



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108283712 A

(43)申请公布日 2018.07.17

(21)申请号 201711451914.X

A61P 25/28(2006.01)

(22)申请日 2012.04.27

A61P 25/14(2006.01)

A61P 25/00(2006.01)

(30)优先权数据

61/479,593 2011.04.27 US

61/527,744 2011.08.26 US

(62)分案原申请数据

201280027349.3 2012.04.27

(71)申请人 西北大学

地址 美国伊利诺斯

(72)发明人 J·莫斯卡尔

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 李华英

(51)Int.Cl.

A61K 38/07(2006.01)

权利要求书1页 说明书13页 附图7页

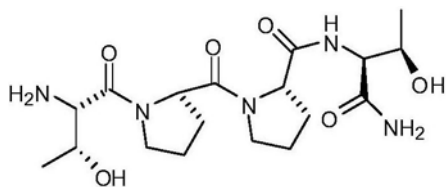
(54)发明名称

治疗阿尔茨海默氏症、亨廷顿氏症、孤独症  
和其他障碍的方法

(57)摘要

本发明涉及用于治疗孤独症的药物组合物，  
包含药学有效量的化合物GLYX-13或其药学可接  
受的盐。本发明还涉及用于调节细胞中孤独症靶  
基因表达的药物组合物，包含有效量的化合物  
GLYX-13或其药学可接受的盐。

1. 用于治疗孤独症的药物组合物, 包含药学有效量的化合物GLYX-13或其药学可接受的盐:



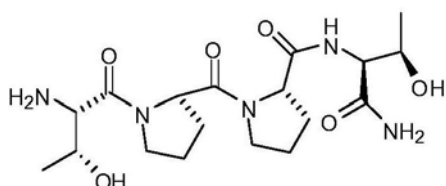
2. 权利要求1的药物组合物, 其中在给药后约1天, 患者在一种或多种孤独症症状方面基本上得到改善。

3. 权利要求1-2任一项的药物组合物, 其中在给药后约8天, 患者在一种或多种孤独症症状方面基本上得到改善。

4. 权利要求1-3任一项的药物组合物, 其中所述药物组合物被制备成通过静脉内、腹膜内、鼻内、经口、肌内或皮下施用的制剂形式。

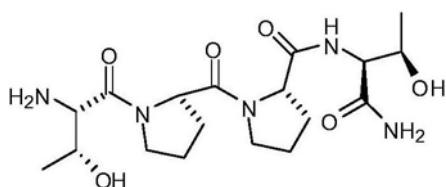
5. 权利要求1-4任一项的药物组合物, 其中所述药物组合物以单剂量的形式给药。

6. 用于调节细胞中孤独症靶基因表达的药物组合物, 包含有效量的化合物GLYX-13或其药学可接受的盐:

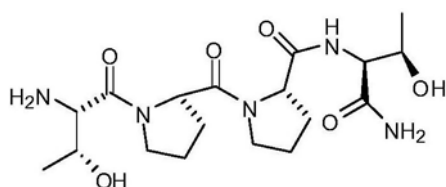


7. 权利要求6的药物组合物, 其中孤独症靶选自ABAT、APOE、CHRNA4、GABRA5、GFAP、GRIN2A、PDYN和PENK。

8. 用于治疗阿尔茨海默氏症或伴随早期阶段的阿尔茨海默氏症的记忆丧失的药物组合物, 包含药学有效量的化合物GLYX-13或其药学可接受的盐:



9. 用于治疗亨廷顿氏症的药物组合物, 包含药学有效量的化合物GLYX-13或其药学可接受的盐:



## 治疗阿尔茨海默氏症、亨廷顿氏症、孤独症和其他障碍的方法

[0001] 本申请是申请号为201280027349.3 (PCT/US2012/035547)、申请日为2012年4月27日、发明名称为“治疗阿尔茨海默氏症、亨廷顿氏症、孤独症和其他障碍的方法”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉参考

[0003] 本申请要求2011年4月27日提交的美国临时专利申请 US61/479,593和2011年8月26日提交的美国临时专利申请 US61/527,744的优先权,将这两篇文献完整地引入本文参考。

### 背景技术

[0004] 孤独症的特征可以在于社会关系、沟通受损以及受限、重复和刻板模式的行为。孤独症目前被视为发育障碍和可遗传性的,并且受目前未知的环境恶化的影响。例如,对双胞胎的研究显示孤独症的强生殖遗传性;与二卵双生中占0-10%和一般群体中占0.3%相比,孤独症的发生在单卵双生中占60-91%。

[0005] 在该领域中的一个关键的挑战在于鉴定在功能上与孤独症相关的孤独症后选基因且由此可以追踪为治疗靶标。例如,目前可以使用生物信息工具鉴定孤独症后选基因,已经证实其具有大量与其他孤独症后选基因发生的蛋白-蛋白相互作用,称作hub基因。推定这些hub 基因可以用作控制生物功能的“主开关”。

[0006] 低级品系的动物可以用于研究人中的孤独症,例如低级品系的大鼠,与非选择性繁殖的随机品系的动物相比,其参与较少的与同种性的社会接触,显示较低比例的诱导的社交前超声发音 (USVs) 和显示增加比例的非频繁性调控 (即单调的)。

[0007] 基于药理学的治疗剂存在有限的成功和显著的副作用。因此,行为改变技术已经成为用于孤独症谱系障碍的最强有力的积极干预手段。抗精神病药物利培酮是唯一FDA批准的用于孤独症的药物且据报道:i) 其显著地减少活动过度和易怒症状;ii) 对不适当的语言或回避社交几乎没有作用;和iii) 显示显著的体重增加和镇静副作用。近期对孤独症个体的研究显示D-环丝氨酸 (DCS) (一种NMDAR甘氨酸位点部分激动剂) 显著地改善了回避社交行为 (Posey等人,2004)。

[0008] 用于与记忆丧失 (例如伴随早期阶段的阿尔茨海默氏症的记忆丧失) 相关的神经元功能障碍的可行疗法是另一个具有有限的成功的领域。然而,海马切片中长时程增强显示为用于研究基于正常学习和记忆过程的生理学和分子机制的模型系统。例如,已经证实天然分泌的淀粉样 $\beta$ 蛋白 (A $\beta$ ) 寡聚体抑制海马切片中的长时程增强。

[0009] 亨廷顿氏症 (HD) 是由展开和不稳定的CAG三核苷酸串联重复导致的常染色体显性疾病,所述三核苷酸串联重复导致神经元进行性变性,主要是在硬膜、尾状核和大脑皮质中。HD的特征在于运动异常、认知缺损和情绪失调,最终在运动症状发作后约15-20年致死。

[0010] HD 51CAG大鼠使用包含具有51CAG重复的等位基因的人HD 突变。这种动物模型显示进行性神经、神经病理性和神经化学表型,其非常类似于在人中发现的HD的晚期表现和缓慢进展并且显示出 HD-样症状,例如认知缺损和进行性运动功能障碍以及神经病理特性

征,例如神经元核内包涵体和扩大的侧脑室。HD 51CAG大鼠非常类似于人体病症,使之成为研究疾病的行为、细胞和分子标记的良好候选物。

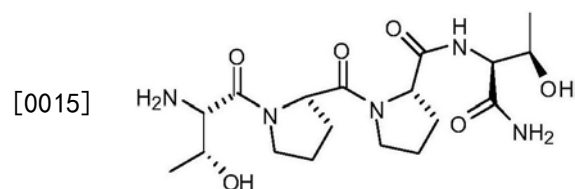
[0011] 已知的疗法强调需要使用可以提供改善的功效和/或减少的不期望的副作用的化合物治疗孤独症、亨廷顿氏症和相关障碍和/或病症的改进的方法。

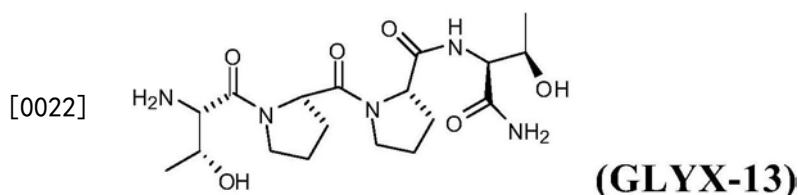
## 发明内容

[0012] 本文提供了对需要的患者治疗孤独症的方法,包括对该患者给予药学有效量的NMDA受体甘氨酸位点部分激动剂。例如,本发明部分涉及治疗孤独症的方法,通过给予治疗有效剂量的如本文所公开的 GLYX-13或其衍生物来进行,例如,具有NMDA受体甘氨酸位点部分激动剂活性的化合物,例如结合NMDA受体甘氨酸位点的化合物,例如本文公开的化合物。例如,本文提供了对需要的患者治疗孤独症的方法,包括对该患者给予药学有效量的调节NMDA受体上的甘氨酸位点的化合物。

[0013] 在其他实施方案中,提供了治疗病症的方法,所述病症选自癫痫症、AIDS、AIDS痴呆、多系统萎缩、进行性核上麻痹、脊髓小脑性共济失调、孤独症(和孤独症障碍亚型)、脆性X染色体综合征、结节性硬化症、注意缺陷障碍、橄榄体脑桥小脑萎缩 (olivio-ponto-cerebellar atrophy)、脑瘫、帕金森病、药物诱发视神经炎、周围神经病、脊髓病、缺血性视网膜病变、青光眼、心跳骤停、中风、局部缺血、行为障碍、冲动控制障碍、额颞痴呆、精神分裂症和双极性障碍,该方法包括对有此需要的患者给予NMDA受体部分激动剂,例如GLYX-13或本文公开的化合物。

[0014] 例如,在一些实施方案中,所关注的能够调节NMDA受体甘氨酸位点的化合物表示为 (GLYX-13):





[0023] 或其药学可接受的盐,其中在1天或8天后,患者具有的孤独症症状显著改善。单剂量可以包括,例如,约0.01mg/kg—约1000mg/kg 的所公开的化合物。

[0024] 在另一个实施方案中,所公开的发明涉及给予包含序列 Thr-Pro-Pro-Thr或以式A为典型的二-吡咯烷肽化合物 (GLYX-13),以治疗哺乳动物包括人中的孤独症。

## 附图说明

[0025] 图1描述直接群居接触选择性繁殖低或随机比例的玩耍诱导的群居前USVs的成年雄性Long Evans大鼠所花费的平均值±SEM (A) 时间。使用同种相同选择性繁殖品系配对测试动物。(B) 在成年雄性低和随机品系动物中的同种玩耍诱导的群居前USVs比例 (频率-调制的 50kHz呼叫)。(C) 总同种玩耍诱导的为单调的USVs比例 (即带宽低于7kHz;n=14-20/组。\*P<.05Fisher PLSD事后检验,2尾。

[0026] 图2描述使用受试者内设计在用赋形剂 (1mg/ml 无菌盐水s.c.) 或 (B) 测试开始前 15min GLYX-13 (50mg/kg s.c.) 预治疗的同种玩耍诱导的群居前USVs的幼年雄性低品系大鼠平均值±SEM (A) 比例 (频率-调制的50kHz呼叫)

[0027] 图3描述与非选择性繁殖的随机品系动物相比低品系动物的两个脑区域 (中额前皮质和伏核) 中的显著性改变。

[0028] 图4描述施用GLYX-13时器官特征性海马切片培养物中Aβ (1-42) 产生的延缓的神经元死亡;单独施用Aβ (1-42) 与所示浓度 (μg/ml) Glyx-13的存在下施用Aβ (1-42) 后24hr相比的平均值±SEM普罗匹定荧光(\*,P<.0.05,与单独的Aβ相比的斯氏t-检验)。

[0029] 图5描述在GLYX-13的存在下海马切片中Schaffer侧-CA1突触处的突触传递长时程增强 (LTP) 的Aβ改善复苏。A:与赋形剂 (TFE) 注射 (空心圆圈;n=8) 相比,Aβ (1-42) 压力射入场CA1的辐射层 (Aβ注射;12psi/100ms;实心圆圈;n=10) 对高频刺激训练 (3x100Hz/500ms) 诱导的基底突触传递和LTP的作用时程。B:与赋形剂 (TFE) 注射 (空心圆圈;n=8) 相比,Aβ (1-42) 在1μM Glyx-13的存在下压力射入场 CA1的辐射层 (Aβ注射;12psi/100ms;实心圆圈;n=8) 对高频刺激训练 (3x100Hz/500ms) 诱导的基底突触传递和LTP的作用时程。C:与赋形剂 (TFE) 注射 (空心圆圈;n=8) 相比,Aβ (1-42) 在1μM D-环丝氨酸的存在下压力射入场CA1的辐射层 (Aβ注射;12psi/100ms;实心圆圈;n=7) 对高频刺激训练 (3x100Hz/500ms) 诱导的基底突触传递和LTP的作用时程。D:与赋形剂 (TFE) 注射 (空心圆圈;n=8) 相比,Aβ (1-42) 在100μM D-丝氨酸的存在下压力射入场CA1的辐射层 (Aβ注射;12psi/100ms;实心圆圈;n=8) 对高频刺激训练 (3x100Hz/500ms) 诱导的基底突触传递和LTP的作用时程。A、B和C中的每个点是平均值± SEM标准化fEPSP斜率。

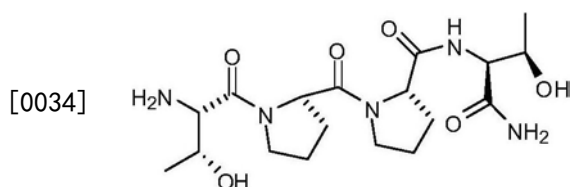
[0030] 图6表示给予GLYX-13的WT与HD大鼠之间的重复测量结果方差分析和一系列单向ANOVAs。图6A表示在三期假随机测试过程中以杆压力量/秒测定的“正确”比例杆压力中WT与HD大鼠之间无显著差异。图6B显示重复测量结果方差分析中的显著性差异揭示出使用具有较高“不正确”比例的HD大鼠的所有测试期间在“不正确”杆压力比例中的WT与HD大鼠

( $p=0.004$ )。

[0031] 详细描述

[0032] 本文所用的术语“GLYX肽”是指具有NMDAR甘氨酸位点部分激动剂/拮抗剂活性的肽。可以通过众所周知的重组或合成方法得到GLYX肽类,例如美国专利US 5,763,393和US 4,086,196中所述的那些方法,将这些文献引入本文作为参考。在一些实施方案中,GLYX 是指具有氨基酸序列Thr-Pro-Pro-Thr (SEQ ID NO:1) 或L-苏氨酰基-L-脯氨酰基-L-脯氨酰基-L-苏氨酰胺的四肽。

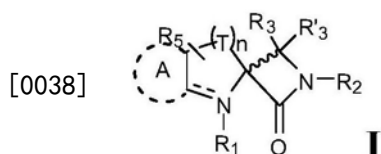
[0033] 例如,GLYX-13是指描述如下的化合物:



[0035] 还关注GLYX 13的多晶型物、水合物、同系物、溶剂合物、游离碱和/或适合的盐形式,例如、但不限于乙酸盐。可以如US 5,763,393 中进一步所述使所述肽环化或未环化。在一些实施方案中,GLYX-13 类似物可以包括在一个或多个Thr或Pro基团上插入或缺失一个部分,例如缺失CH<sub>2</sub>、OH或NH<sub>2</sub>部分。在其他实施方案中,GLYX-13 可以任选地被一个或多个卤素、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基(任选地被卤素或氨基取代)、羟基和/或氨基取代。关注用于本文用途的其他化合物包括US 5,763,393、US 6,107,271和Wood等人,NeuroReport,19,1059-1061, 2008 中公开的NMDAR的甘氨酸位点部分激动剂,将这些文献的全部内容引入本文参考。

[0036] 可以理解,本文公开的肽类可以包括天然和非天然氨基酸,例如所有的天然氨基酸(或其衍生物)、所有非天然氨基酸(或其衍生物)或天然和非天然氨基酸的混合物。例如,GLYX-13中的一个、两个、三个或多个氨基酸可以彼此独立地是d-或l-构型。

[0037] 在一个实施方案中,用于一种或多种所公开的方法中的化合物包括式I的那些化合物:

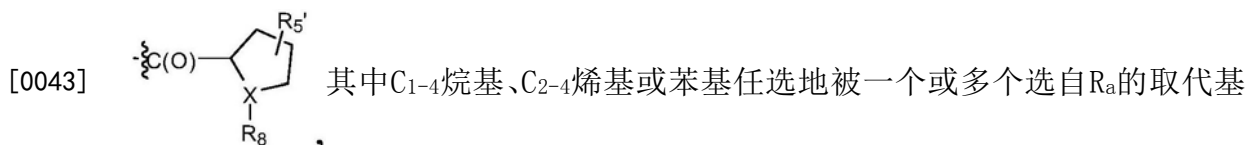


[0039] 及其药学可接受的盐、立体异构体和N-氧化物;其中

[0040] T每次出现时独立地是CR<sub>4</sub>R<sub>4</sub>',且n是0、1、2或3;

[0041] A任选地存在并且选自苯基或吡啶,其中A任选地被一个或多个选自R<sub>a</sub>的取代基取代;

[0042] R<sub>1</sub>选自H、羟基、-S(O)<sub>2</sub>-C<sub>1-4</sub>烷基;-SO<sub>2</sub>-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>2-4</sub>烯基、苯基、R<sub>7</sub>或



取代;

[0044] X是CH或N;

[0045] R<sub>3</sub>和R<sub>3</sub>' 独立地选自H、卤素、羟基、苯基、C<sub>1-4</sub>烷基、酰氨基、胺或C<sub>2-4</sub>烯基,其中C<sub>1-4</sub>烷

基、C<sub>2-4</sub>烯基和苯基任选地被一个或多个选自R<sub>a</sub>的取代基取代；

[0046] R<sub>4</sub>和R<sub>4</sub>' 独立地选自H、卤素、羟基、苯基、C<sub>1-4</sub>烷基、酰氨基、胺、C<sub>1-4</sub>烷氧基或C<sub>2-4</sub>烯基，其中C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>2-4</sub>烯基、C<sub>1-4</sub>烷氧基和苯基任选地被一个或多个选自R<sub>a</sub>的取代基取代；

[0047] R<sub>2</sub>选自H、R<sub>7</sub>、-S(O)<sub>2</sub>、S(O)<sub>2</sub>-C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷基、羟基或苯基，其中C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>2-4</sub>烯基和苯基任选地被一个或多个选自R<sub>a</sub>的取代基取代；

[0048] R<sub>5</sub>和R<sub>5</sub>' 各自独立地选自H、卤素、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基、C<sub>2-4</sub>烯基、氰基、氨基、苯基和羟基，其中C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>2-4</sub>烯基和苯基任选地被一个或多个选自R<sub>a</sub>的取代基取代；

[0049] R<sub>7</sub>选自-C(O)-R<sub>9</sub>、-C(O)-O-R<sub>9</sub>或-C(O)-NR<sub>d</sub>-R<sub>9</sub>；

[0050] R<sub>9</sub>选自H、C<sub>1-4</sub>烷基、苯基或杂环，其中C<sub>1-4</sub>烷基、苯基或杂环任选地被1、2或3个选自R<sub>b</sub>的取代基取代；

[0051] R<sub>8</sub>选自H、-C(O)-C<sub>1-4</sub>烷基或C(O)-O-C<sub>1-4</sub>烷基，其中C<sub>1-4</sub>烷基任选地被1、2或3个选自R<sub>a</sub>的取代基取代；

[0052] R<sub>a</sub>每次出现时独立地选自羧基、羟基、卤素、氨基、苯基、C<sub>1-4</sub>烷基和C<sub>1-4</sub>烷氧基；

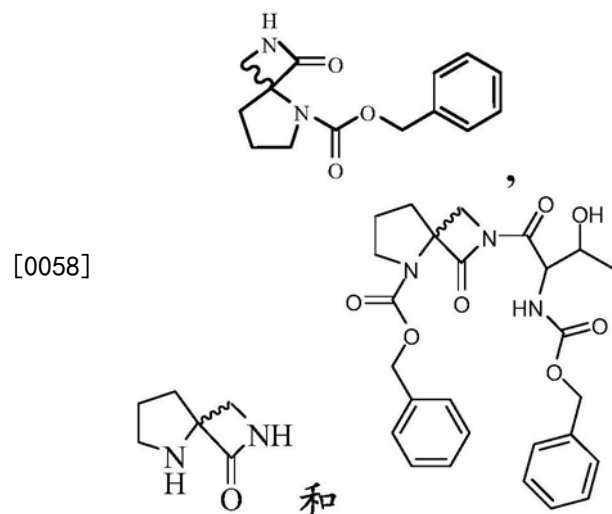
[0053] R<sub>b</sub>每次出现时独立地选自羧基、羟基、卤素、氨基、苯基、C<sub>1-4</sub>烷基、C<sub>1-4</sub>烷氧基和-NH-R<sub>c</sub>；

[0054] R<sub>c</sub>每次出现时独立地选自：-C(O)-O-C<sub>1-4</sub>烷基；和-C(O)-C<sub>1-4</sub>烷基；且

[0055] R<sub>d</sub>每次出现时独立地选自H和C<sub>1-4</sub>烷基；

[0056] 及其药学可接受的盐、N-氧化物或立体异构体。

[0057] 例如，所关注的化合物包括：

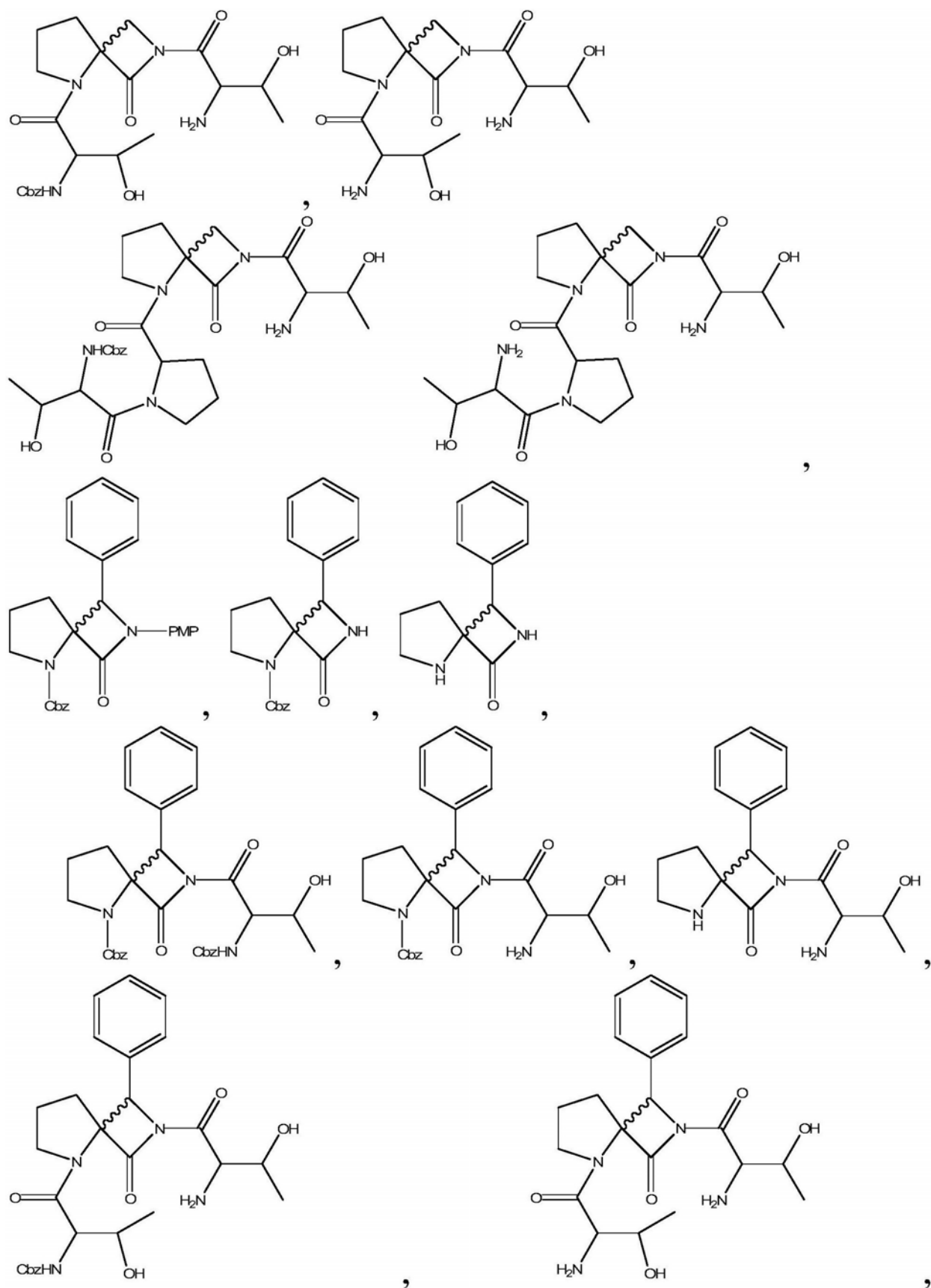


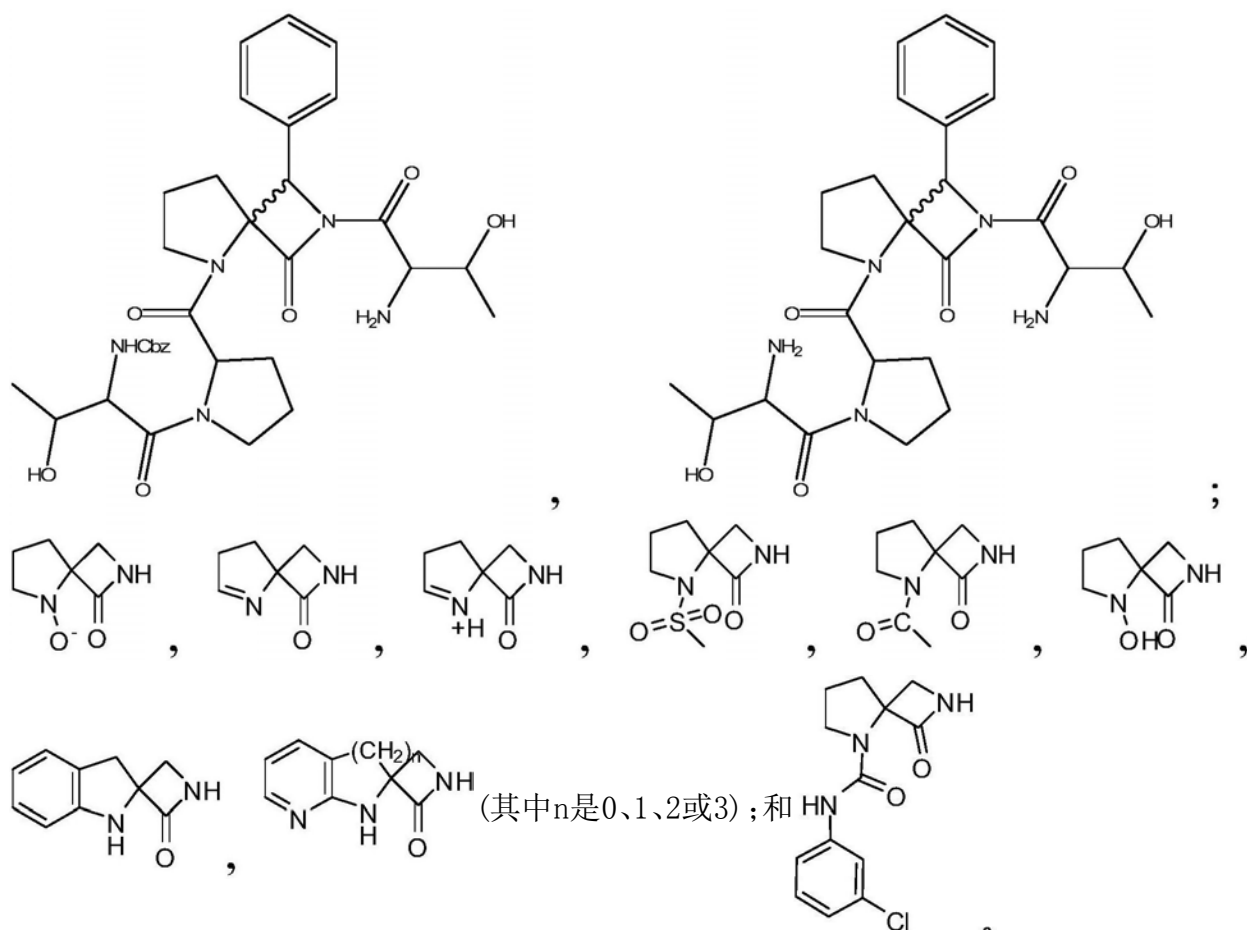
[0059] 本文公开的是选自如下的化合物：





[0061]





#### [0062] 方法

[0063] 所关注的方法包括对需要的患者治疗孤独症和/或孤独症谱系障碍的方法,包括对该患者给予有效量的所公开的化合物(例如上述化合物)。在一个实施方案中,关注对需要的患者减轻孤独症症状的方法,包括对该患者给予有效量的所公开的化合物。例如,在给药时,所述化合物可以降低一种或多种孤独症症状发生率,例如眼睛接触回避、社交失败、注意缺陷、情绪差、活动过度、异常声音敏感性、不适当的语言、睡眠断续和持续症。这种发生率的降低可以相对于未治疗个体中的发生率测定。

[0064] 在一些实施方案中,患有孤独症的患者还患有另一种医学病症,例如脆性X染色体综合征、结节性硬化症、先天性风疹综合征和未处理的苯丙酮尿。

[0065] 在另一个实施方案中,关注对需要的患者治疗障碍的方法,其中所述障碍选自:癫痫症、AIDS和/或AIDS痴呆、帕金森病、多系统萎缩、进行性核上麻痹、脊髓小脑性共济失调、孤独症、脆性X染色体综合征、结节性硬化症、注意缺陷障碍、橄榄体脑桥小脑萎缩、脑瘫、药物诱发视神经炎、周围神经病、脊髓病、缺血性视网膜病变、青光眼、心跳骤停、行为障碍和冲动控制障碍,该方法包括给予所公开的化合物,例如GLYX-13。本文还关注治疗咳嗽例如不能控制的咳嗽的方法,包括对有此需要的患者给予GLYX-13。

[0066] 例如,本文提供了治疗良性Rolandic(大脑半球凸面的感觉运动皮层区)癫痫、额叶癫痫、婴儿痉挛、青少年(juvenile)肌阵挛型癫痫、Lennox-Gastaut综合征、Landau-Kleffner综合征、Dravet综合征、进行性肌阵挛性癫痫、反射性癫痫、Rasmussen综合征、颞叶癫痫、边缘系统癫痫、癫痫持续状态、腹型癫痫、大规模双边性肌阵挛、月经性癫痫、杰克

逊发作症、拉福拉病和/或光敏性癫痫的方法,包括给予有效量的所公开的化合物。

[0067] 在另一个实施方案中,本文关注对需要的患者治疗如下疾病的方法:注意缺陷障碍、ADHD(注意力缺陷伴多动障碍)、精神分裂症(例如,情感性分裂症、妄想症例如偏执型病态人格、青春型精神分裂症和/或紧张型精神分裂症)、双相情感障碍(包括I型双相情感障碍、II型双相情感障碍、循环性精神病)、边缘型人格障碍、焦虑(包括社交焦虑障碍、回避型人格障碍)、强迫性障碍、阿片、烟碱和/或酒精成瘾改善(例如治疗这种成瘾或改善从这种成瘾中戒断的副作用的方法)、脊髓损伤糖尿病视网膜病变、外伤性脑损伤、额颞痴呆、创伤后紧张症和/或亨廷顿氏舞蹈症,该方法包括给予所公开的化合物,例如GLYX-13。例如,患有精神分裂症、成瘾(例如酒精或阿片)、孤独症(和孤独症谱系障碍)、亨廷顿氏舞蹈症、外伤性脑损伤、脊髓损伤、创伤后紧张症和糖尿病视网膜病变的患者都可能患有改变的NMDA受体表达或功能。

[0068] 例如,本文提供了治疗精神分裂症例如精神分裂症的阴性和认知症状的方法,包括对患有这些疾病的患者给予治疗有效量的所公开的化合物。

[0069] 本文关注治疗中风和/或局部缺血例如缺血性中风、脑局部缺血、短暂性脑缺血发作、心脏局部缺血和/或心肌梗死的方法,包括对有此需要的患者给予药理学有效量的GLYX-13。

[0070] 本文还提供了调节细胞中孤独症靶基因表达的方法,包括使细胞接触有效量的所公开的化合物,例如GLYX-13。孤独症基因表达可以例如选自ABAT、APOE、CHRNA4、GABRA5、GFAP、GRIN2A、PDYN和PENK。在另一个实施方案中,提供了调节患有突触可塑性相关障碍的患者中突触可塑性的方法,包括对该患者给予有效量的所公开的化合物例如GLYX-13或其药理学可接受的盐。

[0071] 在另一个实施方案中,提供了治疗阿尔茨海默氏症或例如治疗伴随早期阶段的阿尔茨海默氏症的记忆丧失的方法,包括对有此需要的患者给予所公开的化合物,例如GLYX-13。本文还提供了体外或体内(例如细胞中)调节阿尔茨海默氏淀粉样蛋白(例如 $\beta$ 淀粉样肽,例如A<sub>1-42</sub>同种型)的方法,包括使所述蛋白接触有效量的所公开的化合物,例如GLYX-13。例如,在一些实施方案中,GLYX-13或另一种所公开的化合物可以阻断海马切片中这种淀粉样蛋白抑制长程增强效应和细胞凋亡性神经元细胞死亡的能力。在一些实施方案中,所公开的化合物(例如GLYX-13)可以对有此需要的阿尔茨海默氏症患者提供神经保护特性,例如,可以对晚期阿尔茨海默氏症相关神经元细胞死亡提供治疗作用。

[0072] 在一些实施方案中,所述患者是人,例如儿科人体患者。

[0073] 在一些实施方案中,所关注的方法涉及单独的所公开的一种或多种化合物或其与一种或多种其他活性剂的组合在制备治疗孤独症或另一种所关注的病症的药物中的应用。在一个实施方案中,本说明书涉及治疗孤独症的方法,通过对有此需要的患者给予有效量的GLYX-13来进行。

[0074] 例如,在所公开的方法中,可以通过胃肠外对患者给予所关注的化合物例如GLYX-13或包含所关注的化合物和例如药理学可接受的赋形剂的组合物,包括、但不限于通过皮下和静脉内。还可以通过缓慢控制的静脉输注或通过从植入装置中释放给予本发明的化合物或组合物。在一个实施方案中,所公开的治疗孤独症的方法包括给予一种剂量或一种或多种剂量的所公开的化合物。在一些实施方案中,患者在一种(单)剂量给药12小时、1天、1周、

2天、3天、4天、5天、6天乃至8天后在孤独症症状方面基本上得到改善。

[0075] 用于疗法所需的所公开的化合物的治疗有效量根据所治疗的孤独症的性质、期望的治疗时间期限、患者的年龄和病情的不同而改变,且最终由主治医师决定。然而,一般而言,用于成年人治疗的剂量典型地在约0.01mg/kg—约1000mg/kg/天的范围。该剂量可以约为1 mg/kg—约100mg/kg/天。期望的剂量可以便利地以单剂量或多次剂量在适当的给药间隔给予,例如2、3、4或4次以上亚剂量/天。

[0076] 许多因素可以导致以宽范围剂量给予本发明公开的化合物。当与其他治疗剂联合给予时,可以以相对较低的剂量给予本发明化合物的剂量。因此,本发明化合物的剂量可以在约1ng/kg—约100mg/kg。本发明化合物的剂量可以为任意的剂量,包括、但不限于约1ug/kg、25ug/kg、50ug/kg、75ug/kg、100ug/kg、125ug/kg、150ug/kg、175 ug/kg、200ug/kg、225ug/kg、250ug/kg、275ug/kg、300ug/kg、325ug/kg、350ug/kg、375ug/kg、400ug/kg、425ug/kg、450ug/kg、475ug/kg、500ug/kg、525ug/kg、550ug/kg、575ug/kg、600ug/kg、625ug/kg、650ug/kg、675ug/kg、700ug/kg、725ug/kg、750ug/kg、775ug/kg、800ug/kg、825ug/kg、850ug/kg、875ug/kg、900ug/kg、925ug/kg、950ug/kg、975ug/kg、1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15 mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg或100mg/kg。

[0077] 在一些实施方案中,所公开的化合物例如GLYX-13可以以产生抗抑郁症样和/或抗焦虑样作用的用量给予。

[0078] 可以将所公开的化合物作为液体或固体制剂的组成部分提供,例如,水或油混悬液、溶液、乳剂、糖浆剂和/或酞剂。还可以将组合物配制用水或其他适合的赋形剂在使用前溶解的干燥产品。这种液体制剂可以包含添加剂,包括、但不限于助悬剂、乳化剂、非水性赋形剂和防腐剂。助悬剂包括、但不限于山梨醇糖浆、甲基纤维素、葡萄糖/糖浆、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶和氢化食用脂。乳化剂包括、但不限于卵磷脂、脱水山梨糖醇单油酸酯和阿拉伯胶。非水性赋形剂包括、但不限于食用油、杏仁油、分馏椰子油、油酯类、丙二醇和乙醇。防腐剂包括、但不限于羟基苯甲酸甲酯或羟基苯甲酸丙酯和山梨酸。还可以为胃肠外给药配制所关注的化合物,包括、但不限于通过注射或连续输注给药。注射用制剂可以是在油或水性赋形剂中的混悬液、溶液或乳剂形式且可以包含配制剂,包括、但不限于助悬剂、稳定剂和分散剂。还可以将组合物制成用适合的赋形剂包括、但不限于无菌无热原水再溶解的干粉形式。

## 具体实施方式

[0079] 实施例1:低等品系与随机品系的大鼠相比的USVs

[0080] 可以使用如下行为量度在动物中分别使孤独症核心症状(1)群居情感和动机缺陷、2)沟通问题和3)活动异常、尤其是重复行为的高发生率)模型化:(1)花费在群居接触中的时间减少;(2)群居前发声的比例降低;和(3)断续的超声发声模式。

[0081] 选择性繁殖成年雄性Long Evans大鼠用于低或随机比例的玩耍诱导的群居前超声发声(USVs)(即频率调节的50-kHz USV作为对粗暴和翻滚玩耍行为的应答)。使用相同选择性繁殖品系的同种配对测试动物。图1A描述在花费在直接群居接触中的这些大鼠的平均值±SEM 时间。图1B表示在成年雄性低等和随机品系动物中同种玩耍诱导的群居前USVs

(频率调节的50kHz呼叫)的比例。图1C表示单调的(即低于7kHz的带宽)总同种玩耍诱导的USVs比例。已经证实频率调节的50-kHz呼叫与群居前阳性情感状态相关;单调的呼叫与沟通缺陷相关)。数据适合Burgdorf等人Dev. Psychobiol 51,34-46 (2009) 并且再分析。 $n=14-20$ /组。 $*P<.05$  Fisher PLSD 2尾因果检验。

[0082] 参与与同种群居接触时间较少的低等品系动物在作为成年动物测试时与随机繁殖的动物相比显示玩耍诱导的群居前USVs比例较低且显示出单调USVs比例增加,例如本实施例显示这种动物模型表现出孤独症的核心群居和沟通症状。

[0083] 实施例2:GLYX-13对同种玩耍诱导的群居前USVs的作用

[0084] 正如图2A中所示,在用赋形剂预处理(1mg/ml 无菌盐水s.c.)的幼年雄性低等品系大鼠中测定同种玩耍诱导的群居前USVs(频率调节的50kHz呼叫)。图2B显示在使用受试者内设计测试开始前用 GLYX-13(50mg/kg s.c.)处理15min的结果。 $n=9$ /组。 $*P<.05$  Fisher PLSD 2尾因果检验。GLYX-13显著地增加了玩耍诱导的群居前USVs比例并且显著地降低了单调的总USVs比例。

[0085] 这些结果显示GLYX-13可以逆转低等品系大鼠中的群居/情感沟通缺陷。

[0086] 实施例3:低等品系动物中的基因表达改变

[0087] 通过微阵列、使用如上述Burgdorf等人,Neuroscience 168, 769-777 (2010)中所述的方法检验低等品系动物的两个脑区域(近中前额皮质和伏核)中的基因表达改变,已经证实这两个区域在功能上与玩耍诱导的群居前发声相关(Burgdorf等人,Behav Brain Res 182, 274-283 (2007))。

[0088] 在成年低等品系动物的两个脑区域中与非选择性繁殖的成年随机品系动物相比的显著改变的基因清单显示在图3中。在人孤独症相关基因与低等品系动物中差别表达的基因之间存在具有统计学显著性的重叠(8个改变的孤独症候选基因/101个全部改变的基因表示与25/ 1108的碎片组偏置(chip set bias)相比有3.5倍的增强; $P<.05$ ;卡方检验,2尾)。

[0089] 将NMDA受体鉴定为在低等品系动物中差别表达的基因中的 hub[平均值 $\pm$ SEM ( $0.985\pm0.004$ ),与3种NMDA受体的NR2A亚单位的关连相比在每个低等品系动物中差别表达的基因中的平均相关性; $P<.0001$ 单尾t-检验]。作为阴性对照,还分析了来自接受群居失败的不认为是模型孤独症的大鼠的皮质微阵列数据,并且发现孤独症候选基因既没有在这种基因组中得到增量调节,也没有将NMDAR鉴定为hub基因(所有的 $P$ 's $>.05$ )。

[0090] 如Burgdorf等人Neuroscience (2010)中所述根据在选择性繁殖用于低比例50-kHz USVs的成年雄性Long Evans大鼠和非选择性繁殖的随机品系对照组的横核近中前额皮质中的微阵列完成基因表达谱。 $n=6$ /组。将错误发现比例设定在5%。低等品系动物显示人孤独症相关基因显著富集(与碎片组偏置相比2.9倍增强, $P<.05$ )。

[0091] 实施例4对人b-淀粉样蛋白(1-42)毒性的防护

[0092] 为了测定Glyx-13是否可以防止hA $\beta$ 对生理学网状结构环境中易感神经元的毒性,我们通过再校准NMDA受体活化比较了hA $\beta$ 在不同浓度Glyx-13不存在和存在下的长期效应。正如图4中所示,单独的5 $\mu$ g/ml浓度的hA $\beta$ 在胞内施用后24hr在场field CA1中产生了显著延迟的谷氨酸能锥体细胞死亡。施用相同浓度的hA $\beta$ 和Glyx-13的混合物证实Glyx-13显示神经保护效力的U-形剂量应答相关性,其中浓度低至1nM—1 $\mu$ M Glyx-13对hA $\beta$ -诱导的CA1

锥体细胞死亡具有显著的防护作用(\*,P<0.05,与单独的hAβ相比的邓肯多重范围t-检验。

[0093] 实施例5 hAb-诱导的Schaffer侧CA1突触上的长程增强效应(LTP)受损

[0094] 由于认为LTP是长期记忆储存的重要机制,所以hAβ的剧烈突触毒性作用可能是属于早期阶段的AD的标志的非认知减退和记忆缺陷的巨大入口。因此,重要的问题在于hAβ是否也可以增强这种hAβ的功能性突触毒性作用,且甘氨酸位点部分激动剂是否可以防止对突触的这种毒性。

[0095] 我们在Glyx-13、D-环丝氨酸或完全激动剂D-丝氨酸不存在或存在下将射出的hAβ压入尖锐的体外大鼠海马切片CA1放线层中的 Schaffer侧突触区并且尝试在30min后触发LTP。图5A显示单独的 hAβ导致高频Schaffer侧突刺激触发的LTP等级显著降低(~20%)。当hAβ在与施加的Glyx-13(1μM,图5B,空心圆圈)的存在下压力射出时,LTP恢复至正常对照水平。相反,与用单独的hAβ注射处理的突触相比(实心圆圈),甘氨酸位点部分激动剂D-环丝氨酸(1μM,图 5C,空心圆圈)、完全激动剂D-丝氨酸(100μM,图5D,空心圆圈)都不能恢复LTP。这些数据证实Glyx-13显示防止突触上的LTP受到hAβ的急性突触毒性效应影响的有效能力,从而启示Glyx-13可以作为早期阶段的阿尔茨海默氏症中的益智药,又作为该病过程后期的神经保护药。

[0096] 实施例6-亨廷顿氏症模型

[0097] HD 51CAG和WT(野生型)大鼠用于亨廷顿氏症模型研究,以使用依次操作颠倒任务进行认知测试。根据下列方案对大鼠给药:

GLYX-13 剂量方案				
基因型	盐水	1mg/kg	5mg/kg	10mg/kg
纯合子“HD”	n=7	n=0	n=9	n=3
野生型“WT”	n=7	n=0	n=6	n=0

[0099] 首先将动物置于获取试验中。获取试验是8-小时测试期,其中30 秒变动间隔后“正确”的杠杆压力用蔗糖食物颗粒再强化动物。这项任务需要动物学习该杠杆需要制动以便得到加强。测定花费在鉴定“正确”杠杆上的时间并且获得增强物的数量,形成“正确”杠杆压力百分比和误差(不正确的杠杆压力)。获取试验在可随意饮水的情况下进行。

[0100] 在获取试验后,使用递增的一种杠杆压力用强化的递进的固定比例(FR)方案训练动物,直到它们压杠杆15次以接受强化作用(即 FR15),典型地需要3天。在全部训练和测试期后,操作程序运行最长60分钟或直到大鼠获取最多200粒蔗糖颗粒,此时,即刻将它们从室内取出,并且放回到其居住笼中。MED PC IV程序用于以小的递增量增加FR,视大鼠的行为而定(即使用FR1获取15次增强后大鼠具有的FR增加至FR2。在成功递进的FR训练后,将大鼠放入室内连续2天使用FR16训练,以有助于建立基线应答比例并且使动物变成习惯于多个获得加强的杠杆压力。

[0101] 测试期使用递进的FR方案进行25或30天。第一期测试由9天 FR组成,其中左侧杠杆是用于强化的“正确的”杠杆。大鼠从FR2开始,且之后每天移动到下一个增加的FR,直到它们达到FR512(分别为2、4、8、16、32、64、128、256和512)。记录左侧和右侧杠杆的应答比例和每侧的杠杆总数,在期限中每侧合并的杠杆压力总数,“正确”杠杆压力百分比(“正确”杠

杆压力/左侧杠杆压力+右侧杠杆压力,然后乘以100,得到百分比),获取总增强物和完成每个期限的时间。每天取出大鼠,然后开始第二期测试,其中仅记录大鼠的体重。在I 期过程中,HD和WT动物以与总压力成正比的方式压正确杠杆。

[0102] 第二期测试由9天FR测试组成,其中右侧杠杆目前变成强化用“正确”杠杆。第二期测试与第一期测试相同,但除了“正确”杠杆的空间反转。记录相同测量值。在II期过程中,将正确应答杠杆切换至右侧。HD和WT动物类似地以与总压力成正比的方式压杠杆。然而,HD动物在第2天时增加的不正确杠杆压力下显示持续性错误。

[0103] 在完成第二期测试时,每天取出大鼠,其中仅记录其体重并且进入假随机混合方案。假随机期由进行FR32 (此时动物以最高应答比例做出应答) 6天的大鼠组成,其中假随机地切换“正确”(例如左、左、右、右、左和右)。在第3期过程中,在认为开始前20分钟使用上述剂量方案皮下递送GLYX-13。给予GLYX-13的WT和HD动物显示高于使用盐水注射的动物的正确杠杆压力趋势百分比。参见图6。

[0104] 图6A表示方差的重复测量分析,并且一系列一种方式ANOVAs 揭示出,在3期假随机测试过程中,WT与HD大鼠在以杠杆压力量/秒测定的杠杆压力“正确”比例方面无显著性差异。然而,方差的重复测量分析揭示出WT与HD大鼠在经过使用具有较高“不正确”比例的HD大鼠的所有测试期中的“不正确”杠杆压力方面具有显著性差异( $p = 0.004$ )。(图6B)。一种方式ANOVA揭示出HD与WT大鼠之间存在显著性差异,此时测定了第1天( $p = 0.05$ )、第2天( $p = 0.026$ )、第4天( $p = 0.013$ )和第5天( $p = 0.018$ )过程中的“不正确”比例,其中HD大鼠每天具有较高的比例。

[0105] 在操作测试结束时,将大鼠放入开放区域的活动监测系统(Kinder Scientific; Poway, CA)中。然后在其夜间期过程中测试大鼠1小时,记录行进的总距离,完成的基础和良好运动,对中心的亲近性和交配数量(即站立在后腿上)。运行的总距离表示HD 51CAG大鼠相对于野生型大鼠是否显示任何活动过度或活动减退。交配事件的总数是附加的探究行为和活动水平的测量值,而且可以有助于检测活动异常。

[0106] 等效方案

[0107] 本领域技术人员会认识到或使用不超过常规的实验能够确定与本文所述的本发明具体实施方案的许多等效方案。这种等效方案预以由如下权利要求所包括。

[0108] 参考文献的引入

[0109] 特别地将本文引述的全部专利权、公布的专利申请、网站和其他参考文献的全部内容完整地引入本文参考。

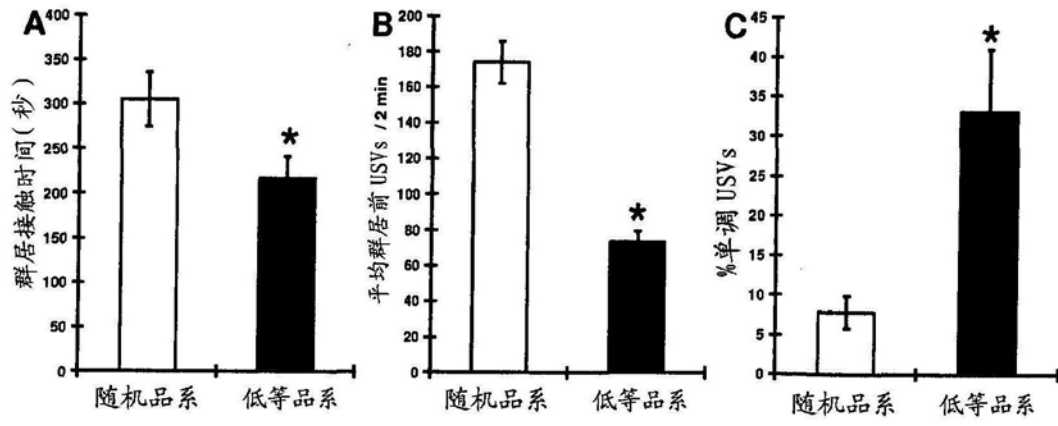


图1

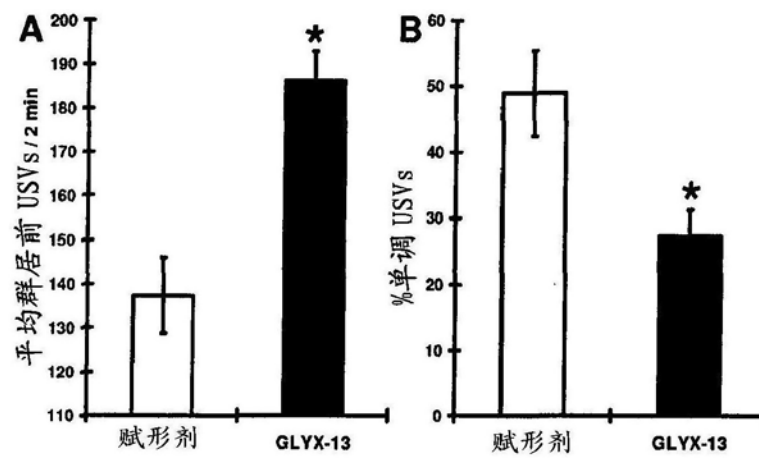


图2



## 低等品系中的基因表达改变

基因名称	中间前额皮质 倍数改变	伏核 倍数改变	基因 ID
<b>孤独症候选基因</b>			
ABAT	0.80	1.16	4-氨基丁酸氨基转移酶
APOE	0.81	1.19	载脂蛋白 E
CHRNA4	0.91	0.89	胆碱能受体, 烟酸, $\alpha 4$
GABRA5	0.67	1.18	$\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) A 受体, $\alpha 5$
GFAP	0.89	1.15	神经胶质原纤维酸性蛋白质
GRIN2A	0.86	0.91	谷氨酸受体, 离子型, N-甲基 D-天冬氨酸 2A
PDYN	0.90	0.92	强啡肽原
PENK	0.80	1.13	前脑啡肽1
<b>谷氨酸受体</b>			
GRIA2	0.61	0.66	谷氨酸受体, 离子型, AMPA 2
GRIA3	0.73	0.77	谷氨酸受体, 离子型, AMPA 3
GRIA4	0.82	1.27	谷氨酸受体, 离子型, AMPA 4
GRIK4	0.89	1.11	谷氨酸受体, 离子型, 红藻氨酸盐 4
GRM1	0.92	1.23	谷氨酸受体, 代谢型 1
<b>钾通道</b>			
KCNA4	0.72	1.38	钾电压门控通道 shaker-相关亚族
KCNC2	0.94	1.08	钾电压门控通道 Shaw-相关亚族
KCND2	0.82	1.22	钾电压门控通道 Shal-相关亚族, 成员
KCNJ1	0.90	0.82	内向整流钾通道, 亚族, J, 成员
KCNK3	0.92	1.07	钾通道, K 亚族, 成员 3
KCNMA1	1.09	1.17	钾大电导钙活化通道
<b>胰岛素样生长因子相关基因</b>			
IGF1	1.10	1.10	胰岛素样生长因子 1
IGF2	0.83	1.06	胰岛素样生长因子 2
IGFBP1	1.27	1.10	胰岛素样生长因子结合蛋白 1
IGFBP3	1.13	0.89	胰岛素样生长因子结合蛋白 3

图3

## 磷蛋白

ATP2A2	0.87	0.92	ATPase, Ca++转运, 心肌, 缓慢抽搐
ATP2B1	0.90	1.08	ATPase, Ca++转运, 质膜 1
C3	1.19	1.13	补体成分 3
CACNA1C	0.87	1.16	钙通道, 电压依赖性, L 型, $\alpha 1C$
CALM1	0.90	0.78	钙调蛋白假基因 2; 钙调蛋白 3; 钙调蛋白 2; C
CASP3	1.11	1.14	半胱天冬酶 3, 细胞凋亡相关半胱氨酸蛋白酶
CKB	0.77	0.89	肌酸激酶, 脑
CNP	0.92	1.11	2', 3'-环核苷酸 3' 磷酸二酯酶
DLGAP4	0.93	0.93	盘, 大同源物-相关蛋白 4(果蝇属( <i>Drosophila</i> ))
FAS	0.93	0.92	Fas(TNF 受体亚族, 成员 6)
FYN	0.86	1.09	涉及 SRC、FGR、YES 的 FYN 癌基因
GABRA4	0.89	1.09	$\gamma$ -氨基丁酸(GABA)A 受体, $\alpha 4$
GAP43	0.85	0.85	生长相关蛋白 43
GNAS	0.72	0.86	GNAS 复合基因座
H3F3B	1.23	1.20	与 H3 组蛋白类似, 家族 3B
HES1	1.35	1.09	多毛和分裂强化因子 1(果蝇属)
HK2	1.19	1.18	己糖激酶 2
HMBS	1.33	1.19	羟甲基胆色烷合酶
HSPB1	1.16	1.08	热休克蛋白 1
ID1	1.34	0.86	DNA 结合抑制剂 1
ITGB7	1.09	1.07	整联蛋白, $\beta 7$
ITPR1	0.84	0.82	肌醇 1, 4, 5-三磷酸受体, 1 型
LMNB1	1.52	1.13	核纤层蛋白 B1
map2	0.72	0.86	微管相关蛋白质 2
MAPK3	1.08	1.13	促分裂原活化蛋白激酶 3
MBP	0.86	0.90	髓鞘碱性蛋白
MIF	1.11	0.91	巨噬细胞移动抑制因子
MPZ	1.16	0.91	髓鞘蛋白 0
NOS2	1.08	0.92	一氧化氮合酶 2, 诱导型
NR4A1	1.18	1.10	核受体亚族 4, A 组, 成员 1
NTRK2	0.81	1.20	神经营养酪氨酸激酶, 受体, 2 型
NTRK3	0.86	0.86	神经营养酪氨酸激酶, 受体, 3 型
P2RX7	0.92	1.29	嘌呤型受体 P2X, 配体门控离子通道, 7
PDGFRA	0.95	0.95	血小板衍生生长因子受体, $\alpha$ 多肽
PLCB1	0.88	1.11	磷脂酶 C, $\beta 1$ (磷酸肌醇-特异性)
PPAP2B	0.83	0.86	磷脂酸磷酸酶, 2B 型
PRKCB	0.73	0.80	蛋白激酶 C, $\beta$
SCNN1G	0.95	0.88	钠通道, 非电压门控 1, $\gamma$
SLC6A17	1.08	0.92	溶质载体家族 6(神经递质转运蛋白), 成员 17
SMN1	1.10	1.07	运动神经元存活蛋白 1
SNAP25	0.82	0.83	突触体相关蛋白 25
ST13	1.18	1.12	类似于致肿瘤性的抑制 13; 致肿瘤性的抑制 13
STAT3	1.12	1.14	转录的信号转导物和激活物 3
STX12	0.95	0.95	突触融合蛋白 12
STX1B	0.86	1.09	突触融合蛋白 1B
SYNE1	0.71	0.74	包含血影蛋白重复, 核被膜 1
SYT9	0.90	1.15	突触结合蛋白 IX
VIM	1.24	1.45	波形蛋白

图3续

## 其它

ATP1B3	1.13	1.07	ATP 酶, Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> 转运, $\beta$ 3 多肽
B2M	1.18	1.11	$\beta$ 2. 微球蛋白
BMP1	1.10	0.87	骨形态发生蛋白 1
CALB1	0.68	0.86	钙结合蛋白 1
CALB2	0.78	1.11	钙结合蛋白 2
CALCB	1.22	0.84	降钙素相关多肽, $\beta$
CASP1	1.15	0.83	半胱天冬酶 1
CD48	1.23	1.12	Cd48 分子
CITED2	1.12	1.11	Cbpb-300, 相互影响反式激活因子, 带 Glu/Asp-富含羧基-末端, 2
CPE	0.84	0.74	羧肽酶 E
GABRD	0.74	1.14	$\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) A 受体, $\delta$
GFRA2	0.93	0.91	GDNF 家族受体 $\alpha$ 2
GLRA1	0.86	1.09	甘氨酸受体 $\alpha$ 1
GNAO1	0.84	0.93	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 (G 蛋白, $\alpha$ 活化活性多肽 0)
HK3	1.35	1.13	己糖激酶 3 (白细胞)
HPRT1	1.14	1.11	次黄嘌呤转磷酸核糖基酶 1
LTP4	1.24	1.15	非特异性脂质转移蛋白 4
MGAT2	1.18	0.82	甘露糖 ( $\alpha$ -1, 6-)-糖蛋白 $\beta$ -1, 2-N-乙酰葡萄糖胺转移酶
NCAN	0.92	1.14	神经蛋白聚糖
PDYN	0.90	0.92	强啡肽原
Penk	0.80	1.13	脑啡肽原
PLP1	0.70	0.72	蛋白脂质蛋白 1
POU3F3	0.90	1.24	POU 3 类同源框 3
PTN	0.91	1.11	多效生长因子
RHEB	0.94	0.93	脑中富含 Ras 同系物
SERPINE1	1.20	1.08	丝氨酸 (或半胱氨酸) 肽酶抑制剂, 分化体 B, 成员 1
SLC32A1	0.83	1.16	溶质载体族 32 (GABA 囊泡转运体), 膜 1
SST	0.82	0.89	生长抑素
STX5	1.12	1.09	突触融合蛋白 5
THRB	0.94	0.91	甲状腺激素受体 $\beta$
VCAM1	0.90	0.90	血管细胞粘附分子 1
WNT4	1.14	0.85	无翅型 MMTV 整合位点家族, 成员 4

图3续

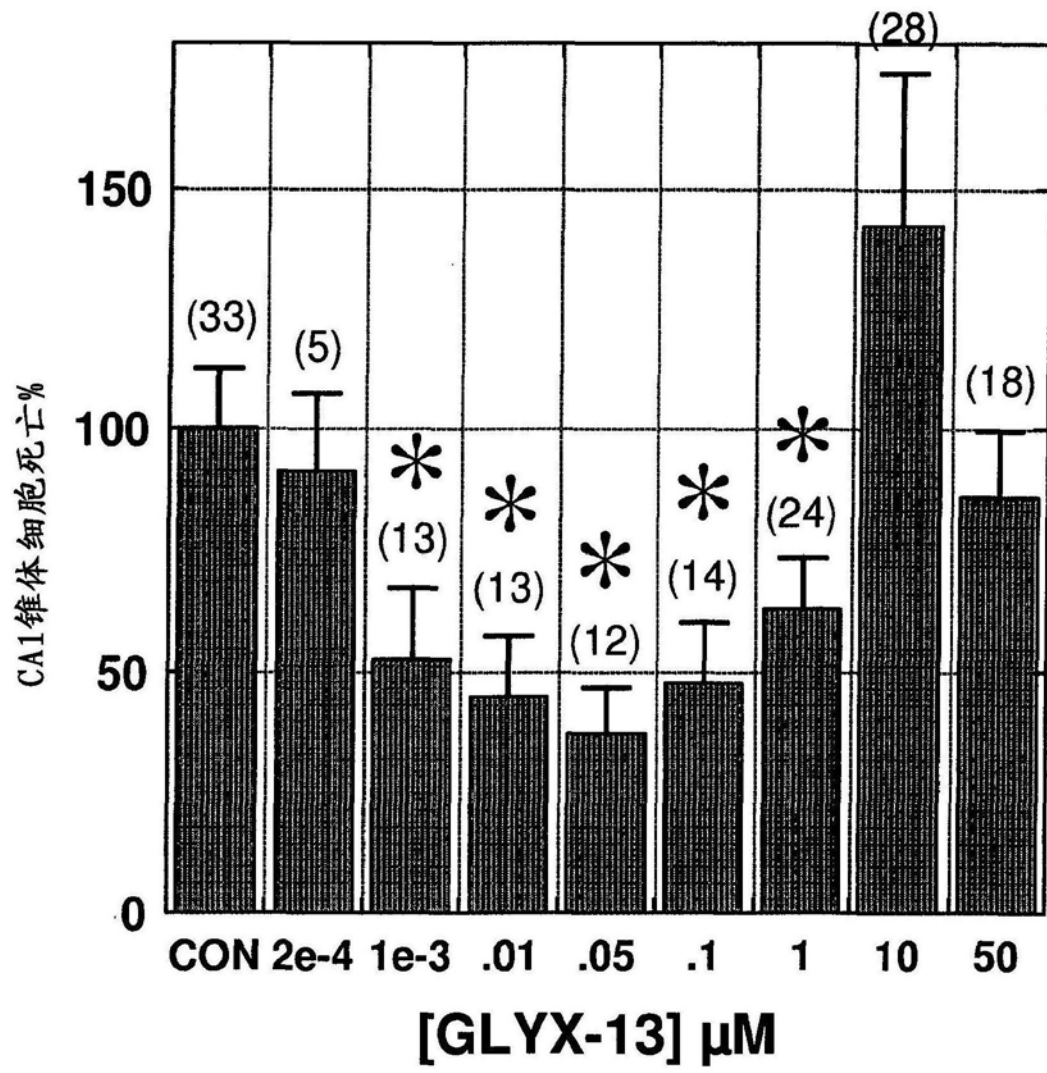


图4

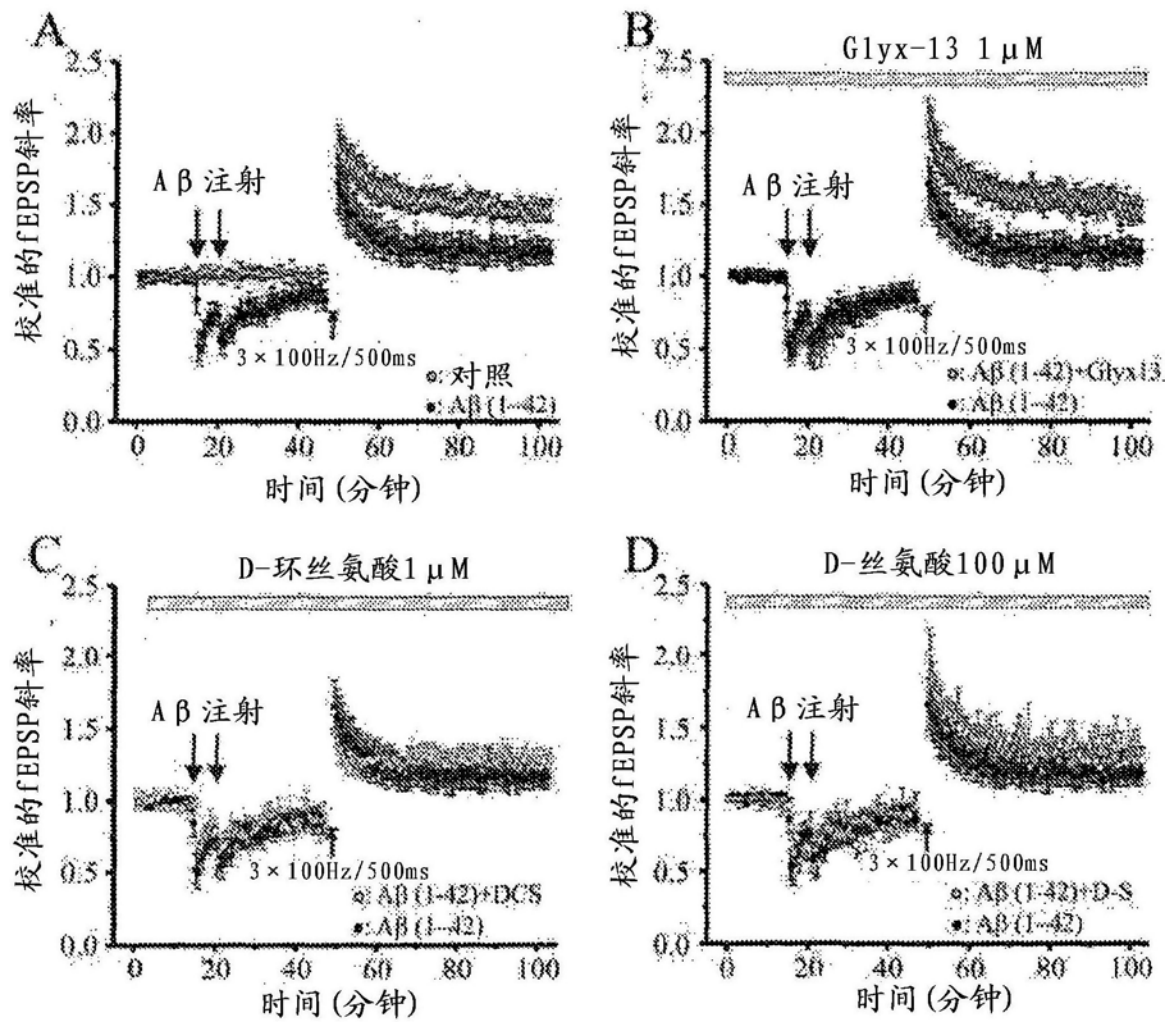
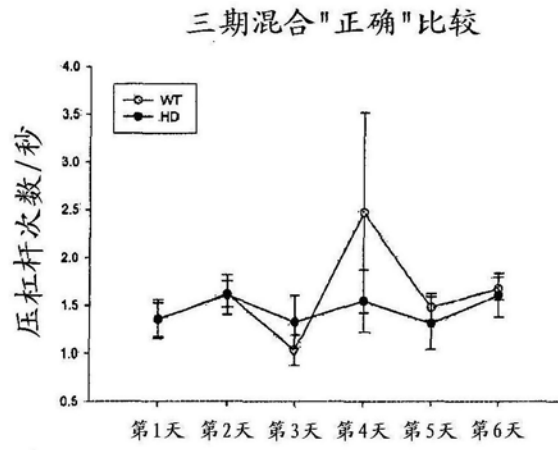
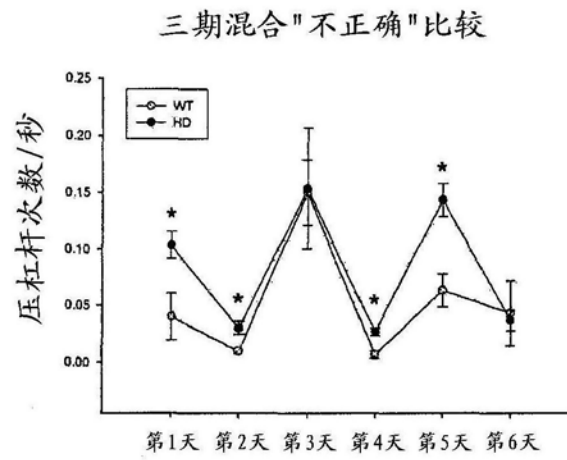


图5



A



B

图6

## Abstract

The invention relates to a medical composition for treating autism, wherein the medical composition comprises a medically effective amount of compound CLYX-13 or a pharmaceutically acceptable salt. The invention further relates to a medical composition for regulating autism target gene expression in the cell, wherein the medical composition comprises an effective amount of compound CLYX-13 or a pharmaceutically acceptable salt.