 있다.

[0055] 본 발명의 용어, "사료"는 동물이 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미한다.

[0056] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.

발명의 효과

[0058] 본 발명의 헤스페리딘은 우수한 PTSD 치료 효과를 나타내므로, 약학적 조성물 또는 식품에 유효성분으로 포함되어 PTSD의 치료제 또는 개선제 등의 개발에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0060] 도 1은 외상 후 스트레스 장애(Post-traumatic stress disorder; PTSD) 모델을 제작하기 위한 시간 순서에 따른 실험의 개략도이며, 단일의 지속적 스트레스(Single prolonged stress; SPS)를 통한 불안-유사 증상의 유도 과정을 나타낸다.

도 2는 그룹별 랫츠의 시간에 따른 체중량 변화를 나타내는 그래프이다.

도 3는 그룹별 랫츠의 서크로스 섭취 변화를 나타내는 그래프이다.

도 4A는 그룹별 랫츠의 FST 실험동안 움직이지 않는 부동시간을 나타내는 그래프이다.

도 4B는 그룹별 랫츠의 FST 실험동안 클라이밍(climbing) 시간을 나타내는 그래프이다.

도 4C는 그룹별 랫츠의 FST 실험동안 수영 시간을 나타내는 그래프이다.

도 4D는 그룹별 랫츠의 OFT 실험동안 중앙을 가로지르는 횟수를 나타내는 그래프이다.

도 4E는 그룹별 랫츠의 OFT 실험동안 외곽을 가로지르는 횟수를 나타내는 그래프이다.

도 4F는 그룹별 랫츠의 OFT 실험동안 그루밍(grooming) 횟수를 나타내는 그래프이다.

도 4G는 그룹별 랫츠의 OFT 실험동안 경직(freezing) 양상 변화를 나타내는 그래프이다.

도 5는 그룹별 랫츠의 혈장 내 CORT 농도 변화를 나타내는 그래프이다.

도 6A는 그룹별 랫츠의 해마체 내 5-HT 수준을 나타내는 그래프이다.

도 6B는 그룹별 랫츠의 내측 전두엽 내 5-HT 수준을 나타내는 그래프이다.

도 6C는 그룹별 랫츠의 편도체 내 5-HT 수준을 나타내는 그래프이다.

도 6D는 그룹별 랫츠의 선조체 내 5-HT 수준을 나타내는 그래프이다.

도 6E는 그룹별 랫츠의 해마체 내 NE 수준을 나타내는 그래프이다.

도 6F는 그룹별 랫츠의 해마체 내 DA 수준을 나타내는 그래프이다.

도 7A는 그룹별 랫츠의 트립토판 수준을 나타내는 그래프이다.

도 7B는 그룹별 랫츠의 HVA 수준을 나타내는 그래프이다.

도 7C는 그룹별 랫츠의 5-HTAA 수준을 나타내는 그래프이다.

도 7D는 그룹별 랫츠의 5-HTAA/5-HT 비율을 나타내는 그래프이다

도 8는 그룹별 랫츠의 상대적 TPH-1 mRNA 수준을 비교하는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0061] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0063] **실시예 1. 실험동물의 사용 및 HSD의 효과**

[0064] 외상 후 스트레스 장애(PTSD) 치료를 위한 동물 실험에는 200-220g SD(Sprague-Dawley) 랫츠(6주령, Samtako AnimalCo., Seoul, Korea), 사용 하였다. 케이지는 12 시간의 빛/어둠 주기 (9:00am에 불이 켜지고, 9:00pm에 불이 꺼짐), 21±2℃의 온도 및 55±10%의 상대습도로 유지되게 하였다. 상기 모든 방법 및 절차는 경희대학교 동물관리위원회의 승인을 받았으며 [KHUASP(SE)-15-115], 모든 절차는 실험동물의 관리를 위한 가이드라인에 따라 수행하였다.

[0065] SPS에 노출된 후, 0.9% 식염수에 용해된 HSD(20, 50, 및 100 mg/kg, 체중)과 플루옥세틴염산염(fluoxetine hydrochloride)을 1일 1회씩 복강 내로 14일간 투여하였으며, SPS를 노출하지 않은 그룹 및 SPS-유도 랫츠 그룹에 상기와 같은 용량의 식염수를 복강 내로 투여하여 대조군으로 하였다.

[0066] 또한, 랫츠들은 무작위로 한 그룹 당 7마리 또는 8마리씩하여, 식염수-처리 대조군, SPS-유도 후 식염수 그룹(음성 대조군), SPS-유도 후 20 mg/kg HSD 투여 그룹, SPS-유도 후 50 mg/kg HSD 투여 그룹, SPS-유도 후 100 mg/kg HSD 투여 그룹 및 SPS-유도 후 10 mg/kg FLX 투여 그룹 총 6그룹으로 나누었다.

[0067] 상기 랫츠들의 14일간 체중 변화를 관찰하였으며, 약물 투여 기간 및 행동 실험은 도1과 같다.

[0069] **실시예 2. 단일의 지속적 스트레스(Single prolonged stress)**

[0070] 실시예 1에서 준비된 랫츠를 홀더에 2시간 동안 넣어 두었고, 이후 즉시 20분 동안 수영(forced swimming; FS) 하도록 하였다. 랫츠를 15분 동안 회복시킨 다음 의식이 없어질 때까지 이소프롤란에 노출시키는 단일의 지속적인 스트레스(Single prolonged stress; SPS) 자극을 가하였다. 이때, 대조군은 SPS 자극이 가해지는 동안 잠시 다른 공간으로 분리하였다. SPS 자극을 준 이후, 랫츠는 사회적 상호작용을 할 수 없게 케이지 두어, PTSD 유사 증상이 나타날 수 있도록 7일 동안 방해하지 않았다.

[0072] **실시예 3. 체중변화**

[0073] SPS에 의한 랫츠의 체중변화를 확인하기 위하여, 랫츠의 무게를 측정하였다.

[0074] 구체적으로, SPS를 유도한 뒤 14일간, 랫츠의 체중의 변화를 측정하기 위하여 One-way ANOVA 반복 실험을 실시하였다.

[0075] 그 결과, 도 2에서 볼 수 있듯이, SPS에 노출된 후 랫츠들은 1일째에는 체중의 변화가 없었으나, 2일째부터 점진적으로는 체중이 증가하였으나, SAL그룹과 비교하여는 지속적인 체중 감소를 확인하였다.

[0076] 반면, 통계적으로 유의한 수준은 아니었으나, HSD 20, 50 및 100 mg/kg을 투여하자 체중 감소가 완화되는 것을 알 수 있었다.

[0077] 이를 통해, SPS 단계가 PTSD 증상과 같은 극심한 스트레스를 가져오는 것을 알 수 있었으며, HSD 투여가 체중의 감소를 일부 억제하는 것을 확인하였다.

[0079] **실시예 4. 서크로스 섭취 변화**

[0080] 쾌감상실은 우울증의 증상 중 하나로 서크로스 섭취 실험을 통해 정량화 될 수 있다. SPS-유도에 의한 우울 증상을 확인하고, HSD에 의한 이의 개선 효능을 확인하기 위하여, SPS-유도 후 1% 서크로스 용액의 섭취 변화를 확인하였다.

[0081] 보다 구체적으로, 서크로스 용액 섭취 변화를 측정하기 전에 랫츠를 적응시키기 위하여 24시간 전 서크로스 용액을 투여하였고, 실험 6시간 전 물과 음식을 없앤 뒤, 실험 당일에 3시간 동안의 서크로스 섭취 변화를 확인하기 위하여 물병의 무게 변화를 측정하였다. 상기 측정은 스트레스 유도 1일전, 스트레스 유도 7일 후 및 14일 후, 총 3회 수행하였다.

[0082] 그 결과, 도 3에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 랫츠 그룹은 서크로스 섭취가 현저히 감소한 것을 확인하였다. 그러나 HSD 100 mg/kg을 투여한 랫츠의 서크로스 섭취는 투여하지 않은 그룹과 비교하여 개선되는 것을 확인하였다.

[0083] 이를 통해, SPS-유도가 PTSD와 같은 우울 증상을 유도하는 것을 확인하였으며, HSD 투여는 농도의존적으로 이를 완화/개선하는 효능이 있음을 확인하였다.

[0085] **실시예 5. 운동 능력 및 행동 변화 실험**

[0086] SPS-유도에 의한 랫츠의 운동 능력 및 행동 변화를 확인하기 위하여 하기 실험들을 수행하여 비교하였다.

[0088] **실시예 5-1. 강제 수영 실험(Forced swimming tset; FST)**

[0089] 우울증의 증상 중 하나는 스트레스에 반응하지 않는 것이다. FST와 같은 스트레스를 가하였을 때, 움직이지 않는 부동상태 정도를 측정하고, HSD에 의한 완화 효능을 측정하였다.

[0090] 보다 구체적으로, 투명한 플렉시글라스 케이지 (20cm 직경 x 50cm 깊이)에 25℃의 물을 30cm 채우고 랫츠를 넣었다. 실험시간은 총 6분이었으며 초기 2분은 적응 시간으로 측정하지 않았다. 또한, 움직이지 않는 부동상태는 수면 밖으로 고개를 내밀고 최소한의 움직임을 하는 상태를 부동상태로 정의하였다.

[0091] 그 결과, 도 4에서 볼 수 있듯이, HSD의 투여가 부동상태 시간을 농도의존적으로 현저하게 감소시키는 것을 확인하였으며, 양성 대조군인 FLX 역시 FST 중 랫츠들의 부동시간을 현저히 감소시키는 것을 확인하였다(도 4A). 그러나 모든 그룹에서 SPS로 인한 수영 행동의 변화는 나타나지 않았다(도 4C).

[0092] 또한, 통계적으로 유의하지는 않으나 FST 중 오르기(climbing)의 시간이 현저히 증가하는 것을 확인하였다(도 4B).

[0093] 이를 통해, HSD가 PTSD와 같은 스트레스에 의한 부동상태의 시간을 완화하는 효능이 있음을 확인하였다.

[0095] **실시예 5-2. 개방 구역에서의 행동 변화(Open field test; OFT)**

[0096] SPS 자극 및 HSD에 의한 운동 활동 및 탐색 활동 변화 효과를 연구하기 위해, 열린 공간 테스트(Open field test; OFT)를 실시하였다.

[0097] 보다 구체적으로, 바닥이 15cm 간격으로 가로세로 줄이 그어진 바둑판 모양의 바닥이 있는 나무로 만들어진 직사각형 컨테이너(60×60cm×30cm)를 준비하여, 중앙부와 주변부로 구분하였다. 운동 활성은 S-MART 프로그램(PanLab Co., Barcelona, Spain)을 이용한 비디오-추적 시스템을 통해 측정하였으며, 운동 활동은 컨테이너에서 이동 한 총 거리, 속도 및 5분간 선을 가로지르는 횟수 및 운동(중앙부 가로지름) 및 중앙부 및 주변부에 머무른 시간을 측정하였고, OFT에서 운동 활성을 분석하기 위해 랫츠가 그루밍(grooming) 횟수 또한 기록하였다.

[0098] 그 결과, 도 4에서 볼 수 있듯이, SPS에 노출된 랫츠는 SAL 그룹과 비교하여 중앙 지역에서 보내는 시간이 줄어들었으며(도 5A), 중앙 지역을 지나다니는 경향도 줄어들었다(도 4D). 반면, 그룹들간 외곽 주변 지역으로 지나다니는 경향의 차이는 발견되지 않았다(도 4E). 특히, HSD 100 mg/kg을 투여한 랫츠에서 중앙 지역에서 보내는 시간이 월등히 증가하는 것을 확인하였다. 이는 양성 대조군 FLX를 투여한 그룹과 유사한 결과였다.

[0099] 또한, 도 4F에서 볼 수 있듯이, HSD 100 mg/kg을 투여한 랫츠에서 통계적으로 유의한 수치는 아니었으나, 그루밍 행동이 증가하는 것을 확인하였다.

[0100] 이를 통해, SPS 자극이 운동 활동을 감소시키는 것을 확인하였으며, HSD은 양성대조군 FLX와 유사하게 변화된 운동 능력을 개선시키는 효능을 갖는 것을 확인하였다.

[0102] **실시예 5-3. SPS 자극을 통한 맥락적 경직 행동 실험**

[0103] 공포 습득에 의한 경직 행동과 HSD를 통한 완화 효과를 측정하기 위해 SPS 노출 후 랫츠의 경직 행동에 대하여 조사하였다.

[0104] SPS 자극은 실시예 2에 기재한 방법과 동일하다.

[0105] 그 결과, 도 4H에서 볼 수 있듯이, SPS에 노출된 후, SPS 그룹에서는 SAL 그룹과 비교하여 현저하게 경직 시간이 증가하였다. 그러나 HSD 100 mg/kg을 투여하자 투여하지 않은 그룹과 비교하여 월등히 경직 시간이 감소되는 것을 확인하였다.

[0106] 이를 통해, SPS에 의한 반응은 초기 트라우마 증상과 유사한 것을 확인하였으며, HSD 투여는 이를 완화시킬 수 있음을 확인하였다.

[0108] **실시예 6. SPS 자극에 의한 혈장 내 코르티코스테론 변화**

[0109] 스트레스 관련 호르몬의 농도를 측정하여 SPS 자극을 통해 PTSD 증상을 유도하고, 이로 인한 호르몬 변화와 HSD의 효과를 분석하였다.

[0110] 보다 구체적으로, 14일간 PTSD가 유발되도록 한 뒤, 혈장 내 코르티코스테론(corticosterone, CORT) 농도를 측정하였다. 각 그룹별 4마리의 랫츠를 행동 실험 하루 뒤, 이소플루렌 살포하여 마취시켜 희생시켰다. 이소플루렌은 Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) 가이드라인에 따라 4%의 산소와 함께 실온에서 6psi 기압으로 밀폐된 케이지에 30초간 살포하였다.

[0111] 이후, 복대동맥을 통해 혈장을 빠르게 채취하였다. 채취한 혈장으로부터 스트레스 관련 호르몬인 CORT 농도를 측정하여 SPS 자극을 통해 PTSD 증상을 유도하고, 이의 호르몬 변화와 HSD의 효능을 분석하였다.

[0112] 그 결과, 도 5에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교하여 SPS 그룹의 혈장 내 CORT 수치가 현저히 증가한 것을 확인하였다.

[0113] 반면, 100 mg/kg의 HSD 투여는 이러한 SPS-자극으로 인한 증가된 CORT 수치를 현저히 억제하는 것을 확인하였다.

[0114] 이를 통해, SPS 자극이 PTSD 증상과 같은 극심한 스트레스를 가져오는 것을 알 수 있었으며, HSD 투여는 SPS에 의한 혈장 내 CORT 수치 증가를 현저히 억제시키는 것을 확인하였다.

[0116] **실시예 7. 뇌 내 세로토닌, 트립토판, 노르에피네프린, 및 도파민 변화**

[0117] 스트레스 관련 호르몬의 농도를 측정하여 SPS 자극을 통해 PTSD 증상을 유도하고, 이로 인한 호르몬 변화와 HSD의 효과를 분석하였다.

[0118] 구체적으로, 14일간 PTSD가 유발되도록 한 뒤, 뇌 조직 내 세로토닌(5-HT) 농도, 해마체 내 트립토판, 노르에피네프린, 도파민, 및 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)의 농도를 측정하였다. 실험 방법은 실시예 6과 동일한 방법으로 수행하였다. 복대동맥을 통해 혈장을 빠르게 채취한 후, 뇌를 채취하여 해마체, 내측전두엽, 선조체, 편도체를 분리하였다. 이후, 항체를 이용한 경쟁적 ELISA 실험을 통해 스트레스 관련 호르몬인 세로토닌(5-HT), 트립토판(TRP) 노르에피네프린(NB), 및 도파민(DA)의 변화를 측정하기 위하여, 5-HT, 세로토닌 대사산물인 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA), TRP, NE, DA, 및 도파민 대사산물인 homovanillyric acid(HVA)의 농도를 측정하고, HSD의 PTSD 증상의 완화 효능을 확인하였다.

[0119] 그 결과, 도 8에서 볼 수 있듯이, One-way ANOVA 및 Post-hoc 테스트를 통해 그룹 간에 뇌 지역별 5-HT 발현 수준이 다른 것을 확인하였다.

[0121] 1) 세로토닌(5-HT)

[0122] SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 해마체 내 5-HT 수준이 낮아진 것을 확인하였다(도 8A). 그러나 100 mg/kg의 HSD를 투여한 그룹의 해마체에서 감소된 5-HT가 회복되는 것을 확인하였다.

[0123] 또한, SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 내측 전두엽 내 5-HT 수준이 낮아진 것을 확인하였다(도 8B). 그러나 100 mg/kg의 HSD를 투여한 그룹의 내측 전두엽에서 감소된 5-HT가 회복되는 것을 확인하였다.

[0124] 또한, SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 편도체 내에서도 5-HT 발현 수준이 감소한 것을 확인하였다(도 8C). 그러나 100 mg/kg의 HSD를 투여한 그룹의 편도체에서 감소된 5-HT가 회복되는 것을 확인하였다(391.45%).

[0125] 또한, SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 선조체 내에서도 5-HT 발현 수준이 감소한 것을 확인하였다(도 8D). 그러나 100 mg/kg의 HSD를 투여한 그룹의 편도체에서 감소된 5-HT가 회복되는 것을 확인하였다.

[0126] 또한, 10 mg/kg의 FLX을 투여하여도 상기 감소된 5-HT가 회복되는 것을 확인하였다.

[0128] 2) 노르에피네프린(NE)

[0129] SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 해마체 내 NE 수준이 현저히 증가된 것을 확인하였다(422.92%). 반면, HSD를 투여한 그룹의 해마체에서는 NE 수준의 증가가 억제되는 것을 확인하였다(도 6E).

[0131] 3) 도파민(DA)

[0132] SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 해마체 내 DA 수준이 현저히 감소된 것을 확인하였다(21.13%). 반면, HSD를 투여한 그룹의 해마체에서는 DA 수준 감소가 억제되는 것을 확인하였다(도 6F).

[0134] 4) 트립토판(TRP)

[0135] SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 해마체 내 TRP 발현은 현저히 감소된 것을 확인하였다(44.95%). 또한 14일간 SPS에 노출된 랫츠의 해마체 내 5-HIAA 수준은 SAL 그룹과 비교하여 증가한 것을 확인하였다(256.03%)(도 7A).

[0137] 5) 호모바닐린산(HVA)

[0138] SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 해마체 내 HVA 수준이 현저히 감소된 것을 확인하였다(27.22%). 반면, HSD를 투여한 그룹의 해마체에서는 HVA 수준 감소가 억제되는 것을 확인하였다(도 7B).

[0140] 6) 5-hydroxyindoleacetic acid(5-HIAA)

[0141] SAL 그룹과 비교하여 SPS-유도 그룹의 해마체 내 5-HIAA 발현은 증가된 것을 확인하였다. 반면, 100 mg/kg의 HSD를 투여한 그룹의 해마체에서 SPS-유도에 의한 5-HIAA 발현 증가가 억제된 것을 확인하였다(도 7C). 또한, 지속적인 HSD 투여(100 mg/kg)는 해마체 내 5-HIAA/5-HT 비율을 감소시키는 것을 확인하였다(도 7D).

[0143] 이를 통해, SPS 자극이 PTSD 증상과 같은 극심한 스트레스를 가져오는 것을 알 수 있었으며, HSD 투여는 SPS에 의한 뇌 내 5-HIAA, TRP, NE, 및 DA의 농도의 변화를 현저히 억제시키는 것을 확인하였다.

[0145] **실시예 8. 해마체 내 트립토판 수산화효소 및 티로신 수산화효소 mRNA 변화**

[0146] 기존 연구 결과를 통해 트립토판(TRP)이 트라우마성 스트레스와 더불어 공포나 불안의 반응을 볼 수 있는 중요한 마커임을 확인하여, 트립토판 수산화효소(TPH-1)의 발현 수준을 측정하여 HSD의 PTSD 증상과 유사한 공포와 불안의 완화 효능을 분석하였다.

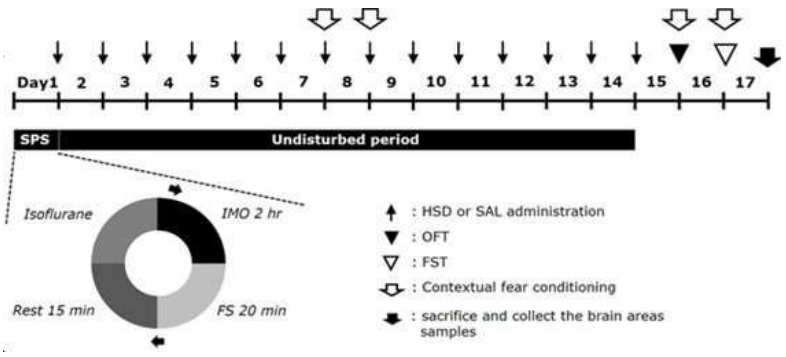
[0147] 보다 구체적으로, SPS-유도 랫츠의 해마체 내 TPH-1의 발현에 대한 HSD의 효능을 측정하기 위하여, RT-PCR을 통해 TPH-1의 mRNA 발현을 분석하였다. TRIzol 시약을 사용하여 각 랫츠의 해마체로부터 총 RNA 추출하였다. 이를 정량화하기 위하여, RNA를 50배 희석한 뒤, UV/vis spectrophotometer 260nm을 통해 absorbance를 측정하였다. RT-PCR premix(Bioneer, Korea), sense 프라이머, antisense 프라이머(Bioneer), RNA, 및 DEPC를 처리한 멸균수를 더하여 final volume을 50㎕이 되게 한 후, RT-PCR을 수행하였다. 이후, cDNA을 60℃, 28회 조건으로 PCR을 통해 증폭하여 TPH-1을 생산한 뒤, Taq DNA 폴리머레이즈(Takara)을 사용하여 58℃, 28회 조건으로 thermal cycler(MJ Research, Watertown, MA, USA)를 통해 전체 2㎍의 RNA에서 cDNA를 생산하였다. PCR 생성물은 0.5 ㎍/ml ethidium bromide (EtBr; Sigma)가 담긴 1.2% 아가로스겔에 50v 전류를 40분간 흘려주어 전기영동 한 뒤, UV를 통해 확인하였다. 상기 데이터는 같은 샘플의 GADPH 발현을 통해 정상화하였다.

[0148] 그 결과, 도 8에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교하여 SPS 그룹의 해마체 내 TPH-1 mRNA 발현은 현저히 낮은 반면, 100 mg/kg의 HSD를 투여한 그룹의 해마체 내 TPH-1 mRNA 발현이 SAL 그룹과 비슷하게 회복되는 것을 확인하였다.

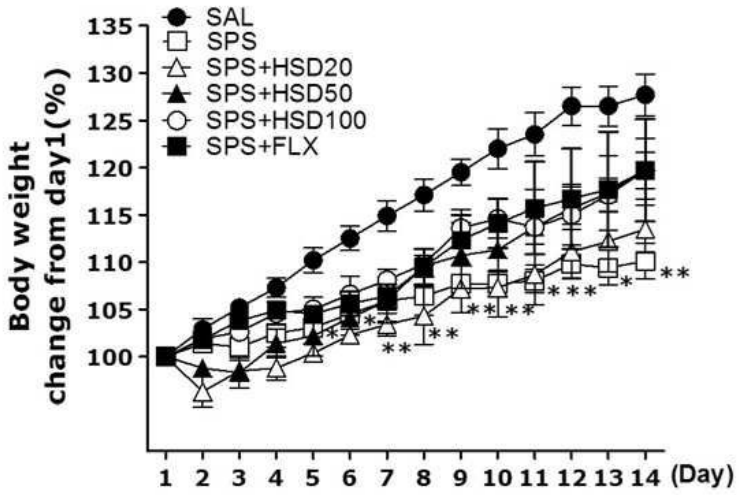
[0150] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

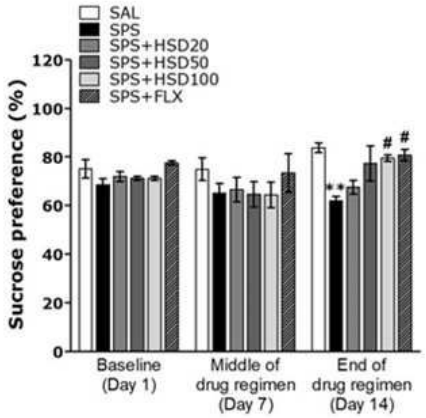
도면1



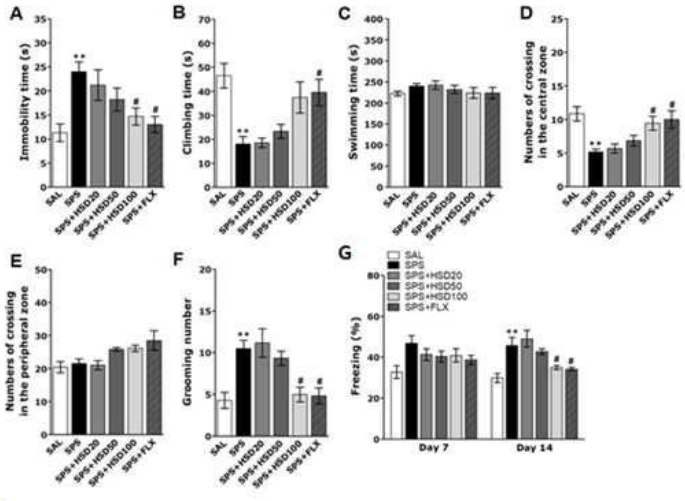
도면2


SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX
Body weight change from day1(%)
135
130
125
120
115
110
105
100
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 (Day)

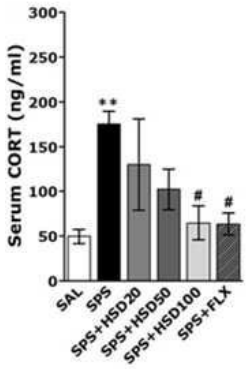
도면3


SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX
Sucrose preference (%)
120
100
80
60
40
20
0
Baseline (Day 1)
Middle of drug regimen (Day 7)
End of drug regimen (Day 14)

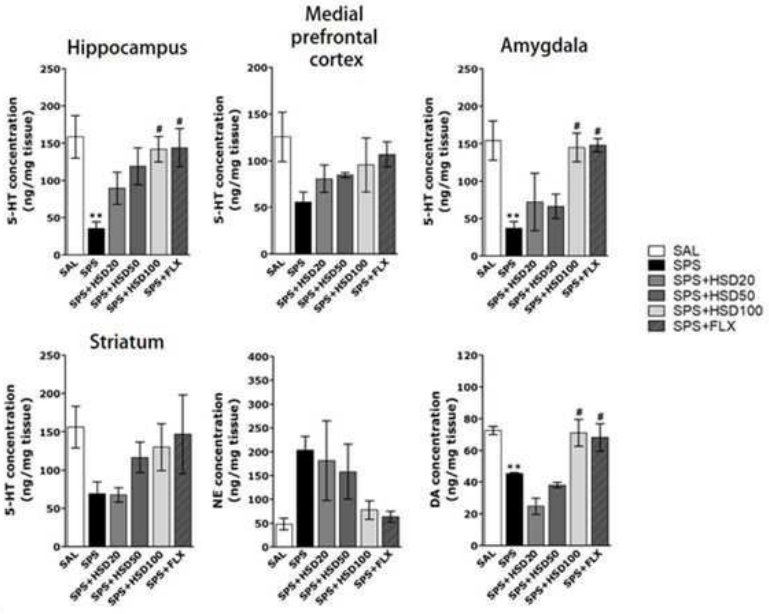
도면4


A
Immobility time (s)
B
Climbing time (s)
C
Swimming time (s)
D
Numbers of crossing in the central zone
E
Numbers of crossing in the peripheral zone
F
Grooming number
G
Freezing (%)
SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX
Day 7
Day 14

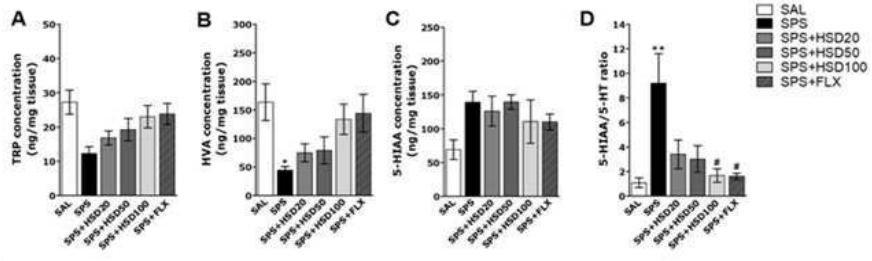
도면5


Serum CORT (ng/ml)
300
250
200
150
100
50
0
**
#
#
SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX

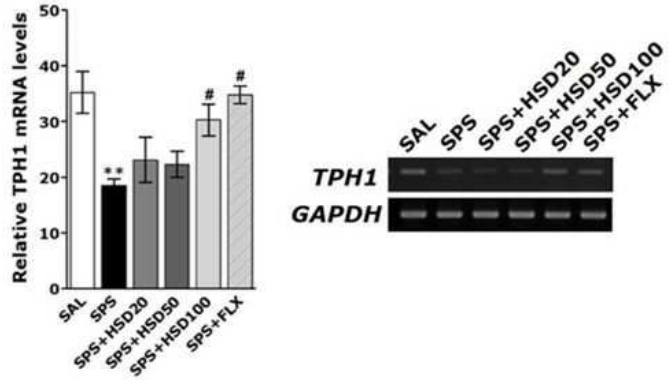
도면6


Hippocampus
Medial prefrontal cortex
Amygdala
Striatum
5-HT concentration (ng/mg tissue)
NE concentration (ng/mg tissue)
DA concentration (ng/mg tissue)
SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX

도면7


A
TRP concentration (ng/mg tissue)
B
HVA concentration (ng/mg tissue)
C
5-HIAA concentration (ng/mg tissue)
D
5-HIAA/5-HT ratio
SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX

도면8


Relative TPH1 mRNA levels
50
40
30
20
10
0
**
#
#
SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX
SAL
SPS
SPS+HSD20
SPS+HSD50
SPS+HSD100
SPS+FLX
TPH1
GAPDH