(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0018072
(43) 공개일자 2017년02월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/07 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/07 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7001848
(22) 출원일자(국제) 2015년06월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2017년01월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/037177
(87) 국제공개번호 WO 2015/200322
국제공개일자 2015년12월30일
(30) 우선권주장
62/015,727 2014년06월23일 미국(US)
62/109,386 2015년01월29일 미국(US)

(71) 출원인
노오쓰웨스턴 유니버시티
미국 일리노이 60208 에반스톤클라크 스트리트 633
노렉스, 인크.
미합중국 뉴저지주 07054 파시퍼니 인터페이스 파크웨이 400 모리스 코퍼레이트 센터 III
(72) 발명자
모스칼, 조셉, 알.
미합중국 일리노이주 60201, 에반스톤, 쉐리던 로드 2775
스탠턴, 패트릭
미합중국 뉴욕주 10541-3179, 마호팩, 웨스트 레이크 블러바드 207
(74) 대리인
최경준

전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 발명의 명칭 **편두통을 치료 또는 경감시키는 방법**

(57) 요 약

소정의 실시형태에서, 본 발명은 펩타이드 NMDAR 부분 작용제를 투여함으로써 편두통(예를 들어, 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통, 편두통양 장애, 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군 또는 군발성 두통)을 치료하는 방법에 관한 것이다. 소정의 실시형태에서, 본 발명은 또한 펩타이드 NMDAR 부분 작용제를 투여함으로써 환자에서 장기간 편두통 후 후유증을 치료 또는 경감시키는 방법에 관한 것이다. 소정의 다른 실시형태에서, 본 발명은, 펩타이드 NMDAR 부분 작용제를 투여하는 단계를 포함하는, 이를 필요로 하는 환자에서 피질 확산성 억제 또는 피질 확산성 억제에 의해 생긴 질환 또는 병태를 치료, 억제 또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 예를 들어, 간질, 외상성 뇌 손상, 및/또는 뇌졸중을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다.

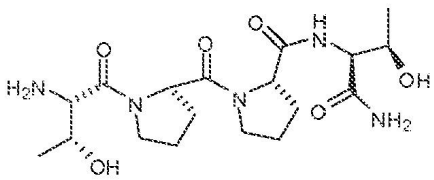
(52) CPC특허분류
A61K 9/02 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

편두통의 치료를 필요로 하는 환자에서 편두통을 치료하는 방법으로서, 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 편두통을 치료하는 방법.



청구항 2

제1항에 있어서, 상기 화합물은 상기 화합물의 약 0.01㎎/㎏ 내지 약 1000㎎/㎏ 또는 약 1㎎/㎏ 내지 약 500㎎/㎏의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 편두통은 발작적 편두통(episodic migraine), 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통(ophthalmoplegic migraine), 무전조 편두통(acephalgic migraine), 편두통양 장애(migrainous disorder), 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군(childhood periodic syndrome) 또는 군발성 두통(cluster headache)인, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 편두통은 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통 또는 군발성 두통인, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 편두통은 조짐 편두통(migraine with aura)(고전적 편두통)인, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 편두통은 무조짐 편두통(일반 편두통)인, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 편두통은 이질통이 동반되는, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물의 약 1㎎/㎏ 내지 약 10㎎/㎏, 약10㎎/㎏ 내지 약 250㎎/㎏, 약 20㎎/㎏ 내지 약 150㎎/㎏, 약 30㎎/㎏ 내지 약 125㎎/㎏, 약 40㎎/㎏ 내지 약 110㎎/㎏, 약 50㎎/㎏ 내지 약 100㎎/㎏, 약 60㎎/㎏ 내지 약 90㎎/㎏, 또는 약 70㎎/㎏ 내지 약 90㎎/㎏을 투여하는 단계를 포함하는, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물의 약 1㎎/㎏, 약 2.5㎎/㎏, 약 5㎎/㎏, 약 10㎎/㎏, 약 20㎎/㎏, 약 25㎎/㎏, 약 30㎎/㎏, 약 50㎎/㎏, 약 75㎎/㎏ 또는 약 100㎎/㎏을 투여하는 단계를 포함하는, 편

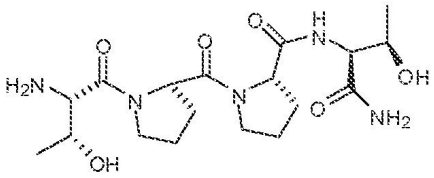
두통을 치료하는 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물을 1일 2회, 1일 약 1회, 2일 1회, 3일 1회, 4일 1회, 5일 1회, 1주 약 1회, 2주 약 1회 또는 1개월 약 1회 투여하는 단계를 포함하는, 편두통을 치료하는 방법.

청구항 11

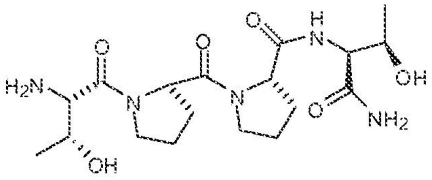
피질 확산성 억제(cortical spreading depression)의 치료, 억제 및/또는 예방을 필요로 하는 환자에서 피질 확산성 억제를 치료, 억제 및/또는 예방하는 방법으로서, 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 피질 확산성 억제를 치료, 억제 및/또는 예방하는 방법:



.

청구항 12

장기간 편두통 후 후유증의 치료 또는 경감을 필요로 하는 환자에서 장기간 편두통 후 후유증을 치료 또는 경감시키는 방법으로서, 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 장기간 편두통 후 후유증을 치료 또는 경감시키는 방법:



.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 화합물은 상기 화합물의 약 0.01mg/kg 내지 약 1000mg/kg 또는 약 1mg/kg 내지 약 500mg/kg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 방법.

청구항 14

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 화합물의 약 1 내지 약 20mg/kg, 약 2 내지 약 15mg/kg; 약 5 내지 약 10mg/kg, 약 10mg/kg 내지 약 250mg/kg, 약 20mg/kg 내지 약 150mg/kg, 약 30mg/kg 내지 약 125mg/kg, 약 40mg/kg 내지 약 110mg/kg, 약 50mg/kg 내지 약 100mg/kg, 약 60mg/kg 내지 약 90mg/kg 또는 약 70mg/kg 내지 약 90mg/kg을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 15

제11항 또는 제12항에 있어서, 상기 화합물의 약 1mg/kg, 약 2.5mg/kg, 약 5mg/kg, 약 10mg/kg, 약 21mg/kg, 약 25mg/kg, 약 30mg/kg, 약 50mg/kg, 약 70mg/kg 또는 약 10mg/kg을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 16

제11항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물을 1일 2회, 1일 약 1회, 2일 1회, 3일 1회, 4일 1회, 5일 1회, 1주 약 1회, 2주 약 1회 또는 1개월 약 1회 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 오피오이드, 항우울제, 항간질제, 비스테로이드성 소염 약물(non-

steroidal anti-inflammatory drug; NSAID), 세로토닌 5HT1B/1D 작용제, N-메틸-D-아스파르테이트 길항제 또는 소염 화합물과의 병용투여를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 인간인, 방법.

청구항 19

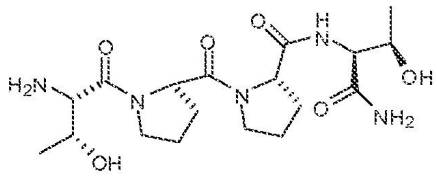
제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 여성인, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 소아 또는 청소년 환자인, 방법.

청구항 21

외상성 뇌 손상의 치료 또는 경감을 필요로 하는 환자에서 외상성 뇌 손상을 치료 또는 경감시키는 방법으로서, 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 외상성 뇌 손상을 치료 또는 경감시키는 방법:



.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 화합물은 상기 화합물의 약 0.01mg/kg 내지 약 1000mg/kg 또는 약 1mg/kg 내지 약 500mg/kg의 용량으로 상기 환자에게 투여되는, 외상성 뇌 손상을 치료 또는 경감시키는 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 화합물의 약 1 내지 약 20mg/kg, 약 2 내지 약 15mg/kg; 약 5 내지 약 10mg/kg, 약 10mg/kg 내지 약 250mg/kg, 약 20mg/kg 내지 약 150mg/kg, 약 30mg/kg 내지 약 125mg/kg, 약 40mg/kg 내지 약 110mg/kg, 약 50mg/kg 내지 약 100mg/kg, 약 60mg/kg 내지 약 90mg/kg 또는 약 70mg/kg 내지 약 90mg/kg을 투여하는 단계를 포함하는, 외상성 뇌 손상을 치료 또는 경감시키는 방법.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 화합물을 1일 2회, 1일 약 1회, 2일 1회, 3일 1회, 4일 1회, 5일 1회, 1주 약 1회, 2주 약 1회 또는 1개월 약 1회 투여하는 단계를 포함하는, 외상성 뇌 손상을 치료 또는 경감시키는 방법.

청구항 25

제21항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 스테로이드, 항우울제, 오피오이드, 항간질제, 항전간제 약물, 항경련제, 비스테로이드성 소염 약물(NSAID), 세로토닌 5HT1B/1D 작용제, 이뇨제 및/또는 소염 화합물과의 병용투여를 추가로 포함하는, 외상성 뇌 손상을 치료 또는 경감시키는 방법.

청구항 26

제21항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 인간인, 외상성 뇌 손상을 치료 또는 경감시키는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본원은 2014년 6월 23일자로 출원된 미국 가출원 제62/015,727호, 및 2015년 1월 29일자로 출원된 미국 가출원 제62/109,386호(이들 각각은 그들의 전문이 참고로 본 명세서에 포함됨)의 이익 및 우선권을 주장한다.

배 경 기 술

[0003] 편두통은 재발하고, 혈관 촉발물질에 초점을 두는 기존의 약물요법에 의해 대개 불량하게 제어되는 허약성 공격과 연관된 일차성 삽화성 두통 통증 장애이다. 편두통 공격의 발병은, 피질 확산성 억제(spreading depression; SD)의 현상에 의해 발생한, 섬광 암점, 또는 편두통 조짐에 의해 대개 전조가 된다(문헌[Ayata, Headache, 50:725-30, 2010; Eikerman-Haerter et al., Curr. Neurol. Neurosci. Rep., 10:167-73, 2010; 및 Sánchez del-Rio et al., Curr. Opin. Neurol., 17(3):289-93, 2004] 참조). SD는, 세포외 칼륨의 국소 증가 및 피질의 큰 구역에 걸쳐 느린 탈분극의 자가 전파하는 파를 생성하는 글루타메이트의 방출에 의해 촉발된, 뇌파 측정 활성의 느리게 전파하는 억제이다. 대략 15 내지 30%의 편두통 환자가 조짐 편두통(migraine with aura)을 경험한다.

[0004] 포유류의 중추 신경계(central nervous system; CNS)는 신경활성 펩타이드 소마토스타틴, 콜레사이스토키닌, VIP, 물질 P, 엔케팔린, 신경펩타이드 Y(NPY), 뉴로텐신, TRH, CCK 및 다이노르핀을 포함하는 뇌 및 척수 내의 특별한 신호전달을 발생시키는 많은 신경활성 펩타이드를 사용한다. (일반적으로 문헌[The Biochemical Basis of Neuropharmacology, Cooper, Bloom and Roth, 5th ed., Oxford University Press, New York, 1986] 참조). CNS에서 운영되는 복잡한 신호전달 경로의 조심스런 설명은 CNS와 연관된 다양한 장애에 대한 중요한 치료학적 표적을 제시하는 이 신경활성 펩타이드에 의해 조절되는 특별한 수용체를 확인시켰다.

[0005] N-메틸-D-아스파르테이트(NMDA) 수용체(NMDAR)는 뇌졸중 관련 뇌 세포 사멸, 경련 장애, 및 학습 및 기억을 포함하는 신경퇴행성 장애에 연루된 하나의 수용체이다. NMDAR은 중추 신경계에서 정상 시냅스 전달, 시냅스 가소성 및 흥분세포독성을 조절하는 데 있어서 중심적인 역할을 또한 한다. NMDAR은 장기간 강화(long-term potentiation; LTP)에 추가로 관여된다. LTP는 학습 및 기억의 기초를 이루는 뉴런 연결의 지속적 강화이다(문헌[Bliss and Collingridge, 1993, Nature 361:31-39] 참조).

[0006] 글루타메이트 수용체의 2개의 일반 종류는 중추 신경계(CNS)를 특징으로 한다. 이들은 신호전달 단백질의 G-단백질 커플링된 수용체 패밀리, 및 이온자극성 글루타메이트 수용체에 속하는 대사자극성 글루타메이트 수용체이다(Muir and Lees, Stroke, 1995, 26, 503-513). 이온자극성 종류는 이들을 활성화하는 선택적 리간드에 의해 AMPA, 카이네이트 및 NMDA 수용체 하위유형으로 추가로 세분된다.

[0007] NMDA 매개 소분자 작용제 및 길항제 화합물은 잠재적 치료학적 용도를 위해 개발되었다. 그러나, 이들 중 대부분은 매우 좁은 치료학적 지수 및 환각, 운동실조, 불합리한 행동 및 상당한 독성(이들 모두 이의 유효성 및/또는 안전성을 제한함)을 포함하는 원치 않는 부작용과 관련된다.

[0008] 따라서, 증가한 효율 및 감소한 원치 않는 부작용을 제공하는 화합물에 의한 편두통 및 다른 관련 질환의 개선된 치료에 대한 요구가 여전하다.

발명의 내용

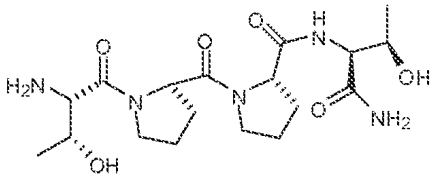
[0009] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 약제학적 유효량의 GLYX 펩타이드를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 편두통을 치료하는 방법에 관한 것이다. 소정의 실시형태에서, 편두통은 발작적 편두통(episodic migraine), 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통(ophthalmoplegic migraine), 무전조 편두통(acephalgic migraine), 편두통양 장애(migrainous disorder), 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군(childhood periodic syndrome) 및/또는 군발성 두통(cluster headache)일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 편두통은 무조짐 편두통(일반 편두통)이다. 소정의 실시형태에서, 편두통은 조짐 편두통(고전적 편두통)이다. 소정의 실시형태에서, 편두통은 이질통이 동반된다.

[0010] 예를 들어, 개시된 화합물은 편두통(예를 들어, 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통, 편두통양 장애, 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군 또는 군발성 두통)의 치료를 위해 기능적으로 NMDAR의 글라이신 부위의 작용과 상호작용하거나 이것을 조절할 수 있다.

[0011] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 약제학적 유효량의 GLYX 펩타이드를 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는

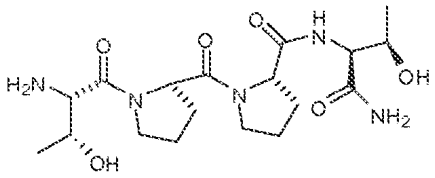
단계를 포함하는 피질 확산성 억제(SD)를 치료, 억제 및/또는 예방하는 방법에 관한 것이다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 약제학적 유효량의 GLYX 펩타이드를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 이를 필요로 하는 환자에서 장기간 편두통 후 후유증을 치료 또는 경감시키는 것에 관한 것이다.

[0012] 소정의 실시형태에서, GLYX 펩타이드는 하기 구조를 가지거나, NMDAR 부분 작용제 활성을 가지는 이의 약제학적으로 허용되는 염, 또는 이의 유도체이다:



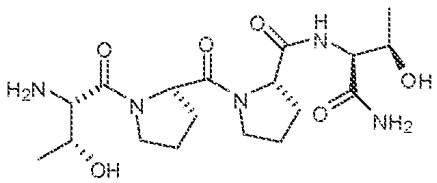
[0013] .

[0014] 일 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 편두통을 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다:



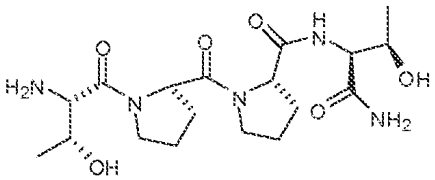
[0015] .

[0016] 또 다른 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 피질 확산성 억제를 치료, 억제 및/또는 예방하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다:



[0017] .

[0018] 또 다른 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 장기간 편두통 후 후유증을 치료 또는 경감시키는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다:



[0019] .

[0020] 하기 더 자세히 기재된 바대로, 조짐에서 투여될 때 효과적인 약물은 예를 들어 편두통의 조기 단계에서 중재를 허용함으로써 환자에게 유리할 것이다. 본 명세서에 기재된 방법이 조짐에서 GLYX 펩타이드의 투여를 포함하는 조짐 편두통의 치료에 적용 가능하다는 것이 고려된다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 해마회 슬라이스의 필드 CA1에서의 병소적 높은 [K^+] 유도된 확산성 억제(SD)를 보여주어, 뉴런 및 신경교의 많은 탈분극의 분산 파를 반영하는 휘도의 변화를 발생시킨다.

도 2는 뇌 슬라이스에서 발생한 SD에 대한 데이터를 보여주고; 개시 부위에서 SD의 개별 순차적 삽화의 기준 구

역 사이의 상당한 차이가 없어서(본페로니 다중 비교 시험((Bonferroni Multiple Comparison Test)), *P*>0.20), GLYX-13이 SD의 개시를 변경하지 않는다는 것을 나타낸다.

도 3은 GLYX-13이 SD 개시에 대한 불응 기간을 증가시킨다는 것을 입증하는 데이터를 보여준다. SD는 대조군 슬라이스(대조군)에서의 이전의 SD 후 5분에 성공적으로 일어날 수 있지만, GLYX-13(GLYX-13 30')에 의해 처리된 슬라이스에서는 일어날 수 없었다.

도 4A는 증가한 휘도의 SD "조짐"이 개시 피펫으로부터 확산하고 슬라이스에 걸쳐 전파하고, SD 전도 속도를 계산하기 위해 사용될 수 있다는 것을 보여주다(도 4B).

도 5는, GLYX-13이 SD 전도 속도에 영향을 미치는 경우 SD의 반복 삽화가 안정한 속도를 유지시키는지 시험하기 위해, 6회 후속 SD를 분석하기 위한 반복 측정에 의한, 변량의 1방향 분석(ANOVA)을 보여준다.

도 6A는 대조군 피라미드 뉴런에서 SD의 2개의 삽화에 반응한 가시 수축을 보여주지만, 도 6B는 10㎛M GLYX-13의 존재 하의 동일한 과정을 예시하고; 도 6C는 GLYX-13이 SD 후 가시 크기의 회복을 구제한다는 것을 나타낸다.

도 7A는 확산 거리를 보여주고, 도 7B는 (에스트로겐 치료된 및 비오일 치료된) 랫트에서의 확산성 억제의 확산 속도를 보여주어, 확산 속도가 오일 치료된 랫트와 비교하여 더 빠르다는 것을 나타낸다.

도 8은 에스트로겐 처리된 랫트로부터의 슬라이스에서의 SD가 오일 처리된 랫트보다 길게 이동한다는 것을 보여준다.

도 9A는 랫트 실험에서의 SD와 연관된 휘도 변화가 GLYX-13의 존재 하에 지연된다는 것을 보여주고; 도 9B는 SD가 GLYX-13의 존재 하에 유발된다는 것을 보여준다.

도 10은 GLYX-13의 적용 전에 및 후에 에스트로겐 치료된 랫트에 걸친 SD 전파 속도에 대한 GLYX-13의 영향 ($F(1,8)=3.1;p<0.05$); 및 2개의 군 사이의 GLYX-13의 예비노출($F(1,8)=4.2;\ p<0.05$)을 보여준다.

도 11A 내지 도 11B는 블라스트 후 24시간에 PEL 시험에서 라파스티넬(3㎎/㎏ IV; 블라스트 후 1시간)의 블라스트 유도된 학습 결함의 구제를 보여준다. 도 11A는 블라스트 회복 시간(정상 보행에 대한 잠재력) 데이터를 보여준다. 도 11B는 대상체 간 설계를 사용한 블라스트 후 24시간에 수행된 단일 3분 긍정적 정서 학습(PEL) 시험 세션의 결과를 보여준다. N = 군마다 4 내지 6. * *P*<0.05(도 11A) ANOVA, 또는 (도 11B) 피셔의 PLSD 사후 시험, 라파스티넬 + TBI 대 비히클 + TBI.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] **편두통 분류**

[0023] 편두통은 1988년에 처음에 포괄적으로 분류되었다. 국제 두통 협회(International Headache Society)는 가장 최근에 2004년에 두통의 이의 분류를 업데이트하였다. 이 분류에 따르면, 편두통은 무엇보다도 긴장형 두통 및 군발성 두통과 함께 원발성 두통이다

[0024] 편두통은 7개의 하위분류로 분류된다(이들 중 몇몇은 추가의 하위분류를 포함한다):

[0025] 무조짐 편두통, 또는 "일반 편두통"은 조짐을 동반하지 않는 편두통성 두통을 포함한다.

[0026] 조짐 편두통, 또는 "전통적 편두통"은 보통 조짐을 동반하는 편두통성 두통을 포함한다. 덜 흔하게는, 조짐은 두통 없이 또는 비편두통성 두통과 함께 발생할 수 있다. 2개의 다른 변형은 가족성 반신불수 편두통 및 산발적 반신불수 편두통이고, 여기서 사람은 조짐 편두통을 가지고 운동 장애를 동반한다. 근친이 동일한 병태를 가지는 경우, 이것은 "가족성"이라 불리고, 그렇지 않으면 이것은 "산발적"이라 불린다. 또 다른 변형은 두개기부형 편두통(basilar-type migraine)이고, 여기서 두통 및 조짐은 운동 장애가 아니라 말하기의 어려움, 세상의 회전, 귀의 울림, 또는 다수의 다른 뇌간 관련 증상이 동반된다. 이 유형은 뇌간에 공급하는 동맥인 두개기부 동맥의 경련으로 인한 것으로 초기에 생각되었다. 조짐 편두통의 진단을 위한 가이드라인은 예를 들어 문헌 [Eriksen et al., European Journal of Neurology 11:583-591, 2004 및 국제 두통 장애 분류, 2판 (International Classification of Headache Disorders, Second Edition)(ICHD-II)]에서 발견된다. 조짐 편두통의 하위유형은 ICHD-II에 기재된 것, 예컨대 편두통성 두통을 가지는 통상적인 조짐(IHS 1.2.1), 비편두통성 두통을 가지는 통상적인 조짐(IHS 1.2.2), 두통이 없는 통상적인 조짐(IHS 1.2.3), 가족성 반신불수 편두통(IHS 1.2.4), 산발적 반신불수 편두통(IHS 1.2.5) 및 두개기부형 편두통(IHS 1.2.6)을 포함한다.

[0027] 흔히 편두통의 선구자인 아동기 주기적 증후군은 주기적 구토(때때로의 강한 구토 기간), 복부 편두통(복부 통증, 보통 구역이 동반됨) 및 아동기의 양성 발작성 현기증(때때로의 현기증의 도짐)을 포함한다.

[0028] 망막 편두통은 시각 장애 또는 심지어 한쪽 눈의 일시적인 실명을 동반하는 편두통성 두통을 포함한다.

[0029] 편두통의 합병증은 드문 긴 또는 드문 빈번한, 또는 발작 또는 뇌 병변과 연관된 편두통성 두통 및/또는 조짐을 기술한다.

[0030] 개연성 편두통은 편두통의 약간의 특징을 가지지만, (동반 약제 과다사용의 존재의 경우에) 이것을 편두통으로 확실히 진단하기 위한 충분한 증거가 없는 경우의 상태를 기술한다.

[0031] 만성 편두통은 편두통의 합병증이고, 편두통성 두통에 대한 진단학적 기준을 충족시키고 더 긴 시간 간격 동안 발생하는 두통이다. 구체적으로, 3개월 초과 동안 15일/개월 이상.

[0032] 편두통에 4가지 가능한 단계가 존재하지만, 단계 모두가 필수적으로 경험되지 않는다: (1) 두통 전의 시간 또는 일에 생기는 전구증상; (2) 두통을 즉시 진행시키는 조짐; (3) 두통 단계로 또한 공지된 통증 단계; 및 (4) 편두통 공격의 종료 후 경험하는 효과인 후구증상.

[0033] 전구 또는 전조 증상은 통증 또는 조짐의 시작 전에 2시간 내지 2일의 발병으로 편두통을 가지는 사람의 약 60%에서 발생한다. 이 증상은 변경된 기분, 과민증, 우울증 또는 희열, 피로, 특정 음식에 대한 갈망, (특히 목에서의) 근육 경직, 변비 또는 설사, 및 냄새 또는 소음에 대한 민감성을 포함하는 매우 다양한 현상을 포함할 수 있다. 이것은 조짐 편두통 또는 무조짐 편두통을 가지는 사람에서 발생할 수 있다.

[0034] 조짐은 두통 전에 또는 동안에 발생하는 일시적 병소적 신경학적 현상이다. 이것은 수 분에 걸쳐 점진적으로 나타나고, 일반적으로 60분 미만으로 지속한다. 증상은 성질 상 시각, 감각 또는 운동일 수 있고, 많은 사람들이 하나 초과를 경험한다. 시각 효과가 가장 흔히 발생하고; 이것은 사례의 99% 이하에서 발생하고, 사례 중 50% 초과에서 감각 또는 운동 효과가 동반되지 않는다. 시각 장애는 대개 섬광 암점으로 이루어진다(깜박거리고 읽거나 운전하는 사람의 능력을 방해할 수 있는 시야의 부분 변경의 구역.) 이것은 통상적으로 시야 중심 주위에서 시작하고 이후 축성 또는 성의 벽과 같이 보이는 것으로 기재되는 지그재그 선으로 측면으로 확산한다. 보통 선은 검정 및 흰색이지만, 몇몇 사람들은 또한 색상이 있는 선을 본다. 몇몇 사람들은 이들의 시야(반맹으로 공지됨) 중 일부를 잃는 반면, 다른 사람들은 흐려짐을 경험한다.

[0035] 감각 조짐은 제2의 가장 흔한 유형이고; 이들은 조짐을 가지는 사람들 중 30 내지 40%에서 발생한다. 대개 저리는(pin-and-needle) 느낌은 손 및 팔의 한 측에서 시작하고, 동일한 측면에서 코-입 부위로 확산한다. 저림은 보통 위치 감각의 소실로 아린감이 지나간 후에 발생한다. 조짐 단계의 다른 증상은 말하기 또는 언어 장애, 세상의 회전, 및 덜 흔하게는 운동 문제를 포함할 수 있다. 운동 증상은 이것이 반신불수 편두통이라는 것을 나타내고, 허약은 대개 다른 조짐과 달리 1시간보다 길게 지속된다.

[0036] 조짐은 또한 후속하는 두통 없이 발생할 수 있다. 침묵 편두통으로 또한 공지된 무전조 편두통은 비교적 희귀하고, 후속하는 두통(즉, 통증 단계 무) 없이 조짐 및 다른 증상을 포함한다.

[0037] 통증 단계 동안, 두통은 보통 일측성이고, 두근거리고, 강도가 보통 내지 경증이다. 이것은 보통 점진적으로 오고, 신체 활동에 의해 악화된다. 그러나, 사례 중 40% 초과에서, 통증은 이측성일 수 있고, 목 통증은 흔히 연관된다. 이측성 통증은 무조짐 편두통을 가지는 사람에서 특히 흔하다. 덜 흔하게는, 통증은 주로 머리의 뒤 또는 상부에서 발생할 수 있다. 통증은 보통 성인에서 4 내지 72시간 지속하지만, 어린 어린이에서 흔하게 1시간 미만 지속한다. 공격의 빈도는 가변적이고, 수명이 아주 적거나 수주일이고 평균 약 1개월이다.

[0038] 통증은 흔히 구역, 구토, 광에 대한 민감성, 소리에 대한 민감성, 냄새에 대한 민감성, 피로 및 과민성을 동반한다. 뇌간과 관련된 신경학적 증상 또는 신체의 양측에서의 신경학적 증상을 가지는 편두통인 두개기부 편두통에서, 흔한 효과는 세상의 회전의 감각, 변덕스러움 및 혼란을 포함한다. 구역은 사람의 거의 90%에서 발생하고, 구토는 약 1/3에서 발생한다. 다른 증상은 시야 혼탁, 비 강직, 설사, 빈번한 배뇨, 창백함 또는 발한을 포함할 수 있다. 종창 또는 두피의 압통은 목 강직이 발생하면서 생길 수 있다.

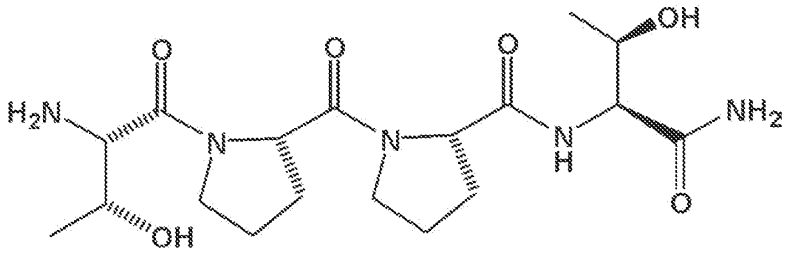
[0039] 편두통의 효과는 주요 두통이 끝난 후 수 일 동안 지속할 수 있고; 이것은 편두통 후구증상이라 불리다. 많은 것들이 편두통이 있는 부위에서의 아픈 느낌을 보고하고, 일부는 두통이 지나간 후 수 일 동안 생각의 손상을 보고한다. 환자는 피곤하게 느낄 수 있고, 머리 통증, 인지 장애, 위장관 증상, 기분 변화 및 허약을 가진다.

[0040] **GLYX 펩타이드**

[0041] GLYX-13은, N-메틸-D-아스파르테이트 글루타메이트 수용체(NMDAR)의 활성화에 전례없는 조절 작용을 가지는 새로 개발된 신속한 작용하는, 장기간 지속되는 항우울제이다. 이것이 활성화될 것을 요하는 NMDA 수용체에서의 의무적인 공동작용제 글라이신 부위에서 작용하는 이 물질은 이 중요한 수용체의 활성화를 정상화시켜서, 이것이 매우 낮을 때 이것을 증가시키고, 이것이 매우 높을 때 이것을 억제한다. 이 작용을 통해, GLYX-13은 시냅스 강도의 LTD를 억제하면서 장기간 강화(LTP)의 유도를 증대시키고, 늙은 동물로부터 해마회 슬라이스에서의 정상 LTP를 복원한다.

[0042] 본 명세서에 사용되는 바대로, 용어 "GLYX 펩타이드"는 NMDAR 글라이신 부위 부분 작용제/길항제 활성을 가지는 펩타이드이다. GLYX 펩타이드는 널리 공지된 재조합 또는 합성 방법, 예컨대 US 특허 5,763,393 및 4,086,196(본 명세서에 참조로 포함됨)에 기재된 것에 의해 얻어질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, GLYX는 아미노산 서열 Thr-Pro-Pro-Thr을 가지는 테트라펩타이드, 또는 L-트레오닐-L-프롤릴-L-프롤릴-L-트레오닌 아마이드를 의미한다.

[0043] 예를 들어, GLYX-13은 하기한 바대로 도시된 화합물을 의미한다:



화학식 I

[0044] .

[0045] GLYX-13의 다형, 동족체, 수화물, 용매화물, 유리 염기 및/또는 적합한 염, 예컨대 아세테이트 염(이것으로 제한되지는 않음)이 또한 고려된다. 펩타이드는 US 5,763,393에 추가로 기재된 바대로 환형 또는 비환형 형태일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, GLYX-13 유사체는 Thr 또는 Pro기의 하나 이상에서 모이어티의 삽입 또는 결실, 예컨대 CH_2, OH 또는 NH_2 모이어티의 결실을 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, GLYX-13은 하나 이상의 할로겐, C_1-C_3 알킬(임의로 할로겐 또는 아미노에 의해 치환됨), 하이드록실 및/또는 아미노에 의해 임의로 치환될 수 있다. NMDAR의 글라이신 부위 부분 작용제는 US 5,763,393, US 6,107,271, 및 문헌[Wood et al., NeuroReport, 19, 1059-1061, 2008](이의 전체 내용은 참조로 본 명세서에 포함됨)에 개시되어 있다.

[0046] 본 명세서에 개시된 펩타이드가 천연 및 비천연 아미노산 둘 다, 예를 들어 모든 천연 아미노산(또는 이의 유도체), 모든 비천연 아미노산(또는 이의 유도체), 또는 천연 및 비천연 아미노산의 혼합물을 포함할 수 있는 것으로 이해될 수 있다. 예를 들어, GLYX-13에서의 1개, 2개, 3개 이상의 아미노산은 각각 독립적으로 D- 또는 L-구성을 가질 수 있다.

[0047] GLYX-13은 NR2B 함유 NMDAR에서 주로 작용할 수 있고, 공지된 NMDAR 조절제, 예컨대 CPC-101,606 및 케타민의 전통적인 부작용을 나타내지 않을 수 있다. 소정의 실시형태에서, 필수적으로 진정이 없는 항편두통 또는 다른 치료학적 효과는 치료학적 유효량으로 대상체에게 투여될 때 GLYX-13에 의해 생성될 수 있다. 훨씬 다른 실시형태에서, GLYX-13은 남용 가능성을 가지지 않을 수 있다(예를 들어, 습관 형성이지 않을 수 있다).

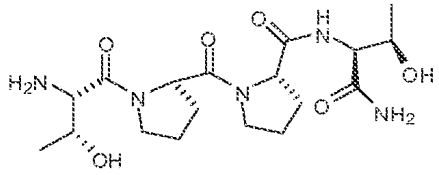
[0048] 몇몇 실시형태에서, GLYX-13은 AMPA GluR1 세린-845 인산화를 증가시킬 수 있다. 소정의 실시형태에서, 글라이코겐 신타제 키나제 3β(GSK-3β)는 GLYX-13에 의해 활성화될 수 있다. 몇몇 경우에, β-카테닌의 수준은 GLYX-13의 투여 후 변경될 수 있다.

[0049] 몇몇 실시형태에서, GLYX-13 또는 GLYX-13을 포함하는 조성물은 혈장 수준에 비해 더 우수한 i.v. 생체내 효력 및/또는 뇌 수준 농도를 제공할 수 있다.

[0050] 추가적으로, GLYX-13은 글라이신 부위 길항제, 예컨대 L-701,324, 또는 좁은 치료 지수를 가지는 다른 글라이신 부위 길항제와 비교하여 넓은 치료 지수를 가질 수 있어서, 치료학적 효과와 운동실조 사이에 매우 좁은 범위의 용량을 발생시킨다. 예를 들어, L-701,324는 운동실조를 생성시키는 용량에서 항경련 효과를 가졌다(Bristow, et al, JPET 279:492-501, 1996). 유사하게, 일련의 Merz 화합물은 운동실조를 생성시키는 용량에서 항경련 효과를 가졌다(Parsons, et al., JPET283:1264-1275, 1997).

[0051] **방법**

[0052] 일 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 편두통을 치료하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다:

[0053] 

[0054] 소정의 실시형태에서, 화합물은 약 0.01mg/kg 내지 약 1000mg/kg 또는 약 1mg/kg 내지 약 500mg/kg의 화합물의 용량으로 환자에게 투여된다.

[0055] 소정의 실시형태에서, 편두통은 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통, 편두통양 장애, 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군 또는 군발성 두통이다.

[0056] 소정의 실시형태에서, 편두통은 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통 또는 군발성 두통이다.

[0057] 소정의 실시형태에서, 편두통은 조짐 편두통(고전적 편두통)이다.

[0058] 소정의 실시형태에서, 편두통은 무조짐 편두통(일반 편두통)이다.

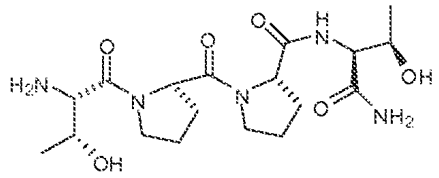
[0059] 소정의 실시형태에서, 편두통은 이질통이 수반된다.

[0060] 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 약 1 내지 10mg/kg, 약 10mg/kg 내지 약 250mg/kg, 약 20mg/kg 내지 약 150mg/kg, 약 30mg/kg 내지 약 125mg/kg, 약 40mg/kg 내지 약 110mg/kg, 약 50mg/kg 내지 약 100mg/kg, 약 60mg/kg 내지 약 90mg/kg, 또는 약 70mg/kg 내지 약 90mg/kg의 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

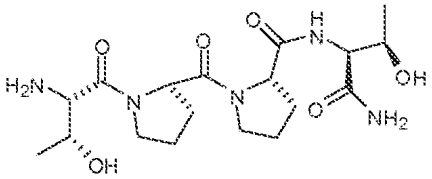
[0061] 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 약 1mg/kg, 약 2.5mg/kg, 약 5mg/kg, 약 10mg/kg, 약 15mg/kg, 약 20mg/kg, 약 25mg/kg, 약 30mg/kg, 약 50mg/kg, 약 70mg/kg, 또는 약 100mg/kg의 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0062] 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 1일 약 2회, 1일 약 1회, 2일 1회, 3일 1회, 4일 1회, 5일 1회, 1주 약 1회, 2주 약 1회, 또는 4주 약 1회 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0063] 또 다른 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 피질 확산성 억제 또는 피질 확산성 억제에 의해 발생한 질환 또는 병태를 치료 또는 억제 또는 예방하는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다:

[0064] 

[0065] 또 다른 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 환자에서 장기간 편두통 후 후유증을 치료 또는 경감시키는 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 약제학적 유효량의 하기로 표시되는 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다:

[0066] 

[0067] 소정의 실시형태에서, 상기 화합물은 약 0.01㎎/㎏ 내지 약 1000㎎/㎏의 화합물의 용량으로 환자에게 투여된다. 소정의 실시형태에서, 상기 화합물은 약 1㎎/㎏ 내지 약 500㎎/㎏의 용량으로 환자에게 투여된다.

[0068] 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 약 1㎎/㎏ 내지 10㎎/㎏, 약 1㎎/㎏ 내지 20㎎/㎏; 약 10㎎/㎏ 내지 약 250㎎/㎏, 약 20㎎/㎏ 내지 약 150㎎/㎏, 약 30㎎/㎏ 내지 약 125㎎/㎏, 약 40㎎/㎏ 내지 약 110㎎/㎏, 약 50㎎/㎏ 내지 약 100㎎/㎏, 약 60㎎/㎏ 내지 약 90㎎/㎏, 또는 약 70㎎/㎏ 내지 약 90㎎/㎏의 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0069] 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 약 20㎎/㎏, 약 25㎎/㎏, 약 30㎎/㎏, 약 50㎎/㎏, 약 70㎎/㎏, 1㎎/㎏, 5㎎/㎏, 10㎎/㎏, 15㎎/㎏, 20㎎/㎏ 또는 약 100㎎/㎏의 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0070] 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 1일 약 2회, 1일 약 1회, 2일 1회, 3일 1회, 4일 1회, 5일 1회, 1주 약 1회 또는 2주 약 1회 또는 예를 들어 1개월 1회 화합물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0071] 소정의 실시형태에서, 상기 방법은 오피오이드, 항우울제, 항간질제, 비스테로이드 소염 약물(NSAID), 세로토닌 5HT1B/1D 작용제, N-메틸-D-아스파르테이트 길항제 또는 소염 화합물과의 병용투여를 추가로 포함한다.

[0072] NMDAR 활성화는 많은 실험 모의에서 SD의 현상을 촉진하거나 심지어 이것에 필수일 수 있다. 따라서, NMDAR의 과활성화를 방지하는 화합물은 편두통 공격의 발병을 감소시키고 심지어 예방하기 위한 중요한 새로운 치료제일 수 있다. 예를 들어, 하기 기재된 GLYX-13은 시험관내 해마회 슬라이스에서 SD의 생성 및 전파를 억제한다. 소정의 실험에서, GLYX-13은 세포외 칼륨 농도의 국소 증가에 의해 SD의 유도를 완전히 예방할 수 있고/있거나, 차단되지 않는 경우, 이것은 완전히 SD 전파의 속도를 느리게 할 수 있다. 더욱이, GLYX-13은 SD 이후 이의 원래 크기로 수상돌기 가시의 복원을 개선할 수 있다. 예를 들어, 예방학적으로 및/또는 급성 기준으로 환자에서 편두통을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 이러한 투여는 환자에서 중증도(또는 몇몇 실시형태에서, 중지) 편두통 공격을 완화할 수 있다.

[0073] 소정의 실시형태에서, 환자는 인간이다. 고려되는 환자는 여성 환자 및/또는 청소년 환자를 포함한다.

[0074] 치료 내성 환자에서 편두통(예를 들어, 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통, 편두통양 장애, 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군 또는 군발성 두통) 또는 예를 들어 적어도 1개, 또는 적어도 2개의, 다른 화합물 또는 치료제의 적절한 과정에 반응하지 않고/않거나 않고 있는 편두통을 겪는 환자에서 불응성 편두통을 치료하는 방법이 본 명세서에 또한 제공된다. 예를 들어, a) 임의로 치료 내성으로 환자를 확인하는 단계 및 b) 상기 환자에게 GLYX-13의 유효 용량을 투여하는 단계를 포함하는, 치료 내성 환자에서 편두통(예를 들어, 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통, 편두통양 장애, 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군 또는 군발성 두통)을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 소정의 실시형태에서, 편두통은 조짐 편두통이다.

[0075] 일 실시형태에서, 예를 들어 단일 단위 용량으로 GLYX 펩타이드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 이를 필요로 하는 환자에서 편두통(예를 들어, 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통, 편두통양 장애, 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군 또는 군발성 두통)을 급성으로 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 예를 들어, 본 명세서에 일 실시형태에서 GLYX-13의 유효량을 급성으로(예를 들어, 단일 용량) 투여하는 단계를 포함하는 편두통 공격의 발병에서 이를 필요로 하는 환자에서 편두통을 치료하는 방법이 고려된다. 이러한 방법은 상기 투여 후 약 2주 이하, 1주 이하, 1일 이하 또는 1시간 이하(예를 들어 15분 이하, 1시간 반 이하) 동안 편두통의 적어도 하나의 증상의 환자를 경감시킬 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 방법은 상기 투여 후 약 1일 이상, 1주 이상 또는 2주 이상 동안 편두통의 적어도 하나의 증상의 환자를 경감시킬 수 있다. 예를 들어, 편두통을 겪는 환자에게 GLYX 펩타이드의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 환자는 편두통을 치료하기 위한 또 다른 약제가 투여된 동일한 환자와 비교하여 GLYX 펩타이드의 제1 투여 후 실질적으로 초기에 편두통의 적어도 하나의 증상이 실질적으로 경감된다. 당해 분야의 당업자는 급성 투여의 이러한 방법이 병원 또는 외래 환자 환경에서 유리할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 본 명세서에 기재된 방법은 조짐 편두통 동안 발생하는 이질통의 치료 동안 또한 유용할 수 있다.

[0076] 본 방법은 우울증을 가지거나, 외상성 뇌 손상, 간질을 겪거나, 뇌졸중의 위험에 있는 환자의 치료에서 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, GLYX 펩타이드, 예를 들어 GLYX-13의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 외상성 뇌 손상을 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 또 다른 실시형태에서, GLYX 펩타이드, 예를 들어 GLYX-13의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 간질을 치료하는 방법이 제공된다.

[0077] 심혈관 병태 이외에, 조짐 편두통 환자는 다른 신경학적 및/또는 정신적인 병태 및 장애에 대한 위험이 증가할 수 있다. 예를 들어, 주우울증 또는 자살 시도와 함께 조짐 편두통의 동시발생이 자발적 경련을 발생시킬 위험을 증가시키는 것으로 나타났다(Hesdorffer et al., Epilepsy Res. 75(2-3):220-223, 2007). 조짐 편두통과 연관된 다른 병태는 NO 활성의 상당히 더 높은 마커, 우울증의 발병률의 증가, 및 일반 집단의 것보다 실질적으로 더 높은 뇌졸중에 대한 유전적 바이오마커 상관관계를 포함한다(Etminan et al., #MJ330(7482):63, 2005). 임의의 이들 병태를 가지거나 이의 위험이 있는 편두통 환자는 이 질환을 치료하거나 관리하기 위한 약제를 취할 수 있고, 이들 약제는 조짐 편두통의 치료를 위한 현재 사용되는 약제와 부정적으로 상호작용할 수 있다. 본 명세서에 기재된 바대로, 이들 병태 중 몇몇은 트립탄 치료(예를 들어, 뇌졸중 및 수마트립탄 치료)에 금기이다. 더구나, FDA는 세로토닌 재흡수 저해제(SSRI) 또는 선택적 세로토닌/노르에피네프린 재흡수 저해제(SNRI)인 소정의 항우울제와 함께 트립탄이 사용될 때 발생할 수 있는 생명을 위협하는 증상인 세로토닌 증후군과 관련하여 2006년에 공중 건강 권고를 발행하였다. 따라서, 본 명세서에 기재된 방법은 우울증을 가지는 환자 또는 뇌졸중을 겪거나 이의 위험에 있는 환자의 치료에 유용할 수 있다.

[0078] **투약량**

[0079] 본 개시내용의 임의의 조성물의 투약량은 증상, 환자의 연령 및 체중, 치료하거나 예방하고자 하는 장애의 성질 및 중증도, 투여의 경로, 및 본 조성물의 형태에 따라 변할 것이다. 임의의 본 제제는 단일 용량 또는 분할 용량으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 조성물을 위한 투약량은 당해 분야에서 당업자에게 공지된 기법에 의해 또는 본 명세서에 교시된 바대로 용이하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 화합물이 예를 들어, 0.05mg 내지 3000mg(고체 형태로서 측정된), 예를 들어 약 10mg 내지 약 500mg, 또는 예를 들어, 약 1 내지 약 200mg/kg의 일일 투약량으로 인간에게 투여될 때 성공적인 결과가 얻어질 수 있다. 용량 범위는 예를 들어 10 내지 1000mg(예를 들어, 50 내지 800mg)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 50, 100, 150, 200, 225, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 또는 1000mg의 화합물이 투여된다. 대안적으로, 투약량은 환자의 체중을 사용하여 계산될 수 있다. 예를 들어, 환자에게 투여되는 화합물, 또는 이의 약제학적 조성물의 용량은 1 내지 500mg/kg(예를 들어, 5 내지 250mg/kg)의 범위일 수 있다. 예시적인 비제한적인 실시형태에서, 용량은 5 내지 200mg/kg(예를 들어, 1, 2, 2.5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 50mg/kg) 또는 15 내지 100mg/kg(예를 들어, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 또는 200mg/kg)의 범위일 수 있다. 예시적인 비제한적인 실시형태에서, 용량은 1 내지 15mg/kg, 50 내지 100mg/kg, 60 내지 90mg/kg, 또는 70 내지 80mg/kg의 범위일 수 있다.

[0080] GLYX-13은 높은 치료 지수를 제공할 수 있다. 예를 들어, GLYX-13은 약 1 내지 약 10mg/kg, 약 10 내지 약 200 mg/kg, 예를 들어 약 30mg/kg, 약 75mg/kg, 또는 약 100mg/kg의 i.v. 또는 피하 용량 범위로 치료학적으로 효과적일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 예를 들어 500mg/kg(i.v)의 용량에서 운동실조가 발생하지 않는다.

[0081] 치료의 용도에 필요한 GLYX 펩타이드의 치료학적 유효량은 치료되는 병태의 형태, 원하는 치료 시간의 기간, 환자의 연령 및 병태에 따라 변하고, 궁극적으로 주치의에 의해 결정된다. 원하는 용량은 2주, 1주, 6주, 5주, 4주, 3주, 2주 또는 1일 동안 효과적인 단일 용량으로, 또는 적절한 간격으로 투여되는 수회 용량, 예를 들어 매일 2회, 3회, 4회 이상의 하위용량으로 편리하게 투여될 수 있다.

[0082] 유효 용량 또는 양, 및 제제의 투여의 시기에 대한 임의의 가능한 효과는 본 개시내용의 임의의 특정한 조성물에 대해 확인될 필요가 있을 수 있다. 이것은 동물의 하나 이상의 군(바람직하게는 군마다 적어도 5마리의 동물)을 사용하여 본 명세서에 기재된 바와 같은 일상 실험에 의해 또는 적절한 경우 인간 실험에서 달성될 수 있다. 임의의 본 조성물의 유효성 및 치료 또는 예방의 방법은 조성물을 투여하고, 하나 이상의 적용 가능한 지수를 측정하고, 이 지수의 치료 후의 값을 치료 전의 동일한 지수의 값과 비교함으로써 투여의 효과를 평가함으로써 평가될 수 있다.

[0083] 소정의 환자에서 가장 효과적인 치료를 생성하는 임의의 특정한 본 조성물의 투여의 정확한 시간 및 양은 본 조성물의 활성, 약동학, 및 생체이용률, 환자의 생리학적 상태(연령, 성별, 질환 유형 및 단계, 일반 신체 상태, 소정의 투약량에 대한 반응성 및 약제의 유형 포함), 투여의 경로 등에 따라 달라질 것이다. 본 명세서에 제시된 가이드라인은 치료를 최적화하기 위해 사용될 수 있어서, 예를 들어 대상체의 모니터링 및 투약량 및/또는 시기의 조정으로 이루어진 단지 일상적 실험을 필요로 하는, 투여의 최적 시간 및/또는 양을 결정한다.

[0084] 대상체가 치료되면서, 환자의 건강은 치료 기간 동안 미리 결정된 시간에 하나 이상의 관련 지수를 측정함으로써 모니터링될 수 있다. 조성물, 양, 투여의 시간 및 제제를 포함하는 치료는 이러한 모니터링의 결과에 따라 최적화될 수 있다. 동일한 매개변수를 측정함으로써 개선의 정도를 결정하기 위해 환자를 주기적으로 재평가할

수 있다. 투여되는 본 조성물의 양(들) 및 가능하게는 투여의 시간의 조정은 이 재평가에 기초하여 이루어질 수 있다.

[0085] 치료는 화합물의 최적 용량보다 낮은 더 작은 투약량으로 개시될 수 있다. 이후, 투약량은 최적 치료학적 효과가 획득될 때까지 작은 증분으로 증가할 수 있다.

[0086] 상이한 물질의 효과의 발생 및 기간이 상보성일 수 있으므로, 본 조성물의 사용은 조성물에 함유된 임의의 개별 물질에 필요한 투약량을 감소시킬 수 있다.

[0087] 본 조성물의 독성 및 치료 효율은 예를 들어 LD50 및 ED50을 결정하기 위해 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다.

[0088] 세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 얻은 데이터는 인간에서 사용하기 위한 투약량의 범위를 제제화하는 데 사용될 수 있다. 임의의 본 조성물의 투약량은 바람직하게는 아주 적은 독성으로 또는 독성 없이 ED50을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 있다. 투약량은 이용된 투약량 형태 및 사용된 투여의 경로에 따라 이 범위 내에 변할 수 있다. 본 개시내용의 조성물의 경우, 치료학적 유효 용량은 세포 배양 검정으로부터 초기에 예측될 수 있다.

[0089] 소정의 실시형태에서, GLYX 펩타이드는 예방학적 조치로서(즉, 전구증상 단계 전에) 투여된다. 소정의 실시형태에서, GLYX 펩타이드는 전구증상 동안 투여된다. 소정의 실시형태에서, GLYX 펩타이드는 조짐에서 투여된다. "조짐에서"란 조짐의 발병 후 및 편두통 통증의 발병 전의 임의의 시간을 의미한다. 소정의 실시형태에서, GLYX 펩타이드는 편두통 통증의 발병 후에 투여된다. 소정의 실시형태에서, GLYX 펩타이드는 예를 들어 이의 증상을 감소시키기 위해 후구증상 동안 투여된다.

[0090] 용어 "치료한다"는, 본 명세서에 사용되는 바대로, 예방학적 치료 또는 본 명세서에 기재된 질환, 장애, 또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 컨디션을 예방하는 치료(예를 들어, 통증 또는 조짐 편두통 및 이질통 동반 또는 부재)를 의미한다. 예방학적 치료는 예를 들어 (예를 들어, 편두통 조짐에서) 질환, 장애 또는 병태의 발병에 선행하는 사건 전에("예비노출 예방") 또는 후에("노출 후 예방") 개시될 수 있다. 본 명세서에 기재된 GLYX 펩타이드, 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 약제학적 조성물의 투여를 포함하는 예방적 치료는 급성, 단기간 또는 만성일 수 있다. 투여되는 용량은 예방학적 치료의 과정 동안 변할 수 있다. 또한 문헌[Kaniecki et al., "Treatment of Primary Headache: Preventive Treatment of Migraine." In: Standards of Care for Headache Diagnosis and Treatment. Chicago (IL): National Headache Foundation; 2004, p. 40-52]을 참조한다.

[0091] **제제**

[0092] 본 개시내용의 GLYX 펩타이드는 당해 분야에 널리 공지된 바대로 이의 의도하는 용도에 따라 다양한 수단에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용의 조성물이 경구로 투여되는 경우, 이것은 정제, 캡슐, 과립제, 산제 또는 시럽으로서 제제화될 수 있다. 대안적으로, 본 개시내용의 제제는 주사(정맥내, 근육내 또는 피하), 드랍 점적주사 제제 또는 좌제로서 비경구로 투여될 수 있다. 안과용 점막 경로에 의한 도포를 위해, 본 개시내용의 조성물은 점안액 또는 안연고로서 제제화될 수 있다. 이 제제는 종래의 수단에 의해 제조될 수 있고, 원하는 경우, 조성물은 임의의 종래의 첨가제, 예컨대 부형제, 결합제, 붕괴제, 활택제, 교정제, 가용화제, 현탁 조제, 유화제 또는 코팅제와 함께 사용될 수 있다.

[0093] 발현 벡터로 편입된, GLYX 펩타이드를 코딩하는 DNA가 생체내 GLYX 펩타이드를 발현시키기 위해 임의의 공지된 투여 방법을 사용하여 또한 투여될 수 있다.

[0094] 본 발명의 제제에서, 습윤제, 유화제 및 활택제, 예컨대 황산 라우릴 나트륨 및 스테아르산마그네슘, 및 착색제, 이형제, 코팅제, 감미료, 향료 및 향료제, 보존제 및 항산화제는 제제화제로서 존재할 수 있다.

[0095] 본 조성물은 경구, 국소(협측 및 설하 포함), 직장, 질내, 에어로졸 및/또는 비경구 투여에 적합할 수 있다. 제제는 단위 투약량 형태로 편리하게 제시될 수 있고, 약학의 분야에 널리 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 단일 용량을 생성하기 위해 담체 재료와 조합될 수 있는 조성물의 양은 치료되는 대상체, 및 특정한 투여 방식에 따라 변한다.

[0096] 이 제제의 제조 방법은 본 개시내용의 회합 조성물을 담체 및 임의로 하나 이상의 보조 성분과 놓는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제제는 균일하게 친밀하게 액체 담체, 또는 미분된 고체 담체, 또는 둘 다와 회합 물질이 되게 하고, 이후 필요한 경우 생성물을 성형함으로써 제조된다.

[0097] 경구 투여에 적합한 제제는 캡슐, 카세, 환제, 정제, 로젠지(가향 기제, 보통 수크로스 및 아카시아 또는 트라가칸스를 사용), 분말, 과립의 형태로, 또는 수성 또는 비수성 액체 중의 용액 또는 현탁액으로서, 또는 수중유 또는 유중수 액체 에멀션으로서, 또는 엘릭시르제 또는 시럽으로서, 또는 파스틸로서(불활성 기제, 예컨대 젤라틴 및 글라이세린, 또는 수크로스 및 아카시아를 사용) 사용될 수 있고, 각각은 활성 성분으로서 이의 본 조성물의 미리 결정된 양을 함유한다. 본 개시내용의 조성물은 볼루스, 연약 또는 페이스트로서 또한 투여될 수 있다.

[0098] 경구 투여를 위한 고체 투약량 형태(캡슐, 정제, 환제, 드라제, 산제, 과립제 등)의 경우에, 본 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체, 예컨대 시트르산나트륨 또는 인산이이칼슘, 및/또는 하기 중 임의와 혼합될 수 있다: (1) 충전제 또는 증량제, 예컨대 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및/또는 규산; (2) 결합제, 예컨대 카복시메틸셀룰로스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐 피롤리돈, 수크로스 및/또는 아카시아 등; (3) 습윤제, 예컨대 글라이세롤; (4) 붕괴제, 예컨대 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염, 및 탄산나트륨; (5) 용액 지연제, 예컨대 파라핀; (6) 흡수 가속제, 예컨대 4차 암모늄 화합물; (7) 습윤제, 예컨대 아세틸 알코올 및 글라이세롤 모노스테아레이트 등; (8) 흡수제, 예컨대 고령토 및 벤토나이트 점토; (9) 활택제, 이러한 탈크, 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글라이콜, 황산라우릴 나트륨, 및 이의 혼합물; 및 (10) 착색제. 캡슐, 정제 및 환제의 경우에, 조성물은 완충제를 또한 포함할 수 있다. 유사한 유형의 고체 조성물은 락토스 또는 유당과 같은 부형제, 및 고분자량 폴리에틸렌 글라이콜 등을 사용하여 연질 및 경질 충전 젤라틴 캡슐에서 충전제로서 또한 사용될 수 있다.

[0099] 정제는 임의로 하나 이상의 보조 성분에 의해 압축 또는 성형에 의해 제조될 수 있다. 압축 정제는 결합제(예를 들어, 젤라틴 또는 하이드록시프로필메틸 셀룰로스), 활택제, 불활성 희석제, 보존제, 붕괴제(예를 들어, 나트륨 전분 글라이콜레이트 또는 가교결합된 나트륨 카복시메틸 셀룰로스), 표면-활성 또는 분산제를 사용하여 제조될 수 있다. 성형 정제는 적합한 기계에서 불활성 액체 희석제에 의해 습윤된 본 조성물의 혼합물을 성형함으로써 제조될 수 있다. 정제, 및 다른 고체 투약량 형태, 예컨대 드라제, 캡슐, 환제 및 과립제는 임의로 빗금 표시되거나 코팅 및 쉘, 예컨대 장용 코팅 및 약제 제제 분야에 널리 공지된 다른 코팅에 의해 제조될 수 있다.

[0100] 경구 투여를 위한 액체 투약량 형태는 약제학적으로 허용되는 에멀션, 마이크로에멀션, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르제를 포함하다. 본 조성물 이외에, 액체 투약량 형태는 당해 분야에서 흔히 사용되는 불활성 희석제, 예를 들어 물 또는 다른 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대 에틸 알코올, 아이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글라이콜, 1,3-뷰틸렌 글라이콜, 오일(특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 캐스터유 및 참깨유), 글라이세롤, 테트라하이드로퓨릴 알코올, 소르비탄의 폴리에틸렌 글라이콜 및 지방산 에스터, 사이클로덱스트린 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0101] 현탁액은, 본 조성물 이외에, 예를 들어 에톡실화 아이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스터, 미결정질 셀룰로스, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 한천-한천 및 트라가칸스, 및 이들의 혼합물과 같은 현탁제를 함유할 수 있다.

[0102] 직장 또는 질내 투여를 위한 제제는, 본 조성물을 예를 들어 코코아 버터, 폴리에틸렌 글라이콜, 좌약 왁스 또는 살리실레이트를 포함하는 하나 이상의 적합한 비자극 부형제 또는 담체와 혼합함으로써 제조될 수 있고, 실온에서 고체이지만, 신체 온도에서 액체이고, 따라서 체강에서 용융하고 활성제를 방출하는, 좌제로서 제시될 수 있다. 질내 투여에 적합한 제제는 적절한 것으로 당해 분야에 공지된 바와 같은 담체를 함유하는 파세리, 탐폰, 크림, 겔, 페이스트, 폼(foam) 또는 스프레이 제제를 또한 포함한다.

[0103] 본 조성물의 경피 투여를 위한 투약량 형태는 분말, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 연고, 겔, 용액제 및 패치를 포함한다.

[0104] 국소 눈 투여를 위해, 본 발명의 조성물은, 병용 치료의 경우에 단위 투약량이 치료학적 유효량의 활성 성분 또는 이의 일부 멀티플을 포함하도록 제제화된, 용액, 겔, 연고제, 현탁액 또는 고체 인서트의 형태를 취할 수 있다.

[0105] 비경구 투여에 적합한 본 발명의 약제학적 조성물은 사용 바로 전에 무균 주사용 용액 또는 분산액으로 재구성될 수 있고, 항산화제, 완충제, 세균발육저지제, 제제가 의도되는 수혜자의 혈액과 등장성이 되게 하는 용질 또는 현탁제 또는 증점제를 함유할 수 있는, 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 무균 등장성 수성 또는 비수성 용액, 분산액, 현탁액 또는 에멀션, 또는 무균 분말과 조합하여 본 조성물을 포함한다.

[0106] 본 발명의 약제학적 조성물에서 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올(예컨대

글라이세롤, 프로필렌 글라이콜, 폴리에틸렌 글라이콜 등), 및 적합한 이들의 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브유 및 주사용 유기 에스터, 예컨대 에틸 올레에이트 및 사이클로덱스트린을 포함한다. 적절한 유동성은 예를 들어 코팅 재료, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.

[0107] **병용 치료**

[0108] 본 명세서에 기재된 임의의 GLYX 펩타이드(예를 들어, GLYX-13)는 단독으로 또는 본 명세서에 기재된 임의의 질환 또는 병태를 치료하거나 예방하는 다른 물질과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 몇몇 병용 치료에서, 치료학적 화합물의 하나 이상의 투약량은 단독으로 투여될 때 표준 투약량으로부터 감소할 수 있다.

[0109] 본 발명의 방법은 또한 GLYX 펩타이드와 오피오이드, 항우울제, 항간질제, 비-스테로이드 소염 약물(NSAID), 세로토닌 5HT1B/1D 작용제, N-메틸-D-아스파르테이트 길항제 또는 소염 화합물의 병용 투여를 포함한다.

[0110] 본 개시내용은 소정의 실시형태에서 단독의 또는 하나 이상의 다른 항우울제 치료, 예컨대 트라이사이클릭 항우울제, MAO-I, SSRI, 및 이중 및 삼중 재흡수 저해제 및/또는 편두통(예를 들어, 발작적 편두통, 만성 편두통, 망막 편두통, 안구근육마비 편두통, 무전조 편두통, 편두통양 장애, 월경 편두통, 복부 편두통, 아동기 주기적 증후군 또는 군발성 두통)을 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 불안완화 약물과 조합된 GLYX 펩타이드 또는 펩타이드의 사용에 관한 것이다. GLYX 펩타이드와 조합되어 사용될 수 있는 예시적인 약물은 아나프라닐, 아다핀, 아벤틸, 엘라빌, 노르프라민, 파멜라, 페르토프란, 시네퀀, 수르몬틸, 토프라닐, 비박틸, 파르네이트, 나르딜, 마르플란, 셀렉사, 렉사프로, 루복스, 팍실, 프로작, 졸로프트, 웰부트린, 이펙사, 레메론, 사임발타, 데시렐(트라조돈) 및 루디오밀을 포함한다.

[0111] 소정의 실시형태에서, 오피오이드는 알펜타닐, 부토르파놀, 부프레노르핀, 덱스트로모다마이드, 데조신, 덱스트로프로폭시펜, 코데인, 다이하이드로코데인, 다이펜옥실레이트, 에토르핀, 펜타닐, 하이드로코돈, 하이드로모르폰, 케토베미돈, 로페라마이드, 레보르파놀, 레보메타돈, 메프타지놀, 메타돈, 모르핀, 모르핀-6-글루코로나이드, 날부핀, 날록손, 옥시코돈, 옥시모르폰, 펜타조신, 페티딘, 피리트라마이드, 프로폭시펜, 레미펜타닐, 술펜타닐, 틸리딘 및 트라마돌로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0112] 소정의 실시형태에서, 항우울제는 아디나졸람, 알라프로클레이트, 아민프틴, 아미트립틸린/클로르디아제폭사이드 배합물, 아티파메졸, 아자미안세린, 바지나프린, 베푸랄린, 비페멜란, 비노달린, 비페나몰, 브로파로민, 카복사존, 세리클라민, 시아노프라민, 시목사톤, 시탈로프람, 셀레프롤, 클로복사민, 다제피닐, 데아놀, 데멕시프틸린, 다이벤제핀, 도티에핀, 드록시도파, 에넥페신, 에스타졸람, 에토페리돈, 페목세틴, 펜가빈, 페졸라민, 플루오트라센, 이다족산, 인델록사진, 이프린돌, 레보프로틸린, 리튬, 리톡세틴, 로페프라민, 메디폭사민, 메타프라민, 메트랄린돌, 미안세린, 밀나시프란, 미나프린, 미르타자핀, 몬티렐린, 네브라세탐, 네포팜, 니알라마이드, 노미펜신, 노르플루옥세틴, 오로티렐린, 옥사플로잔, 피나제팜, 피를린돌, 피조틸린, 리탄세린, 롤리프람, 세르클로레민, 세티프틸린, 시부트라민, 술부티아민, 술피리드, 테닐록사진, 토졸리논, 티롤리베린, 티아네프틴, 티플루카르빈, 트라조돈, 토페나신, 토파미소팜, 톨록사톤, 토목세틴, 베랄리프리드, 빌록사진, 비쿠알린, 지멜리딘 및 조메타핀으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0113] 소정의 실시형태에서, 항간질제는 카르바마제핀, 플루피르틴, 가바펜틴, 라모트리긴, 옥스카르바제핀, 페니토인, 레티가빈, 토피라메이트 및 발프로에이트로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0114] 소정의 실시형태에서, NSAID는 아세메타신, 아스피린, 셀레콕시브, 데라콕시브, 디클로페낙, 디플루니살, 에텐자마이드, 에토페나메이트, 에토리콕시브, 페노프로펜, 플루페남산, 플루르비프로펜, 로라졸락, 로르녹시캄, 이부프로펜, 인도메타신, 이속시캄, 케부존, 케토프로펜, 케토롤락, 나프록센, 나부메톤, 니플룸산, 술린닥, 톨메틴, 피록시캄, 메클로페남산, 메페남산, 멜록시캄, 메타미졸, 모페부타존, 옥시펜부타존, 파레콕시브, 페니돈, 페닐부타존, 피록시캄, 프로파세타몰, 프로피페나존, 로페콕시브, 살리실아마이드, 수프로펜, 티아프로펜산, 테녹시캄, 발데콕시브, 4-(4-사이클로헥실-2-메틸옥사졸-5-일)-2-플루오로벤젠설폰아마이드, N-[2-(사이클로헥실옥시)-4-나이트로페닐]메탄설폰아마이드, 2-(3,4-다이플루오로페닐)-4-(3-하이드록시-3-메틸뷰톡시)-5-[4-(메틸설포닐)페닐]-3(2H)-피리다지논, 및 2-(3,5-다이플루오로페닐)-3-[4-(메틸설포닐)페닐]-2-사이클로펜텐-1-온으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0115] 소정의 실시형태에서, 세로토닌 5HT1B/1D 작용제는 엘레트립탄, 프로바트립탄, 나라트립탄, 리자트립탄, 수마트립탄 및 졸미트립탄으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0116] 소정의 실시형태에서, N-메틸-D-아스파르테이트 길항제는 아만타딘, 압티가넬, 베손프로딜, 부디핀, 코난토킨

G, 델루세민, 덱사나비놀, 덱스트로메토르판, 덱스트로프로폭시펜, 펠바메이트, 플루오로펠바메이트, 가시클리딘, 글라이신, 이페녹사존, 카이토세팔린, 케타민, 케토베미돈, 라니세민, 리코스티넬, 미다포텔, 메만틴, D-메타돈, D-모르핀, 밀나시프란, 네라멕산, 오르페나드린, 레마세미드, 술파조신, FPL-12,495(라세마이드 대사물질), 토피라메이트, (αR)-α-아미노-5-클로로-1-(포스포노메틸)-1H-벤즈이미다졸-2-프로판산, 1-아미노사이클로펜탄-카복실산, [5-(아미노메틸)-2-[[[(5S)-9-클로로-2,3,6,7-테트라하이드로-2,3-다이옥소-1H-,5H-피리도[1,2,3-데]퀴녹살린-5-일]아세틸]아미노]페녹시]-아세트산, α-아미노-2-(2-포스포노에틸)-사이클로헥산프로판산, α-아미노-4-(포스포노메틸)-벤젠아세트산, (3E)-2-아미노-4-(포스포노메틸)-3-헵텐산, 3-[(1E)-2-카복시-2-페닐에테닐]-4,6-다이클로로-1H-인돌-2-카복실산, 2-하이드록시-N,N,N-트라이메틸-에타나미늄과의 8-클로로-2,3-다이하이드로피리다지노[4,5-b]퀴놀린-1,4-다이온 5-옥사이드 염, N'-[2-클로로-5-(메틸티오)페닐]-N-메틸-N-[3-(메틸티오)페닐]-구아니딘, N'-[2-클로로-5-(메틸티오)페닐]-N-메틸-N-[3-[(R)-메틸설피닐]페닐]-구아니딘, 6-클로로-2,3,4,9-테트라하이드로-9-메틸-2,3-다이옥소-1H-인데노[1,2-b]피라진-9-아세트산, 7-클로로티오키누렌산, (3S,4aR,6S,8aR)-데카하이드로-6-(포스포노메틸)-3-아이소퀴놀린카복실산, (-)6,7-다이클로로-1,4-다이하이드로-5-[3-(메톡시메틸)-5-(3-피리디닐)-4-H-1,2,4-트리아졸-4-일]-2,3-퀴녹살린다이온, 4,6-다이클로로-3-[(E)-(2-옥소-1-페닐-3-피롤리디닐리덴)메틸]-1H-인돌-2-카복실산, (2R,4S)-rel-5,7-다이클로로-1,2,3,4-테트라하이드로-4-[[(페닐아미노)카보닐]아미노]-2-퀴놀린카복실산, (3R,4S)-rel-3,4-다이하이드로-3-[4-하이드록시-4-(페닐메틸)-1-피페리디닐]-2H-1-벤조피란-4,7-다이올, 2-[(2,3-다이하이드로-1H-인덴-2-일)아미노]-아세트아마이드, 1,4-다이하이드로-6-메틸-5-[(메틸아미노)메틸]-7-나이트로-2,3-퀴녹살린다이온, [2-(8,9-다이옥소-2,6-다이아자바이사이클로[5.2.0]비-1(7)-엔-2-일)에틸]-포스폰산, (2R,6S)-1,2,3,4,5,6-헥사하이드로-3-[(2S)-2-메톡시프로필]-6,11,11-트라이메틸-2,6-메타노-3-벤자조신-9-올, 2-하이드록시-5-[[(퀜타플루오로페닐)메틸]아미노]-벤조산, 1-[2-(4-하이드록시페녹시)에틸]-4-[(4-메틸페닐)메틸]-4-피페리디놀, 1-[4-(1H-이미다졸-4-일)-3-뷰티닐]-4-(페닐메틸)-피페리딘, 2-메틸-6-페닐에티닐)-피리딘, 3-(포스포노메틸)-L-페닐알라닌, 및 3,6,7-테트라하이드로-2,3-다이옥소-N-페닐-1H,5H-피리도[1,2,3-데]퀴녹살린-5-아세트아마이드로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0117] 소정의 실시형태에서, 소염 화합물은 아스피린, 셀레콕시브, 코르티손, 데라콕시브, 에라콕시브, 디플루니살, 에토리콕시브, 페노프로펜, 이부프로펜, 케토프로펜, 나프록센, 프레드니솔론, 술린닥, 톨메틴, 피록시캄, 메페남산, 멜록시캄, 페닐부타존, 로페콕시브, 수프로펜, 발데콕시브, 4-(4-사이클로헥실-2-메틸옥사졸-5-일)-2-플루오로벤젠설폰아마이드, N-[2-(사이클로헥실옥시)-4-나이트로페닐]메탄설폰아마이드, 2-(3,4-다이플루오로페닐)-4-(3-하이드록시-3-메틸뷰톡시)-5-[4-(메틸설포닐)페닐]-3(2H)-피리다지논 및 2-(3,5-다이플루오로페닐)-3-[4-(메틸설포닐)페닐]-2-사이클로펜텐-1-온으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0118] 본 개시내용은 하기 비제한적인 예에 의해 예시된 다수의 양태를 가진다.

[0119] 실시예

[0120] **실시예 1**

[0121] 본 명세서에 기재된 연구는 시험관내 해마회 슬라이스에서 수상돌기 가시 크기의 SD 유발 변화의 실시간 영상화를 위해 전파의 SD 속도, 및 2-광자 레이저 스캐닝 현미경검사의 세포외 다부위 전기생리학적 모니터링을 이용하였다. GLYX-13인 신규한 NMDAR 수용체 기능적 글라이신 부위 부분 작용제의 효과를 SD의 전파의 속도 및 한계치, 및 수상돌기 가시 형태에 대한 SD의 실시간 효과에서 대해 조사하였다. GLYX-13은 세포외 칼륨 농도의 국소 증가에 의해 SD의 유도를 때때로 완벽하게 방지하고, 지속적으로 이의 전파 속도를 늦추었다. 해마회 CA1 구역을 통한 SD의 통과는 뉴런 탈분극이 회복된 후 역전되는 수상돌기 가시의 신속한 수축을 생성시켰다. GLYX-13은 SD 후 이의 원래 크기 및 위치로의 수상돌기 가시의 복귀의 속도 및 정도를 개선하여서, 약물 및 NMDA 수용체 활성을 조절하는 기타가 반복 편두통 공격으로부터의 가능한 손상으로부터 뇌에서의 시냅스 연결을 보호할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0122] **일반 방법**

[0123] **약물**

[0124] 모든 외부 및 패치 피펫 용액을 탈이온화 증류수(18 $M\Omega cm^{-2}$ 초과의 저항; Milli-Q 시스템)에 의해 만들었다. 세포외 및 세포내 용액을 만들기 위한 화학물질을 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)(미국 미조리주 세인트 루이스)로부터 구입하였다. 알렉사플루오르 594를 모레큘러 프로브즈(Molecular Probes)로부터 구입하였다.

[0125] **슬라이스 제조 및 세포외 기록**

[0126] 14일 내지 21일령의 스프라그-다울리(등록상표) 랫트(Taconic Farms(뉴욕주 허드슨))로부터 해마회 슬라이스에서 실험을 수행하였다. 랫트를 아이소플루오란에 의해 깊게 마취시키고, 희생시키고, 뇌를 빨리 제거하고, 126 NaCl, 2.5 KCl, 2.6 $CaCl_2$, 1.3 $MgCl_2$, 1.25 NaH_2PO_4, 26 $NaHCO_3$, 및 11 글루코스(mM 단위)를 함유하는, 산소화된(95%의 O_2 - 5%의 CO_2), 얼음 냉각된 인공 뇌척수액(ACSF)에 위치시켰다. 뇌를 2등분하고, 이마엽을 절단하고, 슬라이싱 동안 계속해서 산소화된 얼음 냉각된 ACSF에서 액침된 스테이지에 부착된 사이아노아크릴레이트를 사용하여 개별 반구를 접착시켰다. 해마를 함유하는 400㎛ 두께의 두정 슬라이스를 바이브라톰(Leica 1200s)을 사용하여 절단하고, 최소 1시간 동안 실온에서 항온처리를 위해 계면 보유 챔버로 옮긴 후, 32℃에서 기록을 위해 Haas 스타일 계면 챔버로 옮겼다. 슬라이스를 실험의 시작 전에 95% O_2/5% CO_2에 의해 포화된 ACSF(4㎖/분; ACSF mM: NaCl 126; KCl 3; NaH_2PO_4 1.25; MgCl 1.3; $CaCl_2$ 2.5; $NaHCO_3$ 26; 글루코스 10)에 의해 관류시키고, 모든 약물을 욕 적용하였다.

[0127] 세포외 기록을 Clampex(v. 9)에 의해 MultiClamp 700B(Axon Instruments)를 사용하여 수행하고, 1kHz에서 여과시키고, 3kHz에서 디지털화하였다. 저저항(ACSF에 의해 충전된 후 1 내지 2MΩ) 기록 전극을 SD 개시 피펫으로부터 대략 150㎜ 거리 간격으로 CA1 구역의 방사층에서의 샤퍼 측부 말단 필드(Schaffer collateral termination field)의 정점 수지상 구역으로 삽입된 얇은 벽의 붕규산염 유리로부터 만들어서, SD의 속도를 모니터링하였다. 적외선 차등 간섭 대비(DIC) 광학부품이 장착된 Zeiss Axioskop 2FS 수직 현미경에 액침된 기록 챔버를 탑재하였다. 10x 대물렌즈를 사용하여 SD에 의해 발생한 슬라이스 휘도 변화를 영상화하였다. 휘도 변화를 PTI 마스터 시스템에 의해 제어되는 냉각된 CCD 카메라(CoolSNAP HQ)에 의해 100㎳마다 영상화하였다. 전기생리학적 데이터를 Clampfit 9에 의해 분석하였다. 영상화 데이터를 디지털화하고, ImageJ(NIH)에 의해 재구성하였다.

[0128] 양극성 스테인리스 강 자극 전극(FHC(메인주 보도인))을 CA3 구역에서 샤퍼 측부-맞교 섬유(Schaffer collateral-commissural fiber)에 위치시키고, 각각 30초마다 최대 fEPSP의 대략 50%를 유발하도록(50 내지 100pA; 100㎲ 기간) 조정된 자극 강도에 의해 전류 펄스를 적용하였다. ISO-Flex 아이솔레이터로부터의 전기 자극을 마스터 8개 펄스 생성기(AMPI(이스라엘 예루살렘))에 의해 제어하고, Multiclamp 700B(모레큘러 디바이시스(Molecular Devices)(캘리포니아주 서니베일))에 의해 촉발하였다. 신호를 Digidata 1322에 의해 디지털화하고, Multiclamp 700B 증폭기를 사용하여 기록하였다. fEPSP 기울기를 최대 음성 편향의 20 내지 80%로부터 선형 외삽에 의해 측정하고, 기울기는 실험을 시작하기 전에 적어도 15분 동안 10% 내에로 안정한 것으로 확인시켜주었다. IBM 호환 개인용 컴퓨터에서 Clampfit(Version 9; Axon Instrument)를 사용하여 데이터를 분석하였다. 유발된 fEPSP(최대 진폭의 50%, 2 내지 4mV)를 적어도 30분의 안정한 기준 기간 동안 방사층에서의 정점 수지상 필드에서 기록하였다.

[0129] **해마회 확산성 억제의 유도**

[0130] 해마의 급성 두정 슬라이스를 현미경 스테이지에서 액침된 기록 챔버로 옮기고, 가온된 ACSF(32℃)에 의해 관류시키고, 여기서 세포외 $[K^+]$를 3㎖/분의 관류 속도에서 8mM으로 상승시켰다. 유리 피펫을 통해 3M KCl의 압력 주입 퍼프에 의해 확산성 억제를 개시시켰다. 50 내지 100㎳ 지속한 8 내지 10psi의 압력 펄스를 Picospritzer II(Parker Hannifin(뉴햄프셔주 홀리스))에 의해 구동하였다. 피펫 저항은 3M KCl에 의해 충전될 때 2±0.2MΩ이었다.

[0131] **수상돌기 가시 수축/회복의 동적 영상화 분석**

[0132] 15분 동안 알렉사 플루오르 594(100μM)에 의해 해마회 슬라이스에서 CA1 피라미드 뉴런을 로딩한 후, 상기 기재된 바대로 60x/1.1 nA 물 액침 적외선 대물렌즈와 4x 디지털 룸이 장착된 커스텀화 2-광자 레이저-스캐닝 Olympus BX61WI 현미경을 사용하여 3차 수상돌기를 영상화하였다(Zhang et al., 2008). 이동 바이어스를 피하기 위해 포커싱된 층으로부터의 ±3㎛의 범위의 XYZ 스캐닝 모드를 0.5㎛의 z 스테이지 간격으로 사용하고, 7초의 단일 깊이 프로필 시간에 대해 각각의 영상은 종료까지 0.45초가 걸렸다. 너무 많은 여기 광으로부터 작은 수상돌기 가시에 대한 광독성의 임의의 징후 및 형광의 포화를 피하기 위해 많은 관심을 취했다. 깊이 프로필을 5분 간격으로 반복하여 가능한 염료 광퇴색 및 광독성을 감소시켰다. 810nm으로 조정된 Mai/Tai 레이저(Solid-State Laser(캘리포니아주 마운틴 뷰))를 여기에 사용하고, 영상 획득을 Olympus FluoviewFV300 소프트웨어(Olympus America(뉴욕주 멜빌))에 의해 제어하였다. 최대로 오픈된 핀홀 및 배경에 대해 신호에 최적화된 방출 스펙트럼 창으로 공초점 레이저의 스캔 헤드 광전자증배관 관에 의해 동시형광을 검출하였다. 트랜스형광 경로에서, 565

nm의 색선별 거울을 사용하여 녹색 및 적색 형광을 분리시키고, 각각 HQ525/50 및 HQ605/50 방출 필터를 통해 통과시켜, 투과된 또는 반사된 여기 광(Chroma Technology(버몬트주 록킹햄))을 제거하고, 2개의 광전자증배관에 의해 동시에 검출하였다. 도면은 전체 6㎛ Z-프로필의 붕괴된 영상을 보여주고, 이 투영은 가시 용적의 지수로서 강도를 계산하기 위해 사용되었다.

[0133] **데이터 분석**

[0134] 기록 신호를 1kHz 컷오프 주파수에 의해 8개-극 베셀(Bessel) 저역 통과 필터를 통해 여과시키고, 100㎲의 간격으로 Clampex(V. 9)에 의해 샘플링하였다. fEPSP 기울기를 Clampfit(V.9)에 의해 계산한 후, 데이터를 Origin 6.1(Microcal Software(메사추세츠주))에 의해 추가로 처리하고, CorelDraw 10(Corel, Ottawa(캐나다 온타리오)에 의해 제시하였다. 모든 데이터를 변량의 일방향 분석(ANOVA), 또는 SPSS 소프트웨어(SPSS Inc.(일리노이주 시카고))를 사용하여 스튜던트 t 시험에 의해 분석하였다. 유의 수준을 $P<0.05$로 설정하였다. 데이터는 실험에 걸쳐 평균±SEM으로 제시된다.

[0135] **결과**

[0136] **해마회 슬라이스의 필드 CA1에서의 병소적 높은 [K+] 유도된 확산성 억제**

[0137] $[K^+]o$가 32℃에서 8mM으로 상승한 인공 뇌척수액(ACSF)에서, CA1 방사층에서의 필드로의 3M $[K^+]o$의 단일 국소 퍼프(100ms)(도 1, 상부 왼쪽)는, 해마의 전체 CA1 구역에 걸쳐 9±5.4㎜/분(n = 16)의 전파 속도로 분산하는, SD를 신뢰성 있게 유도하였다. 음성 필드 전위 이동(도 1, 상부 오른쪽)을 특징으로 하는 SD는 통상적으로 45초 초과로 지속하는 해마회 CA1 구역의 방사층 시냅스 층에서 -8±1.5 mV(n=30)의 최대 이동을 나타냈다.

[0138] SD를 10분마다 유도하여 K^+의 세포외 공간 전도의 기간 및 유효 규모의 측정치인 음성 전위 이동의 면적(도 1, 상부 오른쪽, 빗금 구역)이 반복 SD에 의해 안정한지를 시험하였다. 개시 전극으로부터 기록된 음성 전위 이동의 면적이 600㎛ 멀리 원위 기록 전극에서보다 높지만(도 1, 하부), 부위 어느 하나에서 10분 간격으로 발생한 반복된 순차적 SD의 개별 삽화의 진폭 또는 전파 속도에 상당한 차이가 없었다(본페로니 다중 비교 시험, $P>0.20$). 이 결과는 재현 가능한 SD 음성 전위 이동이 적어도 처음 10 동안 해마의 필드 CA1에서 안정하게 반복하여 발생할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0139] **GLYX-13은 전파를 억제하고, 해마회 확산성 억제의 불응 기간을 증가시킨다**

[0140] 신규한 NMDA 수용체 글라이신 동시작용제 부위 부분 작용제 GLYX-13이 생리학적 범위 내에 NMDA 수용체 활성화를 조절하고 과도한 활성화를 방지함으로써 SD에 대한 한계치를 상승시키거나 이를 방지할 수 있다는 가설을 시험하기 위해, CA1 구역μ의 방사층으로 높은 [K+](패치 피펫 중의 1mM)의 간단한 분사 전에 GLYX-13을 1, 10, 또는 50㎛에서 해마회 슬라이스에 30분 동안 욕 적용하고, SD를 유발하도록 시도하였다. 용량-반응 관계를 처음에 나이브 슬라이스에서 높은 [K+] 분사의 시간에 기초하여 작도하고, 이후 30분 후 SD를 검출하기 위해 DC 전위를 기록하면서 3회의 시험 농도(1, 10 또는 50μM)의 각각에서 GLYX-13의 욕 적용하였다.

[0141] 적어도 3개의 SD를 약물 비함유 ACSF에서 초기에 유발한 후, 슬라이스를 GLYX-13에 의해 관류시키고 10분마다 SD를 유발하도록 계속하였다. 도 2, 상부에 예시된 바대로, 10μM의 GLYX-13의 경우, 개시 부위에서 SD의 개별 순차적 삽화의 기준 구역 사이의 상당한 차이가 없어서(본페로니 다중 비교 시험, $P>0.20$), GLYX-13이 SD의 개시를 변경하지 않는다는 것을 나타낸다.

[0142] 반복 SD에 의해 근처(근위) 및 먼(원위) 기록 부위에서 SD 진폭의 관계에 영향을 미치는지를 GLYX-13을 다음에 시험하였다. 슬라이스를 10μM의 GLYX-13에 의해 관류하고, 10분마다 SD를 계속해서 유발하였다(도 2, 하부). 본페로니 다중 비교 시험($P>0.20$)은 다시 대조군 슬라이드에서 SD의 개별 순차적 삽화의 구역 사이에 상당한 차이를 나타내지 않았다. GLYX-13은 근위 기록 부위에서 SD의 음성 전위 이동의 개시에 영향을 미치지 않았다.

[0143] 개시 부위에서의 SD 진폭을 원격 부위(도 2, 하부)에서 SD의 음성 전위 부위의 구역과 상관시켰다. 따라서, GLYX-13의 부재 및 존재 하의 근위/원위 면적 비율을 비교하였다. 도 2, 하부에 예시된 바대로, 원격 부위와 개시 부위 사이의 면적 비율은 6번째 SD(6번째 SD)의 적용에 의해 10μM의 GLYX-13의 존재 하에 극적으로 감소하였다. 2방향 ANOVA는 3개의 상당한 효과를 나타냈다: 1) 모든 관찰에 비해 동일한 슬라이스에서 시간 효과 반복 SD($F(1, 12)=5.17$, $p<0.05$); 2) 약물 치료로부터의 효과($F(1,12)=5.07$, $p<0.05$); 및 3) 치료와의 시간의 상호작용($F(1,12)=30.91$, $p<0.01$). 이 결과는 SD의 재발 음성 전위 이동이 원격 부위와 개시 부위 사이의 진폭 비율을 변경하고; 이 감소가 GLYX-13에 의해 현저히 증대된다는 것을 나타낸다. 이 발견은 GLYX-13이 특히 다수의

SD 사건 후에 뇌를 통한 SD의 전파를 상당히 억제할 수 있다는 것을 보여준다.

[0144] 이전의 연구에서, GLYX-13이 음성 필드 전위 이동의 진폭을 감소시키고 다수의 SD 후 가장 큰 효과인 전도 속도를 느리게 함으로써 SD의 전파를 제한할 수 있다는 것이 입증되었다. 각각의 SD 개시 사이의 간격을 짧게 함으로써, 대조군 슬라이스에서의 각각의 SD가 다음의 성공적인 SD 동안 3-4분의 절대 불응 기간을 가진다는 것이 발견되었다(n = 7). 10μM의 GLYX-13은 5-6분으로 이 불응 기간을 연장시켰다(n = 6). 도 3에 도시된 바대로, SD는 대조군 슬라이스(대조군)에서의 이전의 SD 후 5분에 성공적으로 일어날 수 있지만, GLYX-13(GLYX-13 30')에 의해 처리된 슬라이스에서는 일어날 수 없었다.

[0145] **SD 유도 세포외 공간 용적 이동에 의해 생성된 광학 밀도의 고유 변화를 사용한 SD 전파의 측정**

[0146] 유체가 탈분극된 세포로 돌진하고 이것이 팽윤되면서 SD는 세포외 공간 용적의 심오한 수축을 유발하고, 이것은 생체내 고유 광학 밀도의 변화로서 보일 수 있다. 이러한 휘도 강도 변화는 전파된 광 DIC 현미경검사를 사용하여 뇌 슬라이스에서 또한 용이하게 검출될 수 있다. 도 4A는 증가한 휘도의 SD "조짐"이 개시 피펫으로부터 확산하고 슬라이스에 걸쳐 전파하고, SD 전도 속도를 계산하기 위해 사용될 수 있다는 것을 보여주다(도 4B). 증가한 휘도의 시간 과정은 전기생리학적 기록을 사용하여 SD의 최대 음성 전위 이동과 잘 상관된다. 따라서, 거리에 의한 휘도 변화의 시간 과정의 계산은 SD 전도 속도를 측정하기 위한 정확하고 편리한 방식을 제공한다.

[0147] 반복된 SD가 동일한 전도 속도를 나타내는지를 결정하기 위해, 도 4A의 상부에서 프로그래밍된 바대로 150㎛에 의해 분리된 5점에 걸쳐 휘도 변화를 모니터링하였다. 반복 측정에 의한 1방향 ANOVA는 SD가 P1로부터 P5로 개별 슬라이스 내에 정상 투과 속도를 유지시킨다($F(5, 35)=2.42$, $p>0.05$)는 것을 나타낸다. 따라서, 투과 속도는 연속 삽화에 걸쳐 SD 안정성을 시험하고 연속적인 삽화에 걸쳐 시험하기 위해 P1로부터 P5로 사용될 수 있다. SD의 평균 전파 속도는 9.07±0.55㎜/분이고, 7.54 내지 11.14㎜/분(n=16) 범위이다.

[0148] SD의 반복 삽화가 안정한 속도를 유지시키는지 및 GLYX-13이 SD 전도 속도에 영향을 미치는지를 시험하기 위해, 도 5에 예시된 바대로 6개의 후속 SD를 분석하기 위해 ANOVA 시험을 반복 측정에 의해 사용하였다. 분석은 대조군과 GLYX-13 처리된 슬라이스 사이에 상당한 차이를 나타냈다($F(1,50)=3.66$, $p<0.01$). SD 서열은 전체 변량의 38.5%를 차지하여서, SD 전파 속도가 상당히 증가하는 SD 수에 의해 느려진다는 것($F(5,50)=14.01$, $p<0.01$)을 나타낸다. 모든 반복 SD에 걸쳐 SD 전파 속도에 대한 GLYX-13 효과가 2방향 ANOVA에서 유의도에 도달하지 않더라도, SD의 수와 GLYX-13 처리 사이에 상당한 상호작용가 존재하여서($F(5,50)=2.53$, $P<0.05$), GLYX-13(채워진 원)이 7번째 SD에 의해서만 SD 전파 속도를 상당히 감소시킨다는 것을 반영한다.

[0149] **확산성 억제는 CA1 피라미드 뉴런 수상돌기 가시가 용적에서 가역적으로 수축하도록 한다**

[0150] 뇌에서의 피라미드 뉴런 수지세포의 해부학적 마이크로구조는 다양한 자극에 대해 반응하여 놀랍게도 신뢰도가 있다. 탈분극, 산소/포도당 박탈 및 N-메틸-D-아스파르테이트는 모두 시험관내 해마회 CA1 피라미드 뉴런에서 수상돌기 가시의 수축을 생성하는 것으로 나타났다. SD에 대한 가시의 반응을 조사하기 위해, 단일 CA1 피라미드 뉴런을 형광성 염료 알렉사플루오르-594에 의해 충전하고, 2-광자 레이저 스캐닝 현미경검사로부터 수집된 시리얼 z-스택 절편(0.2㎛ 단계 스패닝 5㎛)을 사용하여 수상돌기 가시 형상을 영상화하였다. CA1 피라미드로의 알렉사플루오르-594의 로딩이 뉴런 내에 평형 분포에 도달한 30분 후, SD를 해마회 슬라이스의 CA1 구역의 방사층(CA1 피라미드 뉴런의 정점 수지세포에서 샤퍼 측부 액손 시냅스)으로 높은 [K+](패치 피펫에서의 1M)의 간단한 분사에 의해 개시시켰다. 도 6A 및 도 6B에 예시된 바대로, SD에 의해 생성된 탈분극은 붕괴된 z-스택 형광 진폭에 의해 측정된 바대로 실질적인 가시 수축을 유발하지 않고, 가시 용적은 제1 SD 후 20-30분에 완전히 회복하였다. 이것은 SD 유도된 탈분극의 후유증 중 하나가 수상돌기 가시 형태의 변형이라는 것을 확인시켜준다.

[0151] **GLYX-13은 확산성 억제 이후 수상돌기 가시 회복을 개선한다**

[0152] 마지막으로, SD에 대한 수상돌기 가시의 동적 형태학적 반응에 대해 GLYX-13의 효과를 검사하였다. GLYX-13이 SD에 대해 반응하여 가시의 수축을 감소시키거나, 이의 회복을 개선하는지를 이것을 조사하였다. 도 6A는 대조군 피라미드 뉴런에서의 SD의 2개의 삽화에 반응한 가시 수축을 예시하는 반면, 도 6B는 10μM의 GLYX-13의 존재 하에 동일한 과정을 예시한다. 반복 측정에 대한 ANOVA는 도 6C의 상부에 예시된 것과 같은 수상돌기 가시로부터 측정된 형광성 강도에 대한 유의성($F(8,64)=17.53$, $p<0.001$)에 도달하고, 이 유의성은 SD 후 시간 과정으로부터 주로 생겨서($F(8,64)=6.18$, $p<0.01$), GLYX-13(채워진 원)이 SD에 의해 생긴 수축을 변경하지 않지만, 이것이 SD 후 가시 크기의 회복을 구제한다는 것을 나타낸다($F(8,64)=2.81$, $p<0.05$).

[0153] **실시예 2**

[0154] 해마회 슬라이스 제조: 14일 내지 21일령의 스프라그-다울리(등록상표) 랫트(Taconic Farms)를 사용하여 실험을 수행하였다. 랫트를 아이소플루오란에 의해 깊게 마취시키고, 희생시키고, 뇌를 빨리 제거하고, 126 NaCl, 2.5 KCl, 2.6 $CaCl_2$, 1.3 $MgCl_2$, 1.25 NaH_2PO_4, 26 $NaHCO_3$, 및 11 글루코스(mM 단위)를 함유하는, 산소화된(95%의 O_2 - 5%의 CO_2), 얼음 냉각된 인공 뇌척수액(ACSF)에 위치시켰다. 뇌를 2등분하고, 이마엽을 절단하고, 슬라이싱 동안 계속해서 산소화된 얼음 냉각된 ACSF에서 액침된 스테이지에 부착된 사이아노아크릴레이트를 사용하여 개별 반구를 접착시켰다. 해마를 함유하는 400㎛의 두께의 두정 슬라이스를 바이브라톰(Leica 1200s)을 사용하여 절단하고, 실험을 시작하기 전 최소 1시간 동안 실온에서 항온처리를 위해 계면 보유 챔버로 옮겼다.

[0155] 해마회 확산성 억제의 유도: 해마의 급성 두정 슬라이스를 현미경 스테이지에서 액침된 기록 챔버로 옮기고, 가온된 ACSF(32℃)에 의해 관류시키고, 여기서 세포외 [K+]를 3㎖/분의 관류 속도에서 8mM으로 상승시켰다. 유리 피펫을 통해 3M KCl의 압력 주입 펌프에 의해 확산성 억제를 개시시켰다. 보통 50ms 지속한 8 내지 10psi의 압력 펄스를 피코스프리처(picospritzer)에 의해 구동하였다. 피펫 저항은 3M KCl에 의해 충전될 때 2±0.2MΩ이었다.

[0156] 전기생리학적 기록 방법: 세포외 기록을 Clampex(v. 9)에 의해 MultiClamp 700B(Axon Instruments)를 사용하여 수행하고, 1kHz에서 여과시키고, 3kHz에서 디지털화하였다. 저저항(ACSF에 의해 충전된 후 1 내지 2MΩ) 기록 전극을 SD 개시 피펫으로부터 대략 150㎜ 거리 간격으로 CA1 구역의 방사층에서의 샤퍼 측부 말단 필드의 정점 수지상 구역으로 삽입된 얇은 벽의 붕규산염 유리로부터 만들어서, SD의 속도를 모니터링하였다. 적외선 차등 간섭 대비(DIC) 광학부품이 장착된 Zeiss Axioskop 2FS 수직 현미경에 액침된 기록 챔버를 탑재하였다. 10x 대물렌즈를 사용하여 SD에 의해 발생한 슬라이스 휘도 변화를 영상화하였다. 휘도 변화를 PTI 마스터 시스템에 의해 제어되는 냉각된 CCD 카메라(CoolSNAP HQ)에 의해 100ms마다 영상화하였다. 전기생리학적 데이터를 Clampfit 9에 의해 분석하였다. 영상화 데이터를 디지털화하고, ImageJ(NIH)에 의해 재구성하였다. 모든 실험을 국립 보건원 가이드라인을 준수하여 승인된 프로토콜 하에 수행하였다.

[0157] 실시예 1의 발견은 여성 및 청소년 환자와 관련하여 조사되었다. 시험관내 뇌 슬라이스에서 해마의 CA1 구역에서 확산성 탈분극(SD)을 개시시키도록 실험 프로토콜을 사용하였다. 가시적으로 더 긴 범위에 걸쳐 개시 부위로부터 확산성 억제의 거리 및 SD 전파 속도를 더 잘 관찰하기 위해, 실시예 1의 10x 대물렌즈를 1.6㎜로 조망 도메인을 확대하기 위해 4x 대물렌즈에 의해 대체하였다. 기록 챔버를 변형시켜 측면 둘 다로부터 슬라이스를 관류시키고, 더 많은 효과적인 관류가 뇌 슬라이스에 충분한 산소를 제공할 뿐만 아니라, 확산성 억제의 각각의 삽화가 세포외 및 세포내 둘 다에서 극적인 이온 조성물 변화를 발생시키므로 안정한 세포외 환경을 유지시키는 것을 돕는다.

[0158] 2개월령의 난소절제된 스프라그-다울리(등록상표) 암컷 랫트의 2개의 군은 현재의 코호트 연구에 포함되었다. 난소절제된 랫트 중 하나의 군은 7번째 수술 일 후로 7일 동안 에스트로겐의 매일 주사에 의해 제공된 반면, 다른 것은 실험을 수행하기 전 7일 동안 대조군으로서 오일 비히클만이 주사되었다.

[0159] 휘도 변화를 실패(<100㎜), 국소 확산(>100㎜; <800㎜); 또는 완전 확산(>800㎜)으로서 3M 칼륨의 퍼프에 따라 가시적으로 분류화하였다. SD 유도는 8마리의 오일 처리된 랫트로부터의 39개의 슬라이스 및 7마리의 에스트로겐 처리된 랫트로부터의 35개의 슬라이스에서 시도되었다. 표 1은 2개의 군에서 동일한 방법에 의해 유발된 SD의 발생의 빈도의 요약이다. 오일 치료 군에서, 실패율은 에스트로겐 치료 군에서보다 상당히 높아서(카이 제곱 시험, P=0.014), 에스트로겐 자체가 병소 탈분극에 SD를 나타내는 뇌 조직의 경향을 증대시킨다는 것을 나타낸다.

표 1

[0160]

군	비-SD	국소화 SD	완전 SD	전체
오일 처리된	13	21	5	39
에스트로겐 처리된	6	23	6	35

[0161] 하기 도 7에 도시된 바대로 확산성 억제의 전파 속도를 예측하도록 휘도 변화를 사용하였다. SD가 이 관찰 부위

사이를 이동하는 데 걸리는 시간으로 관찰 부위 사이의 SD의 거리를 나눔으로써 병소 3M 칼륨 퍼프에 의해 유도된 국소화 및 완전 SD 둘 다로부터 전파 속도를 계산하였다. 도 7에 예시된 바대로, 에스트로겐 처리된 랫트로부터의 슬라이스에서의 평균 확산 속도는 오일 처리된 랫트로부터의 슬라이스에서의 확산 속도(0.083±0.005㎜/초, P<0.05, 스튜던트 t 시험)보다 상당히 빠른 0.121± 0.013㎜/초이었다. 이 데이터는 에스트로겐이 해마에서, 그리고 가능하게는 또한 신생피질에서의 SD의 경향 및 속도 둘 다를 증대시키는 데 있어서 상당한 역할을 한다는 것을 나타낸다.

[0162] 개시 부위로부터 멀리 SD의 전파의 최대 거리를 측정함으로써 에스트로겐이 SD의 중증도에 어떻게 영향을 미치는지의 시험을 수행하였다. 8에 도시된 바대로, 검출 불가능한 휘도 변화를 나타낸 가까운 이웃하는 관찰 부위의 거리에 의해 개시 부위로부터 최소 검출 가능한 휘도 변화(기준치로부터 >5% 변화)를 나타낸 관찰 부위의 거리를 평균하고, 개시 부위로부터 이 거리를 측정함으로써 예측된 샤퍼 측부 경로를 따른 확산 종말점. 도 8에 도시된 바대로, 에스트로겐 처리된 랫트로부터의 슬라이스에서의 SD는 오일 처리된 랫트로부터의 슬라이스에서의 SD(0.394±0.051㎜; n=16, P<0.05, 스튜던트 t 시험)보다 상당히 더 긴 거리(0.594±0.071㎜; n=18)를 이동하였다. 그러므로, 에스트로겐 처리된 랫트에서의 SD는 더 용이하게 유발될 뿐만 아니라, 더 긴 거리 전파되었다.

[0163] 10μM의 GLYX-13은 이후 2개의 Sd가 10분 떨어져 유도된 후 관류물에 첨가되고, 10분마다 SD를 계속해서 유도하여 SD의 속도 및 스케일이 영향을 받는지를 결정하였다. 도 9는 GLYX-13의 적용 전 및 10μM의 욕 적용된 GLYX-13에 대한 50분 노출 후 에스트로겐 치료된 랫트로부터 슬라이스에서 유발된 SD의 통상적인 차이를 보여준다. SD에 대한 GLYX-13의 효과를 평가하기 위해 10개의 관찰 부위에서의 휘도 변화를 측정하였다. 도 9B에 도시된 바대로 SD가 여전히 용이하게 유발되지만, 도 9A는 SD와 연관된 휘도 변화가 GLYX-13의 존재 하에 지연된다는 것을 명확히 보여준다. 쌍 지은 t 시험은 GLYX-13이 6.56± 0.57㎜/분으로부터 4.96±0.28㎜/분으로 평균 SD 전파 속도를 상당히 감소시킨다는 것을 나타낸다(n=5, P<0.01, 쌍 지은 t 시험). 오일 처리된 랫트로부터의 해마회 슬라이스에서 동일한 실험을 수행하였다. GLYX-13이 평균 SD 전파 속도를 5.09±0.61㎜/분으로부터 4.50±0.39㎜/분으로 감소시키면서(n=5), 이 감소는 통계 유의성에 도달하지 않았다.

[0164] 2개의 군에 걸쳐 SD 전파 속도에 대한 GLYX-13의 효과를 조사하기 위해 2방향 반복된 ANOVA를 또한 수행하였다. 도 10이 예시하는 것처럼, 제1 유의성은 GLYX-13의 적용 전 및 후에 에스트로겐 치료된 랫트로부터 생기고(F(1,8)=3.1; p<0.05); 제2 유의성은 2개의 군 사이의 GLYX-13의 노출 간에 생겼다(F(1,8)=4.2; p<0.05). 이 결과는 GLYX-13이 에스트로겐 치료된 랫트에서 더 강한 효과를 가져서, 오일 치료된 랫트의 수준으로 SD의 전파 속도를 상당히 느리게 한다는 것을 나타낸다.

[0165] **실시예 3**

[0166] **방법**

[0167] **동물**

[0168] 성체 수컷(2-3개월령) 스프라그-다울리(등록상표)(SD) 랫트를 할란(Harlan)(미국)으로부터 구입하였다. 랫트를 백양나무 목재 침구를 가지는 Lucite 우리에서 감금하고, 12시간:12시간 광:암 사이클(5AM에서의 광)에서 유지시키고, 연구에 걸쳐 Purina(등록상표) 랫트 음식(미국) 및 수돗물에 자유로이 접근이 제공되었다

[0169] **외상성 뇌 손상 유도**

[0170] 단일 블라스트 유도된 외상성 뇌 손상을 유도하고, 골드스테인(Goldstein) 등의 프로토콜에 따라 랫트에서 사용하도록 변형시켰다(Goldstein, L.E., et al. (2012) "Chronic traumatic encephalopathy in blast-exposed military veterans and a blast neurotrauma mouse model," Science Translational Medicine 4:134ra160.) 성체 수컷 스프라그-다울리(등록상표) 랫트를 아이소플루란에 의해 마취시키고, 귀마개를 랫트의 귀 둘 다로 삽입하고, 랫트는 폴리에스터 필름의 0.014 인치를 펀칭함으로써 생성된 헬륨의 단일 약 42 PSI 블라스트를 받았다. 샴 대조군을 블라스트 반경의 바깥에 위치시켰다. 하기한 바대로 동물이 블라스트 후 1시간 라파스티넬(3㎎/㎏ IV) 또는 0.9% 무균 식염수 비히클(1㎖/㎏ IV)에 의해 투약되면서, 랫트를 처음에 3.5-4% 아이소플루란을 사용하여 마취시키고, 이후 이의 귀를 1.5 x 1.5㎜ 폼 플러그(Pura-Fit ear plugs, Moldex-Metric INC(캘리포니아 주 쿨버 시티))에 의해 보호하였다. 랫트를 두부 접근 설치류 가슴 억제제(thoracic restrainer)(Stoelting(미국))에 위치시켜 두부가 자유로이 이동하게 허용하면서 이의 신체를 보호하고, 머리는 알루미늄 쇼크 관(183 x 61㎝; L-3 Applied Technologies(미국))의 말단으로부터 10㎝에 있다. 랫트는 폴리에스터 필름의 0.014 인치 천공에 의해 생성된 헬륨의 단일 약 42 PSI 블라스트를 받았다. 샴 대조군을 블라스트 반경의 바깥에 위치시켰

다. 동물은 블라스트 후 1시간에 라파스티넬(3㎎/kg IV) 또는 0.9% 무균 식염수 비히클(1㎖/kg IV)이 투약되었다. 마취로부터 회복하는 잠재력을 기록하였다(도 11A). 회복은 눈 깜빡임 및 체위반사, 및 일반 보행(정상 리듬 게이트, 비순환 게이트, 체중 완전 지지, 약간의 코 훌쩍임 및 탐구 행동의 증거)을 나타나는 것으로 정의된다. 동물은 블라스트 후 1시간에 GLYX-13(3㎎/kg IV) 또는 0.9% 무균 식염수 비히클(1㎖/kg IV)이 투약되었다. N = 군마다 4-6; * P<0.05(도 11A) ANOVA.

[0171] **양성 감정 학습(PEL)** 도 11B는 대상체 간 설계를 사용한 블라스트 후 24시간에 수행된 단일 3분 긍정적 정서 학습(PEL) 시험 세션의 결과를 보여준다. N = 군마다 4-6. 피셔 PLSD 사후 시험을 이용하여 결과(라파스티넬 + TBI 대 비히클 + TBI)를 평가하였다.

[0172] 이종연합 거친 신체 놀이(rough-and-tumble play)가 문헌(Burgdorf, J., et al. (2011) "Positive emotional learning is regulated in the medial prefrontal cortex by GluN2B-containing NMDA receptors," Neuroscience 192:515-523)에 이전에 기재된 바대로 수행되었고, 투약 후 3시간 및 2주에 시험이 발생했다. 이종연합 거친 신체 놀이 자극은 실험자의 오른쪽 손에 의해 투여되었다. 동물은 교대하는 이종연합 거친 신체 놀이의 15초 차단 및 비자극의 15초로 이루어진 3분의 이종연합 거친 신체 놀이를 받았다. 높은 빈도의 초음파 발성(USV)을 기록하고, 이전에 기재된 바대로(Id.) Avasoft SASlab Pro(독일)에 의해 소노그램에 의해 분석하였다. 각각의 비-자극 기간 동안 발생한 주파수 변조된 50-kHz USV를 정량화하여 PEL을 측정하였다. 동물은 시험 전에 자극을 놀이하도록 습관되지 않았다.

[0173] **결과**

[0174] 도 11A에 도시된 바대로, TBI를 받은 동물은 샴 대조군 동물과 비교하여 마취로부터 더 긴 회복 시간을 나타냈다[$F(1, 13) = 41.7$, P<0.05]. 도 11B에 도시된 바대로, 라파스티넬(3㎎/kg IV)은 양성 감정 학습의 TBI 유도 억제를 구제하였다[$F(2, 12) = 10.0$, P<.05; 피셔 PLSD 사후 시험 라파스티넬 + TBI 대 비히클 + TBI, 샴 대 비히클 + TBI 대, P<0.05]. 또한, 마취 회복 시간은 PEL의 속도와 상당히 상관되지 않았다[$r(15) = -0.14$, P>.05]. 양성 감정 학습 시험에서, 라파스티넬의 단일 용량(3㎎/kg IV)은 TBI에 의해 유도된 학습 및 감정의 결함을 완전히 구제하였다. 따라서, 이 전임상 모델에서, 라파스티넬은 주요 인지를 치료하는 데 효과적이고, TBI 및 라파스티넬의 정서적인 증상은 PTSD의 치료에 치료학적 잠재력을 가지는 것으로 나타났다.

[0175] 균등물

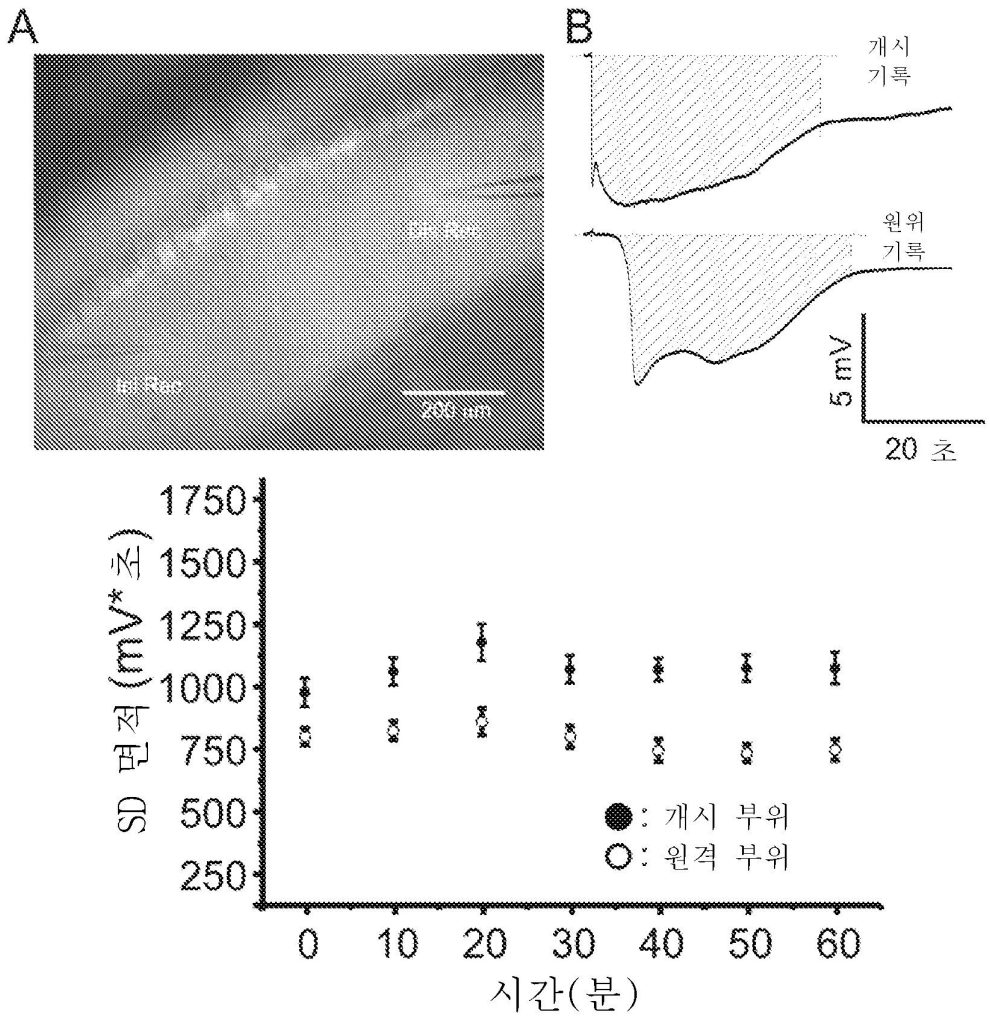
[0176] 본 개시내용의 특정한 실시형태가 기재되어 있지만, 상기 명세서가 예시적이고 제한적이 아니다. 본 개시내용의 많은 변형은 본 명세서의 검토 시 당해 분야의 당업자에게 명확할 것이다. 본 개시내용의 완전한 범위는 청구항과 균등물의 이의 완전한 범위와 함께, 그리고 명세서와 이러한 변형과 함께 참조로 결정되어야 한다.

[0177] 달리 표시되지 않은 한, 성분의 분량, 반응 조건, 매개변수, 기술적 특징 및 명세서 및 청구항에 사용된 기타 등등을 나타내는 모든 숫자는 모든 경우에 용어 "약"에 의해 변형되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 반대로 표시되지 않은 한, 명세서 및 첨부된 청구항에 기재된 숫자 매개변수는 본 개시내용에 의해 얻어지는 추구되는 원하는 특성에 따라 달라질 수 있는 대략치이다.

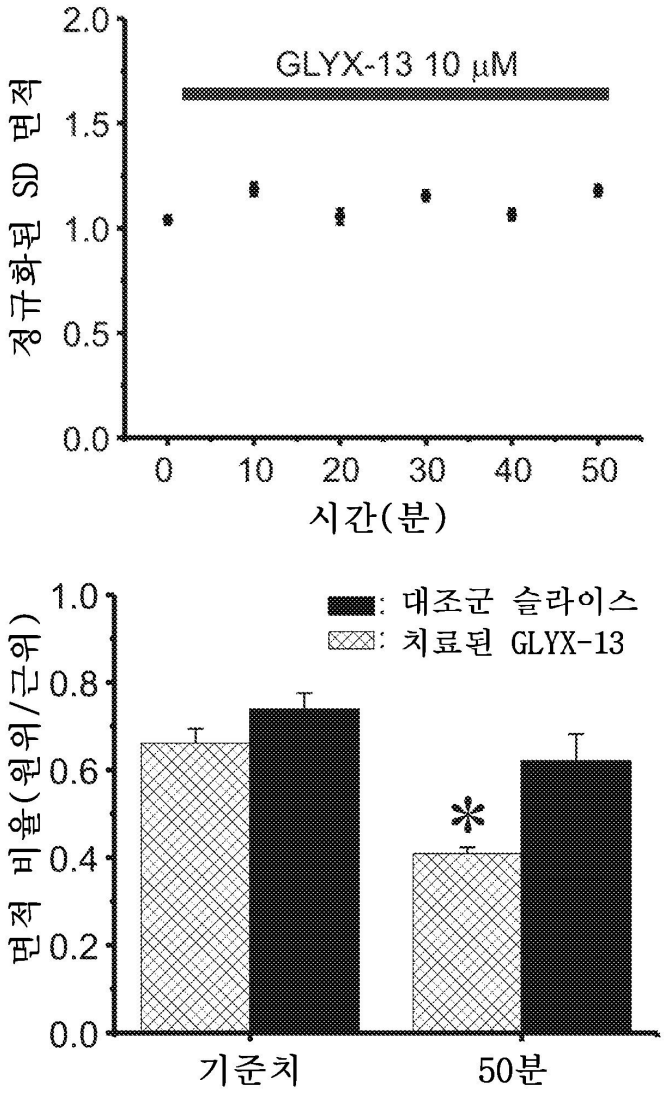
[0178] 하기 기재된 항목을 포함하는 본 명세서에 언급된 모든 공보 및 특허는, 각각의 개별 공보 또는 특허가 참조로 구체적으로 및 개별적으로 표시된 것처럼, 이의 전문이 참조로 본 명세서 포함된다. 상충의 경우에, 본 명세서에서의 임의의 정의를 포함하는 본 출원이 우세할 것이다.

도면

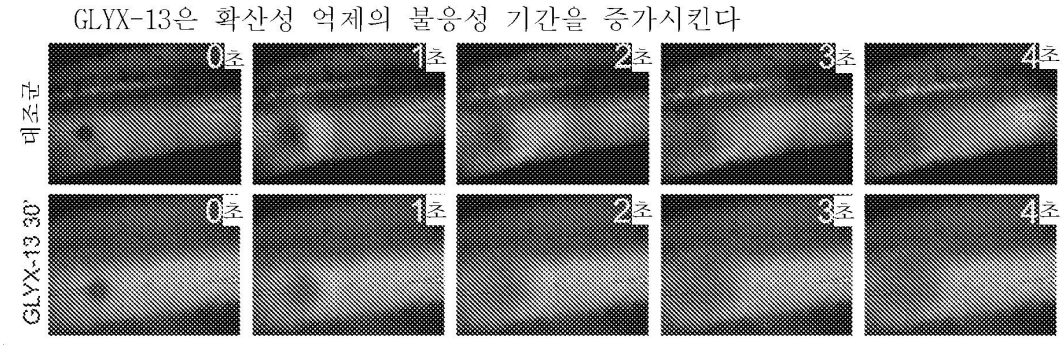
도면1


A
B
개시
기록
원위
기록
5 mV
20 초
1750
1500
1250
1000
750
500
250
SD 면적 (mV* 초)
: 개시 부위
: 원격 부위
0
10
20
30
40
50
60
시간(분)

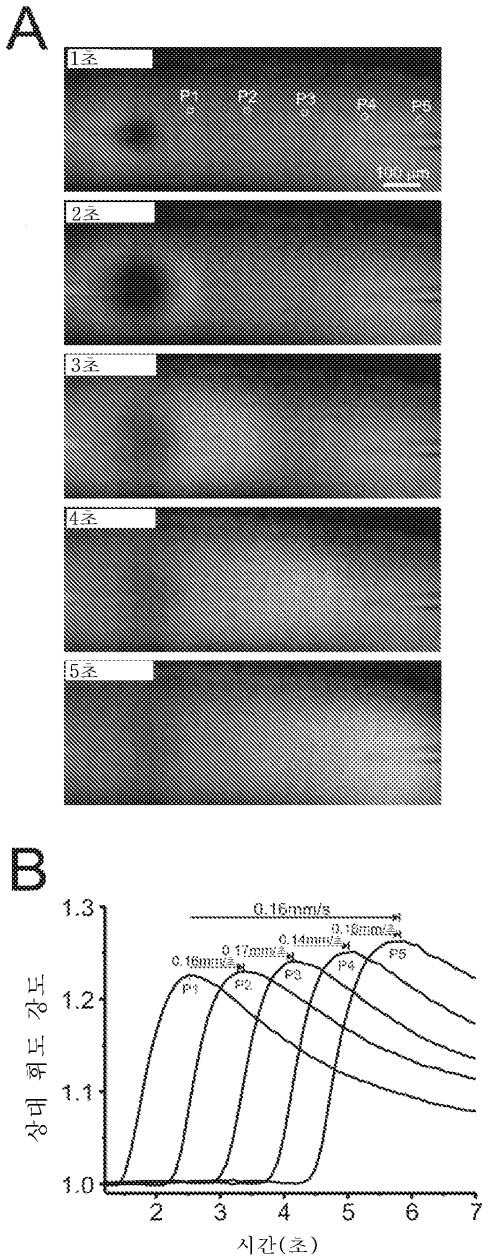
도면2


GLYX-13 10 μM
정규화된 SD 면적
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
10
20
30
40
50
시간(분)
: 대조군 슬라이스
: 치료된 GLYX-13
면적 비율(원위/근위)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
*
기준치
50분

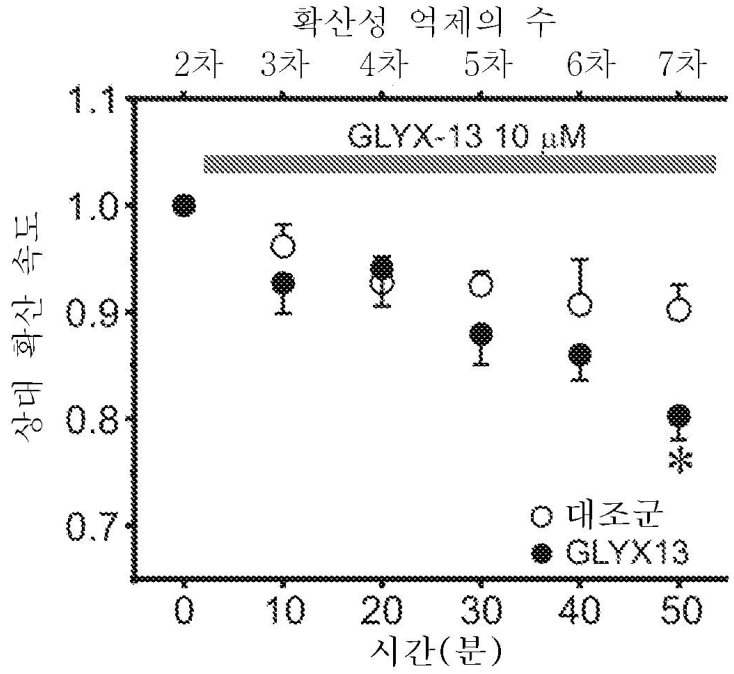
도면3


GLYX-13은 확산성 억제의 불응성 기간을 증가시킨다
대조군
GLYX-13 30'
0초
1초
2초
3초
4초

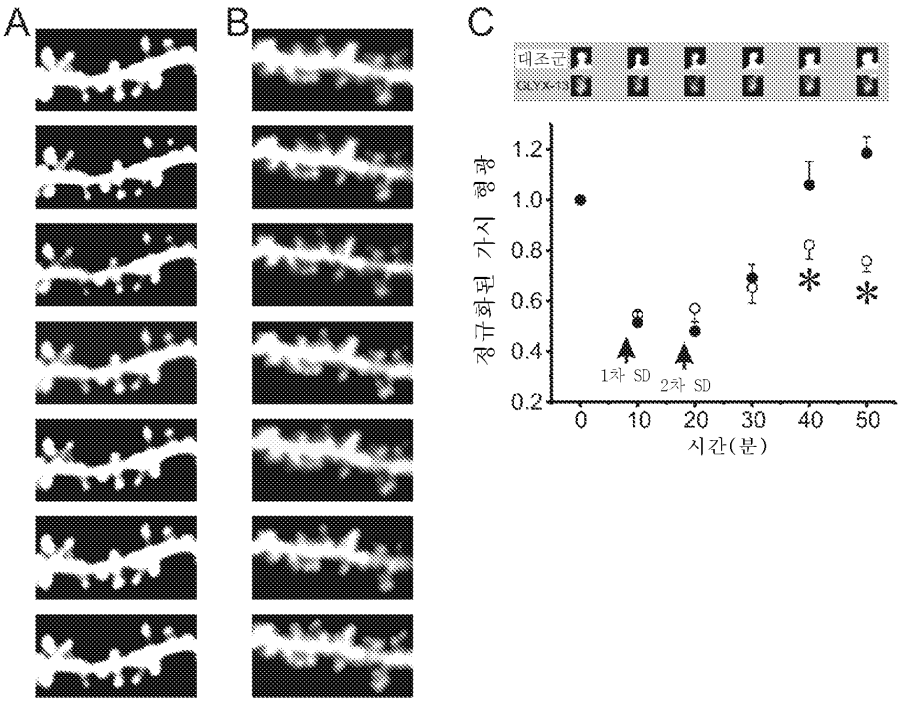
도면4


A
1초
2초
3초
4초
5초
P1
P2
P3
P4
P5
B
상대 휘도 강도
1.3
1.2
1.1
1.0
2
3
4
5
6
7
시간(초)
0.16mm/s
0.14mm/s
P1
P2
P3
P4
P5

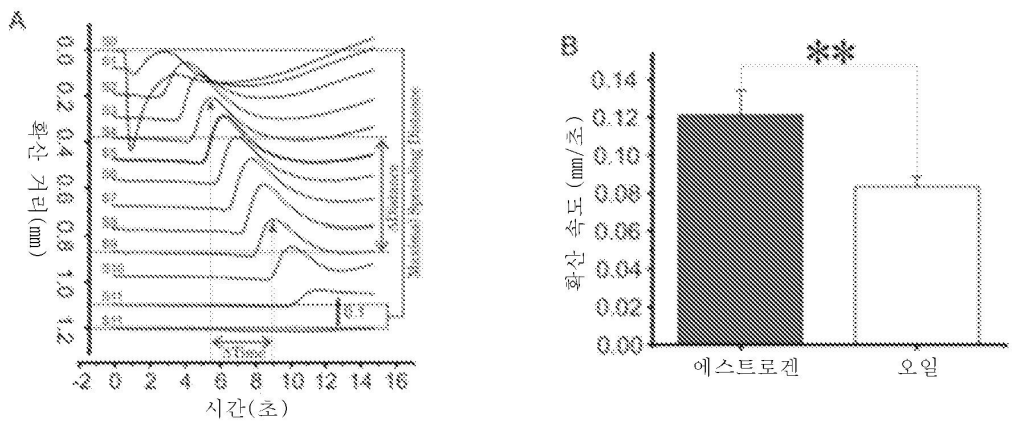
도면5


확산성 억제의 수
2차
3차
4차
5차
6차
7차
GLYX-13 10 μM
상대 확산 속도
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
대조군
GLYX13
0
10
20
30
40
50
시간(분)

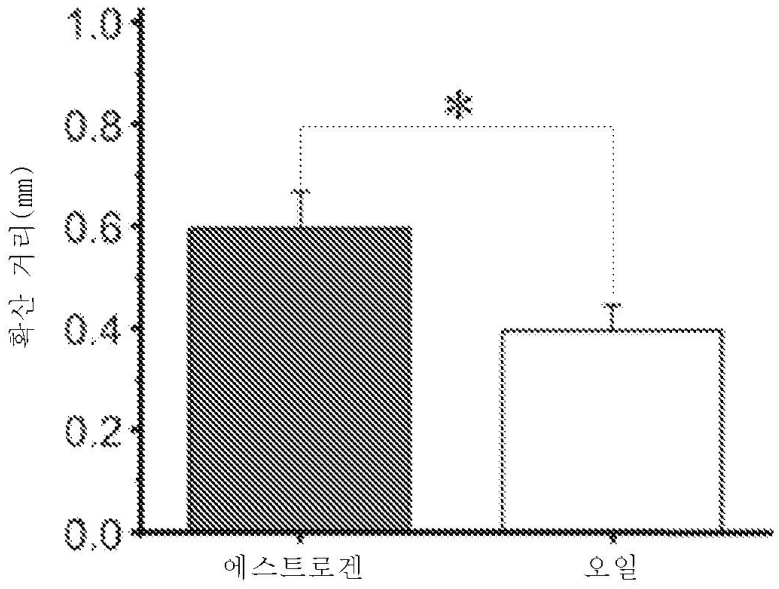
도면6


A
B
C
대조군
GLYX13
정규화된 가시 형광
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
1차 SD
2차 SD
0
10
20
30
40
50
시간(분)

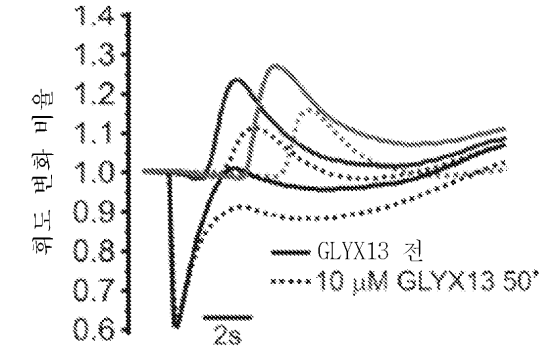
도면7



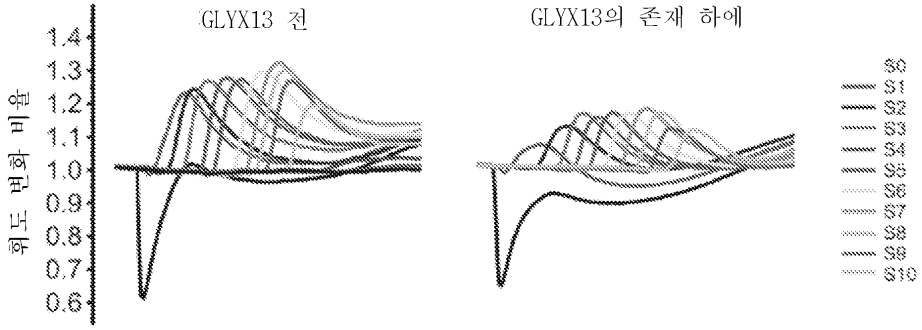
도면8



도면9

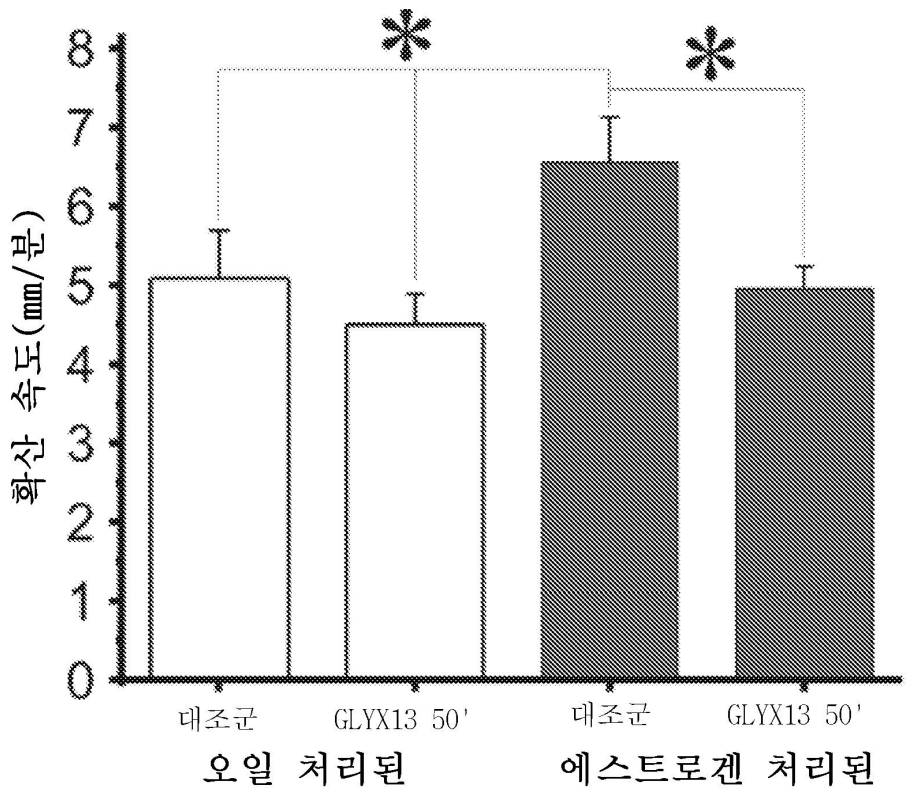

휘도 변화 비율
1.4
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
GLYX13 전
10 μM GLYX13 50'
2s

A

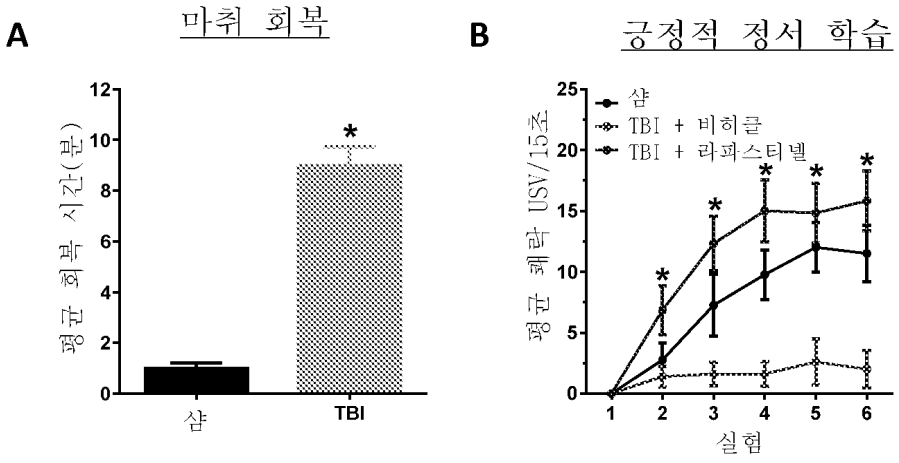

GLYX13 전
GLYX13의 존재 하에
휘도 변화 비율
1.4
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
S0
S1
S2
S3
S4
S5
S6
S7
S8
S9
S10

B

도면10


확산 속도(㎜/분)
8
7
6
5
4
3
2
1
0
*
*
대조군
GLYX13 50'
대조군
GLYX13 50'
오일 처리된
에스트로겐 처리된

도면11


A
마취 회복
평균 회복 시간(분)
12
10
8
6
4
2
0
*
샴
TBI
B
긍정적 정서 학습
평균 웨락 USV/15초
25
20
15
10
5
0
샴
TBI + 비히클
TBI + 라파스티넬
*
1
2
3
4
5
6
실험