

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0139350

(43) 공개일자 2024년09월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/192 (2006.01) *A23K 20/111* (2016.01)*A23L 33/10* (2022.01) *A61P 25/00* (2006.01)*A61P 43/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/192 (2023.05)*A23K 20/111* (2016.05)

(21) 출원번호 10-2023-0033256

(22) 출원일자 2023년03월14일

심사청구일자 2023년03월14일

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

이봄비

경기도 남양주시 화도읍 경춘보학2길 30, 102동 1501호

(74) 대리인

특허법인정진

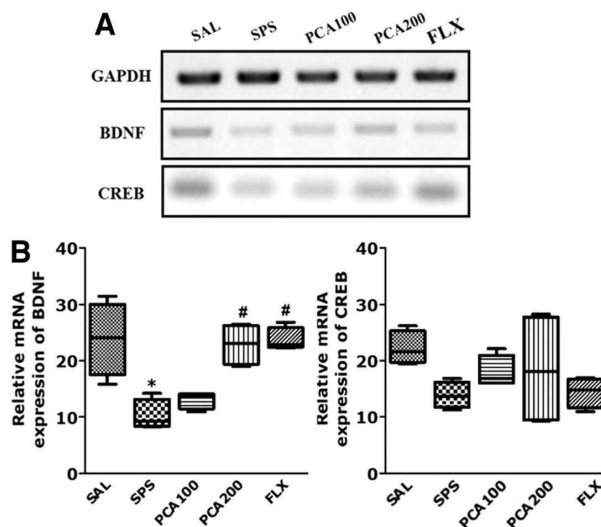
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 프로토카테츄산을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방, 개선 또는 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 프로토카테츄산의 외상 후 스트레스 장애 예방, 개선 또는 치료 용도에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 프로토카테츄산을 포함하는 조성물; 및 프로토카테츄산을 이용한 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법;에 관한 것이다. 본 발명에 따른 프로토카테츄산은 세로토닌 신경계 및 모노아민을 조절하여 동결 행동을 개선하고 항우울 및 항불안 효과를 발휘함으로써, 공포 반응을 주요 문제로 언급되는 외상 후 스트레스 장애를 개선할 수 있음을 확인하였다. 따라서 본 발명의 프로토카테츄산은 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도5



(52) CPC특허분류

A23L 33/10 (2022.01)

A61P 25/00 (2018.01)

A61P 43/00 (2018.01)

A23V 2002/00 (2023.08)

A23V 2200/31 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/02 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711166293

과제번호 2020R1A2C1100975

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)

연구과제명 외상 후 스트레스 장애에 의한 불안감, 공포, 우울증에서 신경염증 및 시냅스 가소성 조절을 통한 트라우마 스트레스 제어에 대한 침자극의 효능 검증 및 작용기전 규명

기 여 율 1/1

과제수행기관명 경희대학교 산학협력단

연구기간 2020.09.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

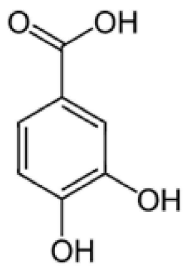
청구항 1

프로토크아테츠크산(protocatechuic acid) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

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

[화학식 1]



청구항 3

제1항에 있어서, 상기 프로토크아테츠크산은 1 내지 500 mg/kg로 개체에 투여되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물은 공포 반응을 감소시키는 것인, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물은 뇌 유래 신경영양인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)의 발현을 증가시키는 것인, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물은 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함하는 것인, 약학적 조성물.

청구항 7

프로토크아테츠크산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

프로토크아테츄산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 건강 기능식품 조성물.

청구항 9

프로토크아테츄산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 사료 조성물.

청구항 10

프로토크아테츄산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 외상 후 스트레스 장애가 발생되거나 또는 발생될 가능성이 있는, 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계;를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 투여는 프로토크아테츄산을 1 내지 500 mg/kg로 개체에 투여하는 것인, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 프로토크아테츄산의 외상 후 스트레스 장애 예방, 개선 또는 치료 용도에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 프로토크아테츄산을 포함하는 조성물; 및 프로토크아테츄산을 이용한 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 방법;에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 외상 후 스트레스 장애(Post-traumatic stress disorder, PTSD)는 장소 또는 사람과 관련된 외상성 사건을 다시 경험하는 것을 특징으로 하는 심각한 기분 장애로, 외상성 기억을 회피하고 싶어한다. 외상 후 스트레스 장애로 고통받는 환자는 일상적인 사건에 대해 과장된 반응을 보일 수 있으며, 과도한 슬픔, 불안 및 분노와 같은 정서 장애가 발생할 수 있다. 보다 심각하게는, 외상 후 스트레스 장애는 인지 기능 장애, 우울증 및 불안 장애와 같은 질환이 동반될 수 있다.

[0003] 외상 후 스트레스 장애로 인한 우울증 및 불안 장애를 치료하기 위한 방법으로는 항우울제 복용 등이 있으나, 이는 제한적이며 장기간 사용에 따른 부작용이 존재한다. 따라서 기존의 항우울제를 보완할 수 있는 새롭고 안전한 천연 식품 유래 화합물이 주목받고 있으나, 후보 물질에 대한 연구가 미비한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 이에 본 발명자들은 장기간 사용에도 부작용이 낮은 외상 후 스트레스 장애의 치료제를 개발하기 위하여 노력한 결과, 프로토크아테츄산이 세로토닌 신경계 및 모노아민 조절을 통해 외상 후 스트레스 장애를 치료할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0005] 따라서 본 발명의 목적은, 프로토크아테츄산(protocatechuic acid) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

[0006] 본 발명의 다른 목적은, 프로토크아테츄산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 외상 후 스트레스 장애가 발생되거나 또는 발생될 가능성이 있는, 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 프로토키테추산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.
- [0008] 또한 본 발명은 프로토키테추산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0009] 또한 본 발명은 프로토키테추산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0010] 또한 본 발명은 프로토키테추산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.
- [0011] 또한 본 발명은 프로토키테추산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 외상 후 스트레스 장애가 발병되거나 또는 발병될 가능성이 있는, 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계;를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0012] 본 발명에 따른 프로토키테추산은 세로토닌 신경계 및 모노아민을 조절하여 동결 행동을 개선하고 항우울 및 항불안 효과를 발휘함으로써, 공포 반응을 주요 문제로 언급되는 외상 후 스트레스 장애를 개선할 수 있음을 확인하였다. 따라서 본 발명의 프로토키테추산은 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 단일 지속성 스트레스에 의한 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 제작 및 이를 이용한 실험 일정을 나타낸 도이다.
- 도 2A는 단일 지속성 스트레스에 따른 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 체중 변화를 분석한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 2B는 단일 지속성 스트레스에 따른 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 자당 섭취량을 분석한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3A는 FCT(fear conditioning test)를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 동결 시간을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3B는 FCT를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 동결물을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3C는 강제 수영 테스트(forced swimming test, FST)를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 움직이지 않는 시간을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3D는 강제 수영 테스트를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 등반 행동을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3E는 강제 수영 테스트를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 수영 시간을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3F는 EPM(Elevated Plus Maze) 테스트를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델이 오픈 암에서 소요한 시간을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3G는 EPM 테스트를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델이 클로즈드 암에서 소요한 시간을 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3H는 EPM 테스트를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델이 오픈 암에 들어가는 횟수를 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3I는 EPM 테스트를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델이 클로즈드 암에 들어가는 횟수를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 3J는 EPM 테스트를 통해 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 불안지수를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4A는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 혈장 내 코르티코스테론의 농도를 특정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4B는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 내측 전두엽에서 세로토닌(serotonin, 5-HT)의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4C는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 해마에서 세로토닌의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4D는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 편도체에서 세로토닌의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4E는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 내측 전두엽에서 5-하이드록시인돌초산(5-hydroxyindoleacetic acid, 5-HIAA)의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4F는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 내측 전두엽에서 5-하이드록시인돌초산 및 세로토닌의 비율을 계산한 결과를 나타낸 도이다.

도 4G는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 내측 전두엽에서 혈장 내 노르에피네프린(norepinephrine, NE)의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 4H는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 내측 전두엽에서 혈장 내 도파민(dopamine, DA)의 농도를 측정한 결과를 나타낸 도이다.

도 5A는 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 내측 전두엽에서 RT-PCR을 통해 뇌 유래 신경영양인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 및 cAMP 반응인자 결합 단백질(cAMP response element-binding protein, CREB)의 mRNA 발현을 분석한 결과를 나타낸 도이다.

도 5B는 상기 도 5A의 RT-PCR 결과를 GAPDH mRNA 발현 수준으로 정규화한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

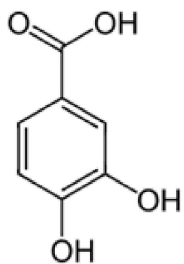
이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

본 발명의 양태에 따르면, 본 발명은 프로토크테추산(protocatechuic acid) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하는 외상 후 스트레스 장애 예방, 개선 또는 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 치료용 약학적 조성물; 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 식품 조성물; 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물; 또는 외상 후 스트레스 장애 예방 또는 개선용 사료 조성물;일 수 있다.

본 발명에 있어서, 프로토크테추산은 복합 폴리페놀의 주요 대사산물로, 식용 식물, 과일 및 와인 등에서 고농도로 발견되는 폴리페놀 화합물이다. 다수의 연구가 프로토크테추산이 항염증, 항산화, 항아포토시스, 신경보호 작용 등의 효과를 나타낸다는 것을 보고하였으나, 이의 외상 후 스트레스 장애의 예방, 치료 또는 개선 효과는 알려진 바가 없다.

본 발명의 구체예에서, 상기 프로토크테추산은 하기 화학식 1로 표시되는 것이 바람직하다.

[화학식 1]



본 발명에 따른 프로토크테추산을 포함하는 조성물은 프로토크테추산에서 일부 당업자가 예상 가능한 범위의 유도체가 포함될 수 있으며, 본 발명에서 동일한 효과가 있는 한 제한없이 포함된다. 프로토크테추산은 이를 포함하는 추출물에서 수득될 수 있다. 또한 공지의 방법으로 합성 및 정제하여 사용 가능하다.

- [0021] 본 발명의 구체예에서, 상기 프로토키테추산은 1 내지 500 mg/kg로 개체에 투여되는 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 10 내지 300 mg/kg, 더욱 바람직하게는 100 내지 200 mg/kg, 가장 바람직하게는 200 mg/kg일 수 있다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 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. 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.
- [0023] 본 발명의 구체예에서, 상기 조성물은 공포 반응을 감소시키는 것일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 구체예에서, 상기 조성물은 뇌 유래 신경영양인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)의 발현을 증가시키는 것이 바람직하다.
- [0025] 본 발명의 일 실시예에서는, 프로토키테추산이 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 공포 반응, 불안 및 증가된 코르티코스테론 수준을 감소시키는 것을 실험적으로 확인하였다. 또한 프로토키테추산이 우울증 및 불안 유사 증상의 발병에 중요한 역할을 하는 뇌 유래 신경영양인자의 수치를 대조군 수준으로 역전시키는 것을 확인하였다. 이는 본 발명의 프로토키테추산이 세로토닌 신경계 및 모노아민을 조절하여 동결 행동을 개선하고 항우울 및 항불안 효과를 발휘함으로써, 공포 반응을 주요 문제로 언급되는 외상 후 스트레스 장애를 개선할 수 있음을 의미한다. 따라서 본 발명의 프로토키테추산은 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.
- [0026] 본 발명에 있어서, 예방은 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 외상 후 스트레스 장애의 발병을 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0027] 본 발명에 있어서, 치료는 본 발명에 따른 조성물의 투여에 의해 외상 후 스트레스 장애 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.
- [0028] 본 발명에 있어서, 개선은 프로토키테추산을 포함하는 조성물의 투여로 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0029] 본 발명의 구체예에서, 상기 조성물이 약학적 조성물인 경우 약학적으로 허용 가능한 담체를 더 포함할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 실시예에서, 상기 조성물은 프로토키테추산을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물일 수 있다.
- [0031] 본 발명의 조성물이 약학적 조성물로 이용되는 경우, 본 발명의 약학적 조성물은 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 조성물은 프로토키테추산과 함께 외상 후 스트레스 장애에 대하여 예방 또는 치료 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [0033] 본 발명의 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 첨가제를 더 포함할 수 있으며, 이때 약제학적으로 허용 가능한 첨가제로는 전분, 젤라틴화 전분, 미결정셀룰로오스, 유당, 포비돈, 콜로이달실리콘디옥사이드, 인산수소칼슘, 락토스, 만니톨, 엷, 아라비아고무, 전호화전분, 옥수수전분, 분말셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 오파드라이, 전분글리콜산나트륨, 카르나우바납, 합성규산알루미늄, 스테아린산, 스테아린산마그네슘, 스테아린산알루미늄, 스테아린산칼슘, 백당 등이 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 약제학적으로 허용 가능한 첨가제는 상기 조성물에 대해 0.1 ~ 90 중량부 포함되는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명의 조성물은 실제 임상투여 시에 경구 또는 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제할 수 있으며, 당해 기술 분야에 알려진 적합한 제제는 문헌(Remington's Pharmaceutical Science, 최근, Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 것을 이용하는 것이 바람직하다.

- [0035] 상기 경구 투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘 카보네이트(Calcium carbonate), 수크로스(Sucrose) 또는 락토오스(Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 또한, 상기 경구 투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.
- [0036] 상기 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.
- [0037] 본 발명의 프로토포카테추산은 약학적으로 허용되는 염의 형태로 사용될 수 있으며, 통상의 방법에 의해 제조되는 모든 염, 수화물 및 용매화물이 포함된다.
- [0038] 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가 염은 통상의 방법, 예를 들어 화합물을 과량의 산 수용액에 용해시키고, 이 염을 수혼 화성 유기 용매, 예를 들어 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조한다. 동 물량의 화합물 및 물 중의 산 또는 알코올(예, 글리콜 모노메틸에테르)을 가열하고, 이어서 상기 혼합물을 증발시켜 건조시키거나, 또는 석출된 염을 흡인 여과시킬 수 있다. 이때, 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 인산, 황산, 질산, 주석산 등을 사용할 수 있고 유기산으로는 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 말레인산(maleic acid), 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산(fumaric acid), 만데르산, 프로피온산(propionic acid), 구연산(citric acid), 젖산(lactic acid), 글리콜산(glycollic acid), 글루콘산(gluconic acid), 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산(glutaric acid), 글루쿠론산(glucuronic acid), 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 히드로아이오딕산 등을 사용할 수 있으며, 이에 제한되지 않는다.
- [0039] 또한, 염기를 사용하여 약학적으로 허용 가능한 금속염을 만들 수 있다. 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염은, 예를 들어 화합물을 과량의 알칼리 금속 수산화물 또는 알칼리 토금속 수산화물 용액 중에 용해시키고, 비용해 화합물 염을 여과한 후 여액을 증발, 건조시켜 얻는다. 이때, 금속염으로서 특히 나트륨, 칼륨 또는 칼슘염을 제조하는 것이 제약상 적합하나 이들에 제한되는 것은 아니다. 또한, 이에 대응하는 은염은 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 염을 적당한 은염(예, 질산은)과 반응시켜 얻을 수 있다.
- [0040] 상기 화합물의 약학적으로 허용 가능한 염은, 달리 지시되지 않는 한, 상기 화합물에 존재할 수 있는 산성 또는 염기성 기의 염을 포함한다. 예를 들어, 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드록시기의 나트륨, 칼슘 및 칼륨 염 등이 포함될 수 있고, 아미노기의 기타 약학적으로 허용 가능한 염으로는 히드로브로마이드, 황산염, 수소 황산염, 인산염, 수소 인산염, 이수소 인산염, 아세테이트, 숙시네이트, 시트레이트, 타르트레이트, 락테이트, 만델레이트, 메탄술포네이트(메실레이트) 및 p-톨루엔술포네이트(토실레이트) 염 등이 있으며 당업계에서 알려진 염의 제조방법을 통하여 제조할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 상기 약학적 조성물의 제제화 방법, 투여 방식, 투여 시간 및/또는 투여 경로 등에 의해 다양해질 수 있으며, 상기 약학적 조성물의 투여로 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 투여 대상이 되는 개체의 종류, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 질병의 증세나 정도, 성별, 식이, 배설, 해당 개체에 동시 또는 이시에 함께 사용되는 약물 기타 조성물의 성분 등을 비롯한 여러 인자 및 의학 분야에서 잘 알려진 유사 인자에 따라 다양해질 수 있으며, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 목적하는 치료에 효과적인 투여량을 용이하게 결정하고 처방할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 약학적 조성물의 투여량은 예를 들어, 0.05 내지 5 mg/kg의 농도로 투여되는 것이 바람직하며, 더 바람직하게는 0.1 내지 0.4 mg/kg, 더욱 바람직하게는 0.2 내지 0.35 mg/kg, 더더욱 바람직하게는 0.25 mg/kg일 수 있으나, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명의 약학적 조성물의 투여 경로 및 투여 방식은 각각 독립적일 수 있으며, 그 방식에 있어 특별히 제한되지 아니하며, 목적하는 해당 부위에 상기 약학적 조성물이 도달할 수 있는 한 임의의 투여 경로 및 투여 방식에 따를 수 있다.
- [0044] 상기 약학적 조성물은 경구 투여 또는 비경구 투여 방식으로 투여할 수 있다. 상기 비경구 투여 방식으로는 예를 들어 정맥 내 투여, 복강 내 투여, 근육 내 투여, 경피 투여 또는 피하 투여 등이 포함된다.

- [0045] 본 발명의 약학적 조성물은 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.
- [0046] 본 발명의 실시예에서, 상기 조성물은 프로토카테chu산을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 식품 조성물; 또는 건강기능식품 조성물일 수 있다.
- [0047] 본 발명에 있어서, 건강기능식품이란 식품에 물리적, 생화학적, 생물공학적 수법 등을 이용하여 해당 식품의 기능을 특정 목적에 작용, 발현하도록 부가가치를 부여한 식품군이나 식품 조성이 갖는 생체방어리듬조절, 질병 방지와 회복 등에 관한 체내조절기능을 생체에 대하여 충분히 발현하도록 설계하여 가공한 식품을 의미한다. 본 발명의 목적상 상기 건강기능식품은 외상 후 스트레스 장애를 예방 및 개선하기 위한 건강기능식품을 의미한다.
- [0048] 본 발명에 있어서 식품 조성물은 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의하여 제조가능하며, 상기 제조 시에는 당업계에서 통상적으로 첨가하는 원료 및 성분을 첨가하여 제조할 수 있다. 또한 상기 식품 조성물의 제형 또한 식품 조성물로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다.
- [0049] 본 발명에 따른 식품으로는 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 기능성 식품 등이 있다. 또한 식품에는 특수영양식품(예, 조제유류, 영, 유아식 등), 식육가공품, 어육제품, 두부류, 묵류, 면류(예, 라면류, 국수류 등), 빵류, 건강보조식품, 조미식품(예, 간장, 된장, 고추장, 혼합장 등), 소스류, 과자류(예, 스낵류), 캔디류, 초코렛류, 껌류, 아이스크림류, 유가공품(예, 발효유, 치즈 등), 기타 가공식품, 김치, 절임식품(각종 김치류, 장아찌 등), 음료(예, 과일 음료, 채소류 음료, 두유류, 발효음료류 등), 천연조미료(예, 라면스프 등), 식품첨가제 등이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 상기 식품, 음료 또는 식품첨가제는 통상의 제조방법으로 제조될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 조성물을 건강기능식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 건강기능식품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조 시에 본 발명의 조성물은 원료에 대하여 바람직하게는 50 중량부 이하, 보다 바람직하게는 25 중량부 이하의 양으로 첨가할 수 있다. 그러나, 건강 조절 및 위생을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안정성 면에서 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용할 수 있다.
- [0051] 본 발명의 식품 또는 건강기능식품 조성물은 유효성분인 프로토카테chu산을 함유하는 것 외에 통상의 식품 조성물과 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 텍스트린, 시클로텍스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당 알코올이다. 상술한 향미제는 천연 향미제(타우마틴), 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시리히진 등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다.
- [0052] 또한, 상기 식품 조성물은 프로토카테chu산 외에 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 식품 조성물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다.
- [0053] 본 발명의 실시예에서, 상기 조성물은 프로토카테chu산을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 사료 조성물일 수 있다.
- [0054] 본 발명의 사료 조성물은 사료첨가제 또는 배합사료일 수 있다.
- [0055] 본 발명에 있어서, 사료첨가제는 영양적 또는 특정 목적을 위하여 사료에 미량으로 첨가되는 물질을 의미하는 것으로서, 본 발명의 사료첨가제는 프로토카테chu산 그 자체이거나 공지의 사료 첨가물들과 일정 비율로 배합될 수 있다. 배합되는 경우 프로토카테chu산은 사료첨가제 전체 중량에서 0.01 내지 99 중량%가 적용될 수 있다.
- [0056] 본 발명의 사료 조성물은 배합사료 100중량부에 대하여 프로토카테chu산을 유효성분으로 함유하는 사료첨가제 0.1 내지 5중량부를 포함한다. 배합사료의 일 예로 옥수수 53.71중량%, 대두박 23.2중량%, 채종박 1.0중량%, 옥배아박 2.0중량%, 주정박 3.0중량%, 소맥피 2.7중량%, 감자전분 0.3중량%, 유지 2.8중량%, 탄산칼슘 9.9중량%, 제2인산칼슘 0.68중량%, 염화나트륨 0.23중량%, 인 분해효소제 0.03중량%, 염화콜린 0.05중량%, 메치오닌 0.2중량%, 미네랄 믹스 0.1중량%, 비타민 믹스 0.1중량%로 조성된다. 이외에도 통상적인 양계용 배합사료가 이용될

수 있음은 물론이다. 또한, 배합사료는 사육대상인 가축의 종류에 따라 소, 돼지, 오리 등의 배합사료가 이용될 수 있음은 물론이다.

[0057] 상기 사료 조성물을 급이하여 가축을 사육할 수 있으며, 가축의 사육 시 프로토키테추산을 물에 희석하여 식수로 제공될 수 있다. 이때 물 100ℓ에 희석된 프로토키테추산 100 내지 500㎖가 적용될 수 있다.

[0058] 본 발명의 사료 조성물은 당업자가 예상할 수 있는 범위 내의 다른 기타 영양성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0059] 본 발명의 프로토키테추산은 상업적으로 통상적인 동물 사료 조성물 내로 혼입될 수 있고, 예를 들어, 소, 돼지, 양, 가금류 등에 공급될 수 있다. 이를 위해 본 발명의 프로토키테추산은 통상적인 동물 사료 구성 성분들과 혼합될 수 있고, 필요하다면 정제된 형태로 가공될 수 있다. 통상적인 동물 사료 구성성분은 예를 들어, 옥수수, 보리, 귀리, 대두, 어분, 겨, 대두유, 무기물, 미량 원소, 아미노산 및 비타민이다.

[0061] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 프로토키테추산 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 외상 후 스트레스 장애가 발병되거나 또는 발병될 가능성이 있는, 인간을 제외한 개체에 투여하는 단계;를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0062] 본 발명에 있어서, 투여는 적절한 방법으로 개체에게 프로토키테추산을 도입하는 것을 의미한다.

[0063] 본 발명에 있어서, 개체는 외상 후 스트레스 장애가 발병하였거나 발병할 수 있는 쥐, 생쥐, 가축 등의 모든 동물을 의미하고, 구체적인 예로, 인간을 제외한 포유동물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0064] 본 발명의 구체예에서, 상기 투여는 프로토키테추산은 1 내지 500 mg/kg로 개체에 투여하는 것이 바람직하고, 더 바람직하게는 10 내지 300 mg/kg, 더욱 바람직하게는 100 내지 200 mg/kg, 가장 바람직하게는 200 mg/kg 투여하는 것일 수 있다.

[0066] 중복되는 내용은 본 명세서의 복잡성을 고려하여 생략하며, 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.

[0068] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0070] [실험예]

[0071] 실험예 1. 실험 동물 및 프로토키테추산(Protocatechuic acid, PCA) 투여

[0072] 체중이 약 195~215g인 7주령 수컷 Sprague-Dawley 마우스(Samtaco Animal Co., Seoul, Korea)를 구입하여 실험에 사용하였다. 모든 실험 방법 및 절차는 경희대학교 동물 관리 및 사용 위원회[KHUASP(SE)-21-045]의 승인을 받았다. 모든 실험실 절차 및 동물실 조건은 실험실 동물의 관리 및 사용에 대한 지침을 준수했다.

[0073] 실험에서, PCA(Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 및 양성 대조군(Sigma-Aldrich)으로서의 플루옥세틴(fluoxetine, FLX)의 표준 용량은 이전 연구에서 사용된 농도를 기준으로 투여하였다. PCA(100 및 200 mg/kg) 및 FLX(10 mg/kg)를 사용 전에 0.9% 식염수(saline, SAL)에 용해시키고 14일 동안 매일 1회 복강 내(intraperitoneally, i.p.) 주사하였다. 전체적인 실험 일정은 도 1과 같다.

[0075] 실험예 2. 단일 지속성 스트레스(Single prolonged stress)

[0076] 외상 후 스트레스 장애(Post-traumatic stress disorder, PTSD) 동물 모델은 마우스를 2시간 동안 고정하고 20분 동안 강제로 수영하게 했다. 그 후 마우스를 15분 동안 휴식을 취하게 한 후, 의식을 잃을 때까지 이소플루란(isoflurane)(약 2~3%)에 노출시켰다. 감각(sensitization)을 위하여, 마우스를 7일 동안 우리에 혼자 두었다.

[0077] 자당 선회도 검사에서는 물 및 자당 용액(1%)의 섭취량을 3시간 동안 측정하였다.

[0079] 실험예 3. 행동시험(behavioral test)

[0080] 공포 반응을 평가하기 위해 FCT(Fear Conditioning Test)를 사용했다. 쥐를 컨디셔닝 챔버에 적응시켰다. 적응된 마우스에 조건 자극(conditioned stimulus, CS)은 85dB 가청 경보(5분 지속 시간) 30초에 이어, 무조건 자극(unconditioned stimulus; US, 0.5mA, 2초 지속 시간)으로 single electric foot shock을 가했다. 24시간 후 마우스를 조건 자극에 잠시 재노출시켰을 때, 동결 반응을 5분 동안 측정하였다.

[0082] 우울증 유사 행동(depression-like behavior) 평가는 강제 수영 테스트(forced swimming test, FST)를 사용하였다. 마우스를 수조(직경 20cm×높이 50cm)에서 5분 동안 강제로 수영하게 하였다. 마우스가 수영을 멈추고 수동적으로 떠 있는 자세를 취했을 때, 그들은 우울한 상태에 있는 것으로 간주하였다.

[0084] 불안과 유사한 행동(anxiety-like behavior) 평가는 EPM(Elevated Plus Maze) 테스트를 사용하였다. 구체적으로, 마우스를 미로 중앙에 놓고 5분 동안 2개의 오픈암 및 2개의 클로즈드암에 머무는 시간과 방문 횟수를 측정했다. 미로에서의 행동은 S-MART 프로그램(PanLab, Barcelona, Spain)을 사용하여 측정하였다.

[0086] 실험예 4. 신경전달물질 수준의 ELISA(Enzyme-linked immunosorbent assay)

[0087] 내측 전두엽(medial prefrontal cortex, mPFC), 해마(hippocampus, Hipp) 및 편도체(amygdala, Amg)에서 혈장 내 코르티코스테론(corticosterone, CORT)(Novus Biologicals, LLC., Littleton, CO, USA)과, 5-HT(serotonin)(Abcam, Cambridge, United Kingdom), NE(norepinephrine)(Novus Biologicals), DA(dopamine)(Abcam) 및 5-HIAA(5-hydroxyindoleacetic acid)(Abcam)의 농도는 경쟁적 ELISA(competitive ELISA)를 사용하여 측정하였다.

[0089] 실험예 5. 총 RNA 준비 및 RT-PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction)

[0090] 뇌에서 분리한 내측 전두엽(medial prefrontal cortex, mPFC)를 TRIzol 시약(Sigma-Aldrich)에 첨가하여 총 RNA(total RNA)를 회수하였다. 역전사 반응을 통해 RNA를 주형으로 한 cDNA를 합성하였고, 합성된 cDNA를 주형으로 하는 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 수행하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동했다.

[0092] 실험예 6. 통계학적 분석

[0093] 데이터는 평균 ± 표준 오차로 표시하였다. 그룹 간의 통계적 차이를 분석하기 위하여, SPSS 소프트웨어(version 23.0; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 일원 분산 분석(one-way analysis of variance)을 수행했으며, Tukey's post hoc test를 적용했다. $P < 0.05$ 는 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

[0095] [실시에]

[0096] 실시예 1. 단일 지속성 스트레스가 체중 및 자당(sucrose) 섭취량에 미치는 영향 분석

[0097] 상기 실험예 2에서 외상 후 스트레스 장애 동물 모델 제조 시 마우스에 단일 지속성 스트레스(single prolonged stress, SPS)를 가했다. 위와 같이 제조된 외상 후 스트레스 장애 동물 모델에 물 및 자당 용액(1%)을 제공하였고, 3시간 동안의 섭취량 및 체중을 측정하였다. 본 실험의 대조군은 식염수(SAL)를 처리한 마우스이다. 단일 지속성 스트레스에 따른 동물 모델의 체중 및 자당 섭취량을 측정된 결과는 각각 도 2A 및 B에 나타내었다.

[0098] 도 2A에 나타낸 바와 같이, SPS 처리군 및 SAL 처리군은 시간이 경과함에 따라 유의한 체중 변화가 있었다. 특히, SPS 처리군은 체중이 대조군보다 감소된바, 외상성 스트레스가 효과적으로 유도되었음을 알 수 있다.

- [0099] 도 2B에 나타낸 바와 같이, SPS 처리군 및 SAL 처리군은 7일 및 14일에 자당 섭취량에 유의한 차이가 있었다.
- [0100] 자당 선호도 검사에서 SPS 처리군 및 SAL 처리군은 7일과 14일에 자당 섭취량에서 유의한 차이를 보였다($t = 3.928$, $P < 0.01$). 이는 SPS가 쾌락 불감증(anhedonia) 및 우울증 관련 행동을 유도한다는 것을 의미한다.
- [0102] **실시예 2. 단일 지속성 스트레스에 의해 유발된 행동 변화에 프로토카테츄산이 미치는 영향 분석**
- [0103] 상기 실험예 2에서 외상 후 스트레스 장애 동물 모델에서 프로토카테츄산이 미치는 영향을 평가하였다. 구체적으로, 상기 동물 모델에서 공포 반응은 FCT(fear conditioning test)로 평가하였으며, 그 결과는 도 3A 및 B에 나타내었다.
- [0104] 도 3A 및 B에 나타낸 바와 같이, SPS 처리군 및 SAL 처리군은 조건 자극(CS) 및 무조건 자극(US)을 제시 기간(C1-C3)동안 동결 시간은 유의한 차이가 없었다(도 3A). 그러나 SPS 처리군은 소거 훈련(E1-E6) 및 소거 회상(R1) 기간 동안 동결 반응이 대조군(SAL 처리군)에 비해 유의하게 증가했다(도 3A). 또한 프로토카테츄산 처리군(100 또는 200 mg/kg)은 동결 시간이 SPS 처리군에 비해 유의하게 감소된 것을 확인하였다(도 3B).
- [0106] 외상 후 스트레스 장애 동물 모델에서 우울증 유사 행동은 강제 수영 테스트(forced swimming test, FST)로 평가하였으며, 그 결과는 도 3C 내지 E에 나타내었다.
- [0107] 도 3C 내지 E에 나타낸 바와 같이, SPS 처리군의 부동 시간은 SAL 처리군보다 유의하게 증가된 것을 확인하였다. 그러나 프로토카테츄산 처리군(100 또는 200 mg/kg)은 부동시간이 SPS 처리군보다 감소된 것을 확인하였다(도 3C). 또한 프로토카테츄산 처리군은 SPS 처리군보다 등반시간이 증가된 것을 확인하였다(도 3D). 수영시간은 실험군 및 대조군에서 유의한 차이가 없었다(도 3E).
- [0109] 외상 후 스트레스 장애 동물 모델에서 불안 유사 행동은 EPM(Elevated Plus Maze) 테스트로 평가하였으며, 그 결과는 도 3F 내지 J에 나타내었다.
- [0110] 도 3F 내지 J에 나타낸 바와 같이, SPS 처리군은 오픈 암에서 소요한 시간 및 진입 횟수가 대조군인 SAL 처리군보다 유의하게 감소했다(도 3F 내지 I). 그러나 프로토카테츄산 처리군(100 또는 200 mg/kg)은 오픈 암에서 소요한 시간이 증가된 것을 확인하였다(도 3F). 특히, 프로토카테츄산 200 mg/kg 처리군은 오픈 암에 들어가는 횟수를 SPS 처리군보다 증가시켰다. 또한 SPS 처리군은 대조군인 SAL 처리군보다 불안지수가 증가되었으나, 프로토카테츄산 처리에 따라 불안지수가 감소된 것을 확인하였다(도 3J).
- [0112] **실시예 3. 단일 지속성 스트레스에 의해 유도된 신경전달물질 변화에 대한 프로토카테츄산의 영향 분석**
- [0113] 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 혈장 내 코르티코스테론(CORT)과, 내측 전두엽(mPFC), 해마(Hipp) 및 편도체(Amg)에서 세로토닌(serotonin, 5-HT) 및 5-하이드록시인돌초산(5-hydroxyindoleacetic acid, 5-HIAA)의 농도를 상기 실시예 4의 방법으로 측정하였다. 동물 모델의 혈장 내 CORT, 5-HT 및 5-HIAA의 농도를 측정한 결과는 도 4A 내지 F에 나타내었다. 또한 mPFC의 혈장 내 노르에피네프린(norepinephrine, NE) 및 도파민(dopamine, DA)의 농도를 측정한 결과는 각각 도 4G 및 H에 나타내었다.
- [0114] 도 4A에 나타낸 바와 같이, SPS 처리군은 혈장 내 CORT 수준이 대조군인 SAL 처리군보다 유의하게 증가되었으나, 프로토카테츄산 투여에 따라 감소된 것을 확인하였다. 특히, 프로토카테츄산 200 mg/kg 처리군은 혈장 내 CORT 수준이 유의하게 감소되었다.
- [0115] 도 4B 내지 D에 나타낸 바와 같이, SPS 처리군은 mPFC, Hipp 및 Amg의 혈장 내 5-HT 농도가 대조군인 SAL 처리군보다 유의하게 감소되었으나, 프로토카테츄산 투여에 따라 감소된 것을 확인하였다. 특히, mPFC 및 Hipp에서는 프로토카테츄산 200 mg/kg 처리군의 5-HT 농도가 현저히 증가된 것을 확인하였다.
- [0116] 도 4E 및 F에 나타낸 바와 같이, mPFC의 5-HIAA 농도는 그룹 간에 차이가 없었으나, 5-HIAA/5-HT 비율은 SPS 처리군이 대조군인 SAL 처리군보다 유의하게 증가되었으나, 프로토카테츄산 투여에 따라 유의하게 감소된 것을 확인하였다.

[0117] 도 4G에 나타난 바와 같이, SPS 처리군의 mPFC에서 NE 농도는 대조군인 SAL 처리군에 비해 유의하게 증가되었으나, 프로토카테츄산 투여에 따라 유의하게 감소된 것을 확인하였다.

[0118] 도 4H에 나타난 바와 같이, SPS 처리군의 mPFC에서 DA의 농도는 대조군인 SAL 처리군에 비해 유의하게 감소되었으나, 프로토카테츄산 투여에 따라 유의하게 증가된 것을 확인하였다.

[0120] **실시예 4. 프로토카테츄산이 단일 지속성 스트레스에 의해 유도된 뇌 유래 신경영양인자 및 cAMP 반응인자 결합 단백질의 mRNA 발현에 미치는 영향**

[0121] 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 뇌에서 분리한 내측 전두엽으로부터 총 RNA를 분리하였으며, RT-PCR을 통해 뇌 유래 신경영양인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 및 cAMP 반응인자 결합 단백질(cAMP response element-binding protein, CREB)의 발현을 분석하였다. 상기 총 RNA 분리 및 RT-PCR은 상기 실험에 5의 방법으로 수행하였다. RT-PCR 결과는 도 5A에 나타내었고, 이를 GAPDH mRNA 발현 수준으로 정규화한 결과는 도 5B에 나타내었다.

[0122] 도 5A 및 B에 나타난 바와 같이, SPS 처리군의 mPFC에서 BDNF의 mRNA 발현이 대조군인 SAL 처리군에 비해 유의하게 감소되었으나, 프로토카테츄산 투여(200 mg/kg)에 따라 유의하게 증가된 것을 확인하였다.

[0123] 한편, 모든 실험군 및 대조군에서 CREB mRNA 발현은 그룹 간 유의한 차이가 없었다.

[0125] 종합적으로 본 발명자들은 프로토카테츄산이 외상 후 스트레스 장애 동물 모델의 공포 반응, 불안 및 증가된 CORT 수준을 감소시키는 것을 실험적으로 확인하였다. 또한 프로토카테츄산이 우울증 및 불안 유사 증상의 발병에 중요한 역할을 하는 BDNF의 수치를 대조군 수준으로 역전시키는 것을 확인하였다. 이는 본 발명의 프로토카테츄산이 세로토닌 신경계 및 모노아민을 조절하여 동결 행동을 개선하고 항우울 및 항불안 효과를 발휘함으로써, 공포 반응을 주요 문제로 언급되는 외상 후 스트레스 장애를 개선할 수 있음을 의미한다. 따라서 본 발명의 프로토카테츄산은 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 분야에서 다양하게 활용될 수 있다.

[0127] 이하, 제제예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 제제예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 제제예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는다.

[0129] **제제예 1. 약학적 조성물의 제조**

[0130] **1-1. 산제의 제조**

[0131] 프로토카테츄산 20 mg

[0132] 유당 100 mg

[0133] 탈크 10 mg

[0134] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0136] **1-2. 정제의 제조**

[0137] 프로토카테츄산 10 mg

[0138] 옥수수전분 100 mg

[0139] 유당 100 mg

[0140] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0141] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0143] **1-3. 캡슐제의 제조**

[0144] 프로토키테추산 10 mg

[0145] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0146] 락토오스 14.8 mg

[0147] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0148] 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

[0150] **1-4. 주사제의 제조**

[0151] 프로토키테추산 10 mg

[0152] 만니톨 180 mg

[0153] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0154] 인산이나트륨 이수화물 26 mg

[0155] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당(2 ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0157] **1-5. 액제의 제조**

[0158] 프로토키테추산 20 mg

[0159] 이성화당 10 g

[0160] 만니톨 5 g

[0161] 정제수 적량

[0162] 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

[0164] **제제예 2 식품 제제의 제조**

[0165] **2-1. 건강식품의 제조**

[0166] 프로토키테추산 100 mg

[0167] 비타민 혼합물 적량

[0168] 비타민 A 아세테이트 70 g

[0169] 비타민 E 1.0 mg

[0170] 비타민 B1 0.13 mg

[0171] 비타민 B2 0.15 mg

[0172] 비타민 B6 0.5 mg

[0173] 비타민 B12 0.2 g

[0174] 비타민 C 10 mg

[0175] 비오틴 10 g

[0176] 니코틴산아미드 1.7 mg

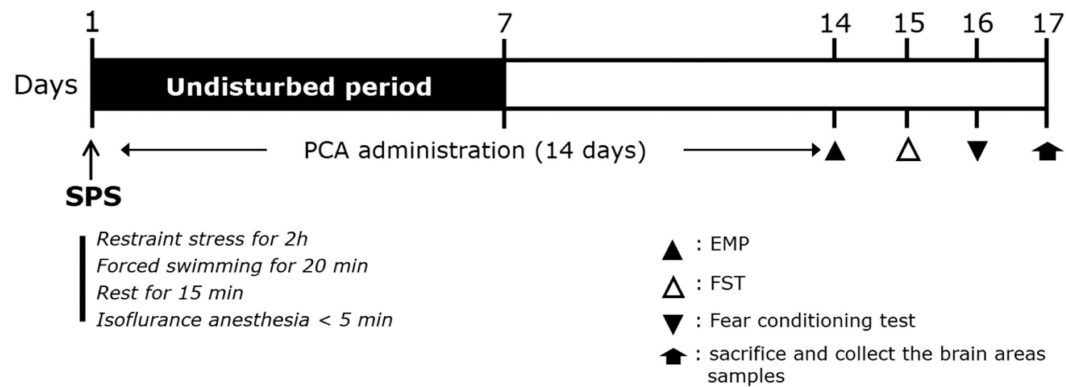
[0177]	엽산 50 g
[0178]	판토텐산 칼슘 0.5 mg
[0179]	무기질 혼합물 적량
[0180]	황산제1철 1.75 mg
[0181]	산화아연 0.82 mg
[0182]	탄산마그네슘 25.3 mg
[0183]	제1인산칼륨 15 mg
[0184]	제2인산칼슘 55 mg
[0185]	구연산칼륨 90 mg
[0186]	탄산칼슘 100 mg
[0187]	염화마그네슘 24.8 mg
[0188]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.
[0190]	2-2. 건강음료의 제조
[0191]	프로토크아테추산 100 mg
[0192]	비타민 C 15 g
[0193]	비타민 E(분말) 100 g
[0194]	젖산철 19.75 g
[0195]	산화아연 3.5 g
[0196]	니코틴산아미드 3.5 g
[0197]	비타민 A 0.2 g
[0198]	비타민 B1 0.25 g
[0199]	비타민 B2 0.3 g
[0200]	물 정량
[0201]	통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1 시간 동안 85 ℃ 에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 L 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.
[0202]	상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만 수요계층이나, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.
[0204]	제제예 3. 사료 첨가제의 제조
[0205]	프로토크아테추산 2.0%
[0206]	글루코스 2.0 %
[0207]	펩톤 1.0 %
[0208]	효모추출물 1.0 %

- [0209] 제이인산 0.2 %
- [0210] 황산마그네슘 0.05 %
- [0211] 시스테인 0.05 %
- [0212] 정제수 to 100 %
- [0213] 부형제 탈지강 적량

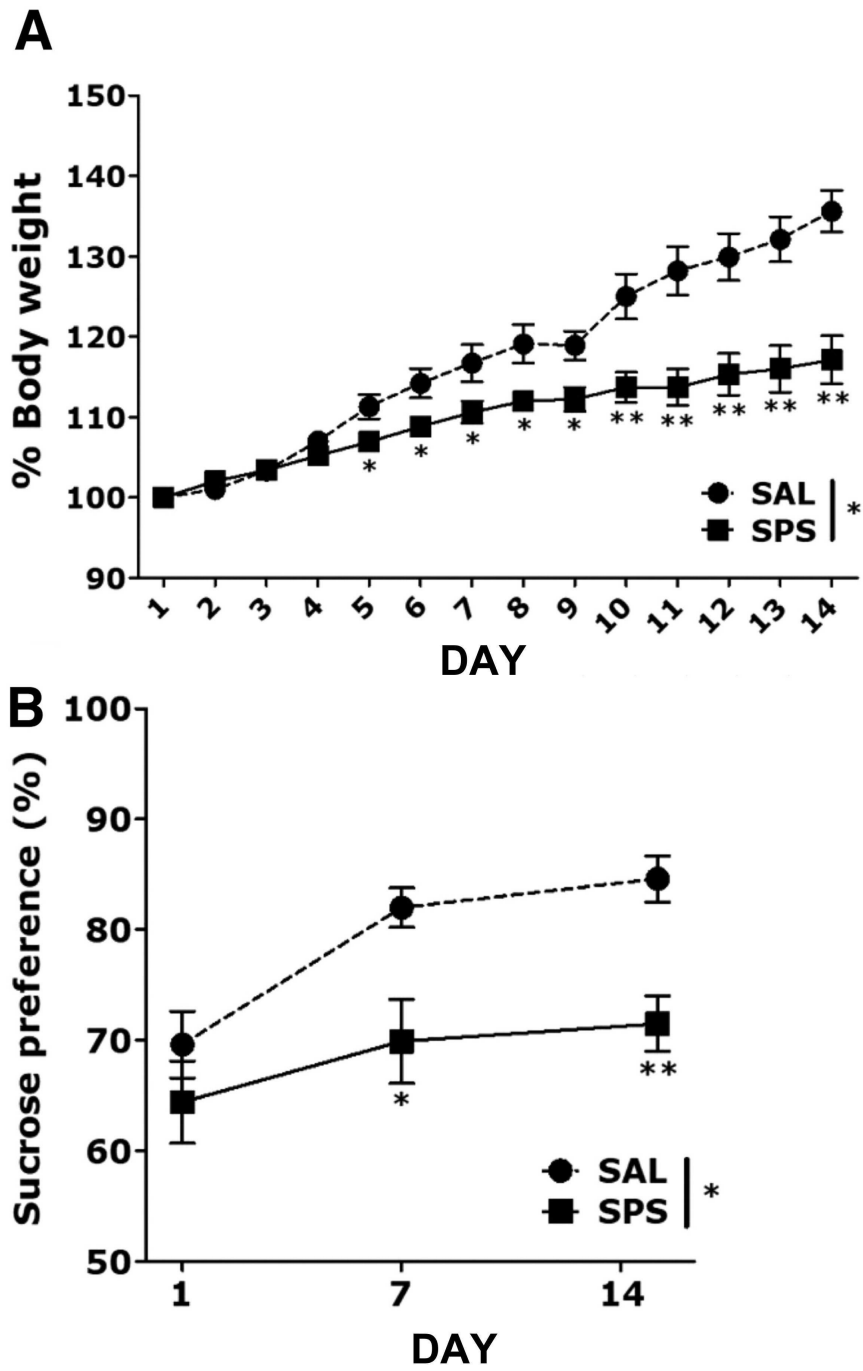
[0215] 이상, 본 발명내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1

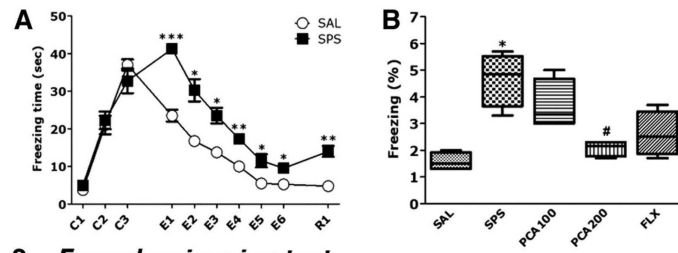


도면2

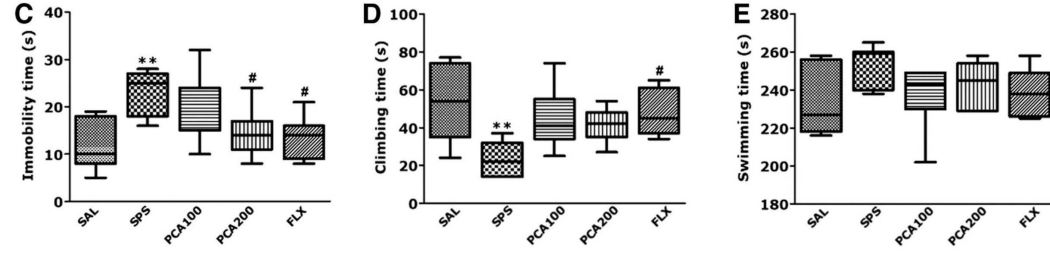


도면3

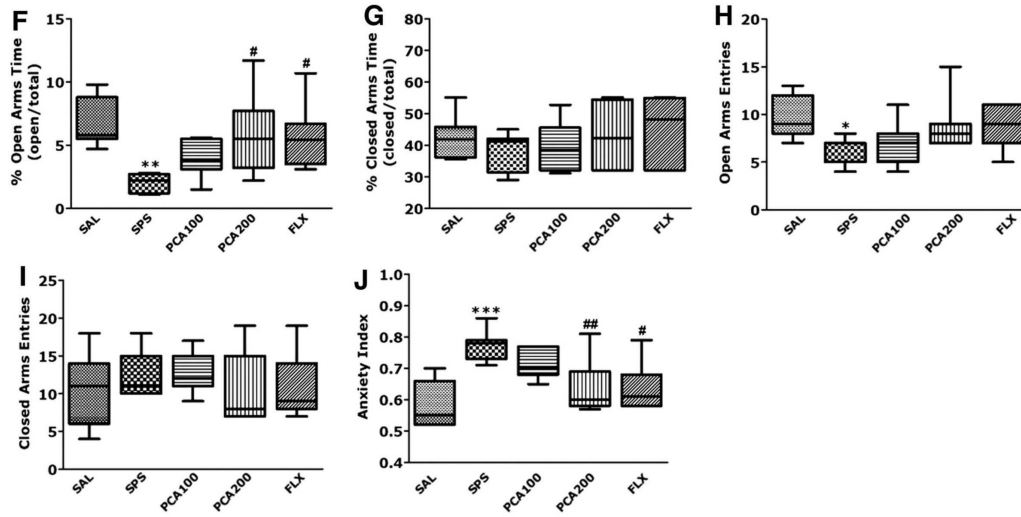
1 Fear conditioning test



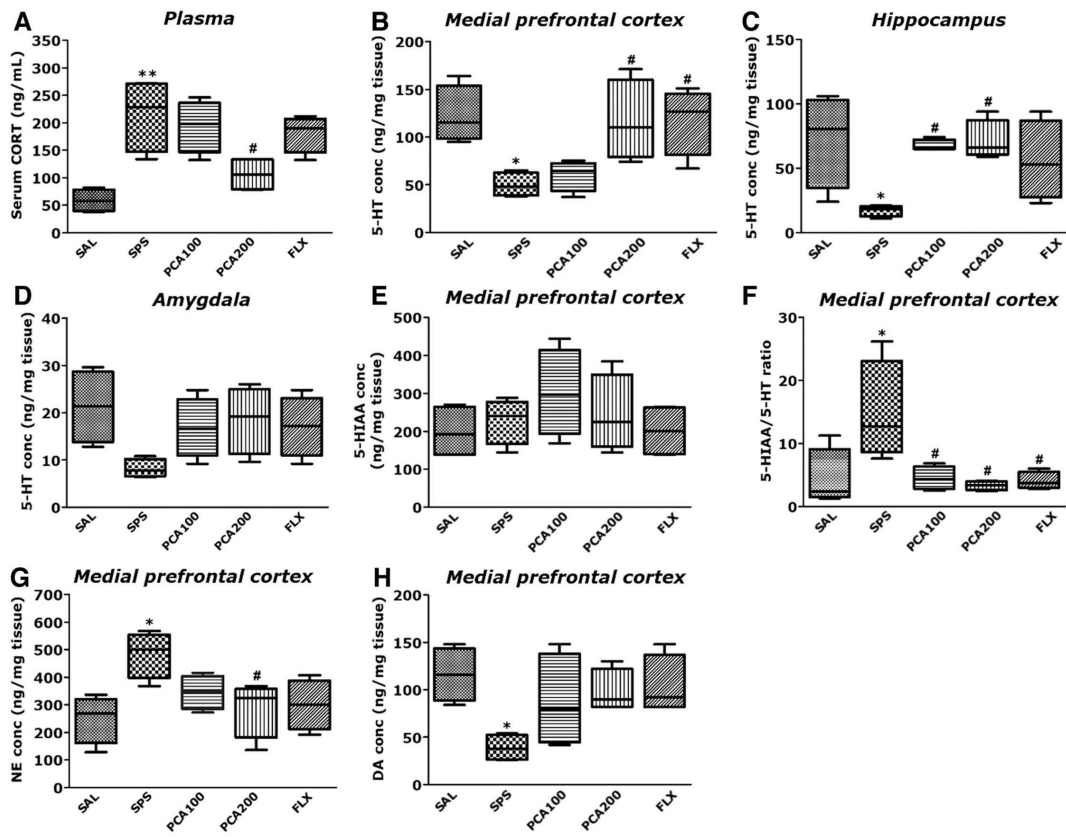
2 Forced swimming test



3 Elevated plus maze test



도면4



도면5

