



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2485751 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 38/10 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.10.20
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.05.21
(86)	Europeisk søknadsnr	10822514.5
(86)	Europeisk innleveringsdag	2010.10.05
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.08.15
(30)	Prioritet	2009.10.05, US, 248650 P
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
	Utpekte samarbeidende stater	BA ME
(73)	Innehaver	Northwestern University, 633 Clark Street, Evanston, IL 60208, US-USA
(72)	Oppfinner	Moskal, Joseph., 801 Central Street, Evanston IL 60201, US-USA
(74)	Fullmektig	Plougmann & Vingtoft, Postboks 1003 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	GLYX-13 for anvendelse i en metode for behandling av refraktær depresjon
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A2-02/072609 US-A- 6 107 271 US-A1- 2005 037 433 US-A1- 2005 118 286 US-A1- 2006 241 046 BURGDORF J S ET AL: "Uncovering the molecular basis of positive affect using rough-and-tumble play in rats: A role for the NMDA receptor and implications for depression", SOCIETY FOR NEUROSCIENCE ABSTRACT VIEWER AND ITINERARY PLANNER, vol. 38, 2008, XP009166609, & 38TH ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY-FOR-NEUROSCIENCE; WASHINGTON, DC, USA; NOVEMBER 15 -19, 2008 BURGDORF J S ET AL: "The antidepressant and anxiolytic properties of GLYX-13: A novel NMDA receptor glycine site functional partial agonist", ABSTRACTS OF THE ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, SOCIETY FOR NEUROSCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 40, 1 January 2010 (2010-01-01), XP009166603, ISSN: 0190-5295 Burgdorf et al.: "GLYX-13, an NMDA Receptor Glycine-Site Functional Partial Agonist, Induces Antidepressant-Like Effects Without Ketamine-Like Side Effects", , 3 December 2012 (2012-12-03), XP002691138, Retrieved from the Internet: URL: http://www.nature.com/npp/journal/vaop/naam/pdf/npp2012246a.pdf [retrieved on 2013-01-29] ABRAMETS I I: "Neurophysiological and neurochemical aspects of the effects of antidepressants and mood stabilizers", NEUROPHYSIOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS-PLENUM PUBLISHERS, NE, vol. 40, no. 1, 25 June 2008 (2008-06-25), pages 64-78, XP019612457, ISSN: 1573-9007

KRYSTAL J H ET AL: "NMDA AGONISTS AND ANTAGONISTS AS PROBES OF GLUTAMATERGIC DYSFUNCTION AND PHARMACOTHERAPIES IN NEUROPSYCHIATRIC DISORDERS", HARVARD REVIEW OF PSYCHIATRY, ST. LOUIS, MO, US, vol. 7, no. 3, 1 January 1999 (1999-01-01) , pages 125-143, XP008048548, ISSN: 1067-3229, DOI: 10.1093/HRP/7.3.125

PITTENGER CHRISTOPHER ET AL: "The NMDA receptor as a therapeutic target in major depressive disorder.", CNS & NEUROLOGICAL DISORDERS DRUG TARGETS APR 2007, vol. 6, no. 2, April 2007 (2007-04), pages 101-115, XP009166640, ISSN: 1871-5273

ZHANG ET AL.: 'A NMDA receptor glycine site partial agonist, GLYX-13, that simultaneously enhances LTP and reduces LTD at Schaffer collateral-CA1 synapses in hippocampus.' NEUROPHARMACOLOGY vol. 55, no. 7, 2008, pages 1238 - 1250, XP008156004

Beskrivelse

REFERANSE TIL BESLEKTEDE SØKNADER

[0001] Denne søknaden krever prioritet fra U.S. patent søknad nr. 61/248,650 inngitt
5 5te oktober 2009.

BAKGRUNN

[0002] Sentralnervesystemet (CNS) hos pattedyr anvender mange neuroaktive
10 peptider for å effektivere spesialisert signalisering i hjernen og ryggmargen inkludert
de neuroaktive peptidene somatostatin, kolesystokinin, VIP, substans P, enkefalin,
neuropeptid Y (NPY), nevrotensin, TRH, CCK, og dynorfin. (se generelt The Biochemical
Basis for Neuropharmacology, Cooper, Bloom og Roth, 5. utg., Oxford University
Press, New York, 1986). Den nøyte klarlegging av de komplekse signalveiene som
15 opererer i CNS, har ført til identifisering av spesifikke reseptorer som moduleres av
disse neuroaktive peptidene som presenterer viktige terapeutiske mål for ulike lidelser
knyttet til CNS.

[0003] N-metyl-D-aspartat (NMDA)-reseptoren (NMDAR), er én slik reseptor som har
vært implisert i nevrodegenerative lidelser inkludert slag-relaterte hjernecelledød,
20 konvulsive lidelser, og læring og hukommelse. NMDAR spiller også en sentral rolle i
modulering av normal synaptisk transmisjon, synaptisk plastisitet, og eksitotoksisitet i
det sentrale nervesystemet. NMDAR er videre involvert i langsiktig potensering (LTP).
LTP er den vedvarende styrkingen av nevralt forbindelser som ligger til grunn for
læring og hukommelse (Se Bliss og Collingridge, 1993, Nature 361: 31-39).

[0004] To generelle klasser av glutamat-reseptorer har blitt karakterisert i
25 sentralnervesystemet (CNS). De er de metabotrope glutamatreseptorer som tilhører
den G-protein koblede reseptorfamilien av signalproteiner, og de ionotrope
glutamatreseptorene (Muir og Lees, Stroke, 1995, 26, 503-513). Den ionotropiske
klassen er videre inndelt i AMPA, kainat, NMDA-reseptorsubtyper og etter de selektive
30 ligandene som aktiverer dem.

[0005] Ionotrope glutamatreseptorer inneholder en ligandstyrt ione kanal, som tjener
som en modulator av synaptisk transmisjon. NMDA-reseptoren (NMDAR) er unik ved at
det krever både glutamat og glycin for aktivering og etterfølgende åpning av
ione kanalen (Mothet et al. Proc. Nat. Acad Sci., 2000, 97, 4926-4931). Nyere studier
35 har vist at glycin-setet kan tjene til å modulere aktiviteten av glutamat-synaptisk
transmisjon ved NMDAR. Således kan både glutamat- og glycinseter bli anvendt for
modulering av NMDAR aktivitet.

[0006] NMDAR aktiveres av bindingen av NMDA, glutamat (Glu), og aspartat (Asp). Den blir kompetitivt motvirket av D-2-amino-5-fosfono-valerianat (D-AP5; D-APV) og ikke-kompetitivt motvirket av fenyl-syklidin (PCP) og MK-801. Mest interessant er at NMDAR blir ko-aktivert av glysin (Gly) (Kozikowski et al, 1990, Journal of Medicinal Chemistry 33: 1561-1571). Bindingen av glycin finner sted ved et allosterisk regulatorisk sete på NMDAR-komplekset, og dette øker både varigheten av kanalens tid åpen, og hyppigheten av åpningen av NMDAR-kanalen.

[0007] Nyere kliniske studier har identifisert NMDAR som et nytt mål av stor interesse for behandling av depresjon. Disse studier som er utført ved hjelp av kjente NMDAR antagonister CPC-101606 og ketamin har vist betydelige reduksjoner i "Hamilton Depression Rating Score" hos pasienter med refraktær depresjon. Selv om effekten var betydelig, men bivirkningene ved å bruke disse NMDAR antagonistene var alvorlige.

[0008] NMDA-modulerende småmolekylagonist- og antagonist-forbindelser har blitt utviklet for potensiell terapeutisk anvendelse. Imidlertid er mange av disse forbundet med meget smale terapeutiske indekser og uønskede bivirkninger inkludert hallusinasjoner, ataksi, irrasjonell atferd, og signifikant toksisitet, som alle begrenser deres effektivitet og/eller sikkerhet.

[0009] Videre vil 50% eller mer av pasienter med depresjon ikke oppleve en tilstrekkelig terapeutisk respons til kjente administrerte legemidler. I de fleste tilfeller er to eller flere uker med medikamentell behandling nødvendig før meningsfylt bedring observeres, som nevnt i en åpen studie om medikamentell behandling av depresjon. (Rush et al, Am J. Psychiatry 2006, 163:1905). Det er for øyeblikket ingen enkel, effektiv behandling av depresjon, angst og andre relaterte sykdommer.

[0010] Således er det fortsatt et behov for forbedrede behandlinger av depresjon, angst og/eller andre relaterte sykdommer med forbindelser som gir økt effekt og reduserte uønskede bivirkninger.

SAMMENDRAG

[0011] Den foreliggende oppfinnelse er definert i kravene. Foreliggende oppfinnelse er rettet mot GLYX-13 for anvendelse i en metode for behandling av refraktær depresjon i en behandlingsresistente pasient med behov derav, hvor GLYX-13 skal administreres til nevnte pasient, hvorved pasienten i det vesentlige avlastes for i det minste ett symptom innen ca 14 dager.

[0012] Følgelig beskrives administrering av forbindelser som funksjonelt interagerer med glycin-setet på NMDAR for behandlingen av depresjon, angst og andre relaterte sykdommer.

[0013] Administreringen av en di-pyrrolidin peptidforbindelse omfattende sekvensen Thr-Pro-Pro-Thr (SEQ ID NO: 13) eksemplifisert ved formel I (GLYX-13) for behandlingen av depresjon, angst og andre relaterte sykdommer i pattedyr inkludert mennesker, beskrives også.

5 [0014] Også beskrevet her er en metode for akutt behandling av symptomer på depresjon hos en pasient med behov for det, omfattende administrering av en effektiv mengde av GLYX-13, for eksempel i en enkelt enhetsdose. Slike fremgangsmåter kan avlaste pasienten fra minst ett symptom på depresjon ca 2 uker eller mindre, en uke eller mindre, en dag eller mindre, 1 time eller mindre (for eksempel 15 minutter eller
10 mindre, en halv time eller mindre, etter nevnte administrering.

[0015] Ytterligere beskrevet her er en fremgangsmåte for behandling av refraktær depresjon hos en pasient som er resistente mot andre antidepressiva, hvor pasienten administreres en effektiv mengde av GLYX å lindre minst ett symptom av depresjon. I visse utførelsesformer er den behandlingsresistente pasienten identifisert som en som
15 har blitt behandlet med minst to typer av antidepressive behandlinger før administrasjon av GLYX-13. I andre utførelsesformer er den behandlingsresistente pasient én som er identifisert som uvillig eller uten evne til å tolerere en bivirkning fra minst én type antidepressiv behandling.

20 KORT BESKRIVELSE AV FIGURENE

[0016]

Figur 1 viser eksempler på GLYX peptider;

Figur 2 viser resultatene av Porsolt tester utført for å få tilgang til
25 antidepressiv virkning av GLYX-13;

Figur 3 viser resultatene av Porsolt tester utført for å få tilgang til antidepressiv virkning av GLYX-13 over et konsentrasjonsområde ved enten intravenøs eller subkutan administrering;

Figur 4 viser resultatene av Porsolt tester utført for å få tilgang på
30 antidepressiv virkning av GLYX-13 administrert til den mediale prefrontale korteks;

Figur 5 viser resultatene av Porsolt tester utført for å evaluere den
35 antidepressive virkningen av GLYX-13 sammenlignet med et permutasjonspeptid;

Figur 6 viser resultatene av åpne felt-tester utført for å få tilgang på angstdempende virkning av GLYX-13;

Figur 7 viser resultatene av åpne felt-tester for å få tilgang på angstdempende virkning av GLYX-13 over et område av konsentrasjoner ved enten intravenøs eller subkutan administrering;

Figur 8 viser resultatene av Porsolt tester og åpne felttester utført for å finne ut hvor lang tid den antidepressive og angstdempende virkningen av GLYX-13 vedvarer;

Figur 9 viser qrt-PCR analyse av NDMA kortikal mRNA ekspresjon etter "Rough-og-Tumble" lek (RTP);

Figur 10 viser at RTP atferd utløser høye rate av 50-kHz ultralyd vokalisering og at sosialt nederlag utløser høy forekomst av aversjons 22 kHz ultralyd vokaliseringer; og

Figur 11 viser effektene av GLYX-13 på RTP i rotter.

DETALJERT BESKRIVELSE

[0017] Depresjon er et vanlig psykologisk problem, og refererer til en mental tilstand av nedstemthet og aversjon mot aktivitet. Ulike symptomer assosiert med depresjon inkluderer vedvarende engstelige eller triste følelser, følelse av hjelpeløshet, håpløshet, pessimisme og/eller verdiløshet, lav energi, rastløshet, irritabilitet, tretthet, tap av interesse i lystbetonte aktiviteter eller hobbyer, overdreven søvn, overspising, tap av appetitt, Insomnia, tanker om selvmord, og selvmordsforsøk. Tilstedeværelsen, alvorlighetsgrad, frekvens og varighet av de ovennevnte symptomene varierer fra sak til sak.

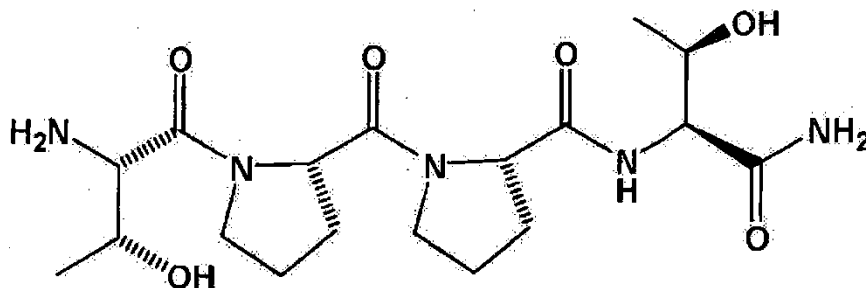
[0018] De vanligste depresjonforholdene omfatter "Major Depressive Disorder" og dystymisk lidelse. Andre depresjonforhold utvikler seg under unike omstendigheter. Slike depresjonforhold inkluderer, men er ikke begrenset til psykotisk depresjon, postpartum depresjon, sesongmessig affektive forstyrrelser (SAD), stemningslidelse, depresjoner forårsaket av kroniske medisinske tilstander som kreft eller kronisk smerte, kjemoterapi, kronisk stress, posttraumatisk stresslidelse, og bipolar lidelse (eller manisk depressiv lidelse).

[0019] Refraktær depresjon forekommer hos pasienter som lider av depresjon som er resistente mot standard farmakologisk behandling, inkludert trisykliske antidepressiva, MAO-hemmere, SSRI og dobbel og trippel opptakshemmere og/eller angstdempende medisiner, samt ikke-farmakologiske behandlinger som psykoterapi, elektrokonvulsiv terapi, vagus nerve stimulering og/eller transkranial magnetisk stimulering. En behandlingsresistent-pasient kan bli identifisert som en som ikke klarer å oppleve lindring av ett eller flere symptomer på depresjon (f. eks. vedvarende engstelige eller triste følelser, følelse av hjelpeløshet, håpløshet, pessimisme) til tross for gjennomgang av én eller flere standard farmakologiske eller ikke-farmakologiske behandling. I visse utførelsesformer, er en behandlings-resistent pasient én som ikke klarer å oppleve lindring av ett eller flere symptomer på depresjon til tross for behandling med to forskjellige antidepressiva. I andre utførelsesformer er en behandling-resistent pasient én som ikke klarer å oppleve lindring av ett eller flere symptomer på depresjon til tross for behandling med fire forskjellige antidepressiva. En behandlings-resistent pasient kan også bli identifisert som én som er uvillig eller ute av stand til å tolerere bivirkningene av en eller flere standard farmakologisk eller ikke-farmakologisk behandling. I visse utførelsesformer angår oppfinnelsen fremgangsmåter for behandling av refraktær depresjon ved administrering av en effektiv mengde av GLYX-13 til en behandlingsresistente pasient med behov for dette.

GLYX Peptider

[0020] Som anvendt her, refererer betegnelsen "GLYX peptid" til et peptid som har partiell agonist/antagonist-aktivitet mot NMDAR glycin-setet. GLYX peptider kan oppnås ved kjente rekombinante eller syntetiske metoder slik som de som er beskrevet i US-patentene 5.763.393 og 4.086.196 her inkorporert ved referanse. Eksempler på peptider er illustrert i figur 1. I noen utførelsesformer refererer GLYX til et tetrapeptid som har aminosyresekvensen Thr-Pro-Pro-Thr (SEQ ID NO: 13), eller L-treonyl-L-prolyl-L-prolyl- L-treoninamid.

[0021] For eksempel, refererer GLYX-13 til forbindelsen fremstilt som:



Formula I.

[0022] Også omfattet er polymorfer, hydrater, solvater, frie baser, egnede saltformer av GLYX 13 slik som, men ikke begrenset til, acetat-salt. Peptidet kan være på syklisert eller ikke-syklisert formen som nærmere beskrevet i US 5.763.393. Partiell agonist for glysin-setet av NMDAR er beskrevet i US 5,763,393, US 6,107,271, og Wood et al. NeuroReport, 19, 1059-1061, 2008.

Metoder

[0023] GLYX-13 kan virke hovedsakelig på NR2B-holdige NMDARer., og viser ikke de klassiske bivirkningene av kjente NMDAR modulatorer som CPC-101606 og ketamin. For eksempel viser *in vitro* studier at GLYX-13 kan markert øke langtidspotensering (LTP) mens den samtidig reduserer langtidsdepresjon (LTD) i organotypiske hippocampal kulturer i rotte.

[0024] I tillegg kan GLYX-13 ha bedre blod-hjerne barriere (BBB) penetrasjon i forhold til mange av de tidligere glysinsetet ligandene (Leeson & Iversen, J. Med Chem 37:4053-4067, 1994) og kan krysse BBB lett. I noen utførelses-former kan GLYX-13 eller en sammensetning omfattende GLYX-13 gi bedre i.v. *in vivo* potens og/eller hjernnivå konsentrasjon, i forhold til plasmanivåer.

[0025] I tillegg kan GLYX-13 ha en bred terapeutisk indeks sammenlignet med andre glysinsetet antagonister slik som L-701,324, eller andre glysinsetet antagonister som har smale terapeutiske indekser, som resulterer i et meget snevert doseområde mellom terapeutiske effekter og ataksi . For eksempel hadde L-701,324 krampestillende effekt ved doser som ga ataksi (Bristow, et al, JPET 279: 492-501, 1996). Tilsvarende hadde en serie av Merz forbindelser krampestillende effekt i doser som ga ataksi (Parsons, et al, JPET283: 1264-1275, 1997).

[0026] GLYX-13 kan gi en høy terapeutisk indeks. For eksempel kan GLYX-13 være terapeutisk effektiv for depresjon og/eller angst med et i.v. doseområde på omtrent 1 til omtrent 10 mg/kg. I noen utførelsesformer forekommer det ingen ataksi ved for eksempel en i.v. dose på 500 mg/kg.

[0027] Også beskrevet er anvendelse av et GLYX peptid eller peptider, alene eller i kombinasjon med ett eller flere andre antidepressive behandlinger, slik som trisykliske antidepressiva, MAO-I-er, SSRI-er, og doble og triple opptaksinhibitorer og/eller anxiolytiske legemidler for fremstilling av et medikament for behandling av depresjon, angst og/eller andre relaterte sykdommer, inkludert gi lindring fra depresjon, angst og forhindre tilbakefall av depresjon og angst. Eksempelvis medikamenter som kan brukes i kombinasjon med et GLYX peptid inkluderer Anafranil, Adapin, aventyl, Elavil, Norpramin, Pamelor, Pertofrane, Sinequan, Surmontil, Tofranil, Vivactil, Parnate, Nardil, Marplan, Celexa, Lexapro, Luvox, Paxil, Prozac, Zoloft, Wellbutrin, Effexor, Remeron, Cymbalta, Desyrel (trazodon), og Ludiomill.

[0028] Også beskrevet her er metoder for behandling av depresjon som inkluderer administrering av GLYX peptider i kombinasjon med (f.eks samtidig eller sekvensielt) andre ikke-farmakologiske behandlinger som psykoterapi, elektrokonvulsiv terapi, vagus nerve stimulering og/eller transkranial magnetisk stimulering.

[0029] En rekke av depresjonstilstander er ventet å bli behandlet i henhold til dette aspektet av oppfinnelsen uten å påvirke oppførsel eller motorisk koordinasjon, og uten å indusere eller fremme anfallsaktivitet. Eksempelvis depresjonstilstander som forventes å bli behandlet i henhold til dette aspektet av oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til, alvorlig depressiv lidelse, dystymi lidelse, psykotisk depresjon, postpartum depresjon, premenstruelt syndrom, premenstruelle dysforisk lidelse, sesongmessig affektive forstyrrelser (SAD), angst, stemningslidelser, depresjoner som skyldes kroniske medisinske tilstander slik som kreft eller kronisk smerte, kjemoterapi, kronisk stress, posttraumatiske stresslidelser, bipolar lidelse og (eller manisk depressiv lidelse). I tillegg opplever pasienter som lider av noen form for depresjon ofte angst. Ulike symptomer assosiert med angst inkluderer blant andre frykt, panikk, hjertebank, kortpustethet, tretthet, kvalme og hodepine. Det er ventet at fremgangsmåtene ifølge foreliggende tilstand kan brukes til behandling av angst, eller et hvilken som helst av symptomene derav.

[0030] I tillegg forventes en rekke andre neurologiske tilstander å bli behandlet i henhold til fremgangsmåtene ifølge oppfinnelsen. Eksempelvis tilstander inkluderer, men er ikke begrenset til, en læreforstyrrelser, autistisk lidelse, oppmerksomhetssvikt hyperaktivitetslidelse, Tourettes syndrom, fobier, post-traumatisk stresslidelse, demens, AIDS-demens, Alzheimers sykdom, Parkinsons sykdom, Huntingtons sykdom, spastisitet, myoklonus, muskelspasma, bipolar lidelse, en rusmiddelmisbrukslidelse, urininkontinens, og schizofreni.

[0031] Også beskrevet her er fremgangsmåter for behandling av depresjon hos behandlingsresistente pasienter eller behandling av refraktær depresjon, f. eks. pasienter som lider av en depresjonslidelse som ikke reagerer, og/eller ikke har

reagert på tilfredsstillende runder av minst en, eller i det minste to, andre antidepressive forbindelser eller terapeutika. For eksempel beskrives her en fremgangsmåte for behandling av depresjon i en behandlingsresistente pasient, som omfatter a) eventuelt identifisering av pasienten som behandlingsresistente og b) administrering av en effektiv dose av GLYX-13 til nevnte pasient.

[0032] Beskrevet her, i en utførelsesform, er fremgangsmåter for akutt behandling av symptomer på depresjon hos en pasient med behov derav, omfattende administrering av en effektiv mengde av GLYX-13, for eksempel i en enkelt enhetsdose. Slike fremgangsmåter kan lindre minst ett symptom på depresjon hos pasienten ca 2 uker eller mindre, en uke eller mindre, en dag eller mindre, 1 time eller mindre (f. eks. 15 minutter eller mindre, en halv time eller mindre, etter nevnte administrering. For eksempel, er her tilveiebrakt en fremgangsmåte som omfatter å administrere en effektiv mengde av GLYX-13 til en pasient som lider av en depresjon, hvor minst ett symptom på en depresjon blir betydelig lindret hos nevnte pasient vesentlig tidligere enn etter den første administrering av GLYX-13, sammenlignet med den samme pasienten administrert en ikke-GLYX-13 antidepressiv forbindelse.

[0033] Symptomer på depresjon, og lindring av samme, kan fastslås av en lege eller psykolog, f. eks. ved en mental tilstandseksaminering. Symptomer inkluderer tanker om håpløshet, selvskading eller selvmord og/eller et fravær av positive tanker eller planer.

Dosering

[0034] Doseringen av hvilken som helst sammensetninger beskrevet her vil variere avhengig av symptomene, alder og kroppsvekt av pasienten, arten og alvorlighetsgraden av sykdommen som skal behandles eller forhindres, administreringsruten og formen av den foreliggende sammensetning. Hvilken som helst av de foreliggende formuleringer kan administreres i en enkeltdose eller i oppdelte doser. Doseringer av preparatene kan lett bestemmes ved teknikker som er kjent for fagfolk innen teknikken eller som beskrevet her.

[0035] En terapeutisk effektiv mengde av GLYX peptid påkrevet for anvendelse i terapi varierer med formen av depresjonstilstanden som behandles, den ønskede lengden av behandlingstiden, alder og tilstanden til pasienten, og er i siste instans bestemt av behandlende lege. Generelt vil imidlertid doser anvendt for behandling av voksne mennesker er vanligvis i området fra omtrent 0,01 mg/kg til omtrent 1000 mg/kg per dag. Dosen kan være omtrent 0,1 mg/kg til omtrent 100 mg/kg per dag. Den ønskede dose kan hensiktsmessig gis i en enkelt dose eller som flere doser administrert ved passende intervaller, for eksempel som to, tre, fire eller flere sub-doser per dag.

[0036] En effektiv dose eller mengde, og hvilken som helst eventuelle innvirkning på tidspunktet for administrering av formuleringen, kan trenge å bli identifisert for en hvilken som helst bestemt sammensetning av den foreliggende oppfinnelse. Dette kan oppnås ved rutinemessig forsøk som beskrevet her, ved bruk av en eller flere grupper av dyr (fortrinnsvis minst 5 dyr per gruppe), eller i humane studier dersom det er passende. Effektiviteten av en hvilken som helst foreliggende sammensetning og fremgangsmåte for behandling eller forebygging kan vurderes ved å administrere preparatet og vurdere effekten av administrasjon ved å måle en eller flere gjeldende indekser, og sammenligne verdiene etter behandling av disse indeksene med verdiene for de samme indekser før behandling.

[0037] Det nøyaktige tidspunkt for administrering, og mengden av en hvilken som helst bestemt foreliggende sammensetning som vil gi den mest effektive behandling i en gitt pasient vil avhenge av aktiviteten, farmakokinetikk, og biotilgjengeligheten av en foreliggende sammensetning, fysiologisk tilstand hos pasienten (inkludert alder, sex, sykdomstypen og stadium, generell fysisk tilstand, responsevne til en gitt dose og typen av medikament), administreringsvei, og lignende. De retningslinjer som presenteres her kan bli brukt for å optimalisere behandlingen, f. eks. å bestemme den optimale tid og/eller mengde av administrering, noe som ikke vil kreve mer enn rutinemessig eksperimentering som består i å overvåke individet, og justere dosen og/eller timingen.

[0038] Mens individet blir behandlet kan tilstanden til pasienten bli overvåket ved å måle en eller flere av de relevante indekser ved forutbestemte tidspunkter i løpet av behandlingsperioden. Behandling, inkludert sammensetning, mengder og tider for administrering og formulering kan bli optimalisert i henhold til resultatene av en slik overvåking. Pasienten kan periodisk bli revurdert for å bestemme graden av forbedring ved å måle de samme parametrene. Justeringer i mengden(e) administrert av foreliggende sammensetning, og muligens til tidspunktet for administrering kan bli gjort basert på disse revurderinger.

[0039] Behandlingen kan startes med mindre doser som er mindre enn den optimale dose av forbindelsen. Deretter kan dosen økes med små trinn inntil den optimale terapeutiske effekt er oppnådd.

[0040] Bruken av de foreliggende blandinger kan redusere den nødvendige dosering for et hvilken som helst individuelt middel inneholdt i preparatene, fordi start og varighet av effekt av de forskjellige midler kan bli inkludert.

[0041] Toksisitet og terapeutisk effekt av foreliggende blandinger kan bestemmes ved standard farmasøytiske prosedyrer f. eks. i cellekulturer eller forsøksdyr, for å bestemme LD50 og ED50.

[0042] De oppnådde data fra cellekulturanalyser og dyrestudier kan benyttes i formulering av en rekke dosering for bruk i mennesker. Doseringen av en hvilken som helst foreliggende sammensetning ligger fortrinnsvis innenfor et område av sirkulerende konsentrasjoner som inkluderer ED50 med liten eller ingen toksisitet. Doseringen kan variere innen dette området avhengig av den doseringsform som anvendes og administrasjonsveien som benyttet. For sammensetningene i ifølge foreliggende oppfinnelse, kan den terapeutisk effektive dose innledningsvis beregnes fra cellekulturanalyser.

Formuleringer

[0043] GLYX peptidene kan administreres på ulike måter, avhengig av deres påtenkte bruk, slik det er velkjent innen faget. For eksempel, hvis preparatene skal administreres oralt, kan de formuleres som tabletter, kapsler, granuler, pulvere eller siruper. Alternativt kan formuleringene administreres parenteralt som injeksjoner (intravenøse, intramuskulære eller subkutane), dryppe-infusjonspreparater eller suppositorier. For påføring via øyets slimhinne kan sammensetningene ifølge foreliggende oppfinnelse formuleres som øyedråper eller øyesalver. Disse formuleringene kan fremstilles på konvensjonell måte, og, hvis ønsket, kan sammensetningene blandes med ethvert konvensjonelt additiv, slik som en ekspiens, et bindemiddel, en oppbrytende middel, et smøremiddel, en korrigen, et oppløsningsmiddel, et suspensjonsmiddel, et emulgeringsmiddel eller et belegningsmiddel.

[0044] DNA som koder for GLYX peptider, inkorporert i en ekspresjonsvektor, kan også administreres ved hjelp av en hvilken som helst av de kjente metodene for administrasjon, for å uttrykke GLYX peptidene *in vivo*.

[0045] I formuleringene beskrevet her kan fuktemidler, emulgeringsmidler og smøremidler, slik som natriumlaurylsulfat og magnesiumstearat, samt farvestoffer, frigjøringsstoffer, belegningsmidler, søtningsstoffer, smaksstoffer og parfymende midler, konserveringsmidler og antioksidanter være tilstede i de formulerte agens.

[0046] Foreliggende preparater kan være egnet for oral, topisk (inkludert bukkal og sublingual), rektal, vaginal, aerosoler og/eller parenteral administrering. Formuleringene kan hensiktsmessig bli presentert i enhetsdoseform og kan fremstilles ved alle metoder som er velkjent i farmasifaget. Den mengde av sammensetning som kan kombineres med et bæreremateriale for å produsere en enkelt dose varierer avhengig av individet som behandles, og den spesielle administrasjonsmåten.

[0047] Fremgangsmåter for fremstilling av disse formuleringene inkluderer trinnet med å bringe i forening sammensetninger ifølge den foreliggende oppfinnelse med bæreren og, eventuelt, ett eller flere hjelpeingredienser. Generelt blir formuleringene fremstilt ved uniformt og nært å bringe i forening agens med flytende bærere eller finfordelte faste bærere, eller begge deler, og deretter, om nødvendig, forme produktet.

[0048] Formuleringer egnet for oral administrering kan være i form av kapsler, kapsler med pulver, piller, tabletter, pastiller (ved hjelp av en smakstilsatt basis, vanligvis sukrose og akasie eller tragant), pulvere, granuler, eller som en løsning eller en suspensjon i en vandig eller ikke-vandig væske, eller som en olje-i-vann eller vann-i-olje flytende emulsjon, eller som en eliksir eller sirup, eller som pastiller (ved anvendelse av en inert basis, slik som gelatin og glyserin, eller sukrose og akasie), som hver inneholder en forutbestemt mengde av en foreliggende sammensetning derav, som en aktiv bestanddel. Sammensetninger ifølge foreliggende oppfinnelse kan også bli administrert som en bolus, latverge eller pasta.

[0049] I faste doseringsformer for oral administrering (kapsler, tabletter, piller, dragéer, pulvere, granuler og lignende), blandes foreliggende sammensetning med en eller flere farmasøytisk akseptable bærere, slik som natriumsitrat eller dikalsiumfosfat, og/eller et hvilken som helst av de følgende: (1) fyllstoffer eller drøyemidler, for eksempel stivelser, laktose, sukrose, glukose, mannitol og/eller kiseltsyre; (2) bindemidler, slik som for eksempel karboksymetylcellulose, alginater, gelatin, polyvinyl-pyrrolidon, sukrose og/eller akasie; (3) fuktemidler, som for eksempel glycerol; (4) desintegreringsmidler, som for eksempel agar-agar, kalsiumkarbonat, potet eller tapioka-stivelse, alginsyre, visse silikater og natriumkarbonat; (5) løsningsretarderende midler, slik som parafin; (6) absorpsjonsakseleratorer, slik som kvaternære ammoniumforbindelser; (7) fuktemidler, slik som for eksempel, acetyl alkohol og glycerol-monostearat; (8) absorbenter, slik som kaolin og bentonittleire; (9) smøremidler, for eksempel et talkum, kalsiumstearat, magnesiumstearat, faste polyetylenglykoler, natriumlaurylsulfat og blandinger derav; og (10) fargemidler. I tilfellet med kapsler, tabletter og piller, kan preparatene også omfatte bufringsmidler. Faste preparater av en lignende type kan også anvendes som fyllstoffer i myke og hardfylte gelatinkapsler ved anvendelse av slike ekspienser som laktose eller melkesukker, så vel som høymolekylære polyetylenglykoler og lignende.

[0050] En tablett kan lages ved kompresjon eller støping, eventuelt med en eller flere hjelpeingredienser. Komprimerte tabletter kan fremstilles ved hjelp av bindemiddel (for eksempel gelatin, eller hydroksypropyl-metylcellulose), smøremiddel, inert fortynningsmiddel, konserveringsmiddel, sprengningsmiddel (for eksempel, natriumstivelse-glykolat eller tverrbundet natriumkarboksymetylcellulose), overflateaktivt eller

dispergerende middel. Støpte tabletter kan fremstilles ved støping i en egnet maskin av en blanding av foreliggende sammensetning som er fuktet med et inert flytende fortynningsmiddel. Tabletter og andre faste doseringsformer, slik som dragéer, kapsler, piller og granuler, kan eventuelt være med hakk eller fremstilt med belegg og skall, slik som enteriske belegg og andre belegg som er velkjent innen den farmasøytiske formulerings teknologien.

[0051] Flytende doseringsformer for oral administrering inkluderer farmasøytisk akseptable emulsjoner, mikroemulsjoner, løsninger, suspensjoner, siruper og eliksirer. I tillegg til foreliggende sammensetning, kan de flytende doseringsformene inneholde inerte fortynningsmidler som vanligvis benyttes innen teknikken, slik som for eksempel, vann eller andre løsemidler, løseliggjørende midler og emulgeringsmidler, som for eksempel etylalkohol, isopropylalkohol, etylkarbonat, etylacetat, benzylalkohol, benzylbenzoat, propylenglykol, 1,3-butylenglykol, oljer (særlig bomullsfrø, jordnøtt, mais, kim, olivenolje, ricinusolje og sesamoljer), glyserol, tetrahydrofurfurylalkohol, polyetylen glykoler og fettsyreestere av sorbitan, syklodekstriner og blandinger derav.

[0052] Suspensjoner kan, i tillegg til foreliggende sammensetning, inneholde suspenderingsmidler som for eksempel etoksylerte isostearyl-alkoholer, polyoksyetylen-sorbitol og sorbitan-estere, mikrokrySTALLinsk cellulose, aluminium metahydroxide, bentonitt, agar-agar og tragant og blandinger derav.

[0053] Formuleringer for rektal eller vaginal administrering kan presenteres som en stikkpille, som kan fremstilles ved å blande en foreliggende sammensetning med en eller flere egnede ikke-irriterende eksipienser eller bærere innbefatter for eksempel kakaosmør, polyetylen glykol, en stikkpille voks eller et salisylat, og som er fast ved romtemperatur, men flytende ved kroppstemperatur, og som derfor vil smelte i kroppens hulrom og frigjør det aktive middel. Formuleringer som er egnet for vaginal administrasjon omfatter også pessarer, tamponger, kremer, geler, pastaer, skum eller spray formuleringer som inneholder slike bærere som er kjent innen teknikken for å være passende.

[0054] Doseringsformer for transdermal administrering av en foreliggende sammensetning inkluderer pulver, spray, salver, pastaer, kremer, lotion, geleer, løsninger og plaster.

[0055] For topikal okulær tilførsel kan sammensetningene ifølge denne oppfinnelsen ta form av løsninger, geler, salver, suspensjoner eller faste innsatser, formulert slik at en enhetsdose omfatter en terapeutisk effektiv mengde av den aktive bestanddelen eller et multiplum derav i tilfellet en kombinasjonsbehandling.

[0056] Farmasøytiske sammensetninger egnet for parenteral administrasjon omfatter en foreliggende sammensetning i kombinasjon med ett eller flere farmasøytisk

akseptabel steril isotonisk vandige eller ikke-vandige løsninger, dispersjoner, suspensjoner eller emulsjoner, eller sterile pulvere som kan bli rekonstituert til sterile injiserbare løsninger eller dispersjoner like før bruk, noe som kan inneholde antioksidanter, buffere, bakteriestater, oppløste stoffer som gjør formuleringen isotonisk med blodet hos den tiltenkte mottaker, eller suspenderende- eller fortykningsmidler.

[0057] Eksempler på egnede vandige og ikke-vandige bærere som kan anvendes i de farmasøytiske sammensetningene omfatter vann, etanol, polyoler (slik som glyserol, propylenglykol, polyetylen-glykol, og lignende), og egnede blandinger derav, vegetabiliske oljer, slik som olivenolje, og injiserbare organiske estere, slik som etyl-oleat og syklodekstriner. Riktig fluiditet kan opprettholdes, for eksempel ved bruk av beleggingsmaterialer, slik som lecitin, ved opprettholdelse av den nødvendige partikkelstørrelse i tilfellet med dispersjoner og ved bruk av overflateaktive midler.

[0058] Foreliggende oppfinnelse har multiple aspekter, illustrert ved de følgende ikke-begrensede eksempler.

EKSEMPLER

Antidepressive Virkning av GLYX-13 i Rotter

Eksempel 1

Metoder

[0059] For evalueringen av de antidepressive virkningene av GLYX-13, ble effekten av GLYX-13 i Porsolt test for depresjon undersøkt hos rotter. Porsolt testing er den mest anvendte test for vurdering av depresjon i dyremodell. Porsolt testing, også kjent som Tvunget Svømme Test, er basert på et atferdstrekk som er følsomt for endringer i affektiv tilstand. I løpet av denne test plasseres dyret i en tank (18 cm diameter x 45 cm høyde) fylt til 30 cm med 22-23 ° C vann. Etter å ha plassert dyret i tanken, måles tidslengden hvor rotten er immobil når det ikke lenger kjemper. Porsolt testen er basert på det faktum at antidepressiva øker latenstiden til ubevegelighet og redusere tiden som rotten er ubevegelig. I de fleste tilfeller skjer dette ved antidepressive doser som ikke i seg selv øker muskelaktiviteten. Tolkningen av Porsolt test er at antidepressiva gjeninnsetter aktive mestringsmekanismer og redusere den passive immobilitet fremkalt av stress.

[0060] For å evaluere effektiviteten av GLYX-13 som antidepressiva, ble tre måneder gamle FBNF1 rotter delt inn i to grupper på ni dyr. Den første gruppen av rotter ble injisert intravenøst med 10 mg/kg GLYX-13 og den andre gruppe av dyr ble injisert

intravenøst med PBS vehikkel (1 ml/kg) på en blind måte via kroniske subdurale femorale vene tilgangsporter. Begge grupper av dyr ble injisert 10 til 15 minutter før starten av testingen.

[0061] For Porsolt testing fikk dyr en 15 minutters pre-test tilvenning i tanken for å indukere innlært hjelpeløshet på dag én. Etter dette ble dyrene på den etterfølgende dagen, injisert med GLYX-13 eller vehikkel 10 til 15 minutter før de ble plassert i tanken for en 5 minutters testperiode. Etter å ha plassert dyret i tanken, måles tidslengden hvor rotten er immobil når det ikke lenger kjemper (Gjennomsnittlig Immobilitetstid). Reduksjon i Gjennomsnittlig Immobilitetstid er et mål på effektiviteten av antidepressivet.

Resultater

[0062] Som vist i figur 2 ble Gjennomsnittlig Immobilitetstid av en gruppe dyr forbehandlet med IV injeksjoner av PBS Vehikkel (1 ml/kg) høyere enn Gjennomsnittlig Immobilitetstid for gruppen av rotter forbehandlet med IV injeksjoner av GLYX-13 (10 mg/kg) (Fig. 1). GLYX-13 produserte en antidepressiv-lignende effekt i Porsolt test med en $56,4 \pm 4,6\%$ reduksjon (Gjennomsnitt $\pm$ SEM) i flytingen i forhold til PBS vehikkel ($P < 0,0001$). Derfor forutsier data fra Porsolt test effektiviteten av GLYX-13 som antidepressiva.

Eksempel 2

Metoder

[0063] Et andre eksperiment ble utført på samme måte som i Eksempel 1, bortsett fra at 2 til 3 måneders Sprague-Dawley rotter ble anvendt, og behandlet med enten intravenøse (1, 3, 10, 32 mg/kg), subkutane (1, 3, 10, 32, 56, 100 mg/kg) injeksjoner av GLYX-13 eller saltvannsvehikkel (1 mg/ml) 15 (i.v.) eller 20 (s.c.) min før starten av den endelige 5 min testsesjonen. Ketamin (10 mg/kg i.p.) ble gitt 60 min før starten av testingen (Garcia et al., (2008) Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 32, 140-144). Subkutan administrering av 10 mg/kg ketamin, etterfulgt av testing etter 20 min etter dosering produserte alvorlige dissosiative bivirkninger, slik som vist i figur 3.

Resultater

[0064] Gjennomsnittlig Immobilitetstid for gruppen av rotter forbehandlet med IV injeksjoner eller subkutan administrering av PBS vehikkel var høyere sammenlignet med Gjennomsnittlig Immobilitetstid for gruppen av rotter forbehandlet med IV injeksjoner av GLYX-13 (fig 3, 0: $127,7 \pm 20,4$, 2: $84,9 \pm 15,0$; 3: $66,14 \pm 27,53$, 10: $60,6 \pm 14,7$, 32: $87,19 \pm 17,85$). GLYX-13 gitt intravenøst produserte en

antidepressiv-lignende effekt i Porsolt test ved alle konsentrasjoner, med en $50 \pm 10\%$ maksimal reduksjon (Gjennomsnitt $\pm$ SEM) i flytingen i forhold til saltvannsvehikkel ($P < 0,01$). GLYX-13 administrert subkutant produsert en antidepressiv-lignende effekt i Porsolt test ved alle konsentrasjoner, med en $43 \pm 7\%$ maksimal reduksjon (gjennomsnitt $\pm$ SEM) i flytingen i forhold til saltvannsvehikkel ($P < 0,01$) (0:142,4 $\pm$ 15,6 ; 1:135,5 $\pm$ 22,0; 3:100,2 $\pm$ 15,7, 10:76,9 $\pm$ 9,7, 32:84.7.19 $\pm$ 11,6). Reduksjon i Gjennomsnittlig Immobilitetstid er et mål på effektiviteten av antidepressiva; dermed fungerer GLYX-13 som et antidepressivum når det gis intravenøst eller subkutant.

Eksempel 3

Metoder

[0065] For å bestemme om GLYX-13 virker i et område av hjernen som er klinisk relevante for depresjon, ble GLYX-13 administrert til enten den mediale prefrontale cortex (MPFC), som er forbundet med humør og depresjon, eller til den motoriske cortex (figur 4.). Gjennomsnittlig tid tilbrakt immobil i Porsolt testen ble bestemt for grupper på 10 tre måneder gammel hann Fisher Brown Norge F1 (FBNF1) rotter forbehandlet med en enkelt injeksjon av GLYX-13 (1, 10 ug/side) eller en enkel saltvannsvehikkel injeksjon (0,5 ul/1 min) bilateralt i mediale prefrontale cortex eller motorisk cortex (dorsal kontroll) hos dyr med kirurgisk implanterte kronisk inneliggende kanyler rettet mot MPFC. Mikroinjeksjoner ble utført en uke etter operasjonen, og Porsolt testing ble gjennomført 20 min etter injeksjon. Dyrene fikk en enkel 15 min treningssvømmeøkt én dag før dosering.

Resultater

[0066] Som vist i Fig. 4, produserte GLYX-13 sprøytet inn i MPFC en antidepressiv-lignende effekt i Porsolt test med $50 \pm 5\%$ reduksjon (gjennomsnitt $\pm$ SEM) i flytingen sammenliknet med en saltløsningskontroll eller med GLYX-13 injisert inn i motorisk cortex (dorsal kontroll) (Figur 4 0:115,2 $\pm$ 10,89; 0.1:108,77 $\pm$ 12.34; 1:53.46 $\pm$ 10,65, 10: 62.54 $\pm$ 8.7; Dorsal kontroll Vehikkel: 119,3 $\pm$ 10,6; GLYX-13:113,7 $\pm$ 13,1; Gjennomsnitt $\pm$ SEM) Disse resultatene indikerer at den antidepressiv effekt av GLYX-13 kan være mediert gjennom MPFC, et område i hjernen som er assosiert med humør og depresjon.

Eksempel 4

Metoder

[0067] For å finne ut om den antidepressive effekten av GLYX-13 var spesifikke for sekvensen av GLXY-13 peptidet, ble gjennomsnittlig tid (sek) brukt flytende i Porsolt testen bestemt i grupper på 12 tre-måneders gamle Sprague Dawley rotter administrert med GLYX-13 (TPPT-NH₂; 3 mg/kg, i.v. halevenen), et permutasjonspeptid (PTPT-NH₃; 3 mg/kg i.v. halevenen) eller 0,9% saltvannsvehikkel (1 ml/kg, i.v. halevenen). Administrasjon inntraff 60 minutter før den 5 min. testøkten. Dyr fikk en 15 min. treningssvømmeøkt en dag før dosering.

Resultater

[0068] Dyr administrert GLYX-13 viste en reduksjon i gjennomsnittlig flytetid på $70 \pm 5\%$ (Gjennomsnitt $\pm$ SEM) i forhold til dyrene som fikk en injeksjon av saltløsning eller et permutasjonspeptid (Fig 5.). Den antidepressive virkningen er derfor spesifikke for GLYX-13, og representerer ikke en artefakt av administrering av et peptid generelt.

Diskusjon

[0069] De dataene som er avbildet i Figurene 2-5 viser at GLYX-13 viser betydelige antidepressive-lignende egenskaper i rotter over en rekke doser og administrasjonsveier. I motsetning til selektive serotonin reopptakshemmere (SSRI), var GLYX-13s innsettende effekt bare minutter etter en enkelt dose. Disse resultatene gjør, sammen med de nyere kliniske studier med kjente NMDAR-molekyler, og det faktum at GLYX-13 har en fremragende terapeutisk indeks, spesielt sammenlignet med andre modulatorer av NMDA-funksjon, GLYX-13 til en attraktiv kandidat for behandling av depresjon.

[0070] Disse resultatene viser at NMDAR glycin-sete partielle agonister kan være gode kandidater som terapeutika for behandling av depresjon.

Angstdempende virkning av GLYX-13

Eksempel 5

[0071] Formålet med denne studien var å evaluere virkningen av GLYX-13 på angst. For å måle effekten av GLYX-13 på rotter, ble den åpne felttesten for angstgjennomført. Den åpne felttesten er en mye brukt neofobisk test av angst (se Treit D, Fundytus M. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. Pharmacol Biochem Behav 1989; 31:959-62).

[0072] Det åpne feltområde som brukes for den åpne felttesten består vanligvis av en tom og lysende firkant (eller rektangulært) arena, omgitt av murer. For den aktuelle studien ble et åpent felt på 45 cm X 35 cm X 20 cm høy brukt. Rotten ble plassert i midten av arenaen og dens oppførsel registrert over en forhåndsdefinert tidsperiode

(vanligvis mellom 2 og 15 min). Den åpne felttesten er basert på rottenes naturlige tendens til å unngå åpne områder. Den åpne felttesten er basert på konflikten mellom den medfødt angst rotter har for det sentrale området av den åpne plassen mot deres ønske om å utforske nye miljøer. Når rotter er i en tilstand av angst har de en naturlig tendens til å oppholde seg i nærheten av veggene. Denne naturlige tendensen av rottene å oppholde seg nær veggene kalles tigmotaksis. I denne sammenheng måles angst-relaterte opptreden ved den grad rotten unngår sentrum av det åpne feltet i testen. Ved å bestemme tilbøyelighet til rotten til å unngå det åpne feltet kan bestemmes ved å måle antallet midtkryssinger laget av rottene i løpet av et forhåndsdefinert tidsintervall, eller ved å bestemme hvor lenge rotte forblir i sentrum av feltet.

[0073] For å evaluere effekten av GLYX-13 som et angstdempende middel, ble to grupper av tre måneder gamle FBNF1 rotter anvendt. Den første gruppe besto av 13 rotter, og den andre gruppen var sammensatt av 11 rotter. Den første gruppen av rotter ble injisert intravenøst med 10 mg/kg GLYX-13 og den andre gruppen av rotter ble injisert intravenøst med PBS vehikkel (1 ml/kg) på en blind måte via kroniske subdurale femorale vene tilgangsporter. Begge grupper av rotter ble injisert 10 til 15 minutter før starten av testingen. Etter GLYX-13 injeksjoner ble begge grupper av rotter testet i det åpne feltet.

[0074] For det åpne felttesten, ble rotter tilvendt til det åpne feltet i 2 minutter hver dag i tre dager før den endelige 2 minutters testøkt der GLYX-13 eller vehikkel ble administrert. Åpent felt aktivitet ble registrert av et videokamera montert over det åpne feltområdet, og antall sentrumskryssinger i det åpne feltet ble målt.

Resultater

[0075] Angstdempende-lignende legemiddel effekt ble målt ved økt sentrumskryssinger i det åpne feltet av rottene forbehandlet med IV injeksjoner av GLYX-13 (Fig. 6). GLYX-13 (10 mg/kg i.v.) produserte en angstdempende-lignende effekt i den åpne felttesten med en $172,6 \pm 34,3\%$ økning (Gjennomsnitt $\pm$ SEM) i sentrumskryssinger i forhold til vehikkel ($P < 0,005$).

Eksempel 6

[0076] Et andre eksperiment ble utført på samme måte som i Eksempel 3, bortsett fra at grupper på 8-10 to- til tre måneder gamle hann Sprague-Dawley rotter forbehandlet med enten intravenøse (1, 3, 10, 32 mg/kg), subkutane (1, 3, 10, 32, 56, 100 mg/kg) injeksjoner av GLYX-13, ketamin (10 mg/kg i.p.) eller saltvannsvehikkel (1 mg/ml) 15 min (i.v.), 20 (s.c.) eller 60 (i.p.) min før starten av

den 5 min testøkten. Hvert datapunkt representerer en gruppe på 8 til 10 rotter. Den gjennomsnittlige (midlere) verdi for tid dyrene tilbrakte i sentrum av feltet ble målt.

Resultater

[0077] Angstdempende-lignende legemiddel virkninger ble målt ved økt sentrums-kryssinger i det åpne feltet av rottene forbehandlet med IV eller subkutane injeksjoner av GLYX-13 (Fig. 7). Intravenøs GLYX-13 administrasjon produsert en angstdempende-lignende effekt i den åpne felttest med en $42 \pm 5\%$ økning (Gjennomsnitt $\pm$ SEM) i mengden av tid tilbragt i midten av feltet i forhold til vehikkel (P <0,05). Subkutan GLYX-13 administrasjon produsert en angstdempende-lignende effekt i den åpne felttesten med en $36 \pm 5\%$ økning (Gjennomsnitt $\pm$ SEM) i mengden av tid tilbragt i midten av feltet i forhold til vehikkel (P <0,05).

Diskusjon

[0078] De dataene som presenteres her viser at GLYX-13 viser signifikant angstdempende-lignende egenskaper i rotter over en rekke doser og administrasjonsveier. Resultatene med GLYX-13 viser at NMDAR glycin-sete partielle agonister kan være gode kandidater som terapeutika for behandling av angst.

Evaluering av Persistens av Virkning av Anti-depressive og Angstdempende effekter av GLYX-13

Eksempel 7

Metoder

[0079] [0079] For å evaluere om de anti-depressive og angstdempende effektene av GLYX-13 vil vedvare utover noen få timer, ble rottene testet i Porsolt test og den åpne felttesten, som beskrevet ovenfor. Grupper på 10 til 11 tre-måneders gamle Sprague-Dawley rotter ble forbehandlet med GLYX-13 (3 mg/kg i.v.), ketamin (10 mg/kg i.v.) eller saltvannsvehikkel injeksjon (1 mg / ml i.v. halevenen) 96 t før starten av testingen. Dyr fikk en enkel 15 min. treningssvømmeøkt en dag før dosering. Dyr ble testet 96 timer etter dosering i Porsolt test uten noen testing i den mellomliggende perioden. Åpent felt testing ble gjennomført uten pre-tilvenning 1 dag etter Porsolt testing (dvs. 120 timer etter dosering). Gjennomsnitt tid ($\pm$ SEM) (sek.) tilbragt flytende i Porsolt test, tid tilbragt i senterrommet (sek.), og linjekryssinger i den åpne felttesten ble bestemt.

Resultater

[0080] Resultatene av Porsolt testen viste at dyr administrert GLYX-13 viste en $82\% \pm 2$ reduksjon (gjennomsnitt $\pm$ SEM) i gjennomsnittlig flyte tid, sammenlignet med dyr administrert en saltvannskontroll (Fig. 8, venstre panel). Resultater av den åpne felttesten viser at dyr administrert GLYX-13 viste en $125\% \pm 5$ økning (gjennomsnitt $\pm$ SEM) i gjennomsnittlig tid i sentrum i forhold til dyr administrert en saltvannskontroll (Fig. 8, midtpanelet). Tid i sentrum er et mål på angstdemping. Linjekryssinger er et mål for lokomotorisk aktivitet, og kan bli brukt som en kontroll.

Diskusjon

[0081] Disse resultatene viser at den antidepressive virkningen av en enkelt administrering av GLYX-13 varer opp til 4 dager, og at de angstdempende effektene vedvarer opp til 5 dager. Mens effekten av GLYX-13 kan sees i løpet av minutter, vedvarer således effekten av en enkel administrering også i minst flere dager.

Forståelse for det Molekylær Underlaget for Rough-og-Tumble Lek (RTP) **Indusert Positiv Innvirkning og Evaluering av Hedonisk Effekt av GLYX-13**

Eksempel 8

Forståelse for det molekylære underlaget for RTP

[0082] For å forstå det molekylære underlaget for RTP, ble fire RTP økter på 30 minutter hver utført med rotter. Kontrollrottene som ble benyttet til denne studie mottok identisk håndtering som RTP-testgruppene bortsett fra at de ble testet i isolasjon. Etter disse RTP øktene, ble endringer i genekspresjon i frontal cortex og parietal cortex i rotter målt ved mikromatriser. Disse genekspresjonsendringene ble undersøkt seks timer etter den siste av fire 30 minutter RTP økter.

[0083] RTP økte ekspresjonen av NMDA familien av gener (spesifikt: NMDA NR1, NR2AD subenheter). Oppregulering av NMDAR subenheter ble bekreftet ved qrt-PCR og resultatene er presentert i Figur 9.

Evaluering av Hedonisk Effekt av GLYX-13

[0084] For å evaluere den hedoniske effekten av GLYX-13 i denne studien, ble 50-kHz ultralyd vokaliseringsmodell for positiv innvirkning undersøkt hos rotter (se, Burgdorf, J., Panksepp, J., Brudzynski, SM, Kroes, RA & Moskal, JR (2008). The effect of selective breeding for differential rates of 50-kHz ultrasonic vocalizations on emotional behavior in rats. Devel. Psycho, 51, 34-46).

[0085] I henhold til 50 kHz ultralyd vokaliseringsmodell for positiv innvirkning, har RTP oppførsel i rotter vist seg å være tilfredsstillende, og for å fremkalle høy andel av 50-kHz ultralyd vokaliseringer som i sin tur er vist å reflektere positive affektive tilstander (Fig 10).

[0086] Som en del av studien ble to grupper på tre måneder gamle FBNF1 rotter anvendt. Den første gruppe besto av 13 rotter, og den andre gruppen var sammensatt av 11 rotter. Den første gruppen av rotter ble injisert intravenøst med 10 mg/kg GLYX-13 og den andre gruppen av rotter ble injisert intravenøst med PBS vehikkel (1 ml/kg) på en blind måte via kroniske subdurale femorale vene tilgangsporter. Begge grupper av rotter ble injisert 10 til 15 minutter før starten av testen.

[0087] For hedonisk ultralyd vokaliseringer (USVs), fikk dyrene 2 minutter av heterospecific RTP tilvenning før den endelige 2 minutters testøkten.

Resultater

[0088] Direkte injeksjon av GLYX-13 dose (10 mg/kg i.v.) økte hedonisk RTP induert 50 kHz ultralyd vokalisering. GLYX-13 økte raten av leke-indusert positive affektive 50-kHz USVs med $178,5 \pm 48,3\%$ (Gjennomsnitt $\pm$ SEM) i forhold til vehikkel ($P < 0,01$) (Fig. 11).

Diskusjon

[0089] Disse resultatene antyder at NMDA-reseptoren kan spille en funksjonell rolle i RTP-induserte positive affektive tilstander. GLYX-13 kan være et nyttig terapeutikum for å øke motstandsdyktighet mot depresjon og angst.

EKVIVALENTER

[0090] Mens spesifikke utførelsesformer av foreliggende beskrivelse har blitt diskutert, er den ovennevnte spesifisering illustrative og ikke restriktive. Mange variasjoner av beskrivelsen vil være åpenbare for fagfolk innen teknikken ved en vurdering av denne spesifiseringen. Det fulle omfanget av beskrivelsen bør bestemmes med referanse til patentkravene og spesifiseringen.

[0091] Dersom ikke annet er angitt, skal alle tall som uttrykker mengder av bestanddeler, reaksjonsbetingelser, parametere, beskrivende funksjoner og så videre som brukes i beskrivelsen og kravene forstås som å være modifisert i alle tilfeller med uttrykket "omtrent" Følgelig, med mindre det motsatte er angitt, er de numeriske parametre som er angitt i denne beskrivelse og medfølgende krav omtrentligheter som kan variere avhengig av de ønskede egenskaper som søkes oppnådd ved foreliggende oppfinnelse.

Sekvensliset

<110> Northwestern University

<120> METHODS OF TREATING DEPRESSION AND OTHER RELATED DISEASES

<130> P54862EP-K

5 <140> EP10822514.5
<141> 2010-10-05

<150> PCT/US2010/051415
<151> 2010-10-05

10 <150> US 61/248,650
<151> 2009-10-05

<160> 13

<170> PatentIn version 3.4

15 <210> 1
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

20 <400> 1
Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Thr Val Ala
1 5 10

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial

25 <220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 2
Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

30 <210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

35 <400> 3
Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 4
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Synthetic Peptide

<400> 4
 Val Tyr Tyr Ser Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
 1 5 10

10 <210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Synthetic Peptide

15 <400> 5
 Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Ser Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro
 1 5 10 15

Thr

20 <210> 6
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Synthetic Peptide

<400> 6
 Ser Val Gln Ala Glu Leu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Ser Gln Gln His
 1 5 10 15

Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
 20

25 <210> 7
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> Synthetic Peptide

<400> 7
 Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Leu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr
 1 5 10 15

Ser Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr
 20 25

<210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Synthetic Peptide

<400> 8
 Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly
 1 5 10

10 <210> 9
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Synthetic Peptide

15 <400> 9
 Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 1 5 10 15

Glu

20 <210> 10
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Synthetic Peptide

25 <220>
 <221> DISULFID
 <222> (1)..(11)

<400> 10
 Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Cys
 1 5 10

30 <210> 11
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Synthetic Peptide

35 <400> 11
 Ser Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Ser
 1 5 10

<210> 12
 <211> 5

<220>
<223> Synthetic Peptide

<210> 13
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

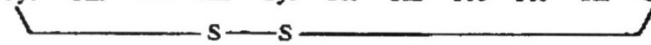
<400> 13
Thr Pro Pro Thr
1

[0092]

P a t e n t k r a v

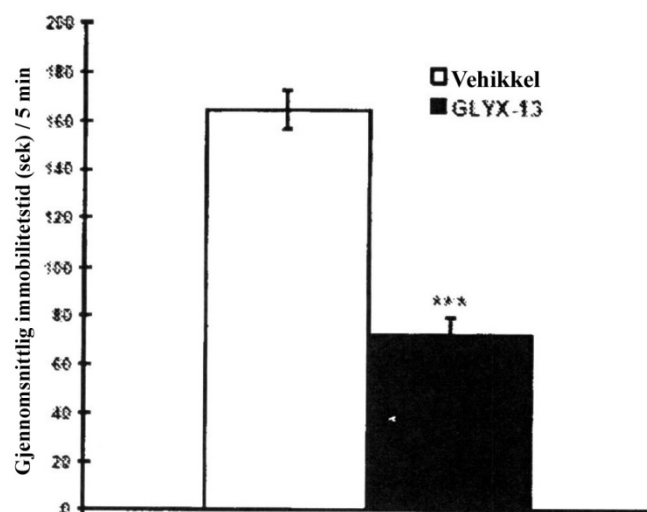
1. GLYX-13 for anvendelse i en metode for behandling av refraktær depresjon i et
5 behandlingsresistente pasient med behov derav, hvor GLYX-13 skal administreres til
nevnte pasient, hvorved pasienten i det vesentlige blir avlastet fra minst ett symptom i
løpet av omtrent 14 dager.
2. GLYX-13 for anvendelse ifølge krav 1, hvor depresjonen er valgt fra gruppen
10 bestående av alvorlig depressiv lidelse, dystymisk lidelse, psykotisk depresjon, post
partum depresjon, sesongmessige affektive forstyrrelser, bipolar lidelse, affektiv lidelse,
depresjoner som skyldes kroniske medisinske tilstander som kreft eller kronisk smerte,
kjemoterapi, kronisk stress, posttraumatiske stresslidelser, og manisk depressiv lidelse.
- 15 3. GLYX-13 for anvendelse som angitt i krav 1 eller 2, hvor GLYX-13 skal
administreres i en mengde på 0,01 mg/kg til 1000 mg/kg per dag.
4. GLYX-13 for anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 3, hvor GLYX-
13 skal administreres i et intravenøs doseområdet på 1 til 10 mg/kg.
- 20 5. GLYX-13 for anvendelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 4, hvor den
behandlingsresistente pasienten er identifisert som en som har blitt behandlet med minst
to typer av antidepressive behandlinger før administrasjon av GLYX-13.
- 25 6. GLYX-13 for anvendelse ifølge krav 5, hvor den behandlingsresistente pasienten
er identifisert som en som er uvillige til eller ikke i stand til å tolerere en bivirkning av
minst en type antidepressiv behandling.
7. Anvendelse av GLYX-13 i fremstillingen av et medikament for behandling av
30 refraktær depresjon i et behandlingsresistente pasient i behov derav, hvor GLYX-13 skal
administreres til pasienten, hvorved pasienten i det vesentlige avlastes for i det minste ett
symptom i løpet av omtrent 14 dager.

TABELL 1

Navn SEQ ID NO	Aminosyresekvens
NT-1: SEQ ID. NO:1.	Lys—Ala—Ser—Gln—Asp—Val—Ser—Thr—Thr—Val—Ala
NT-2: SEQ ID. NO:2.	Ser—Ala—Ser—Tyr—Arg—Tyr—Thr
NT-3: SEQ ID. NO:3.	Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro—Pro—Thr
NT-4: SEQ ID. NO:4.	Val—Tyr—Tyr—Ser—Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro—Pro— Thr
NT-5: SEQ ID. NO:5.	Glu—Asp—Leu—Ala—Val—Tyr—Tyr—Ser—Gln—Gln—His—Tyr— Ser—Thr—Pro—Pro—Thr
NT-6: SEQ ID. NO:6.	Ser—Val—Gln—Ala—Glu—Leu—Asp—Leu—Ala—Val—Tyr—Tyr— Ser—Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro—Pro—Thr
NT-7: SEQ ID. NO:7.	Phe—Thr—Ile—Ser—Ser—Val—Gln—Ala—Glu—Leu—Asp—Leu— Ala—Val—Tyr—Tyr—Ser—Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro— Pro—Thr
NT-8: SEQ ID. NO: 8.	Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro—Pro—Thr—Phe—Gly—Gly— Gly
NT-9: SEQ ID. NO:9.	Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro—Pro—Thr—Phe—Gly—Gly— Gly—Thr—Lys—Leu—Glu
NT-10: SEQ ID. NO:10	Cys—Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro—Pro—Thr—Cys 
NT-11: SEQ ID. NO:11	Ser—Gln—Gln—His—Tyr—Ser—Thr—Pro—Pro—Thr—Ser
NT-12: SEQ ID. NO:12	Gln—Gln—His—Tyr—Ser
NT-13: SEQ ID. NO:13	Thr—Pro—Pro—Thr
NT-14: SEQ ID. NO:14	Thr—Pro—Pro
NT-15: SEQ ID. NO:15	Pro—Pro—Thr
NT-16: SEQ ID. NO:16	Pro—Pro
NT-17: SEQ ID. NO:17	Thr—Pro—Thr
NT-18: SEQ ID. NO:18	Thr

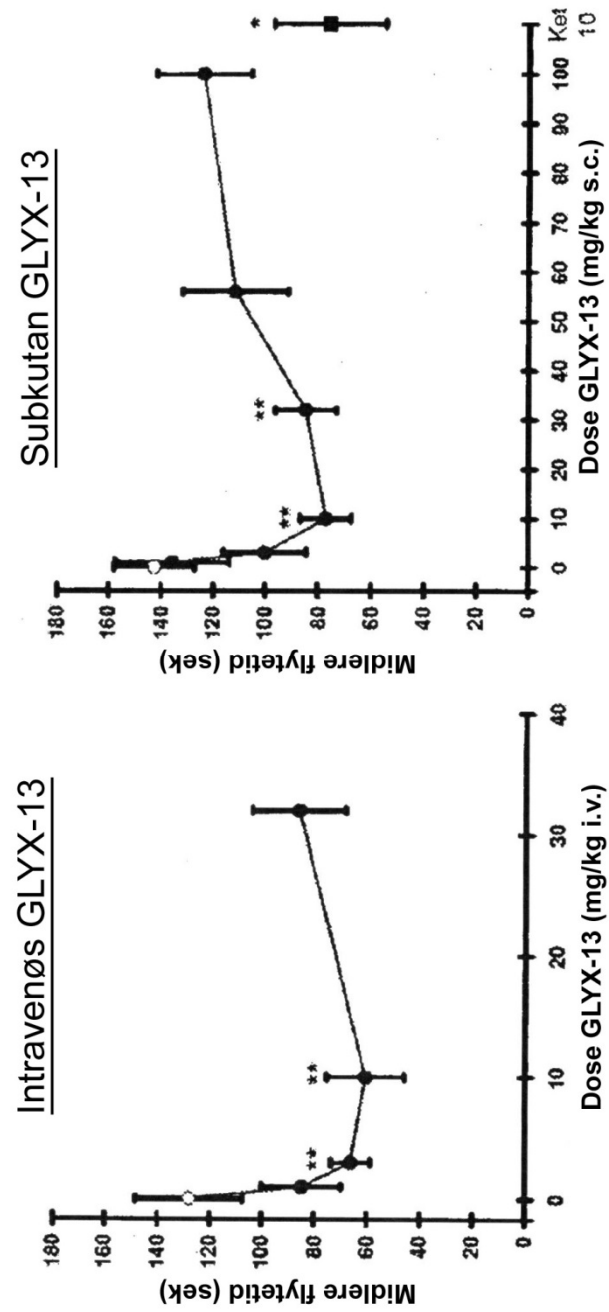
FIGUR 1

GLYX-13 er antidepressivt i Rotte Porsolt svømmetesten

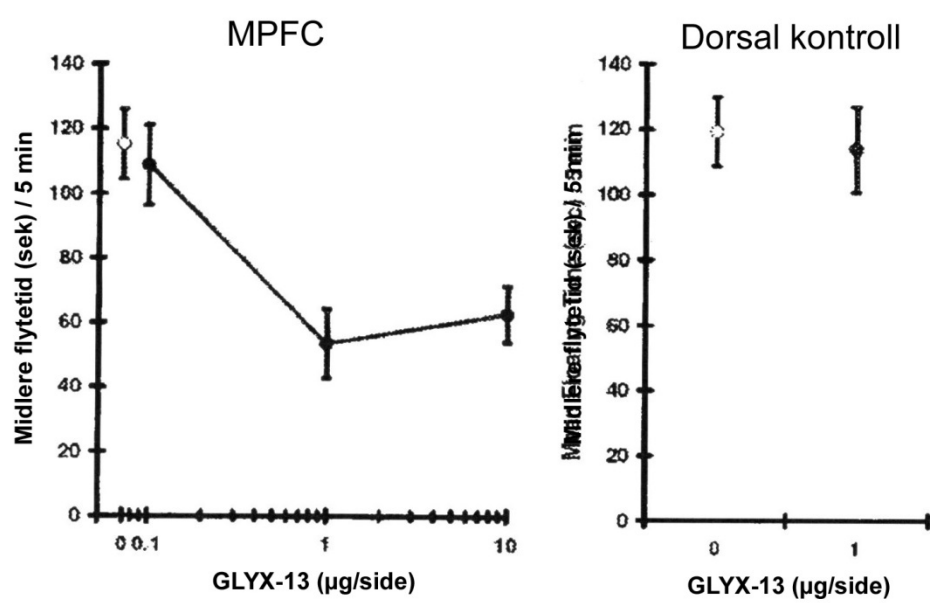


Gjennomsnittlig tid ($\pm$ SEM) tilbrakt urørlig i Porsolt svømmetest ved bruk av 3 mndr. gamle rotter forhåndsbehandlet med IV injeksjoner av 10,0 mg/kg GLYZ-13 (n=9) eller PBS vehikkel (N=9) 10-15 min. før starten av testingen. ***P < 0,001, mellom individer t-test.

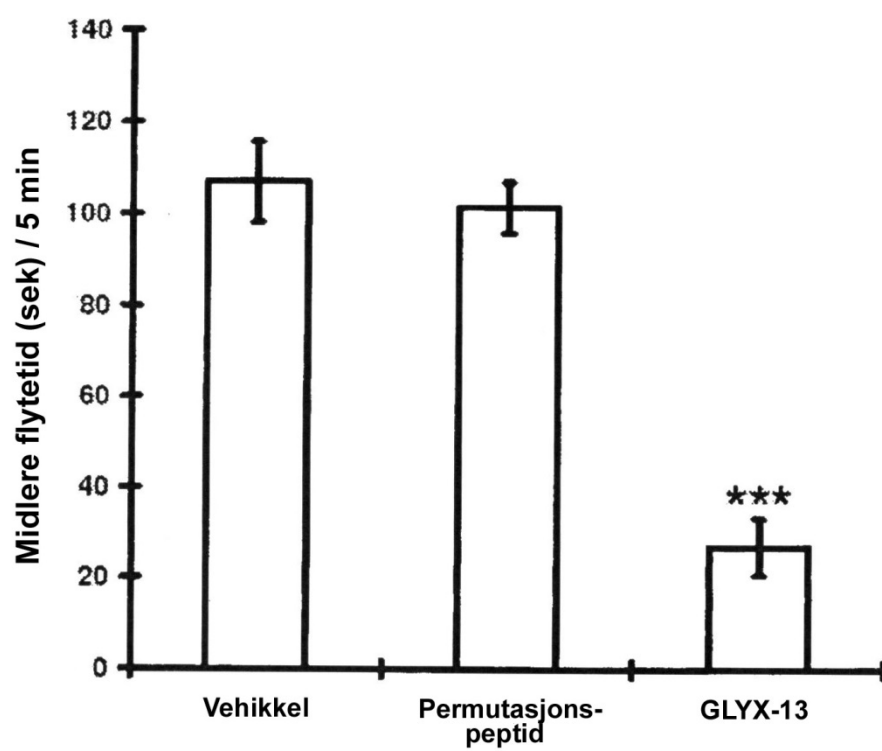
FIGUR 2



FIGUR 3

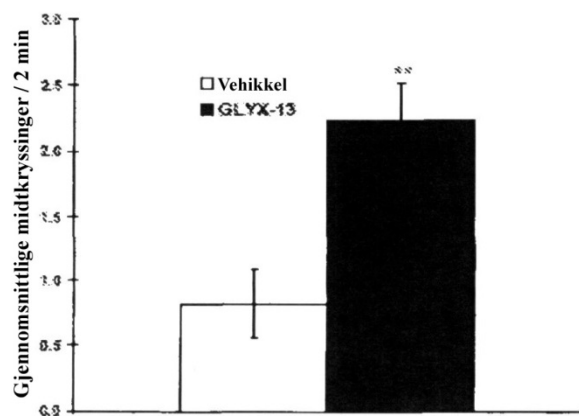


FIGUR 4



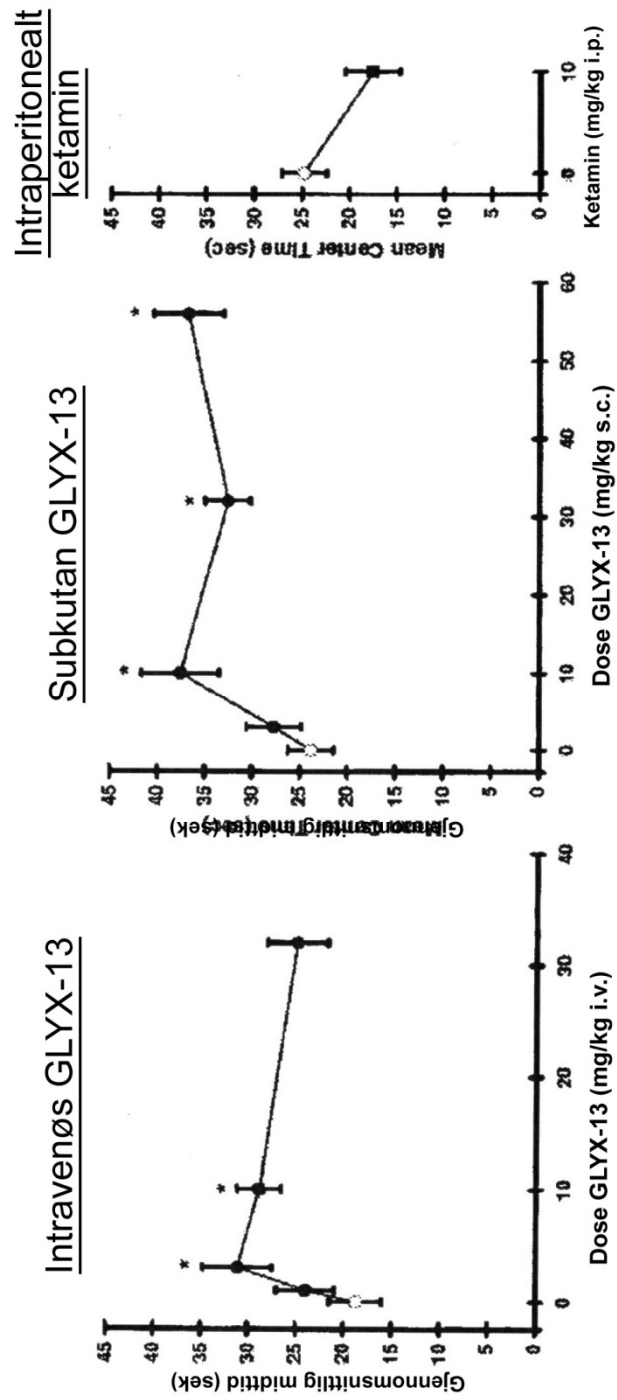
FIGUR 5

**GLYX-13 er anksiolytisk i
rotte åpent felt testen**

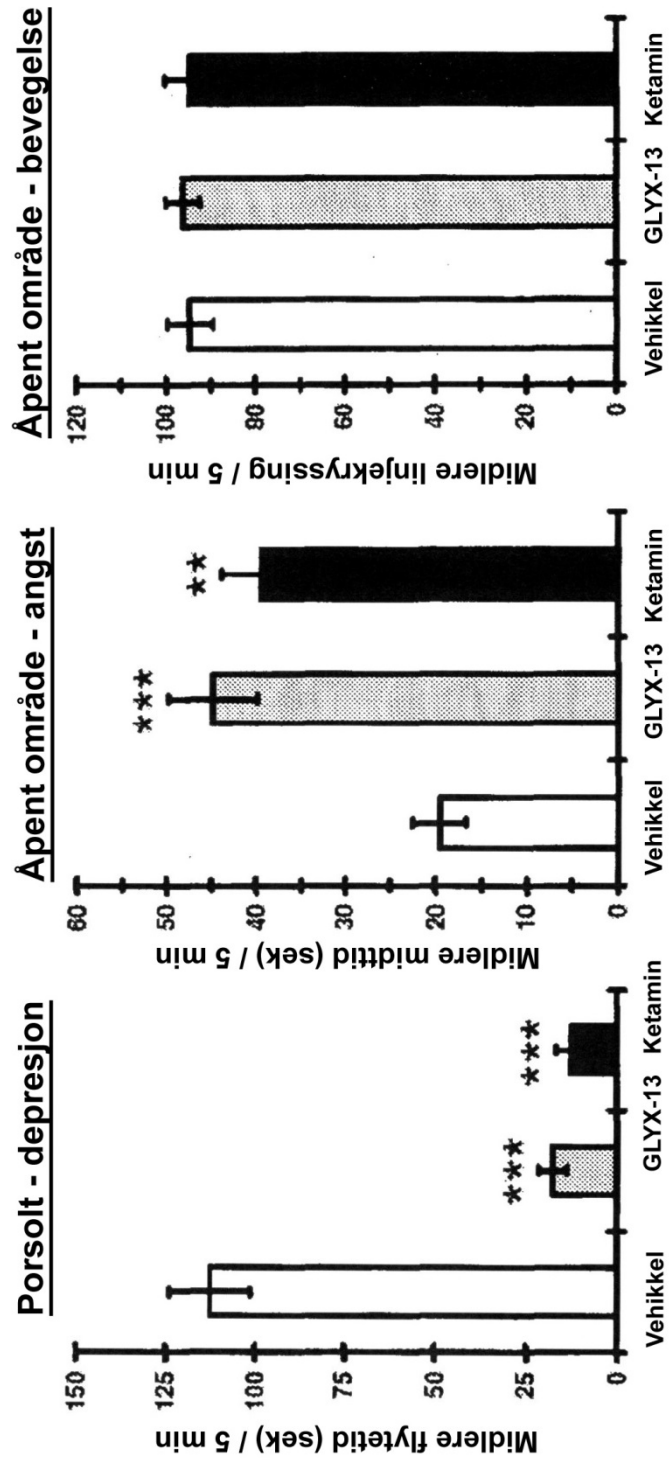


Gjennomsnittlig kryssing ($\pm$ SEM) av midtrommet av det åpne feltet under lek testing av 3 mndr. gamle rotter før behandling med IV injeksjoner på 10,0 mg/kg GLYX-13 (n=13) eller PBS vehikkel (N=11) 10-15 min. før starten av testingen.
**P < 0,01 mellom individer t-test.

FIGUR 6

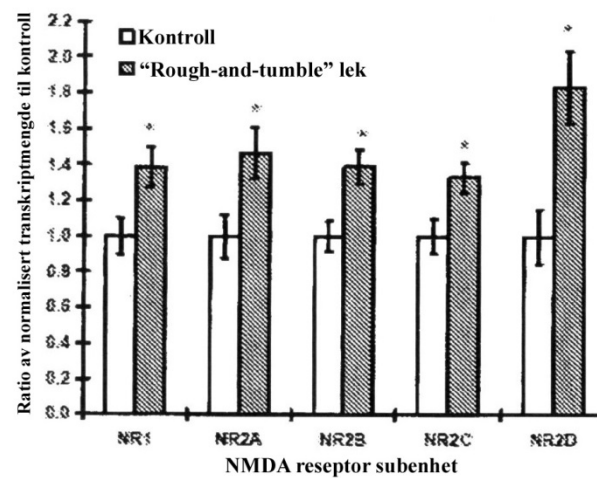


FIGUR 7



FIGUR 8

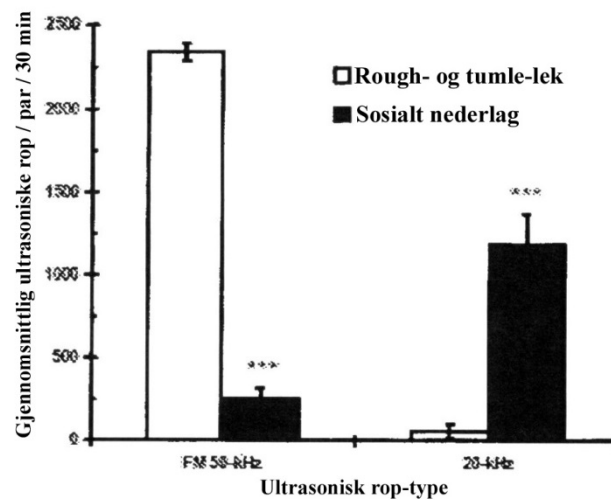
qrt-PCR analyse av NMDAR kortikal mRNA
ekspressjon etter "Rough- og tumble-lek"



Gjennomsnittlig ratio ($\pm$ SEM) av NMDAR subenhet mRNA nivå (μ g transkript / cDNA) normalisert til kontrollnivå 6 timer etter en 30-min. "rough- og tumble-lek" eller 30 min. alene i et nytt bur (kontroll). Genekspresjon for NMDAR mRNA økte etter lek i fremre og bakre korteks relativt til kontroll. Den gjennomsnittlige kontrollverdi ($\pm$ SEM) (μ g transkript / pg cDNA) var NR1 $3,6 \pm 0,4 \times 10^{-4}$, NR2A $1,6 \pm 0,2 \times 10^{-5}$, NR1B $1,0 \pm 0,1 \times 10^{-4}$, NR2C $7,2 \pm 0,7 \times 10^{-6}$, NR2D $3,4 \pm 0,5 \times 10^{-6}$, * $P < 0,05$ lek mot kontroll.

FIGUR 9

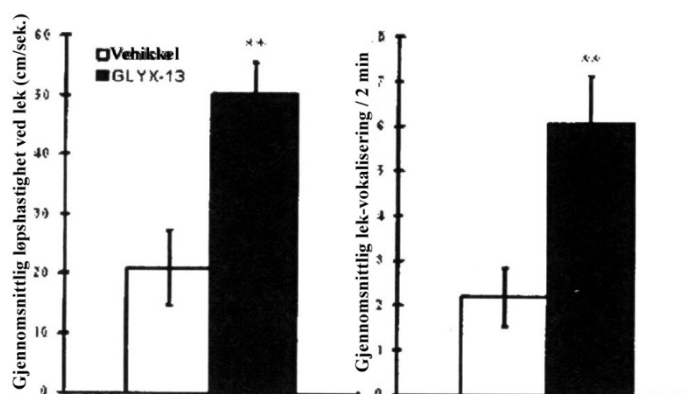
**“Rough- og tumble-lek” adferd maksimalt
utløser hedonisk FM 50-kHz USV-er og sosialt
nederlag maksimalt utløser aversjons 22-kHz USV-er**



Gjennomsnitt ($\pm$ SEM) av frekvensmodulert 50-kHz og 20-kHz USV-er i løpet av 30 min. med “Rough- og tumble-lek” (n=23 par) ved 1 mnd alder sammenlignet med 30 min. av sosialt nederlag (n=18 par) ved 3 mndr alder. *** $P < 0,001$ mellom S. t-test; 2 halet

FIGUR 10

**NMDA delvis agonist GLYX-13 øker RTP
indusert hedonisk 50-kHz USV-er og belønning**



Gjennomsnitt antal ($\pm$ SEM) av lek vokalisering i forventning av lek (høyre) og belønningsverdi av lek som indeksert ved løpshastighet ved lek (venstre) i løpet av lekstesting av 3 mndr gamle rotter forhåndsbehandlet med IV injeksjoner med 10,0 mg/kg GLYX-13 (n=13) eller PBS vehikkel (n=11) 10-15 min før starten av testningen. *** $P < 0,01$, mellom individer t-test.

FIGUR 11