



공개특허 10-2020-0043534



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0043534
(43) 공개일자 2020년04월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/07 (2006.01) *A61K 31/407* (2006.01)
A61P 25/14 (2006.01) *A61P 25/18* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(71) 출원인
노오쓰웨스턴 유니버시티
미국 일리노이 60208 에반스톤클라크 스트리트
633

(52) CPC특허분류
A61K 38/07 (2013.01)
A61K 31/407 (2013.01)

(72) 발명자
모스칼, 요셉
미국 60201 일리노이주 에반스톤 센트럴 스트리트
801

(21) 출원번호 10-2020-7011211(분할)

(74) 대리인
양영준, 김영

(22) 출원일자(국제) 2012년04월27일

심사청구일자 없음

(62) 원출원 특허 10-2019-7008907

원출원일자(국제) 2012년04월27일

심사청구일자 2019년04월26일

(85) 번역문제출일자 2020년04월17일

(86) 국제출원번호 PCT/US2012/035547

(87) 국제공개번호 WO 2012/149389

국제공개일자 2012년11월01일

(30) 우선권주장

61/479,593 2011년04월27일 미국(US)

61/527,744 2011년08월26일 미국(US)

전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 알츠하이머병, 헌팅تون병, 자폐증 또는 기타 장애의 치료 방법

(57) 요약

본 개시는 적어도 부분적으로, 개시된 화합물, 예컨대 NMDA 수용체 글리신 부위 부분 작용제의 유효량을 투여하여 치료가 필요한 환자의 자폐증의 치료 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61P 25/14 (2018.01)

A61P 25/18 (2018.01)

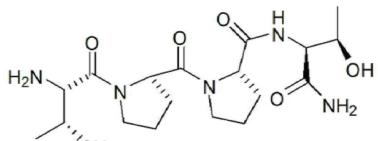
A61P 25/28 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

GLYX-13:

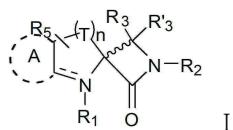


, 또는 이것의 제약상 허용 가능한 염의 제약상 유효량

또는

하기 화학식 I로 표현되는 화합물과 이것의 제약상 허용 가능한 염, N-옥시드 및 입체이성질체의 제약상 유효량을 포함하는, 환자의 자폐증을 치료하기 위한 제약 조성물의 용도.

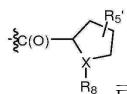
<화학식 I>



(상기 식에서,

T는 각각의 경우에 독립적으로 CR_4R_4' 이고, n은 0, 1, 2 또는 3이고;

A는 임의로 존재하고, 페닐 또는 피리딘으로부터 선택되며, 여기서 A는 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고,



R_1 은 H, 히드록실, $-S(O)_2-C_{1-4}$ 알킬, $-SO_2$, C_{1-4} 알킬, C_2-C_4 알케닐, 페닐, R_7 또는 부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐 또는 페닐은 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

X는 CH 또는 N이고;

R_3 및 R_3' 는 독립적으로 H, 할로겐, 히드록실, 페닐, C_{1-4} 알킬, 아미도, 아민 또는 C_{2-4} 알케닐로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐 및 페닐은 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

R_4 및 R_4' 는 독립적으로 H, 할로겐, 히드록실, 페닐, C_{1-4} 알킬, 아미도, 아민, C_{1-4} 알콕시 또는 C_{2-4} 알케닐로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐, C_{1-4} 알콕시 및 페닐은 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

R_2 는 H, R_7 , $-S(O)_2$, $S(O)_2-C_1-C_4$ 알킬, C_{1-4} 알킬, 히드록실 또는 페닐로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐 및 페닐은 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

R_5 및 R_5' 는 각각 독립적으로 H, 할로겐, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시, C_{2-4} 알케닐, 시아노, 아미노, 페닐 및 히드록실로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐 및 페닐은 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

R_7 은 $-C(O)-R_9$, $-C(O)-O-R_9$ 또는 $-C(O)-NR_d-R_9$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고,

R_9 는 H, C_{1-4} 알킬, 페닐 또는 헤테로시클릭으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, 페닐 또는 헤테로시클릭은 R_b 로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 치환기에 의해 임의로 치환되고,

R_8 은 H, $-C(O)-C_{1-4}$ 알킬 또는 $C(O)-O-C_{1-4}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬은 R_a 로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

R_a 는 각각의 경우에 독립적으로 카르복시, 히드록실, 할로겐, 아미노, 페닐, C_{1-4} 알킬 및 C_{1-4} 알콕시로부터 선택되고;

R_b 는 각각의 경우에 독립적으로 카르복시, 히드록실, 할로겐, 아미노, 페닐, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시 및 $-NH-R_c$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R_c 는 각각의 경우에 독립적으로 $-C(O)-O-C_{1-4}$ 알킬; 및 $-C(O)-C_{1-4}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R_d 는 각각의 경우에 독립적으로 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 선택된다)

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원의 교차 참조

[0002]

본 출원은 2011년 4월 27일에 출원된 미국 가특허출원 제61/479,593호 및 2011년 8월 26일에 출원된 미국 가특허출원 제61/527,744호의 우선권을 주장하고, 이 두 개는 모두 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0003]

자폐증은 사회적 상호작용, 의사소통에서의 장애, 및 제한적이고 반복적이며 상동증적인 행동 패턴을 특징으로 할 수 있다. 이제 자폐증은, 현재 미지의 환경적인 악화 매개체로 인한 발달장애이며 유전되는 것으로 생각된다. 예를 들면, 쌍생아 연구는 자폐증에 대한 강한 유전적 유전력을 보여주고; 자폐증에 대한 일치는 이란쌍쌍둥이에서 0-10 %와 비교하여 일란성 쌍둥이에서 60-91 %이고, 일반 인구에서 0.3 %이다.

[0004]

이 분야에서의 하나의 핵심 과제는 자폐증에 기능적으로 연결된 자폐증 후보 유전자의 식별이므로, 치료제 표적으로 추적될 수 있다. 예를 들면, 생물정보학 도구는 현재 다른 자폐증 후보 유전자, 소위 허브(hub) 유전자와 많은 수의 단백질-단백질 상호작용을 갖는 것으로 보여졌던 자폐증 후보 유전자를 식별하는데 사용될 수 있다. 이 허브 유전자는 생물학적 기능을 조절하는 "마스터 스위치(master switch)"로 사용될 수 있다는 가설이 세워졌다.

[0005]

낮은-계통(low-line) 동물, 예컨대 낮은-계통 랜덤(random-line) 동물에 비해, 동종과 적은 사회적 접촉 시간에 관여하고, 놀이 유발성 친사회적 초음파 발성(play induced pro-social ultrasonic vocalization; USV)의 더 낮은 비율을 보여주고, 비변조(즉, 단조로운) 주파수의 증가된 백분율을 보여준다.

[0006]

약리학상-기재의 치료제는 제한된 성공과 상당한 부작용을 가졌다. 따라서, 행동 변화 기술이 자폐증 스펙트럼 장애에 대해 가장 강력한 양성적인 개입이었다. 항정신병성 리스페리돈은 자폐증에 대한 유일한 FDA 승인 약제이고, i) 과다활동 및 과민성 증상을 상당히 감소시키고, ii) 부적절한 벌어 또는 사회적 도피에 거의 내지 전혀 영향을 미치지 않고, iii) 상당한 체중 증가 및 진정제 부작용을 보여주는 것으로 보고되었다. 자폐증 개체를 이용한 최근 연구는 D-시클로세린(DCS), NMDAR 글리신-부위 부분 작용제(agonist)가 사회적 도피를 현저하게 향상시켰다는 것을 보여주었다(문헌[Posey et al., 2004]).

[0007]

기억 손실(예컨대, 초기 단계의 알츠하이머병에 수반되는 기억 손실)과 연관된 신경 기능장애에 대한 실행 가능한 치료는 제한된 성공을 갖는 다른 분야이다. 그러나, 해마 절편에서의 장기 강화(long-term potentiation)가 보통의 학습 및 기억 과정의 기초가 되는 생리적인 분자 메카니즘의 연구에 대한 모델 시스템으로 떠올랐다. 예를 들면, 아밀로이드 베타 단백질($A\beta$)의 자연 분비된 올리고머가 해마 절편에서의 장기 강화를 억제하는 것으로 보여졌다.

[0008]

현팅تون병(HD)은, 주로 피각, 꼬리핵 및 대뇌피질에서 뉴런의 진행성 퇴화를 초래하는 확장성의 불안정한 CAG 트

리뉴클레오티드 반복으로 인한 보통염색체우성질환이다. HD는 운동 이상, 인지 장애, 감정 장애를 특징으로 하고, 이것은 운동 증상의 발병 약 15-20년 후에 결국 사망에 이른다.

[0009] HD 51 CAG 래트는 51 CAG 반복을 갖는 대립유전자를 함유하는 인간 HD 돌연변이를 이용한다. 이 동물 모델은 인간에서 발견되는 HD의 늦은 징후 및 느린 진행과 매우 유사한 진행성 신경학적, 신경병적 및 신경화학적 표현형을 나타내고, HD-유사 증상, 예컨대 인지 장애 및 진행성 운동 기능 장애뿐만 아니라 신경병리학적 특징, 예컨대 신경성 핵내 함유물 및 확대된 측뇌실을 나타낸다. HD 51 CAG 래트는 인간 상태와 매우 유사하여, 이 병의 행동, 세포 및 분자 마커를 연구하기 좋은 후보이다.

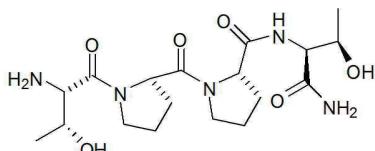
[0010] 알려진 치료법은 향상된 효율 및/또는 감소된 불필요한 부작용을 제공할 수 있는 화합물로 자폐증, 헌팅تون병 및 관련 장애 및/또는 상태의 치료에 대한 향상된 접근법의 필요성을 강조한다.

발명의 내용

[0011] NMDA 수용체 글리신 부위 부분 작용제의 제약상 유효량을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 자폐증을 치료하는 방법이 본원에서 제공된다. 예를 들면, 본 발명은 부분적으로, 본원에 개시된 GLYX-13 또는 그것의 유도체, 예를 들어, NMDA 수용체 글리신 부위 부분 작용제 활성을 갖는 화합물, 예컨대, 본원에 개시된 화합물과 같은 NMDA 수용체의 글리신 부위에 결합하는 화합물의 치료유효용량을 투여하여 자폐증을 치료하는 방법에 관한 것이다. 예를 들면, NMDA 수용체 상의 글리신 부위를 조정하는 화합물의 제약상 유효량을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 자폐증을 치료하는 방법이 본원에서 제공된다.

[0012] 다른 실시태양에서, NMDA 수용체 부분 작용제, 예컨대 GLYX-13 또는 본원에 개시된 화합물을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 간질, AIDS, AIDS 치매, 다계통위축증, 진행성 핵상마비, 프리드리히 보행실조, 자폐증(및 자폐증 스펙트럼 장애 아형), 취약 X 증후군, 결절경화증, 주의력결핍장애, 올리브다리뇌소뇌위축, 뇌성마비, 파킨슨병, 약물유발성 시신경염, 말초신경병, 척수증, 허혈성 망막증, 녹내장, 심장정지, 뇌졸중, 허혈, 행동 장애, 충동 조절 장애, 전두엽 측두엽 치매, 정신 분열증 및 양극성 장애로 이루어진 군으로부터 선택된 상태의 치료 방법이 제공된다.

[0013] 예를 들면, 일부 실시태양에서, NMDA 수용체의 글리신 부위를 조정할 수 있는 고려된 화합물은 (GLYX-13):



[0014] 또는 이것의 제약상 허용 가능한 염으로 표현된다.

[0015] 또한, 개시된 화합물을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 알츠하이머병의 치료 방법 또는 초기 알츠하이머병에 수반되는 기억 손실의 치료 방법이 본원에서 고려된다.

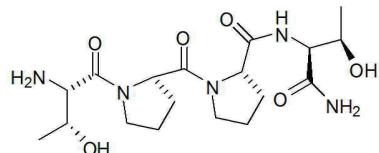
[0016] 다른 실시태양에서, 본원에 개시된 화합물을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 중독, 예컨대 아편체, 니코틴 및/또는 알콜 중독의 개선 또는 치료, 주의력결핍장애, ADHD, 정신분열증, 불안증, 외상성 뇌손상, 외상후 스트레스 증후군 및/또는 헌팅تون 무도증(즉, 헌팅تون병)의 치료 방법이 본원에서 제공된다.

[0017] 일부 실시태양에서, 고려된 화합물은 정맥내, 복강내, 근육내 또는 피하로 투여되고, 예를 들면, 고려된 방법은 상기 화합물의 단일-용량을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 실시태양에서, 개시된 방법은 개시된 화합물의 투여 약 1일 후, 또는 심지어 8일 후에도 환자의 하나 이상의 자폐증 증상에서 실질적인 호전을 제공할 수 있다.

[0018] 일부 실시태양에서, 개시된 화합물은 매일 투여될 수 있다. 개시된 화합물의 제약상 유효량은 약 0.01 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg일 수 있다.

[0019] 하기 화합물로 표현된 화합물 또는 그것의 제약상 허용 가능한 염의 단일 용량을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함하고, 1일 후 또는 8일 후에, 상기 환자가 자폐증 증상에서 실질적인 호전을 갖는, 상기 환자의 자폐증의 치료 방법이 본원에서 또한 제공된다. 단일 용량은 예를 들어, 개시된 화합물의 약 0.01 mg/kg 내지

약 1000 mg/kg을 포함할 수 있다.



(GLYX-13)

[0021] 다른 실시태양에서, 개시된 발명은, 인간을 포함하는 포유동물의 자폐증의 치료를 위해 서열 Thr-Pro-Pro-Thr을 포함하거나 화학식 A(GLYX-13)로 예시된 디-파롤리딘 웨პ티드 화합물을 투여하는 것에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 평균±SEM을 묘사한다. (A) 놀이-유발성 친사회적 USV의 낮거나 랜덤 비율에 대해 선택적으로 교배된 성숙한 수컷 롱 에반스(Long Evans) 래트에서 직접적인 사회적 접촉에 보낸 시간. 동물은 동일하게 선택적으로 교배된 계통의 동종으로 둘씩 시험되었다. (B) 성숙한 수컷 낮은 및 랜덤-계통 동물에서 동종의 놀이 유발성 친사회적 USV(주파수-변조 50 kHz 신호)의 비율. (C) 단조로운 동종의 놀이 유발 USV(즉, 7 kHz 미만의 대역폭) 전체의 백분율. 군 당 n = 14-20. * P < .05 피셔(Fisher) PLSD 사후 시험, 양방 시험(2 tailed).

도 2는 평균±SEM을 묘사한다. (A) 비히클(1 mg/ml 살균 염수 s.c.)로 또는 (B) 파험자내설계를 사용하여 시험 시작 15분 전에 GLYX-13(50 mg/kg s.c.)로 전처리된 청소년기의 수컷 낮은-계통 래트에서 동종의 놀이 유발성 친사회적 USV(주파수 변조 50 kHz 신호)의 비율. (C) 단조로운 동종의 놀이 유발성 USV(즉, 7 kHz 미만의 대역폭) 전체의 백분율. 군 당 n = 9. * P<.05 피셔 PLSD 사후 시험, 양방 시험.

도 3a, 3b 및 3c는 비선택적으로 교배된 랜덤-계통 동물과 비교하여 낮은-계통 동물의 양쪽 뇌 영역(내측 전전 두엽 피질 및 측중격핵) 내의 유전자의 상당한 변화를 묘사한다.

도 4는 GLYX-13의 적용시의 기관형적 해마 절편 배양에서 A β (1-42)에 의해 구현되는 자연성 신경세포사; A β (1-42) 단독 대 Glyx-13의 표시된 농도(μ g/ml)의 존재하에서의 A β (1-42)의 배스(bath) 적용 24시간 후의 프로페디움 형광의 평균±SEM을 묘사한다(*, P<0.05, A β 단독과 비교한 스튜던트(Student)의 t 시험).

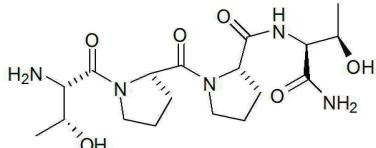
도 5는 GLYX-13의 존재하에서 해마 절편 내 쉐퍼(Schaffer) 곁가지-CA1 시냅스에서의 시냅스전달의 장기 강화(LTP)의 A β 장애의 구제(rescue)를 묘사한다. A: 비히클(TFE) 주사(빈 원; n=8)와 비교하여, 고주파 자극 훈련(3x100 Hz/500 ms)에 의해 유도된 LTP 및 기저 시냅스전달에 미치는 필드(field) CA1의 고막방사상 내로 A β (1-42)의 압력 방출(A β 주사; 12 psi/100 ms; 채워진 원; n=10)의 효과의 시간 추이. B: 비히클(TFE) 주사(빈 원; n=8)와 비교하여, 고주파 자극 훈련(3x100 Hz/500 ms)에 의해 유도된 LTP 및 기저 시냅스전달에 미치는 1 μ M Glyx-13의 존재하에서 필드 CA1의 고막방사상 내로 A β (1-42)의 압력 방출(A β 주사; 12 psi/100 ms; 채워진 원; n=8)의 효과의 시간 추이. C: 비히클(TFE) 주사(빈 원; n=8)와 비교하여, 고주파 자극 훈련(3x100 Hz/500 ms)에 의해 유도된 LTP 및 기저 시냅스전달에 미치는 1 μ M D-시클로세린의 존재하에서 필드 CA1의 고막방사상 내로 A β (1-42)의 압력 방출(A β 주사; 12 psi/100 ms; 채워진 원; n=7)의 효과의 시간 추이. D: 비히클(TFE) 주사(빈 원; n=8)과 비교하여, 고주파 자극 훈련(3x100 Hz/500 ms)에 의해 유발된 LTP 및 기저 시냅스전달에 미치는 100 μ M D-세린의 존재하에서 필드 CA1의 고막방사상 내로 A β (1-42)의 압력 방출(A β 주사; 12 psi/100 ms; 채워진 원; n=8)의 효과의 시간 추이. A, B 및 C의 각각의 포인트는 정규화된 fEPSP 기울기의 평균±SEM이다.

도 6은 GLYX-13이 투여된 WT와 HD 래트 간의 일련의 일원배치(one-way) ANOVA 및 분산의 반복-측정 분석의 결과를 나타낸다. 도 6A는 3단계 의사-랜덤 시험 동안, 초 당 레버 누르기(lever press)의 양으로 측정된, 레버 프레스의 "정답" 비율에서 WT 및 HD 래트 간의 유의한 차이가 없음을 나타낸다. 도 6B는 모든 시험 세션에 걸쳐 "오답" 레버 누르기의 비율에서 WT와 HD 래트 간에 드러난 분산의 반복-측정 분석에서의 상당한 차이를 보여주며($p = 0.004$), HD 래트가 더 높은 "오답" 비율을 갖는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "GLYX 웨პ티드"는 NMDAR 글리신-부위 부분 작용제/길항제 활성을 갖는 웨პ티드를 지칭한다. GLYX 웨პ티드는 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제5,763,393호 및 제4,086,196호에 기술된 것과 같은 잘 알려진 재조합 또는 합성 방법으로 얻어질 수 있다. 일부 실시태양에서, GLYX는 아미노산 서열 Thr-Pro-Pro-Thr(서열 1)을 갖는 테트라웨პ티드 또는 L-트레오닐-L-프롤릴-L-프롤릴-L-트레오닌 아미드를 지칭한다.

[0025] 예를 들면, GLYX-13은 하기로 묘사된 화합물을 지칭한다.



[0026]

[0027] 또한, GLYX-13의 다형체, 수화물, 동족체, 용매화물, 유리 염기 및/또는 아세테이트 염과 같으나 이에 제한되지 않는 적합한 염 형태가 고려된다. 이 웨티드는 미국 제5,763,393호에 추가로 기술된대로 환형화되거나 비환형화된 형태일 수 있다. 일부 실시태양에서, GLYX-13 유사체는 하나 이상의 Thr 또는 Pro기에 대한 잔기의 결실 또는 삽입, 예컨대 CH₂, OH, 또는 NH₂ 잔기의 결실을 포함할 수 있다. 다른 실시태양에서, GLYX-13은 1개 이상의 할로겐, C₁-C₃ 알킬(할로겐 또는 아미노로 임의로 치환됨), 히드록실 및/또는 아미노로 임의로 치환될 수 있다. 본원에서 사용하기 위해 고려된 다른 화합물은 미국 제5,763,393호, 미국 제6,107,271호 및 문헌[Wood et al., NeuroReport, 19, 1059-1061, 2008]에 개시된 NMDAR의 글리신-부위 부분 작용제를 포함하고, 이것의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0028]

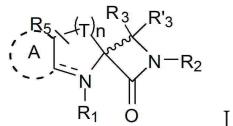
여기 개시된 웨티드는 천연 및 비천연 아미노산 모두, 예컨대 모든 천연 아미노산(또는 그것의 유도체), 모든 비천연 아미노산(또는 그것의 유도체), 또는 천연 및 비천연 아미노산의 혼합물을 포함할 수 있다는 것이 이해될 수 있다. 예를 들면, GLYX-13에서의 1, 2, 3개 이상의 아미노산은 d- 또는 L-배위를 각각 독립적으로 가질 수 있다.

[0029]

한 실시태양에서, 하나 이상의 개시된 방법에 사용하기 위한 화합물은 하기 화학식 I의 화합물과 이것의 제약상 허용 가능한 염, 입체이성질체 및 N-옥시드를 포함한다.

[0030]

<화학식 I>



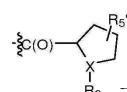
[0031]

[0032] (상기 식에서,

[0033] T는 각각의 경우에 독립적으로 CR₄R₄'이고, n은 0, 1, 2 또는 3이고;

[0034]

A는 임의로 존재하고, 페닐 또는 피리딘으로부터 선택되며, 여기서 A는 R_a로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고,



[0035]

R₁은 H, 히드록실, -S(O)₂-C₁₋₄알킬; -SO₂, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알케닐, 페닐, R₇ 또는 R₈로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C₁₋₄알킬, C₂₋₄알케닐 또는 페닐은 R_a로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

[0036]

X는 CH 또는 N이고;

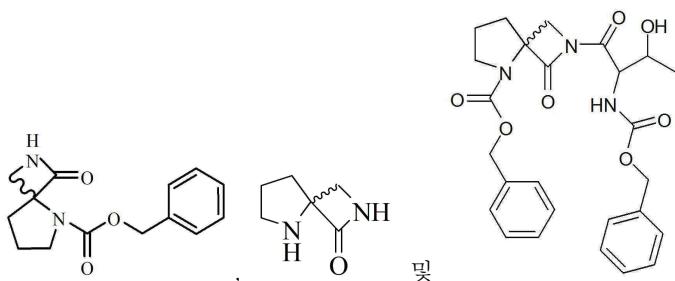
[0038]

R₃ 및 R₃'는 독립적으로 H, 할로겐, 히드록실, 페닐, C₁₋₄알킬, 아미도, 아민 또는 C₂₋₄알케닐로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C₁₋₄알킬, C₂₋₄알케닐 및 페닐은 R_a로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

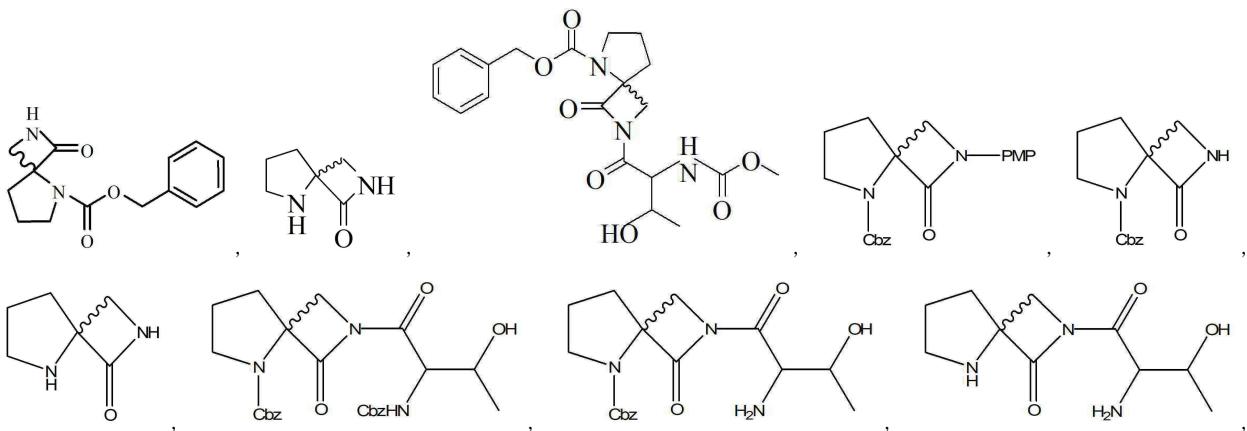
[0039]

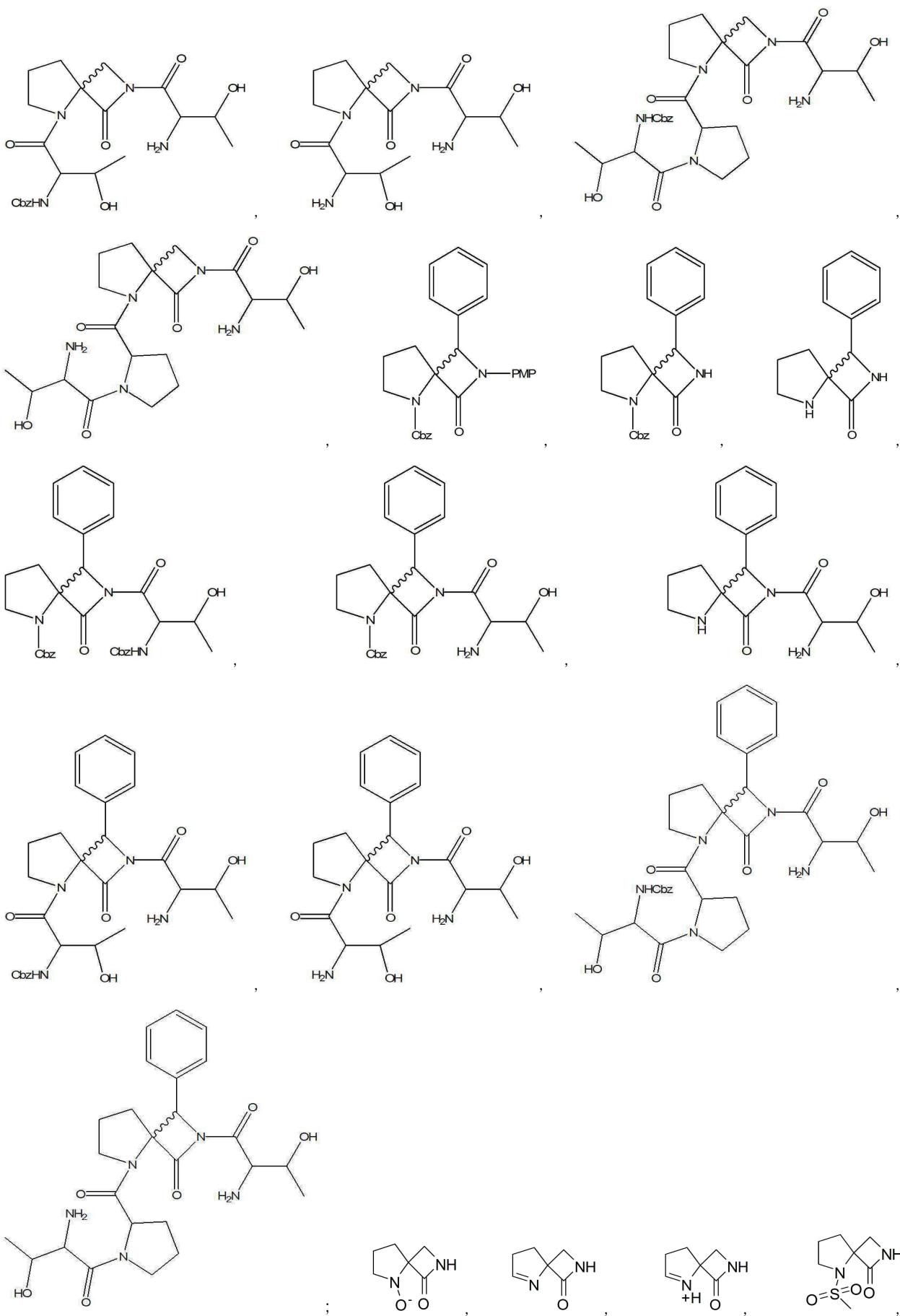
R₄ 및 R₄'는 독립적으로 H, 할로겐, 히드록실, 페닐, C₁₋₄알킬, 아미도, 아민, C₁₋₄알콕시 또는 C₂₋₄알케닐로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C₁₋₄알킬, C₂₋₄알케닐, C₁₋₄알콕시 및 페닐은 R_a로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;

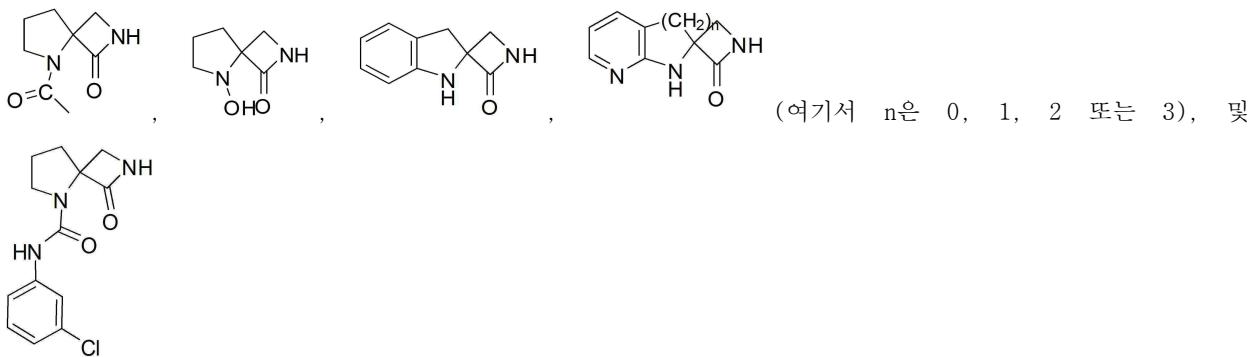
- [0040] R_2 는 H, R_7 , $-S(O)_2$, $S(O)_2-C_1-C_4$ 알킬, C_{1-4} 알킬, 히드록실 또는 폐닐로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐 및 폐닐은 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;
- [0041] R_5 및 R_5' 는 각각 독립적으로 H, 할로겐, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시, C_{2-4} 알케닐, 시아노, 아미노, 폐닐 및 히드록실로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알케닐 및 폐닐은 R_a 로부터 선택된 1개 이상의 치환기에 의해 임의로 치환되고;
- [0042] R_7 은 $-C(O)-R_9$, $-C(O)-O-R_9$ 또는 $-C(O)-NR_d-R_9$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고,
- [0043] R_9 는 H, C_{1-4} 알킬, 폐닐 또는 헤테로시클릭으로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬, 폐닐 또는 헤테로시클릭은 R_b 로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 치환기에 의해 임의로 치환되고,
- [0044] R_8 은 H, $-C(O)-C_{1-4}$ 알킬 또는 $C(O)-O-C_{1-4}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며, 여기서 C_{1-4} 알킬은 R_a 로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 치환기에 의해 임의로 치환되고;
- [0045] R_a 는 각각의 경우에 독립적으로 카르복시, 히드록실, 할로겐, 아미노, 폐닐, C_{1-4} 알킬 및 C_{1-4} 알콕시로부터 선택되고;
- [0046] R_b 는 각각의 경우에 독립적으로 카르복시, 히드록실, 할로겐, 아미노, 폐닐, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시 및 $-NH-R_c$ 로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0047] R_c 는 각각의 경우에 독립적으로 $-C(O)-O-C_{1-4}$ 알킬 및 $-C(O)-C_{1-4}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;
- [0048] R_d 는 각각의 경우에 독립적으로 H 및 C_{1-4} 알킬로부터 선택된다)
- [0049] 예를 들면, 고려된 화합물은 하기 화합물들을 포함한다.



[0051] 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물이 본원에 개시된다.







방법

[0053] 고려된 방법은 치료가 필요한 환자에게 개시된 화합물(예컨대, 상기 기술된 화합물)의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 자폐증 및/또는 자폐증 스펙트럼 장애의 치료 방법을 포함한다. 한 실시태양에서, 증상의 경감이 필요한 환자에게 개시된 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 자폐증 증상을 경감시키는 방법이 고려된다. 예를 들면, 투여 시, 이 화합물은 자폐증의 하나 이상의 증상, 예컨대 눈 마주침 회피, 사회화의 실패, 주의력 결핍, 나쁜 기분, 과다활동, 비정상적인 소리 민감도, 부적절한 발언, 수면 장애, 보속증의 발병을 경감시킬 수 있다. 이렇게 경감된 발병은 비치료된 개체 또는 비치료된 개체(들)에서의 발병에 대해 측정될 수 있다.

[0054] 일부 실시태양에서, 자폐증을 앓는 환자는 또한 다른 의학적 상태, 예컨대 취약 X 증후군, 결절경화증, 선천풍진증후군 및 비치료된 페닐케톤뇨증을 앓는다.

[0055] 다른 실시태양에서, 개시된 화합물, 예컨대 GLYX-13을 투여하는 것을 포함하는, 치료가 필요한 환자의 장애의 치료 방법이 고려되고, 여기서 이 장애는 간질, AIDS 및/또는 AIDS 치매, 파킨슨병, 다계통위축증, 진행성 핵상마비, 프리드리히 보행실조, 자폐증, 취약 X 증후군, 결절경화증, 주의력결핍장애, 올리브다리뇌소뇌위축, 뇌성마비, 약물유발성 시신경염, 말초신경병, 척수증, 허혈성 망막증, 녹내장, 심장정지, 행동 장애 및 충동 조절장애로 이루어진 군으로부터 선택된다. 또한, 치료가 필요한 환자에게 GLYX-13을 투여하는 것을 포함하는, 기침, 예컨대 억제할 수 없는 기침을 치료하는 방법이 본원에서 고려된다.

[0056] 예를 들면, 개시된 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 양성 롤란딕(Rolandic) 간질, 전두엽 간질, 영아연축, 청소년근간대간질, 레녹스-가스 토(Lennox-Gastaut) 증후군, 란다우-클레프너(Landau-Kleffner) 증후군, 드라벳(Dravet) 증후군, 진행성 간대성근경련간질, 반사 간질, 라스머센(Rasmussen) 증후군, 측두엽 간질, 변연계 간질, 간질 지속증, 복부 간질, 과다 양측성 근간대성근경련, 월경 간질, 잭슨(Jacksonian) 경련장애, 라포라(Lafora) 병 및/또는 광민감 간질의 치료 방법이 여기서 제공된다.

[0057] 한 실시태양에서, 개시된 화합물, 예컨대 GLYX-13을 투여하는 것을 포함하는, 치료가 필요한 환자의 아편제, 니코틴 및/또는 에탄올 중독의 개선(예컨대, 이러한 중독의 치료 또는 이러한 중독으로부터의 금단 부작용의 개선 방법), 주의력 결핍 장애, ADHD(주의력 결핍 과다행동 장애), 정신분열증(예를 들어, 분열정동장애, 망상장애, 예컨대 편집형, 파과형 및/또는 긴장형 정신분열증), 양극성 장애(양극성 I 장애, 양극성 II 장애, 순환기분장애 포함), 경계선 인격장애, 불안증(사회불안장애, 회피인격장애를 포함), 강박장애, 척수 손상 당뇨망막증, 외상성 뇌손상, 전두측두엽 치매, 외상 후 스트레스 증후군 및/또는 현팅تون 무도병의 치료 방법이 본원에서 고려된다. 예를 들면, 정신분열증, 중독(예컨대, 에탄올 또는 아편제), 자폐증(및 자폐증 스펙트럼 장애), 현팅تون 무도병, 외상성 뇌손상, 척수손상, 외상 후 스트레스 증후군 및 당뇨망막증을 앓는 환자는 모두 변성된 NMDA 수용체 발현 또는 기능을 앓고 있을 수 있다.

[0058] 예를 들면, 개시된 화합물의 치료유효량을 투여하는 것을 포함하는, 정신분열증, 예를 들면 정신분열증의 음성 및 인지 증상을 앓는 환자의 정신분열증, 예를 들면 정신분열증의 음성 및 인지 증상의 치료 방법이 본원에서 제공된다.

[0059] GLYX-13의 제약상 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 치료가 필요한 환자의 뇌졸중 및/또는 허혈증, 예컨대 허혈성 뇌졸중, 뇌 허혈증, 일과성 허혈성 발작, 심허혈증 및/또는 심근경색증의 치료 방법이 고려된다.

[0060] 또한, 개시된 화합물, 예컨대 GLYX-13의 유효량과 세포를 접촉시키는 것을 포함하는 세포 내 자폐증 표적 유전자 발현의 조정 방법이 본원에서 제공된다. 자폐증 유전자 발현은 예를 들면, ABAT, APOE, CHRNA4, GABRA5,

GFAP, GRIN2A, PDYN 및 PENK로부터 선택될 수 있다. 다른 실시태양에서, 개시된 화합물, 예컨대 GLYX-13, 또는 이것의 제약상 허용 가능한 염의 유효량을 시냅스 가소성 관련 장애를 앓는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자의 시냅스 가소성의 조정 방법이 제공된다.

[0062] 다른 실시태양에서, 개시된 화합물, 예컨대 GLYX-13을 투여하는 것을 포함하는, 치료가 필요한 환자의 알츠하이머병 또는 예를 들면 초기 알츠하이머병에 수반되는 것과 같은 기억 손실의 치료 방법이 제공된다. 또한, 개시된 화합물, 예컨대 GLYX-13의 유효량과 단백질을 접촉시키는 것을 포함하는 시험관내(*in-vitro*) 또는 생체내(*in-vivo*)(예컨대, 세포 내) 알츠하이머 아밀로이드 단백질(예컨대, 베타 아밀로이드 웹티드, 예컨대 이소형 A β_{1-42})의 조정 방법이 제공된다. 예를 들면, 일부 실시태양에서, GLYX-13 또는 다른 개시된 화합물은 아폽토시스(apoptotic) 신경세포사뿐만 아니라 해면 절편에서의 장기 강화를 억제하는 이러한 아밀로이드 단백질의 능력을 차단할 수 있다. 일부 실시태양에서, 개시된 화합물(예컨대, GLYX-13)은 필요로 하는 알츠하이머 환자에게 신경보호특성을 제공할 수 있고, 예를 들면 말기 알츠하이머 연관 신경세포사에 미치는 치료 효과를 제공할 수 있다.

[0063] 일부 실시태양에서, 이 환자는 인간, 예컨대 인간 소아 환자이다.

[0064] 일부 실시태양에서, 고려된 방법은 자폐증 또는 다른 고려된 증세를 치료하는 약제를 제조하기 위한 단독 또는 하나 이상의 다른 제제와 조합된 개시된 화합물 또는 화합물들의 용도에 관한 것이다. 한 실시태양에서, 본 개시는 치료가 필요한 환자에게 GLYX-13의 유효량을 투여하여 자폐증을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0065] 예를 들면, 개시된 방법에서, 고려된 화합물, 예컨대 GLYX-13, 또는 고려된 화합물 및, 예컨대 제약상 허용 가능한 부형제를 포함하는 조성물이 환자에게 피하로 그리고 정맥내를 포함하나 이에 제한되지는 않는 비경구적으로 투여될 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물 또는 조성물은 느리게 조절된 i.v. 주입을 통하여나 삽입 장치로부터의 방출에 의해 투여될 수 있다. 한 실시태양에서, 자폐증을 치료하는 개시된 방법은 개시된 화합물의 1회 용량, 또는 1회 이상의 용량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시태양에서, 환자는 1회(단일) 용량 투여의 12시간 후, 1일 후, 1주일 후, 2일 후, 3일 후, 4일 후, 5일 후, 6일 후 또는 심지어 8일 후에 자폐증 증상에서 실질적인 호전을 갖는다.

[0066] 치료에 사용하는데 필요한 개시된 화합물의 치료유효량은 치료할 자폐증 상태의 성질, 원하는 치료 시간의 길이, 환자의 나이 및 상태에 따라 달라지고, 궁극적으로는 주치의에 의해 결정된다. 그러나, 일반적으로, 성인 치료를 위해 사용되는 용량은 전형적으로 하루마다 약 0.01 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg의 범위이다. 이 용량은 하루마다 약 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg일 수 있다. 원하는 용량은 단일 용량으로 또는 적절한 간격, 예를 들면 하루에 2, 3, 4회 이상의 분할 용량으로 투여되는 다중 용량으로 편리하게 투여될 수 있다.

[0067] 다수의 요인이 개시된 발명의 화합물을 광범위한 투여량에 걸쳐 투여되도록 초래할 수 있다. 다른 치료제와 조합하여 주어지면, 본 발명의 화합물의 투여량은 상대적으로 더 낮은 투여량으로 주어질 수 있다. 그 결과, 본 발명의 화합물의 투여량은 약 1 ng/kg 내지 약 100 mg/kg일 수 있다. 본 발명의 화합물의 투여량은 약 1 ug/kg, 25 ug/kg, 50 ug/kg, 75 ug/kg, 100 ug/kg, 125 ug/kg, 150 ug/kg, 175 ug/kg, 200 ug/kg, 225 ug/kg, 250 ug/kg, 275 ug/kg, 300 ug/kg, 325 ug/kg, 350 ug/kg, 375 ug/kg, 400 ug/kg, 425 ug/kg, 450 ug/kg, 475 ug/kg, 500 ug/kg, 525 ug/kg, 550 ug/kg, 575 ug/kg, 600 ug/kg, 625 ug/kg, 650 ug/kg, 675 ug/kg, 700 ug/kg, 725 ug/kg, 750 ug/kg, 775 ug/kg, 800 ug/kg, 825 ug/kg, 850 ug/kg, 875 ug/kg, 900 ug/kg, 925 ug/kg, 950 ug/kg, 975 ug/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 60 mg/kg, 70 mg/kg, 80 mg/kg, 90 mg/kg, 또는 100 mg/kg을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 투여량에서의 것일 수 있다.

[0068] 일부 실시태양에서, 개시된 화합물, 예컨대 GLYX-13는 항우울-유사 및/또는 항불안-유사 효과를 생성하는 양으로 투여될 수 있다.

[0069] 개시된 화합물은 액체 또는 고체 제형, 예를 들면 수성 또는 유성 혼탁액제, 용액제, 에멀젼제, 시럽제 및/또는 엘릭시르제의 일부로 제공될 수 있다. 또한, 조성물은 사용하기 전에 물 또는 다른 적합한 비히클로의 구성을 위한 건조물로 제형화될 수 있다. 이러한 액체 제제는 혼탁제, 유화제, 비수성 비히클로 및 보존제를 포함하나 이에 제한되지 않는 첨가제를 함유할 수 있다. 혼탁제는 소르비톨 시럽, 메틸 셀룰로오스, 글루코스/당 시럽, 젤라틴, 히드록시에틸셀룰로오스, 카르복시메틸 셀룰로오스, 알루미늄 스테아레이트 젤 및 수소화된 식용 지방을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 유화제는 레시틴, 소르비탄, 모노올레이트 및 아카시아를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 비수성 비히클로는 식용유, 아몬드유, 분획된 코코넛유, 유성 에스테르, 프로필렌 글리콜 및

에틸 알콜을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 보존제는 메틸 또는 프로필 헤드록시벤조에이트 및 소르브산을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 또한, 고려된 화합물은 주사 또는 지속적인 주입에 의한 것을 포함하나 이에 제한되지 않는 비경구 투여를 위해 제형화 될 수 있다. 주사를 위한 제형은 유성 또는 수성 비히클 중의 혼탁액, 용액 또는 액체일 수 있고, 혼탁제, 안정화제 및 분산제를 포함하나 이에 제한되지 않는 제형화제를 함유할 수 있다. 또한, 이 조성물은 살균수, 무발열원수를 포함하나 이에 제한되지 않는 적합한 비히클로 재구성하기 위한 분말 형태로 제공될 수 있다.

[0070] 실시예

[0071] 실시예 1: 낮은-계통 대 랜덤-계통 래트의 USV

[0072] 자폐증의 핵심 증상(1) 사회적 감정 및 동기의 결핍, 2) 의사소통 문제 및 3) 운동이상, 특히 반복 행동의 높은 발병률)은 다음의 행동 평가, 각각: (1) 사회적 접촉에 보낸 시간의 감소; (2) 친사회적 발성의 비율의 감소, 및 (3) 분열된 초음파 발성 패턴을 사용하여 동물에서 부분적으로 모델화될 수 있다.

[0073] 성숙한 수컷 룽 에반스 래트를 놀이-유발성 친사회적 초음파 발성(USV)(즉, 거친 신체 놀이(rough and tumble play) 행동에 대한 반응에서의 주파수 변조 50-kHZ USV)의 낮은 비율 또는 랜덤 비율에 대해 선택적으로 교배하였다. 동물을 동일하게 선택적으로 교배된 계통의 동종으로 둘씩 시험하였다. 도 1A는 직접적인 사회적 접촉에 보낸 래트의 평균 SEM 시간을 묘사한다. 도 1B는 성숙한 수컷 낮은-계통 및 랜덤-계통 동물에서 동종의 놀이 유발성 친사회적 USV(주파수 변조 50 kHz 신호)의 비율을 도시한다. 도 1C는 단조로운 동종의 놀이 유발성 USV(즉, 7 kHz 미만의 대역폭) 전체의 백분율을 도시한다. 주파수 변조 50-kHz 신호는 친사회적 양성 정동 상태와 연관된 것으로 보여왔고; 단조로운 신호는 의사소통 결핍과 연관되어 왔다. 데이터를 문헌[Burgdorf et al. Dev. Psychobiol 51, 34-46 (2009)]에 맞춰 재분석하였다. 군 당 n= 14-20. * P < .05 피셔 PLSD 사후 시험, 양방 시험.

[0074] 낮은-계통 동물은 동종과 더 적은 사회적 접촉 시간에 관여하였고, 놀이 유발성 친사회적 USV의 더 낮은 비율을 보여주었고, 성숙한 것으로 시험하였을 때 랜덤으로 교배된 동물과 비교하여 단조로운 USV의 증가된 백분율을 나타내었다. 예컨대, 이 실시예는 이 동물 모델이 자폐증의 핵심적인 사회적 및 의사전달 증상을 나타내는 것을 도시한다.

[0075] 실시예 2: 동종의 놀이 유발성 친사회적 USV에 미치는 GLYX-13의 효과

[0076] 도 2A에 나타난 바와 같이, 동종의 놀이 유발성 친사회적 USV(주파수 변조 50 kHz 신호)를 비히클(1 mg/ml 살균 염수 s.c.)로 전처리된 청소년기의 수컷 낮은-계통 래트에서 측정하였다. 도 2B는 피험자내설계를 사용하여 시험 시작 15분 전에 GLYX-13(50 mg/kg s.c.)로 처리한 결과를 보여준다. 단조로웠던(즉, 7 kHz 미만의 대역폭) 동종의 놀이 유발성 USV 전체의 백분율을 도 2C에서 보여준다. n = 군 당 9마리. * P < .05 피셔 PLSD 사후 시험, 양방 시험. GLYX-13은 놀이 유발성 친사회적 USV의 비율을 상당히 증가시켰고 단조로운 USV 전체의 백분율을 상당히 감소시켰다.

[0077] 이 결과는 GLYX-13이 낮은-계통 래트의 사회적/감정적 의사소통 결핍을 회복시킬 수 있다는 것을 나타낸다.

[0078] 실시예 3: 낮은-계통 동물에서의 유전자 발현 변화

[0079] 놀이 유발성 친사회적 발성에 기능적으로 연결되는 것으로 나타났던 두 개의 뇌 영역(내측 전전두엽 피질 및 측 중격핵)에서(문헌[Burgdorf et al., Behav Brain Res 182, 274-283 (2007)]) 문헌[Burgdorf et al., Neuroscience 168, 769-777 (2010)]에 이미 개시된 방법을 사용하여 마이크로어레이(microarray)로 낮은-계통 동물에서의 유전자 발현 변화를 평가하였다.

[0080] 비선택적으로 교배된 성숙한 랜덤-계통 동물과 비교하여 성숙한 낮은-계통 동물에서의 양쪽 뇌 영역 내의 상당히 변화된 유전자의 목록이 도 3a, 3b 및 3c에 나타난다. 인간 자폐증 연관 유전자와 낮은-계통 동물에서 별도로 발현된 유전자 간에는 통계적으로 상당한 겹침이 있다(25 / 1108의 칩셋 바이어스와 비교하여 3.5배 농축을 나타내는 8개의 변화된 자폐증 후보 유전자 / 101개의 총 변화된 유전자; P < .05; 카이 스퀘어 시험(Chi square test), 양방 시험).

[0081] NMDA 수용체를 낮은-계통 동물에서 별도로 발현된 유전자에서의 허브로 식별하였다[NMDA 수용체의 NR2A 서브유닛(subunit)에 대한 3개의 연결과 비교하여 낮은-계통 동물에 별도로 발현되는 유전자 당 평균 연결의 평균 SEM(0.985±0.004); P < .0001 일방 t-시험]. 음성 대조군으로, 자폐증을 모델화하는데 생각되지 않은 사회적 실패를 받았던 래트로부터의 피질 마이크로어레이 데이터를 또한 분석하였고, 자폐증 후보 유전자는 이 유전자

세트에서 상승조절되지 않았고 허브 유전자로 식별된 NMDAR도 아니라는 것을 발견하였다(모든 P는 > .05).

[0082] 유전자 발현 프로파일링을 50-kHz USV의 낮은 비율에 대해 선택적으로 교배된 성숙된 수컷 롱 에반스 래트 및 비선택적으로 교배된 랜덤-계통 대조군의 측중격 및 내측 전전두엽 피질에서 문헌[Burgdorf et al. Neuroscience (2010)]에 기술된 마이크로어레이로 수행하였다. 군 당 n = 6마리. 오류발견률을 5 %로 설정하였다. 낮은-계통 동물은 인간 자폐증 연관 유전자에서 상당한 농축을 보여주었다(2.9배 농축 대 칩셋 바이어스, P < .05).

실시예 4 인간 b-아밀로이드(1-42) 독성에 대한 보호

[0084] NMDA 수용체의 활성화를 재정규화하여, Glyx-13이 생리학적 네트워크 환경에서 감수성 뉴런에 대한 hA β 의 독성에 대해 보호할 수 있는지를 결정하기 위해, 우리는 Glyx-13의 부재 및 상이한 농도의 존재하에서 hA β 의 장기 효과를 비교하였다. 도 4에서 보여지는 바와 같이, hA β 단독의 5 μ g/ml 농도가 세포외 적용 24시간 후에 필드 CA1에서 글루타메이트성 피라미드형 뉴런의 두드러지게 지연된 죽음을 구현하였다. 동일한 농도의 hA β 및 Glyx-13의 혼합물의 적용은, Glyx-13이 신경보호 효력의 U자 모양의 용량-반응 관계를 나타내면서, 최소 1 nM에서 최대 1 μ M의 Glyx-13 농도가 CA1 피라미드형 뉴런의 hA β -유발성 죽음에 대해 상당한 보호를 보여준다는 것을 증명하였다(*, P<0.05, hA β 단독과 비교한 던칸(Duncan) 다중범위 t-시험).

실시예 5 장기 강화(LTP)에서 셀프 측부-CA1 시냅스에서의 hAb-유발성 장애

[0086] LTP는 장기 기억 저장의 중요한 메카니즘인 것으로 생각되기 때문에, hA β 의 급성 시냅스독성 작용이 초기 AD의 특질인 인지저하 및 기억 장애에 대해 굉장한 중요성을 가질 수 있다. 따라서, 중요한 문제는 hA β 또한 hA β 의 이러한 기능적인 시냅스독성 작용을 강화시키는지와 글리신 부위 부분 작용제가 이 독성으로부터 시냅스를 보호할 수 있는지 여부이다.

[0087] 우리는 급성 시험관내(*in vitro*) 래트 해마 절편의 CA1 고막방사상의 셀프 측부 시냅스 필드 내로, Glyx-13, D-시클로세린 또는 완전 작용제 D-세린의 부재 또는 존재하에서 hA β 를 압력 방출하여 30분 뒤에 LTP를 발생시키도록 시도하였다. 도 5A는 hA β 단독이 고주파수 셀프 측부 자극에 의해 유발된 LTP의 크기에서 상당한 감소 (~20 %)를 야기하였다. hA β 를 배스-적용된 Glyx-13(1 μ M, 도 5B, 빈 원)의 존재하에서 압력 방출할 때, LTP를 보통의 대조군 수준으로 회복시켰다. 대조적으로, 글리신 부위 부분 작용제 D-시클로세린(1 μ M, 도 5C, 빈 원)이나 완전 작용제 D-세린(100 μ M, 도 5D, 빈 원)도 hA β 주사 단독(채워진 원)으로 처리된 시냅스와 비교하여 LTP를 구제할 수 없었다. 이 데이터는 Glyx-13이 hA β 의 급성 시냅스독성 효과로부터 시냅스에서의 LTP를 보호하는 강력한 능력을 나타낸다는 것을 보여주어, Glyx-13이 초기 알츠하이머병에서 효과적인 향정신제 및 더 늦은 질병 과정에서는 신경보호제 모두일 수 있다는 것을 제시한다.

실시예 6- 헌팅تون병 모델

[0089] HD 51 CAG 및 WT(야생형) 래트를 헌팅턴병 모델 연구에 사용하여, 일련의 조작역전 과업으로 인지를 시험한다. 래트는 하기 스케줄에 따라 투여된다.

GLYX-13 투여량 스케줄				
유전자형	염수	1mg/kg	5mg/kg	10mg/kg
동형접합체 "HD"	n=7	n=0	n=9	n=3
야생형 "WT"	n=7	n=0	n=6	n=0

[0090] 동물을 습득 실험으로 먼저 평가한다. 습득 실험은, 습물을 30초의 변동 간격 시간 후에 "정답(correct)" 레버 누르기마다 수크로스 음식 펠렛으로 강화시키는 8시간의 시험 기간이다. 이 작업은 동물에게 강화물을 얻기 위해서는 레버가 활성화되어야 할 필요가 있다는 것을 학습하도록 요구한다. "정답" 레버를 식별하는데 걸린 시간뿐 아니라, 습득된 강화물의 수, "정답" 레버 누르기의 퍼센트 및 행한 오류(오답(incorrect) 레버 누르기)를 측정한다. 습득 실험을 임의로(*ad libitum*) 물에 접할 수 있게 하여 수행한다.

[0092] 습득 실험 후에, 동물이 강화를 받기 위해 레버를 15번 누를 때까지(즉, FR15), 하나의 레버 누르기의 증분을 사용하여, 강화의 점진적 고정 비율(FR) 스케줄로 동물을 훈련시키고, 이것은 전형적으로 3일을 소요한다. 모든 훈련 및 시험 세션(session)마다, 이 조작 프로그램이 최대 60분 동안 또는 래트가 최대 200 수크로스 펠렛을 달성할 때까지 실행할 것이고, 이 때가 되면 이것을 캠버에서 바로 제거하고 그것의 집 우리로 돌려놓을 것

이다. MED PC IV 프로그램을 래트의 성과에 따른 작은 증분으로 FR을 증가시키는데 사용한다(즉, 래트는 FR1에서 15개의 강화물을 달성한 후에 FR2로 증가된 FR을 가질 것이다). 성공적인 점진적 FR 훈련 후에, 기준 응답률을 설립하고 동물이 강화물을 얻기 위해 여러번 레버 누르기에 길들여지게 하는 것을 돋기 위해, FR16에 대한 훈련으로 2일간 계속해서 챔버 내로 래트를 넣었다.

[0093] 시험 세션을 25일 또는 30일 동안 점진적인 FR 스케줄을 사용하여 수행한다. 시험의 첫 번째 단계는 9일의 FR로 이루어지고, 왼쪽 레버가 강화를 위한 "정답" 레버이다. 래트는 FR2로 시작해서 그것이 FR512에 도달할 때 까지, 매일 다음의 증가된 FR로 이동한다(각각 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 및 512). 왼쪽 및 오른쪽 레버에 대한 반응률뿐만 아니라 각 측에 대한 레버 누르기의 총 수, 세션 내 각 측에 대해 합쳐진 레버 누르기의 총 수, "정답" 레버 누르기의 폐센트("정답" 레버 누르기/왼쪽 레버 누르기 + 오른쪽 레버 누르기)에 100을 곱해서 백분율을 얻는다), 습득된 총 강화물 및 각 세션을 완료한 시간을 기록한다. 래트는 시험 시작의 두 번째 단계 전에 하루의 휴식이 주어지고, 래트의 무게만 기록한다. 단계 I 동안, HD 및 WT 동물 모두 총 누르기에 비례하게 정답 레버를 누른다.

[0094] 시험의 두 번째 단계는 FR 시험 중 9일로 이루어지고, 이제 오른쪽 레버가 강화를 위한 "정답" 레버가 된다. 시험의 두 번째 단계는 "정답" 레버의 공간 반전을 제외하고는 첫 번째 단계와 동일하다. 동일한 측정치들을 기록한다. 단계 II 동안, 정답 반응 레버를 오른쪽 측으로 전환시킨다. HD 및 WT 동물 모두 총 누르기에 유사하게 비례해서 정답 레버를 누른다. 그러나, HD 동물은 2일차에 오답 레버 누르기가 증가된 보존 오류를 보여 준다.

[0095] 시험의 두 번째 단계의 완료시, 래트는 하루 휴식이 주어진고, 그것의 무게만을 기록하고 의사-랜덤 혼합 스케줄에 진입한다. 의사-랜덤 단계는 "정답"이 의사-랜덤하게 전환되는(예컨대 왼쪽, 왼쪽, 오른쪽, 오른쪽, 왼쪽 및 오른쪽) 6일 동안 FR32(이 동물이 가장 높은 반응률에서 반응할 때)를 수행하는 래트로 이루어진다. 단계 3 동안, GLYX-13을 상기 투여 스케줄을 사용하여, 작업 시작 20분 전에 피하에 투여하였다. GLYX-13이 투여된 WT 및 HD 동물 모두 염수 주사를 맞은 동물보다 더 높은 백분율 경향의 정답 레버 누르기를 보여준다. 도 6 참조.

[0096] 도 6A는 3단계 의사-랜덤 시험 동안, 초 당 레버 누르기의 양으로 측정된, 레버 누르기의 "정답" 비율에서 WT와 HD 래트 간의 상당한 차이가 없음을 드러낸 일련의 일원배치 ANOVA 및 분산의 반복 측정 분석을 나타낸다. 그러나, 분산의 반복 측정 분석은, HD 래트가 더 높은 "오답" 비율을 가지는 것으로, 모든 시험 세션에 걸쳐 "오답" 레버 누르기의 비율에서 WT와 HD 래트 간의 상당한 차이를 드러내었다($p = 0.004$)(도 6B). 일원배치 ANOVA는 각각의 날마다 더 높은 비율을 갖는 HD 래트로 1일차($p = 0.05$), 2일차($p = 0.026$), 4일차($p = 0.013$), 및 5일차($p = 0.018$) 동안 "오답" 비율에 대해 측정될 때, HD와 WT 래트 간의 상당한 차이를 보였다.

[0097] 조작 시험의 결론으로, 래트를 야외 운동 모니터 시스템(킨더 사이언티픽(Kinder Scientific); 포웨이(Poway), 캘리포니아주) 내에 위치시킨다. 이어서 래트를 한 시간 동안의 그것의 약행성 단계 동안 시험하고, 총 이동 거리, 기초 및 미세한 수행 동작, 중심에의 근접, 및 앞다리 들기(즉, 뒷다리로 일어남)의 수를 기록한다. 총 이동 거리는 HD 51 CAG 래트가 야생형 래트에 비해, 임의의 과다- 또는 과소활동을 나타내는지 보여준다. 앞다리를 드는 사건의 총 수는 탐색 행동 및 활동 수준의 추가적인 척도이나, 운동 이상을 검출하는데 또한 도움을 줄 수 있다.

0098 등가물

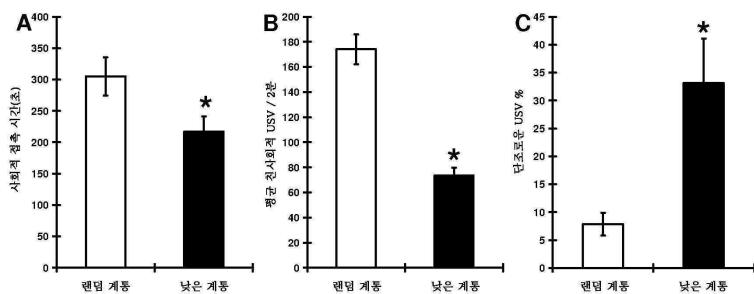
[0099] 당업자는 일상적인 실험만을 이용하여, 본원에 기술된 본 발명의 구체적 실시양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있게 될 것이다. 이러한 등가물은 하기 특허청구범위에 포함되도록 의도된다.

0100 참조 포함

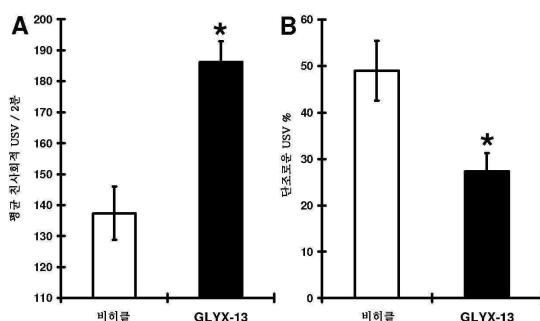
[0101] 본원에 인용된 모든 특허, 공개 특허 출원, 웹사이트 및 다른 참고문헌은 그의 전체 내용이 명백하게 본원에 참조로 포함된다.

도면

도면1



도면2



도면3a

낮은-계통 동물에서의 유전자 발현 변화

유전자 이름	내측 전전두엽 파질 배율 변화	측중격핵 배율 변화	유전자 ID
자폐증 후보 유전자			
ASAT	0.80	1.16	4-아미노부티레이트 아미노트랜스퍼라제
APOE	0.81	1.19	아포리포단백질 E
CHRNA4	0.91	0.89	콜린성 수용체, 니코틴성, 알파 4
GABRA5	0.67	1.18	감마-아미노부티르산(GABA) A 수용체, 알파 5
GPAP	0.89	1.15	신경교원섬유산단백질
GRIN2A	0.86	0.91	글루타메이트 수용체, 이온성, N-메틸 D-아스파테이트 2A
PDYN	0.90	0.92	프로디노르핀
PENK	0.80	1.13	프로엔케팔린 1
글루타메이트 수용체			
GRIA2	0.61	0.66	글루타메이트 수용체, 이온성, AMPA2
GRIA3	0.73	0.77	글루타메이트 수용체, 이온성, AMPA3
GRIA4	0.82	1.27	글루타메이트 수용체, 이온성, AMPA4
GRIN4	0.89	1.11	글루타메이트 수용체, 이온성, 카이네이트 4
GRM1	0.92	1.23	글루타메이트 수용체, 대사성 1
칼륨 풍로			
KCNA4	0.72	1.38	칼륨 전 압작동통로, 쉐이커(shaker)-관련 아파(subfamily), 멤버(member) 4
KCNC2	0.94	1.08	칼륨 전 압작동통로, 쇼(shaw)-관련 아파, 멤버 2
KCND2	0.82	1.22	칼륨 전 압작동통로, 살(shai)-관련 아파, 멤버 2
KCNJ1	0.90	0.82	칼륨 내부 정류 통로, 아파 J, 멤버 1
KCNK3	0.92	1.07	칼륨 통로, 아파 K, 멤버 3
KCNMA1	1.09	1.17	칼륨 고전도도 칼슘 활성화 통로, 아파 M, 알파 멤버 1
인슐린 유사 성장 인자 관련 유전자			
IGF1	1.10	1.10	인슐린-유사 성장 인자 1
IGF2	0.83	1.06	인슐린-유사 성장 인자 2
IGFBP1	1.27	1.10	인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질 1
IGFBP3	1.13	0.89	인슐린-유사 성장 인자 결합 단백질 3

도면3b

인 단백질

ATP2A2	0.87	0.92	ATP아제, Ca++ 수송, 심장 근육, 적색근 2
ATP2B1	0.90	1.08	ATP아제, Ca++ 수송, 형질막 1
C3	1.19	1.13	보체 성분 3
CACNA1C	0.87	1.18	칼슘 통로, 전암 의존성, L형, 알파 1C 서브유닛
CALM1	0.90	0.78	칼모들린 위유전자(pseudogene) 2; 칼모들린 3; 칼모들린 2; 칼모들린 1
CASP3	1.11	1.14	카스파제 3, 아폽토시스 관련 시스테인 프로테아제
CKB	0.77	0.89	크레아틴 키나제, 베타
CNP	0.92	1.11	2',3'-시클릭 뉴클레오티드 3' 포스포디에스테라제
DLGAP4	0.99	0.93	디스크형, 큰 동족형 연관 단백질 4(초파리)
FAS	0.93	0.92	Fas(TNF 수용체 아파, 멤버 6)
FYN	0.86	1.09	SRC, FGR, YES와 관련된 FYN 종양유전자
GABRA4	0.89	1.09	감마-아미노부티르산(GABA) A 수용체, 알파 4
GAP43	0.85	0.85	성장 연관 단백질 43
GNAS	0.72	0.86	GNAS 복합부위
H3F3B	1.23	1.20	H3 히스톤과 유사, 과(family) 3B
HES1	1.35	1.09	스플릿 1의 모발 및 인핸서(hairy and enhancer of split 1)(초파리)
HK2	1.19	1.18	헥소키나제 2
HMBP1	1.33	1.19	히드록시메틸릴란 합성효소
HSPB1	1.16	1.08	열 충격 단백질 1
ID1	1.34	0.86	DNA 결합 억제제 1
ITGB7	1.09	1.07	인테그린, 베타 7

ITPR1	0.84	0.82	이니스톨 1,4,5-트리인산 수용체, 타입 1
LMM61	1.52	1.13	라민 B1
mmp2	0.72	0.86	미세소판 연관 단백질 2
MAPK3	1.08	1.13	미토콘 활성화 단백질 키나제 3
MPR	0.86	0.80	수초 영기성 단백질
MIF	1.11	0.91	대식세포 이동저해인자
MP2	1.16	0.91	수초단백질 제로
NQO2	1.08	0.92	산화질소 합성효소 2, 유도성
NR4A1	1.16	1.13	액 수용체 아파 4, 그룹 A, 멤버 1
NTRK2	0.81	1.23	항신경 티로신 키나제, 수용체, 타입 2
NTRK3	0.86	0.86	항신경 티로신 키나제, 수용체, 타입 3
P2RX7	0.92	1.39	平民성 수용체 P2X, 리간드판문 이온 통로, 7
PDGFRA	0.95	0.95	헬스판유래 성장 인자 수용체, 알파 폴리펩ти드
PLCB1	0.88	1.11	포스포리파제 C, 베타 1(포스포이노시타이드-특이적)
PPAF2B	0.83	0.88	포스포티드산 인산분해효소 타입 2B
PRKCB	0.73	0.80	단백질 키나제 C, 베타
SCNN1G	0.85	0.88	나트륨 통로, 비전압 작동 1 감마
SLC6A17	1.08	0.92	용질 담체과 6(신경전달물질 전달체), 멤버 17
SMN1	1.10	1.07	생존 운동 뉴런 1
SNAP25	0.82	0.83	시냅토솜 연관 단백질 25
ST13	1.18	1.12	종양형성 13의 억제와 유사; 종양형성 13의 억제
STAT3	1.12	1.14	전사 3의 신호변환기 및 활성자
STX12	0.95	0.85	신탁신(syntaxin) 12
STX1B	0.85	1.09	신탁신 1B
SYNE1	0.71	0.74	스펙트린 반복 함유, 핵막 1
SYT8	0.90	1.15	시냅토태그민 IX
VIM	1.24	1.45	비멘틴(vimentin)

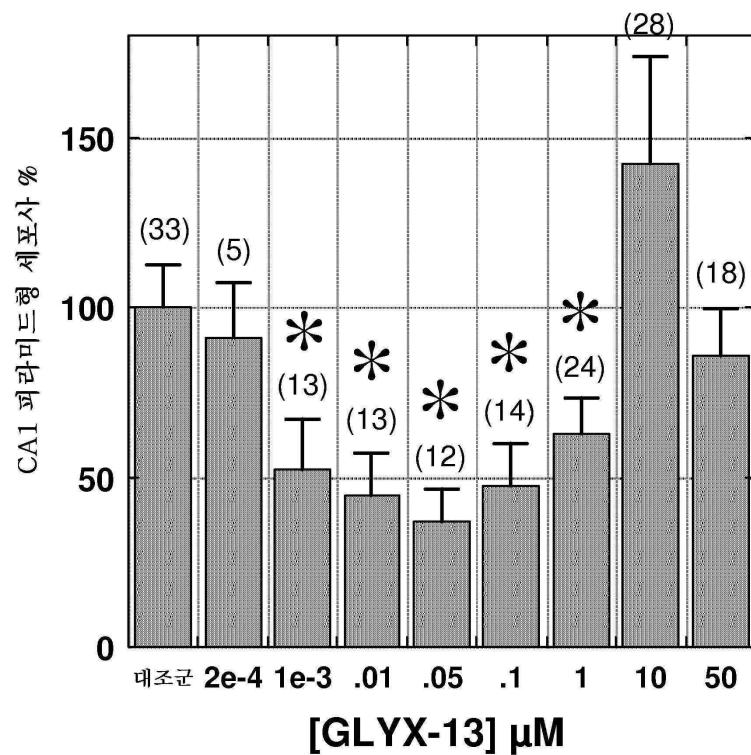
\

도면3c

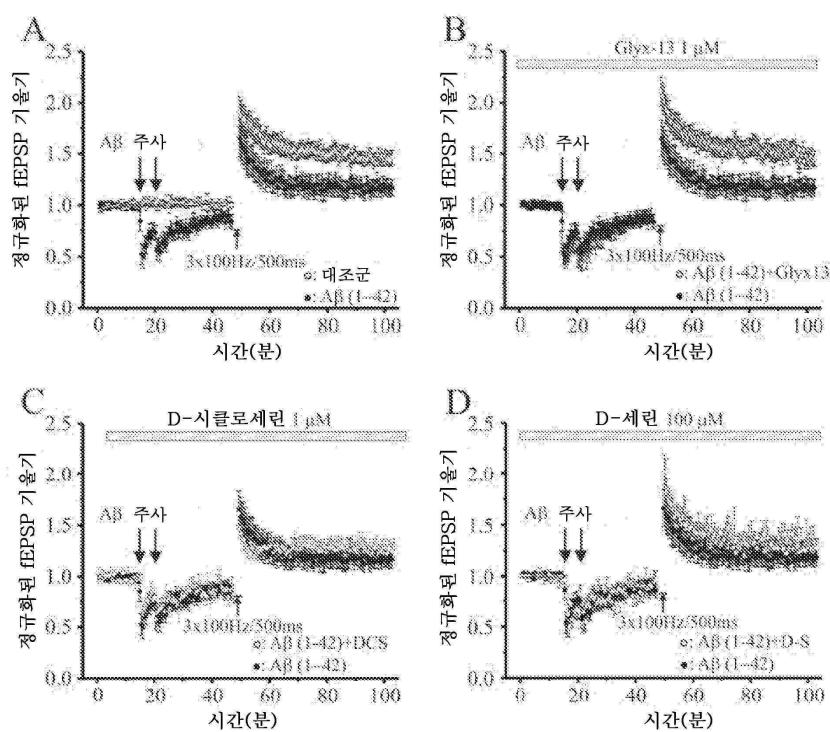
기타

ATP1B3	1.13	1.07	ATP아제, Na+/K+ 수송, 베타 3 폴리펩티드
BSM	1.18	1.11	베타-2 마이크로글로불린
EMP1	1.10	0.87	골형성단백질 1
CALB1	0.98	0.88	칼빈딘 1
CALB2	0.78	1.11	칼빈딘 2
CALCB	1.22	0.84	칼시토닌 관련 폴리펩티드, 베타
CASPI	1.15	0.83	카스파제 1
CD48	1.23	1.12	Cd 48 분자
CITED2	1.12	1.11	Cbp/p300-상호작용 전사활성자, Glu/Asp-풍부 카르복시 말단 도메인이 있음, 2
CPE	0.84	0.79	카르복시펩티드분해효소 E
GABRD	0.74	1.14	감마-아미노부티르산(GABA) A 수용체, 베타
GFRα2	0.93	0.91	GDNF과 수용체 알파 2
GLRA1	0.86	1.09	글리신 수용체, 알파 1
GNAA1	0.84	0.93	구아닌 뉴클레오티드 결합 단백질(G 단백질), 알파 활성화 활성 폴리펩티드 O
HK3	1.35	1.13	헥소키나제 3(백혈구)
HPTRT1	1.14	1.11	하이포장된 포스포리보실트랜스페라제 1
LTP4	1.24	1.15	비특이적 지질 전달 단백질 4
MGRBT2	1.18	0.82	만노실(알파-1,6-)글리코단백질 베타-1,2-N-아세틸글루코스아밀트랜스페라제
NCAN	0.82	1.14	뉴로칸
PDYN	0.93	0.92	프로디노르핀
Perk	0.89	1.13	프로 엔케팔린 1
PLP1	0.79	0.72	단백질지질 단백질 1
POU5F8	0.99	1.24	POU강(class) 3 호메오박스 3
PTN	0.91	1.11	플레이오토로핀
RHEB	0.94	0.93	뇌에 강화된 Ras 동족체
SERPN1	1.20	1.08	세린(또는 시스테인) 펩티드분해효소 억제제, 계통군(clade) E, 멤버 1
SLC22A1	0.83	1.16	용질 담체과 32(GABA 소포수송체), 멤버 1
SST	0.82	0.89	소마토스탈린
STX5	1.12	1.09	신탁신 5
THR8	0.94	0.91	감상생 호르몬 수용체 베타
VCAM1	0.90	0.93	혈관세포 부착 분자 1
WNT4	1.14	0.85	무시형(wingless-type) MMTV 통합 부위과, 멤버 4

도면4



도면5



도면6

