



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년03월31일

(11) 등록번호 10-2381026

(24) 등록일자 2022년03월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/551 (2006.01) A01K 67/027 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 31/551 (2013.01)

A01K 67/027 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0032700

(22) 출원일자 2020년03월17일

심사청구일자 2020년03월17일

(65) 공개번호 10-2021-0116052

(43) 공개일자 2021년09월27일

(56) 선행기술조사문헌

Current Neuropharmacology, Volume 10, Number 1, 2012, pp. 88~95

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 7 항

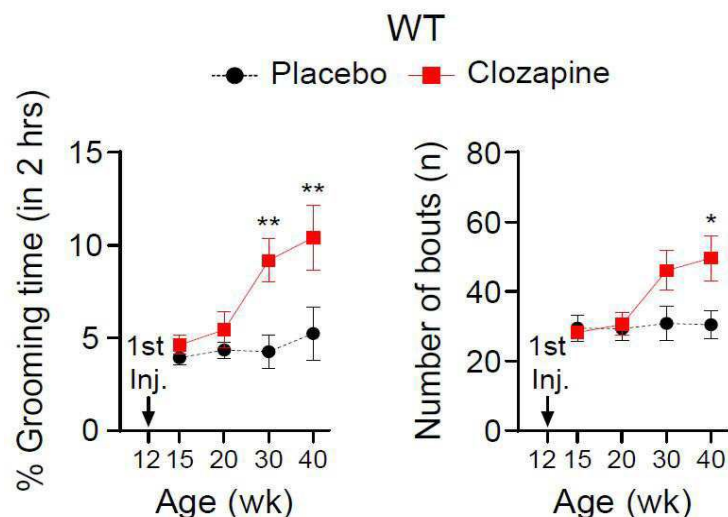
심사관 : 신영신

(54) 발명의 명칭 클로자핀을 유효성분으로 포함하는 불안장애 유도용 조성물

(57) 요약

본 발명은 포유동물에서의 불안장애(Anxiety disorder) 유도용 조성물 및 이를 이용하여 불안장애가 유도된 포유동물에 관한 것이다. 본 발명의 동물모델은 불안장애의 지표가 되는 불안행동(anxiety behavior)과 치장 행동(grooming behavior)이 유의하게 증가될 뿐 아니라 플루옥세틴(fluoxetine) 등의 치료제 투여에 대한 반응성을 가져 강박장애를 비롯한 불안 장애의 질환 특성을 높은 신뢰도로 반영하는 우수한 동물 모델임이 확인되었다. 본 발명은 불안 장애의 치료제 개발 및 부작용 없는 항정신병약물의 발굴 뿐 아니라, 불안장애 발병 과정의 분자적 및 순환적 기전에 대한 연구를 위한 수단으로 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도1b



(52) CPC특허분류

A61K 49/0008 (2013.01)
A01K 2207/20 (2013.01)
A01K 2267/0356 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

CLINICAL NEUROPHARMACOLOGY, 32(4), 227~229,
 2009.08.31
 JOURNAL OF PSYCHIATRY AND NEUROSCIENCE, 44(1),
 71~72, 2019.01
 AUSTRALIAN AND NEW ZEALAND JOURNAL OF
 PSYCHIATRY, 41(3), PP 293~2944, 2007.03.01
 PROGRESS IN NEURO PROGRESS IN NEURO
 PSYCHOPHARMACOLOGY AND BIOLOGICAL PSYCHIATRY,
 VOLUME 27, ISSUE 3, MAY 2003, PAGES 333~346

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711090861
과제번호	2019R1A2C3002354
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	PCDH19 돌연변이에 의한 뇌질환 프로세스 규명
기 여 율	50/100
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2019.03.01 ~ 2020.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1465024049
과제번호	HI15C0626030017
부처명	보건복지부
과제관리(전문)기관명	한국보건산업진흥원
연구사업명	질환극복기술개발 질병중심중개연구(중점연구)
연구과제명	강박장애/강박증 동물 모델 개발 및 병리기전
기 여 율	50/100
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2017.09.07 ~ 2018.09.06

공지예외적용 : 있음

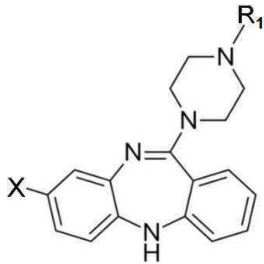
명세서

청구범위

청구항 1

다음의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 정상 설치류 동물에서의 강박장애(Obsessive-Compulsive Disorder, OCD) 유도용 조성물:

화학식 1



상기 화학식에서, X는 할로젠이고 R₁은 C₁-C₃ 알킬이다.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 X는 Cl이고 R₁은 C₁ 알킬인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1 항 또는 제 3 항의 조성물을 정상 설치류 동물에 투여하는 단계를 포함하는 강박장애 (Obsessive-Compulsive Disorder, OCD)가 유도된 설치류 동물의 제작 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 방법은 상기 조성물이 상기 설치류 동물 내에서 매일 0.5 - 1.5 mg/kg가 방출되도록 투여함으로써 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 방법은 상기 조성물을 서방형 제형에 탑재하여 투여함으로써 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제 6 항에 있어서, 상기 방법은 상기 조성물이 상기 설치류 동물 내에서 50일 내지 200일 동안 방출되도록 투여함으로써 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

삭제

청구항 10

제 5 항의 방법으로 제조된 강박장애 (Obsessive-Compulsive Disorder, OCS)가 유도된 설치류 동물.

청구항 11

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 클로자핀을 투여함으로써 포유동물에서 강박장애를 비롯한 불안 장애를 유도하는 방법 및 이를 통해 확립된 불안장애 동물모델에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 현대사회의 발전과 더불어 정신 및 행동장애로 인한 질병에 대한 사회적 부담이 급속도로 증가하고 있으며, 이에 따라 항우울제 등 정신질환 관련 시장 규모도 빠르게 확대되고 있다. 국내의 경우도 정신질환 관련 시장이 급격히 증가하고 있으며, 특히 OECD 국가 중 자살율 1위라는 점을 고려할 때, 정신질환의 조기발견 및 발병초기의 집중치료 기술개발은 사회의 건강 및 생산성 향상, 국가적 경제부양에 기여할 수 있다.

[0004] 강박장애(Obsessive-Compulsive Disorder)는 불안장애(Anxiety disorder)의 일종으로, 자신의 의지와 무관하게 특정 사고나 행동을 떨쳐버리지 못하고 반복적으로 하게 되는 상태를 말한다. 강박장애는 강박적 행동과 강박적 사고로 구분이 되며, 강박적 사고가 불안이나 고통을 일으키는 것이라면, 강박적 행동은 그것을 중화시키는 기능을 한다. 강박장애는 원인이 명확하게 밝혀지지 않았기 때문에 치료제 개발은 물론 치료제 개발을 위한 질환 모델을 확립하기도 어렵다. 질환의 특성과 분자적 기전을 효율적으로 재연하는 동물 모델을 구축하기 위해서는 첫째, 강박장애 유사 증상을 일으키는 집합한 원인을 파악하여 이러한 원인이 동물에 직접 적용될 수 있어야 하며, 둘째, 인간에서 관찰되는 강박장애 유사 증상이 해당 동물에서도 식별 및 반복관찰 가능한 수준으로 관찰되어야 하고, 셋째, 인간에게서 강박장애 치료제로 적용되는 약물에 반응하여야 한다.

[0005] 한편, 클로자핀(clozapine), 리스페리돈(risperidone) 및 올란자핀(olanzapine)과 같은 항세로토닌성 2세대 항정신병약물(SGA)은 정신분열증(schizophrenia, 조현병)의 치료에 널리 사용되고 있다. 도파민 수용체에 일차적으로 작용하는 다른 SGA와 달리, 이들은 두드러진 항-세로토닌 특성을 가진다[1].

[0006] 몇몇 임상 보고서가 조현병 환자에서 강박장애(Obsessive-Compulsive Disorder, OCS)가 종종 동반하여 나타남을 보고하였으나[2,3], 이러한 효과가 항세로토닌성 SGA에 의한 것인지는 불분명하며, 더욱이 이것이 드 노보 OCS 인지 또는 단순히 이미 존재하던 OCS가 드러나거나 악화된 것인지를 구별하기는 어렵다.

[0008] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 미국 등록특허 제9,415,030호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명자들은 불안장애, 구체적으로는 강박장애의 병리기전 연구, 치료제 스크리닝 및 인 비보 약물 평가 등을 위한 효율적인 동물 모델을 개발하기 위하여 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 포유동물에 장기 투여할 경우 불안장애의 척도인 불안행동(anxiety behavior) 뿐 아니라 강박장애의 주요 지표가 되는 치장 행동(grooming behavior)이 유의하게 증가되고, 선택적 세로토닌 흡수 억제제인 플루옥세틴(fluxetine) 투여에 의해 이러한 치장 행동이 다시 감소함을 관찰함으로써 상기 화합물에 의해 불안장애의 병적 상태(pathological condition)가 포유동물에서 성공적으로 재연됨을 확인하여, 본 발명을 완성하게 되었다.

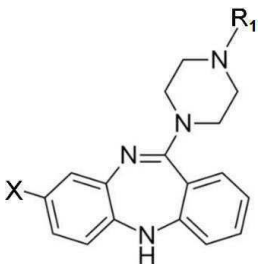
[0012] 따라서 본 발명의 목적은 포유동물에서의 불안장애(Anxiety disorder) 유도용 조성물 및 이를 이용하여 불안장애가 유도된 포유동물을 제공한다.

[0014] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0016] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 유효성분으로 포함하는 포유동물에서의 불안장애(Anxiety disorder) 유도용 조성물을 제공한다:

[0017] 화학식 1



[0018]

[0019] 상기 화학식에서, X는 할로젠이고 R₁은 C₁-C₃ 알킬이다.

[0021] 본 발명자들은 불안장애, 구체적으로는 강박장애의 병리기전 연구, 치료제 스크리닝 및 인 비보 약물 평가 등을 위한 효율적인 동물 모델을 개발하기 위하여 예의 연구 노력하였다. 그 결과, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 포유동물에 장기 투여할 경우 불안장애의 척도인 불안행동(anxiety behavior) 뿐 아니라 강박장애의 주요 지표가 되는 치장 행동(grooming behavior)이 유의하게 증가되고, 선택적 세로토닌 흡수 억제제인 플루옥세틴(fluxetine) 투여에 의해 이러한 치장 행동이 다시 감소함을 관찰함으로써 상기 화합물에 의해 불안장애의 병적 상태(pathological condition)가 포유동물에서 성공적으로 재연됨을 발견하였다.

[0023] 본 명세서에서 용어 “알킬”은 직쇄 또는 분쇄의 포화 탄화수소기를 의미하며, 예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 등을 포함한다. C₁-C₃ 알킬은 탄소수 1 내지 3의 알킬 유닛을 가지는 알킬기를 의미하며, C₁-C₃ 알킬이 치환된 경우 치환체의 탄소수는 포함되지 않은 것이다.

[0024] 본 명세서에서 용어 “할로젠”은 할로젠족 원소를 나타내며, 예컨대, 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 포함한다.

[0025] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 X는 Cl이고 R₁은 C₁ 알킬이다.

[0026] X는 Cl이고 R₁은 C₁ 알킬(메틸)인 화학식 1 화합물은 클로자핀(clozapine)이다. 클로자핀은 조현병(schizophrenia)의 치료에 이용되는 비정형적 항정신병 약물로서 약제 내성 조현병 환자 또는 심한 추체 외로계 장애를 일으키는 조현병 환자의 치료에 주로 사용된다. 본 발명자들은 클로자핀을 인간 이외의 포유동물, 특히 마우스 등의 설치류 동물에 일정 기간 투여할 경우 강박장애 유사 행동이 효율적으로 유도되고 이러한 증상이

선택적 세로토닌 흡수 억제제에 의해 반응한다는 사실을 발견함으로써, 인간 이외의 동물에서의 클로자핀과 강박장애 간의 상관관계를 최초로 규명하였다.

[0028] 본 명세서에서 용어 “약제학적으로 허용되는 염”은 약제학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 의미한다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 툴루엔-p-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 트리플루로초산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있다. 구체적으로는, 본 발명에서 사용되는 약제학적으로 허용되는 염은 나트륨염이다.

[0030] 본 명세서에서 용어 “포유동물”은 포유류에 속하는 동물로서 인간을 제외한 모든 동물을 의미하며, 예를 들어 마우스, 래트, 기니아 피그, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 원숭이, 침팬지, 비비 또는 붉은털 원숭이를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로는, 상기 포유동물은 설치류 동물이다.

[0031] 본 명세서에서 용어 “동물모델”은 불안장애의 증상 또는 표현형을 가지도록 직접적 또는 간접적으로 인위적 변형이 가해진 비-인간 동물을 의미하며, 구체적으로는 상기 화학식 1 화합물의 투여를 통해 후천적, 비유전적으로 불안장애의 증상을 가지게 되어 불안장애 상태에서 진행되는 전반적인 생물학적 과정을 반영하는 동물을 의미한다.

[0032] 본 명세서에서 용어 “불안장애”는 다양한 형태의 비정상적, 병적인 불안과 공포가 과도하고 광범위하게 나타남으로써 일상 생활에 장애를 일으키는 정신질환으로, 공황장애(panic disorder), 사회 공포증(social phobia), 외상 후 스트레스 장애(Post traumatic stress disorder, PTSD), 범불안장애(Generalized anxiety disorder), 급성 스트레스 장애(Acute stress disorder) 및 강박장애(Obsessive-Compulsive Disorder, OCS)를 포함한다.

[0033] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 불안장애는 강박장애(Obsessive-Compulsive Disorder, OCS)이다.

[0034] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상술한 본 발명의 조성물을 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는 불안장애(Anxiety disorder)가 유도된 동물의 제작 방법을 제공한다.

[0035] 본 발명에서 이용되는 화학식 1 화합물, 본 발명에서 유도하는 불안장애 및 대상 포유동물에 대해서는 이미 상술하였으므로, 과도한 중복을 피하기 위해 그 기재를 생략한다.

[0036] 본 발명의 구체적인 구현예에 따르면, 상기 방법은 상기 조성물이 상기 포유동물 내에서 매일 0.5 - 1.5 mg/kg 가 방출되도록 투여함으로써 수행된다. 보다 구체적으로는 0.7 - 1.3 mg/kg이며, 가장 구체적으로는 0.9 - 1.1 mg/kg이다.

[0037] 본 발명에 따르면, 본 발명의 조성물은 대상 포유동물에 일정량이 장기투여됨으로서 강박장애를 비롯한 불안장애를 유발시킬 수 있다. 일정량을 장기투여하는 방법은 정해진 용량을 정기적으로 반복 투여함으로써 이루어질 수도 있고, 서방형 제형에 탑재하여 장기 방출을 유도할 수도 있다. 구체적으로는, 본 발명의 방법은 본 발명의 조성물을 서방형 제형에 탑재하여 투여함으로써 수행된다.

[0038] 본 명세서에서 용어 “서방형(sustained release) 제형”은 활성 성분이 함유된 제형이 생체 내에서 곧바로 붕괴되어 약물을 일시적으로 방출하지 않고 원하는 시간 만큼 약효가 지속될 수 있도록 방출되는 것을 의미한다.

[0039] 보다 구체적으로는, 상기 조성물이 상기 포유동물 내에서 50일 내지 200일 동안 방출되도록 투여함으로써 수행된다.

[0040] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상술한 본 발명의 방법으로 제조된 불안장애(Anxiety disorder)가 유도된 포유동물을 제공한다.

발명의 효과

[0042] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0043] (a) 본 발명은 포유동물에서의 불안장애(Anxiety disorder) 유도용 조성물 및 이를 이용하여 불안장애가 유도된 포유동물을 제공한다.

[0044] (b) 본 발명의 동물모델은 불안장애의 지표가 되는 불안행동(anxiety behavior)과 치장 행동(grooming behavior)이 유의하게 증가될 뿐 아니라 플루옥세틴(fluxetine) 등의 치료제 투여에 대한 반응성을 가져 불안

장애의 질환 특성을 높은 신뢰도로 반영하는 우수한 동물 모델임이 확인되었다.

[0045] (c) 본 발명은 불안 장애의 치료제 개발 및 부작용 없는 항정신병약물의 발굴 뿐 아니라, 불안장애 발병 과정의 분자적 및 순환적 기전에 대한 연구를 위한 수단으로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0047] 도 1은 클로자핀-처리 마우스가 치장 행동을 보임을 나타내는 그림이다. 도 1a는 실험 과정에 대한 모식도이다. 야생형 및 *Sapap3+/-* 성체 마우스에 클로자핀 또는 플라시보를 28주간 투여하였다. 도 1b는 클로자핀-처리 야생형 마우스에서 반복적인 치장 행동이 증가함을 보여주는 그림이다. 12주령 마우스에 클로자핀 또는 플라시보 펠렛을 60일 간격으로 주사하였다. 12, 15, 20, 30 및 40 주령 당시 마우스 행동을 2시간 동안 기록하고 분석하였다(이원 반복측정 분산분석, 투여의 주요 효과; $F(1,16) = 9.161$, $p = 0.008$, 시간의 주요 효과; $F(3,48) = 5.525$, $p = 0.002$, 처리 x 시간 상호작용; $F(3,48) = 2.981$, $p = 0.04$, $**p < 0.01$)(좌측). 3초 이상 지속된 치장 행동은 1회로 기록되었다(이원 반복측정 분산분석, 투여의 주요 효과; $F(1,16) = 6.073$, $p = 0.025$, 시간의 주요 효과; $F(3,48) = 3.491$, $p = 0.023$, 처리 x 시간 상호작용; $F(3,48) = 2.674$, $p = 0.058$, $*p < 0.05$)(우측) 그룹당 $n = 8-10$. 도 1c는 클로자핀 처리 *Sapap3+/-* 마우스가 클로자핀 처리 야생형 마우스에서보다 더 일찍 반복적인 치장 행동의 증가를 나타냄을 보여주는 그림이다. 12주령 *Sapap3+/-* 마우스에 클로자핀 또는 플라시보 펠렛을 60일 간격으로 주사하였다. 12, 15, 20, 30 및 40 주령 당시 마우스 행동을 2시간 동안 기록하고 분석하였다. 치장 시간을 2시간 동안 촬영한 비디오 기록을 통해 측정하였다. 치장 시간은 클로자핀 처리 후 8주가 경과한 *Sapap3+/-* 마우스에서 증가하였다(이원 반복측정 분산분석, 투여의 주요 효과; $F(1,12) = 16.99$, $p = 0.01$, 시간의 주요 효과; $F(3,36) = 10.12$, $p < 0.001$, 처리 x 시간 상호작용; $F(3,36) = 3.348$, $p = 0.03$, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$)(좌측). 치장 행동의 횟수를 2시간 동안 촬영한 비디오 기록을 통해 측정하였다. 치장 횟수는 클로자핀 처리 후 18주가 경과한 *Sapap3+/-* 마우스에서 증가하였다(이원 반복측정 분산분석, 투여의 주요 효과; $F(1,12) = 14.16$, $p = 0.003$, 시간의 주요 효과; $F(3,36) = 11.17$, $p < 0.001$, 처리 x 시간 상호작용; $F(3,36) = 4.095$, $p = 0.013$, $**p < 0.01$)(우측) 그룹당 $n = 7$. 도 1d는 플루옥세틴 처리가 클로자핀-처리 야생형 마우스에서 치장 행동을 경감시킴을 보여주는 그림이다(이원 분산분석, 플루옥세틴 투여의 주요 효과; $F(1,6) = 21.75$, $p = 0.003$, 클로자핀 투여의 주요 효과; $F(1,6) = 9.27$, $p = 0.023$, 플루옥세틴 처리 x 클로자핀 처리 상호작용; $F(1,6) = 7.071$, $p = 0.038$, $*p < 0.05$, $***p < 0.001$) 그룹당 $n = 4$. 모든 데이터는 평균 \pm 표준오차로 나타내었다.

도 2a는 클로자핀 펠렛 주사 10일 뒤의 혈장 클로자핀 농도를 나타낸 그림이다. 플라시보를 주사한 연령-매칭된 마우스를 대조군으로 사용하였다(스튜던트 t 검정, $**p < 0.01$). 그룹당 $n = 4$. 도 2b는 야생형 및 *Sapap3+/-* 마우스에서 클로자핀 또는 플라시보를 처리한 경우의 체중 변화를 나타낸 그림이다. 클로자핀- 및 플라시보-처리 마우스 간에 유의한 차이는 없었다. 그룹당 $n = 5-6$. 도 2c는 *Sapap3-/-* 마우스에서의 피부 상처 발달에 대한 생존 곡선을 나타낸다(좌측). *Sapap3-/-* 마우스는 목과 안면 피부에 상처가 생겼다(흰색 화살표). 그룹당 $n = 7-12$. 모든 데이터는 평균 \pm 표준오차로 나타내었다.

도 3은 클로자핀과 플라시보를 각각 투여한 마우스를 대상으로 한 십자형 높은 미로(Elevated plus maze) 실험 결과를 보여주는 그림으로, 중간 지점(center zone)에 머무는 시간(스튜던트 t 검정, $*p < 0.05$)(도 3a), 열린 가지(open arm)에 머무는 시간(스튜던트 t 검정, $*p < 0.05$)(도 3b) 및 닫힌 가지(closed arm)에 머무는 시간(스튜던트 t 검정, $*p < 0.05$)(도 3c)을 각각 나타낸다. 그룹당 $n = 6$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0050] 실시예

[0051] 서방형 클로자핀 펠렛의 제작

[0052] 본 발명자들은 정상 마우스(B6J)를 이용하여 클로자핀이 드 노보에서 OCD 유사 증상을 유도할 수 있는지를 확인하고자 하였다. 본 발명자들은 클로자핀의 장기 투여가 OCS를 유발할 것으로 가정하고, 클로자핀을 60일간 계속적으로 서서히 방출할 수 있도록 특별한 조성의 클로자핀 펠렛을 설계하였다. 클로자핀 펠렛은 클로자핀 약제와 함께 콜레스테롤, 셀룰로스, 락토스, 인산염, 스테아르산염 등의 조성물로 이루어져 있다. 해당 조성물은

약제의 약효에 영향을 미치지 않으면서 약제의 모형 유지와 약제의 지속적인 방출을 위해 사용되었다.

[0054] 클로자핀 펠렛의 투여 및 치장 행동의 관찰

[0055] 첫 번째 클로자핀 펠렛을 12주령 마우스(B6J)에 이식함으로써 클로자핀을 240일간 투여하고 60일 간격으로 후속 주사(follow-up injection)를 수행하였다(도 1). 주사 10일 뒤 클로자핀의 혈중 농도를 측정하자, 클로자핀의 혈장 농도가 지속적으로 유지되고 있음을 발견하였다(도 2a). 15, 20, 30 및 40주령 마우스에서, 2시간 동안 비디오 카메라로 치장(grooming) 행동을 기록하였다. 두 번의 독립적인 실험에서 치장 기간 및 치장 행동 횟수에 대한 점수를 매겼다. 그 결과, 클로자핀이 30주령 이후(1차 클로자핀 펠렛 주사 18주 후)에서부터 야생형 마우스에서의 치장 시간을 증가시키는 것을 발견하였다(도 1b, 좌측).

[0056] 본 발명자들은 또한 클로자핀 펠렛을 40주간 투여한 마우스가 치장 횟수가 더 많음을 발견하였다(도 1b, 우측). 클로자핀- 및 플라시보-처리 마우스 간의 체중 차이는 관찰되지 않았다(도 2b).

[0058] *Sapap3* 녹아웃 마우스에 대한 클로자핀의 투여

[0059] 인간에 있어서, *SAPAP3* 및 *SLC1A1* 유전자 변이체 간의 유전적 상호작용은 항세로토닌성 SGA로 유도되는 OCS 증상의 예측 인자이다. 마우스에서 *Sapap3*의 동형접합 삭제는 안면과 목 피부 상처를 발달시키기에 충분한 치장 행동을 유도한다[5]. 이에, 본 발명자들은 *Sapap3* 녹아웃 마우스에서 클로자핀이 OCD-유사 행동에 미치는 영향을 조사하였다. 동형접합 마우스에서 20주에서부터 피부 상처의 발달이 관찰되기 시작하였으며, 40-60주령에서 100% 침투에 도달하였다. 클로자핀은 *Sapap3* 동형접합 KO 마우스에서는 피부 상처를 가속화하지 않았는데, 이는 치장 행동이 이미 증중에 다다랐기 때문으로 보인다(도 2c). *Sapap3* 이형접합 KO 마우스는 반면 치장 행동이나 피부 상처의 증가가 관찰되지 않았다[5]. 흥미롭게도, 클로자핀이 야생형 마우스에서보다 *Sapap3* 이형접합 KO 마우스에서 더 빨리 치장 행동을 유도한다는 것을 발견하였다(도 1c).

[0061] 플루옥세틴 반응성의 평가

[0062] 다음으로, 본 발명자들은 선택적인 세로토닌 흡수 억제제인 플루옥세틴(fluxetine)이 장기간의 클로자핀 처리로 인해 유도된 치장 행동을 감소시킬 수 있는지를 조사하였다. 도 1d에서 보는 바와 같이, 30주 차에 10일간 매일 마우스에 플루옥세틴을 복강주사하자 치장 시간이 유의하게 감소하였다. 이는 5-HT 신호가 클로자핀-유도 OCS의 발병에 관여되어 있고, 마우스에서의 OCD 유사 행동이 인간에서 전형적으로 사용되는 치료제에 반응함을 시사한다.

[0064] 십자형 높은 미로 실험

[0065] 십자형 높은 미로(Elevated plus maze)는 설치류의 불안 정도를 분석하기 위한 동물 행동 실험이다. 바닥으로부터 높이 약 50cm 정도로 떨어져 있고 열린 가지와 닫혀 있는 가지로 이루어진 미로를 이용하며, 이 중 닫힌 가지에 머무르는 시간이 높을수록 높은 불안 정도가 높은 것으로 해석된다. 본 발명자들은 클로자핀이 불안 행동(anxiety behavior)에 미치는 영향을 추가적으로 조사하기 위해 클로자핀을 28주간 투여 받은 40주령의 마우스와 플라시보를 투여 받은 마우스를 대상으로 십자형 높은 미로 실험을 수행하였다. 그 결과, 도 3에서 보는 바와 같이 클로자핀을 투여한 마우스는 플라시보를 투여한 마우스에 비해 높은 불안 행동을 보이고 있음을 확인하였다. 십자형 높은 미로에서 클로자핀을 투여 받은 마우스는 플라시보를 투여 받은 마우스에 비해 중간 지점(center zone)에 머무르는 시간이 유의하게 감소하였으며(스튜던트 *t*검정, $p < 0.05$)(도 3a), 열린 가지(open arm)에 머무르는 시간 역시 유의하게 감소하였다(스튜던트 *t*검정, $p < 0.05$)(도 3b). 아울러, 클로자핀을 투여받은 마우스는 플라시보를 투여 받은 마우스에 비해 닫힌 가지(closed arm)에 머무르는 시간이 유의하게 증가하였다(스튜던트 *t*검정, $p < 0.05$)(도 3c). 그룹 당 $n = 6$. 이들 결과를 통해 클로자핀은 마우스에서 불안 행동을 효율적으로 유발한다는 사실을 다각적으로 확인할 수 있었다.

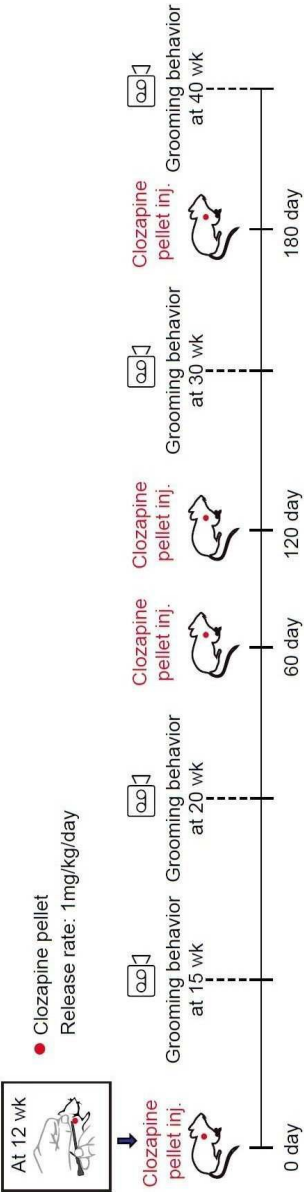
[0067] 논의 사항

[0068] 본 발명자들은 처음으로 장기적인 클로자핀 투여가 마우스에서 OCD 유사 행동을 일으킬 수 있음을 증명하면서, 클로자핀이 정상적인 조건 하에서도 드 노보 OCS를 유도하는지에 대한 오랜 의문에 대한 실험적 증거를 제공하였다. 본 발명의 동물 모델은 다음과 같은 이유에서 OCS에 대한 유용한 연구 수단이 될 수 있다: 첫째, 마우스에서 클로자핀 투여 후 OCD 유사 행동이 유도되기까지는 많은 시간이 소요된다. 둘째, 이 동물모델은 정신 질환 동물모델의 모든 타당성 기준을 만족한다[7]; 마우스 모델은 OCD 유사 행동을 보이고(표면적 타당성), 클로자핀에 의해 유도되며(구성적 타당성), 플루옥세틴에 반응한다(예측 타당성). 마지막으로, 본 발명자들은 *Sapap3* KO 마우스에서 클로자핀과 OCS 관련 유전자 간의 명확한 상관관계를 확인하였다.

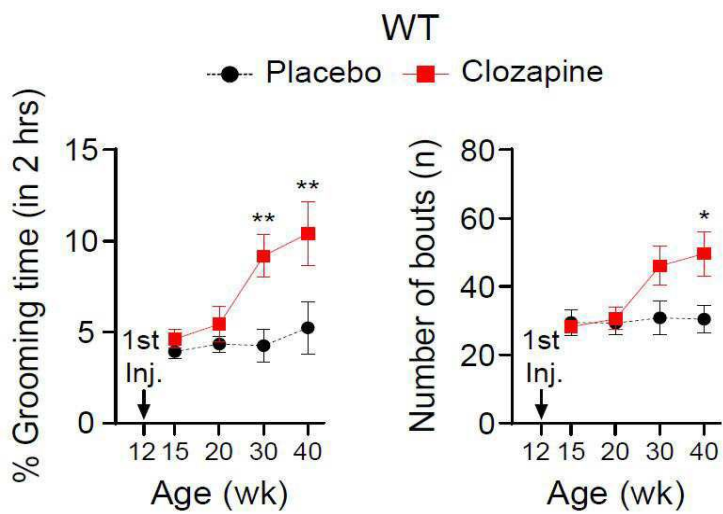
- [0069] 클로자핀이 약물-저항성 조현병에 대해 사용될 수 있는 유일한 항정신병약물이지만[1], 클로자핀 투여 개시 후 추가적인 기능 이상 및 질환의 불량한 예후가 나타날 수 있다. 본 발명의 동물 모델은 OCS를 부작용으로 가지지 않는 효과적인 항정신병약물 개발에 유용하게 사용될 수 있으며, OCS 발병 과정의 분자적 및 순환적 기전에 대한 연구에 용이하게 이용될 수 있다. 본 발명에서 확인된 플루옥세틴의 치료 효과는 클로자핀의 타겟으로 여겨지던 5-HT 수용체(5-HT1A, 5-HT2A 및 5-HT2C)가 관여되어 있음을 시사한다[1].
- [0070] *SLC1A1* 다형성과 증상 발생과의 관련성은 글루타메이트 신경전달이 역할을 할 가능성을 시사한다[7]. 한편, 장기적인 클로자핀 투여가 CSTC (cortico-striato-thalamo-cortical) 순환 경로와 같은 OCD 관련 신경 기질을 재구성할 가능성도 있다[8, 9].
- [0072] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.
- [0074] **참고문헌**
- [0075] 1. Meltzer HY: Update on typical and atypical antipsychotic drugs. *Annu Rev Med* 2013, 64:393-406.
- [0076] 2. Baker RW, et al: Emergence of obsessive compulsive symptoms during treatment with clozapine. *J Clin Psychiatry* 1992, 53:439-442.
- [0077] 3. de Haan L, Linszen DH, Gorsira R: Clozapine and obsessions in patients with recent-onset schizophrenia and other psychotic disorders. *J Clin Psychiatry* 1999, 60:364-365.
- [0078] 4. Poyurovsky M, Weizman A, Weizman R: Obsessive-compulsive disorder in schizophrenia: clinical characteristics and treatment. *CNS Drugs* 2004, 18:989-1010.
- [0079] 5. Welch JM, et al: Cortico-striatal synaptic defects and OCD-like behaviours in Sapap3-mutant mice. *Nature* 2007, 448:894-900.
- [0080] 6. Nestler EJ, Hyman SE: Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci* 2010, 13:1161-1169.
- [0081] 7. Kwon JS, et al: Association of the glutamate transporter gene *SLC1A1* with atypical antipsychotics-induced obsessive-compulsive symptoms. *Arch Gen Psychiatry* 2009, 66:1233-1241.
- [0082] 8. Ahmari SE, et al: Repeated cortico-striatal stimulation generates persistent OCD-like behavior. *Science* 2013, 340:1234-1239.
- [0083] 9. Ahmari SE, Dougherty DD: Dissecting OCD Circuits: From Animal Models to Targeted Treatments. *Depress Anxiety* 2015, 32:550-562.

도면

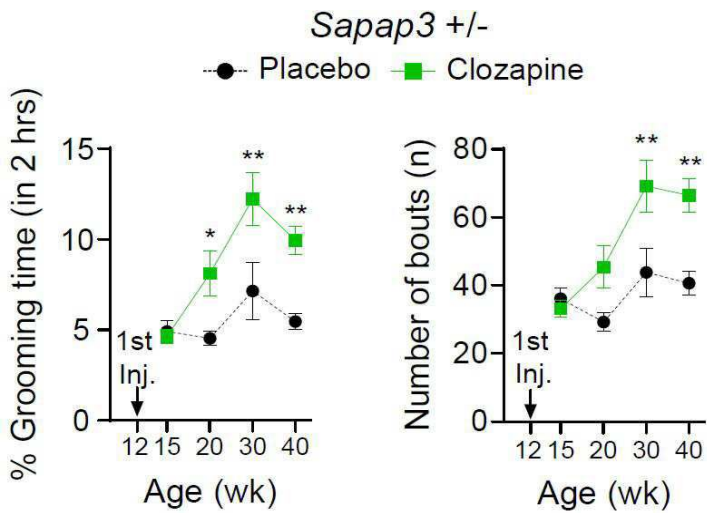
도면1a



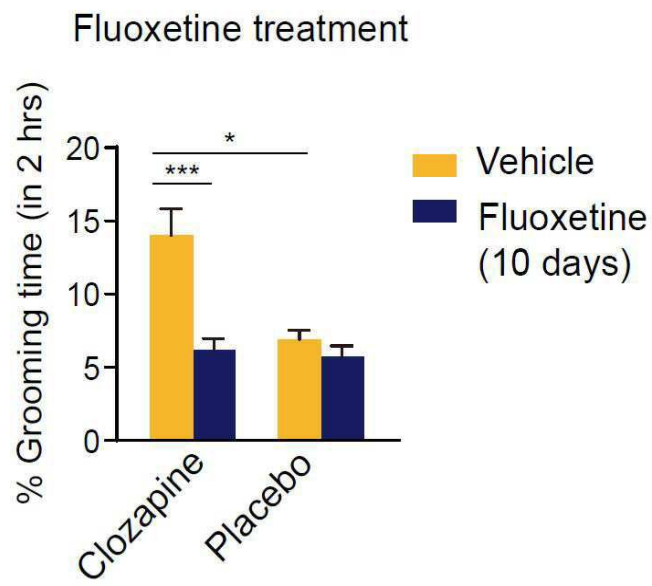
도면1b



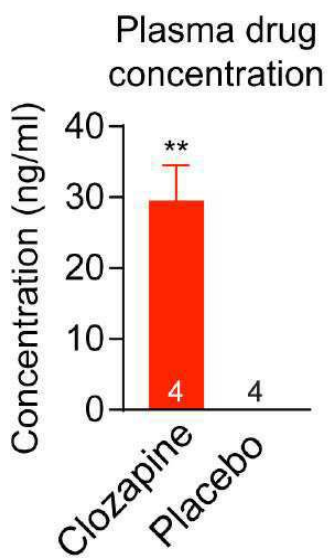
도면1c



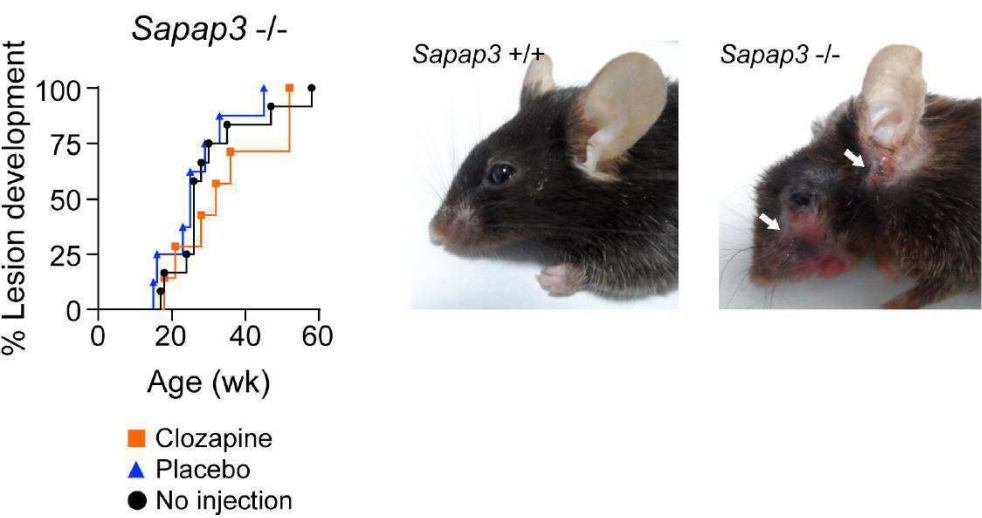
도면1d



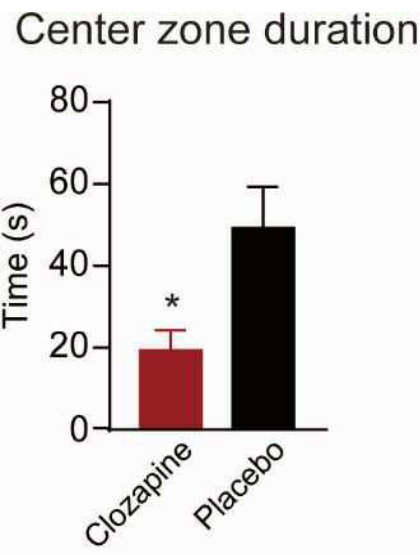
도면2a



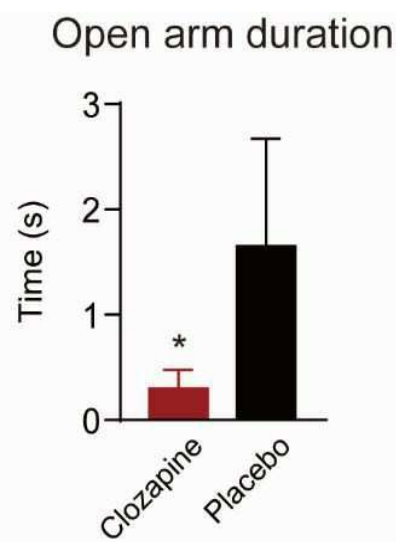
도면2b



도면3a



도면3b



도면3c

