



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0020726
(43) 공개일자 2020년02월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/42 (2006.01) A61K 31/55 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01) A61P 25/24 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/42 (2013.01)
A61K 31/135 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7038205
- (22) 출원일자(국제) 2018년05월24일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2019년12월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/IL2018/050567
- (87) 국제공개번호 WO 2018/216018
국제공개일자 2018년11월29일
- (30) 우선권주장
62/510,801 2017년05월25일 미국(US)
62/518,020 2017년06월12일 미국(US)

- (71) 출원인
글리테크 엘엘씨.
미국 뉴저지 07024 에프티. 리 스위트 1803 파크
에비뉴 800
- (72) 발명자
자비트, 다니엘 씨.
이스라엘 9318711 예루살렘 여호수아 빈 넌 스트
리트 34
- (74) 대리인
특허법인 무한

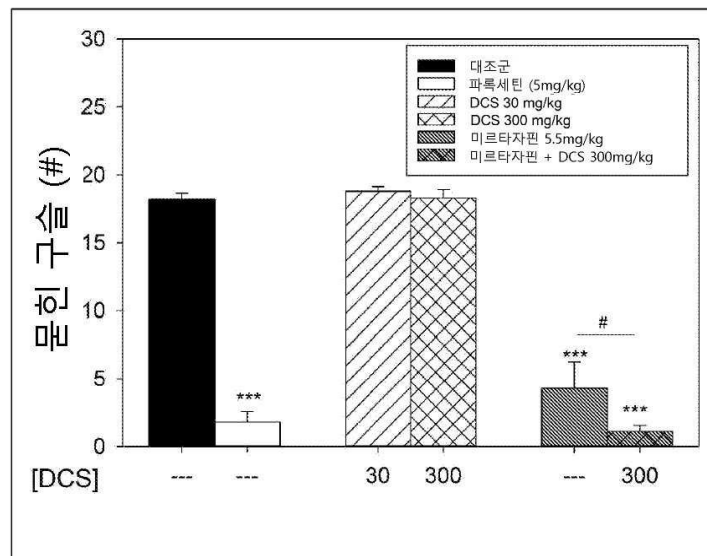
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 외상 후 스트레스 장애의 치료를 위한 제제

(57) 요약

외상 후 스트레스 장애의 증상을 감소시키기 위한 조성물이 본원에서 제시된다. 상기 조성물은 N-메틸-D-아스파르테이트(N-methyl-D-aspartate, NMDA) 수용체 길항제와 항-우울증 제제의 병용물을 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 31/4025 (2013.01)
A61K 31/405 (2013.01)
A61K 31/4525 (2013.01)
A61K 31/55 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 25/00 (2018.01)
A61P 25/18 (2018.01)
A61P 25/24 (2018.01)
A61K 2300/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

외상 후 스트레스 장애(post-traumatic stress disorder, PTSD) 또는 이의 증상의 치료에 이용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물은 NMDAR의 글리신 부위(glycine site)의 길항제의 치료학적 유효량을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 2

PTSD 또는 이의 증상의 치료에 이용하기 위한 조성물로서, 상기 조성물은, NMDAR의 글리신 부위의 길항제; 및 항-우울증 제제 또는 항-정신병 제제(anti-psychosis agent)를 포함하는 것인, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 NMDAR의 글리신 부위의 길항제는 NMDAR의 경쟁적 길항제인 것인, 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 NMDAR의 글리신 부위의 길항제는 글리신, 글루타메이트 또는 산화 환원(redox)/폴리아민(polyamine) 인식 부위에서 길항제인 것인, 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 NMDAR의 글리신 부위의 길항제는 특정한 서브유닛인 NR2A 또는 NR2B를 함유하는 NMDAR에서 비-선택적 길항제 또는 선택적 길항제인 것인, 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 NMDAR의 글리신 부위의 길항제는 500 mg/d 이상 내지 1000 mg/d 이하의 투여량으로 투여되고, 25 마이크로그램(μg)/mL을 초과하는 혈액 수준을 생성하도록 제형화되는 D-사이클로세린(D-cycloserine)인 것인, 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 NMDAR의 글리신 부위의 길항제는 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 초과하는 혈장 농도를 생성하도록 제형화된 가베스티넬

(gavestinel), 라파스티넬(rapastinel), 및 D-사이클로세린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 8

제2항에 있어서,

상기 항-우울증 제제는 테트라사이클린 항-우울제(tetracyclic antidepressant, TeCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI), 세로토닌/노르에피네프린 재흡수 억제제(serotonin/norepinephrine reuptake inhibitor, SNRI), 노르아드레날린성 특정 세로토닌 제제(Noradrenaline and specific serotonin agent, NaSSa), 비정형 항-우울제(atypical antidepressant), 5-HT2A 길항제 및 이들의 병용물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 9

제2항에 있어서,

상기 항-우울증 제제 또는 항-정신병 제제는 설트랄린(sertraline), 파록세틴(paroxetine), 및 쿠에티아핀(quetiapine)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 10

제2항에 있어서,

상기 항-우울증 제제는 이미프라민(imipramine), 아미트립틸린(amitryptiline), 아목사핀(amoxapine), 부프로피온(bupropion), 시탈로프람(citalopram), 클로미프라민(clomipramine), 데시프라민(desipramine), 데스벤라팍신(desvenlafaxine), 둘록세틴(duoxetine), 에스시탈로프람(escitalopram), 플루옥세틴(floxetine), 플루복사민(flvoxamine), 레보밀나시프란(levomilnacipran), 마프로틸린(maprotiline), 미안세린(mianserin), 밀나시프란(milnacipran), 미르타자핀(mirtazapine), 네파조돈(nefazodone), 파록세틴, 설트랄린, 세티프틸린(setiptiline), 트라조돈(trazodone), 벤라팍신(venlafaxine), 벤라팍신 XR(venlafaxine XR), 다폭세틴(dapoxetine), 인달핀(indalpine), 빌라조돈(vilazodone) 및 보티옥세틴(vortioxetine)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 11

제2항에 있어서,

상기 항-우울증 제제는 S-(+)-미르타자핀, R-(-)-미르타자핀, 및 이들의 라세미 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 12

제2항에 있어서,

상기 항-우울증 제제 또는 항-정신병 제제는 선택적 5-HT2A 수용체 길항제 또는 역-작용제(inverse agonist)인 것인, 조성물.

청구항 13

제2항에 있어서,

상기 항-우울증 제제 또는 항-정신병 제제는 볼리난세린(volinanserine) (MDL100,907, 또한 M100907로 공지됨),

프루반세린(pruvanserin) (EMD281014), 에플리반세린(eplivanserin) (SR-46349, 시트라이리(Citryri)), CYR-101 및 피마반세린(pimavanserin) (ACP-103)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 14

제2항에 있어서,

상기 항-우울증 제제 또는 항-정신병 제제는 아고멜라틴(agomelatine), Lu AA21004, F2695, SEP-227162, LuAA24530, SEP-225289, 에플리반세린, SR46349, LY12624803, HY10275, TIK-301/LY156735, 로나센(Lonasen), LU-31-130, SLV313, 에디복세틴(Edivoxetine), OPC-34712, 리스텍스암페타민(lisdexamfetamine), 사코멜린(sacomeline), 클로우라세탐(clouracetam), BMS-82036 및 M100907로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 조성물.

청구항 15

제2항에 있어서,

상기 NMDAR의 글리신 부위의 길항제 및 항-우울증 제제의 투여 전에, 대상체에 케타민(ketamine)을 비-경구적으로 투여하는 것을 더 포함하는 것인, 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 케타민은 정맥내로, 비강내로 또는 피하로 투여되는 것인, 조성물.

청구항 17

제15항에 있어서,

상기 케타민은 특정한 거울상 이성질체인 S-케타민 또는 R-케타민인 것인, 조성물.

청구항 18

D-사이클로세린의 순-길항제 유효량(net antagonist effective amount); 및

S-(+)-미르타자핀, R-(-)-미르타자핀, 또는 이들의 라세미 혼합물;을 포함하는 약제학적 조성물로서,

상기 D-사이클로세린의 순-길항제 유효량은 500 mg/d 이상 내지 1000 mg/d 이하의 투여량이고, 25 마이크로그램(μg)/mL을 초과하는 혈액 수준을 생성하도록 제형화되는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서,

상기 D-사이클로세린의 순-길항제 유효량은 10 mg/kg 이상의 투여량인 것인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

관련출원의 상호참조

[0001]

[0002] 본 출원은 2017년 5월 25일자 미국 가출원 제62/510,801호 및 2017년 6월 12일자 미국 가출원 제62/518,020호를 우선권으로 주장한다. 상기 두 가출원의 전체내용이 본원에 참고로 포함된다.

[0003] **기술분야**

[0004] 외상 후 스트레스 장애 (post-traumatic stress disorder, PTSD)의 증상을 감소시키기 위한 N-메틸-D-아스파르테이트 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 수용체 길항제 및 항-우울증 제제의 병용물을 포함하는 조성물이 본원에서 제시된다. 또한, 상기 기재된 조성물을 이용하는 PTSD 치료방법이 기재된다.

배경 기술

[0005] 외상 후 스트레스 장애 (PTSD)는 참전용사(combat veteran)의 10-60%를 포함하여, 전 세계적으로 개체의 1-15%에 영향을 끼치는 중증 신경정신 장애(severe neuropsychiatric disorder)이다. PTSD의 진단은 American Psychiatric Association에 의해 출판된 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-fifth edition (DSM-5)와 같은 당해분야의 표준 교재(standard textbook)에 기재된 기준을 이용하여 결정될 수 있다.

[0006] PTSD는 죽음, 죽음의 위협, 실제 심각한 부상 또는 심각한 부상의 위협, 또는 실제 성폭행 또는 성폭행의 위협을 비롯한 중증의 스트레스를 유도하는 것으로 알려진 상황에 노출된 후에 작용하는 어려움과 함께, 특징적이고 지속적인 증상의 발달로서 정의된다. 스트레스가 많은 상황을 직접적으로 또는 간접적으로 경험할 수 있다.

[0007] 특징적이고 지속적인 증상은 재-경험 증상(re-experiencing symptom), 회피 증상(avoidance symptom), 및 증가된 각성(increased arousal)을 포함한다. 이들은 무엇보다도 Alexander, "Pharmacotherapy for Post-traumatic Stress Disorder In Combat Veterans: Focus on Antidepressants and Atypical Antipsychotic Agents," *P T*. 37(1):32-8, 2012 PMC3278188에 기재되어 있다. PTSD의 증상은 임상가 용 PTSD 척도 (Clinician administered PTSD scale, CAPS)의 버전들과 같은 표준화된 척도를 이용하여 평가될 수 있다. 이들 척도는 반응과 완화(remission)에 대한 기준의 결정에 이용될 수 있다.

[0008] PTSD는 급성 vs 만성 하위유형으로 구분될 수 있다. 대체로, 3개월 미만 지속되는 증상은 급성인 것으로 고려되는 반면에, 3개월을 초과하여 지속되는 증상은 만성인 것으로 고려된다.

[0009] 또한, PTSD의 증상은 재-경험, 능동적 회피(active avoidance), 정서적 무감각(emotional numbing), 불쾌 각성(dysphoric arousal) 및 불안 각성(anxious arousal)으로 카테고리화될 수 있다. 재-경험은 긍정적 사건(positive event)과 부정적 사건(negative event) 모두를 의미할 수 있다. 또한, 양성 해리(positive dissociation)와 음성 해리(negative dissociation)가 모두 발생할 수 있다.

[0010] 또한, PTSD의 증상은 사건 충격척도-수정판(Impact of Event Scale-Revised)과 같은 척도를 이용하여 침습(intrusion), 회피 및 과다각성(hyperarousal) 카테고리리로 카테고리화될 수 있다. 또한, PTSD 증상의 다른 하위 구분들이 제안될 수 있다.

[0011] PTSD 증상의 중증도의 차이가 개체들 전반에 걸쳐 관찰될 수 있다. 이들 증상 유형은 특정한 유형의 약리학적 개입(pharmacological intervention) 또는 행동 개입(behavioral intervention)에 대해서 차등적으로 반응할 수 있다.

[0012] 상기 기재된 증상에 더하여, 자살률(rates of suicide)이 PTSD를 앓고 있는 개체들 사이에서 증가된다. 마찬가지로, 주요 우울증(major depression)의 비율이 PTSD를 앓고 있는 개체들 사이에서 유의하게 상승된다.

[0013] PTSD로 진단된 개체들 사이에서, 자살 시도의 생애 위험(lifetime risk)은 25% 높을 수 있다. 자살하는 것에 대한 가능성(Likelihood)가 콜롬비아 대학 자살 심각성 평가 척도(Columbia Suicide Severity Rating Scale)와 같은 표준 수단을 이용하여 평가될 수 있다. 별도의 평가가 자살 관념(suicidal ideation) 및 자살 행동(suicidal behavior)에 대해서 획득될 수 있다.

[0014] 주요 우울증(Major depression)은 지속적인 슬픈 기분 또는 활동에 대한 흥미 상실을 포함하는 임상 증후군(clinical syndrome)으로, 치료 없이 적어도 2주 동안 지속된다. 주요 우울증의 증상은 전형적으로, 해밀턴 우울증 평가척도(Hamilton Depression Rating Scale, HAM-D), 몽고메리 아스버그 우울증 평가척도(Montgomery Asberg Depression Rating Scale, MADRS) 또는 벡 우울 척도(Beck Depression Inventory, BDI)와 같은 평가척도(rating scale)를 이용하여 측정된다. 우울한 기분에 관한 증상을 포함하는 것에 더하여, HAM-D는 또한, 죄책감(guilt), 이인증(depersionalization)/비현실감(derealization) 및 편집증(paranoia)에 대한 문항(item)을 포함하며, 정신병(psychosis)에 민감한 증상을 함유한다. 우울증은 강제 수영 테스트(forced swim test)와 같

은 동물 모델에서 연구될 수 있다.

- [0015] PTSD의 증상은 재-경험, 회피 및 각성 증상의 설치류 검정을 이용하여 모델링될 수 있다. 한 효과적인 모델은 위스타-교토 조건화된 공포 모델[Wistar-Kyoto (WKY) conditioned fear model]이다 (예, Laitman 외, "The alpha1 adrenoceptor antagonist prazosin enhances sleep continuity in fear-conditioned Wistar-Kyoto rats," *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 49:7-15. 2014, PMC3969852).
- [0016] PTSD의 치료를 위해, 임상가들은 현재, 우울증 및/또는 정신병의 치료에서 또한 이용되는 하나 이상의 제제를 활용한다. 이러한 약제학적 제제는 설투랄린(sertraline), 파록세틴(paroxetine), 벤라팍신(venlafaxine), 및 쿠에티아핀(quetiapine)을 비롯한, 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI), 세로토닌/노르에피네프린 재흡수 억제제(serotonin/norepinephrine, SNRI), 및 비정형 항-정신병제(atypical antipsychotic)를 포함한다. 테트라사이클린 항-우울제(tetracyclic antidepressant)인 미르타자핀(mirtazapine)은 SSRI와 SNRI에 대한 보조제(adjunctive agent)로서 효과적인 것으로 나타났다.
- [0017] 그럼에도, 이러한 제제는 대부분의 개체들에서 단지 부분적으로 효과적이고, 완전한 증상 완화를 초래하지 않는다. 마찬가지로, NMDAR 길항제인 케타민(ketamine)은 단일 정맥내 투약(single intravenous dosing) 후에, PTSD의 몇몇 측면들에서 개선을 초래하는 것으로 보고된다. 그러나, 이의 유용성은 정신병유사 효과(psychotomimetic effect) 및 반복된 투여 동안의 신경독성에 의해 제한된다. 케타민의 효과는 SSRI, SNRI, 비정형 항-정신제 또는 기타 치료학적 약제와 병용되어 테스트되지 않았다. 따라서, PTSD에 대한 치료 개발의 지속적인 필요성이 존재한다.

발명의 내용

- [0018] 어떤 양태에서 항-우울증 제제 또는 항-정신병 제제와 병용된 NMDAR 길항제를 함유하는 제형, 및 PTSD 및 PTSD 증상의 치료에서 이러한 제제를 이용하는 방법이 본원에서 기재된다.
- [0019] 특정 양태에서, 상기 NMDAR 길항제는 NMDAR의 경쟁적 길항제로부터 비롯될 수 있다. 다른 양태에서, 상기 NMDAR 길항제는 글리신, 글루타메이트 또는 산화환원/폴리아민 인식 부위에서 길항제로 작용하는 제제로부터 비롯될 수 있다. 또 다른 양태에서, 상기 NMDAR 길항제는 NR2A 또는 NR2B 서브유닛과 같은 특정한 서브유닛을 함유하는 NMDAR에서 비-선택적 길항제 또는 선택적 길항제일 수 있다.
- [0020] 한 양태에서, 본원에 기재된 것은 2개의 치료학적 제제로 본질적으로 이루어진 경구 투여 요법이고, 이들 2개의 활성 구성성분 중 제1 활성 구성성분은 NMDAR 길항제이고, 제2 활성 구성성분은 항-우울제 또는 비정형 항-정신병 제제이다.
- [0021] 다른 양태에서, 제1 치료제는 500 mg/d 이상 내지 1000 mg/d 이하의 투여량으로 투여되고, 25 마이크로그램(μ g)/mL를 초과하는 혈액 수준을 생성하도록 제형화된 D-사이클로세린으로 이루어진다. 이러한 D-사이클로세린의 순-길항제 투여량은 어떤 양태에서, 10 mg/kg 이상의 투여량을 포함하고, 더욱 바람직하게는, 상기 D-사이클로세린은 7.5-12.5 mg/kg/일(day)의 용량으로 투여된다.
- [0022] 몇몇 양태에서, NMDAR의 글리신 부위의 길항제는 25 μ g/mL를 초과하는 혈장 농도를 생성하도록 제형화된 가베스티넬(gavestinel), 라파스티넬(rapastinel)(GlyX-13), 에피모스티넬(apimostinel)(NRX-1074), AV-101, Cerc-301 및 D-사이클로세린을 포함하는 리스트로부터 비롯된다.
- [0023] 몇몇 양태에서, 상기 제1 치료제는 NMDAR의 경쟁적 길항제이다. 몇몇 양태에서, 상기 제1 치료제는 가베스티넬, D-CPPene, 케타민, 텍스트로메토르판(dextromethorphan), CNS-1102, AZD6765, 또는 CGS-19755를 포함하는 리스트로부터 비롯된다.
- [0024] 몇몇 양태에서, 상기 제2 치료제는 테트라사이클린 항-우울제(TeCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(SSRI), 세로토닌/노르에피네프린 재흡수 억제제(SNRI), 노르아드레날린성 특정 세로토닌 제제(NaSSa), 비정형 항-우울제, 5-HT2A 길항제 또는 이들의 병용물을 포함한다.
- [0025] 몇몇 양태에서, 상기 제2 치료제는 설투랄린, 파록세틴 또는 쿠에티아핀을 포함하는 리스트로부터 비롯된다.
- [0026] 몇몇 양태에서, 상기 항-우울제는 이미프라민(imipramine), 아미트립틸린(amitriptyline), 아목사핀(amoxapine), 부프로피온(bupropion), 시탈로프람(citalopram), 클로미프라민(clomipramine), 데시프라민(desipramine), 데스벤라팍신(desvenlafaxine), 둘록세틴(duloxetine), 에스시탈로프람(escitalopram), 플루옥세틴(flouxetine), 플루복사민(flvoxamine), 레보밀나시프란(levomilnacipran), 마프로틸린(maprotiline), 미

안세린(mianserin), 밀나시프란(milnacipran), 레보밀나시프란(levomilnacipran), 미르타자핀(mirtazapine), 네파조돈(nefazodone), 파록세틴, 설트랄린, 세티프틸린(setiptiline), 트라조돈(trazodone), 벤라팍신(venlafaxine), 벤라팍신 XR(venlafaxine XR), 다폭세틴(dapoxetine), 인달핀(indalpine), 빌라조돈(vilazodone) 및 보티옥세틴(vortioxetine)을 포함하는 리스트로부터 비롯된다.

[0027] 몇몇 양태에서, 상기 항-우울증 제제는 S-(+)-미르타자핀 또는 R-(-)-미르타자핀을 포함하는 리스트로부터 비롯된다.

[0028] 특정 양태에서, 제2 제제는 선택적 5-HT_{2A} 수용체 길항제 또는 역-작용제이다.

[0029] 몇몇 양태에서, 상기 제2 제제는 볼리난세린(volinanserine) (MDL100,907, 또한 M100907로 공지됨), 프루반세린(pruvanserine) (EMD281014), 에플리반세린(eplivanserine) [SR-46349, 시트라이리(Citryri)], CYR-101 및 피마반세린 (ACP-103)을 포함하는 리스트로부터 비롯된다.

[0030] 몇몇 양태에서, 상기 제2 치료제는 아고멜라틴(agomelatine), Lu AA21004, F2695, SEP-227162, LuAA24530, SEP-225289, 에플리반세린, SR46349, LY12624803, HY10275, TIK-301/LY156735, 로나센(Lonasen), LU-31-130, SLV313, 에디복세틴(Edivoxetine), OPC-34712, 리스텍스암페타민(lisdexamfetamine), 사코멜린(sacomeline), 클로우라세탐(clouracetam), BMS-82036 및 M100907을 포함하는 리스트로부터 비롯된다.

[0031] 몇몇 양태에서, 정맥내 투여, 비강내 투여 또는 피하 투여와 같은 비-경구 케타민 투여를 이용한 초기 치료 후에, NMDAR 길항제와 항-우울제 약제의 병용물이 투여된다. 몇몇 양태에서, 특정한 거울상 이성질체인 S-케타민 또는 R-케타민이 초기 치료에 이용된다.

[0032] 또한, D-사이클로세린의 순-길항제 유효량; 및 R-(-)-미르타자핀을 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 기재되고, 상기 D-사이클로세린의 순-길항제 유효량은 500 mg/d 이상 내지 1000 mg/d 이하의 투여량이고, 25 마이크로그램 (µg)/mL를 초과하는 혈액 수준을 생성하도록 제형화되며, 특정 양태에서, 10 mg/kg 이상의 투여량으로 제공되는 D-사이클로세린이고, 더욱 바람직하게는, 상기 D-사이클로세린은 7.5-12.5 mg/kg/일의 용량으로 투여된다.

[0033] 상기 기재된 및 기타 목적, 특징, 및 이점들이 아래의 상세한 설명으로부터 더욱 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0034] **도 1**은 구슬 묻기(marble burying)에 대한 DCS와 미르타자핀(mirtazapine)의 상승적 효과를 나타낸다. ***p<0.001 vs. 비히클. #p<0.05 미르타자핀 + DCS 300 mg/kg vs. 미르타자핀 단독. 10마리의 마우스에 비히클(대조군); 파록세틴(Paroxetine)(5 mg/kg); 미르타자핀 (5.5 mg/kg); D-사이클로세린 (30 mg/kg); D-사이클로세린 (300 mg/kg); 또는 D-사이클로세린 (300 mg/kg) + (미르타자핀 5.5 mg/kg); 중 하나를 테스트 30분 전에 IP 투여했다. 테스트 동안 이동한 거리를 카메라로 촬영했고, Video Tracker 소프트웨어를 이용하여 정량했다 (프랑스 소재, ViewPoint Life Sciences Software). 테스트의 말에서, 마우스를 케이지로부터 꺼내, 묻히지 않은 구슬의 수를 계수했다. 구슬의 적어도 2/3이 깔짚 bedding)으로 덮인 경우에, 이 구슬을 묻힌 것으로 고려했다. p < 0.05인 경우에, 효과를 유의한 것으로 고려했다.

도 2는 구슬 묻기에 대한 미르타자핀의 R-이성질체 및 S-이성질체의 상대적인 효과를 나타내며, S-이성질체에 대한 (vs) R-이성질체의 더 큰 효과를 나타낸다. ***p<0.001 vs. 라세미 미르타자핀. 10마리의 마우스에 비히클(대조군); 파록세틴(5 mg/kg); S-미르타자핀 (1, 2.5, 5.0, 및 10 mg/kg); R-미르타자핀 (1, 2.5, 5.0, 및 10 mg/kg); R-미르타자핀 (2.5mg/kg)+ D-사이클로세린 (300 mg/kg); 중 하나를 테스트 30분 전에 IP 투여했다. 테스트 동안 이동한 거리를 카메라로 촬영했고, Video Tracker 소프트웨어(프랑스 소재, ViewPoint Life Sciences Software)를 이용하여 정량했다. 테스트의 말에서, 마우스를 케이지로부터 꺼내, 묻히지 않은 구슬의 수를 계수했다. 구슬의 적어도 2/3이 깔짚 bedding)으로 덮인 경우에, 이 구슬을 묻힌 것으로 고려했다. p < 0.05인 경우에, 효과를 유의한 것으로 고려했다.

도 3은 설치류에서 DCS의 약동학을 나타낸다. 8마리의 마우스를 IP 투여에 의한 30, 100, 300, 500 및 1000 mg/kg의 DCS로 처리하여, 용량이 생성하는 것을 측정하고, 25 마이크로그램/mL을 초과하는 DCS 혈장 수준을 초래한다. 그래프 상에 도시된 것은 혈장 (± sem) DCS 수준 vs. 용량이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] **I. 용어**

[0036] 달리 설명되지 않는 한, 본원에서 이용된 모든 기술적 용어 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 문맥이 분명하게 달리 나타내지 않는 한, 단수형 용어인 "부정관사 (a, an)" 및 "정관사 (the)"는 복수의 지시대상들을 포함한다. 마찬가지로, 문맥이 분명하게 달리 나타내지 않는 한, 단어 "또는"은 "및"을 포함하도록 의도된다. 핵산 또는 폴리펩티드에 대해서 제공된 모든 염기 크기 또는 아미노산 크기, 및 모든 분자 질량(molecular weight) 또는 분자량(molecular mass)의 값은 근사치이고, 설명을 위해 제공된다는 것이 추가로 이해될 것이다. 본원에 기재된 방법 및 물질과 유사하거나 또는 등가인 방법 및 물질이 본 개시내용의 실행 또는 테스트에서 이용될 수 있으나, 적합한 방법 및 물질이 아래에서 기재된다. 용어 "포함하다(comprise)"는 "포함하다(include)"를 의미한다. "- 로 본질적으로 이루어진(Consisting essentially of -)"은 활성 성분 또는 필수 성분으로서 열거된 특정만 포함하는 조성물, 방법, 또는 과정을 나타내며, 비-활성 성분을 추가로 포함할 수 있다. 약칭 "예 (e.g.)"는 라틴어 "exempli gratia"로부터 비롯되었고, 본원에서 비-제한적 예시를 나타내는 데 이용된다. 따라서, 약칭 "예"는 "예를 들어(for example)"와 동의어이다.

[0037] 충돌하는 경우에, 용어의 설명을 포함하는 본 명세서가 우위에 있을 것이다. 또한, 모든 물질, 방법, 및 예시는 예시적인 것이고, 제한적인 것으로 의도되지 않는다.

[0038] 본원에서 이용된, 본원에서 언급된 치료제의 "유효"량 또는 "치료학적 유효량"에 대한 언급, 이는 목적하는 효과를 제공하는 비-독성이지만, 충분한 양을 의미한다. 본 발명의 병용 치료에서, 병용물의 한 구성성분의 "유효량"은 병용물의 다른 구성성분들과 병용되어 이용되는 경우에, 목적하는 효과를 제공하기에 효과적인 화합물의 양이다. 개체의 나이 및 일반적인 조건, 특정한 활성 제제 또는 활성 제제들 등에 따라서, "효과적인" 양은 대상체 마다 달라질 것이다. 그러므로, 정확한 "유효량"을 명시하는 것이 항상 가능한 것은 아니다. 그러나, 임의의 개별적인 경우에서 대략적인 "유효"량은 통상의 기술자에 의해, 통상적인 실험을 이용하여 결정될 수 있다.

[0039] 본원에서 이용된 용어 "치료하는 것" 및 "치료"는 증상의 중증도 및/또는 빈도의 감소; 증상 및/또는 이들의 근본적인 원인의 제거; 증상 및/또는 이들의 근본적 원인의 발생의 예방; 및 손상의 개선 또는 복원 (remediation);을 의미한다. 따라서, 예를 들어, 환자를 "치료하는 것"은 감수성 개체 및 임상적인 증상 개체 (clinically symptomatic individual)의 치료에서 특정한 질환 또는 유해한 생리학적 사례(adverse physiological event)의 예방을 포함한다.

[0040] PTSD의 증상은 재-경험, 능동적 회피(active avoidance), 정서적 무감각(emotional numbing), 불쾌 각성 (dysphoric arousal) 및 불안 각성(anxious arousal)을 포함한다. 재-경험은 긍정적 사건(positive event)과 부정적 사건(negative event) 모두를 의미할 수 있다. 또한, 양성 해리(positive dissociation)와 음성 해리(negative dissociation)가 모두 발생할 수 있다. 또한, PTSD의 증상은 사건 충격척도-수정판(Impact of Event Scale-Revised)과 같은 척도를 이용하여 침습(intrusion), 회피 및 과다각성(hyperarousal) 카테고리화될 수 있다. 본원에 기재된 조성물 및 방법이 이용되어 PTSD와 관련된 이들 증상 및 기타 증상을 치료할 수 있다.

[0041] D-사이클로세린 (D-cycloserine) 또는 DCS는 화학물질인 D-사이클로세린[CA Index Name: 3-이속사졸리딘은, 4-아미노-, (4R)- (9CI)[3-Isoxazolidinone, 4-amino-, (4R)- (9CI)]; CAS 등록번호 68-41-7] 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 의미한다. DCS는 미국 식품의약국 (United States Food and Drug Administration, FDA)에 의해 허가된 결핵(tuberculosis)의 치료를 위한 약물이고, 엘리 릴리 앤 컴퍼니(Eli Lilly and Company)에 의해 상품명 세로마이신®(Seromycin®)하에 판매된다. DCS는 D-알라닌의 구조 유사체이고, 스트렙토마이세스 오르키다세우스(*Streptomyces orchidaceus*) 및 *S. 가르팔루스(S. garphalus)*의 몇몇 균주에 의해 생성되는 광범위 항생제이다.

[0042] **II. PTSD의 치료방법**

[0043] PTSD 및 재-경험, 회피, 및/또는 증가된 각성과 같은 이의 증상의 치료방법에 이용하기 위한 경구 또는 비-경구 투여 요법이 본원에서 기재된다.

[0044] 기재된 방법의 한 양태는 이를 필요로 하는 대상체에 N-메틸-D-아스파르테이트 수용체 (NMDAR) 길항제의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함한다.

- [0045] 다른 양태에서, PTSD 또는 이의 증상을 치료하는 방법에서 이용하기 위한 경구 투여 요법이 본원에서 제시되고, 상기 투여 요법은 2개의 치료제(활성 구성성분)를 포함한다. 활성 구성성분들 중 제1 구성성분은 NMDAR 길항제이고, 제2 구성성분은 항-우울제 또는 비정형 항-정신병제이다.
- [0046] NMDAR은 뇌 신경전달물질인 글루타메이트(glutamate)에 대한 신경 수용체(neuronal receptor)의 유형이다. NMDAR은 감각 처리(sensory processing), 인지(cognition), 및 감정 조절(emotion regulation)을 포함하는 뇌 기능의 범위에 참여한다. NMDAR은 GluN1, GluN2 및 GluN3 (이전에, NR1, NR2, NR3)으로 명명된 복수의 서브유닛들로 구성된다. GluN1, GluN2 및 GluN3의 복수의 형태가 존재한다. NMDAR은 다양한 양의 GluN1, GluN2 및 GluN3 서브유닛의 다양한 조합으로 이루어질 수 있다. 작용제 및 길항제는 모든 NMDAR에 등가로 영향을 미칠 수 있거나, 또는 특정한 서브유닛 유형을 함유하는 NMDAR에 대해서 선택적일 수 있다. 본원에 기재된 방법은 NMDAR 길항제의 이용을 포함한다.
- [0047] NMDAR은 신경전달물질인 글루타메이트 및 내인성 조절 아미노산인 글리신과 D-세린에 대한 결합 부위를 함유한다. 또한, NMDAR은 산화 환원 부위(redox site)/폴리아민 결합 부위를 통해서 주변 조직의 산화 환원 상태(redox state)에 민감하다. 이들 부위에 결합하고, NMDAR 활성을 감소시키는 제제를 경쟁적 억제제로 명명한다.
- [0048] NMDAR 글루타메이트 결합 부위는 합성 글루타메이트 유도체인, 높은 친화도를 갖는 N-메틸-D-아스파테이트에 선택적으로 결합한다. 이 부위는 대안적으로는, NMDAR의 글루타메이트 인식 부위 또는 NMDA 인식 부위라고 한다.
- [0049] NMDAR 글리신/D-세린 결합 부위는 글리신 조절 부위(glycine modulatory site), 알로스테릭 조절 부위(allosteric modulatory site) 또는 글리신-B 수용체(glycine-B receptor)라고 한다.
- [0050] NMDAR은 펜시클리딘(phencyclidine, PCP), 케타민, 또는 디조실핀(dizocilpine) (MK-801)과 같은 몇몇 약물 오용(drugs of abuse)에 의해 차단된 이온 채널을 형성한다. 이들 화합물은 PCP 수용체로 명명된 부위에 결합한다. NMDAR-관련 이온 채널을 차단하는 제제는 집합적으로, 비-경쟁적 NMDAR 길항제 또는 NMDAR 채널 차단제로 명명된다. 채널 차단제에 의한 NMDAR의 차단은 정신분열증(schizophrenia)과 매우 닮은 임상적 정신병 상태(clinical psychotic state)를 초래한다.
- [0051] 상기 기재된 방법에서, NMDAR은 글루타메이트 인식 부위, 글리신 인식 부위, 또는 폴리아민 결합 부위에 결합하는 길항제에 의해 또한 억제될 수 있다. 역사적으로, 높은 친화도 NMDAR 길항제는 복수의 임상적 환경(clinical setting)에서 이용되어왔다.
- [0052] 셀포텔(Selfotel) (CGS19755)은 글루타메이트 인식 부위에 결합하는 길항제의 예시이다. 이러한 화합물 몇몇은 뇌졸중 또는 뇌전증(epilepsy)과 같은 CNS 적응증(indication)에 대해서 개발되었다. NMDAR의 유의한 억제에 충분한 용량으로 이용되는 경우에, 채널 차단제와 같은 이들 화합물은 임상적인 정신병 유사 증상(clinical psychotomimetic symptom)을 초래한다.
- [0053] 글루타메이트 인식 부위의 길항제로 작용하는 추가의 화합물은 앵티가넬(aptiganel) (Cerestat, CNS-1102) 및 Reddy 외 (J Med Chem 37:260-7. 1994)에 기재된 관련 화합물을 포함한다. 글루타메이트 인식 부위의 길항제로 작용하는 추가의 화합물은 다양한 스페이서 유닛(spacer unit)에 의해 분리된 알파-아미노-카르복시산(alpha-amino-carboxylic acid) 및 포스포산(phosphonic acid) 작용성(functionality)을 포함한다. 꾸밈없는 예시(unembellished example)는 2-아미노-5-포스포노발레르산(2-amino-5-phosphonovaleric acid) (AP5) (Watkins, J. C.; Evans, R. H., Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1981, 21, 165)이고, 이는 포화 탄소사슬을 함유한다. 구조 강성(structural rigidity)을 강화시킴으로써 효능(potency)을 강화시키는 구성요소를 함유하는, 더욱 복잡한 예시는 CPP, 시스-4-(포스포노메틸)-2-피페리딘카르복시산 (CGS-19755) (Lehman, J. 외, J. Pharmacol. Exp. Ther. 1988, 246, 65), 및 (E)-2-아미노-4-메틸-5-포스포노-3-펜탄산 (CGP-37849) (Schmutz, M. 외, Abs. Soc. Neurosci. 1988, 14, 864)를 포함한다. 2008년 3월 18일자 미국 특허 제7,345,032호 및 미국 특허 제5,168,103호를 참고한다. 이들의 전체 기재내용은 본원에 참고로 포함된다.
- [0054] 상기 기재된 방법에서, NMDAR은 또한, 글리신 인식 부위에 결합하는 길항제에 의해 억제될 수 있다. 특정 양태에서, 이러한 길항제 생성 용량(antagonist producing dosage)으로 투여된 D-사이클로세린에 의한 것이다.
- [0055] D-사이클로세린은 부분적 글리신-부위 길항제(일명, 혼합 작용제/길항제)로 또한 작용하는 항-결핵 약제(anti-tuberculosis medication)이다. D-사이클로세린은 약 100 mg 이하의 용량에서 작용제 효과를 주로 초래하고, 500 mg을 초과하는 용량에서 길항제 효과를 주로 초래하며, 중간 용량(intermediate dose)에서 중간 효과

(intermediate effect)를 가진다. 주로, 작용제 효과와 관련된 혈장 농도는 주로 10 µg/mL 미만이다. 길항제 효과와 관련된 혈장 농도는 25 µg/ml을 초과한다. 독성에 대한 증가된 부담(liability)은 35 µg/mL을 초과하는 혈장 수준에서 관찰된다.

- [0056] D-사이클로세린은 결핵의 치료를 위해 통상적으로 250-1000 mg의 용량으로 투여된다. 따라서, 통상적인 용량은 250 mg, 500 mg, 750 mg 또는 1000 mg이다. 또한, 550, 600, 650, 700, 800, 850 또는 900 mg과 같은 중간 용량이 가능하다. 기재된 방법의 특정 양태에서, D-사이클로세린은 상기 중간 용량을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아닌 500 mg/일 초과 내지 1000 mg/일 이하의 용량으로 대상체에 투여된다. 인간에서의 의도된 용도를 위한 D-사이클로세린의 유효 용량은 >25 ug/ml를 초과하는 지속적인 혈장 농도를 필요로 하고, 이는 특정 양태에서, 10 mg/kg 이상의 용량에 의해 성인 대상체에 제공된다. 기재된 조성물은 12, 14, 15, 16, 20, 22, 및 24 mg/kg/일과 같으나, 이에 한정되는 것은 아닌 10-25 mg/kg/일 사이의 체중에 기초하는 용량(weight-based dose)으로 제공된 D-사이클로세린을 포함할 수 있다. 이러한 수준의 달성은 500 mg/일을 초과하는 인간 용량을 필요로 하고, 이는 평균적인 성인에서 약 700 mg/일(day) 일 것이다. 순-길항제 효과를 초래하기 위한 D-사이클로세린의 인간 투약은 인간 약동학 연구로부터 이해될 수 있다. 대상체의 체중에 따라, 어떤 양태에서, 더욱 구체적으로는 D-사이클로세린이 7.5-12.5 mg/kg/일의 용량으로 투여되어, 필요한 순-길항제 용량을 달성한다.
- [0057] 500 mg의 투약 후에, 인간에서 D-사이클로세린의 약동학 (Pharmacokinetics, PK)이 이전에 연구되었다. 임상 파라미터는 투약 간격 동안 달성된 최대 (피크) 농도 (Cmax), 최대 농도에 도달되기까지의 시간 (Tmax) 및 곡선 하 면적(area under the curve, AUC)을 포함한다.
- [0058] 예를 들어, Zhu 외 (Zhu M, Nix DE, Adam RD, Childs JM, Peloquin CA. Pharmacokinetics of cycloserine under fasting conditions and with high-fat meal, orange juice, and antacids. *Pharmacotherapy*. 2001;21(8):891-7)는 공복조건(fasting condition)하에서 12.1-30.6 마이크로그램/mL의 범위와 함께, 14.8 마이크로그램/mL의 Cmax의 중앙값을 보였다. 24시간 동안의 AUC 수준의 중앙값은 6.8 - 14.7 마이크로그램/mL의 범위를 갖는 8.9 마이크로그램/mL의 지속적인 혈장 수준(median sustained plasma level)의 중앙값에 대응하는, 163-352의 범위를 갖는 214 마이크로그램-시(microgram-hr)/mL이었다.
- [0059] Park 외 (Park SI, Oh J, Jang K, Yoon J, Moon SJ, Park JS, Lee JH, Song J, Jang IJ, Yu KS, Chung JY. Pharmacokinetics of Second-Line Antituberculosis Drugs after Multiple Administrations in Healthy Volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(8):4429-35)는 12시간 마다 제공되는 250 mg의 PO D-사이클로세린의 약동학을 평가했고, 24.9 마이크로그램/mL의 평균 Cmax 값, 및 20.2 마이크로그램/mL의 평균 혈장 수준에 대응하는 242.3 mg-시/L의 12시간 동안의 평균 AUC를 관찰했다.
- [0060] Hung 외, 2014 (Hung WY, Yu MC, Chiang YC, Chang JH, Chiang CY, Chang CC, Chuang HC, Bai KJ. Serum concentrations of cycloserine and outcome of multidrug-resistant tuberculosis in Northern Taiwan. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014;18(5):601-6)는 DCS를 이용한 임상 치료 동안에 PK 수준을 평가했다. 대상체 전체에 걸친 평균 용량은 8.8 mg/kg이었고, 다수의 대상체 (n=27)는 500 mg/일의 DCS를 투여받았고, 소수의 대상체는 750 mg/일 (n=4)을 투여받거나 또는 250 mg/일 (n=2)을 투여받았다. 투약 후, 2시간째 및 6시간째의 DCS 농도는 19.7 마이크로그램/mL과 18.1 마이크로그램/mL이었다.
- [0061] 따라서, 인간 PK 연구의 일관된 발견은, D-사이클로세린을 500 mg 투여한 후에 지속적인 혈장 용량이 지속적으로 25 마이크로그램/mL 미만이라는 것이다. 본원에 기재된 대로, D-사이클로세린의 항-PTSD 효과는 25 마이크로그램/mL을 초과하는 용량에서 관찰된다. 따라서, 이러한 혈장 수준을 생성하는 일일 용량은 상기 기재된 500 mg/일을 필연적으로 초과할 것이다.
- [0062] 펠바메이트(Felbamate)는 글리신 결합 부위를 통해 작용할 수 있고, 기재된 방법에서 이용될 수 있는 화합물의 다른 예시이다. 인간에 투여되는 경우에, 펠바메이트는 이의 임상적 유용성을 제한하는 정신병 효과(psychotic effect)를 초래한다 (예, Besag FM, *Expert Opin Drug Saf* 3:1-8, 2004).
- [0063] 가베스티넬 (GV-150,526)은 본원에 기재된 대로 이용하기 위한 글리신 결합 부위에서의 길항제의 다른 예시이다. 기타 유사하게 유용한 화합물은 DiFabrio 외, *J Med Chem* 40:841-50, 1997에서 기재되며, 이 문헌은 본원에 참고로 포함된다. 본원에 기재된 약제학적 조성물 및 방법에서 이용하기에 적합한 글리신 부위 길항제의 다른 예시는 다음에서 언급된다: 2003년 12월 23일자 미국 특허 제6,667,317호; 2000년 6월 27일자 미국 특허 제6,080,743호; 1999년 11월 23일자 미국 특허 제5,990,108호; 1999년 8월 24일자 미국 특허 제5,942,540호; 1999년 7월 15일자 국제 특허출원 WO 제99/34790호; 1998년, 10월 29일에 공개된 국제특허공보 WO 제

98/47878호; 1998년 10월 1일에 공개된 국제 특허출원 WO 제98/42673호; 1991년 12월 29일에 공개된 유럽 특허출원 EP 제966475A1호; 1998년 9월 11일에 공개된 국제 특허출원 제98/39327호; 1998년 2월 5일에 공개된 국제 특허출원 WO 제98/04556호; 1997년 10월 16일에 공개된 국제 특허출원 WO 제97/37652호; 1996년 10월 9일자 미국 특허 제5,837,705호; 1997년 6월 12일자에 공개된 국제 특허출원 WO 제97/20553호; 1999년 3월 23일자 미국 특허 제5,886,018호; 1998년 9월 1일자 미국 특허 제5,801,183호; 1995년 3월 2일자 국제 특허출원 WO 제95/07887호; 1997년 11월 11일자 미국 특허 제5,686,461호; 1997년 4월 22일자 미국 특허 제5,622,952호; 1997년 3월 25일자 미국 특허 제5,614,509호; 1996년 4월 23일자 미국 특허 제5,510,367호; 1992년 12월 9일에 공개된 유럽 특허출원 제517,347A1호; 및 1993년 11월 9일에 공개된 미국 특허 제5,260,324호. 상기 기재된 특허 및 특허 출원은, 이의 전체 기재내용이 본원에 참고로 포함된다.

[0064] 본원에 기재된 약제학적 조성물 및 방법에 이용될 수 있는 글리신 결합 길항제의 다른 예시는 N-(6,7-디클로로-2,3-디옥소-1,2,3,4-테트라하이드로-퀴놀살린-5-일)-N-(2-히드록시-에틸)-메탄술폰아미드 및 6,7-디클로로-5-[3-메톡시메틸-5-(1-옥시피리딘-3-일)-[1,2,4]트리아졸-4-일]-1,4-디하이드로-퀴놀사-린-2,3-디온이다.

[0065] 본원에서 이용하기 위한 추가의 NMDAR 길항제는 Schiene 외, 미국 특허출원 US 제2001/0306674 A1호에 기재되어 있고, 이의 전체 기재내용은 본원에 참고로 포함되며, 상기 추가의 NMDAR 길항제는 다음을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다: 노르발린(norvaline) (AP5), D-노르발린 (D-AP5), 4-(3-포스포노-프로필)-피페라진-2-카르복시산 (CPP), D-(E)-4-(3-포스포노프로프-2-에닐)피페라진-2-카르복시산 (D-CPPene), 시스-4-(포스포노메틸)-2-피페리딘 카르복시산 (셀포텔, CGS 19755), SDZ-220581, PD-134705, LY-274614 및 WAY-126090와 같은, N-함유 포스폰산; 키누렌산(kynurenic acid), 7-클로로-키누렌산, 7-클로로-티오키누렌산 및 5,7-디클로로-키누렌산과 같은 퀴놀린산(quinolinic acid); 4-클로로키누레닌 및 3-히드록시-키누레닌과 같은 이의 전구약물; L-689,560과 같은 4-아미노테트라하이드로퀴놀린-카르복실레이트; L-701,324와 같은 4-히드록시퀴놀린-2(1H)-온; 리코스티넬(licostinel) (ACEA-1021) 및 CGP-68,730A와 같은 퀴놀살린디온(quinoxalinedione); MDL-105,519, 가베스티넬 (GV-150,526) 및 GV-196,771A와 같은 4,6-디클로로-인돌-2-카르복실레이트 유도체; ZD-9,379 및 MRZ-2/576, (+)-HA-966과 같은 트리아사이클릭 화합물(tricyclic compound); 텍스트로메토르판(dextromethorphan) 및 텍스트로판(dextrophan)과 같은 모르핀 유도체(morphinan derivative); BIII-277CL과 같은 벤조모르판(benzomorphan); 텍스트로프로폭시펜(dextropropoxyphene), 케토베미돈(ketobemidone), 텍스트로메타돈(dextromethadone) 및 D-모르핀과 같은 기타 오피오이드(opioid); 아만타딘(amantadine) 및 메만틴(memantine)과 같은 아미노-아다만탄(amino-adamantane); MRZ-2/579와 같은 아미노-알킬-사이클로헥산; 엘리프로딜(eliprodil) 및 PD-196,860과 같은 이펜프로딜(ifenprodil) 및 이펜프로딜-유사 화합물(ifenprodil-like compound); 이미노피리미딘(iminopyrimidine); 또는 니트로프로시드(nitroprusside), D-사이클로세린, 1-아미노사이클로프로판-카르복시산, 디조실핀(dizocilpine) (MK 801) 및 이의 유사체, 펜시클리딘 (PCP), 케타민((R,S)-2-(2-클로르페닐)-2-(메틸아미노)사이클로헥산-1-온)[(R,S)-2-(2-Chlorophenyl)-2-(methylamino)cyclohexan-1-on], (R)-케타민, (S)-케타민, 레마세미드(remacemide) 및 이의 데스-글리시닐-대사물(des-glycinyll-metabolite) FPL-12,495, AR-R-15,896, 메타돈, 설파조신(sulfazocine), AN19/AVex-144, AN2/AVex-73, 베손프로딜(Besonprodil), CGX-1007, EAB-318, 펠바메이트(Felbamate) 및 NPS-1407과 같은 기타 NMDA-길항제. NMDA-길항제는 예를 들어, 2002에 H. Buschmann, T. Christoph, E. Friderichs, C. Maul, B. Sundermann에 의해 편찬된, "Analgesics," (독일, 바인하임(Weinheim) 소재, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA)에, 특허 389-428 페이지에 개시된다. 이 기재의 각 파트는 본원에 참고로 포함되고, 본 개시의 일부를 구성한다.

[0066] 확인된 NMDAR 길항제와 함께, 추가의 효과적인 화합물은 NMDA 글루타메이트-부위 작용제에 대한 NMDA-수용체 매개 반응의 변형과 같은 잘-입증된 전기생리학적 검정(electrophysiological assay); 또는 NMDA PCP-수용체 채널 결합 부위에 대한 결합의 변형과 같은 방사성-수용체 검정(radio-receptor assay)을 이용하여 확인될 수 있다. 또한, 글리신 부위 작용제 및 길항제는 채널 부위에 결합하는 케타민 또는 펜시클리딘(PCP)과 같은 화합물로부터 수용체 결합 및 전기생리학 모두에 기초하여 구별될 수 있다. 부분 작용제(Partial agonist)는 전체 작용제에 비해서 수용체의 구조 변화(conformational change)(일반적으로 40-80%)를 유도하는 감소된 효능을 갖는 화합물로 정의된다. 혼합 작용제/길항제는 저용량에서 작용제 효과를 유도할 수 있으나, 고용량에서 길항제 효과를 유도할 수 있는 화합물이다.

[0067] NMDAR 길항제인 케타민은 현재, 마취제(anesthetic agent)로 승인되었다. 추정상의(putative) 저-친화도 NMDAR 길항제인 메만틴은 치매에서 이용하는 데 승인되었다. 그 외에, NMDAR 길항제는 입증된 임상적 유용성을 가지지 않는다. 대체로, NMDAR 길항제는 정신병 장애(psychotic disorder), 불안장애(anxiety disorder) 또는

우울장애(depressive disorder)에서 사용을 금한 것(contraindicated)으로 고려된다. 예를 들어, NMDAR 길항제인 D-사이클로세린은 FDA에 의해서, 우울증, 중증 불안 또는 정신병에 사용을 금한다.

- [0068] D-사이클로세린은 이전에, PTSD의 치료에 대해서 연구되었으나, 주로 NMDAR 작용제로서 작용하는 것으로 고려되는 저용량 (예, 50 mg)에서 연구되었고, 행동 개입에 대한 보조약(adjunct)으로 주로 이용된다. PTSD의 치료를 위한 NMDAR 길항제로서의 이의 용도는 현재의 개시내용 이전에 기재되지 않았다.
- [0069] 상기 기재된 대로, PTSD 또는 이의 증상을 치료하는 기재된 치료의 특정 양태는 1개 또는 2개의 주요 치료제(활성 구성성분)를 포함하는 투여 요법을 포함한다. 활성 구성성분 중 제1 구성성분은 NMDAR 길항제이고, 제2 구성성분은 항-우울제 또는 비정형 항-정신병 제제이다.
- [0070] 기재된 방법의 몇몇 양태에서, 제1 치료제(NMDAR 길항제)는 글리신, 글루타메이트 또는 폴리아민 인식 부위에서 작용한다.
- [0071] 몇몇 양태에서, 제1 치료제는 NR2A 서브유닛 또는 NR2B 서브유닛을 함유하는 NMDAR에서 작용한다.
- [0072] 몇몇 양태에서, 제1 치료제는 500 내지 1000 mg/일을 비롯한 500 mg/일을 초과하는 투여량으로 투여되는 D-사이클로세린이고, 25 마이크로그램/mL을 초과하는 혈장 수준을 생성하도록 제형화된다.
- [0073] 몇몇 양태에서, 제1 치료제는 다음을 포함하는 리스트로부터 비롯된다: 케타민, 셀포텔(Selfotel), 앵티가넬(aptiganel), CPP, CGP-37849, 펠바메이트(felbamate), 가베스티넬 N-(6,7-디클로로-2,3-디옥소-1,2,3,4-테트라하이드로-퀴놀살린-5-일)-N-(2-히드록시-에틸)-메탄술폰아미드 및 6,7-디클로로-5-[3-메톡시메틸-5-(1-옥시피리딘-3-일)-[1,2,4]트리아졸-4-일]-1,4-디하이드로-퀴놀사-린-2,3-디온, 4-(3-포스포노-프로필)-피페라진-2-카르복시산(CPP), D-(E)-4-(3-포스포노프로프-2-에닐)피페라진-2-카르복시산(D-CPPene), SDZ-220581, PD-134705, LY-274614 및 WAY-126090; 키누렌산(kynurenic acid), 7-클로로-키누렌산, 7-클로로-티오키누렌산 및 5,7-디클로로-키누렌산과 같은 퀴놀린산(quinolinic acid); 4-클로로키누레닌 및 3-히드록시-키누레닌과 같은 이의 전구 약물; L-689,560과 같은 4-아미노테트라하이드로퀴놀린-카르복실레이트; L-701,324와 같은 4-히드록시퀴놀린-2(1H)-온; 리코스티넬(licostinel) (ACEA-1021) 및 CGP-68,730A와 같은 퀴놀살린디온(quinoxalinedione); MDL-105,519, 가베스티넬 (GV-150,526) 및 GV-196,771A와 같은 4,6-디클로로-인돌-2-카르복실레이트 유도체; ZD-9,379 및 MRZ-2/576, (+)-HA-966과 같은 트리아사이클릭 화합물(tricyclic compound); 텍스트로메토르판(dextromethorphan) 및 텍스트로판(dextrophan)과 같은 모르핀 유도체(morphinan derivative); BIII-277CL과 같은 벤조모르판(benzomorphan); 텍스트로프로폭시펜(dextropropoxyphene), 케토베미돈(ketobemidone), 텍스트로메타돈(dextromethadone) 및 D-모르핀과 같은 기타 오피오이드(opioid); 아만타딘(amantadine) 및 메만틴(memantine)과 같은 아미노-아다만탄(amino-adamantane); MRZ-2/579와 같은 아미노-알킬-사이클로헥산; 엘리프 로딜(eliprodil) 및 PD-196,860과 같은 이펜프로딜(ifenprodil) 및 이펜프로딜-유사 화합물(ifenprodil-like compound); 이미노피리미딘(iminopyrimidine); 또는 니트로프루시드(nitroprusside), D-사이클로세린, 1-아미노사이클로프로판-카르복시산, 디조실핀(dizocilpine) (MK 801) 및 이의 유사체와 같은 기타 NMDA-길항제; (R)-케타민, (S)-케타민, 레마세미드(remacemide) 및 이의 데스-글리시닐-대사물(des-glycinyll-metabolite) FPL-12,495, AR-R-15,896, 메타돈, 설파조신(sulfazocine), AN19/AVex-144, AN2/AVex-73, 베손프로딜(Besonprodil), CGX-1007, EAB-318, 및 NPS-1407.
- [0074] 몇몇 양태에서, NMDAR 길항제는 항-우울증 제제 또는 비정형 항-정신병제와 병용되고, 또한 본원에서 "제2 치료제"로 나타낸다. 세로토닌 (5-HT), 노르에피네프린 및 도파민의 변형에 의해 작동하는 많은 이러한 제제들은 신호전달 신경전달물질 (neurotransmitter signaling)이다.
- [0075] 세로토닌 (5-HT), 노르에피네프린, 및 도파민은 신경 정신병 장애(neuropsychiatric disorder)의 병인론(etiology)에 관여하는 것으로 여겨지는 뇌 내 신경전달 물질이다.
- [0076] 5-HT_{2A} 수용체는 신경전달 물질인 세로토닌 (5-HT)에 대한 수용체의 유형이다. 기재된 방법에서 이용하기 위한 것과 같은, 5-HT_{2A} 길항제는 5-HT_{2A} 수용체에 대한, 세로토닌과 같은 길항제의 효과를 억제하는 화합물이다. 또한, 역-작용제는 활성을 기저 수준 미만으로 감소시키는 화합물이다. 5-HT_{2A} 수용체 길항제는 5-HT_{2A} vs. 기타 세로토닌 수용체 (예, 5-HT_{2C})에 대해서 비-선택적일 수 있거나, 또는 5-HT_{2A} 수용체에 대해서 선택적일 수 있다. 선택적 5-HT_{2A} 길항제는 2010년 5월 11일자 US 특허 제7,713,995호 - 이의 전체 기재내용은 본원에 참고로 포함됨 - 에 기재된 것과 같은 표준 검정 절차를 이용하여 발달 및 특성화될 수 있다.
- [0077] 비-선택적 세로토닌 수용체 길항제로 작용하는 제제는 리탄세린(ritanserin), 케탄세린(ketanserin), 세간세린(seganserin), 및 ICI-169369를 포함한다. 선택적 5-HT_{2A} 길항제 또는 역-작용제로 작용하는 제제는 볼리난세

린 (MDL100,907, 또한 M100907로 공지됨), 프루반세린 (EMD281014), 에플리반세린 (SR-46349, 시트라이리), CYR-101 및 피마반세린 (ACP-103)을 포함한다. 선택적 5-HT2A 수용체 길항제 및 역-작용제는 현재, 우울증과 정신병 모두의 치료에 대해서 개발중이고, 일반적으로 및 현재-개시된 방법의 목적을 위한, 잠재적인 항-우울제/항-정신병 제제로 여겨진다.

- [0078] 추가의 5-HT2A 수용체 길항제 또는 역-작용제는 2011년 1월 25일자 미국 특허 제7,875,632호; 2011년 1월 11일자 미국 특허 제7,868,176호; 2011년 1월 4일자 미국 특허 제7,863,296호; 2010년 10월 26일자 미국 특허 제7,820,695호; 및/또는 2010년 5월 11일자 미국 특허 제7,713,995호;에 기재되어 있고, 이들의 전체 기재내용은 참고로 본원에 포함된다.
- [0079] 우울증에 가장 통상적으로 이용되는 약리학적 치료제는 설트랄린, 플루세틴(fluxetine), 시탈로프람, 에스시탈로프람, 파록세틴, 및 플루복사민과 같은 선택적 세로토닌 재흡수 억제제 (SSRI); 및 돌록세틴, 벤라팍신, 데스벤라팍신, 밀나시프란, 및 레보밀나시프란과 같은 세로토닌/노르에피네프린 재흡수 억제제(SNRI)로 이루어진다. 이들 제제는 모노아민, 특히, 노르에피네프린 및 세로토닌의 뇌 수준을 변형시키고/시키거나, 5-HT2A 수용체를 차단시킴으로써 작동한다.
- [0080] 본원에 기재된 방법에 이용하기 위한 NMDAR 수용체 길항제와 병용될 수 있는 제제의 추가의 종류는 앵타자핀 (aptazapine), 에스미르타자핀(esmirtazapine), 미안세린, 미르타자핀 및 세티프틸린/테시피틴(tecipitine)과 같은 노르아드레날린성 특정 세로토닌 (NaSSA); 및 부프로피온, 네파조돈, 빌라조돈 및 보티옥세틴과 같은 비정형 항-우울제를 포함한다.
- [0081] 우울증의 치료에 승인되고, 개시된 치료에 이용될 수 있는 다른 제제는 리스페리돈(risperidone), 올란자핀 (olanzapine), 쿠에티아핀, 쿠에티아핀 XR, 아리피프라졸(aripiprazole), 브렉스피프라졸(brexipiprazole) 및 루라시돈(lurasidone)과 같은 비정형 항-정신병제를 포함한다. 다른 잠재적인 비정형 항-정신병제는 아미של피리드(amisulpride), 아리피프라졸(aripiprazole), 아세나핀(asenapine), 비오안세린(bioanserin), 비페프루녹스(bifeprunox), 카리프라진(cariprazine), 클로티아핀(clotiapine), 클로자핀(clozapine), 일로페리돈(iloperidone), 루마토페론(lumatoperone)(ITI-007), 루라시돈(lurasidone), 모사프로아민(mosaproamine), 올란자핀(olanzapine), 팔리페리돈(paliperidone), 페로스피론(perospirone), 쿠에티아핀, 레모시프라이드(remoxipride), 리스페리돈(risperidone), 세르틴돌(sertindole), 설피리드(sulpiride), 지프라시돈(ziprasidone), 조테핀(zotepine)을 포함한다.
- [0082] 비정형 항-우울제의 어떤 예시는 도파민 D2 수용체와 세로토닌 5-HT2A 수용체 모두의 길항제로 작용할 수 있다. D2 수용체와 5-HT2A 수용체 모두에서 작용하는 제제는 세로토닌-도파민 길항제(serotonin-dopamine antagonist, SDA)로 명명되었다.
- [0083] 기재된 방법의 특정 양태에서, 제2 치료제 (NMDAR 길항제와 병용하기 위한)는 본원에 기재된 임의의 제제, 예를 들어, 테트라사이클린 항-우울제 (TeCA), 선택적 세로토닌 재흡수 억제제 (SSRI), 세로토닌/노르에피네프린 재흡수 억제제 (SNRI), 노르아드레날린성 특정 세로토닌 (NaSSA), 비정형 항-우울제, 5-HT2A 수용체 길항제, 우울증의 치료에 이용하는 데 승인된 비정형 항-우울제 또는 이들의 병용물이다.
- [0084] 몇몇 양태에서, 2개의 활성 구성성분은 단일 약제학적 조성물로 제시되고, 몇몇 양태에서, 2개의 활성 구성성분 각각을 함유하는 키트 또는 컴바인드 디스펜서 팩트(combined dispenser packet)이 고려된다. 현재의 개시내용이 대상체에 2개의 활성 구성성분 중 한 성분을 공동-투여하는 것 - 이러한 투여가 단일 제형 또는 별도의 제형으로 병용되는 여부 및 이러한 투여가 동시에 발생하거나 또는 시차를 두고 발생하는 여부와 관계없음 - 을 고려하는 것이 이해될 것이다.
- [0085] 몇몇 양태에서, PTSD의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법은 기재된 경구 투여 요법의 이용을 포함한다.
- [0086] 기재된 방법의 몇몇 양태에서, 대상체는 또한 우울증 또는 불안을 앓고 있다. 몇몇 양태에서, 본 발명은 PTSD의 증상과 함께, 우울증 및 불안의 중증도를 감소시키는 방법을 제시한다. 그러나, PTSD를 앓고 있는 환자 및 기재된 방법으로부터 이익을 얻을 수 있는 대상이 우울증 또는 불안을 또한 필연적으로 앓지 않을 것이라는 점이 강조되어야 한다.
- [0087] 기재된 방법의 몇몇 양태에서, 대상체는 또한 자살 관념(suicidal ideation) 또는 자살 행동(suicidal behavior)을 포함하는 자살 경향성(suicidality)을 앓고 있다. 몇몇 양태에서, 본 발명은 PTSD의 증상과 함께, 자살 경향성의 중증도를 감소시키는 방법을 제시한다. 그러나, PTSD를 앓고 있는 환자 및 기재된 방법으로부터

이익을 얻을 수 있는 대상이 자살 경향성을 또한 필연적으로 앓지 않을 것이라는 점이 강조되어야 한다.

- [0088] 상기 기재된 대로, 특정 양태에서, NMDAR 수용체 길항제 제제는 PTSD 또는 이의 증상의 치료를 위한 단일-제제 제형에 이용된다. 이러한 양태에서, 대상체를 치료하는 경우에, NMDAR 길항제 제제는 상기 대상체에서 우울증을 치료하는 데 최적이지 아닐 것으로 고려되는 투여량으로 투여된다.
- [0089] 기재된 방법에서 이용하기 위한 약제학적 조성물은 경구, 정맥내, 점막관통(예, 비강, 질 등), 폐(pulmonary), 경피(transdermal), 안구(ocular), 협측(buccal), 설하(sublingual), 복강내(intraperitoneal), 수막강내(intrathecal), 근육내, 또는 장기간의 데포 제제와 같은, 몇몇 경로들 중 임의의 경로, 또는 이들 경로들의 결합에 의해 대상체에 투여될 수 있다. 경구 투여용 고체 조성물은 옥수수 전분, 젤라틴, 락토오스, 아카시아, 수크로오스, 미세결정성 셀룰로오스, 카올린(kaolin), 만니톨, 디칼슘 포스페이트(dicalcium phosphate), 칼슘 카보네이트, 소듐 클로라이드, 지질, 알긴산 또는 제어된 서방(controlled slow release)을 위한 성분과 같은 적합한 담체 또는 부형제를 함유할 수 있다. 이용될 수 있는 붕해제(Disintegrator)는 미세결정성 셀룰로오스, 옥수수 전분, 소듐 전분 글리콜레이트 및 알긴산을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이용될 수 있는 정제 결합제(tablet binder)는 아카시아, 메틸셀룰로오스, 소듐 카르복시메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈 (포비돈), 히드록시프로필 메틸셀룰로오스, 수크로오스, 전분 및 에틸셀룰로오스를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0090] 조성물은 예를 들어, pH-의존적 위 가수분해(pH-dependent gastric hydrolysis)를 감소시키는 장용 코팅 제제의 적용에 의해, D-사이클로세린 또는 다른 구성 요소의 위 분해(gastric degradation)를 감소시키도록 제형화될 수 있다. 또한, 조성물은 표준 접근법을 이용한 연장된 방출을 위해 제형화될 수 있다.
- [0091] 수 중에 제조되거나 또는 다른 수성 비히클 중에 제조된 경구 투여용 액체 조성물은 활성 화합물(들)과 함께 습윤제, 감미제, 착색제, 및 향미제를 함유하는, 용액, 에멀전, 시럽, 및 엘릭시르제(elixir)를 포함할 수 있다. 다양한 액체 및 파우더 조성물은 통상의 방법에 의해서, 치료될 환자의 폐로 흡입되기 위한 것으로 제조될 수 있다.
- [0092] 주사가 가능한 조성물은 식물성 오일, 디메틸아세트아미드, 디메틸포름아미드, 에틸 락테이트, 에틸 카보네이트, 이소프로필 미리스테이트, 에탄올, 폴리올(글리세롤, 프로필렌 글리콜, 액체 폴리에틸렌 글리콜 등)과 같은 다양한 담체를 함유할 수 있다. 정맥내 주사의 경우, 화합물은 점적 방법(drip method)에 의해 투여될 수 있으며, 이로써 활성 화합물(들) 및 생리학적으로 허용가능한 부형제를 함유하는 약제학적 조성물이 주입된다. 생리학적으로 허용가능한 부형제는 예를 들어, 5% 텍스트로스, 0.9% 염수, 링거액(Ringer's solution) 또는 기타 적합한 부형제를 포함할 수 있다. 근육내 제제의 경우, 화합물의 적합한 가용성 염 형태의 멸균 조성물이 약제학적 부형제, 예를 들어, 주사-용-수(Water-for-Injection), 0.9% 염수, 또는 5% 글루코스 용액 중에 용해 및 투여될 수 있거나, 또는 화합물 [예, 데카노에이트, 팔미테이트, 운데실레닉(undecylenic), 에난테이트(enanthate)]의 데포형이 첨가됨 중에 용해될 수 있다. 대안적으로는, 약제학적 조성물은 씹어먹는(chewing gum), 막대 사탕 등으로 제형화 될 수 있다.
- [0093] 기재된 방법을 이용한 치료를 겪은 대상체는 PTSD 증상의 유의한 개선을 경험할 수 있다. PTSD에 대한 대안적 치료로 치료된 대상체에 비해서, 기재된 방법에 따라 치료된 대상체는 몇몇 양태에서, 더 큰 개선, 또는 더 길게 지속되는 개선을 경험할 것이며, 이는 PTSD에 대한 임의의 임상적으로 인정된 평가 방법(예, CAPS 척도)에 의해 측정된다.
- [0094] 다음의 실시예는 어떤 특정한 특징들 및/또는 양태들의 설명을 위해 제공된다. 이들 실시예가 본 개시내용을 기재된 특정한 특징들 또는 양태들에 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0095] **[실시예]**
- [0096] **[실시예 1: NMDAR 길항제 및 항-우울제를 이용한 PTSD의 치료]**
- [0097] 본 실시예는 예상외로, NMDAR 길항제가 PTSD와 관련된 재-경험, 회피 및 증가된 각성 증상을 감소시킨다는 것을 나타낸다. 특히, NMDAR 길항제 효과를 생성하도록 설계된 용량으로 제공된 D-사이클로세린은 예상외로, PTSD와 관련된 재-경험, 회피 및 증가된 각성 증상을 감소시킨다. 유사한 효과는 글루타메이트 결합 부위를 표적하는 경쟁적 NMDAR 길항제로는 관찰되지 않는다.
- [0098] 순계(Inbred) 위스타-교토 (Wistar-Kyoto, WKY) 랫트는 스트레스 취약성(stress vulnerability) 및 수면 장애(sleep disturbance)와 같은 몇몇 행동 결핍(behavioral deficit)의 모델로 이용되었다. 또한, WKY 랫트는 경

도의 전기 충격(mild electric shock)을 적용한 후에, 회피의 보속증(perseveration)을 보였다. 공포 조건화(fear conditioning)을 이용한 본 발명의 검증 연구(validation study)에서, WKY 랫트는 위스타 랫트에 비해, 공포 소거(fear extinction)의 자명한 결핍을 보였다. 이러한 근거는 WKY 랫트가 화합물의 스크리닝에서, PTSD의 정신 질환의 치료에서 가능성을 지니는 이상적인 모델일 수 있다는 것을 시사한다.

- [0099] 공포 기억(Fear memory)은 PTSD와 같은 정신 질환에서 증대하다. 파블로프(Pavlovian) 공포 조건화 (fear conditioning, FC) 테스트는 혐오 자극(aversive stimulus) (경도의 전기 충격)과 특정한 신호 [예, 음(tone); 신호 조건화(cued conditioning)] 또는 전기 충격이 발생한 맥락 [맥락 조건화(contextual conditioning)] 사이의 학습된 연관성(association)을 통한 혐오 학습(aversive learning) 및 기억의 측정을 위한 설치류에서 널리 이용되는 행동 검정이다. 연관성이 입증되면, 조건화된 자극(conditioned stimulus, CS; 즉, 음 또는 맥락)은 비-조건화된 자극(unconditioned stimulus, US; 즉, 전기 충격)에 대해 유사한 방식으로 공포 반응을 유도할 수 있다. 그러나, CS가 US의 결합 없이 반복적으로 제시되는 경우에, 정상 동물에서 소거(extinction)가 발생한다. US가 없는 반복되거나 연장된 CS 제시 후에, 대개 공포 소거는 조건화된 반응 [즉, FC 테스트에서 경직 반응(freezing response)]의 규모 및/또는 빈도의 점진적 감소를 야기하는 새로운 억제 학습(inhibitory learning)으로 여겨진다. 이러한 억제 학습의 결핍은 임상적 PTSD의 특징(hallmark)로 여겨질 수 있다.
- [0100] 연구는 미국, 뉴저지주 07645, 몬트베일, 필립스 파크웨이 100, PsychoGenics Inc에 의해 수행되었다.
- [0101] Charles River Laboratory로부터 구매한 젊은 성체 (약 7주령) 수컷 WKY 랫트와 위스타 랫트를 본 연구에 이용했다. 동물이 수령되면, 이들을 집단으로 수용했고(group housing) (케이지 당 2마리), 적어도 7일 동안 순응시켰다. 모든 랫트를 연구의 개시 전에, 진찰했고(examining), 다루었으며(handling), 체중을 측정하여 충분한 건강 및 적합성(suitability)을 확인했다. 연구과정 동안에, 12/12 명/암 사이클을 유지했다. 상대 습도를 약 50%로 유지하며, 실온을 20 내지 23° C로 유지했다. 랫트를 각 치료군에 무작위로 할당했다. 모든 테스트를 동물의 명 사이클 동안에 수행했다.
- [0102] 다음의 화합물을 본 연구에 이용했다:
- [0103] • D-사이클로세린 30 mg/kg (저용량) 및 300 mg/kg (고용량)을 염수 중에 용해시켰고, 2 ml/kg의 용량 부피로 소거 테스트(extinction test) 30분 전에 IP 투여함;
- [0104] • 설프랄린 20 mg/kg을 염수 중에 용해시켰고, 2 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여했다. DSC와 병용하는 경우에, 병용물을 소거 테스트 30분 전에 혼합제(cocktail)로 제공함;
- [0105] • D-CPP-ene (5 mg/kg)를 산성화된 염수(acidified saline) 중에 용해시켰고, 2 ml/kg의 용량 부피로 소거 테스트 30분 전에 s.c 투여함;
- [0106] • 루라시돈 (Lur, 0.2 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 1 ml/kg의 용량 부피에서 테스트 30분 전에 IP 투여함;
- [0107] • 쿠에티아핀 (QTP, 10 mg/kg)을 산성화된 염수 중에 용해시켰고, 1 ml/kg의 용량으로 테스트 30분 전에 s.c 투여함.
- [0108] Coulbourn Instruments (미국, 펜실베이니아주 소재)에 의해 제조된 공포 조건화 시스템(fear conditioning system)에서 실험을 수행했다. 동물의 신체 움직임을 비디오 시스템과 FreezeFrame 소프트웨어로 캡처했고, 경직은 FreezeView 소프트웨어 (미국, 펜실베이니아주 소재, Coulbourn Instruments)에 의해 자동적으로 분석된다.
- [0109] 공포 조건화 훈련: 동물들을 짧은 전기 충격 (1.0초 동안 0.5 mA, 비-조건화된 자극/US)과 함께 종결되는(co-terminating) 10초의 음 (70dB, 조건화된 자극/CS)의 CS-US 페어링(pairing)에 5회 노출시켰다. 5회의 CS-US 페어링은 60초 간격에 의해 분리되는데, 첫번째 CS는 120초에서 존재했다. 랫트는 마지막 충격 후 밖으로 옮겨지기 전에, 1분 동안 박스에 머무른다.
- [0110] 소거 훈련: FC 훈련 후 24시간 및 72시간째에서 소거 훈련을 2회 수행했다. 신호 FC 소거 패러다임(cued FC extinction paradigm)을 적용했다. FC 트레이닝의 박스와 상이한 변화된 맥락인 "실린더"에서 소거 훈련을 수행했다. 소거 훈련은 8-10개의 동일한 빈(bin)을 포함하는 32-40분 동안 지속했다. 각 빈은 2분의 음 시기 (tone period) 후에 2분의 음이 없는 시기(no-tone period)를 포함한다 [시행-간 간격(inter-trial interval, ITI)].

- [0111] 소거 훈련의 빈(bin) 7-8 동안 (24시 및 72시)의 경직 백분율(Percent freezing)을 치료의 유효성을 평가하는데 이용했다. 인자(factor)로 설정된, 치료/군 및 소거 단계 (신호 또는 빈)를 이용하여, 데이터를 일원(one-way) 분산분석(analysis of variance, ANOVA)에 의해 분석했다. 이용가능한 경우에, 사후 비교(Post hoc comparison)에서 피셔 LSD 법(Fisher LSD method)을 이용했다.
- [0112] 1일 내지 3일 동안에 걸친 신호 적용(cue administration) 후 경직 행동의 정도에 기초하면, WKY는 대조군(위스타) 랫트와 상이했는데, 자극의 85% 초과에 대한 경직 행동을 보인 동물의 수의 현저한 차이를 가진다 (F=24.6, df=1,76, p <0.0001) (표 1).
- [0113] 약리학적 연구를 WKY 랫트 단독으로 수행했고, 표 2에 제시한다. 일들(days)에 걸친 경직 행동에 대한 매우 유의한 치료 효과가 존재했다 (F=9.24, df=9,362, p<0.0001). 일(day)의 효과는 미미하게 유의했다 (F=3.24, df=1,362, p=0.07). 치료 효과에 의한 일(day)은 유의하지 않았다 (F=0.99, df=9,362, p=.45). 사후 검정에서, 고-용량(300 mg/kg)의 DCS (LSD p<0.001), 설프랄린 단독 (LSD p=0.023) 및 병용된 고-용량의 DCS+설프랄린 (LSD p=0.023) 모두가 일들(days)에 걸쳐, 비히클에 비해서 경직 행동의 유의한 감소를 초래했다. 대조적으로, 저-용량의 DCS (30 mg/kg)는 경직 행동에 대한 유의한 효과를 가지지 않았다(p=0.3). 저용량 및 HD-DCS 사이의 효과의 차이는 경향 수준(trend level)에서 유의했다(p=0.08).
- [0114] 고-용량의 DCS와 대조적으로, 경쟁적 NMDAR 길항제인 D-CPPene (p=0.009) 및 비정형 항-정신병제인 루라시돈 (p=0.1) 및 쿠에티아핀 (p=0.009)은 경직 행동을 증가시키는 경향이 있었다. 고-용량의 DCS를 루라시돈에 추가하는 경우에, 경직을 감소시키는 경향이 있었으나(p=0.09), 쿠에티아핀과 병용하는 경우에 통계학적 효과가 존재하지 않았다(p=0.3).
- [0115] 이들 발견들은 NMDAR 길항제가 설치류에서 재-경험, 회피 및 증가된 각성 (PTSD-관련) 행동을 감소시킬 수 있다는 최초의 입증을 제시한다. 현저하게, D-사이클로세린의 항-PTSD 효과는 300 mg/kg의 용량 (즉, NMDAR 길항제 효과를 초래하는 것으로 공지된 D-사이클로세린의 용량)의 투여에 의해 설치류에서 선택적으로 유도되었고, 30 mg/kg의 용량 (즉, NMDAR 작용제 효과를 초래하는 것으로 공지된 D-사이클로세린의 용량)에서 관찰되지 않았다. 더욱이, 효과는 SSRI인 설프랄린이 존재하는 경우에는 지속되나, 5-HT2A 수용체 길항제인 루라시돈 또는 쿠에티아핀이 존재하는 경우에는 지속되지 않았다. 경쟁적 NMDAR 길항제인 D-CPPene은 경직 행도의 감소 보다는 증가를 초래했는데, 이는 NMDAR 기능의 글리신-부위 vs. 글루타메이트-부위 길항제의 예상 밖의 유익한 효과를 시사한다.
- [0116] [표 1: 랫트의 주(strain) (위스타-교토 (WKY) vs. 위스타)에 의한 공포 조건화 후, 1일 내지 3일에 걸친 신호 자극에 대한 반응 시간의 85%를 초과하는 경직 행동을 보이는 동물 백분율]

주#	N		표준편차	표준오차 평균	
	관찰	평균			
위스타 (대조군)	32	0.000	0.000	0.000	—
위스타 교토 (WKY)	64	0.375	0.488	0.061	<0.0001

- [0117]
- [0118] [표 2: 조건에 의한 공포 조건화 후, 1일 내지 3일에 걸친 신호 자극에 대한 반응 시간의 85%를 초과하는 경직 행동을 보이는 WKY 동물 백분율. DCS = D-사이클로세린]

	N 관찰	평균	표준편차	표준오차	변화의 방향	P 값 vs. 비히클
비히클	64	0.375	0.488	0.061	—	—
DCS300	62	0.113	0.319	0.041	감소	0.001
DCS30	32	0.281	0.457	0.081	—	0.33
설프탈린	32	0.156	0.369	0.065	감소	0.023
DCS+설프탈린	32	0.156	0.369	0.065	감소	0.023
DCPPene	32	0.625	0.492	0.087	증가	0.009
루라시돈	32	0.531	0.507	0.090	증가	0.10
Lur+DCS	32	0.344	0.483	0.085	증가	0.74
QTP	32	0.625	0.492	0.087	증가	0.009
QTP+DCS	32	0.719	0.457	0.081	증가	<0.001

[0119]

[0120]

[실시예 2: 항-우울제에 의한 NMDAR 길항제 정신병유사 효과의 역전]

[0121]

이전의 실시예는 병용된 NMDAR 길항제 및 항-우울증 제제를 이용한 PTSD 증상의 치료를 나타낸다. 그러나, NMDAR 길항제 치료의 공지된 우려는 정신병에 대한 증가된 부담(increased liability)인데, 이는 행동 과다활성 검정(behavioral hyperactivity assay)을 이용하여 설치류에서 모델링될 수 있다. 본 실시예에서, NMDAR 길항제와 항-우울증 제제를 이용한 병용 치료의 예상 밖의 상승적 효과가 제시된다.

[0122]

본 연구에서는, 항-우울제 제제와 함께, 또는 항-우울제 제제 없이 D-사이클로세린을 투여한 후에, 설치류 개방장 테스트(rodent open field test)를 이용하여 D-사이클로세린의 정신운동 효과(psychomotor effect)를 평가했다.

[0123]

모든 테스트는 미국, 뉴욕주 10591, 태리타운, 올드 소우 밀 리버 로드 765 소재의 PsychoGenics Inc에서 수행되었다.

[0124]

Jackson Laboratories (메인 주, 바 하버 소재)로부터 입수한 수컷 C57BL/6J 마우스 (8주령)를 이용했다. 마우스가 수령되면, 이들에 고유한 식별 번호(꼬리에 표시함)를 할당했고, OPTImice 케이지에 집단으로 수용했다 (group housing). 모든 동물을 테스트 전에 1주일 동안 콜로니 룸(colony room)에 순응시켰다. 순응 기간 동안에, 동물들을 정기적으로 진찰했고(examining), 다루었으며(handling), 체중을 측정하여 충분한 건강 및 적합성(suitability)을 확인했다. 동물들을 12/12 명/암 사이클에서 유지했다. 상대 습도를 30% 내지 70%로 유지하며, 실온을 20 내지 23° C로 유지했다. 초우(Chow) 및 물을 연구 기간 동안에 자유식으로(ad libitum) 제공했다. 모든 테스트는 동물의 명 사이클기(light cycle phase) 동안에 수행했다.

[0125]

테스트 화합물은 다음을 포함했다:

[0126]

- D-사이클로세린 (300 mg/kg)을 PTS 비히클 (5% PEG200: 5% Tween80: 90% NaCl) 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0127]

- 부프로피온 (10 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0128]

- 데시프라민 (10 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0129]

- 설프탈린 (20 mg/kg)을 멸균수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0130]

- 벤라팍신 (40 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피를 IP 투여함;

[0131]

- 돌록세틴 (40 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg

의 용량 부피로 IP 투여함;

[0132] 플루옥세틴 (10 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0133] 이미프라민 (10 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0134] 시탈로프람 (10 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0135] 레보밀나시프란 (40 mg/kg)을 멸균수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0136] 밀나시프란 (40 mg/kg)을 멸균수 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0137] 빌라조돈 (1 mg/kg)을 PTS 비히클 (5% PEG200: 5% Tween80: 90% NaCl) 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함;

[0138] 보티옥세틴 (10 mg/kg)을 PTS 비히클 (5% PEG200: 5% Tween80: 90% NaCl) 중에 용해시켰고, 개방장 테스트에서 D-사이클로세린 투여 30분 전에 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여함.

[0139] 수평 및 수직적 활동을 측정하기 위해, 적외선 포토빔(infrared photobeam) (16 x 16 x 16)에 의해 둘러싸인 Plexiglas 사각 챔버(square chamber) (27.3 x 27.3 x 20.3 cm; 버몬트 주, 세인트 올번스 소재, Med Associates Inc)를 이용하여, 개방장 (open field, OF) 테스트를 수행했다. 테스트 전에, 마우스를 활동 실험실(activity experimental room)에 두어, 실험실 조건에 대해서 적어도 1시간 순응시켰다. 비히클, 또는 테스트 화합물을 동물에 투여했고, OF에 넣었다. D-사이클로세린 효과의 평가를 위해, 테스트 챔버(test chamber)에 진입하기 전에 마우스에 DCS 주사했고, 활동을 60분 동안 모니터링했다. 대안적으로는, 비히클 또는 D-사이클로세린을 유발(challenge) 30분 전에 암페타민 (4 mg/kg) 또는 펜시클리딘 (5 mg/kg)과 함께 투여했고, 비히클 또는 D-사이클로세린 투여 후 60분 동안 활동을 합계했다. 다른 조건에서는, 동물을 비히클 또는 항-우울제 제제로 처리한 후에, 기초선 활동(baseline activity)을 30분 동안 기록했다. 이어서, 마우스에 DCS를 주사했고, 60분의 세션(session) 동안에 OF 챔버로 다시 넣었다. 각각의 OF 테스트 세션의 종료에서, OF 챔버를 철저히 청소했다.

[0140] 데이터를 분산분석(analysis of variance, ANOVA)에 의해 분석한 후에, 적절하게, 피셔의 LSD 검정(Fishers's LSD test)을 이용한 사후 비교(post-hoc comparison)에 의해 분석했다. $p < 0.05$ 인 경우에, 효과를 유의한 것으로 고려했다.

[0141] **결과:** 30 내지 1000 mg/kg의 용량으로 비히클 또는 D-사이클로세린을 투여한 후에, 30분 동안 용량-반응을 평가했다. 모든 조건에 걸쳐, 매우 유의한 효과가 존재했다 ($F=19.0$, $df=3,35$, $p<0.001$). 보행 활동은 30 mg/kg ($p=0.5$)의 용량으로 투여된 D-사이클로세린에 의해 유의하게 영향을 받지 않았으나, 300 mg/kg ($p<0.001$) 및 1000 mg/kg ($p<0.001$) 용량의 D-사이클로세린에 의해 유의하게 증가되었다 (**표 3**).

[0142] **[표 3: 비히클 또는 D-사이클로세린을 이용해 처리된 동물의 수(N), 30분 동안 이동한 평균 거리(Mean), 표준편차 및 통계학적 비교를 나타내는 보행 활동 데이터의 요약]**

조건	N	Mean	표준편차	p vs. 비히클
비히클	10.0	4881.4	1165.3	
DCS, 30 mg/kg	10.0	4432.1	1712.9	0.5
DCS, 300 mg/kg	10.0	7588.5	1456.2	<0.001
DCS, 1000 mg/kg	9.0	9049.8	1862.9	<0.001

[0144] NDRI (부프로프리온), 트리사이클릭 항-우울제 (데시프라민, 이미프라민), 높은 세로토닌 수송체(high

serotonergic transport, SERT) 억제 활성과 관련된 SSRI/SNRI (설트랄린, 벤라팍신, 돌록세틴, 플루옥세틴, 시탈로프람) vs. 노르에피네프린 수송체와 같은 다른 표적에 비해서 낮은 세로토닌 수송체 억제활성과 관련된 새로운 제제 (레보밀나시프란, 밀나시프란, 빌라조돈, 보티옥세틴)를 포함하는 약물 유형에 따라서 조건을 구별한 경우에, 약물 종류 사이에서 예상 밖의 차이점이 관찰되었다 (표 4).

[0145] [표 4: 비히클 또는 D-사이클로세린(DCS)을 이용해 처리된 동물의 수(N), 60분 동안 이동한 평균 거리(Mean), 표준편차 및 통계학적 비교를 나타내는 보행 활동 데이터의 요약]

조건	N	Mean	표준편차	P v 전통적인 SSRI/SNRI
DCS 300 mg/kg + 전통적인 SSRI/SNRI	50.0	11307.5	8447.0	-----
+ 부프로피온	10.0	11526.9	6781.4	0.9
+ TCA	20.0	2210.9	2216.6	<0.001
+ 저 SERT SNRI/비정형	40.0	5698.6	4633.8	<0.001

SERT=세로토닌 수송체

[0146] 본 연구는 D-사이클로세린 자체가 설치류에서 보행 과다활동을 생성하는 것을 증명하는, 우리가 인식한 최초의 연구이고, 상기 연구는 이의 임상적인 정신병유사 효과(clinical psychotomimetic effect)와 일치한다. 160 mg/kg의 용량으로 투여된 D-사이클로세린의 유의한 효과가 없음을 나타내는 선행 연구(Carlsson 외, J Neural Transm 95:223-233, 1994)를 함께 고려하여, 이들 발견은 정신병유사 효과가 25 마이크로그램/mL를 초과하는 혈장 수준에서 우선적으로 관찰된다는 것을 입증한다 (실시예 3을 참고).

[0148] 또한, 본 연구는 전통적인 SSRI/SNRI 또는 부프로피온, 도파민-노르에피네프린 재흡수 억제제(dopamine-norepinephrine reuptake inhibitor)에 비해서, 새로운 항-우울제인 빌라조돈, 보티옥세틴, 밀나시프란 및 레보밀나시프란 또는 TCA와 같은 제제로 유명한, 우선적 효과(preferential effect)와 함께 항-우울제가 D-사이클로세린의 존재하에 보행 과다활동에 대한 차등적 효과(differential effect)를 나타낸다는 것을 증명하는, 우리가 인식한 최초의 연구이다.

[0149] 새로운 SNRI 및 비정형 항-우울제는 세로토닌 수송체 외의 표적에 대해서 더 높은 특이도를 가진다는 점에서 전통적인 약제와 상이하므로, 상대적으로 TCA에 더 유사하다. 이러한 발견은 예상외로, 새로운 SNRI/비정형 항-정신병제가 25 마이크로그램/mL를 초과하는 혈장 수준과 관련된 D-사이클로세린-용량과 병용되어 우선적인 유의한 활성을 가진다는 것을 나타내므로, 고용량의 D-사이클로세린과 새로운 항-우울제 제제를 수반하는 병용의 예상밖의 유용성을 나타낸다.

[0150] [실시예 3: 설치류에서 구슬 묻기 행동(marble burying behavior)에 대한 DCS와 미르타자핀의 상승적 효과]

[0151] 구슬 묻기는 PTSD를 포함하는 불안장애, 및 강박장애 (OCD) 모두에 대한 모델로 이용되고, 능동적 회피(active avoidance) 및 불안 각성(anxious arousal)의 제작물에 가장 결부되어 있다.

[0152] 유리 구슬을 함유하는 케이지 내 개별적인 배치에서, 마우스는 구슬을 묻는 것으로 나타났다. 벤조다이아제핀 (benzodiazepine)과 같은 항-불안 제제(Anxiolytic agent)는 설치류에서 구슬 묻기 행동을 감소시킨다. 본원에서, NMDAR 길항제와 항-우울제가 구슬 묻기에 대한 상승적 효과를 가질 것이라는 가설을 세웠다.

[0153] 테스트 전에, 마우스를 활동 실험실(activity experimental room)에 두어, 실험실 조건에 대해서 적어도 1시간 순응시켰다. 마우스를 약 6 cm의 경질목 깔짚(hard wood bedding) 및 5개의 간격을 둔 행에 배치된 20개의 검은 구슬을 함유하는 클린 마우스 케이지(clean mouse cage)에 30분 동안 개별적으로 넣었다. 테스트 동안 이동한 거리를 카메라로 촬영했고, Video Tracker 소프트웨어 (프랑스 소재, ViewPoint Life Sciences Software)를 이용하여 정량했다. 테스트의 말에서, 마우스를 케이지로부터 꺼내, 묻히지 않은 구슬의 수를 계수했다. 구슬의 적어도 2/3이 깔짚(bedding)으로 덮인 경우에, 이 구슬을 묻힌 것으로 고려했다.

[0154] 다음의 화합물을 이용했다. 모든 화합물은 10 ml/kg의 용량 부피로 투여했다:

[0155] • D-사이클로세린 (Sigma, DSC; 30 및 300 mg/kg)을 5% PEG 200: 5% Tween 80: 90% saline (PTS) 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로, 테스트 30분 전에 IP 투여함;

- [0156] • 미르타자핀 (*Sigma*, 5.5 mg/kg)을 5% PEG 200: 5%Tween 80: 90% 염수 (PTS) 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함;
- [0157] • 파록세틴 (*Sigma*, 5 mg/kg)을 구슬 묻기 테스트에서 양성 표준(positive reference)으로 이용했다. 상기 화합물을 20%의 사이클로텍스트린 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함; 및
- [0158] • 병용 DSC (300 mg/kg) + 미르타자핀 (5.5 mg)을 테스트 30분 전에 10 ml/kg의 용량 부피로, 단일 주사의 혼합제(cocktail)로서 IP 투여함.
- [0159] 10마리의 마우스를 다음의 테스트군 각각에서 테스트했다:
- [0160] • 비히클 (5% PEG200; 5% Tween80; 90% 염수);
- [0161] • 파록세틴 (5 mg/kg);
- [0162] • 미르타자핀 (5.5 mg/kg);
- [0163] • D-사이클로세린 (30 mg/kg);
- [0164] • D-사이클로세린 (300 mg/kg); 및
- [0165] • D-사이클로세린 (300 mg/kg) + (미르타자핀 5.5 mg/kg).
- [0166] 본 연구의 결과를 도 1에 제시한다. 일원 ANOVA는 유의한 치료 효과를 밝혀냈다. 사후 비교(Post-hoc comparison)는 파록세틴 (5 mg/kg) 및 미르타자핀 (5.5 mg/kg)이 비히클에 비해서, 묻힌 구슬의 수를 유의하게 감소시켰다는 것을 입증했다. D-사이클로세린의 각 용량 (30 mg/kg, 및 300 mg/kg)을 이용한 동물의 치료는 이러한 측정에 영향을 미치지 않았다. D-사이클로세린 (300 mg/kg)과 미르타자핀 (5.5 mg/kg)의 병용은 비히클 및 미르타자핀 (5.5 mg/kg) 단독에 비해, 묻힌 구슬의 수를 유의하게 감소시켰다.
- [0167] 이러한 발견은 불안, OCD 및 PTSD에 관련된 행동에 대해서, 300 mg/kg 용량의 NMDAR 길항제에서 투여된 DCS와 항-우울제인 미르타자핀 사이의 유의한 예상 밖의 상승(synergy)을 입증하고, PTSD의 병용된 NMDAR 길항제와 항-우울제 치료를 제안한다.
- [0168] **[실시예 4: 구슬 묻기에 대한 미르타자핀의 R-이성질체 및 S-이성질체의 차등적 효과]**
- [0169] 미르타자핀은 별도의 R(-) 이성질체와 S(+) 이성질체의 라세미 혼합물이다. 추적 연구(follow-up study)는 두 이성질체의 상대적 효과를 독립적으로 평가했다. 방법은 실시예 3에서와 같다. 테스트 화합물은 다음과 같다:
- [0170] • 5% PEG 200: 5% Tween 80: 90% 염수 (PTS)를 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함;
- [0171] • 파록세틴 (5 mg/kg)을 염수 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함;
- [0172] • D-사이클로세린 (*Sigma*, DSC; 300 mg/kg)을 5% PEG 200: 5% Tween 80: 90% 염수 (PTS) 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함;
- [0173] • 미르타자핀 (*Sigma*, 1, 2.5, 5.0, 및 10 mg/kg)을 5% PEG 200: 5% Tween 80: 90% 염수 (PTS) 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함;
- [0174] • S-미르타자핀 (*TRC*, 1, 2.5, 5.0, 및 10 mg/kg)을 5% PEG 200: 5% Tween 80: 90% 염수 (PTS) 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함; 및
- [0175] • R-미르타자핀 (*TRC*, 1, 2.5, 5.0, 및 10 mg/kg)을 5% PEG 200: 5% Tween 80: 90% 염수 (PTS) 중에 용해시켰고, 10 ml/kg의 용량 부피로 테스트 30분 전에 IP 투여함.
- [0176] 구슬 묻기 행동에 대한 파록세틴, 미르타자핀, S-미르타자핀, R-미르타자핀 및 D-사이클로세린의 효과는 도 2에 제시된다. 일원 ANOVA는 유의한 치료 효과를 밝혀냈다. 사후 비교는 파록세틴 (5 mg/kg), 미르타자핀 (1, 2.5, 5, 및 10 mg/kg), S-미르타자핀 (1, 2.5, 5, 10 mg/kg) 및 R-미르타자핀 (10 mg/kg)이 비히클에 비해서,

물린 구슬의 수를 유의하게 감소시켰다는 것을 입증했다. R-미르타자핀 (1, 2.5, 및 5 mg/kg)은 이 측정에 영향을 미치지 않았다. S-미르타자핀의 효과는 라세미 미르타자핀보다 유의하게 더 강인(robust) 했고, 반면에 R-미르타자핀의 효과는 덜 강인했는데 (도 2), 이는 OCD 및 PTSD를 비롯한 불안-관련 질환의 치료에 있어, 라세미체에 대한 S-이성질체의 우수성을 나타낸다.

[0177] 3개의 미르타자핀 제형 (라세미체, R-, S-) 전체에서, DCS 치료의 매우 유의한 주요 효과 ($F=27.2$, $df=1,54$, $p<0.001$)가 존재했는데, 이는 이전의 발견을 지지한다. 미르타자핀 (2.5 mg/kg) + DSC (300 mg/kg) 병용은 미르타자핀 (2.5 mg/kg) 단독에 비해, 물린 구슬의 수를 유의하게 감소시켰다 ($p<0.01$). 추가로, R-미르타자핀 (2.5 mg/kg) + DSC (300 mg/kg)의 병용은 R-미르타자핀 (2.5 mg/kg) + PTS 비히클의 병용에 비해서, 물린 구슬의 수를 유의하게 감소시켰다($p<0.01$). S-미르타자핀이 존재하는 경우에, DCS가 존재하지 않는 경우 및 존재하는 경우 모두에서 바닥 수준 효과(floor level effect)가 관찰되었으므로, 수행될 수 있는 비교는 없었다.

[0178] [실시예 5: 설치류에서의 DCS의 약동학]

[0179] 설치류에서 행동 효과와 혈장 DCS 수준 사이의 관계를 평가하기 위해, DCS의 약동학 연구를 수행했다. Jackson Laboratories (메인 주, 바 하버 소재)로부터 입수한 수컷 C57BL/6J 마우스 (8주령)를 이용했다. 마우스가 수령되면, 이들에 고유한 식별 번호(꼬리에 표시함)를 할당했고, OPTImice 케이지에 집단으로 수용했다(group housing). 모든 동물을 테스트 전에 1주일 동안 콜로니 룸(colony room)에 순응시켰다. 순응 기간 동안에, 동물들을 정기적으로 진찰했고(examining), 다루었으며(handling), 체중을 측정하여 충분한 건강 및 적합성(suitability)을 확인했다. 동물들을 12/12 명/암 사이클에서 유지했다. 상대 습도를 30% 내지 70%로 유지하며, 실온을 20 내지 23° C로 유지했다. 초우(Chow) 및 물을 연구 기간 동안에 자유식으로(ad libitum) 제공했다. 모든 테스트는 동물의 명 사이클기(light cycle phase) 동안에 수행했다.

[0180] 이들 연구들에서는, DCS (30, 100, 300, 500 및 1000 mg/kg)를 PTS 비히클 (5% PEG200: 5% Tween80: 90% NaCl) 중에 용해시켰고, 10 mL/kg의 용량 부피로 IP 투여했다.

[0181] 8마리의 마우스를 아래의 치료군 각각에서 시점마다 이용했다:

- [0182] • D-사이클로세린 30 mg/kg
- [0183] • D-사이클로세린 100 mg/kg
- [0184] • D-사이클로세린 300 mg/kg
- [0185] • D-사이클로세린 500 mg/kg
- [0186] • D-사이클로세린 1000 mg/kg

[0187] 샘플을 별개의 동물들로부터 30, 60 및 120분에서 수집했다. 30분 내지 120분 시점에 걸친 평균 혈장 수준을 분석에 이용했다. 각 시점에서, 동맥 혈액(trunk blood)을 K2EDTA를 함유하는 튜브에 수집하여, 단기 보관을 위해 얼음 위에 두었다. 혈액 수집 후 15분 이내에, 튜브를 냉장 원심분리기(refrigerated centrifuge)에서 10분 동안 10,000 RPM에서 원심분리시켰다. 상청액(혈장)을 추출하여, 드라이 아이스 위에 있는 미리-레이블링된 튜브로 옮겼다. 샘플을 분석 전까지 약 -80° C에 보관했다.

[0188] Acquity UPLC 크로마토그래픽 시스템(chromatographic system) 및 Quattro Premier XE triple quad 질량 분석기 - 이들 모두 Waters로부터 입수 - 로 이루어진 UPLC/MS/MS 시스템을 활용하여, 혈장 및 뇌 샘플 중 DCS의 분석을 수행했다. 5ng/mL의 LLOQ를 제공하는 5분 (전체 실행 시간) HILIC 방법론을 이용하여, DCS의 분리를 달성했다.

[0189] 혈장 샘플 분석에 대한 DCS 표준을 마우스 혈장 중에 제조했고, 이를 후속적으로 여과 [3kDa의 컷오프 Amicon 필터(cutoff Amicon filter)]시킨 다음에, 5 μL의 여과물과 10%의 수/아세트니트릴 중에 제조된 1.0ng/mL D9-Ach 내부 표준 용액(D9-Ach internal standard solution) 45 μL를 혼합으로써 분석 전에 희석시켰다. 활용된 표준의 범위는 1.0-1000ng/mL였다. 혈장 샘플을 동일한 방식으로 제조했으나, 트리플리케이트 분석(triplicate analysis)을 위해, 10 μL의 샘플과 90 μL의 내부 표준 혼합물(internal standard mix)로, 희석 후 샘플 100 μL를 제공한다.

[0190] DCS의 모이온(parent ion)으로부터 형성된 고유한 단편들을 모니터링함으로써, 분석물의 검출을 수행했다 (74.7

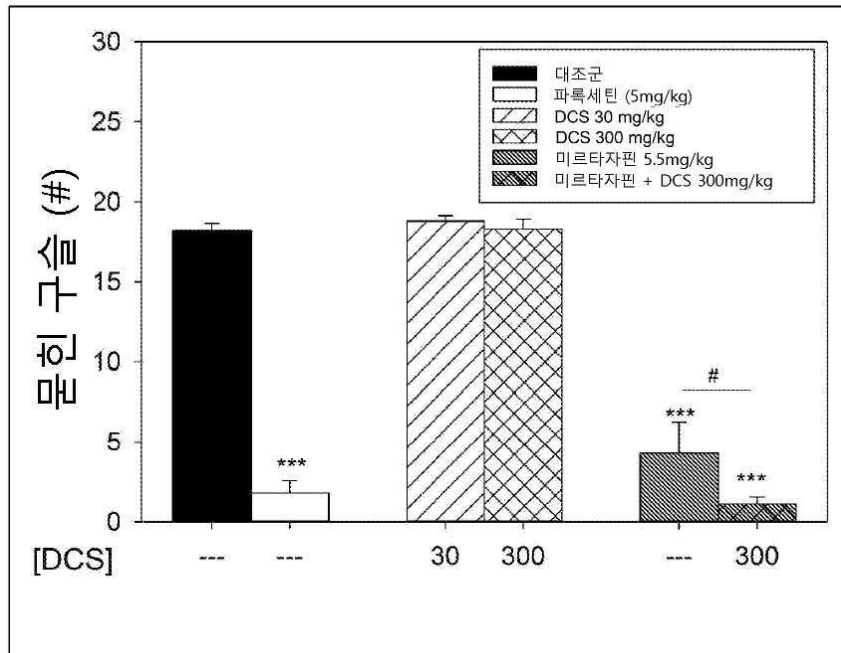
및 57.7 Da의 두 단편에 대한 102.7Da의 모이온). 내부 표준 D9-Ach (86.7DA의 단편에 대한 154.95DA의 모이온)를 샘플 중에 넣어, 샘플 기질(sample matrix)과 기구 변동성(instrument variability)을 보정하여, 보다 강인한 데이터 세트를 제공했다.

[0191] 실험 결과가 도 3에 제시된다. 나타낸 바와 같이, 30 mg/kg 용량의 DCS는 숫자상으로 25 마이크로그램/mL 미만의 혈장 수준을 생성했으나, 이 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다 (p=0.2). 100 mg/kg 이상의 농도는 25 마이크로그램/mL을 유의하게 초과했다(p<0.01). 이들 발견은 이전의 실시예들에서 300 mg/kg의 DCS에 의해 생성된 효과가 25 마이크로그램/mL를 초과하는 DCS 혈장 수준의 결과를 반영한다는 것을 입증한다.

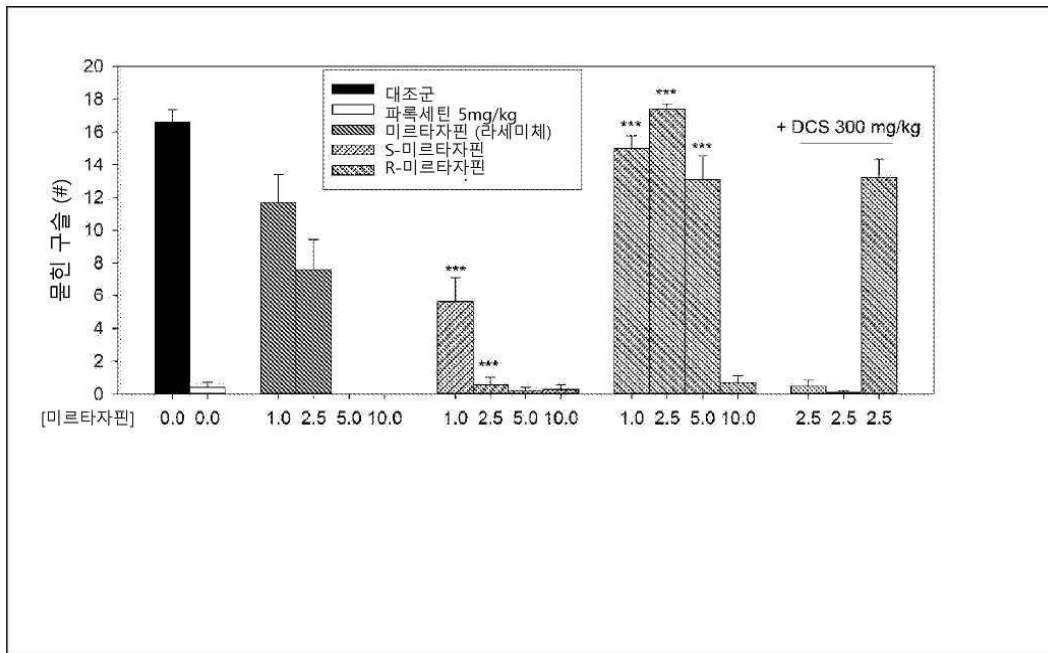
[0192] 개시된 발명의 원리가 적용될 수 있는 많은 가능한 양태를 고려하여, 도시된 양태가 본 발명의 단지 바람직한 예시라는 것을 인식해야 하고, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 받아들여서는 안된다. 그 보다, 본 발명의 범위는 아래의 청구범위에 의해서 정의된다. 그러므로, 이들 청구범위의 범위 및 사상 내에서 비롯된 모든 것을 본 발명으로서 청구한다.

도면

도면1



도면2



도면3

