(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0130344
(43) 공개일자 2019년11월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/4375 (2006.01) *A23K 20/121* (2016.01)
A23K 20/132 (2016.01) *A23L 33/10* (2016.01)
A61P 25/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/4375 (2013.01)
A23K 20/121 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2018-0054870
(22) 출원일자 2018년05월14일
심사청구일자 2018년05월14일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
이봄비
서울특별시 중랑구 상봉동 129-60 아안채 303호
함대현
서울특별시 강남구 역삼2동 754-1 역삼푸르지오아파트 110동 1003호
이혜정
서울특별시 용산구 이태원1동 청화아파트 4동 1001호
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 8 항

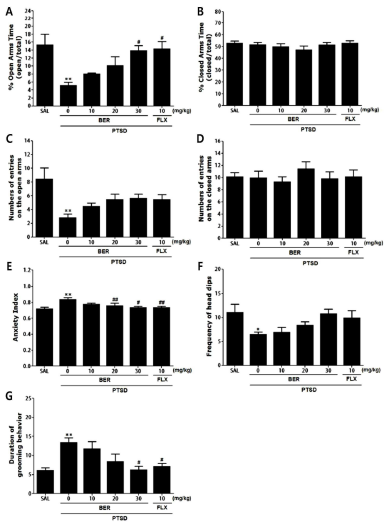
(54) 발명의 명칭 **베르베린을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 베르베린(berberine)을 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 베르베린 또는 그의 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 베르베린은 우수한 PTSD 치료 효과를 나타내므로, 약학적 조성물 또는 식품에 유효성분으로 포함되어 PTSD의 치료제 또는 개선제 등의 개발에 이용될 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A23K 20/132 (2016.05)
A23L 33/10 (2016.08)
A61P 25/00 (2018.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/322 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345239758
부처명 교육부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 기본연구지원사업(후속연구지원)
연구과제명 뇌신경세포신생과 신경연접가소성형성을 이중 표적하는 한방약침자극에 의한 손상된 기억 기능 회복 기전 연구
기 여 율 1/1
주관기관 경희대학교 산학협력단
연구기간 2017.11.01 ~ 2018.08.31

명 세 서

청구범위

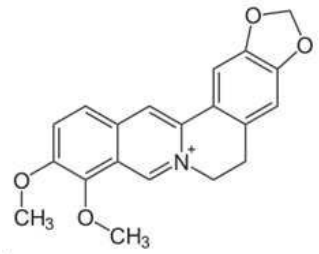
청구항 1

베르베린(berberine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 베르베린은 하기 화학식 Ⅰ로 표시되는 것인, 약학적 조성물

[화학식 Ⅰ]



청구항 3

제1항에 있어서, 상기 베르베린은 0.01 내지 80 중량%로 포함되는 것인, 약학적 조성물.

청구항 4

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

청구항 5

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

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 투여는 베르베린을 25 내지 35㎎/㎏으로 투여하는 것인, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법.

청구항 7

베르베린(berberine) 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

청구항 8

베르베린(berberine) 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 베르베린(berberine)을 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 베르베린 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.

배 경 기 술

[0003] 외상 후 스트레스 장애(Post-traumatic stress disorder; PTSD)는 외상 및 스트레스 관련 장애로 재분류된 불안 장애로서, 생명을 위협하는 상황에 반응하여 야기될 수 있다. 주로 일상 생활에서 경험할 수 있는 사건에서 벗어난 사건들, 예로 천재지변, 화재, 전쟁, 신체적 폭행, 고문, 성폭행, 인질사건, 학대, 그 밖의 대형사고 등을 겪은 뒤에 발생한다. 증상이 나타나는 시기는 개인에 따라 다른데, 충격 후 즉시 시작될 수도 있고 수일, 수주, 수개월 또는 수년이 지나고 나서도 나타날 수 있다.

[0004] PTSD의 증상은 과민반응(hyperalertness, hyperarousal)과 충격의 재경험(re-experience or intrusion), 감정회피(avoidance) 또는 마비(emotional numbness) 등으로 나타난다. 또한, 두통이나 소화불량, 구토, 위통, 수전증, 호르몬의 변화로 인하여 알레르기와 같은 현상이 발생할 수 있고, 인지 능력 감퇴, 기억력 감퇴, 이별 불안, 학교 공포, 외부인 공포 등 다양하게 나타날 수 있다. 비현실적인 감정 때문에 알코올과 약물에 의존하여 남용 및 중독으로 이어지는 경우가 있고, 자율신경계 장애가 나타나며, 때로는 환각이 보이고, 해리성 장애나 공황 발작이 같이 나타날 수 있다.

[0005] PTSD의 치료에는 인지치료, 행동치료, 최면치료, 집단치료, 약물치료, 신경차단 치료요법 등의 방법이 사용되며, 약물치료에는 삼환계 항우울제(tricyclic antidepressant), 단가아민 산화효소억제제(MAO inhibitor) 또는 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(Selective Serotonin Reuptake Inhibitors; SSRIs) 등의 항우울제가 주로 사용된다.

[0006] 상술한 SSRIs의 대표적인 예로, 프로작(Prozac)이란 상품명을 갖는 플루옥세틴(Fluoxetine)을 들 수 있다. 플루옥세틴이 PTSD의 치료에 사용될 수 있음은 여러 문헌을 통해 공지된 바 있으며(Journal of Traumatic Stress, 1991 Jul, 4(3):419-423.; Neurosciences (Riyadh). 2011 Jul, 16(3):257-62.), 새로운 품목의 다양한 PTSD 치료약이 존재하지만, 그 중에서도 플루옥세틴은 수많은 국가에서 가장 널리 처방해 주는 약제로 알려져 있다. 다만, SSRIs는 인지 장애, 체중 증가, 성기능 장애, 진정, 의존증 및 금단 증상을 포함하여 그 효능을 제한하는 부작용을 나타냄에 따라, 장기간의 치료 시 보다 안전한 약물을 사용하고자 하는 노력이 이루어지고 있다.

[0007] 최근에는 PTSD, 우울증, 불안장애 등의 치료를 위한 천연 제품이나 약용 식물의 개발에 관심이 쏠리고 있으며, 이에 따라 미강 추출물을 유효성분으로 포함하는 우울증 또는 인지장애의 예방 또는 치료용 조성물(한국 등록특허공보 제10-1620163호), 비타민나무 추출물을 유효성분으로 함유하는 정신적 스트레스, 우울증 또는 치매 치료 및 예방을 위한 조성물(한국 등록특허공보 제10-1676828호), 복합 생약 추출물을 유효성분으로 함유하는 우울증의 예방 또는 치료용 약학조성물(한국 등록특허공보 제10-1470241호) 등이 개발된 바 있다. 그러나, 그 효과에 대해서는 여전히 의문이 제기되고 있다.

[0008] 한편, 베르베린(berberine; BER)은 황련(Rhizoma coptidis), 황백(Cortex phellodendri)을 포함한 몇몇 약초로부터 추출되는 이소퀴놀린 알칼로이드이다. 베르베린은 여러 생리 작용을 향상시키고 중추신경계(CNS)에서 다양한 생물학적 효과를 제공한다고 널리 알려져 있다. 베르베린은 알츠하이머 병(Zhu F. et al., BMC Neurosci.2006;78-87), 파킨슨 병(Kwon IH. Et al., Neurosci Lett.2010;486:29-33), 전뇌 허혈(Qin-Wei Z. et al., Exp Ther Med.2016;11:978-984)과 같은 중추신경계 관련 장애의 다양한 동물 모델에서 신경보호, 항산

화, 항세포사멸, 항암, 항바이러스 및 항염증성 특성을 발휘한다. 그러나, 베르베린의 PTSD 등의 정신병적인 증상의 치료 또는 개선제로서의 연구는 미미한 실정이었다.

[0009] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 외상 후 스트레스 장애를 치료하기 위한 약물을 개발하고자 예의 노력연구한 결과, 베르베린은 외상 후 스트레스 장애를 갖는 랫트 모델의 불안/우울 행동 증상을 경감시키고, 도파민 수준을 증가시킴으로써 상기 증상을 완화시킴을 확인하여, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 하나의 목적은 베르베린(berberine) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 하나의 목적은 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법을 제공하는 것이다.

[0013] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 베르베린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공하는 것이다.

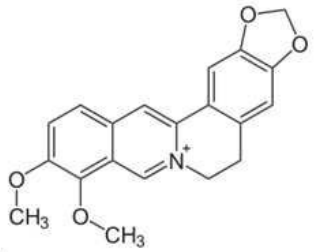
[0014] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 베르베린 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0016] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 하나의 양태는 베르베린(berberine) 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0018] 본 발명의 용어, "베르베린(berberine)"은 하기 화학식 Ⅰ의 구조를 갖는 화합물을 의미한다. 베르베린은 신경보호, 항산화, 항세포사멸, 항암, 항바이러스 및 항염증성 특성을 가지고 있다고 알려져 있으나, 이의 외상 후 스트레스 장애의 예방, 치료 또는 개선 효과는 알려진 바 없었으며, 본 발명자에 의하여 최초로 규명되었다.

[0019] [화학식 Ⅰ]

[0020] 

[0021] 베르베린을 포함하는 조성물은 베르베린에서 일부 당업자가 예상 가능한 범위의 유도체가 포함될 수 있으며, 본 발명에서의 동일한 효과가 있는 한 제한 없이 포함된다. 베르베린은 이를 포함하는 추출물에서 수득될 수 있다. 또한, 공지의 방법으로 합성해서 사용 가능하다.

[0023] 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. 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.

[0025] 본 발명에서, 베르베린은 도파민 수준을 증가시키는 것을 특징으로 한다. 도파민과 관련된 TH(tyrosine hydrozylase), DAT(dopamine transporter) 및 VMAT-2(vesicular monoamine transporter-2)의 mRNA 발현을 효과적으로 증가시킴으로써 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명의 용어, "도파민(dopamine; DA)"은 카테콜아민계 신경전달물질로서 운동기능, 인지, 감정, 기분, 보상, 중독, 동기부여 등 다양한 신경기능의 조절에 관여하며, 특히 도파민 시스템의 이상은 다양한 정신 장애 또는 신경 질환의 주요 원인이 된다.

[0028] 본 발명의 용어, "TH(tyrosine hydrozylase)"는 도파민의 합성에 관여하는 효소, "DAT(dopamine transporter)"는 도파민의 수송체, "VMAT-2(vesicular monoamine transporter-2)"는 도파민 방출에 관여하는 수송체로서, 모두 도파민 시스템을 조절하는 인자이다.

[0030] 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, PTSD가 유발된 랫트에 베르베린을 투여한 결과, 상기 랫트의 해마, 선조체, 전두엽 피질 및 편도체에서 도파민 수준이 증가하고(도 4), 도파민 시스템을 조절하는 인자인 TH(tyrosine hydrozylase), DAT(dopamine transporter) 및 VMAT-2(vesicular monoamine transporter-2)의 mRNA 발현 수준이 증가한다(도 5).

[0031] 또 다른 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는, PTSD가 유발된 랫트에 베르베린을 투여한 결과, 고가식 십자 미로 테스트 시 개방 구역에 머무는 시간 및 개방 구역 진입 횟수가 증가하고(도 2), 열린 공간 테스트 시 중앙부를 가로지르는 횟수, 중앙부에 머무는 시간 및 이동 거리가 증가한다(도 3).

[0032] 이는, 베르베린이 PTSD 랫트 모델의 불안/우울 행동 증상을 경감시키고 도파민 수준을 증가시킴으로써 상기 증상을 완화시키는 효과를 나타내므로, PTSD의 예방, 치료 및 개선에 유용하게 사용될 수 있음을 시사하는 것이다.

[0034] 본 발명의 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 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.

[0036] 본 발명의 용어, "예방"은 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여에 의해 PTSD의 발병을 억제시키거나 또는 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0037] 본 발명의 용어, "치료"는 상기 약학적 조성물의 투여에 의해 PTSD의 의심 및 발병 개체의 증상이 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0039] 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.

[0040] 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.

[0041] 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.

[0042] 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제될 수 있다.

[0043] 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.

[0044] 경구투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당 되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다.

[0045] 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.

[0047] 본 발명의 약학적 조성물에 포함된 베르베린의 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.

[0049] 본 발명의 다른 하나의 양태는 상기 약학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[0050] 이때, 상기 "외상 후 스트레스 장애", "예방" 및 "치료"에 대한 설명은 전술한 바와 같다.

[0052] 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.

[0054] 본 발명의 용어, "투여"는 적절한 방법으로 개체에게 상기 조성물을 도입하는 것을 의미한다.

[0055] 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.

[0057] 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.

[0058] 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.

[0059] 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 1 ㎎/㎏ 내지 200 ㎎/㎏, 구체적으로 1 ㎎/㎏ 내지 100 ㎎/㎏, 더욱 구체적으로 20 내지 40 ㎎/㎏로 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.

[0060] 또한, 상기 약학적 조성물의 투여량은 베르베린이 25 내지 35 ㎎/㎏, 더욱 구체적으로 30 ㎎/㎏로 투여되게 조절할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0062] 본 발명의 다른 또 하나의 양태는 베르베린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

[0063] 이때, 상기 용어 "베르베린", "외상 후 스트레스 장애", "예방" 및 "약학적으로 허용 가능한 염"의 정의는 전술한 바와 같다.

[0065] 본 발명의 용어, "개선"은 베르베린을 포함하는 조성물의 투여로 치료되는 상태와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미한다.

[0067] 본 발명에 따른 베르베린은 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.

[0069] 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 베르베린을 포함할 수 있는 한, 이에 제한되지 않는다.

[0070] 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.

[0072] 본 발명의 베르베린은 그대로 첨가되거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.

[0073] 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 적절한 양으로 사용될 수 있다.

[0074] 또한, 상기 식품의 제형은 식품으로 인정되는 제형이면 제한 없이 제조될 수 있다. 본 발명의 식품 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.

[0076] 본 발명의 다른 또 하나의 양태는 베르베린 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 개선용 사료 조성물을 제공한다.

[0077] 이때, 상기 용어 "베르베린", "외상 후 스트레스 장애", "예방", "개선" 및 "약학적으로 허용 가능한 염"의 정의는 전술한 바와 같다.

[0079] 본 발명에 따른 베르베린은 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.

[0081] 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.

[0082] 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, 박 류 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

[0084] 본 발명의 베르베린은 우수한 PTSD 치료 효과를 나타내므로, 약학적 조성물, 식품 조성물 또는 사료 조성물에 유효성분으로 포함되어 PTSD의 치료제 또는 개선제 등의 개발에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0086] 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. 이때, IMO는 고정(immobilization), FS는 수영(forced swim), Rest는 휴식, Ether는 에테르 증기의 노출을 의미한다.

도 2는 PTSD가 유도된 랫트에서, 불안-유사 증상에 대한 베르베린의 영향을 보여주는 그래프이다. A는 개방 구역에 머무는 시간의 비율%(개방/총), B는 비개방 구역에 머무는 시간의 비율%(비개방/총), C는 개방 구역 진입 횟수, D는 비개방 구역 진입 횟수, E는 불안 지수, F는 머리 박는(head dips) 빈도, 및 G는 그루밍 행동 기간에 관한 것이다. SAL은 식염수를 처리한 정상대조군, PTSD는 SPS에 노출된 음성대조군, PTSD+BER10은 SPS에 노출된 후 베르베린 10 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER20은 SPS에 노출된 후 베르베린 20 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER30은 SPS에 노출된 후 베르베린 30 mg/kg를 처리한 실험군, 및 PTSD+FLX는 SPS에 노출된 후 플루옥세틴 10 mg/kg를 처리한 양성대조군을 의미한다. 이때, *p<0.05. **p<0.01은 SAL과 비교 시, $^{\#}$p<0.05, $^{\#\#}$p<0.01은 PTSD와 비교 시의 통계적 유의성을 나타낸다.

도 3은 PTSD가 유도된 랫트에서, 운동 활동 및 탐색 활동에 대한 베르베린의 영향을 보여주는 그래프이다. A는 중앙부를 가로지르는 횟수, B는 중앙부에 머무는 시간, C는 이동 거리(cm), 및 D는 뒷다리로 서는 행동의 빈도(rearing frequency)에 관한 것이다. SAL은 식염수를 처리한 정상대조군, PTSD는 SPS에 노출된 음성대조군, PTSD+BER10은 SPS에 노출된 후 베르베린 10 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER20은 SPS에 노출된 후 베르베린 20 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER30은 SPS에 노출된 후 베르베린 30 mg/kg를 처리한 실험군, 및 PTSD+FLX은 SPS에 노출된 후 플루옥세틴 10 mg/kg를 처리한 양성대조군을 의미한다. 이때, *p<0.05, **p<0.01은 SAL과 비교

시, $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$은 PTSD와 비교 시의 통계적 유의성을 나타낸다.

도 4는 PTSD가 유도된 랫트에서, 도파민 농도에 대한 베르베린의 영향을 보여주는 그래프이다. A는 해마, B는 선조체, C는 전두엽 피질, 및 D는 편도체에서의 도파민 농도(ng/g tissue)에 관한 것이다. SAL은 식염수를 처리한 정상대조군, PTSD는 SPS에 노출된 음성대조군, PTSD+BER10은 SPS에 노출된 후 베르베린 10 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER20은 SPS에 노출된 후 베르베린 20 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER30은 SPS에 노출된 후 베르베린 30 mg/kg를 처리한 실험군, 및 PTSD+FLX은 SPS에 노출된 후 플루옥세틴 10 mg/kg를 처리한 양성대조군을 의미한다. 이때, *p<0.05, **p<0.01은 SAL과 비교 시, $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$은 PTSD와 비교 시의 통계적 유의성을 나타낸다.

도 5는 PTSD가 유도된 랫트에서, mRNA 발현 수준에 대한 베르베린의 영향을 보여주는 그래프이다. A는 TH(tyrosine hydrozylase), B는 DAT(dopamine transporter), 및 C는 VMAT-2(vesicular monoamine transporter-2)에 관한 것이다. SAL은 식염수를 처리한 정상대조군, PTSD는 SPS에 노출된 음성대조군, PTSD+BER10은 SPS에 노출된 후 베르베린 10 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER20은 SPS에 노출된 후 베르베린 20 mg/kg를 처리한 실험군, PTSD+BER30은 SPS에 노출된 후 베르베린 30 mg/kg를 처리한 실험군, 및 PTSD+FLX은 SPS에 노출된 후 플루옥세틴 10 mg/kg를 처리한 양성대조군을 의미한다. 이때, *p<0.05, **p<0.01은 SAL과 비교 시, $^{\#}p<0.05$, $^{\#\#}p<0.01$은 PTSD와 비교 시의 통계적 유의성을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0087] 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.

[0089] **실험예 1. 실험동물의 사용 및 베르베린의 투여 방법**

[0090] 동물 실험에는 210-240g의 수컷 SD(Sprague-Dawley) 랫트(6주령, Samtako Animal Co., Seoul, Korea)를 이용하였다. 랫트는 12시간 빛/어둠 주기(8:00 a.m. 불이 켜지고, 8:00 p.m. 불이 꺼짐)하에 23±5℃의 조절된 온도 및 50±10%의 상대습도 하에 수용하였다. 상기 모든 랫트는 도착 후 7일 동안 이러한 조건에 적응하게 하였다. 상기 모든 방법 및 절차는 경희대학교 동물관리위원회의 승인을 받았으며[KHUASP(SE)-15-115], 모든 절차는 실험 동물의 관리를 위한 가이드라인에 따라 수행하였다.

[0091] 베르베린(10, 20, 및 30 mg/kg, 체중; Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 및 양성 대조군 그룹을 위한 양성 약물 플루옥세틴(10 mg/kg, fluoxetine hydrochloride; Sigma)을 단일의 지속적 스트레스(Single prolonged stress; SPS)에 노출 후 복강 내(intraperitoneally; i.p.)로 주입하였다. 그룹 당 6 또는 7마리의 랫트를 사용한다. 베르베린 및 플루옥세틴은 사용 전에 0.9% 생리 식염수에 용해하였으며, 모든 약물 투여 및 행동 검사의 전체 실험 스케쥴은 도 1에 나타내었다.

[0093] **실험예 2. 단일의 지속적 스트레스(Single prolonged stress)**

[0094] 랫트를 Patki's group에 의해 공지된 방법(Patki G. et al., Physiol Behav. 2014;130:47-53)을 약간 변형하여, 연속 14일 동안 단일의 지속적 스트레스(Single prolonged stress; SPS)에 노출되도록 하였다. 랫트를 플렉시글라스(Plexiglas) 실린더에 2시간 동안 넣어 두었고, 이후 즉시 20분 동안 수영(forced swimming; FS)하도록 하였다. 랫트를 건조시키고 15분 동안 회복시킨 다음 의식이 없어질 때까지 에테르 증기에 노출시켰다. SPS 요인을 준 이후, 랫트를 케이지 당 한 마리씩 두었으며, PTSD-유사 증상이 나타날 수 있도록 14일 동안 방해하지 않았다.

[0096] **실험예 3. 고가식 십자 미로(Elevated plus maze; EPM) 테스트**

[0097] 고가식 십자 미로(Elevated plus maze; EPM) 테스트는 기존의 공지된 방법에 따라 수행하였다(Lee B. et al., J Nat Med. 2016;70:133-144). 랫트를 플러스 기호 모양의 4-구역(4-armed) 나무 플랫폼으로 구성된 EPM으로 옮겼다. 상기 미로 장치는 검은 에나멜로 페인트칠 되어있고 바닥으로부터 50cm 높이이며, 모든 구역(arm)은

50cm의 길이와 10cm의 폭을 가지고 중앙에 합류하여 10cm^{2}의 중앙 플랫폼을 만든다. 서로 마주보고 있는 두 구역은 비개방 되어 있는 반면, 나머지 두 구역은 개방 되어 있다. 각 실험 시작 시, 랫트는 5분 동안 자유롭게 움직일 수 있으며, 이러한 세션의 비디오 장면에 대해 점수를 매겼다. 개방 구역에서 보낸 총 시간의 비율은 불안을 측정하는데 사용된다.

[0099] **실험예 4. 열린 공간 테스트(Open field test; OPM)**

[0100] 상기 실험예 3의 EPM 테스트가 완료되기 전, 열린 공간 테스트(Open field test; OPM)를 수행하였다. 상기 열린 공간 테스트(Open field test; OPM)는 기존의 공지된 방법에 따라 수행하였다(Lee B. et al., Biomil Ther(Seoul). 2014;22:213-222). 구체적으로, 랫트를 불빛이 어둑한 방 작사각형 컨테이너(60×60×30 cm)에 개별적으로 두었다. 이는 방의 중앙 위에 설치된 비디오 카메라 불빛과 어둑한 방의 흰 랫트는 가장 좋은 대조가 된다. 운동 활성을 S-MART 프로그램(PanLab Co., Barcelona, Spain)을 이용한 컴퓨터화된 비디오-추적 시스템으로 측정하였다. 페인트칠된 흰 선은 공간을 16칸(각 15×15 cm)으로 나누고, 각 랫트를 5분 동안 자유롭게 경기장을 탐험할 수 있게 하였다. 이후, 운동(중앙부 가로지름) 및 중앙부 및 주변부에 머무른 시간을 측정하였고, OFT에서 운동 활성을 분석하기 위해 각 랫트의 뒷다리로 서는(rearing) 횟수 또한 기록하였다.

[0102] **실험예 5. 도파민(dopamine; DA) 측정**

[0103] 외상 후 스트레스 장애(post-traumatic stress disorder) 유도 14일 후, 기존의 공지된 방법을 사용하여 뇌 조직에서 도파민(dopamine; DA) 농도를 분석하였다. 각 그룹의 4마리 랫트를 이소플루란(1.2%)으로 깊이 마취하고, 행동 테스트 하루 뒤 희생시켰다. 이후, 전두엽 피질(medical prefrontal cortex), 해마(hippocampus), 선조체(striatum), 편도체(amygdale)를 무작위 순서로 랫트 뇌에서 해부하였다. 도파민 농도를 마우스 모노클로날 DA 항체(DA ELISA Kit; Abcam, Cambridge, MA, USA)를 사용하는 경쟁적 효소-연결 면역분석(enzyme-linked immunoassay; ELISA)을 통해 측정하였다.

[0105] **실험예 6. 전체 RNA 준비 및 RT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)**

[0106] Tyrosine hydroxylase(TH), DA transporter(DAT), 및 vesicular monoamine transporter-2(VMAT-2) mRNA 발현 수준을 기존의 공지된 방법에 따라 RT-PCR에 의해 측정하였다(Yeom M et al., J Appl Microbiol. 2015;119:560-570). 제조사의 지시에 따라 TRIzol 시약을 사용하여 각 랫트의 해마로부터 전체 RNA를 분리하였다. cDNA를 역전사 효소(Takara Bio, Otsu, Japan)를 사용하여 2㎍ 토탈 RNA에서 합성하고, 이 후 열 순환기(thermal cycler; MJ Research, Watertown, MA, USA)에서 Taq DNA 중합효소(Takara, Kyoto, Japan)를 사용하여 PCR(TH: 60℃, 30싸이클, DAT: 60℃, 30싸이클, VMAT-2: 56℃, 35싸이클)로 증폭하였다. 데이터를 상응하는 샘플에서 글리세르알데하이드 3-포스페이트 탈수소효소(glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase; GADPH) 발현으로 표준화하였다.

[0108] **실험예 7. 통계학적 분석**

[0109] 결과는 평균±표준 오차로 표시하였다. 정상적으로 분산된 데이터 내 또는 사이의 차이점은 SPSS(버전 13.0; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)를 사용한 분산 분석 (ANOVA) 및 Tukey's post hoc 테스트를 사용하여 분석하였다. P-값<0.05는 유의하다고 간주된다.

[0111] **실시예 1. 불안-유사 증상에 대한 베르베린의 영향 분석**

[0112] PTSD에 대한 베르베린(Berberine; BER)의 치료 효과를 확인하기 위하여, 단일의 지속적 스트레스(Single prolonged stress; SPS)를 준 이후에 각 그룹에 속한 랫트의 불안-유사 행동을 상기 실험예 3의 방법에 따라 분석하였다. 상기 행동을 대표하는 매개 변수인 개방 구역에 머무는 시간의 비율, 개방 구역 진입 횟수, 비개방 구역에 머무는 시간의 비율, 비개방 구역 진입 횟수, 불안 지수, 머리 박는(head dips) 빈도 및 그루밍 행동 기간을 확인하였다.

[0113] 그 결과, 도 2의 A에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 미로의 개방 구역에 머무는 시간의 비율은 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 미로의 개방 구역에 머무는 시간의 비율은 상당히 회복됨을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 미로의 개방 구역에 머무는 시간의 비율은 PTSD+FLX 그룹에서 미로의 개방 구역에 머무는 시간의 비율과 거의 유사함을 확인하였다.

[0114] 또한, 도 2의 C에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 미로의 개방 구역 진입 횟수는 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 미로의 개방 구역 진입 횟수는 통계적으로 유의하지는 않지만 회복됨을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 미로의 개방 구역 진입 횟수는 PTSD+FLX 그룹에서 미로의 개방 구역 진입 횟수와 거의 유사함을 확인하였다.

[0115] 다만, 도 2의 B 및 도 2의 D에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 미로의 비개방 구역에 머무는 시간의 비율 및 비개방 구역 진입 횟수는 큰 차이가 없는 것을 확인하였다. 이로 인해, 랫트에서 관찰된 불안-유사 행동은 자신의 운동 활동의 차이에 기인한 것은 아님을 알 수 있었다.

[0116] 전체적으로, 도 2의 E에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 불안 지수(개방 구역 및 비개방 구역 진입 횟수 및 머무는 시간에 근거하여 산출)는 상당히 증가함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 증가되었던 불안지수는 상당히 감소됨을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 불안 지수는 PTSD+FLX 그룹에서 불안 지수와 거의 유사함을 확인하였다.

[0117] 또한, 도 2의 F에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 머리 박는(head dips) 빈도는 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 머리 박는 빈도는 통계적으로 유의하지는 않지만 증가함을 확인하였다.

[0118] 아울러, 도 2의 G에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 그루밍 행동 기간은 상당히 증가함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 증가하였던 그루밍 행동 기간은 상당히 감소함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 그루밍 행동 기간은 PTSD+FLX 그룹에서 그루밍 행동 기간과 거의 유사함을 확인하였다.

[0119] 상기 결과를 통해, BER의 투여는 PTSD가 야기된 랫트에서 항-불안 행동을 이끌어 낼 수 있음을 알 수 있었다.

[0121] **실시예 2. 운동 활동 및 탐색 활동에 대한 베르베린의 영향 분석**

[0122] PTSD에 대한 베르베린(Berberine; BER)의 치료 효과를 확인하기 위하여, SPS를 준 이후에 각 그룹에 속한 랫트의 운동 활동 및 탐색 활동을 상기 실험예 4의 방법에 따라 분석하였다. 상기 활동을 대표하는 매개 변수인 중앙부를 가로지르는 횟수, 중앙부에 머무는 시간, 이동 거리 및 뒷다리로 서는 행동의 빈도(rearing frequency)를 확인하였다.

[0123] 그 결과, 도 3의 A에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 중앙부를 가로지르는 횟수는 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 중앙부를 가로지르는 횟수는 상당히 증가함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 중앙부를 가로지르는 횟수는 PTSD+FLX 그룹에서 중앙부를 가로지르는 횟수와 거의 유사함을 확인하였다.

[0124] 또한, 도 3의 B에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 중앙부에 머무는 시간은 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 중앙부에 머무는 시간은 상당히 증가함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 중앙부에 머무는 시간은 PTSD+FLX 그룹에서 중앙부에 머무는 시간과 거의 유사함을 확인하였다.

[0125] 또한, 도 3의 C에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 이동 거리는 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 이동 거리는 상당히 증가함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 이동 거리는 PTSD+FLX 그룹에서 이동 거리와 거의 유사함을 확인하였다.

[0126] 아울러, 도 3의 D에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 뒷다리로 서는 행동의 빈도는 상당히 증가함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 증가되었던 뒷다리로 서는 행동의 빈도는 상당히 감소함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 뒷다리로 서는 행동의

빈도는 PTSD+FLX 그룹에서 뒷다리로 서는 행동의 빈도와 거의 유사함을 확인하였다.

[0127] 상기 결과를 통해, BER의 투여는 PTSD가 야기된 랫트에서 항-불안 행동을 이끌어 낼 수 있음을 알 수 있었다.

[0129] **실시예 3. 도파민 농도에 대한 베르베린의 영향 분석**

[0130] PTSD에 대한 베르베린(Berberine; BER)의 치료 효과를 확인하기 위하여, SPS를 준 이후에 각 그룹에 속한 랫트의 해마, 선조체, 전두엽 피질 및 편도체 에서의 도파민 농도를 상기 실험예 5의 방법에 따라 분석하였다.

[0131] 그 결과, 도 4의 A에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 해마에서의 도파민 농도는 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 해마에서의 도파민 농도는 상당히 증가함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 해마에서의 도파민 농도는 PTSD+FLX 그룹에서 해마에서의 도파민 농도와 거의 유사함을 확인하였다.

[0132] 또한, 도 4의 B에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 선조체에서의 도파민 농도는 당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 선조체에서의 도파민 농도는 상당히 증가함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 선조체에서의 도파민 농도는 PTSD+FLX 그룹에서 선조체에서의 도파민 농도와 거의 유사함을 확인하였다.

[0133] 또한, 도 4의 C에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 전두엽 피질에서의 도파민 농도는 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 전두엽 피질에서의 도파민 농도는 통계적으로 유의하지는 않지만 증가함을 확인하였다.

[0134] 아울러, 도 4의 D에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 편도체에서의 도파민 농도는 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 편도체에서의 도파민 농도는 통계적으로 유의하지는 않지만 증가함을 확인하였다.

[0135] 상기 결과를 통해, BER의 투여는 PTSD가 야기된 랫트의 뇌 도파민 시스템을 조절함으로써 불안-유사 증상과 관련된 행동 및 신경화학적 변화를 회복시킴을 알 수 있었다.

[0137] **실시예 4. TH, DAT 및 VMAT-2 mRNA 발현에 대한 베르베린의 영향 분석**

[0138] PTSD에 대한 베르베린의(Berberine; BER) 치료 효과를 확인하기 위하여, SPS를 준 이후에 각 그룹에 속한 랫트에서 TH(tyrosine hydrozylase), DAT(dopamine transporter) 및 VMAT-2(vesicular monoamine transporter-2)의 mRNA 발현 수준을 상기 실험예 6의 방법에 따라 분석하였다.

[0139] 그 결과, 도 5의 A에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 TH mRNA 발현 수준은 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 TH mRNA 발현 수준은 상당히 증가함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 TH mRNA 발현 수준은 PTSD+FLX 그룹에서 TH mRNA 발현 수준과 거의 유사함을 확인하였다.

[0140] 또한, 도 5의 B에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 DAT mRNA 발현 수준은 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 DAT mRNA 발현 수준은 상당히 증가함을 확인하였다. 아울러, PTSD+BER30 그룹에서 DAT mRNA 발현 수준은 PTSD+FLX 그룹에서 DAT mRNA 발현 수준과 거의 유사함을 확인하였다.

[0141] 아울러, 도 5의 C에서 볼 수 있듯이, SAL 그룹과 비교 시 SPS에 노출된 랫트는 VMAT-2 mRNA 발현 수준은 상당히 감소함을 확인하였다. 그러나, PTSD 그룹과 비교 시 PTSD+BER30 그룹의 랫트는 SPS에 의해 감소되었던 VMAT-2 mRNA 발현 수준은 통계적으로 유의하지는 않지만 증가함을 확인하였다.

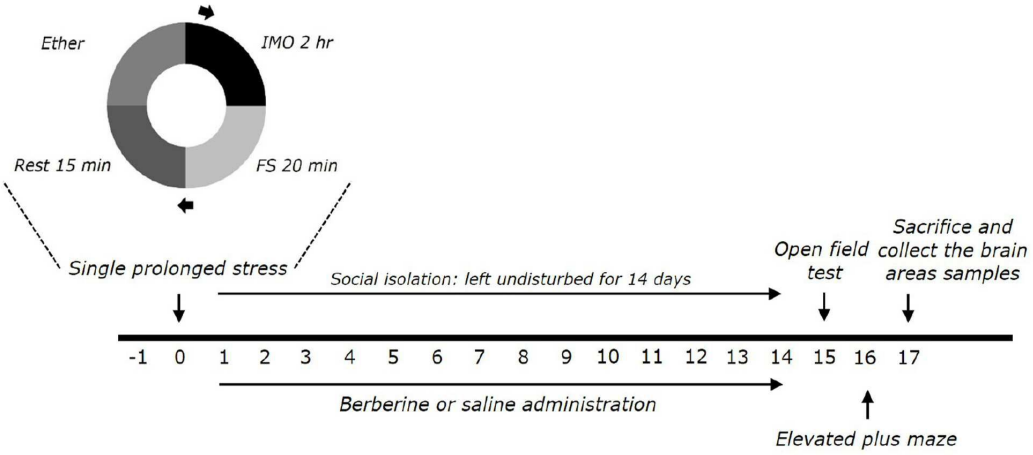
[0142] 상기 결과를 통해, BER의 투여는 PTSD가 야기된 랫트의 뇌 도파민 시스템을 조절함으로써 항-불안 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

[0144] 상기 결과들을 종합하여, 베르베린이 외상 후 스트레스 장애의 예방 또는 치료 용도로 사용될 수 있음을 알 수 있다.

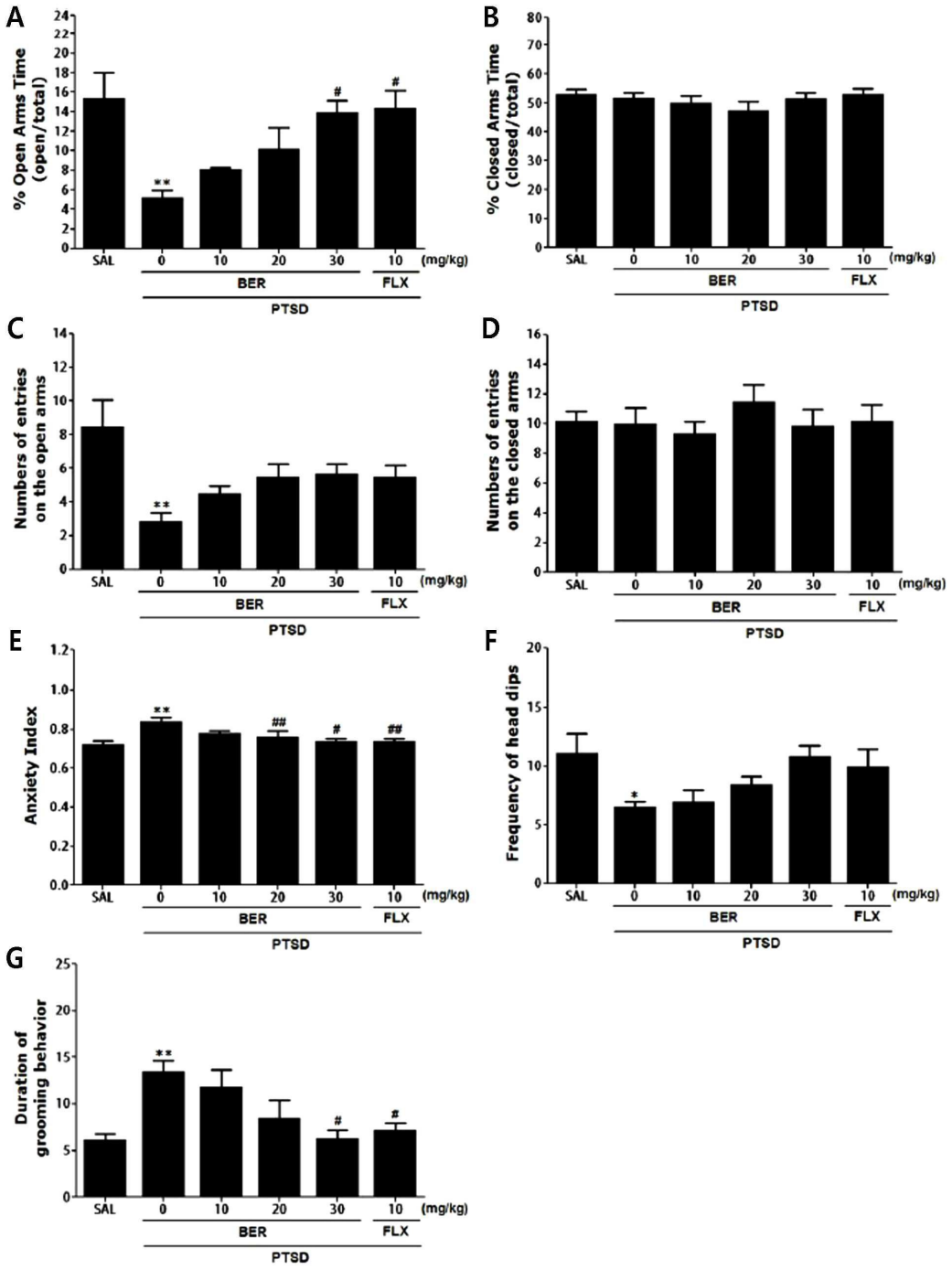
[0146] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

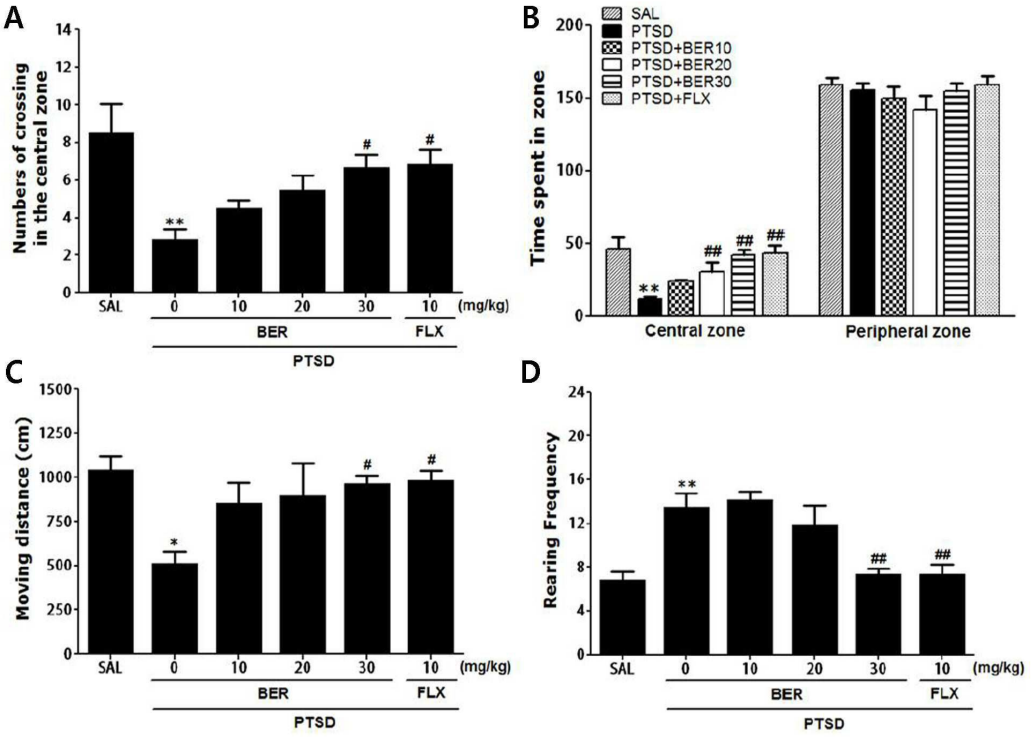
도면1



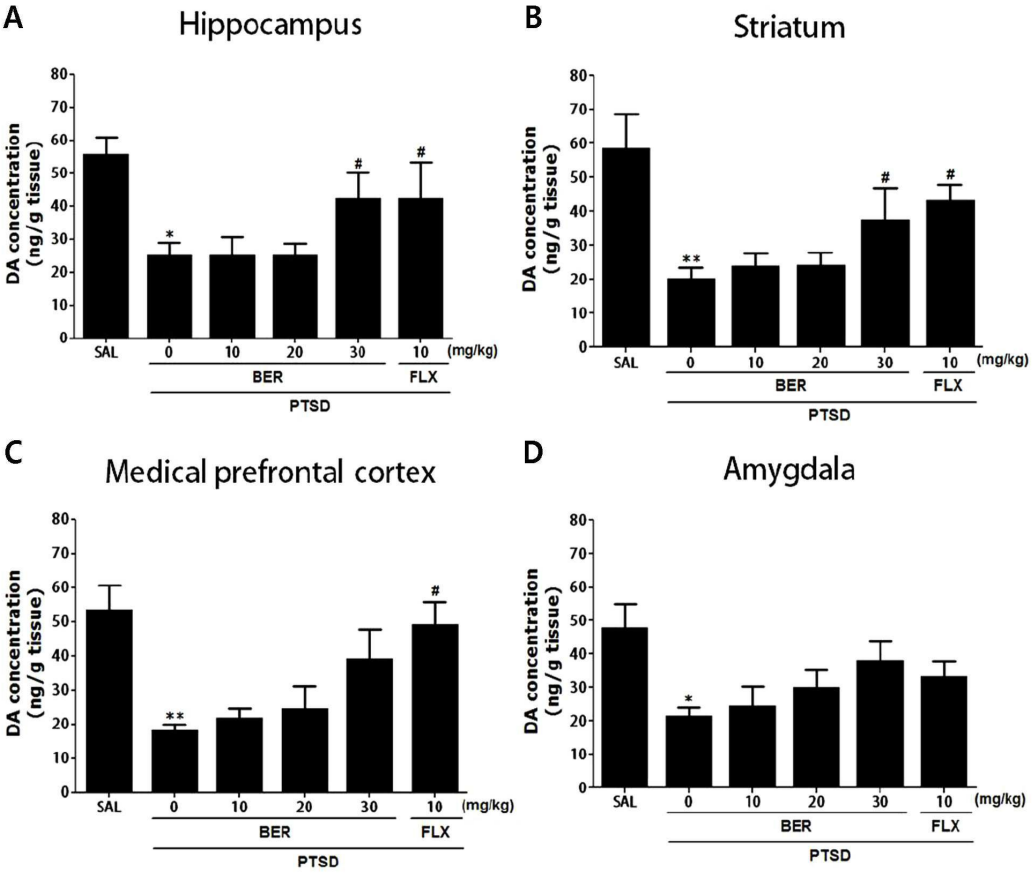
도면2


A
% Open Arms Time (open/total)
B
% Closed Arms Time (closed/total)
C
Numbers of entries on the open arms
D
Numbers of entries on the closed arms
E
Anxiety Index
F
Frequency of head dips
G
Duration of grooming behavior
SAL
0
10
20
30
10
(mg/kg)
BER
FLX
PTSD

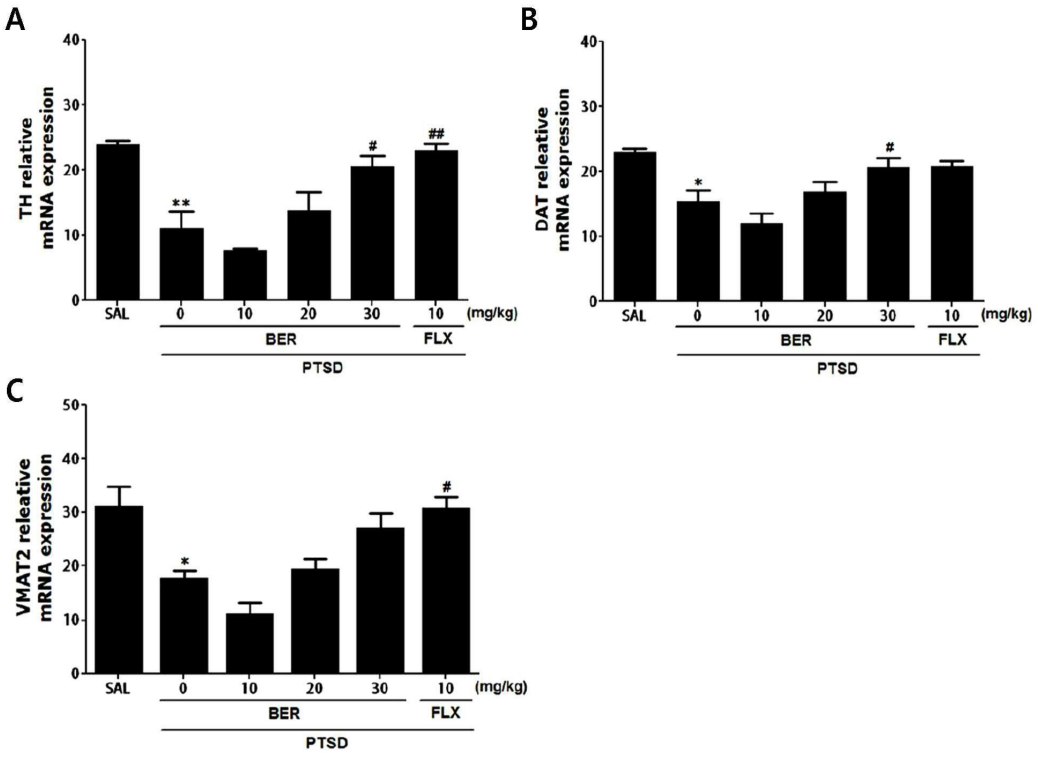
도면3


A
Numbers of crossing in the central zone
SAL
0
10
20
30
10
(mg/kg)
BER
FLX
PTSD
B
Time spent in zone
SAL
PTSD
PTSD+BER10
PTSD+BER20
PTSD+BER30
PTSD+FLX
Central zone
Peripheral zone
C
Moving distance (cm)
D
Rearing Frequency

도면4


A
Hippocampus
B
Striatum
C
Medical prefrontal cortex
D
Amygdala
DA concentration (ng/g tissue)
SAL
0
10
20
30
10
(mg/kg)
BER
FLX
PTSD

도면5


A
TH relative mRNA expression
40
30
20
10
0
**
#
##
SAL
0
10
20
30
10
(mg/kg)
BER
FLX
PTSD
B
DAT releative mRNA expression
40
30
20
10
0
*
#
SAL
0
10
20
30
10
(mg/kg)
BER
FLX
PTSD
C
VMAT2 releative mRNA expression
50
40
30
20
10
0
*
#
SAL
0
10
20
30
10
(mg/kg)
BER
FLX
PTSD