



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019019078-3 A2



(22) Data do Depósito: 15/03/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 22/04/2020

(54) **Título:** MÉTODO DE TRATAMENTO DE UM DISTÚRBO CONVULSIVO EM UM PACIENTE QUE PRECISA DISSO E VETOR

(51) **Int. Cl.:** A61K 31/5513; A61P 25/14; A61P 25/28; A61P 3/04.

(30) **Prioridade Unionista:** 15/03/2017 US 62/471,635; 20/12/2017 US 62/608,207; 27/02/2018 US 62/635,871.

(71) **Depositante(es):** OVID THERAPEUTICS INC..

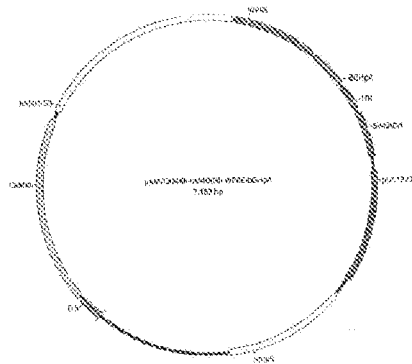
(72) **Inventor(es):** MATTHEW DURING.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2018022573 de 15/03/2018

(87) **Publicação PCT:** WO 2018/170223 de 20/09/2018

(85) **Data da Fase Nacional:** 13/09/2019

(57) **Resumo:** MÉTODO DE TRATAMENTO DE UM DISTÚRBO CONVULSIVO EM UM PACIENTE QUE PRECISA DISSO E VETOR São providos métodos e composições para tratar um distúrbio convulsivo que incluem administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético. Também são providos métodos e composições para tratar um distúrbio convulsivo em um paciente que precisa disso pela administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético. Os métodos são utilizados para melhorar ou aliviar um ou mais sintomas de um distúrbio convulsivo.



MÉTODO DE TRATAMENTO DE UM DISTÚRPIO CONVULSIVO EM UM PACIENTE QUE PRECISA DISSO E VETOR

REFERÊNCIA CRUZADA AOS PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Esse pedido reivindica benefício e prioridade aos Pedidos Provisórios Norte-Americanos Nºs 62/471.635, depositado em 15 de março de 2017, 62/608.207, depositado em 20 de dezembro de 2017, e 62/635.871, depositado em 27 de fevereiro de 2018, todos os quais são incorporados por referência em suas integridades.

CAMPO TÉCNICO DA INVENÇÃO

[002] Tratamento de distúrbios convulsivos utilizando Receptores Sintéticos Ativados Exclusivamente por Drogas Sintéticas e ligantes sintéticos e ultrassom.

HISTÓRICO DA INVENÇÃO

[003] Distúrbios convulsivos envolvem tipicamente atividade anormal de célula nervosa no cérebro, o que causa convulsões que podem ser manifestadas por períodos de comportamento incomum, sensações, espasmos, consciência reduzida e, algumas vezes, perda de consciência. Convulsões podem ser um sintoma de muitos distúrbios diferentes que podem afetar o cérebro. Epilepsia é um distúrbio convulsivo caracterizado por convulsões recorrentes. Vide, por exemplo, Blume et al., *Epilepsy*. 2001; 42:1212-1218. Convulsões epiléticas são comumente marcadas por descargas elétricas anormais no cérebro e, tipicamente, manifestadas por breves episódios súbitos de consciência alterada ou reduzida, movimentos involuntários, ou espasmos.

[004] Convulsões podem ser categorizadas como convulsões focais (também mencionadas como convulsões parciais) e convulsões generalizadas. Convulsões focais

afetam somente um lado do cérebro, enquanto convulsões generalizadas afetam ambos os lados do cérebro. Tipos específicos de convulsões focais incluem convulsões focais simples, convulsões focais complexas, e convulsões generalizadas de maneira secundária. Convulsões focais simples podem ser restritas ou focalizadas em um lobo particular (por exemplo, lobo temporal, lobo frontal, lobo parietal, ou lobo occipital). Convulsões focais complexas geralmente afetam uma parte maior de um hemisfério do que as convulsões focais simples, mas se originam comumente no lobo temporal ou no lobo frontal. Quando uma convulsão focal difunde de um lado (hemisfério) para ambos os lados do cérebro, a convulsão é mencionada como convulsão generalizada de maneira secundária. Tipos específicos de convulsões generalizadas incluem ausências (também mencionadas como convulsões de pequeno mal), convulsões tônicas, convulsões atônicas, convulsões mioclônicas, convulsões tônico-clônicas (também mencionadas como convulsões de grande mal), e convulsões clônicas.

[005] Exemplos de distúrbios convulsivos incluem epilepsia, epilepsia com convulsões tônico-clônicas generalizadas, epilepsia com ausências mioclônicas, epilepsia de lobo frontal, epilepsia de lobo temporal, Síndrome de Landau-Kleffner, Síndrome de Rasmussen, Síndrome de Dravet, Síndrome de Doose, distúrbio de CDKL5, espasmos infantis (síndrome de West), epilepsia mioclônica juvenil (JME), encefalopatia relacionada à vacina, epilepsia na infância intratável (ICE), síndrome de Lennox-Gastaut (LGS), síndrome de Rett, síndrome de Ohtahara, distúrbio de CDKL5, epilepsia de ausência da infância, tremor essencial, convulsões agudas

repetitivas, epilepsia rolândica benigna, estado de mal epiléptico, estado de mal epiléptico refratário, estado de mal epiléptico super-refratário (SRSE), epilepsia pediátrica relacionada a PCDH19, atividade convulsiva aumentada ou convulsões de manifestação súbita (também denominadas convulsões em série ou agrupadas). Distúrbios convulsivos podem ser associados a um distúrbio relacionado à subunidade alfa (Scn1a) de proteína de canal de sódio de tipo 1.

[006] Tumores cerebrais de todos os tipos podem ser associados a distúrbios convulsivos. Determinados tumores são associados a uma frequência maior de convulsões. Por exemplo, gangliogliomas são tumores benignos de crescimento lento que podem ocorrer na medula espinhal e/ou lobos temporais. Gangliogliomas são compostos de células gliais e ganglionais neoplásicas que são desorganizadas, variavelmente celulares e não infiltrativas. Gangliogliomas são comumente associados a convulsões. Gliomas são tumores cerebrais que se desenvolvem de células gliais no cérebro. Gliomas são classificados em quatro graus (I, II, III e IV), e o tratamento e prognóstico dependem do grau do tumor. Gliomas de baixo grau se originam de dois tipos diferentes de células cerebrais: astrócitos e oligodendrócitos. Gliomas de baixo grau são classificadas como tumor de grau 2, tornando-os o tipo de glioma de crescimento mais lento. Entre 60 e 85 por cento das pessoas com glioma de baixo grau pode apresentar uma convulsão. Gliomas de alto grau (grau 3 ou 4) são gliomas de crescimento rápido que apresentam tipicamente um prognóstico ruim. Gliomas de grau 3 incluem astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico, oligoastrocitoma anaplásico, e ependimoma anaplásico. Glioblastomas são

gliomas de grau 4. Ocorrem convulsões em mais da metade dos pacientes com gliomas de grau III e em aproximadamente um quarto dos pacientes com gliomas de grau IV. Meningiomas são tumores que surgem das meninges - membranas que circundam o cérebro e medula espinhal. Embora não localizados tecnicamente no cérebro, meningiomas podem comprimir ou apertar o cérebro, nervos e vasos adjacentes. Meningioma é o tipo mais comum de tumor que se forma na cabeça. A maioria dos meningiomas é de crescimento lento. Convulsões são associadas a meningiomas.

[007] Displasia cortical focal é uma má formação do desenvolvimento cortical, que é uma causa comum de epilepsia clinicamente refratária na população pediátrica e uma etiologia comum de convulsões clinicamente intratáveis em adultos. Displasia cortical focal (FCD) foi classificada em três tipos e subtipos adicionais. O tipo I é tipicamente associado aos lobos temporais - má formação apresentando laminação cortical anormal como um resultado de migração radial anormal e maturação de neurônios (FCD Tipo Ia) ou rompimento da composição tangencial de 6 camadas típica do córtex com neurônios jovens (FCD Tipo Ib) ou ambas as anormalidades arquitetônicas, laminação cortical radial e tangencial (FCD Tipo Ic). O Tipo II é comumente encontrado nos lobos frontais - má formação resultante da laminação cortical rompida e anormalidades citológicas específicas, Tipo IIa - neurônios dismórficos (sem células-balão) e Tipo IIb - neurônios dismórficos e células-balão. Tipo III - má formação conectada a delaminação cortical diferente e anormalidades citológicas com lesão principal dentro da mesma área/lobo. Tipo IIIa - no lobo temporal, delaminação cortical

com atrofia hipocampal, IIIB - adjacente a tumores gliais ou glioneuronais (DNET, ganglioglioma), IIIC - adjacente a má formações vasculares (como hemangiomas, má formações arteriovenosas, telangiectasias etc.), IIID - adquirida em idade precoce (trauma, isquemia ou hemorragia perinatal, doenças infecciosas ou inflamatórias). Vide, Kabat and Krol, Pol J Radiol, 2012, 77(2) 35-43. FCD pode envolver qualquer parte do cérebro, pode variar em tamanho e localização e pode ser multifocal. Convulsões são o principal sintoma de FCD, algumas vezes, associadas a retardamento mental, particularmente, com início precoce de convulsão. Podem aparecer sintomas em qualquer idade, principalmente na infância, mas também podem ocorrer em adultos. Convulsões associadas a FCD podem ser resistentes a droga.

[008] Hamartomas são uma má formação focal, principalmente benigna que se assemelha a uma neoplasia no tecido de sua origem. São compostos de elementos de tecido normalmente encontrados em tal sítio, mas crescem de maneira desorganizada. Hamartomas podem se originar no cérebro. Complexo da Esclerose Tuberosa (TSC) é um distúrbio convulsivo genético caracterizado por crescimento hamartomatoso em diversos órgãos. Pacientes que têm esse distúrbio podem apresentar uma alta taxa de epilepsia e problemas cognitivos resultantes de múltiplas lesões no cérebro. As lesões de TSC (túberes corticais) tipicamente contêm neurônios dismórficos, células gigantes brilhantemente eosinofílicas e alterações de substância branca. Convulsões associadas a TSC podem ser intratáveis. Hamartoma de túber cinéreo (também conhecido como hamartoma hipotalâmico) é um tumor benigno no qual uma coleção desorganizada de neurônios

e células gliais se acumula no túbulo cinéreo do hipotálamo. Os sintomas incluem convulsões gelásticas, um distúrbio caracterizado por períodos de riso involuntário com irritabilidade e humor deprimido em intervalos.

[009] Estado de mal epiléptico (SE) é caracterizado por uma convulsão epiléptica de mais que cinco minutos ou mais que uma convulsão dentro de um período de cinco minutos sem a pessoa retornar ao normal entre elas. SE pode ser uma condição perigosa que pode levar à mortalidade se o tratamento for tardio. SE pode ser convulsivo, com um padrão regular de contração e extensão dos braços e pernas, ou não convulsivo, com uma alteração no nível de consciência de uma pessoa de duração relativamente longa sem contração e extensão em ampla escala dos membros devido à atividade convulsiva. SE Convulsivo (CSE) pode ser, ainda, classificado em (a) SE tônico-clônico, (b) SE tônico, (c) SE clônico e (d) SE miclônico. SE não convulsivo (NCSE) é caracterizado por estado mental anormal, ausência de responsividade, anormalidades motoras oculares, convulsões eletrográficas persistentes, e possível resposta a anticonvulsivos.

[010] Medicamentos utilizados para tratar distúrbios convulsivos podem ser mencionados como drogas antiepilépticas ("AED"). O tratamento de convulsões recorrentes foca predominantemente na utilização de pelo menos uma AED, com possível uso adjunto de um segundo ou até terceiro agente no caso de falha monoterapêutica. Vide, Tolman and Faulkner, *Ther Clin Risk Manag.* 2011; 7: 367-375. Entretanto, aproximadamente 30%-40% de pacientes epiléticos têm controle inadequado de convulsão com somente uma AED, e precisam do uso de agentes adjuvantes. Id. Um subconjunto

desse grupo terá atividade convulsiva regular e persistente, apesar de doses razoáveis de múltiplas AEDs. Essas convulsões são consideradas refratárias ao tratamento. Id. Da mesma forma, permanece uma necessidade por terapias aprimoradas e/ou adicionais para tratar distúrbios convulsivos.

[011] Receptores sintéticos ativados exclusivamente por drogas sintéticas (DREADDS), conhecidos de outra forma como RASSLs (receptor ativado somente por ligantes sintéticos), foram recentemente propostos para o tratamento de convulsões. Vide, por exemplo, Publicação Norte-Americana US2016/0375097. DREADDS podem envolver receptores de sinal unidos à proteína G concebidos (GPCRs) que são ativados somente por ligantes sintéticos. Esses receptores concebidos não respondem a ligantes endógenos, mas ainda podem ser ativados por drogas de molécula pequena que ocorrem de maneira não natural específicas. Dois tipos de DREADDS foram derivados de receptores de acetilcolina muscarínicos humanos: hM3Dq, que ativam o disparo, e hM4Di que inibe o disparo neuronal. Tipicamente, receptores de acetilcolina muscarínicos humanos são ativados pelo ligante natural, acetilcolina. hM3Dq e hM4Di não são ativados pelo ligante natural, mas são ativados por N-óxido de clozapina (CNO), um ligante farmacologicamente inerte.

[012] A barreira hematoencefálica (BHC) impede que muitos compostos no fluxo sanguíneo entrem nos tecidos e fluidos do cérebro. A BHC é formada por células endoteliais específicas do cérebro e suportada pelas células da unidade neurovascular para limitar a passagem de moléculas polares ou moléculas grandes, como proteínas e peptídeos, para dentro ou fora do interstício cerebral. Entretanto, a BHC também impede

que muitos compostos terapêuticos entrem no cérebro, que possam interferir no tratamento eficaz de condições e doenças cerebrais. A BHC pode interferir na liberação de DREADDS e/ou ligantes ao cérebro e, assim, reduz ou impede o benefício terapêutico *in vivo*.

[013] Um método de auxílio de transporte de drogas terapêuticos através da BHC envolve a liberação de energia de ultrassom à BHC, o que "abre" a BHC e interfere na capacidade de a BHC impedir o transporte de agentes terapêuticos ao cérebro. Vide, por exemplo, Patente Norte-Americana Nº 5.752.515, que é direcionada à liberação de ultrassom guiada por imagem de compostos através da BHC. Em um aspecto, a alteração induzida nos tecidos e/ou fluidos do sistema nervoso central (SNC) por ultrassom é por aquecimento ou cavitação. Esse aquecimento ou cavitação pode apresentar uma desvantagem, uma vez que pode causar dano aos tecidos e, possivelmente, degradar os compostos que são liberados para o benefício terapêutico. Ultrassom também causa a degradação de compostos orgânicos. Vide, por exemplo, Bremner et al., *Current Organic Chemistry*, 15(2): 168-177 (2011) ("Bremner et al."). De acordo com Bremner et al., quando soluções aquosas forem irradiadas com ultrassom, a ligação H-O em água é clivada de maneira homolítica para formar radicais de hidroxila e átomos de hidrogênio. Esse processo é o resultado de cavitação, com a qual temperaturas e pressões muito altas são geradas dentro de uma bolha de implosão. Id. Da mesma forma, o uso de ultrassom em uma tentativa de abrir a BHC para causar ou aumentar a liberação de compostos terapêuticos ao cérebro, como DREADDS e ligantes discutidos acima, poderia degradá-los e interferir ou impedir o tratamento terapêutico.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[014] É provido um método de tratamento de um distúrbio convulsivo em um paciente que precisa disso que inclui administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado a uma localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado, e a administração ao paciente do ligante sintético. Nas realizações, o receptor é derivado de um receptor de acetilcolina muscarínico humano. Nas realizações, o receptor é um receptor unido à proteína G modificado. Nas realizações, o receptor modificado é hM4Di. Nas realizações, o receptor modificado é KORD. É provido um método de tratamento de um distúrbio convulsivo em um paciente que precisa que inclui a administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado a uma localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado, e a administração ao paciente do ligante sintético. Nas realizações, o receptor é derivado de um receptor de acetilcolina muscarínico humano. Nas realizações, o receptor é um receptor unido à proteína G modificado. Nas realizações, o receptor modificado é hM3Dq.

[015] Nas realizações, o vetor inclui um promotor, como um promotor de CaMKII (também denominado aqui um CaMKII murino). Nas realizações, o vetor inclui um promotor, como um promotor de CaMKII humano (também mencionado aqui como CaMK2a humano ou hCaMK2a). Nas

realizações, o vetor inclui um elemento regulatório pós-transcricional, como Elemento regulatório pós-transcricional do vírus da hepatite da marmota (WPRE). Nas realizações, o vetor inclui uma sequência de poliadenilação, como sequência de poliadenilação de hormônio bovino de crescimento (BGHpA). Nas realizações, o vetor inclui repetições terminais invertidas (ITRs). Nas realizações, o vetor inclui uma origem de replicação, como SV40/Ori. Nas realizações, o vetor inclui uma origem de replicação, como pUC19/Ori. Nas realizações, o vetor inclui um gene de resistência a ampicilina (Amp^R). Nas realizações, o vetor inclui um gene repórter de fluorescência. Nas realizações, o vetor é pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA. Nas realizações, o vetor é pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA. Nas realizações, o vetor é um vírus adenoassociado. Nas realizações, o vetor é um lentivírus.

[016] Nas realizações, o ligante sintético é N-óxido de clozapina. Nas realizações, o ligante sintético é perlapina. Nas realizações, o ligante sintético é administrado via oral, via bucal, via sublingual, via retal, via tópica, via intranasal, via vaginal ou via parenteral.

[017] Nas realizações, o vetor é liberado a uma localização alvo no cérebro do paciente. Nas realizações, a localização alvo é o lobo frontal, o lobo temporal, o lobo occipital ou o lobo parietal. Nas realizações, a via de administração do vetor é oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal ou parenteral. Nas realizações, o vetor é administrado diretamente à localização alvo através do crânio do paciente.

[018] Nas realizações, ultrassom é aplicado a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar

a permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo. É provido um método de tratamento de um distúrbio convulsivo em um paciente que precisa que inclui a aplicação de ultrassom a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar a permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo; administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético. Nas realizações, ultrassom é administrado antes de administrar o vetor ao paciente. Nas realizações, o vetor é administrado ao paciente antes de administrar ultrassom ao paciente. Nas realizações, ultrassom é administrado ao paciente antes de administrar o ligante sintético. Nas realizações, o método inclui a introdução de um agente de contraste ao paciente, permitindo tempo suficiente para que o agente de contraste permeie a barreira hematoencefálica e determinando se o agente de contraste está presente na localização alvo.

[019] É provido um método de tratamento de um distúrbio convulsivo em um paciente que precisa disso que inclui a aplicação de ultrassom a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar a permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo; administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor

modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético. Nas realizações, o ultrassom é administrado antes de administrar o vetor ao paciente. Nas realizações, o vetor é administrado ao paciente antes de administrar ultrassom ao paciente. Nas realizações, ultrassom é administrado ao paciente antes de administrar o ligante sintético.

[020] Nas realizações, a administração do vetor e ligante sintético a um paciente com um distúrbio convulsivo é associada a sintomas reduzidos do distúrbio convulsivo. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é caracterizado por convulsões focais. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é displasia cortical focal. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é epilepsia, epilepsia com convulsões tônico-clônicas generalizadas, epilepsia com ausências mioclônicas, epilepsia de lobo frontal, epilepsia de lobo temporal, epilepsia de lobo occipital, epilepsia de lobo parietal, Síndrome de Landau-Kleffner, Síndrome de Rasmussen, Síndrome de Dravet, Síndrome de Doose, distúrbio de CDKL5, espasmos infantis (síndrome de West), epilepsia mioclônica juvenil (JME), encefalopatia relacionada à vacina, epilepsia na infância intratável (ICE), síndrome de Lennox-Gastaut (LGS), síndrome de Rett, síndrome de Ohtahara, distúrbio de CDKL5, epilepsia de ausência da infância, tremor essencial, convulsões agudas repetitivas, epilepsia rolândica benigna, estado de mal epiléptico, estado de mal epiléptico refratário, estado de mal epiléptico super-refratário (SRSE), epilepsia pediátrica relacionada a PCDH19, convulsões induzidas por tumor cerebral, convulsões induzidas por hamartoma, convulsões induzidas por suspensão de droga,

convulsões induzidas por suspensão de álcool, atividade convulsiva aumentada ou convulsões de manifestação súbita. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é associado a um distúrbio relacionado à subunidade alfa (Scn1a) de proteína de canal de sódio tipo 1.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[021] A FIGURA 1 é um mapa de plasmídeo de pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA.

[022] As Figuras 2A, 2B e 2C retratam a sequência de nucleotídeos de pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA [SEQ ID NO:1].

[023] A FIGURA 3 retrata a sequência de aminoácidos de AAVRec3 [SEQ ID NO:2].

[024] A FIGURA 4 é um mapa de plasmídeo de pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA.

[025] As Figuras 5A, 5B e 5C retratam a sequência de nucleotídeos de pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA [SEQ ID NO:5].

[026] As Figuras 6A, 6B, 6C, 6D, 6E, 6F, 6G, 6H, 6I, 6J, e 6K são um retrato esquemático que apresenta a correspondência da localização de componentes de pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA e a sequência de nucleotídeos.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[027] São descritos aqui métodos e composições para tratar um distúrbio convulsivo que incluem administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente

do ligante sintético. Também são descritos aqui métodos e composições para tratar um distúrbio convulsivo em um paciente que precisa disso pela administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético. Nas realizações, o receptor modificado é hM4Di. Nas realizações, vetores que codificam hM4Di são administrados ao paciente tendo um distúrbio convulsivo. Nas realizações, o receptor modificado é hM3Dq. Nas realizações, vetores que codificam hM3Dq são administrados a um paciente tendo um distúrbio convulsivo. Nas realizações, o receptor modificado é KORD. Nas realizações, vetores que codificam KORD são administrados a um paciente tendo um distúrbio convulsivo. Nas realizações, os métodos e composições para tratar um distúrbio convulsivo incluem a aplicação de um ultrassom a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar a permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo.

[028] Nas realizações, os receptores modificados aqui são derivados de receptores que ocorrem naturalmente ativados normalmente por um ligante endógeno. Os receptores que ocorrem naturalmente são modificados de modo a não serem ativados pelo ligante endógeno, mas, ao contrário, serem ativados por um ligante sintético. Estes receptores modificados são conhecidos como Receptores sintéticos ativados exclusivamente por drogas sintéticas (DREADDs) ou receptores ativados somente por ligantes sintéticos (RASSLs).

DREADDs e RASSLS são mencionados aqui de maneira substituível.

[029] Nas realizações, receptores modificados, aqui, são derivados de receptores muscarínicos que ocorrem naturalmente normalmente ativados pelo ligante endógeno, acetilcolina. Os receptores que ocorrem naturalmente são modificados de modo a não serem ativados pelo ligante endógeno, mas, ao contrário, serem ativados por um ligante sintético, N-óxido de clozapina (CNO) ou perlapina. Estes DREADDs permitem o controle não invasivo de sinalização de neurônio pelas vias de sinalização unidas à proteína G G_q (hM3Dq) e G_i (hM4Di). hM3Dq é derivado do receptor M3 de acetilcolina muscarínico humano e ativa o disparo neuronal. Sem ater-se à teoria, acredita-se que hM3Dq ativa o disparo neuronal mediante estímulo de CNO ou perlapina, em parte, pela despolarização e elevação de níveis de cálcio intracelulares. Um hM3Dq que codifica plasmídeo (pcDNA5/FRT-HA-hM3D(Gq)) está comercialmente disponível da Addgene, 75 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139 como plasmídeo 45547. hM4Di é derivado do receptor M4 de acetilcolina muscarínico humano e inibe o disparo neuronal. Sem ater-se à teoria, acredita-se que hM4Di inibe o disparo neuronal mediante estímulo de CNO ou perlapina por meio da ativação de canais de potássio de retificação interna de proteína-G (GIRK). Quando ligados, por exemplo, por CNO, a hiperpolarização de membrana resulta por uma redução na sinalização de cAMP e ativação aumentada de canais de potássio de retificação interna. Isso produz uma supressão temporária de atividade neuronal. Um plasmídeo que codifica hM4Di (pcDNA5/FRT-HA-hM4D(Gi)) está comercialmente disponível

da Addgene, 75 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139 como plasmídeo 45548. Outro receptor modificado aqui é um DREADD unido a G_i derivado do receptor Opióide Kappa (KOR) que é somente ativado pelo ligante sintético salvinorina B (SALB). O receptor modificado é conhecido como KORD. KORD é insensível a agonistas opióide endógenos. A ativação de KORD inibe o disparo neuronal. Vide, Vardy et al., *Neuron*, 86(4) (2015) 936-946.

[030] Diversos receptores unidos à proteína G são conhecidos por ativarem GIRKs e podem ser utilizados aqui, incluindo, por exemplo, os receptores muscarínicos M_2 , de adenosina A_1 , adrenérgicos α_2 , de dopamina D_2 , opióides μ e δ , de serotonina $5-HT_{1A}$, de somatostatina, de galanina, m-Glu, $GABA_B$, e de esfingosina-1-fosfato.

[031] Qualquer vetor adequado conhecido aos técnicos no assunto pode ser utilizado para liberar os receptores modificados aqui a uma localização alvo no cérebro. Com essa liberação, os neurônios nas localizações alvo são transfectados com receptores modificados e podem ser feitos para responder a ligantes sintéticos. Nas realizações, neurônios em uma localização alvo são transfectados com hM3Dq, hM4Di ou KORD por qualquer vetor adequado conhecido a um técnico no assunto.

[032] Construções de ácido nucleico para a expressão de hM3Dq, hM4Di ou KORD podem ser produzidas de maneira recombinante. Esses vetores de expressão são providos aqui. Os vetores de expressão são um ácido nucleico transportador ao qual uma sequência de ácido nucleico pode ser inserida para a introdução a uma célula onde pode ser replicada. Vetores de expressão incluem plasmídeos,

cosmídeos, vírus recombinantes, como vírus adenoassociado (AAV), adenovírus, retrovírus, poxvírus, e outros vírus conhecidos na técnica (bacteriófago, vírus animais, e vírus vegetais), e cromossomos artificiais (por exemplo, YACs). Um técnico no assunto em questão é bem equipado para construir vetores que expressão por meio de técnicas recombinantes padrão. Nas realizações, um vetor de expressão incluindo ácido nucleico que codifica hM3Dq, hM4Di ou KORD é liberado às células de um paciente. As moléculas de ácido nucleico são liberadas às células de um paciente em uma forma na qual podem ser captados e são vantajosamente expressos de modo que níveis terapeuticamente eficazes possam ser alcançados. Com essa liberação, neurônios nas localizações alvo são transfectados com hM3Dq, hM4Di ou KORD e podem ser feitos para responderem a ligantes sintéticos, de modo que níveis terapeuticamente eficazes de ativação ou inibição possam ser alcançados.

[033] Nas realizações, o vetor pode ser um vetor de integração estável ou um vetor sem integração estável. Exemplos de vetores adequados são lentivírus e vírus adenoassociados (AAV). Lentivírus são uma subclasse de retrovírus. Lentivírus podem se integrar ao genoma de células que não se dividem, como neurônios. Lentivírus são caracterizados por infecção de alta eficiência, expressão estável de transgenes em longo prazo e baixa imunogenicidade. Nas realizações, vetores lentivirais podem ser utilizados para liberar genes de receptor de hM3Dq, hM4Di ou KORD ao cérebro.

[034] AAV é um parvovírus defectivo conhecido por infectar muitos tipos celulares e é não patogênico a

humanos. AAV pode infectar células de divisão e sem divisão. Nas realizações, vetores de AAV podem ser utilizados aqui para liberar genes receptores de hM3Dq, hM4Di ou KORD ao cérebro. Quaisquer dos vírus adenoassociados (AAV) conhecidos podem ser aqui utilizados, por exemplo, AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV8, e AAV9 podem ser utilizados em conexão com neurônios. AAVRec3 também podem ser utilizados em conexão com os neurônios. Sorotipos de AAV adequados adicionais foram desenvolvidos por meio de pseudotipagem, ou seja, misturando o capsídeo e genoma de diferentes sorotipos virais. Da mesma forma, por exemplo, AAV2/7 indica um vírus contendo o genoma do sorotipo 2 agrupado no capsídeo do sorotipo 7. Outros exemplos são AAV2/5, AAV2/8, AAV2/9 etc. Vírus adenoassociado autocomplementar (scAAV) também pode ser utilizado como vetores. Enquanto AAV agrupa um único filamento de DNA e requer processo de síntese de segundo filamento, scAAV agrupa ambos os filamentos que se reformulam para formar DNA dupla-fita. Ao pular a síntese de segundo filamento, scAAV permite a rápida expressão na célula.

[035] Vetores adequados podem ser construídos pelos técnicos no assunto em questão utilizando técnicas conhecidas. Vetores adequados podem ser escolhidos ou construídos, contendo, além de genes que codificam receptores modificados, sequências reguladoras adequadas, incluindo sequências promotoras, fragmentos terminadores, sequências de poliadenilação, genes marcadores e outras sequências, conforme adequado. Os técnicos no assunto são familiares com as sequências reguladoras adequadas, incluindo sequências promotoras, fragmentos terminadores, sequências de poliadenilação, genes marcadores e outras sequências

adequadas. Vetores de expressão, aqui, incluem sequências adequadas ligadas de maneira operacional à sequência de codificação ou ORF para promover sua expressão em uma célula hospedeira alvo. Sequências "ligadas de maneira operacional" incluem sequências de controle de expressão, como promotores que são contíguos com as sequências de codificação e sequências de controle de expressão que agem trans ou distalmente para controlar a expressão do produto desejado.

[036] Tipicamente, o vetor inclui um promotor para facilitar a expressão do DNA que codifica o receptor modificado dentro da célula alvo. O promotor pode ser selecionado dentre diversos promotores constitutivos ou induzíveis que podem acionar a expressão do transgene selecionado no cérebro. Exemplos de promotores constitutivos incluem um promotor de CaMKII murino ou humano, elemento intensificador precoce imediato de CMV/promotor exon 1-intron 1 de beta-actina de galinha (CBA), promotor/intensificador de RSV LTR, promotor de SV40, promotor de CMV, promotor de di-hidrofolato redutase (DHFR), e promotor de fosfoglicerol quinase (PGK).

[037] A especificidade pode ser alcançada peça expressão regional ou específica por tipo celular do receptor exclusivamente, por exemplo, utilizando um promotor específico de tecido ou região. Elementos promotores de gene de vírus podem ajudar a ditar o tipo de células que expressam receptores modificados, por exemplo, hM3Dq, hM4Di ou KORD. Alguns promotores são não específicos (por exemplo, CAG, um promotor sintético), enquanto outros são neuronal-específicos (por exemplo, sinapsina; hSyn), ou preferenciais a tipos de neurônio específicos, por exemplo, dinorfina, encefalina,

GFAP (Proteína ácida fibrilar Glial) que é preferencial a astrócitos, ou CaMKIIa ou hCaM2a, que são preferenciais a células corticais glutamatérgicas, mas também podem focar células subcorticais GABAérgicas. O promotor de CAG é um promotor sintético forte que pode ser utilizado para acionar altos níveis de expressão. O promotor de CAG consiste em 1) um elemento intensificador precoce de citomegalovírus (CMV), 2) o promotor, o primeiro exon e o primeiro intron do gene beta-actina de galinha, e 3) o aceitante de junção do gene beta-globina de coelho.

[038] Nas realizações, o promotor é o promotor de CamkII (gene alfa CaM quinase II) murino ou humano, que pode acionar a expressão no encéfalo frontal. Nas realizações, o promotor de CaMKII é derivado de α -Cálcio murino/de quinase II dependente de calmodulina (CaMKII), um gene com expressão direcionada a neurônios excitatórios no neocórtex e hipocampo. Conforme aqui utilizado, a menos que declarado de outra forma, "CaMKII" se refere a CaMKII murino. Nas realizações, o promotor de CaMKII é derivado de α -Cálcio humano/quinase II dependente de calmodulina (hCaMKII). O promotor de hCaMKII também é mencionado aqui como "promotor de CaMK2A humano" ou "promotor de hCaMK2A". Outros promotores específicos ao tipo celular neuronal incluem o promotor de NSE, promotor de tirosina hidroxilase, promotor de proteína mielina básica, proteína ácida fibrilar Glial promotor, e promotores de gene de neurofilamentos (pesado, médio, leve).

[039] As sequências de controle de expressão também podem incluir as sequências iniciadoras, de terminação e intensificadoras de transcrição adequada; sinais de processamento eficientes, como sinais de junção e

poliadenilação; sequências que estabilizam ácidos nucleicos citoplasmáticos; sequências que intensificam a eficiência de transformação (por exemplo, sequência de consenso de Kozak); sequências que intensificam a estabilidade de ácido nucleico ou proteína; e quando desejado, sequências que intensificam processamento e/ou secreção de produto. Muitas sequências de controle de expressão variadas, incluindo naturais e não naturais, constitutivas, induzíveis e/ou específicas a tecido, são conhecidas na técnica e podem ser utilizadas aqui dependendo do tipo de expressão desejado.

[040] Além de promotores, sequências de controle de expressão para células eucarióticas tipicamente incluem um intensificador, como um derivado de um gene de imunoglobulina, SV40, CMV etc., e uma sequência de poliadenilação que pode incluir sítios doadores e aceitantes de junção. A sequência de poliadenilação é geralmente inserida 3' à sequência de codificação e 5' a 3' sequência de ITR. Exemplos ilustrativos de sinais de poliA que podem ser utilizados em um vetor aqui incluem sequência poliA (por exemplo, AATAAA, ATTAAA, ou AGTAAA), uma sequência poliA de hormônio bovino de crescimento (BGHpA), uma sequência poliA de beta-globina de coelho (rβgpA), ou outra sequência poliA heteróloga ou endógena adequada conhecida na técnica.

[041] Sequências reguladoras úteis aqui também podem conter um intron, como o localizado entre a sequência promotora/intensificadora e a sequência de codificação. Uma sequência intron útil é derivada de SV40, e é mencionada como sequência intron SV40 T. Outro inclui o elemento pós-transcricional do vírus da hepatite da marmota. WPRE é uma sequência de DNA que, quando transcrita, cria uma estrutura

terciária que intensifica a expressão.

[042] Vetores, aqui, podem conter genes repórteres, por exemplo, os que codificam fluoróforos. Um fluoróforo é um composto fluorescente que pode reemitir a luz mediante excitação, comumente, em frequências específicas. Eles podem ser utilizados como uma identificação ou marcador que pode ser incluído, por exemplo, a uma proteína para permitir que a proteína seja localizada. Muitos fluoróforos são conhecidos na técnica. Eles podem ser categorizados pela cor que emitem, por exemplo, azul, ciano, verde, amarelo, laranja, vermelho e outras. Por exemplo, mCherry, mRaspberry, mTomato e mRuby são proteínas de fluoróforo vermelho; citrina, vênus, e EYFP são proteínas de fluoróforo amarelo. Proteína fluorescente verde (GFP) é um fluoróforo comumente utilizado.

[043] Os vetores a seguir incluem receptores modificados de hM3Dq ou hM4Di, são adequados para uso aqui e são comercialmente disponíveis da Addgene, 75 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139: pAAV-GFAP-hM4D(Gi)-mCherry - DREADD de hM4D unido a Gi fundido com mCherry sob o controle de promotor de GFAP (50479); pAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mCherry - DREADD de hM3D unido a Gq fundido com mCherry sob o controle de promotor de GFAP (50478); pAAV-CaMKIIa-hM4D(Gi)-mCherry - DREADD de hM4D unido a Gi fundido com mCherry sob o controle de promotor de CaMKIIa (50477); pAAV-CaMKIIa-hM3D(Gq)-mCherry - DREADD de hM3D unido a Gq fundido a mCherry sob o controle de promotor de CaMKIIa (50476); pAAV-hSyn- hM4D(Gi)-mCherry - DREADD de hM4D unido a Gi fundido com mCherry sob o controle de promotor de sinapsina humano (50475); pAAV-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry - DREADD de hM3D unido à Gq fundido com mCherry sob o

controle de promotor de sinapsina humano (50474); pAAV-GFAP-HA-hM4D(Gi)-IRES-mCitrina - hM4D-IRES-mCitrina unido a Gi sob o controle de promotor de GFAP - contém uma Identificação de HA (50471); pAAV-GFAP-HA-hM3D(Gq)-IRES-mCitrina - hM3D-IRES-mCitrina unido a Gq sob o controle de promotor de GFAP - contém uma Identificação de HA (50470); pAAV-CaMKIIa-HA-hM4D(Gi)-IRES-mCitrina - hM4D-IRES-mCitrina unida a Gi sob o controle de promotor de CaMKIIa (50467); pAAV-CaMKIIa-HA-hM3D(Gq)-IRES-mCitrina - hM3D-IRES-mCitrina unido a Gq sob o controle de promotor de CaMKIIa (50466); pAAV-hSyn-HA-hM4D(Gi)-IRES-mCitrina - hM4D-IRES-mCitrina unido a Gi sob o controle de promotor de sinapsina humano (50464); e pAAV-hSyn-HA-hM3D(Gq)-IRES-mCitrina - hM3D-IRES-mCitrina unido a Gq sob o controle de promotor de sinapsina humano (50463). Hemaglutinina de influenza humana (HA) é uma glicoproteína de superfície requerida para a infectividade do vírus de influenza humano. A identificação HA é derivada da molécula de HA correspondente aos aminoácidos 98-106. Foi utilizada de maneira ampla como uma identificação de epítipo geral nos vetores de expressão.

[044] Nas realizações, o vetor de expressão é pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA. Um mapa de plasmídeo de pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA é retratado na FIGURA 1. A sequência de ácido nucleico [SEQ ID NO:1] é apresentada nas Figuras 2A, 2B e 2C. A TABELA I anota pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA.

TABELA I

<u>Nome</u>	<u>Tipo</u>	<u>Mínimo</u>	<u>Máximo</u>	<u>Extensão</u>	<u>Direção</u>
AmpR	CDS	5381	6241	861	reversa
pUC19\Ori	rep_origin	4468	5255	788	reversa

SV40\Ori	rep_origin	4047	4382	336	reversa
ITR	LTR	3864	4046	183	direta
BGHpA	polyA_signal	3586	3854	269	direta
WPRE	misc_feature	2975	3567	593	direta
hM4D(Gi)	CDS	1530	2968	1439	direta
CaMKII	promotor	195	1483	1289	direta
ITR	LTR	1	183	183	direta

[045] Para construir pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA, um fragmento contendo região de codificação de hM4D(Gi) de extensão completa (1.437 bp) do plasmídeo pAAV-CaMKIIa-hM4D(Gi)-mCherry (N^o Cat.: 50477, Depositing lab Bryan Roth) comercialmente disponível de AddGene, 75 Sidney Street, Cambridge, Massachusetts 02139, é amplificado por PCR utilizando os seguintes iniciadores:

ATC TAG GAA TTC ATG GCC AAC TTC ACA CCT GTC [SEQ ID NO:3] Direto

ATC TAG AAG CTT CTA CCT GGC AGT GCC GAT GTT CCG [SEQ ID NO:4] Reverso

[046] O Primer direto é estendido com sítio de restrição EcoRI e com 6 nucleotídeos protetores. O Primer reverso é estendido com o códon de parada TAG original de hM4D (complemento reverso - CTA) seguido por sítio de restrição HindIII e 6 nucleotídeos protetores. 1.461 bp de fragmento de PCR é cortado com EcoRI + HindIII e inserido ao plasmídeo pAM/CaMKII-pL-WPRE-bGHpA cortado com as mesmas enzimas de restrição. A integridade do cassete de expressão é confirmada por sequenciamento.

[047] Nas realizações, o vetor de expressão é pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA. Um mapa de plasmídeo de pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA é retratado na FIGURA 4. A

sequência de ácido nucleico [SEQ ID NO:5] é apresentada nas FIGURAS 5A, 5B e 5C. A TABELA II comenta pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA.

TABELA II

<u>Nome</u>	<u>Tipo</u>	<u>Mínimo</u>	<u>Máximo</u>	<u>Extensão</u>	<u>Direção</u>
AmpR	CDS	5421	6281	861	reverso
pUC19\Ori	rep_origin	4508	5295	788	reverso
SV40\Ori	rep_origin	4087	4422	336	reverso
ITR	LTR	3904	4086	183	direto
BGHpA	polyA_signal	3626	3894	269	direto
WPRE	misc_feature	3015	3607	593	direto
hM4D(Gi)	CDS	1570	3008	1439	direto
hCaMK2A	promotor	244	1545	1302	direto
ITR	LTR	1	183	183	direto

[048] As Figuras 6A - 6K são uma representação esquemática que apresenta correspondência entre a localização de componentes de pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA e a sequência de nucleotídeos.

[049] Nas realizações, o vetor de pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA ou o vetor de pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA. aqui descritos junto a ligantes sintéticos, são utilizados para tratar distúrbios convulsivos. Distúrbios convulsivos, incluindo os que envolvem convulsões parciais complexas, por exemplo, epilepsia de lobo temporal (TLE) pode ser uma das formas mais refratárias de epilepsia. Em determinados casos, um lobo temporal pode ser definido como o sítio da origem da convulsão (a região epileptogênica) e o lobo temporal medial, incluindo o hipocampo anterior pode ser focalizado de acordo com os métodos aqui. Distúrbios convulsivos podem resultar de um desequilíbrio entre

excitação e inibição. O antagonismo de excitação e a intensificação de inibição podem prover melhora de pelo menos um sintoma do distúrbio convulsivo.

[050] Exemplos de distúrbios convulsivos incluem epilepsia, epilepsia com convulsões tônico-clônicas generalizadas, epilepsia com ausências mioclônicas, epilepsia de lobo frontal, epilepsia de lobo temporal, Síndrome de Landau-Kleffner, Síndrome de Rasmussen, Síndrome de Dravet, Síndrome de Doose, distúrbio de CDKL5, espasmos infantis (síndrome de West), epilepsia mioclônica juvenil (JME), encefalopatia relacionada à vacina, epilepsia na infância intratável (ICE), síndrome de Lennox-Gastaut (LGS), síndrome de Rett, síndrome de Ohtahara, distúrbio de CDKL5, epilepsia de ausência da infância, tremor essencial, convulsões agudas repetitivas, epilepsia rolândica benigna, estado de mal epiléptico, estado de mal epiléptico refratário, estado de mal epiléptico super-refratário (SRSE), epilepsia pediátrica relacionada a PCDH19, convulsões induzidas por tumor cerebral, convulsões induzidas por hamartoma, convulsões induzidas por suspensão de droga, convulsões induzidas por suspensão de álcool, atividade convulsiva aumentada ou convulsões de manifestação súbita (também denominadas convulsões em série ou agrupadas). Nas realizações, o distúrbio convulsivo é associado a um distúrbio relacionado à subunidade alfa (Scn1a) de proteína de canal de sódio tipo 1. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é caracterizado por convulsões focais. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é displasia cortical focal. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo 1. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo Ia. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo Ib. Nas realizações, a FCD é

FCD de Tipo Ic. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo II. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo IIa. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo IIb. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo III. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo IIIa. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo IIIb. Nas realizações, a FCD é FCD de Tipo IIIc. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é associado a um tumor cerebral, ou seja, convulsões induzidas por tumor cerebral, como um ganglioglioma, um glioma - baixo grau e alto grau, incluindo astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico, oligoastrocitoma anaplásico, ependimoma anaplásico, a glioblastoma, ou **um** meningioma. Nas realizações, o distúrbio convulsivo é associado a hamartomas cerebrais, ou seja, convulsões induzidas por hamartoma, como Complexo da Esclerose Tuberosa (TSC) ou Hamartoma de túbere cinéreo.

[051] Nas realizações, o distúrbio convulsivo é estado de mal epiléptico (SE). SE é caracterizado por uma convulsão epiléptica de mais que cinco minutos ou mais de uma convulsão dentro de um período de cinco minutos, sem a pessoa retornar ao normal entre elas. SE pode ser uma condição perigosa que pode levar à mortalidade se o tratamento for tardio. SE pode ser convulsivo, com um padrão regular de contração e extensão dos braços e das pernas, ou não convulsivo, com uma alteração no nível de consciência da pessoa de duração relativamente longa, mas sem flexão e extensão de larga escala dos membros devido à atividade convulsiva. SE convulsivo (CSE) pode ser ainda classificado em (a) SE Tônico-clônica, (b) SE tônica, (c) SE clônica e (d) SE mioclônica. SE não convulsivo (NCSE) é caracterizado por estado mental anormal, não responsividade, anormalidades

motoras oculares, convulsões eletrográficas persistentes, e possível resposta a anticonvulsivos.

[052] Sintomas de um distúrbio convulsivo podem incluir, entre outros, episódios envolvendo ataxia, comprometimento de marcha, comprometimento de fala, vocalização, riso involuntário, comprometimento cognitivo, atividade motora anormal, convulsão clínica, convulsão subclínica, hipotonia, hipertonia, sialorreia, comportamento de articulação de boca, aura, movimentos repetitivos, e sensações incomuns. Nas realizações, os métodos e composições providos podem reduzir ou impedir um ou mais tipos diferentes de convulsões. De modo geral, uma convulsão pode incluir movimentos repetitivos, sensações incomuns, e combinações destes. Convulsões podem ser categorizadas como convulsões focais (também mencionadas como convulsões parciais) e convulsões generalizadas. Convulsões focais afetam somente um lado do cérebro, enquanto convulsões generalizadas afetam ambos os lados do cérebro. Tipos específicos de convulsões focais incluem convulsões focais simples, convulsões focais complexas, e convulsões secundariamente generalizadas. Convulsões focais simples podem ser restritas ou focalizadas a um lobo particular (por exemplo, lobo temporal, lobo frontal, lobo parietal, ou lobo occipital). Convulsões focais complexas geralmente afetam uma parte maior de um hemisfério do que convulsões focais simples, mas se originam comumente no lobo temporal ou no lobo frontal. Quando uma convulsão focal se dissemina de um lado (hemisfério) a ambos os lados do cérebro, a convulsão é mencionada como uma convulsão secundariamente generalizada. Tipos específicos de convulsões generalizadas incluem ausências (também mencionadas como

convulsões de pequeno mal), convulsões tônicas, convulsões atônicas, convulsões mioclônicas, convulsões tônico-clônicas (também mencionadas como convulsões de grande mal), e convulsões clônicas. Métodos de tratamento aqui podem incluir a provisão de melhora de um ou mais dos sintomas acima.

[053] Uma vez que foi feita a determinação da localização ou de uma localização suspeita de impulsos elétricos anormais associados a um distúrbio convulsivo em um paciente, tratamento focalizado de acordo com a presente revelação pode ser implementado. Métodos de determinação da localização de atividade elétrica anormal no cérebro são bem conhecidos na técnica. Embora qualquer área que apresente eletricidade anormal no cérebro possa ser focalizada para tratamento aqui, áreas do cérebro que são conhecidas por serem associadas a distúrbios convulsivos e que podem receber tratamento focalizado incluem, entre outras, o lobo temporal, o lobo frontal, o lobo occipital e o lobo parietal. Por exemplo, os lobos temporais podem ser um sítio comum de convulsões epiléticas localizadas. Em determinados casos, convulsões que começam nos lobos temporais podem se estender a outras partes do cérebro. Nas realizações, áreas específicas do lobo temporal que podem ser focalizadas para tratamento incluem estruturas do sistema límbico, como o hipocampo, córtex auditivo-vestibular, o lobo temporal medial, e a amígdala. Nas realizações, áreas específicas do lobo occipital também podem ser focalizadas, por exemplo, o córtex visual primário. Nas realizações, áreas específicas do lobo parietal podem ser focalizadas, por exemplo, o giro pós-central lateral. Nas realizações, a localização do córtex somatossensorial primário que pode ser focalizado. Nas

realizações, áreas específicas do lobo frontal podem ser focalizadas, por exemplo, o córtex motor, o córtex olfativo-gustativo. Nas realizações, amplas áreas do cérebro que foram identificadas como apresentando atividade elétrica anormal podem ser focalizadas. Em determinados casos, manifestações de distúrbios convulsivos podem se iniciar dentro de determinadas áreas do cérebro e disseminar a outras. Por exemplo, manifestações de distúrbios convulsivos podem se iniciar dentro do hipocampo ou suas estruturas ao redor. Nas realizações, áreas determinadas por serem o sítio de origem da atividade elétrica anormal podem ser focalizadas.

[054] Métodos para administrar materiais diretamente às localizações alvo dentro do cérebro são bem conhecidos. Por exemplo, um orifício, por exemplo, orifício de trepanação, pode ser perfurado no crânio e uma agulha adequadamente dimensionada pode ser utilizada para liberar um vetor a uma localização alvo. Nas realizações, uma parte do crânio pode ser removida para expor a dura-máter (craniotomia) na ou próxima a uma localização alvo e um vetor pode ser administrado diretamente à localização alvo. Nas realizações, um vetor é injetado de maneira intracraniana utilizando coordenadas esterotáticas, uma micropipeta e uma bomba automática para a liberação precisa do vetor à área desejada com dano mínimo ao tecido ao redor. Nas realizações, uma microbomba pode ser utilizada para liberar composições farmacêuticas contendo um vetor que codifica hM3Dq, hM4Di ou KORD a áreas alvo no cérebro. As composições podem ser liberadas imediatamente ou por um período de tempo estendido, por exemplo, por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais minutos. Após a liberação de vetor a uma localização alvo no

cérebro por uma quantidade suficiente de tempo pode ser permitida que se passe para permitir a expressão de hM3Dq, hM4Di ou KORD na localização alvo.

[055] Nas realizações, composições farmacêuticas contendo vetores aqui podem ser administradas de maneira sistêmica. A liberação sistêmica inclui modos de administração oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral. Exemplos de modos de administração parenteral incluem modos de administração intravenosa, intraperitoneal, intramuscular e subcutânea. Nas realizações, o vetor circulará até contatar a(s) localização(ões) alvo no cérebro, onde se libera o ácido nucleico que codifica hM3Dq, hM4Di ou KORD e faz com que hM3Dq, hM4Di ou KORD seja expresso e aja, por exemplo, para modular redes de sinalização neuronal, quando ativado por ligantes sintéticos.

[056] Conforme mencionado anteriormente, ligantes sintéticos aqui incluem N-óxido de clozapina (CNO), perlapina. CNO também pode ser mencionado como N-óxido de 8-cloro-11-(4-metil-1-piperazinil)-5H-dibenzo[b,e](1,4)diazepina. Nas realizações, CNO pode ser administrado diretamente a uma localização alvo no cérebro por quaisquer meios conhecidos para administrar materiais ao cérebro, por exemplo, injeção direta. Nas realizações, CNO pode ser administrado de maneira sistêmica ao paciente. Liberação sistêmica inclui modos de administração oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral. Exemplos de modos de administração parenteral incluem modos de administração intravenosa, intraperitoneal, intramuscular e subcutânea.

[057] Dosagens de CNO eficazes adequadas podem variar com base nos níveis de expressão de receptor de DREADD, tipos de célula infectadas, duração de ativação de DREADD desejada, e as espécies sendo tratadas. Nas realizações, a administração de CNO pode variar de 0,1 a 50 mg/kg. Nas realizações, composições farmacêuticas contendo CNO para tratar um distúrbio convulsivo podem incluir CNO em uma quantidade de, por exemplo, cerca de 0,01 a 500 mg, 0,1 a 500 mg, 0,1 a 450 mg, 0,1 a 300 mg, 0,1 a 250 mg, 0,1 a 200 mg, 0,1 a 175 mg, 0,1 a 150 mg, 0,1 a 125 mg, 0,1 a 100 mg, 0,1 a 75 mg, 0,1 a 50 mg, 0,1 a 30 mg, 0,1 a 25 mg, 0,1 a 20 mg, 0,1 a 15 mg, 0,1 a 10 mg, 0,1 a 5 mg, 0,1 a 1 mg, 0,5 a 500 mg, 0,5 a 450 mg, 0,5 a 300 mg, 0,5 a 250 mg, 0,5 a 200 mg, 0,5 a 175 mg, 0,5 a 150 mg, 0,5 a 125 mg, 0,5 a 100 mg, 0,5 a 75 mg, 0,5 a 50 mg, 0,5 a 30 mg, 0,5 a 25 mg, 0,5 a 20 mg, 0,5 a 15 mg, 0,5 a 10 mg, 0,5 a 5 mg, 0,5 a 1 mg, 1 a 500 mg, 1 a 450 mg, 1 a 300 mg, 1 a 250 mg, 1 a 200 mg, 1 a 175 mg, 1 a 150 mg, 1 a 125 mg, 1 a 100 mg, 1 a 75 mg, 1 a 50 mg, 1 a 30 mg, 1 a 25 mg, 1 a 20 mg, 1 a 15 mg, 1 a 10 mg, 1 a 5 mg, 5 a 500 mg, 5 a 450 mg, 5 a 300 mg, 5 a 250 mg, 5 a 200 mg, 5 a 175 mg, 5 a 150 mg, 5 a 125 mg, 5 a 100 mg, 5 a 75 mg, 5 a 50 mg, 5 a 30 mg, 5 a 25 mg, 5 a 20 mg, 5 a 15 mg, 5 a 10 mg, 10 a 500 mg, 10 a 450 mg, 10 a 300 mg, 10 a 250 mg, 10 a 200 mg, 10 a 175 mg, 10 a 150 mg, 10 a 125 mg, 10 a 100 mg, 10 a 75 mg, 10 a 50 mg, 10 a 30 mg, 10 a 25 mg, 10 a 20 mg, 10 a 15 mg, 15 a 500 mg, 15 a 450 mg, 15 a 300 mg, 15 a 250 mg, 15 a 200 mg, 15 a 175 mg, 15 a 150 mg, 15 a 125 mg, 15 a 100 mg, 15 a 75 mg, 15 a 50 mg, 15 a 30 mg, 15 a 25 mg, 15 a 20 mg, 20 a 500 mg, 20 a 450 mg, 20 a 300 mg, 20 a 250 mg, 20 a 200 mg, 20 a 175 mg, 20 a 150 mg, 20 a 125 mg, 20 a

100 mg, 20 a 75 mg, 20 a 50 mg, 20 a 30 mg, 20 a 25 mg, 25 a 500 mg, 25 a 450 mg, 25 a 300 mg, 25 a 250 mg, 25 a 200 mg, 25 a 175 mg, 25 a 150 mg, 25 a 125 mg, 25 a 100 mg, 25 a 80 mg, 25 a 75 mg, 25 a 50 mg, 25 a 30 mg, 30 a 500 mg, 30 a 450 mg, 30 a 300 mg, 30 a 250 mg, 30 a 200 mg, 30 a 175 mg, 30 a 150 mg, 30 a 125 mg, 30 a 100 mg, 30 a 75 mg, 30 a 50 mg, 40 a 500 mg, 40 a 450 mg, 40 a 400 mg, 40 a 250 mg, 40 a 200 mg, 40 a 175 mg, 40 a 150 mg, 40 a 125 mg, 40 a 100 mg, 40 a 75 mg, 40 a 50 mg, 50 a 500 mg, 50 a 450 mg, 50 a 300 mg, 50 a 250 mg, 50 a 200 mg, 50 a 175 mg, 50 a 150 mg, 50 a 125 mg, 50 a 100 mg, 50 a 75 mg, 75 a 500 mg, 75 a 450 mg, 75 a 300 mg, 75 a 250 mg, 75 a 200 mg, 75 a 175 mg, 75 a 150 mg, 75 a 125 mg, 75 a 100 mg, 100 a 500 mg, 100 a 450 mg, 100 a 300 mg, 100 a 250 mg, 100 a 200 mg, 100 a 175 mg, 100 a 150 mg, 100 a 125 mg, 125 a 500 mg, 125 a 450 mg, 125 a 300 mg, 125 a 250 mg, 125 a 200 mg, 125 a 175 mg, 125 a 150 mg, 150 a 500 mg, 150 a 450 mg, 150 a 300 mg, 150 a 250 mg, 150 a 200 mg, 200 a 500 mg, 200 a 450 mg, 200 a 300 mg, 200 a 250 mg, 250 a 500 mg, 250 a 450 mg, 250 a 300 mg, 300 a 500 mg, 300 a 450 mg, 300 a 400 mg, 300 a 350 mg, 350 a 500 mg, 350 a 450 mg, 350 a 400 mg, 400 a 500 mg, 400 a 450 mg, sendo exemplos 0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 15 mg, 17,5 mg, 20 mg, 22,5 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg e 500 mg. Dosagens adequadas de CNO podem ser administradas a um paciente tendo um distúrbio convulsivo uma, duas, três, quatro vezes, cinco ou seis vezes ao dia, em dias alternados, uma vez por semana,

uma vez por mês.

[058] Nas realizações, CNO é administrado a um paciente tendo um distúrbio convulsivo duas vezes ao dia, (por exemplo, manhã e noite), ou três vezes ao dia (por exemplo, manhã, tarde e na hora de dormir), em uma dose de 0,1 a 200 mg/administração. Nas realizações, CNO é administrado a um paciente tendo um distúrbio convulsivo 1000 mg/ao dia, 600 mg/dia, 550 mg/dia, 500 mg/dia, 450 mg/dia, 400 mg/dia, 350 mg/dia, 300 mg/dia, 250 mg/dia, 225 mg/dia, 200 mg/dia, 190 mg/dia, 180 mg/dia, 170 mg/dia, 160 mg/dia, 150 mg/dia, 140 mg/dia, 130 mg/dia, 120 mg/dia, 110 mg/dia, 100 mg/dia, 95 mg/dia, 90 mg/dia, 85 mg/dia, 80 mg/dia, 75 mg/dia, 70 mg/dia, 65 mg/dia, 60 mg/dia, 55 mg/dia, 50 mg/dia, 45 mg/dia, 40 mg/dia, 35 mg/dia, 30 mg/dia, 25 mg/dia, 20 mg/dia, 15 mg/dia, 10 mg/dia, 5 mg/dia, 4 mg/dia, 3 mg/dia, 3 mg/dia, 2 mg/dia, 1 mg/dia, em uma ou mais doses. Nas realizações, uma dose para adultos pode ser de aproximadamente 0,05 a 500 mg ao dia e pode ser aumentada para 750 mg ao dia. As dosagens podem ser menores para bebês e crianças do que para adultos. Nas realizações, uma dose para bebê ou pediátrica pode ser de aproximadamente 0,1 a 50 mg ao dia uma vez ou em 2, 3 ou 4 doses divididas. Nas realizações, uma dose pediátrica pode ser de 0,75 mg/kg/dia a 1,5 mg/kg/dia. Nas realizações, o paciente pode iniciar em uma baixa dose e a dosagem é escalada ao longo do tempo.

[059] Perlapina também pode ser administrada como um ligante sintético. Perlapina também pode ser mencionada como 6-(4-Metil-1-piperazinil)-11H-dibenz[b,e]azepina, ou 6-(4-metulpiperazin-1-il) morfantridina. Nas realizações, perlapina pode ser

administrada diretamente a uma localização alvo no cérebro por quaisquer meios para administrar materiais ao cérebro, por exemplo, injeção direta. Nas realizações, perlapina pode ser administrada de maneira sistêmica ao paciente. Liberação sistêmica inclui modos de administração oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral. Exemplos de modos e administração parenteral incluem modos de administração intravenosa, intraperitoneal, intramuscular e subcutânea.

[060] As dosagens de perlapina eficazes adequadas podem variar com base em níveis de expressão de receptor de DREADD, tipos de célula infectada, duração da ativação de DREADD desejada, e as espécies sendo tratadas. Nas realizações, a administração de perlapina pode variar de 0,01 a 1 mg/kg.

[061] Nas realizações, composições farmacêuticas contendo perlapina para tratar um distúrbio convulsivo pode incluir perlapina em uma quantidade de, por exemplo, 0,1 mg a 75 mg, 0,1 mg a 70 mg, 0,1 mg a 65 mg, 0,1 mg a 55 mg, 0,1 mg a 50 mg, 0,1 mg a 45 mg, 0,1 mg a 40 mg, 0,1 mg a 35 mg, 0,1 mg a 30 mg, 0,1 mg a 25 mg, 0,1 mg a 20 mg, 0,1 mg a 15 mg, 0,1 mg a 10 mg, 0,5 mg a 75 mg, 0,5 mg a 70 mg, 0,5 mg a 65 mg, 0,5 mg a 55 mg, 0,5 mg a 50 mg, 0,5 mg a 45 mg, 0,5 mg a 40 mg, 0,5 mg a 35 mg, 0,5 mg a 30 mg, 0,5 mg a 25 mg, 0,5 mg a 20 mg, 0,5 a 15 mg, 0,5 a 10 mg, 1 mg a 75 mg, 1 mg a 70 mg, 1 mg a 65 mg, 1 mg a 55 mg, 1 mg a 50 mg, 1 mg a 45 mg, 1 mg a 40 mg, 1 mg a 35 mg, 1 mg a 30 mg, 1 mg a 25 mg, 1 mg a 20 mg, 1 mg a 15 mg, 1 mg a 10 mg, 1,5 mg a 75 mg, 1,5 mg a 70 mg, 1,5 mg a 65 mg, 1,5 mg a 55 mg, 1,5 mg a 50 mg, 1,5 mg a 45 mg, 1,5 mg a 40 mg, 1,5 mg a 35 mg,

1,5 mg a 30 mg, 1,5 mg a 25 mg, 1,5 mg a 20 mg, 1,5 mg a 15 mg, 1,5 mg a 10 mg, 2 mg a 75 mg, 2 mg a 70 mg, 2 mg a 65 mg, 2 mg a 55 mg, 2 mg a 50 mg, 2 mg a 45 mg, 2 mg a 40 mg, 2 mg a 35 mg, 2 mg a 30 mg, 2 mg a 25 mg, 2 mg a 20 mg, 2 mg a 15 mg, 2 mg a 10 mg, 2,5 mg a 75 mg, 2,5 mg a 70 mg, 2,5 mg a 65 mg, 2,5 mg a 55 mg, 2,5 mg a 50 mg, 2,5 mg a 45 mg, 2,5 mg a 40 mg, 2,5 mg a 35 mg, 2,5 mg a 30 mg, 2,5 mg a 25 mg, 2,5 mg a 20 mg, 2,5 mg a 15 mg, 2,5 mg a 10 mg, 3 mg a 75 mg, 3 mg a 70 mg, 3 mg a 65 mg, 3 mg a 55 mg, 3 mg a 50 mg, 3 mg a 45 mg, 3 mg a 40 mg, 3 mg a 35 mg, 3 mg a 30 mg, 3 mg a 25 mg, 3 mg a 20 mg, 3 mg a 15 mg, 3 mg a 10 mg, 3,5 mg a 75 mg, 3,5 mg a 70 mg, 3,5 mg a 65 mg, 3,5 mg a 55 mg, 3,5 mg a 50 mg, 3,5 mg a 45 mg, 3,5 mg a 40 mg, 3,5 mg a 35 mg, 3,5 mg a 30 mg, 3,5 mg a 25 mg, 3,5 mg a 20 mg, 3,5 mg a 15 mg, 3,5 mg a 10 mg, 4 mg a 75 mg, 4 mg a 70 mg, 4 mg a 65 mg, 4 mg a 55 mg, 4 mg a 50 mg, 4 mg a 45 mg, 4 mg a 40 mg, 4 mg a 35 mg, 4 mg a 30 mg, 4 mg a 25 mg, 4 mg a 20 mg, 4 mg a 15 mg, 4 mg a 10 mg, 4,5 mg a 75 mg, 4,5 mg a 70 mg, 4,5 mg a 65 mg, 4,5 mg a 55 mg, 4,5 mg a 50 mg, 4,5 mg a 45 mg, 4,5 mg a 40 mg, 4,5 mg a 35 mg, 4,5 mg a 30 mg, 4,5 mg a 25 mg, 4,5 mg a 20 mg, 4,5 mg a 15 mg, 4,5 mg a 10 mg, 5 mg a 75 mg, 5 mg a 70 mg, 5 mg a 65 mg, 5 mg a 55 mg, 5 mg a 50 mg, 5 mg a 45 mg, 5 mg a 40 mg, 5 mg a 35 mg, 5 mg a 30 mg, 5 mg a 25 mg, 5 mg a 20 mg, 5 mg a 15 mg, ou 5 mg a 10 mg de perlapina ou de um sal farmacêuticamente aceitável desta.

[062] Nas realizações, composições farmacêuticas incluem 5 mg a 20 mg, 5 mg a 10 mg, 4 mg a 6 mg, 6 mg a 8 mg, 8 mg a 10 mg, 10 mg a 12 mg, 12 mg a 14 mg, 14 mg a 16 mg, 16 mg a 18 mg, ou 18 mg a 20 mg de perlapina ou um sal farmacêuticamente aceitável desta.

[063] Nas realizações, composições farmacêuticas incluem 0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2,5 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 7 mg, 7,5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 15 mg, 17,5 mg, ou 20 mg de perlapina ou um sal farmacêuticamente aceitável desta ou quantidades que são múltiplos dessas doses. Nas realizações, composições farmacêuticas incluem 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, ou 40 mg de perlapina ou um sal farmacêuticamente aceitável desta.

[064] Nas realizações, composições incluem 0,05 mg, 0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg, 1,25 mg, 1,5 mg, 1,75 mg, 2 mg, 2,5 mg, 3 mg, 3,5 mg, 4 mg, 4,5 mg, 5 mg, 7 mg, 7,5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 15 mg, 17,5 mg, ou 20 mg de perlapina ou um sal farmacêuticamente aceitável desta ou quantidades que são múltiplos dessas doses.

[065] Nas realizações, composições farmacêuticas incluem de cerca de 0,05 mg a cerca de 100 mg de perlapina ou um sal farmacêuticamente aceitável desta. Nas realizações, as formas de dosagem incluem 0,05 mg, 0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg, 1,25 mg, 1,5 mg, 1,75 mg, 2 mg, 2,5 mg, 3 mg, 3,5 mg, 4 mg, 4,5 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, ou 100 mg de perlapina ou um sal farmacêuticamente aceitável desta.

[066] Dosagens adequadas de perlapina podem ser administradas a um paciente tendo um distúrbio convulsivo uma, duas, três, quatro vezes, cinco ou seis vezes ao dia, em dias alternados, uma vez por semana ou uma vez por mês. Nas realizações, perlapina é administrada a um paciente tendo um

distúrbio convulsivo duas vezes ao dia, (por exemplo, manhã e noite), ou três vezes ao dia (por exemplo, manhã, tarde e na hora de dormir), em uma dose de 0,1 a 50 mg/administração. Nas realizações, perlapina é administrada a um paciente tendo um distúrbio convulsivo em 250 mg/dia, 190 mg/dia, 180 mg/dia, 170 mg/dia, 160 mg/dia, 150 mg/dia, 140 mg/dia, 130 mg/dia, 120 mg/dia, 110 mg/dia, 100 mg/dia, 95 mg/dia, 90 mg/dia, 85 mg/dia, 80 mg/dia, 75 mg/dia, 70 mg/dia, 65 mg/dia, 60 mg/dia, 55 mg/dia, 50 mg/dia, 45 mg/dia, 40 mg/dia, 35 mg/dia, 30 mg/dia, 25 mg/dia, 20 mg/dia, 15 mg/dia, 10 mg/dia, 5 mg/dia, 4 mg/dia, 3 mg/dia, 3 mg/dia, 2 mg/dia, 1 mg/dia, em uma ou mais doses. Nas realizações, uma dose para adultos pode ser de aproximadamente 0,05 a 100 mg ao dia e pode ser aumentada para 200 mg ao dia. As dosagens podem ser menores para bebês e crianças do que para adultos. Nas realizações, uma dose para bebê ou pediátrica pode ser de aproximadamente 0,1 a 20 mg ao dia uma vez ou em 2, 3 ou 4 doses divididas. Nas realizações, uma dose pediátrica pode ser de 0,75 mg/kg/dia a 1,5 mg/kg/dia. Nas realizações, o paciente pode ser iniciado em uma baixa dose e a dosagem é escalada ao longo do tempo.

[067] SALB também pode ser administrado como um ligante sintético em conexão com KORD. Nas realizações, SALB pode ser administrado diretamente a uma localização alvo no cérebro por quaisquer meios conhecidos para administrar materiais ao cérebro, por exemplo, injeção direta. Nas realizações, SALB pode ser administrado de maneira sistêmica ao paciente. Liberação sistêmica inclui modos de administração oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral. Exemplos de modos de

administração parenteral incluem modos de administração intravenosa, intraperitoneal, intramuscular e subcutânea.

[068] Dosagens de SALB eficazes adequadas podem variar com base nos níveis de expressão de receptor de DREADD, tipos de célula infectada, duração de ativação de DREADD desejada, e a espécie sendo tratada. Nas realizações, a administração de SALB pode variar de 0,01 a 20 mg/kg. Nas realizações, composições farmacêuticas contendo SALB para tratar um distúrbio convulsivo podem incluir SALB em uma quantidade de, por exemplo, cerca de 0,01 a 500 mg, 0,1 a 500 mg, 0,1 a 450 mg, 0,1 a 300 mg, 0,1 a 250 mg, 0,1 a 200 mg, 0,1 a 175 mg, 0,1 a 150 mg, 0,1 a 125 mg, 0,1 a 100 mg, 0,1 a 75 mg, 0,1 a 50 mg, 0,1 a 30 mg, 0,1 a 25 mg, 0,1 a 20 mg, 0,1 a 15 mg, 0,1 a 10 mg, 0,1 a 5 mg, 0,1 a 1 mg, 0,5 a 500 mg, 0,5 a 450 mg, 0,5 a 300 mg, 0,5 a 250 mg, 0,5 a 200 mg, 0,5 a 175 mg, 0,5 a 150 mg, 0,5 a 125 mg, 0,5 a 100 mg, 0,5 a 75 mg, 0,5 a 50 mg, 0,5 a 30 mg, 0,5 a 25 mg, 0,5 a 20 mg, 0,5 a 15 mg, 0,5 a 10 mg, 0,5 a 5 mg, 0,5 a 1 mg, 1 a 500 mg, 1 a 450 mg, 1 a 300 mg, 1 a 250 mg, 1 a 200 mg, 1 a 175 mg, 1 a 150 mg, 1 a 125 mg, 1 a 100 mg, 1 a 75 mg, 1 a 50 mg, 1 a 30 mg, 1 a 25 mg, 1 a 20 mg, 1 a 15 mg, 1 a 10 mg, 1 a 5 mg, 5 a 500 mg, 5 a 450 mg, 5 a 300 mg, 5 a 250 mg, 5 a 200 mg, 5 a 175 mg, 5 a 150 mg, 5 a 125 mg, 5 a 100 mg, 5 a 75 mg, 5 a 50 mg, 5 a 30 mg, 5 a 25 mg, 5 a 20 mg, 5 a 15 mg, 5 a 10 mg, 10 a 500 mg, 10 a 450 mg, 10 a 300 mg, 10 a 250 mg, 10 a 200 mg, 10 a 175 mg, 10 a 150 mg, 10 a 125 mg, 10 a 100 mg, 10 a 75 mg, 10 a 50 mg, 10 a 30 mg, 10 a 25 mg, 10 a 20 mg, 10 a 15 mg, 15 a 500 mg, 15 a 450 mg, 15 a 300 mg, 15 a 250 mg, 15 a 200 mg, 15 a 175 mg, 15 a 150 mg, 15 a 125 mg, 15 a 100 mg, 15 a 75 mg, 15 a 50 mg, 15 a 30 mg, 15 a 25 mg, 15 a 20 mg,

20 a 500 mg, 20 a 450 mg, 20 a 300 mg, 20 a 250 mg, 20 a 200 mg, 20 a 175 mg, 20 a 150 mg, 20 a 125 mg, 20 a 100 mg, 20 a 75 mg, 20 a 50 mg, 20 a 30 mg, 20 a 25 mg, 25 a 500 mg, 25 a 450 mg, 25 a 300 mg, 25 a 250 mg, 25 a 200 mg, 25 a 175 mg, 25 a 150 mg, 25 a 125 mg, 25 a 100 mg, 25 a 80 mg, 25 a 75 mg, 25 a 50 mg, 25 a 30 mg, 30 a 500 mg, 30 a 450 mg, 30 a 300 mg, 30 a 250 mg, 30 a 200 mg, 30 a 175 mg, 30 a 150 mg, 30 a 125 mg, 30 a 100 mg, 30 a 75 mg, 30 a 50 mg, 40 a 500 mg, 40 a 450 mg, 40 a 400 mg, 40 a 250 mg, 40 a 200 mg, 40 a 175 mg, 40 a 150 mg, 40 a 125 mg, 40 a 100 mg, 40 a 75 mg, 40 a 50 mg, 50 a 500 mg, 50 a 450 mg, 50 a 300 mg, 50 a 250 mg, 50 a 200 mg, 50 a 175 mg, 50 a 150 mg, 50 a 125 mg, 50 a 100 mg, 50 a 75 mg, 75 a 500 mg, 75 a 450 mg, 75 a 300 mg, 75 a 250 mg, 75 a 200 mg, 75 a 175 mg, 75 a 150 mg, 75 a 125 mg, 75 a 100 mg, 100 a 500 mg, 100 a 450 mg, 100 a 300 mg, 100 a 250 mg, 100 a 200 mg, 100 a 175 mg, 100 a 150 mg, 100 a 125 mg, 125 a 500 mg, 125 a 450 mg, 125 a 300 mg, 125 a 250 mg, 125 a 200 mg, 125 a 175 mg, 125 a 150 mg, 150 a 500 mg, 150 a 450 mg, 150 a 300 mg, 150 a 250 mg, 150 a 200 mg, 200 a 500 mg, 200 a 450 mg, 200 a 300 mg, 200 a 250 mg, 250 a 500 mg, 250 a 450 mg, 250 a 300 mg, 300 a 500 mg, 300 a 450 mg, 300 a 400 mg, 300 a 350 mg, 350 a 500 mg, 350 a 450 mg, 350 a 400 mg, 400 a 500 mg, 400 a 450 mg, sendo exemplos 0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg, 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 12,5 mg, 15 mg, 17,5 mg, 20 mg, 22,5 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg e 500 mg. Dosagens adequadas de SALB podem ser administradas a um paciente tendo um distúrbio

convulsivo uma, duas, três, quatro vezes, cinco ou seis vezes ao dia, em dias alternados, uma vez por semana ou uma vez ao mês.

[069] Nas realizações, SALB é administrado a um paciente tendo um distúrbio convulsivo duas vezes ao dia, (por exemplo, manhã e noite), ou três vezes ao dia (por exemplo, na manhã, tarde e na hora de dormir), em uma dose de 0,1 a 200 mg/administração. Nas realizações, SALB é administrado a um paciente tendo um distúrbio convulsivo 1000 mg/ao dia, 600 mg/dia, 550 mg/dia, 500 mg/dia, 450 mg/dia, 400 mg/dia, 350 mg/dia, 300 mg/dia, 250 mg/dia, 225 mg/dia, 200 mg/dia, 190 mg/dia, 180 mg/dia, 170 mg/dia, 160 mg/dia, 150 mg/dia, 140 mg/dia, 130 mg/dia, 120 mg/dia, 110 mg/dia, 100 mg/dia, 95 mg/dia, 90 mg/dia, 85 mg/dia, 80 mg/dia, 75 mg/dia, 70 mg/dia, 65 mg/dia, 60 mg/dia, 55 mg/dia, 50 mg/dia, 45 mg/dia, 40 mg/dia, 35 mg/dia, 30 mg/dia, 25 mg/dia, 20 mg/dia, 15 mg/dia, 10 mg/dia, 5 mg/dia, 4 mg/dia, 3 mg/dia, 3 mg/dia, 2 mg/dia, 1 mg/dia, em uma ou mais doses. Nas realizações, uma dose de adulto pode ser de aproximadamente 0,05 a 500 mg ao dia e pode ser aumentada para 750 mg ao dia. As dosagens podem ser menores para bebês e crianças do que para adultos. Nas realizações, uma dose para bebê ou pediátrica pode ser de cerca de 0,1 a 50 mg ao dia uma vez ou em 2, 3 ou 4 doses divididas. Nas realizações, uma dose pediátrica pode ser de 0,75 mg/kg/dia a 1,5 mg/kg/dia. Nas realizações, o paciente pode ser iniciado em uma baixa dose e a dosagem é escalada ao longo do tempo.

[070] Nas realizações, são providos métodos de tratamento de um distúrbio convulsivo que incluem 1) administração ao paciente de um vetor que codifica um

receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado (por exemplo, hM4Di ou KORD); e administração ao paciente do ligante sintético, ou 2) administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado (por exemplo, hM3Dq); e administração ao paciente do ligante sintético, em que o tratamento provê a melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de uma hora após a administração ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de duas horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de três horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de quatro horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de seis horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 ou 24 horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, melhora de pelo menos um sintoma por 12 horas após a administração do ligante sintético ao

paciente é provida de acordo com a presente revelação. Nas realizações, a administração dos ligantes sintéticos provê melhora do funcionamento do dia seguinte do paciente. Por exemplo, a administração do ligante sintético pode prover melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de aproximadamente, por exemplo, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas ou 24 horas após a administração e ao acordar de uma noite de sono.

[071] Nas realizações, são providos aqui métodos de tratamento de um distúrbio convulsivo incluindo administração a um paciente que precisa disso e que recebeu um receptor modificado conforme aqui descrito, de um ligante sintético após um sinal de alerta de uma convulsão iminente é detectado para reduzir ou prevenir atividade convulsiva.

[072] Nas realizações, os métodos aqui descritos são eficazes para reduzir, atrasar, ou prevenir um ou mais outros sintomas clínicos de um distúrbio convulsivo. Por exemplo, o efeito, em um paciente tendo receptores modificados em uma localização alvo do cérebro, de uma composição incluindo um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável desta, cuja liberação é opcionalmente intensificada por energia de ultrassom em um sintoma particular, o indicador farmacológico ou fisiológico pode ser comparado a um paciente não tratado, ou a condição do paciente antes do tratamento. Nas realizações, o sintoma, o indicador farmacológico e/ou fisiológico é medido em um paciente antes do tratamento e, novamente, uma ou mais vezes após o tratamento ser iniciado. Nas realizações, o controle é um nível de referência ou média determinada com base na

medição do sintoma, indicador farmacológico ou fisiológico em um ou mais pacientes que não têm a doença ou condição a ser tratada (por exemplo, pacientes hígidos). Nas realizações, o efeito do tratamento é comparado a um tratamento convencional que está dentro da competência dos técnicos no assunto.

[073] O tratamento eficaz de um distúrbio convulsivo (por exemplo, convulsão repetitiva aguda, estado de mal epiléptico) aqui pode ser estabelecido ao apresentar redução na frequência ou gravidade dos sintomas (por exemplo, mais que 10%, 20%, 30% 40% ou 50%) após um período de tempo, comparado ao basal. Por exemplo, após um período basal de um mês, os pacientes tendo receptores modificados podem ser alocados aleatoriamente a um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável desta, ou placebo como terapia suplementar às terapias padrão, durante um período duplo-cego de 2 meses. As medições de resultado primárias podem incluir a porcentagem de responsivos em um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável dele, e em placebo, definido como tendo apresentado pelo menos uma redução de sintomas de 10% a 50% durante o segundo mês do período duplo-cego comparado ao basal.

[074] Nas realizações, composições farmacêuticas contendo ligantes sintéticos podem ser providas de perfis de liberação convencional ou de liberação modificada. Composições farmacêuticas podem ser preparadas utilizando "veículo" farmacologicamente aceitável composto de materiais que são considerados seguros e eficazes. O "veículo" inclui todos os componentes presentes na formulação farmacêutica que não o princípio ou princípios ativos. O termo "veículo" inclui, entre outros, diluentes,

aglutinantes, lubrificantes, desintegrantes, excipientes, e composições de revestimento. Os técnicos no assunto são familiares a esses veículos farmacêuticos e métodos de compor as composições farmacêuticas utilizando esses veículos.

[075] Nas realizações, composições farmacêuticas contendo vetores e/ou ligantes sintéticos são adequados para administração parenteral, incluindo, por exemplo, intramuscular (IM), intravenosa (IV), subcutânea (SC), intraperitoneal (IP), ou intratecal (IT). Composições parenterais devem ser estéreis para administração por injeção, infusão ou implante ao corpo e podem ser embaladas em recipientes de dose única ou de múltiplas doses. Nas realizações, composições farmacêuticas líquidas para administração parenteral a um paciente incluem uma substância ativa, *por exemplo*, vetores e/ou ligantes sintéticos ou um sal farmacêuticamente aceitável dos ligantes sintéticos, em qualquer uma das receptivas quantidades descritas acima. Nas realizações, as composições farmacêuticas para administração parenteral são formuladas como um volume total de aproximadamente, *por exemplo*, 0,1 mL, 0,25 mL, 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL, 1,25 mL, 1,5 mL, 1,75 mL, 2 mL, 2,25 mL, 2,5 mL, 2,75 mL, 3 mL, 3,25 mL, 3,5 mL, 3,75 mL, 4 mL, 4,25 mL, 4,5 mL, 4,75 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL, 250 mL, ou 500 mL. Nas realizações, o volume das composições farmacêuticas contendo vetores são quantidades em microlitro. Por exemplo, 0,1 microlitro a 10 ou mais microlitros podem ser injetados. Por exemplo, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,25, 1,5, 1,75, 2,0, 2,25, 2,5, 2,75, 3,0, 3,25, 3,5, 3,75, 4,0, 4,25, 4,5, 4,75, 5,0, 5,25, 5,5, 5,75, 6,0, 6,25, 6,5, 6,75, 7,0, 8,25, 8,5,

8,75, 9,0, 9,25, 9,5, 9,75, ou 10 microlitros. Nas realizações, as composições são contidas em uma micropipeta, uma bolsa, uma ampola de vidro, uma ampola de plástico ou um frasco.

[076] Nas realizações, composições farmacêuticas para administração parenteral incluem as respectivas quantidades descritas acima para os ligantes sintéticos ou um sal farmacêuticamente aceitável deles. Nas realizações, as composições farmacêuticas para administração parenteral incluem cerca de 0,0001 mg a cerca de 500 mg de substância ativa, *por exemplo*, vetores ou um ligante sintético ou um sal farmacêuticamente aceitável do ligante sintético. Nas realizações, composições farmacêuticas para administração parenteral a um paciente incluem uma substância ativa, *por exemplo*, vetores ou a ligante sintético ou um sal farmacêuticamente aceitável do ligante sintético, em uma respectiva concentração de cerca de 0,001 mg/mL a cerca de 500 mg/mL. Nas realizações, a composição farmacêutica para administração parenteral inclui uma substância ativa, vetor ou um ligante sintético ou um sal farmacêuticamente aceitável do ligante sintético, em uma respectiva concentração de, *por exemplo*, cerca de 0,005 mg/mL a cerca de 50 mg/mL, cerca de 0,01 mg/mL a cerca de 50 mg/mL, cerca de 0,1 mg/mL a cerca de 10 mg/mL, cerca de 0,05 mg/mL a cerca de 25 mg/mL, cerca de 0,05 mg/mL a cerca de 10 mg/mL, cerca de 0,05 mg/mL a cerca de 5 mg/mL, ou cerca de 0,05 mg/mL a cerca de 1 mg/mL. Nas realizações, a composição farmacêutica para administração parenteral inclui uma substância ativa, *por exemplo*, vetor ou um ligante sintético ou um sal farmacêuticamente aceitável do ligante sintético, em uma respectiva concentração de, *por*

exemplo, cerca de 0,05 mg/mL a cerca de 15 mg/mL, cerca de 0,5 mg/mL a cerca de 10 mg/mL, cerca de 0,25 mg/mL a cerca de 5 mg/mL, cerca de 0,5 mg/mL a cerca de 7 mg/mL, cerca de 1 mg/mL a cerca de 10 mg/mL, cerca de 5 mg/mL a cerca de 10 mg/mL, ou cerca de 5 mg/mL a cerca de 15 mg/mL.

[077] Nas realizações, é provida uma composição farmacêutica para administração parenteral em que a composição farmacêutica é estável por pelo menos seis meses. Nas realizações, as composições farmacêuticas para administração parenteral apresentam mais que cerca de 5% de redução na substância ativa, por exemplo, vetor ou um ligante sintético ou um sal farmacêuticamente aceitável do ligante sintético, por pelo menos, por exemplo, 3 meses ou 6 meses. Nas realizações, a quantidade de vetor ou de um ligante sintético ou um sal farmacêuticamente aceitável do ligante sintético, se degrada em não mais que cerca de, por exemplo, 2,5%, 1%, 0,5% ou 0,1%. Nas realizações, a degradação é menor que cerca de, por exemplo, 5%, 2,5%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, por pelo menos seis meses.

[078] Nas realizações, são providas composições farmacêuticas para administração em que a composição farmacêutica permanece solúvel. Nas realizações, são providas composições farmacêuticas para administração parenteral que são estáveis, solúveis, compatíveis com o sítio local e/ou prontas para uso. Nas realizações, as composições farmacêuticas aqui são prontas para uso para a administração direta a um paciente que precisa disso.

[079] As composições farmacêuticas para administração parenteral providas aqui podem incluir um ou mais excipientes, por exemplo, solventes, intensificadores de

solubilidade, agentes de suspensão, agentes de tamponamento, agentes de isotonicidade, estabilizantes ou preservativos antimicrobianos. Quando utilizados, os excipientes das composições parenterais não afetarão de maneira adversa a estabilidade, biodisponibilidade, segurança e/ou eficácia de um vetor, um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável do ligante sintético, utilizado na composição. Assim, são providas composições parenterais em que não há incompatibilidade entre qualquer um dos componentes da forma de dosagem.

[080] Nas realizações, composições parenterais incluindo um vetor ou um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável do ligante sintético incluem uma quantidade de estabilização de pelo menos um excipiente. Por exemplo, excipientes podem ser selecionados do grupo consistindo em agentes de tamponamento, agentes solubilizantes, agentes de tonicidade, antioxidantes, agentes quelantes, agentes antimicrobianos e preservativos. Um técnico no assunto perceberá que um excipiente pode ter mais de uma função e ser classificado em um ou mais grupos definidos.

[081] Nas realizações, composições parenterais incluem um vetor ou um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável do ligante sintético, e um excipiente, em que o excipiente está presente em uma porcentagem em peso (p/v) de menos que cerca de, por exemplo, 10%, 5%, 2,5%, 1%, ou 0,5%. Nas realizações, o excipiente está presente em uma porcentagem em peso entre cerca de, por exemplo, 1,0% a 10%, 10% a 25%, 15% a 35%, 0,5% a 5%, 0,001% a 1%, 0,01% a 1%, 0,1% a 1%, ou 0,5% a 1%. Nas realizações, o

excipiente está presente em uma porcentagem em peso entre cerca de, por exemplo, 0,001% a 1%, 0,01% a 1%, 1,0% a 5%, 10% a 15%, ou 1% a 15%.

[082] Nas realizações, composições parenterais podem ser administradas conforme necessário, por exemplo, uma, duas, três, quatro, cinco, seis ou mais vezes ao dia, ou continuamente dependendo das necessidades do paciente.

[083] Nas realizações, são providas composições parenterais de uma substância ativa, *por exemplo*, um vetor ou um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável do ligante sintético, em que o pH da composição é entre cerca de 4,0 a cerca de 8,0. Nas realizações, o pH das composições é entre, por exemplo, cerca de 5,0 a cerca de 8,0, cerca de 6,0 a cerca de 8,0, cerca de 6,5 a cerca de 8,0. Nas realizações, o pH das composições é entre, por exemplo, cerca de 6,5 a cerca de 7,5, cerca de 7,0 a cerca de 7,8, cerca de 7,2 a cerca de 7,8, ou cerca de 7,3 a cerca de 7,6. Nas realizações, o pH da solução aquosa é, por exemplo, cerca de 6,8, cerca de 7,0, cerca de 7,2, cerca de 7,4, cerca de 7,6, cerca de 7,7, cerca de 7,8, cerca de 8,0, cerca de 8,2, cerca de 8,4, ou cerca de 8,6.

[084] Deve ser entendido que quantidades de dosagem de um ligante sintético ou um sal farmacologicamente aceitável do ligante sintético que são aqui providas são aplicáveis a todas as formas de dosagem aqui descritas, incluindo formas de dosagem convencionais, formas de dosagem modificadas, qualquer dentre primeira e segunda composições farmacêuticas com perfis de liberação diferentes, assim como as formulações parenterais aqui descritas. Os técnicos no assunto determinarão quantidades adequadas de vetores e/ou

ligantes sintéticos dependendo dos critérios, como forma de dosagem, via de administração, tolerância do paciente, eficácia, objetivo terapêutico e benefício terapêutico, dentre outros critérios farmacologicamente aceitáveis.

[085] Terapias de combinação utilizando mais de um receptor modificado, por exemplo, hM3Dq, hM4Di ou KORD e seus respectivos ligantes sintéticos são contempladas aqui. Por exemplo, hM4Di pode ser coadministrado com KORD a uma localização alvo no cérebro. Um ou ambos os receptores podem ser ativados por seus respectivos ligantes sintéticos, conforme desejado. Da mesma forma, hM3Dq pode ser coadministrado com KORD a uma localização alvo no cérebro. Um ou ambos os receptores podem ser ativados por seus respectivos ligantes sintéticos, conforme desejado. Terapias de combinação utilizando hM3Dq, hM4Di ou KORD, seus respectivos ligantes sintéticos em combinação com um ou mais AEDs são aqui contemplados. Ademais, diferentes composições farmacêuticas tendo diferentes perfis de liberação podem incluir a administração dos agentes ativos junto na mesma mistura ou em misturas separadas.

[086] Nas realizações, são providos aqui métodos para tratar um distúrbio convulsivo que incluem a aplicação de ultrassom a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar a permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo; administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado; e

administração ao paciente do ligante sintético em que o paciente apresenta melhora de pelo menos um sintoma do distúrbio convulsivo.

[087] Nas realizações, são aqui providos métodos para tratar um distúrbio convulsivo que inclui a aplicação de ultrassom a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo; administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético em que o paciente apresenta melhora de pelo menos um sintoma do distúrbio convulsivo.

[088] Nas realizações, tratamento com ultrassom é utilizado para intensificar a liberação de hM3Dq, hM4Di ou KORD a localizações alvo no cérebro ao romper a barreira hematoencefálica. O uso de energia de ultrassom focalizada aqui rompe a BHC sem afetar de maneira adversa o vetor, hM3Dq, hM4Di ou KORD, seus respectivos ligantes sintéticos, e/ou tecido cerebral em si. Isso pode ser considerado surpreendente tendo em vista o possível dano a compostos orgânicos e tecidos por energia de ultrassom. O uso de energia de ultrassom aqui pode aumentar a velocidade de liberação de vetores e/ou ligantes sintéticos a localizações alvo no cérebro, reduzir efeitos colaterais que podem ser associados à liberação de vetores e/ou ligantes sintéticos a localizações alvo no cérebro, reduzir quantidades de dosagem

enquanto concentra vetores e/ou ligantes sintéticos em uma localização alvo e pode permitir a liberação controlada da quantidade de vetores e/ou ligantes sintéticos em uma localização alvo.

[089] De acordo com a presente revelação, nas realizações, energia de ultrassom auxilia e/ou impulsiona a penetração do vetor que carrega o receptor modificado e/ou ligante sintético a localizações alvo no cérebro. Nas realizações, energia de ultrassom é utilizada para tornar a barreira hematoencefálica permeável a vetores aqui. Da mesma forma, nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma localização alvo antes da administração do vetor. Nas realizações, vetores aqui podem ser administrados a uma área alvo no cérebro simultaneamente com a administração de energia de ultrassom. Nas realizações, os vetores aqui podem ser administrados a uma área alvo no cérebro após a administração de energia de ultrassom.

[090] Conforme mencionado anteriormente, vetores aqui podem ser administrados de maneira sistêmica. A liberação sistêmica inclui modos de administração oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral. Exemplos de modos de administração parenteral incluem modos de administração intravenosa, intraperitoneal, intramuscular e subcutânea. Dessa maneira, vetores que circulam no fluxo sanguíneo são liberados a uma localização alvo no cérebro por uma parte da BHC rompida pela energia ultrassônica. Nas realizações, vetores aqui podem ser administrados de maneira sistêmica após o tratamento com energia de ultrassom da localização alvo e os vetores penetrarem a BHC rompida para ficarem situados na localização

alvo. Nas realizações, vetores aqui podem ser administrados diretamente a uma localização alvo no cérebro. Nas realizações, vetores aqui podem ser administrados diretamente a uma localização alvo no cérebro após o tratamento com energia de ultrassom da localização alvo se tornar situado na localização alvo. Nas realizações, vetores aqui podem ser administrados diretamente a uma localização alvo no cérebro sem tratamento com ultrassom.

[091] A fim de ativar o receptor modificado, um ligante sintético que ativa o receptor modificado é administrado ao paciente. Nas realizações, energia de ultrassom é aplicada a uma área alvo no cérebro para romper a BHC para permitir, auxiliar e/ou impulsionar a penetração do ligante sintético à localização alvo, onde pode interagir com o receptor modificado. Nas realizações, o ligante sintético pode ser administrado diretamente a uma localização alvo no cérebro por quaisquer meios conhecidos para administrar materiais ao cérebro, por exemplo, injeção direta, por exemplo, por um orifício de trepanação. Nas realizações, o ligante sintético pode ser administrado de maneira sistêmica ao paciente. Liberação sistêmica inclui modos de administração oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral. Exemplos de modos de administração parenteral incluem modos de administração intravenosa, intraperitoneal, intramuscular e subcutânea. Dessa maneira, ligantes sintéticos que circulam no fluxo sanguíneo são liberados a uma localização alvo no cérebro através de uma parte da BHC rompida por energia de ultrassom. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma área alvo no cérebro antes da administração de um ligante

sintético. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma área alvo no cérebro simultaneamente com a administração de um ligante sintético. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma área alvo no cérebro após a administração de um ligante sintético.

[092] Nas realizações, energia de ultrassom pode ser administrada a uma área alvo ao remover uma parte do crânio (craniotomia) para expor a dura-máter na ou próxima à localização alvo e liberação da energia de ultrassom na ou abaixo da dura-máter exposta. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser administrada a uma localização alvo através do crânio, eliminando a necessidade por cirurgia associada à liberação de energia de ultrassom a uma localização alvo. Métodos para a liberação de energia de ultrassom através do crânio são conhecidos na técnica. Vide, por exemplo, Patente Norte-Americana Nº 5.752.515 e Publicação Norte-Americana Nº 2009/0005711, ambos os quais são, neste ato, incorporados por referência em suas respectivas integridades. Vide também, Hynynen et al., NeuroImage 24 (2005) 12-120.

[093] Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma localização alvo no cérebro em frequências que variam de cerca de 20 kHz a cerca de 5 MHz, e com duração de sonicação que varia de 100 nanossegundos a 1 minuto. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma localização alvo no cérebro em frequências que variam de cerca de 20 kHz a cerca de 10 MHz, duração de sonicação que varia de cerca de 100 nanossegundos a cerca de 30 minutos, com onda contínua ou operação em modo de rajada, em que a repetição de modo de rajada varia de cerca de 0,01

Hz a cerca de 1 MHz. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma localização alvo no cérebro em frequências que variam de cerca de 200 kHz a cerca de 10 MHz, e com duração de sonicação que varia de cerca de 100 milissegundos a cerca de 30 minutos. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma localização alvo no cérebro em frequências que variam de cerca de 250 kHz a cerca de 10 MHz, e com duração de sonicação que varia de cerca de 0,10 microssegundos a cerca de 30 minutos. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma localização alvo no cérebro em uma frequência de cerca de 1,525 MHz. Nas realizações, energia de ultrassom pode ser aplicada a uma localização alvo no cérebro em uma frequência de cerca de 0,69 MHz. Nas realizações, amplitudes de pressão geradas por energia de ultrassom podem ser de cerca de 0,5 a cerca de 2,7 MPa. Nas realizações, amplitudes de pressão geradas por energia de ultrassom podem ser de cerca de 0,8 a cerca de 1 MPa. Nas realizações, energia de ultrassom é aplicada a uma localização alvo no cérebro em uma região focal de acordo com o volume de tecido e/ou fluidos aos quais um vetor ou ligante sintético deve ser liberado, por exemplo, de cerca de 0,1 mm³ a cerca de 5 cm³.

[094] Nas realizações, a localização alvo e acesso a ela é confirmado ao introduzir um agente de contraste ao paciente antes, durante ou após a aplicação de energia de ultrassom à localização alvo, permitindo tempo suficiente para que o agente de contraste permeie a BHC, e determinando se o agente de contraste está presente na localização alvo. Agentes de contraste são bem conhecidos e incluem, por exemplo, compostos à base de iodo, compostos à

base de bário e compostos à base de lantanídeo. Agentes à base de iodo incluem, por exemplo, iodohexol, ioprometo, iodixanol, iosimenol, ioxaglato, iotalamato e iopamidol. Compostos à base de bário incluem sulfato de bário. Compostos à base de lantanídeo incluem, por exemplo, quelatos à base de gadolínio, como gadoversetamídeo, gadopentetato de dimeglumina, gadobutrol, gadobenato de dimeglumina, gadoterato de meglumina, e gadoxetato dissódico. As modalidades de detecção incluem radiografia de raios X bidimensional, tomografia computadorizada por raios X e formação de imagem por ressonância magnética, que são técnicas bem conhecidas que podem ser utilizadas para confirmar a presença ou ausência de agente de contraste em uma localização alvo.

[095] Nas realizações, são providos métodos de tratamento de um distúrbio convulsivo que incluem a aplicação de ultrassom a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar a permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo; administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético, em que o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de uma hora após a administração ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais que 2 horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas

realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de três horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de quatro horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de seis horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais que 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 ou 24 horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, melhora de pelo menos um sintoma por 12 horas após a administração do ligante sintético ao paciente é provida, de acordo com a presente revelação. Nas realizações, os ligantes sintéticos proveem melhora do funcionamento do dia seguinte do paciente. Por exemplo, o ligante sintético pode prover melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de aproximadamente, por exemplo, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas ou 24 horas após a administração e ao acordar de uma noite de sono.

[096] Nas realizações, são providos métodos de tratamento de um distúrbio convulsivo que incluem a aplicação de ultrassom a uma localização alvo no cérebro do paciente para intensificar a permeabilidade da barreira hematoencefálica do paciente na localização alvo; administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para

ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético, em que o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de 1 hora após a administração ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais que 2 horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de três horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de quatro horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de seis horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, o tratamento provê melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais que 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 ou 24 horas após a administração do ligante sintético ao paciente. Nas realizações, melhora de pelo menos um sintoma por 12 horas após a administração do ligante sintético ao paciente é provida, de acordo com a presente revelação. Nas realizações, os ligantes sintéticos proveem melhora do funcionamento do dia seguinte do paciente. Por exemplo, o ligante sintético pode prover melhora de um ou mais sintomas do distúrbio por mais de aproximadamente, por exemplo, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas ou 24 horas após a administração e ao acordar de uma noite de sono.

[097] Nas realizações, são providos aqui métodos de tratamento de um distúrbio convulsivo incluindo a administração a um paciente que precisa disso e que recebeu um receptor modificado conforme aqui descrito, energia de ultrassom e um ligante sintético, após um sinal de alerta de uma convulsão iminente ser detectado para reduzir ou impedir a atividade convulsiva.

[098] A menos que definidos de outra forma, todos os termos técnicos e científicos utilizados aqui têm os mesmos significados que os comumente entendidos por um técnico no assunto ao qual a revelação aqui pertence.

[099] O termo "cerca de" ou "aproximadamente", conforme aqui utilizado, significa dentro de uma variação de erro aceitável para o valor particular, conforme determinado por um técnico no assunto em questão, que dependerá, em parte, de como o valor é medido ou determinado, ou seja, as limitações do sistema de medição. Por exemplo, "cerca de" pode significar dentro de 3 ou mais que 3 desvios padrão, de acordo com a prática na técnica. De maneira alternativa, "cerca de" pode significar uma variação de até 20%, até 10%, até 5%, e/ou até 1% de um determinado valor. De maneira alternativa, particularmente em relação a sistemas ou processos biológicos, o termo pode significar dentro de uma ordem de magnitude, preferencialmente, dentro de 5 vezes e, mais preferencialmente, dentro de 2 vezes de um valor.

[0100] "Melhora" se refere ao tratamento de distúrbios convulsivos, como epilepsia focal, epilepsia focal intratável, displasia cortical focal, epilepsia, epilepsia com convulsões tônico-clônicas generalizadas, epilepsia com ausências mioclônicas, epilepsia de lobo frontal, epilepsia

de lobo temporal, Síndrome de Landau-Kleffner, Síndrome de Rasmussen, Síndrome de Dravet, Síndrome de Doose, distúrbio de CDKL5, espasmos infantis (síndrome de West), epilepsia mioclônica juvenil (JME), encefalopatia relacionada à vacina, epilepsia na infância intratável (ICE), síndrome de Lennox-Gastaut (LGS), síndrome de Rett, síndrome de Ohtahara, distúrbio de CDKL5, epilepsia de ausência da infância, tremor essencial, convulsões agudas repetitivas, epilepsia rolândica benigna, estado de mal epiléptico, estado de mal epiléptico refratário, estado de mal epiléptico super-refratário (SRSE), epilepsia pediátrica relacionada a PCDH19, convulsões induzidas por tumor cerebral, convulsões induzidas por hamartoma, convulsões induzidas por suspensão de droga, convulsões induzidas por suspensão de álcool, atividade convulsiva aumentada ou convulsões de manifestação súbita (também denominadas convulsões em série ou agrupadas), medidas em relação a pelo menos um sintoma dos distúrbios anteriores.

[0101] “Melhora no funcionamento no dia seguinte” ou “em que há melhora no funcionamento do dia seguinte” se refere à melhora após acordar de um período de sono durante a noite, em que o efeito benéfico da administração de um ou mais ligantes sintéticos a um paciente se aplica a pelo menos um sintoma de uma síndrome ou distúrbio aqui e é discernível, seja de maneira subjetiva por um paciente ou objetiva por um observador, por um período de tempo, *por exemplo*, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas etc. após acordar.

[0102] “Tratando”, “tratamento” ou “tratar” podem se referir ao seguinte: alívio ou atraso do surgimento

de sintomas clínicos de uma doença ou condição em um paciente que podem ser sentidos com ou predispostos à doença ou condição, mas ainda não sente ou apresenta sintomas clínicos ou subclínicos da doença ou condição. Em determinadas realizações, "tratando", "tratar" ou "tratamento" podem se referir à prevenção do surgimento dos sintomas clínicos de uma doença ou condição em um paciente que pode ser afetado por ou predisposto à doença ou condição, mas ainda não sentiu ou apresentou sintomas clínicos ou subclínicos da doença ou condição. "Tratando", "tratamento" ou "tratar" também se refere à inibição da doença ou condição, *por exemplo*, parada ou redução de seu desenvolvimento ou de pelo menos um sintoma clínico ou subclínico dela. "Tratando", "tratamento" ou "tratar" ainda se refere ao alívio da doença ou condição, *por exemplo*, causando a regressão da doença ou condição ou pelo menos um de seus sintomas clínicos ou subclínicos. O benefício a um paciente a ser tratado pode ser estatisticamente significativo, matematicamente significativo, ou pelo menos perceptível ao paciente e/ou ao médico. Não obstante, tratamento profilático (preventivo) e tratamento terapêutico (curativo) são duas realizações separadas da revelação aqui.

[0103] "Farmaceuticamente aceitável" se refere a entidades e composições moleculares que são "geralmente consideradas seguras", *por exemplo*, que são fisiologicamente toleráveis e não tipicamente produzem uma reação alérgica ou desfavorável semelhante, como inflamação intestinal e similares, quando administradas a um humano. Nas realizações, esse termo se refere a entidades e composições moleculares aprovadas por uma agência regulatória do governo federal ou

estadual, como a lista de GRAS de acordo com a seção 204(s) e 409 da Lei Federal de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos, que é sujeita a revisão pré-comercialização e aprovação pela FDA, ou listas semelhantes, a Farmacopeia Norte-Americana ou outra farmacopeia geralmente reconhecida para uso em humanos, e mais particularmente em humanos.

[0104] "Quantidade eficaz" ou "quantidade terapeuticamente eficaz" pode significar uma dosagem suficiente para aliviar um ou mais sintomas de uma síndrome, distúrbio, doença ou condição sendo tratada ou, de outra forma, para prover um efeito farmacológico e/ou fisiológico desejado. "Quantidade eficaz" ou "quantidade terapeuticamente eficaz" pode ser utilizado de maneira substituível aqui.

[0105] "Coadministrado com", "coadministração com", "administrado em combinação com", "uma combinação de" ou "administrado junto a" podem ser utilizados de maneira substituível e significam que dois ou mais agentes são administrados na evolução da terapia. Os agentes podem ser administrados juntamente ao mesmo tempo ou separadamente em intervalos espaçados. Os agentes podem ser administrados em uma única forma de dosagem e em formas de dosagem separadas.

[0106] "Paciente que precisa disso" pode incluir indivíduos, por exemplo, mamíferos, como humanos, ou caninos, felinos, suínos, roedores etc., que foram diagnosticados com um distúrbio convulsivo, como epilepsia, epilepsia com convulsões tônico-clônicas generalizadas, epilepsia com ausências mioclônicas, epilepsia focal, epilepsia focal intratável, displasia cortical focal, epilepsia de lobo frontal, epilepsia de lobo temporal, Síndrome de Landau-Kleffner, Síndrome de Rasmussen, Síndrome de Dravet, Síndrome

de Doose, distúrbio de CDKL5, espasmos infantis (síndrome de West), epilepsia mioclônica juvenil (JME), encefalopatia relacionada à vacina, epilepsia na infância intratável (ICE), síndrome de Lennox-Gastaut (LGS), síndrome de Rett, síndrome de Ohtahara, distúrbio de CDKL5, epilepsia de ausência da infância, tremor essencial, convulsões agudas repetitivas, epilepsia rolândica benigna, estado de mal epiléptico, estado de mal epiléptico refratário, estado de mal epiléptico super-refratário (SRSE), epilepsia pediátrica relacionada a PCDH19, convulsões induzidas por tumor cerebral, convulsões induzidas por hamartoma, convulsões induzidas por suspensão de droga, convulsões induzidas por suspensão de álcool, atividade convulsiva aumentada ou convulsões de manifestação súbita (também denominadas convulsões em série ou agrupadas). Distúrbios convulsivos podem ser associados a um distúrbio relacionado à subunidade alfa (Scn1a) de proteína de canal de sódio tipo 1. Os métodos podem ser providos a qualquer indivíduo incluindo, por exemplo, em que o paciente é um paciente neonato, bebê, pediátrico (6 meses a 12 anos), um paciente adolescente (idade de 12 a 18 anos) ou um adulto (mais de 18 anos).

[0107] "PK" se refere ao perfil farmacocinético. C_{max} é definida como a mais alta concentração de droga no plasma estimada durante um experimento (ng/mL). T_{max} é definido como o tempo quando C_{max} é estimada (min). $AUC_{0-\infty}$ é a área total sob a curva de concentração da droga tempo no plasma, desde a administração da droga até a droga ser eliminada (ng•h/mL ou µg•h/mL). A área sob a curva é governada por *clearance*. *Clearance* é definido como o volume de sangue ou plasma que é totalmente liberado de seu conteúdo

de droga por unidade de tempo (mL/min).

[0108] "Profármaco" se refere a uma substância farmacológica (droga) que é administrada a um paciente em uma forma inativa (ou significativamente menos ativa). Uma vez administrado, o profármaco é metabolizado no corpo (*in vivo*) em um composto tendo a atividade farmacológica desejada.

[0109] "Análogo" e "Derivado" podem ser utilizados de maneira substituível e se referir a um composto que possui o mesmo núcleo como o composto precursor, mas pode diferir do composto precursor na ordem de ligação, a ausência ou presença de um ou mais átomos e/ou grupos de átomos, e combinações destes. Enantiômeros são exemplos de derivados. O derivado pode diferir do composto precursor, por exemplo, em um ou mais substituintes presentes no núcleo, que podem incluir um ou mais átomos, grupos funcionais ou subestruturas. Em geral, pode se imaginar que um derivado seja formado, pelo menos de maneira teórica, do composto precursor por meio de processos químicos e/ou físicos.

[0110] O termo "sal farmacologicamente aceitável", conforme aqui utilizado, refere-se a derivados dos compostos aqui definidos, em que o composto precursor é modificado ao fazer sais ácidos ou básicos deste. Exemplos de sais farmacologicamente aceitáveis incluem, entre outros, sais de adição básicos não tóxicos com bases inorgânicas. Bases inorgânicas adequadas, como bases de metal terroso alcali e alcalino, incluem cátions metálicos, como sódio, potássio, magnésio, cálcio e similares. Os sais farmacologicamente aceitáveis podem ser sintetizados do composto precursor por métodos químicos convencionais.

EXEMPLOS

[0111] Os exemplos aqui providos são incluídos somente para ampliar a revelação aqui e não devem ser considerados limitantes em qualquer aspecto.

Exemplo I

Avaliação Prospectiva da Eficácia de Tratamento Quimiogénético em Modelo de Convulsão em Camundongo

[0112] No dia um, 50 camundongos serão injetados com ácido caínico (KA, 200 ng/nL) no hipocampo sob anestesia de isoflurano. No dia 21, AAV2/7-CamKIIa-hM4Di-mCherry (4,66 de cópias genômicas de E+13/mL) serão injetados no hipocampo esclerótico (500 nL). Em 25 camundongos de controle IHKA, o vetor de controle AAV 2.7 - CamKII α -mCherry será injetado. Ao mesmo tempo, um eletrodo de registro bipolar será implantado no hipocampo. No dia 42, camundongos com descargas paroxismais em hipocampo frequentes (15 a 20 convulsões/hora) serão selecionados para avaliação de efeitos de perlapina. Cerca de 20% a 25% dos animais (5 a 6 camundongos/grupo) serão examinados. EEG será registrado continuamente e sinais registrados serão adicionalmente processados para quantificar o número de convulsões. Perlapina será administrada em doses de 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg, 7 mg/kg e 10 mg/kg. As injeções serão realizadas via intraperitoneal com pelo menos três dias completos entre as doses individuais (duração aproximada de 10 dias). Camundongos serão avaliados para determinar quais dosagens proveem supressão de convulsão prolongada sem efeitos colaterais. Um *endpoint* é pelo menos 8 horas de supressão de convulsão. Uma vez que a dose ideal é determinada, a administração crônica será avaliada visando 1 a 3 doses ao dia por pelo menos 5 dias.

Exemplo 2

Avaliação Prospectiva da Eficácia de Tratamento Quimiogenético Intensificado por Ultrassom em Modelo de Convulsão em Camundongo

[0113] No dia um, 50 camundongos serão injetados com ácido caínico (KA, 200 ng/nL) no hipocampo sob anestesia de isoflurano 2%. No dia 21, AAV2/7-pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA (4,66 de cópias de genoma E+13/mL) será injetado no hipocampo esclerótico (500 nL). Em 25 camundongos de controle IHKA, o vetor de controle de AAV2/7-pAM/CaMKII-pL-WPRE-bGHpA será injetado. No dia 42, camundongos com descargas paroxismais em hipocampo frequentes (15 a 20 convulsões/hora) serão selecionados para avaliação dos efeitos de perlapina e ultrassom. Cerca de 20% a 25% dos animais (5 a 6 camundongos/grupo) serão examinados. EEG será registrado continuamente e sinais registrados serão adicionalmente processados para quantificar o número de convulsões.

[0114] Antes da administração de perlapina, energia de ultrassom será aplicada à BHC próxima à localização hipocampal dos receptores modificados. Cada camundongo será anestesiado utilizando isoflurano 2% e colocado em supino com sua cabeça imobilizada por um equipamento estereotáxico que inclui um retentor de cabeça de camundongo, barras de orelhas, e uma máscara de gás de anestesia. O cabelo do camundongo será removido utilizando um cortador elétrico e um creme depilador. Um recipiente cheio com água desgaseificada vedado no fundo com um invólucro fino, acústica e opticamente transparente será colocado em cima da cabeça do camundongo. O gel de junção de ultrassom também será utilizado para eliminar qualquer não correspondência de impedância restante.

[0115] As ondas de ultrassom serão geradas por um transdutor de ultrassom focalizado por segmento esférico de elemento único (frequência central: 1,525 MHz, profundidade focal: 90 mm, raio: 30 mm, disponível, por exemplo, de Riverside Research Institute, New York, N.Y., USA [EUA]). Um transdutor de diagnóstico por pulso-eco (frequência central: 7,5 MHz, extensão focal: 60 mm) será alinhado por um orifício central, circular (raio 11,2 mm) do transdutor de ultrassom focalizado, de modo que os focos dos dois transdutores se sobreponham completamente. Um cone cheio com água desgaseificada e destilada será montado ao sistema de transdutor com a água contida no cone por uma capa de membrana de poliuretano acusticamente transparente. O sistema de transdutor será afixado a um sistema de posicionamento tridimensional, controlado por computador (por exemplo, disponível da Velmex Inc., Lachine, QC, CAN). O transdutor de ultrassom focalizado será conectado a um circuito de correspondência e acionado por um gerador de função controlado por computador e um amplificador de energia de 50-dB. O transdutor de pulso-eco será acionado por um sistema pulsante-receptor conectado a um digitalizados em um computador pessoal.

[0116] O transdutor de ultrassom focalizado será submerso no recipiente cheio de água desgaseificada com seu eixo de feixe perpendicular à superfície do crânio. O foco do transdutor será posicionado dentro do cérebro do camundongo utilizando, por exemplo, um método de posicionamento em grade. O eixo de feixe do transdutor será alinhado de modo que o ponto focal seja colocado 3 mm abaixo do topo do osso parietal do crânio. Nessa colocação, o foco do feixe de

ultrassom focalizado será sobreposto com o hipocampo esquerdo e a artéria cerebral posterior (PCA) esquerda. O hipocampo direito não será focalizado e pode ser utilizado como um controle.

[0117] Um bolus de 25 μ L de agentes de contraste de ultrassom constituindo microbolhas (diâmetro médio: 3,0-4,5 μ m, concentração: 5,0-8,0 x 10⁸ bolhas por mL) será injetado à veia da cauda 1 a 4 minutos antes da sonicação. Ultrassom focalizada pulsada (taxa de pulso: 10 Hz, duração de pulso: 20 ms, ciclo devido: 20%) será, então, aplicada em 0,64 MPa de pico a pico em uma série de duas rajadas consistindo em 30 s de sonicação em uma única localização (ou seja, o hipocampo). Entre cada rajada, um intervalo de 30 s será permitido para que qualquer calor residual entre pulsos se dissipe. O procedimento de sonicação de ultrassom focalizado pode ser realizado uma ou mais vezes no cérebro de cada camundongo.

[0118] Após a abertura de BHC, um eletrodo de registro bipolar será implantado no hipocampo. Perlantina será, então, administrada em doses de 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg, 7 mg/kg e 10 mg/kg. As injeções serão administradas via intraperitoneal com pelo menos 3 dias completos entre doses individuais (duração aproximada de 10 dias). Camundongos serão avaliados para determinar quais dosagens proveem supressão de convulsão prolongada sem efeitos colaterais. Um *endpoint* é pelo menos 8 horas de supressão de convulsão. Uma vez que uma dose ideal é determinada, a administração crônica será avaliada visando 1 a 3 doses ao dia por pelo menos 5 dias.

Exemplo 3

Avaliação Prospectiva de Eficácia de Tratamento Quimiogenético em Modelo de Convulsão em Camundongo

[0119] No dia um, 50 camundongos serão injetados com ácido cáinico (KA, 200 ng/nL) no hipocampo sob anestesia de isoflurano. No dia 21, AAVRec3-pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA, (4,66 de cópias de genoma E+13/mL) será injetado no hipocampo esclerótico (500 nL). Em 25 camundongos de controle IHKA, um vetor de controle AAVRec3-pAM/CaMKII-pL-WPRE-bGHpA será injetado. Ao mesmo tempo, um eletrodo de registro bipolar será implantado no hipocampo. No dia 42, camundongos com descargas paroxismais em hipocampo frequentes (15 a 20 convulsões/hora) serão selecionados para avaliação de efeitos de CNO. Cerca de 20% a 25% dos animais (5 a 6 camundongos/grupo) serão examinados. EEG será registrado continuamente e sinais registrados serão adicionalmente processados para quantificar o número de convulsões. CNO será administrado em doses de 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg e 15 mg/kg. As injeções serão realizadas via intraperitoneal com pelo menos 3 dias completos entre as doses individuais (duração aproximada de 10 dias). Camundongos serão avaliados para determinar quais dosagens proveem supressão de convulsão prolongada sem efeitos colaterais. Um *endpoint* é pelo menos 8 horas de supressão de convulsão. Uma vez que a dose ideal é determinada, a administração crônica será avaliada visando 1 a 3 doses ao dia por pelo menos 5 dias.

Exemplo 4

Avaliação Prospectiva a Eficácia de Tratamento Quimiogenético Intensificado por Ultrassom em Modelo de Convulsão em Camundongo

[0120] No dia um, 50 camundongos serão injetados com ácido caínico (KA, 200 ng/nL) no hipocampo sob anestesia de isoflurano 2%. No dia 21, AAVRec3-pAM/CaMKII-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA (4,66 de cópias de genoma E+13/mL) será injetado no hipocampo esclerótico (500 nL). Em 25 camundongos de controle IHKA, o vetor de controle AAVRec3-pAM/CaMKII-pL-WPRE-bGHpA será injetado. No dia 42, camundongos com descargas paroxismais em hipocampo frequentes (15 a 20 convulsões/hora) serão selecionados para avaliação de efeitos de CNO e ultrassom. Cerca de 20% a 25% dos animais (5 a 6 camundongos/grupo) serão examinados. EEG será registrado continuamente e sinais registrados serão adicionalmente processados para quantificar o número de convulsões.

[0121] Antes da administração de CNO, energia de ultrassom será aplicada à BHC próxima à localização hipocampal dos receptores modificados. Cada camundongo será anestesiado utilizando isoflurano 2% e colocado em supino com sua cabeça imobilizada por um equipamento estereotáxico que inclui um retentor de cabeça de camundongo, barras de orelha e uma máscara de gás de anestesia. O cabelo do camundongo será removido utilizando um cortador elétrico e um creme depilador. Um recipiente cheio com água desgaseificada vedado no fundo com um invólucro plástico fino, acústica e opticamente transparente será colocado no topo da cabeça do camundongo. O gel de junção de ultrassom também será utilizado para eliminar qualquer não correspondência de impedância restante.

[0122] Ondas de ultrassom serão geradas por um transdutor e ultrassom focalizado de segmento esférico de elemento único (frequência central: 1,525 MHz, profundidade

focal: 90 mm, raio: 30 mm, disponível, por exemplo, de Riverside Research Institute, New York, N.Y., USA [EUA]). Um transdutor de diagnóstico de pulso-eco (frequência central: 7,5 MHz, extensão focal: 60 mm) será alinhado por um orifício central, circular (raio 11,2 mm) do transdutor de ultrassom focalizado, de modo que o foco dos dois transdutores se sobreponham completamente. Um cone cheio com água degaseificada e destilada será montado ao sistema transdutor com a água contida no cone por uma capa de membrana de poliuretano acusticamente transparente. O sistema de transdutor será afixado a um sistema de posicionamento tridimensional, controlado por computador (por exemplo, disponível de Velmex Inc., Lachine, QC, CAN). O transdutor de ultrassom focalizado será conectado a um circuito de correspondência e acionado por um gerador de função controlado por computador e um amplificador de energia de 50-dB. O transdutor de pulso-eco será acionado por um sistema pulsante-receptor conectado a um digitalizador em um computador pessoal.

[0123] O transdutor de ultrassom focalizado será submerso no recipiente cheio com água degaseificada com seu eixo de feixe perpendicular à superfície do crânio. O foco do transdutor será posicionado dentro do cérebro do camundongo utilizando, por exemplo, um método de posicionamento em grade. O eixo do feixe do transdutor será alinhado de modo que o ponto focal seja colocado 3 mm abaixo do topo do osso parietal do crânio. Nessa colocação, o foco do feixe de ultrassom focalizado será sobreposto ao hipocampo esquerdo e a artéria cerebral posterior (PCA) esquerda. O hipocampo direito não será focalizado e pode ser utilizado como um

controle.

[0124] Um bolus de 25 µL de agentes de contraste de ultrassom constituindo microbolhas (diâmetro médio: 3,0-4,5 µm, concentração: 5,0-8,0 x 10⁸ bolhas por mL) será injetado à veia da cauda 1 a 4 minutos antes da sonicação. Ultrassom focalizada pulsada (taxa de pulso: 10 Hz, duração de pulso: 20 ms, ciclo devido: 20%) será, então, aplicada em 0,64 MPa de pico a pico em uma série de duas rajadas consistindo em 30 s de sonicação em uma única localização (ou seja, o hipocampo). Entre cada rajada, um intervalo de 30 s será permitido para que qualquer calor residual entre pulsos se dissipe. O procedimento de sonicação de ultrassom focalizado pode ser realizado uma ou mais vezes no cérebro de cada camundongo.

[0125] Após a abertura de BHC, um eletrodo de registro bipolar será implantado no hipocampo. CNO e um agente de contraste de RM, por exemplo, gadolínio, serão administrados simultaneamente. CNO será administrado em doses de 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 5 mg/kg, 7 mg/kg e 10 mg/kg. As injeções serão administradas via intraperitoneal com pelo menos 3 dias completos entre as doses individuais (duração aproximada de 10 dias).

[0126] O agente de contraste será utilizado para determinar se a BHC foi aberta pelo tratamento com ultrassom focalizado. O agente será observado pelo uso de escaneamentos de RM ponderados em T1 e T2 utilizando um sistema de 9.4 T. Os camundongos serão colocados em um tubo plástico com uma bobina de gaiola de 3,8 cm de diâmetro afixado e foram inseridos de maneira vertical ao ímã. Aproximadamente 15 minutos após a sonicação, mas antes da injeção de agente de

contraste de RM, um escaneamento de RM de eco de *spin* ponderado por T1 será obtido (TR/TE: 246,1 ms/10 ms; BW: 50.505,1 Hz; tamanho de matriz: 256.vezes.256; FOV: 1,92.vezes.1,92 cm; espessura de fatia: 0,6 mm; NEX: 10, 15 e 45). Uma vez que o primeiro escaneamento está concluído, 0,5 mL de agente de contraste de RM gadolínio é administrado via intraperitoneal por meio de um cateter para retratar a abertura da BHC. Injeção intraperitoneal permite a lenta absorção do agente de contraste de RM ao fluxo sanguíneo. Após a injeção do agente de contraste de RM, uma série de seis escaneamento de imagem de *spin* eco rápidas ponderadas por T1 e ponderadas por T2 alternados (TR/TE: 4000 ms/9,2 ms; aquisição rápida com intensificação de relaxamento: 16; FOV: 1,92.vezes.1,92 cm; tamanho de matriz: 256.vezes.256; número de fatias: 10; espessura de fatia: 0,6 mm; lacuna de fatia: 0,1 mm; NEX: 10, 15 e 45) são obtidos para cada camundongo.

[0127] Camundongos serão avaliados para determinar quais dosagens proveem supressão de convulsão prolongada sem efeitos colaterais. Um *endpoint* é pelo menos 8 horas de supressão de convulsão. Uma vez que uma dose ideal é determinada a administração crônica será avaliada visando 1 a 3 doses ao dia por pelo menos 5 dias.

[0128] Deve ser entendido que os exemplos e realizações aqui providos são exemplos e realizações exemplares. Os técnicos no assunto conceberão diversas modificações dos exemplos e realizações que são compatíveis com o escopo da revelação aqui. Essas modificações são destinadas a serem englobadas pelas reivindicações.

REIVINDICAÇÕES

1. MÉTODO DE TRATAMENTO DE UM DISTÚRBO CONVULSIVO EM UM PACIENTE QUE PRECISA DISSO, caracterizado por compreender:

administração ao paciente de um vetor viral adenoassociado que codifica hM4Di para a liberação de hM4Di a uma localização alvo, o vetor incluindo um promotor de CaMK2A humano, um elemento regulatório pós-transcricional do vírus da hepatite da marmota, e uma sequência de poliadenilação de hormônio bovino de crescimento; e

administração ao paciente de um ligante sintético que ativa hM4Di.

2. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo vetor incluir duas repetições terminais invertidas, uma origem SV40 de replicação, uma origem pUC19 de replicação, e um gene de resistência a ampicilina.

3. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo vetor ser pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA.

4. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo vetor incluir um gene repórter de fluorescência.

5. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo vetor viral adenoassociado ser AAV1, AAV2, AAV4, AAV5, AAV7, AAV8 ou AAV9.

6. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo vetor viral adenoassociado ser AAVRec3.

7. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo ligante sintético ser N-óxido de clozapina.

8. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1,

caracterizado pelo ligante sintético ser perlapina.

9. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo vetor ser liberado a uma localização alvo no cérebro do paciente.

10. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo vetor ser administrado por uma via selecionada do grupo consistindo em oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral.

11. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo vetor ser administrado pelo crânio do paciente diretamente à localização alvo.

12. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo ligante sintético ser administrado por uma via selecionada do grupo consistindo em oral, bucal, sublingual, retal, tópica, intranasal, vaginal e parenteral.

13. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo distúrbio convulsivo ser selecionado do grupo consistindo em displasia cortical focal, epilepsia, epilepsia com convulsões tônico-clônicas generalizadas, epilepsia com ausências mioclônicas, epilepsia de lobo frontal, epilepsia de lobo temporal, epilepsia de lobo occipital, epilepsia de lobo parietal, Síndrome de Landau-Kleffner, Síndrome de Rasmussen, Síndrome de Dravet, Síndrome de Doose, distúrbio de CDKL5, espasmos infantis (síndrome de West), epilepsia mioclônica juvenil (JME), encefalopatia relacionada à vacina, epilepsia na infância intratável (ICE), síndrome de Lennox-Gastaut (LGS), síndrome de Rett, síndrome de Ohtahara, distúrbio de CDKL5, epilepsia de ausência da infância, tremor essencial, convulsões agudas repetitivas, epilepsia rolândica benigna, estado de mal epiléptico, estado

de mal epiléptico refratário, estado de mal epiléptico superrefratário (SRSE), epilepsia pediátrica relacionada a PCDH19, convulsões induzidas por tumor cerebral, convulsões induzidas por hamartoma, convulsões induzidas por suspensão de droga, convulsões induzidas por suspensão de álcool, atividade convulsiva aumentada e convulsões de manifestação súbita.

14. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, em que o distúrbio convulsivo é caracterizado por convulsões focais.

15. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo método prover melhoria em pelo menos um sintoma selecionado do grupo consistindo em ataxia, comprometimento de marcha, comprometimento de fala, vocalização, riso involuntário, comprometimento cognitivo, atividade motora anormal, convulsão clínica, convulsão subclínica, hipotonia, hipertonia, sialorreia, comportamento de articulação de boca, aura, espasmos, movimentos repetitivos, sensações incomuns, frequência de convulsões e gravidade das convulsões.

16. VETOR, caracterizado por compreender ácido nucleico que codifica hM4Di sob controle regulatório de um promotor de CaMK2A humano, um elemento regulatório pós-transcricional de marmota e uma sequência de poliadenilação de hormônio bovino de crescimento.

17. VETOR, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado por ainda compreender duas repetições terminais invertidas, uma origem SV40 de replicação, uma origem pUC19 de replicação, e um gene de resistência a ampicilina.

18. VETOR, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo vetor ser pAM/hCaMK2A-hM4D(Gi)-WPRE-BGHpA.

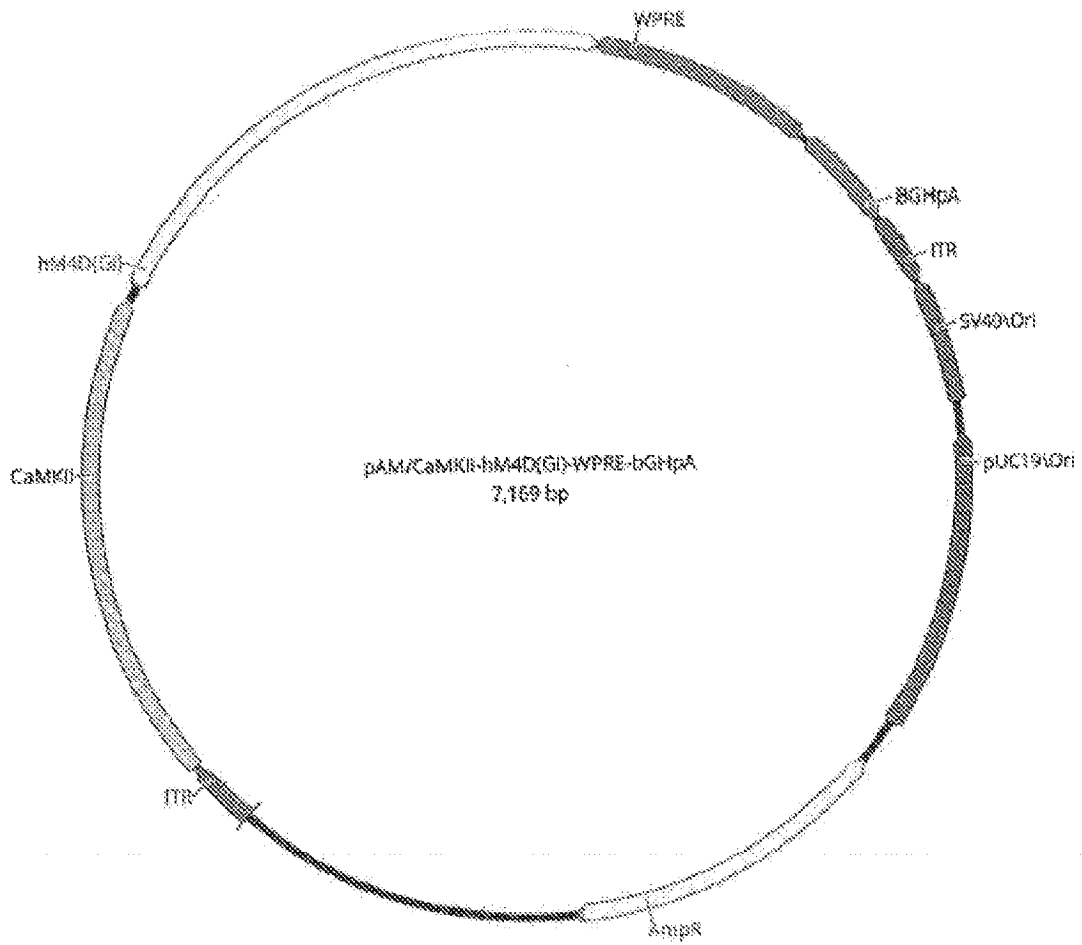


FIG. 1

pAM/CxMKII-h4MD(GI)-WPRE-BGHpA

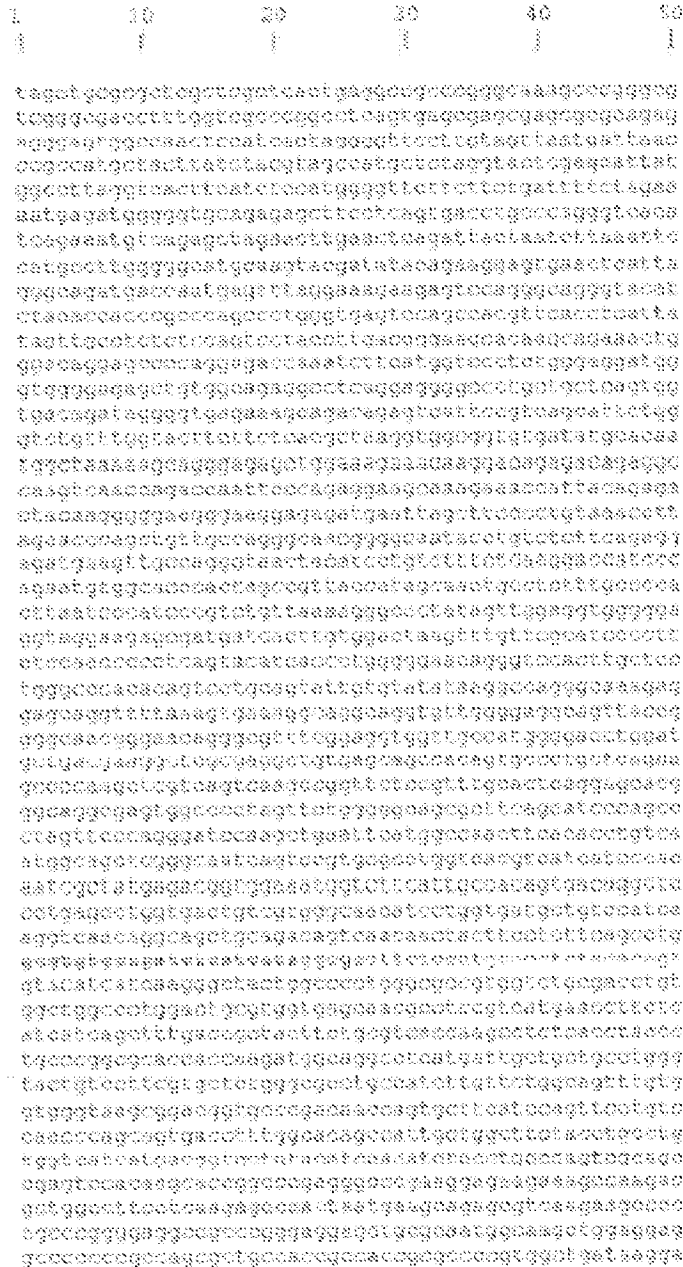


FIG. 2A

as de l'indesent... (The text is extremely faint and largely illegible, appearing to be a dense block of characters or a very low-quality scan of a document. It contains no discernible words or figures.)

FIG. 2B

AAVRec3 Amino Acid Sequence

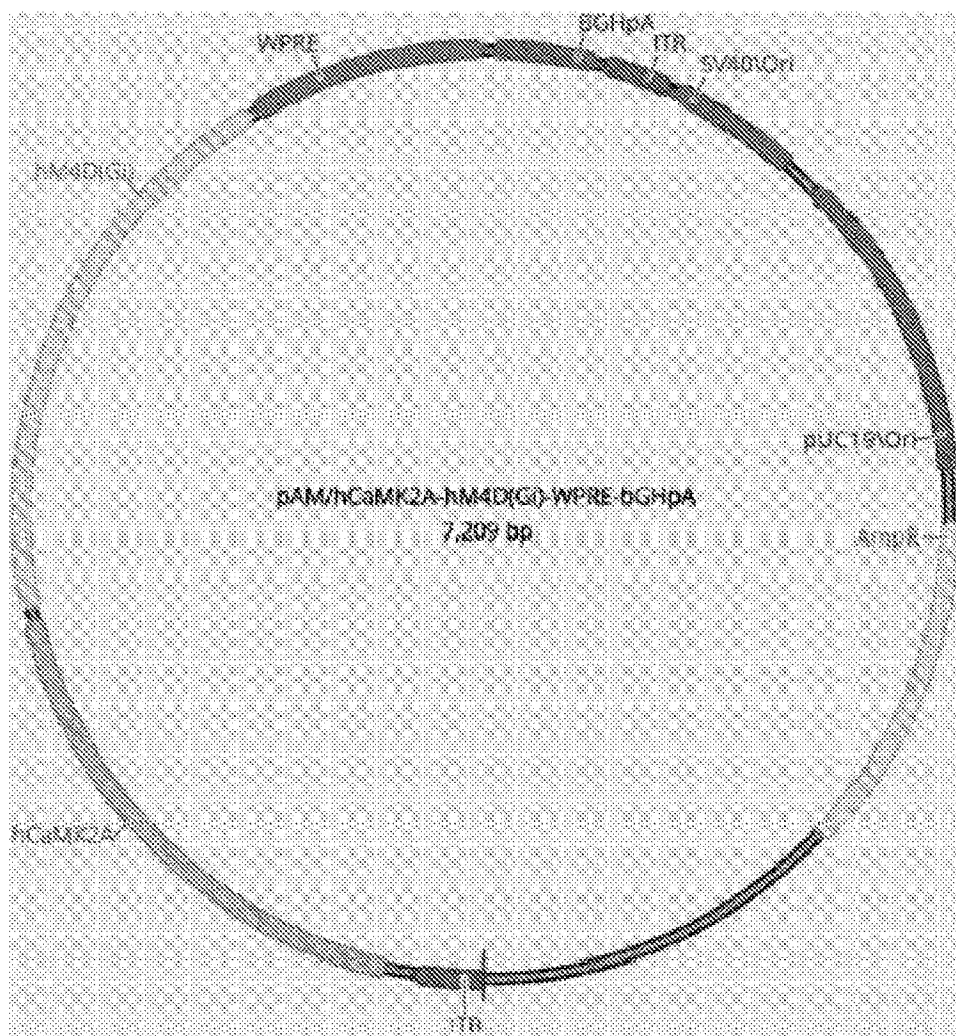
```

1  MNAADGYLFDW  LEQNLSEGIK  EWRDLKPGAF  KFKAKQQQSD  DCRGLVLPQY  RYLGGPFNGLD
61  KGSFVWEADA  AALENDKLYD  QQLKAGDNPY  LRYNHADAEF  QENLQEDTSF  GGNLGPVAVFG
121  AKRRVLEPLG  LVEEAKTAF  GKRPVVEPSF  QRSFDGDTGI  GKKGQQPANK  RLNFGQFGDS
181  ESVFDFQPIG  EFPAGPSGLG  SGTMAAGGGA  PPAADNNGAD  GYGSSEGGWH  COSTWLQDRV
241  YTTSTRTWAL  PTYNNHLYRQ  IENGTSGGST  NDSTYEGYST  FNGYFDFFRF  RCHFSPPDNQ
301  RLINHWGFR  PERLSPKLFN  IQVKEVTONE  GTETIANNLT  STIQVFEDSE  YQLPYVLGSA
361  HQGCLPFFFA  DVFMIPOYCY  LTLNAGGQAV  GRSSPYCLEY  PPSQMLPTCN  NPFESYTFED
421  VPFSSSYANE  QSLDRLMNP  IDQVLYLSE  TQSTGGTQGT  QQLLFSQAGP  ASMSAQAFNN
481  LGGPCYRQQR  VSTTLQMMN  SRFATYCATF  YRLNGRDSL  NPGVAMATNK  QDEERFFPSS
541  GVLMPGQGA  GRDNVDYSSV  MLTSEETET  TNFVATEDIG  VVADNLQQTN  TGFIVGVVRS
601  QGALFGMWDQ  NRDVYLQGV  WAKIERTDGR  FHPSPIMGDF  GLKHPFFQIL  IKNTFVPADP
661  FTEFNQSKLN  RPTIQYSTGQ  VSYELENELQ  HENKRWTFE  IQYFNXYKS  EGVDFAVNTE
721  SYVSEKRPIL  TRYLRNL

```

FIG. 3

FIG. 4



pAM/hCaMK2A-h4MD(GI)-WPRES-BGHpA

1 10 20 30 40 50
 | | | | | |
 tagctggcggcctcgcttgcctcaatgaggccggccggggcaaaagccggggcg
 tggggcgcccttgggtggccggccctcagtgaggagagagagcggccagag
 agggcgtggcccaactccatccctagggggtcccttgytagttaatgattaac
 ccgcccctgctacttactctacgtagccctgctctagggtactcagaggtcgsc
 ggtatcggcgatcaagcttgatctogaatccacgggggttaactcgaataaat
 aatatasaataataataataataatgtccagggaatcagagctcaaac
 tcagatccttggctcttaaacctcaggtccctttctctctaaactccaggac
 ctgggagtagatcttgggtgtagggtatggctgatgcccgaagagt
 gtagtgggagggagaggtgcccagaaaaatttggatcgaagatttcaagg
 ccagctctcggccagtgccctagccgggtaagccatgctatgctcaact
 cccctcggcccccctctggcttttttttttttttttttttttttttttttttttt
 ggaagcaaaagcagaactgggacatgagcaaccaggagaccagatttccs
 tggcccccgtggggcctgggggtggggagagaggtggcagagggggctct
 gggaggagagcaactgctcaagctgtgagaggggtgggggtgagcaggcaagt
 agggctgttccctccaggaatcctgggggtgctctctgcaactctgggcca
 gctggagtgcctgtgtgatggcaagctggctagagagagctgcaagggcc
 gaggctaacagagagacagagggcagagccaaaaaasasasasasasas
 aaacagagggcaacagagagagagctcaagagacacagctgatccadagag
 ggagagccatccctctgatttagccatcatttccctgttaaaccttagaac
 ccagctgttggccagggcaacggggccaaacccctgtctctctagagagtgaag
 ttggccagggtaactgcaatccctgctcttggttccctggggcaaccaggaat
 ggggcccccctggctgttaccctggccactgctttttggccccccttaa
 tcccatccctctgctcaaaagggcccacagctggaggtgggggaggtgg
 gtagagaaaaatcacctgtggcaaaagtttggctctatcccccctccctcc
 agggccctcttgggtccatcccccagggtgttgggtccatcccccc
 cagggcccacacaggttgcagctattgtgtgaggtatggtcagggcgtccg
 agagcaggttccgcagtggaagccagggcaggtgttggggagggcagttlac
 ggggcaacgggcaacagggcgttctggaggtggttggccatggggcaactgga
 tgcctgacagaggtccgagaggtgtgagcagccacagctgcccctgctcaga
 agcccggggctgctcaactcaaacgggttctctgttctgcaactgggcaagcc
 gggcaagggcagtggtccctagggtccgggagcagagcagccagcccccgg
 gggatccagcctgaattcatggcccaactcccccctgtcaatgggagctc
 gggcaatcaagtcgggtgggtggtaagtcattcccccactggctatg
 agacgtggcaatggctctcattgcccagtgacagggctccctgagccctg
 gtagctgtcgtgggcaaacctccctggtgatgctgtccactcaaggtcaacag
 gcagctgcagcagctcaacactactccctccagccctggcgtgctgctg
 atctcatcatagggcccttctccatgaacctctacaacgctgtaoatc
 aagggctcaactggcccccggggggccctggtctgcaacctgtggttggccct
 ggaactggctggtaggcaacggccctccgtcatgaaacctctcatcaacagct
 ttgacccgctactctgctgcaaacagcctctcaactcaactggccggccg
 accacccagctggcagggccctcatgattgctgctgcccgggtactgtccct
 cgtgctctggggcccccctgcaatctggtctggcaggttgggggtgggtaaag
 ggaaggtgcccagcaaacagctgcttcaaccagttccctgtccaacccagca
 gtagcccttggcaacagcaatggaggtctctcaacagctgtagctcaaac
 gcaacggcccgagggcccgcaagggagaaagcaagccaaagcgtggccctc
 ctcaagggcccccctaaatgaagagagagctcaagaaagcccgcggggga
 gggccgcccgggagggagctggggcaatggccagctggaggaagggcccccggc

FIG. 5A

t t a t e n g g t a a c t a t e g t n t t g a g t c c a a n d c g y t a s s a c a d g a c t t a t c
 g c a c t g g c a g c a g c c a c t g g t a a c a g g a t t a g c a g a g c a g g t a t a g t a g
 g o g g t g e t a c a g a g t t o t t g a a g t g g t g g c t a a c t a c g g c f a c a c t a g a
 a g a c a g t a t t t g g t a t e t g o g t o t g o t g e a g c a g t t a c t t c g g s a a
 a a g a g t t g g t a g t n t t g a t c o g g c a a c a a a c c a n d c g t g g t a g c g g t g
 g t t t t t t g t t t g c a a g c a g c a g a t t a c g c g g a g e s e s e s e g g a t c t c a a
 a a a g t c o t t t g a t c t t t o t a c g g g t c t g a c c t c a g t g a a c c a a a a a
 c t a c g t t a a g g a t t t t g g t c a t g a g a t t a t c a a a a g g a t c t t c a c c t
 a g a t c o t t t a a a t t a a a a t g a a g t t t a a a t c a a t c t a a g t a t a t a t
 g a g t a a c c t t g g t t t g e a c g t t a c a a t g u t t a t c a g t g a g g c a c t a t
 c t a g c g a t c t g t t a t t t g t t c a t c c a t a g t t g o t g a n t c c c c g t c g
 t g t a g a t a a c t a c g a t a c g g g a g g c t t a a a t c t g g c c c a g t g c t g c a
 a t g a t a c o g c g a g a c c a a c g t c a c c g g c t c c a g a t t t a t a g c a t a a a
 c c a g c a g c o g g a a g g g c o g s g o g a g a a g t g g t c o t g a a c t t t a t c o g
 c o t c a t c a g t o t a t t a a t t g t t g c o g g a a g c t a g a g t a a g t a g t t o g
 c o a g t a a t a g t t t g c g c a a c g t t g t t g c a t t g e t a c a g g c a t c g t g g t
 g t a c o g c t c g t o g t t t g g t a t g g c t t o a t t c a g o t c o g g t t c c c a a c g a t
 c a a g g o g a g t t a n a t g a t c o c c a t g t t t g t g c a a a a a g e g g t t a g e t c c
 t t o g g t c o t c o g a t o g t t g t c a g a a g t a a g t t g g c o g c a g t g t t a t c a c t
 c a t g g t t a t g g c a g n a c t g n a t a a t t c t c t a c t g t c a t g c a t c o g t a a
 g a t g e t t t t c t g t g e c t g g t g a g t a c t c a a c c a a g t c a t t c t g a g a t a g
 t g t a t g o g g c a c o g a g t t g c t c t t g c c o g g c g t c a t a c g g g t a a t a c
 c g g c c a c a t a g c a g a a c h t t a a a a g t g g t o a t c a t t g g a a a a g t t c o t t
 c g g g y u g a a a a c c o t c a a e g g a t c t t a c c g c t g t g e g e t c c a g t t c a g t g
 t a a c c a c t c g t g a a c c a a c t g a t c t t a g a t c t t t t a c t t c a c c a g
 c g t t t o t g g g t g a g c a a a a c a g g a a g g c a a a t g n o y c a a a a a g g g a a
 t a a g g g g a c a c g g a a t g t t g a s t a c t c a t a c t c t c o t t t t t c a a t a t
 t a t t g a a g c a t t t a t c a g g g t t a t t g t o t c a t g a g o g g a t a c a t a t t t g a
 a t g t a t t t a g a a a a t a a a c a a t a g g g g t t o g y o g a c a t t t c o c c g a a
 a a g t y c a c o t t g a c g t t c t a g a a a c c a t t a t t a t c a t g a c a t t a a c o t a t
 a a a a t a g g c g t a t c a c g a g g c o c t t t g t c t c y c g g t t t c o g g t g a t g a
 c g a t g a a c c o c t c t g a c a c t g r a g o t c o g g a g a a g g t c o c g g t t g t o
 t g t a a g c g g a t g c c g g g a g c a g a c a a g c o g t c a g g g c g g t c a g c g g t
 g t t g g c g g t g t c g g g c t g g c t t a a c t a t g c g g c a t c a g a g a g a t g t
 a c t g a g a g t g a c c a t t a g a c g t c t c o c t a t g c g a c t c o t g n a t t a g g
 a a g c a g c c a a g t a g t a g t t g a g g c o g t t g a g c a c o g c c g c c a a g g a a
 t g g t g c a t g c a a g g a g t g g c y c c a a c a c g t c c c c o g g c a c g g g c o t g
 c a c c c t a c c a n d c g a a a c a a g c g c t a t g a g c c c g a a g t g g c g a g c
 c g a t c t t c c c a t c o g g t g a t g t g g c g a t a t a g g c o c a g c a a c u g a c c
 t a t g g c c c o g t a a t g c o g c a c g a t g o g t c o g g o r t a a a g g a t c t g g c
 t a g g a t g a c c c t g c t g a t t g g t t c g e t g a c a a t t c o g g g t g o g g a c g
 g u g t t a c a g a a c t c a g a a g g t t c g t c c a a c a a c c g a c t c t g a c g g c
 a g t t a c g a g a g a t a t a g a g g t o t g o t t a g t a a g c a g a t g u t a a c
 a a t t a g g c t t g t a a t a t t g t o g t t a g a a c g g g c t a c a t t a a t a c t a
 a c t t a t g t a t c a t a c a c a t a g a t t t a g t g a c a c t a t a g a a t a a c g g
 a t t a a t t c

FIG. 5C

FIG. 6A



FIG. 6B

TGTSAGAGGGTGGGGGTSAGCAGSCAGTCAGGGCTGTTCCTC
FCaMK2A
CAGAATECTGGGGTGTCTCTGCACCTTETGEGCCAAGCTGGA
FCaMK2A
GTGCTASTGTGATGGACAAGGTGGTAAGAGAGCTSAAGAGGC
FCaMK2A
ACGAGCATAACAAGAAAGAAAGAGGGCAGAAGCAAAAAAAAAA
FCaMK2A
AAAAAAAAAAAAACAGAGGGCAACAGAGAGACAGTTACAGAGA
FCaMK2A
CTACAGTGATCCACAGAGGGAGAGCCATCCCTGTGAATTAGC
FCaMK2A
GATCATTTCCTGTAAACCTTAGAACCCAGCTGTTECCAGGG
FCaMK2A
CAACGGGGCAATACCTGTCTCTCTAGAGATGAAGTTGCCAGG
FCaMK2A
GTAAGTGCATCCTGTCAATTCGTTCTGAGGACCATCCGGAAT
FCaMK2A
GCGGCACCCACTCGGTGTACEATGGCAACTGCCTTTTTTGGC
FCaMK2A
CCACTTAATCCCATCCCGTCTGCTACAAGGGCCCAAGTTG
FCaMK2A
GAGGTGGGGGAGGTGGGAAGAGAAAAGATEACTTGTGGACAA
FCaMK2A
AGTTTGGTCTATTCCACCTECTCCAGSCCCTCCTTGGGTCCA
FCaMK2A
TCACCCCAAGGCTGTGGTCCATCCCACCCCAAGGCCACACA
FCaMK2A
CAGGCTTGCASTATTGTCTGCGGTATGGTCAGGGGGTCCGAG
FCaMK2A
AGCAGSTTTCGCASTGGAAGGCAGGCAGGTGTTGGGGAGGCA
FCaMK2A

FIG. 6C

GTTACC5660CAACGGGAACAG66CGTTTTT89AGBTGOTTGC
 hCaMK2A

CAT5666ACCT56ATGCTGAC6AAGGCTC66GAGGCT51SAG
 hCaMK2A

CAGECACAGTGCCTTCTCAGAAGCCCC666CTGGTCAGTCA
 hCaMK2A

AACCGGTTCTCTGTTTT6CACTCGGCAGCACGGGCAGGCAAGT
 hCaMK2A

GGTCCCTAGGTTCCGGAGCAGAGCAGCAGCGCCCC6666GA
 hCaMK2A

TCCAAGETGAATTCATGGCCAAETTCACACCTGTCAATGGCA
 hMAD1G1

GCTC666CAATCAGTCCGT66CGGTGGTCAAGTCAATGATCCC
 hMAD1G1

ACAATCCCTATGAGACGGTGGAAATGGTCTTEATTGCCACAG
 hMAD1G1

TCACAGGCTCCCTGAGCCTGGT6ACTGTCT6666CAACATCC
 hMAD1G1

TGGTGATGCTGTCCATCAAGGTCAACAGGCCAGCTGCAGACAG
 hMAD1G1

TCAACAACACTACTTCCCTCTTACCCCTGGCGTGTGCTGATCTCA
 hMAD1G1

TCATAGGCGCCTTCTCCATGAACCTCTACACCGTGTACATCA
 hMAD1G1

TCAAGGGCTACTGGCCCT5666CGGTGGTCTGCGACCTGT
 hMAD1G1

GGCTGGCCCTGGACTGGGTGGT5AGCAAC66CTCCGTCATCA
 hMAD1G1

ACCTTCTCATCATCAGCTTTGACCGCTACTTCTGCGTCAACCA
 hMAD1G1

AGCCTCTCACCTACCTGCCCCGGG66ACCACCAAGAT66CAG
 hMAD1G1

FIG. 6D

GCCTCATGATTGCTGCTGCCTGGGTACTGTCCTTCGTTGCTCT
GGGCGCCTSCCATCTTTGTTCTGGCAGTTTGTGGTGGSTAAGC
GGACGGTGGCCGACAACCAAGTGGCTTCATCCAGTTCCTGTCCA
ACCCAGCAGTGACCTTTGGCACAGCCATTGCTGGCTTCTACC
TGCCTGTGGTCATCATGACGGTGGCTGTACATCCACATCTCCC
TGGCCASTGCGAGCCGAGTCCACAAGCACCGGCCCGAGGGCC
CGAAGGAGAAGAAAGCCAAAGACGCTGGGCTTCTCAAGAGCC
CACTAATGAAGCAGAGCGTCAAGAAGCCCCCGCCCGGGAGG
CCCCCGGGAGGAGCTGCGCAATGSCAAGCTGGAGGAGGCCC
CCCCCGCCAGCGCTGCCACCCGCAACCCGCGCCCGTGGCTNATA
AGGACAETTCGAATGAGTCCAGCTCAGGCAGTGCACCCAGA
ACACCAAGGAAACGCCCCAGCCACAGAGCTGTCCACCAAGAGG
CCACCAAGGCGCCGCAATGCCCGCCCTCCCTGCAGCCGCGGG
CCCTCAACCCAGGCTCCAGATGGTCCAAGATCCAGATTGTGA
CGAAGCAGACAGGCAATGAGTGTGTGACAGCCATTGAGATTG
TGCCTGCCACGCGGCTGGCATGCCGCCCTGCGGCCAACGTTGG

FIG. 6E



FIG. 6F



FIG. 5G



FIG. 6H

CGCTCAAATCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGA
 pUC19Ori
 TACCAGGGCGTTTCCCCCTGGAAAGCTCCCTCGGTGGGCTCTCCT
 pUC19Ori
 GTTCCGACCCTSCCGCTTACCGGATACTGTCCGCTTTTCTC
 pUC19Ori
 CCTTCGGGAAGCGGTGGCGCTTTCTCATAGCTCAAGCTGTAGG
 pUC19Ori
 TATCTCAGTTCGCTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGT
 pUC19Ori
 GTGCACGAAACCECCCGTTTACGCCCGACCGCTSCGCTTATCC
 pUC19Ori
 GGTAACTATCGTCTTGAGTCCAACCECGTAACACACCGACTTA
 pUC19Ori
 TCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACASSATTAGCAGAGCG
 pUC19Ori
 ASGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCT
 pUC19Ori
 AACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGTATCTGGGCT
 pUC19Ori
 CTGCTSAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAAGAGTTGGTAGCTCT
 pUC19Ori
 TGATCCGGCAAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTT
 pUC19Ori
 GTTTGCAAGCAGCAGATTACGGGCAGAAAAAAAGGATCTCAA
 pUC19Ori
 GAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGG
 pUC19Ori
 AACGAAAACCTCACGTTAAGGGATTTTGGTTCATGAGATTATCA
 pUC19Ori
 AAAAGGATCTTCACCTAGATCCTTTTAAATTAAAAATGAAT

FIG. 61

TTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAAACTTGGTCTGAC
 AGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCCATC
 TGTCTATTTCTTTCATCCATAGTTGCCTGACTCCCCCGTCGTG
 TAGATAACTACGATACGGGAGGGGCTTACCATCTGGCCCCAST
 GCTGCAATGATAACCGGASACCCACGCTCACCGGCTCCAGAT
 TTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGGAAGGGCCSAGCCGASA
 AGTGGTCCTGCAACTTTATCCGGCTCCATCCAGTCTATTAAT
 TGTGGCCGGGAAGCTAGAAGTAAGTAGTTCCGCCAGTTAATAGT
 TTGGCCAACGTTGTTGCCATTGGCTACAGCCATCGTGGTGTCA
 EGTEGTCGTTTTGSTATGSCCTTCATTTCAGCTCCGCTTCCCAA
 CGATCAABGGCAGTTACATGATECCCCCATGTTGTSCAAAAAA
 GCGTTAGSETECTTCGGTCCCTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAG
 TTGGCCGCAGTSTTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTCCAT
 AATTCTCTTACTCTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTG
 ACTGGTGAGTACTCAACCAAGTCAATTCTGAGAATAGTGTATG
 CGGCGACCGAGTTGCTTTGCCCGCGTCAATACGGGATAAT

FIG. 6J

ACCGCGCCACATAGCAGA AACTTTAAAAGTGGCTCATCATTGGA
 AACGTTCTTCGGGGCCAAAAC TETEAGGATCFTTACCGETG
 TTGAGATCCAGTTCCGATGTAACCCACTCGTGCACCCCAACTGA
 TCTTCASCATCTTTTACTTT CACCAGCGTTTCTGGSTGACCA
 AAAACAGGAAGGCCAAAATGCCGCAAAAAAAGGGAATAAGGGCG
 ACAAGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTTTCAATAT
 TATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATAAC
 ATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCG
 CGCACATTTCCCCGAAAAGTCCACCTGACGTCTAAGAAACC
 ATTATTATCATGACATTAACCTATAAAAAATAGGGGATCACC
 AGGECCTTTTCGTCTEGCSCGTTTCCGGTGATGACGGTGAAAC
 CTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTCACAGCTTGTCTG
 TAAGCAGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCCGCTCA
 GCGGGTGTTEGCGGGGTGTCEGGGCTGGCTTAAC TATGCCGCA
 TCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCAATTCGACGCTCTCE
 CTTATGCGAETCCTGCATTAGGAASCAGECCAGTASTAGGTT

FIG. 6K

SAGGECGTTGAGCACCCGCCGCCCAAGGAATGGTGCATGEAA
GGAGATGGCGCCCAACAGTCCCCCGGCCACGGGGCCTGCCAC
CATACCACGGCCGAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCG
AGCCCGATCTTCCCCATCGGTGATGTCGGCGATATAGGCCGC
AGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGTGATGCCGGCCACGATSCG
TCCGGCGTAGAGGATCTGGCTAGCGATGACCCTGCTGATTGG
TTGCTGACCATTTCCGGGTGGGGGAGGGCGTTACCAGAAAC
TCAGAAGGTTCCGTCCAACCAAACCGACTCTGACGGCAGTTTA
CGAGACAGATGATAGGETCTGCTTCAGTAAGCCAGATGCTAC
ACAATTAGGCTTETACATATTTGTCGTTAGAACCCGCTACAA
TTAATACATAACCTTATGTATCATAACACATAAGSATTTAGGTG
ACACTATAGAATACACGGGAATTAATTC

RESUMO

MÉTODO DE TRATAMENTO DE UM DISTÚRPIO CONVULSIVO EM UM PACIENTE QUE PRECISA DISSO E VETOR

São providos métodos e composições para tratar um distúrbio convulsivo que incluem administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado inibe o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético. Também são providos métodos e composições para tratar um distúrbio convulsivo em um paciente que precisa disso pela administração ao paciente de um vetor que codifica um receptor modificado para a liberação do receptor modificado à localização alvo, o receptor modificado sendo modificado para ser ativado por um ligante sintético, em que o receptor modificado aumenta o disparo neuronal quando ativado; e administração ao paciente do ligante sintético. Os métodos são utilizados para melhorar ou aliviar um ou mais sintomas de um distúrbio convulsivo.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: IPI6580_Listagem de Sequências_CPR.txt
- Data de Geração do Código: 14/10/2019
- Hora de Geração do Código: 18:00:09
- Código de Controle:
 - Campo 1: 53B4D8639EB30B1B
 - Campo 2: 668941B05514E9E5