



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115243688 A

(43) 申请公布日 2022. 10. 25

(21) 申请号 202080088567.2

(22) 申请日 2020.04.24

(30) 优先权数据

62/924,452 2019.10.22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.06.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/029739 2020.04.24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/080646 EN 2021.04.29

(71) 申请人 诺仁制药有限公司

地址 新西兰奥克兰

(72) 发明人 P·寇格拉姆 J·皮尔彻

L·I·格拉斯

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所

有限公司 11038

专利代理师 谭玮

(51) Int.Cl.

A61K 31/4184 (2006.01)

A61K 31/422 (2006.01)

A61K 31/423 (2006.01)

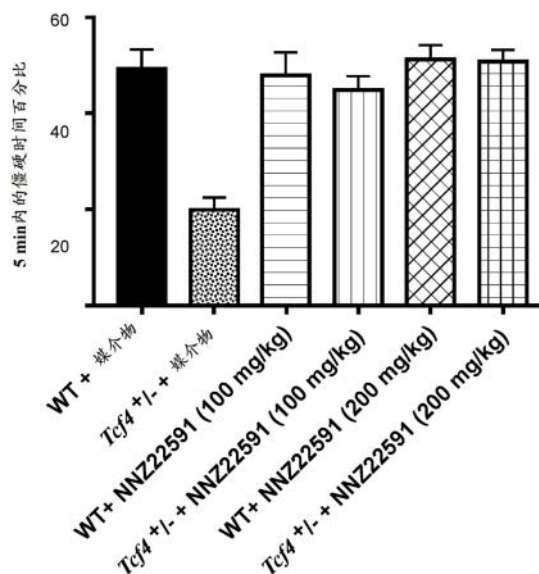
权利要求书4页 说明书46页 附图7页

(54) 发明名称

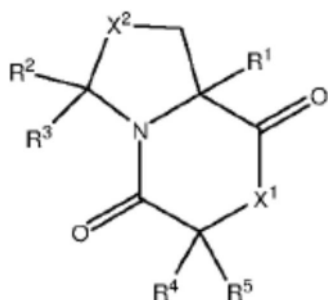
双环化合物和它们在治疗PITT HOPKINS综合征中的使用方法

(57) 摘要

本发明的实施方案提供了用于治疗Pitt Hopkins综合征及其症状的治疗性二酮哌嗪的化合物、组合物、方法和用途,包括环状G-2-烯丙基脯氨酸和其他环状甘氨酸基脯氨酸化合物,以及组合物,包括片剂、胶囊、液体制剂、凝胶、注射溶液和可用于治疗此类病症的其他制剂的药物的制造。



1. 一种治疗患有Pitt Hopkins综合征的哺乳动物的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用具有下式的化合物:



或其药学上可接受的盐或水合物,其中

X^1 选自由以下组成的组: NR' 、O和S;

X^2 选自由以下组成的组: CH_2 、 NR' 、O和S;

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、 $-C(NR')NR'R'$ 、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个 R' 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

或者 R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中 n 是0-6的整数;

或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中 n 是0-6的整数;

条件是当 R^1 =甲基且 $R^2=R^3=R^4=H$ 时, $R^5 \neq$ 苄基;并且

当 $R^1=H$ 时, R^2 和 R^3 中至少一个 $\neq H$ 。

2. 如权利要求1所述的方法,其中 R^1 =甲基。

3. 如权利要求1所述的方法,其中 R^1 =烯丙基。

4. 如权利要求1所述的方法,其中 $R^2=R^3$ =甲基且 $X^2=S$ 。

5. 如权利要求1所述的方法,其中 R^1 =烯丙基, $R^2=R^3=R^4=R^5=H$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

6. 如权利要求1所述的方法,其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

7. 如权利要求1所述的方法,其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括将所述化合物与药学上可接受的赋形剂一起或以凝胶形式施用。

9. 如权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括将所述化合物与药学上可接受的赋形剂和粘合剂一起施用。

10. 如权利要求1至9中任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括将所述化合物与药学上可接受的赋形剂一起或以胶囊形式施用。

11. 如权利要求1至10中任一项所述的方法,其进一步包括施用至少一种抗凋亡化合物、抗坏死化合物、神经保护剂或抗炎剂。

12. 如权利要求11所述的方法,其中所述抗凋亡化合物、抗坏死化合物或神经保护剂选自由以下组成的组:胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、胰岛素样生长因子-II (IGF-II)、转化生

长因子- β 1、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白、IGFBP-3、碱性成纤维细胞生长因子、酸性成纤维细胞生长因子、hst/Kfgk基因产物、FGF-3、FGF-4、FGF-6、角质细胞生长因子、雄激素诱导的生长因子、iht-2、成纤维细胞生长因子同源因子-1 (FHF-1)、FHF-2、FHF-3、FHF-4、角质细胞生长因子2、神经胶质细胞激活因子、FGF-10、FGF-16、睫状神经营养因子、脑源性生长因子、神经营养因子3、神经营养因子4、骨形态发生蛋白2 (BMP-2)、神经胶质细胞系源性神经营养因子、活性依赖性神经营养因子、细胞因子白血病抑制因子、制瘤素M、白介素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、复合干扰素、TNF- α 、氯美噻唑；犬尿喹啉酸、Semax、他克莫司、L-苏式-1-苯基-2-癸酰基氨基-3-吗啉代-1-丙醇、促肾上腺皮质激素-(4-9)类似物 (ORG 2766)、地卓西平 [MK-801]、司来吉兰、NPS1506、GV1505260、MK-801、GV150526、2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并(f)喹啉 (NBQX)、LY303070、LY300164和抗MAdCAM-1抗体MECA-367。

13. 如权利要求1所述的方法，其中所述化合物是cG-2-AllylP。

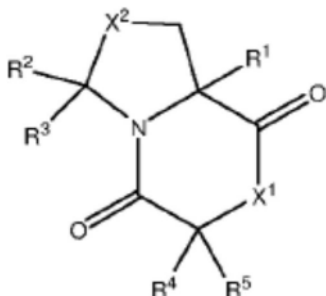
14. 如权利要求1所述的方法，其中所述化合物是环状环己基-G-2MeP。

15. 如权利要求1所述的方法，其中所述化合物是环状环戊基-G-2MeP。

16. 如权利要求1至15中任一项所述的方法，其中所述治疗产生病症的症状的改善，所述改善是与未患所述病症的对照动物相比使用选自由以下组成的组的一种或多种临床测试评估的：异常行为检查表社区版 (ABC)、文兰适应行为量表、严重程度临床总体印象量表 (CGI-S)、改善临床总体印象量表 (CGI-I)、照顾者压力问卷 (CSQ)、脑电图 (EEG) 峰频率、EEG 频带中的总功率、EEG频率的半球一致性、刻板手部动作、眼球追踪、QTc变异性、心率变异性 (HRV)、呼吸不规则性以及心脏和呼吸功能的异常耦合。

17. 如权利要求1至16中任一项所述的方法，其中所述治疗减少选自由以下组成的组的至少一种症状：焦虑、抑郁、认知损害、认知功能障碍、记忆丧失、空间定向丧失、学习能力下降、形成短期或长期记忆的能力下降、情景记忆下降、巩固记忆的能力下降、空间记忆下降、突触发生下降、突触稳定性下降、执行功能缺陷、认知绘图和场景记忆缺陷、陈述性和关系性记忆缺陷、结构或连接关联的快速获得下降、特定事件特定背景的编码和检索下降、情景和/或情景样记忆下降、恐惧条件反射异常、社会行为异常、重复行为、夜间行为异常、癫痫活动、运动异常、磷酸化ERK1/2表达异常、磷酸化Akt表达异常和心动过缓。

18. 一种用于治疗患有Pitt Hopkins综合征的哺乳动物的所述病症的症状的组合物，所述组合物包含具有下式的化合物：



或其药学上可接受的盐或水合物，其中

X^1 选自由以下组成的组： NR' 、O和S；

X^2 选自由以下组成的组： CH_2 、 NR' 、O和S；

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自由以下组成的组： $-H$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)$

R' 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、 $-C(NR')NR'R'$ 、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基；每个 R' 独立地选自自由以下组成的组： $-H$ 、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基；

或者 R^4 和 R^5 一起是 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$ ，其中 n 是0-6的整数；

或者 R^2 和 R^3 一起是 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$ ，其中 n 是0-6的整数；

条件是当 R^1 =甲基且 $R^2=R^3=R^4=H$ 时， $R^5 \neq$ 苄基；并且

当 $R^1=H$ 时， R^2 和 R^3 中至少一个 $\neq H$ 。

19. 如权利要求18所述的组合物，其中 R^1 =甲基。

20. 如权利要求18所述的组合物，其中 R^1 =烯丙基。

21. 如权利要求18所述的组合物，其中 $R^2=R^3$ =甲基且 $X^2=S$ 。

22. 如权利要求18所述的组合物，其中 R^1 =烯丙基， $R^2=R^3=R^4=R^5=H$ ， $X^1=NH$ ， $X^2=CH_2$ 。

23. 如权利要求18所述的组合物，其中 R^1 =甲基， $R^2=R^3=H$ ， R^4 和 R^5 一起是 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2-$ ， $X^1=NH$ ， $X^2=CH_2$ 。

24. 如权利要求18所述的组合物，其中 R^1 =甲基， $R^2=R^3=H$ ， R^4 和 R^5 一起是 $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-$ ， $X^1=NH$ ， $X^2=CH_2$ 。

25. 如权利要求18至24中任一项所述的组合物，其进一步包含在药学上可接受的赋形剂中或在凝胶中的所述化合物。

26. 如权利要求18至25中任一项所述的组合物，其进一步包含所述化合物与药学上可接受的赋形剂和粘合剂。

27. 如权利要求18至26中任一项所述的组合物，其中所述用途进一步包括所述化合物与药学上可接受的赋形剂，或处于胶囊形式。

28. 如权利要求18至27中任一项所述的组合物，其进一步包含至少一种抗凋亡化合物、抗坏死化合物、神经保护剂或抗炎剂。

29. 如权利要求28所述的组合物，其中所述抗凋亡化合物、抗坏死化合物或神经保护剂选自自由以下组成的组：胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、胰岛素样生长因子-II (IGF-II)、转化生长因子- $\beta 1$ 、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白、IGFBP-3、碱性成纤维细胞生长因子、酸性成纤维细胞生长因子、hst/Kfgr基因产物、FGF-3、FGF-4、FGF-6、角质细胞生长因子、雄激素诱导的生长因子、int-2、成纤维细胞生长因子同源因子-1 (FHF-1)、FHF-2、FHF-3、FHF-4、角质细胞生长因子2、神经胶质细胞激活因子、FGF-10、FGF-16、睫状神经营养因子、脑源性生长因子、神经营养因子3、神经营养因子4、骨形态发生蛋白2 (BMP-2)、神经胶质细胞源性神经营养因子、活性依赖性神经营养因子、细胞因子白血病抑制因子、制瘤素M、白介素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、复合干扰素、TNF- α 、氯美噻唑；犬尿喹啉酸、Semax、他克莫司、L-苏式-1-苯基-2-癸酰基氨基-3-吗啉代-1-丙醇、促肾上腺皮质激素-(4-9)类似物(ORG 2766)、地卓西平[MK-801]、司来吉兰、NPS1506、GV1505260、MK-801、GV150526、2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并(f)喹啉(NBQX)、LY303070、LY300164和抗MAdCAM-1抗体MECA-367。

30. 如权利要求18至29中任一项所述的组合物，所述化合物为环状G-2-AllylP。

31. 如权利要求18至29中任一项所述的组合物，其中所述化合物为环状环己基-G-

2MeP。

32. 如权利要求18至29中任一项所述的组合物, 其中所述化合物为环状环戊基-G-2MeP。

33. 如权利要求18至32中任一项所述的组合物, 其在片剂中进一步包含一种或多种赋形剂、载体、添加剂、佐剂或粘合剂。

34. 如权利要求18至33中任一项所述的组合物, 其在胶囊中进一步包含微乳液、粗乳液或液晶。

35. 如权利要求1至17中任一项所述的方法, 其中所述化合物的剂量为约0.001mg/kg至约600mg/kg。

36. 如权利要求18至34中任一项所述的组合物, 其中所述化合物的量足以产生在约0.001mg/kg至约600mg/kg范围内的化合物的施用剂量。

37. 如权利要求1至36中任一项或多项, 其中所述动物或哺乳动物为人类。

双环化合物和它们在治疗PITT HOPKINS综合征中的使用方法

技术领域

[0001] 本PCT国际专利申请要求2019年10月22日提交的美国临时专利申请号62/924,452的优先权,并且涉及在结构上与二酮哌嗪类相关的双环化合物及它们在治疗Pitt Hopkins综合征中的治疗性使用方法。例如,本公开涉及环状甘氨酸基脯氨酸(“cGP”)及其类似物,包括环状甘氨酸基-2-烯丙基脯氨酸(“环状G-2-AllylP”或“cG-2-AllylP”)、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关化合物及其药物组合物在治疗Pitt Hopkins综合征(PTHS)中的用途。该临时专利申请通过引用以其全文并入本文。

背景技术

[0002] Pitt Hopkins综合征(PTHS)是一种罕见的遗传病症,由人染色体18q21.1上转录因子4(TCF4)基因的杂合次形态突变或无效突变或缺失引起(Sweatt,2013)。TCF4单倍剂量不足被认为是PTHS的潜在机制。TCF4编码一种碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)转录因子,已知该转录因子与其他几种bHLH转录因子异质二聚化,这些转录因子在脑中的神经发生和神经元迁移中起重要作用。目前没有专门针对PTHS的治愈或治疗方法。

[0003] 临床表现

[0004] Pitt Hopkins综合征(PTHS)的特征是明显的发育迟缓,伴有中度至重度智力残疾和行为差异、特征性面部特征以及清醒时的间歇性换气过度和/或屏气。言语明显滞后,大多数个体是不用语言表达,接受性语言往往强于表达性语言。其他常见的发现包括自闭症谱系障碍症状、睡眠障碍、刻板手部动作、癫痫发作、便秘和高度近视(Sweetser等人,2012)。

[0005] 尚未进行正式的患病率研究,因此尚未确定PTHS的真实患病率。Rosenfeld等人(2009)估计,与PTHS相关的染色体18q21缺失的频率在1:34,000到1:41,000之间。Sweetser等人(2012)指出,如果在大约三分之一的患有PTHS的个体中发现缺失,该病症的频率可能高达1:11,000。根据上述患病率估计范围,如果目前美国人口为至少327,167,434人(2018年美国人口普查),则8000至30,000名美国公民可能受PTHS影响。

[0006] Pitt Hopkins综合征影响男性和女性,并且可以影响任何民族或种族背景的个体。大约1000名受累个体已经被PittHopkins基金会登记为患者。

[0007] Pitt Hopkins综合征是一种严重的限制性病症,其中受累个体很少达到照顾自己、保护自己免受伤害、形成正常的成人关系或获得有酬职业的功能能力。如此严重的残疾导致医疗和支持性护理的巨额费用。这种病症也与挑战行为有关,这些行为会给照顾者带来急性和慢性压力。目前尚无适用于治疗PTHS的获准产品。

发明内容

[0008] 我们在该领域发现了一个新问题,即如何有效治疗Pitt Hopkins综合征。为此,我们在Pitt Hopkins综合征(PTHS)动物模型中研究了某些二酮哌嗪类似物的作用。在一项对照试验中,研究了具有tcf4(TCF4)基因突变的小鼠和没有突变的小鼠。因为tcf4突变小鼠

表现出PTHS的特征,所以对二酮哌嗪类、cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和相关的环状哌啶的作用的研究预测了对患有PTHS的人类的作用。

[0009] 因此,我们用cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP或相关的环状哌啶治疗PTHS患者,以克服TCF4缺陷,通过挽救异常的树突形态和刺激兴奋性突触中的蛋白质合成来模拟cGP的自然作用,通过但不一定仅仅通过以下机制:

[0010] 1.减少神经炎症和病理性神经胶质细胞激活;

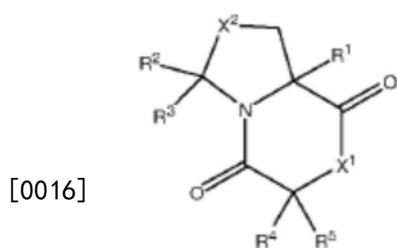
[0011] 2.使PI3K-AKT-mTOR途径中mTOR上游的AKT表达和激活正常化;

[0012] 3.使MAPK-ERK信号传导途径中的ERK表达和激活正常化;和/或

[0013] 4.恢复IGF-1的正常水平和/或生物利用度。

[0014] 如下所述,口服施用cG-2-AllylP6周可以挽救PTHS的Tcf4^{+/-}敲除小鼠模型的表型,而对野生型对照小鼠没有影响。

[0015] 环状GP是cG-2-AllylP,相关化合物如式1所示



式1

[0017] 在一些方面,式1化合物包括取代基,其中:

[0018] X¹选自由以下组成的组:NR',O和S;

[0019] X²选自由以下组成的组:CH₂,NR',O和S;

[0020] R¹、R²、R³、R⁴和R⁵独立地选自由以下组成的组:-H、-OR'、-SR'、-NR'R'、-NO₂、-CN、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(NR')NR'R'、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个R'独立地选自由以下组成的组:-H、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;或者R⁴和R⁵一起是-CH₂-(CH₂)_n-CH₂-,其中n是0-6的整数;或者R²和R³一起是-CH₂-(CH₂)_n-CH₂-,其中n是0-6的整数;条件是当R¹=甲基且R²=R³=R⁴=H时,R⁵≠苄基;并且当R¹=H时,R²和R³中至少一个≠H。

[0021] 在进一步的方面,本发明提供了式1化合物或其药学上可接受的盐、立体异构体或水合物,其中R¹=烯丙基,R²=R³=R⁴=R⁵=H,X¹=NH,X²=CH₂(环状甘氨酸基-2-烯丙基脯氨酸)。

[0022] 在仍其它方面,本发明提供了包含药学上可接受的赋形剂和治疗有效量的环状G-2-AllylP的药物组合物。

[0023] 在进一步的方面,本发明提供了治疗患有认知损害的动物的方法,其包括向该动物施用有效量的包含环状G-2-AllylP的组合物。在更进一步的方面,待治疗的动物是人。

附图说明

[0024] 参考本公开的具体实施方案来描述本公开。参照附图可以理解本发明的其他方面,其中:

[0025] 图1描绘了cG-2-AllylP的化学结构。

[0026] 图2是显示与野生型小鼠相比,具有 $tcf4^{+/-}$ 突变的小鼠中cG-2-AllylP或媒介物对活动减退(移动距离)的影响的旷场研究结果的图。

[0027] 图3是显示与野生型小鼠相比,具有 $tcf4^{+/-}$ 突变的小鼠中cG-2-AllylP或媒介物对重复行为(自我修饰所花费的时间)的影响的研究结果的图。

[0028] 图4是显示与野生型小鼠相比,具有 $tcf4^{+/-}$ 突变的小鼠中cG-2-AllylP或媒介物对恐惧条件反射(原地僵硬时间)的影响的研究结果的图。

[0029] 图5是显示与野生型小鼠相比,具有 $tcf4^{+/-}$ 突变的小鼠中cG-2-AllylP或媒介物对社交能力(与新来小鼠相处的时间)的影响的研究结果的图。

[0030] 图6是显示与野生型小鼠相比,具有 $tcf4^{+/-}$ 突变的小鼠中cG-2-AllylP或媒介物对日常生活(筑巢)的影响的研究结果的图。

[0031] 图7是显示与野生型小鼠相比,具有 $tcf4^{+/-}$ 突变的小鼠中cG-2-AllylP或媒介物对运动表现(后肢力)的影响的研究结果的图。

具体实施方式

[0032] 定义

[0033] “烯基”是指具有至少一个碳-碳双键的不饱和支链、直链或环状烃基。该基团可以是双键周围的顺式或反式构象。示例性的烯基包括烯丙基、乙烯基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、异丁烯基、环戊烯基等。在一些实施方案中,烯基是(C₂-C₆)烯基,在其它实施方案中,烯丙基可能特别有用。

[0034] “烷基”是指饱和的支链、直链或环状烃基。示例性的烷基包括甲基、乙基、异丙基、环丙基、叔丁基、环丙基甲基、己基等。在一些实施方案中,烷基是(C₁-C₆)烷基。

[0035] “炔基”是指具有至少一个碳-碳三键的不饱和支链、直链或环状烃基。示例性的炔基包括乙炔基、丙炔基、丁炔基、异丁炔基等。在一些实施方案中,炔基是(C₂-C₆)炔基。

[0036] “芳基”是指具有共轭 π 电子体系的不饱和环状烃基。示例性的芳基包括苯基、萘基等。在一些实施方案中,芳基是(C₅-C₂₀)芳基。

[0037] “芳基烷基”是指直链烷基、烯基或炔基,其中与末端碳结合的一个氢原子被芳基替换。示例性的芳基烷基包括苄基、萘甲基、亚苄基等。

[0038] “认知损害”和“认知功能障碍”意指以下一种或多种体征或症状:记忆丧失、空间定向丧失、学习能力下降、形成短期或长期记忆的能力下降、情景记忆下降、巩固记忆的能力下降、空间记忆下降、接受性语言和/或沟通下降、表达性语言和/或沟通下降、突触发生下降、突触稳定性下降、执行功能缺陷、认知绘图和场景记忆缺陷、陈述性和关系性记忆缺陷、结构或连接关联的快速获得下降、特定事件特定背景的编码和检索下降、情景和/或情景样记忆下降、焦虑、恐惧条件反射异常、社会行为异常、重复行为、限制性行为、睡眠行为异常、攻击行为、自残行为、刻板手部动作、乱发脾气、癫痫活动、运动异常、ERK1/2或和Akt的异常表达或激活和心动过缓。

[0039] “包括”和“包含”意指包括但不限于所列元素。

[0040] “由……组成”意指包括所列元素，不包括其他元素。

[0041] “基本上由……组成”意指包括所列元素及其等同物。

[0042] “生长因子”是指细胞外活性多肽，其通过与细胞上的受体相互作用来刺激细胞生长或增殖。

[0043] “杂烷基”是指其中一个或多个碳原子被另一个原子如N、P、O、S等替换的烷基部分。示例性杂烷基包括吡咯烷、吗啉、哌啶、哌嗪、咪唑烷、吡唑烷、四氢呋喃、(C₁-C₁₀) 取代的胺、(C₂-C₆) 硫醚等。

[0044] “杂芳基”是指其中一个或多个碳原子被另一个原子如N、P、O、S等替换的芳基部分。示例性杂芳基包括呋唑、呋喃、咪唑、吡唑、吡啶、吡咯、异喹啉、嘌呤、吡嗪、吡啶、哒嗪、吡啶、吡咯、噻唑、噻吩、三唑等。

[0045] “药学上可接受的赋形剂”是指可用于制备药物组合物的赋形剂，其通常安全、无毒且满足需要，并且包括兽用以及人药物用途可接受的赋形剂。此类赋形剂可以是固体、液体、半固体或在气雾剂组合物的情况下为气体。

[0046] “药学上可接受的盐”是指药学上可接受并具有所需药理学性质的盐。此类盐包括在化合物中存在的酸性质子能够与无机或有机碱反应时形成的盐。合适的无机盐包括与如钠和钾的碱金属、镁、钙和铝形成的那些盐。合适的有机盐包括与有机碱如胺碱如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡糖胺等形成的那些盐。此类盐还包括与无机酸（例如盐酸和氢溴酸）和有机酸（例如乙酸、柠檬酸、马来酸和烷烃磺酸和芳烃磺酸（例如甲磺酸和苯磺酸））形成的酸加成盐。当存在两个酸性基团时，药学上可接受的盐可以是单酸单盐或二酸盐；类似地，当存在两个以上的酸性基团时，一些或所有此类基团可以以盐的形式存在。

[0047] “保护基团”具有有机合成中通常与之相关的含义，即选择性封闭多官能化合物中一个或多个反应位点的基团，使得化学反应可以选择性地在另一个未保护的反应位点上进行，并且使得该基团在选择性反应完成后可以容易地被除去。

[0048] “立体异构体”是具有环状G-2-烯丙基脯氨酸结构，但具有手性中心的分子。术语“环状G-2-烯丙基脯氨酸”包括所有立体异构体。

[0049] “取代的”是指烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基或芳基烷基上的一个或多个氢原子独立地被另一个取代基替换。取代基包括-R'、-OR'、-SR'、-NR'R'、-NO₂、-CN、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(NR')NR'R'、-NR'-C(NR')-OR'、-NR'-C(NR')-SR'、NR'-C(NR')-NR'R'、三卤代甲基和卤素，其中每个R'独立地为-H、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0050] “症状”意指认知损害或认知功能障碍中的一种或多种，以下一种或多种体征或症状：记忆丧失、空间定向丧失、学习能力下降、形成短期或长期记忆的能力下降、情景记忆下降、巩固记忆的能力下降、空间记忆下降、接受性语言和/或沟通下降、表达性语言和/或沟通下降、突触发生下降、突触稳定性下降、执行功能缺陷、认知绘图和场景记忆缺陷、陈述性和关系性记忆缺陷、结构或连接关联的快速获得下降、特定事件特定背景的编码和检索下降、情景和/或情景样记忆下降、焦虑、恐惧条件反射异常、社会行为异常、重复行为、限制性行为、睡眠行为异常、攻击行为、自残行为、刻板手部动作、乱发脾气、癫痫活动、运动异常、

ERK1/2或和Akt的异常表达或激活和心动过缓。

[0051] “治疗有效量”意指当向动物施用以治疗疾病时,足以实现疾病治疗的量。“治疗有效量”意指减少不良症状或发现、促进所需症状或发现、和/或治疗潜在病症、和/或治愈的量。

[0052] “治疗”疾病或疾病的“治疗”包括预防,意指抑制可能易患该疾病但尚未经历或表现出该疾病症状的动物的疾病症状、抑制该疾病(减缓或阻止其发展)、减轻该疾病的症状或副作用(包括姑息治疗),以及缓解该疾病(导致疾病消退)。治疗不包括纠正Pitt Hopkins综合征的遗传异常。

[0053] 为了清楚起见,将隐式氢原子(如吡咯环上的氢等)从式中省略,但是应该理解为存在。

[0054] “ATF3”意指激活转录因子3。

[0055] “IL1- β ”意指白介素1- β 。

[0056] “IL-6”意指白介素-6。

[0057] “BDNF”意指脑源性神经营养因子。

[0058] “Cdh2”意指钙粘蛋白-2。

[0059] “Cebpb”意指CCAAT/增强子结合蛋白 β 。

[0060] “Crem”意指环状AMP反应元件结合。

[0061] “Egr1”意指早期生长反应蛋白1。

[0062] “Gria 4”意指离子型谷氨酸受体AMPA 4。

[0063] “Grm5”意指代谢型谷氨酸受体5。

[0064] “Mapk 1”意指丝裂原激活蛋白激酶1。

[0065] “Nr4a1”意指核受体亚家族4组A成员1,也称为神经生长因子IB。

[0066] “Ntf3”意指神经营养因子3。

[0067] “Ntf4”意指神经营养因子4。

[0068] “Pcdh8”意指原钙粘蛋白-8。

[0069] “Plml”意指前体mRNA渗漏蛋白1。

[0070] “Ppp3ca”意指蛋白磷酸酶3,催化亚单位, α 。

[0071] “Tnf”意指肿瘤坏死因子。

[0072] PTHS意指Pitt Hopkins综合征。

[0073] “cG-2-AllylP”、“环状甘氨酸基-2-AllylP”、“NNZ2591”和“NNZ-2591”各自意指(8aS)-烯丙基-六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮。

[0074] “环状环己基-G-2-MeP”意指(8aS)-甲基-螺[环己烷-1,3(4H)-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪]-1,4(2H)-二酮。

[0075] “环状环戊基-G-2-MeP”意指(8aS)-甲基-螺[环戊烷-1,3(4H)-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪]-1,4(2H)-二酮。

[0076] “tcf4”和“TCF4”是指与PTHS有关的基因。

[0077] “tcf4^{+/-}”意指与PTHS相关的TCF4基因的杂合突变。

[0078] Tcf4^{+/+}意指野生型TCF4。

[0079] Pitt Hopkins综合征的遗传异常

[0080] 突触的结构和功能损害是PTHS的基本特征。TCF4是一种调节脑中的神经发生和神经元迁移的转录因子。在人类中,TCF4基因功能的丧失会导致罕见的神经发育障碍,即PTHS,其特征是智力残疾、发育迟缓和自闭症行为。TCF4在胚胎和出生后早期发育过程中高度表达(de Pontual等人,2009),且在海马体中的表达尤其高(Brzózka等人,2010;Sepp等人,2011;Navarrete等人,2013)。它也在成人脑、淋巴细胞、成纤维细胞、肠、肌肉和肌间神经丛中表达(Pscherer等人,1996;Amiel等人,2007;Brockschmidt等人,2007;de Pontual等人,2009)。最近的认知和成像研究也显示TCF4对正常的脑功能很重要(Blake等人,2010;Navarrete等人,2013)。

[0081] TCF4基因的缺失和突变破坏了相应蛋白质控制神经系统发育和功能相关基因下游活动的的能力(Sweatt,2013)。特别是,研究表明,TCF4与潜在的大量转录因子(包括前神经基因的产物,如ASCL1、ATOH1和NEUROD1)相互作用,以调节发育中大脑的神经发生、细胞分化、细胞信号传导和存活(Flora等人,2007;Blake等人,2010;Brzózka等人,2010;Bertrand等人,2002;Forrest等人,2013)。

[0082] Crux等人(2018)关于成熟神经元树突棘上TCF4功能缺失的后果的研究表明,无论是TCF4的纯合还是杂合缺失,树突棘的数量都会减少,形态也会发生变化。这项研究表明,TCF4在成熟神经元的突触可塑性中起重要作用,不依赖于其发育功能,TCF4的功能丧失可能导致PTHS中的神经症状。

[0083] TCF4的变化似乎也改变了IGF信号传导途径成分的基因表达,特别是编码IGF结合蛋白3、4和5的基因的下调(Forrest等人,2013)。据报道,环状甘氨酸-脯氨酸可调节脑中IGF-1与IGF结合蛋白3的结合,从而调节IGF-1的生物利用度(Guan等人,2014)。这种自动调节机制维持IGF-1的体内平衡,当IGF-1缺乏时增加生物利用度,当IGF-1水平过高时降低生物利用度。cGP和cG-2-AllylP还抑制神经炎症,该炎症是PTHS潜在的病理学的一部分,并有助于对突触发育和维持至关重要的小神经胶质细胞的过度激活。在许多神经发育障碍的动物模型中,cG-2-AllylP使小神经胶质细胞表型正常化,这有助于恢复突触功能和形态。

[0084] 评估Pitt Hopkins综合征的临床工具

[0085] Pitt Hopkins综合征可以与未患所述病症的对照动物相比使用一种或多种临床测试来评估,例如,异常行为检查表社区版(ABC)、异常行为检查表(刻板印象)、文兰量表(Vinlands)、严重程度临床总体印象量表(CGI-S)、照顾者压力问卷(CSQ)、儿童耶鲁-布朗强迫观念与行为量表(Children's Yale-Brown OC Scale,CYBOCS-PDD)、儿童自闭症评定量表、重复行为访谈、尼松格儿童行为评定量表(Nisonger Child Behavior Rating Scale)、广泛性发育障碍行为量表、刻板行为量表、重复行为量表、Rossago量表、重复行为问卷、PedQL™度量模型和刻板行为量表,或使用一种或多种选自由以下组成的组的生理测试来评估:脑电图(EEG)峰频率、EEG频带中的总功率、手部动作、QTc和心率变异性(HRV)以及呼吸不规则性。

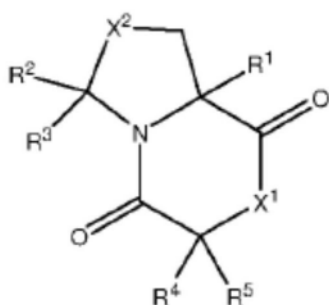
[0086] 可以使用一种或多种测量方法来评估焦虑,包括焦虑、抑郁和情绪量表(ADAMS)、儿童和青少年症状量表(CASI)、儿童行为检查表(CBCL)、儿童多维焦虑量表(MASC)、儿童自闭症评定量表(PARS)、修订的儿童焦虑和抑郁量表(RCAD)、儿童焦虑相关障碍筛查表(SCARED)。尼松格儿童行为评定量表和焦虑诊断访谈量表(ADIS)。

[0087] 社交沟通可以使用以下临床工具评估,例如,ABAS-II域评分、异常行为检查表

(ABC) - 没精打采/社交回避、ADI-R、自闭症诊断观察量表-通用 (ADOS-G) - 新严重程度评分、自闭症影响量表、自闭症谱系评定量表、自闭症治疗评估检查表 (ATEC)、投球游戏、行为评估量表 (BAS)、儿童行为评估系统第二版 BASC-2 (与社交相关的子量表)、执行功能行为评定量表、加州语言学习任务-儿童版 (VLT-C) 和修改的 VLT-C (MVLT-C)、照顾者儿童互动 (Jahromi 2009)、CGI、儿童期自闭症评定量表 (CARS)、儿童社会行为问卷、语言基础临床评估 (CELF-3 和 4) - 语用概况、沟通和符号行为量表 (CSBS)、情感言语任务理解、一般信任量表、Gilliam 自闭症评定量表 (GARS)、ESCS 共同注意力测量 (JAMES)、让我们面对它! (Let's Face It!)、自发表达性语言的观察评估 (OSEL)、家长问卷 (Nagaraj 等人 (2006))、家长评定问卷 (Chan 等人 (2009))、广泛性发育障碍行为问卷 (PDD-BI) (可用简写版: PDD-BI-筛查版)、解读电影中的思想-成人版、解读电影中的思想-儿童版、解读眼中的思想-修订版 (RMET-R) - 成人版、解读眼中的思想-修订版 (RMET-R) - 儿童版、解读声音中的思想-成人版、社交沟通问卷 (SCQ)、社会反应量表、社会技能提高系统 (SSiS)、心智理论测试和 VABS-社会化和沟通。

[0088] 本发明的化合物

[0089] 本公开的某些实施方案包括具有如下所述结构的环状甘氨酸基脯氨酸 (“cGP”) 的衍生物。



[0090]

式 1

[0091] 在某些实施方案中,式1化合物包括取代基,其中:

[0092] X^1 选自自由以下组成的组: NR' 、O 和 S;

[0093] X^2 选自自由以下组成的组: CH_2 、 NR' 、O 和 S;

[0094] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自自由以下组成的组: -H、-OR'、-SR'、-NR'R'、-NO₂、-CN、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(NR')NR'R'、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基; 每个 R' 独立地选自自由以下组成的组: -H、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0095] 或者 R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, 其中 n 是 0-6 的整数;

[0096] 或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, 其中 n 是 0-6 的整数;

[0097] 条件是当 R^1 = 甲基且 $R^2 = R^3 = R^4 = H$ 时, $R^5 \neq$ 苄基; 并且

[0098] 当 $R^1 = H$ 时, R^2 和 R^3 中至少一个 $\neq H$ 。

[0099] 在进一步的实施方案中,式1化合物包括取代基,其中:

[0100] R^1 = 甲基, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$;

[0101] R^1 = 烯丙基, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$;

[0102] $R^1 = R^2 = R^3 = H$, $R^4 = R^5 =$ 甲基, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$;

[0103] $R^1 = R^4 = R^5 = H$, $R^2 = R^3 =$ 甲基, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$ 。

[0104] 在本发明的其他实施方案中,式1化合物包括取代基,其中:

[0105] R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$ 并且:

[0106] R^1 = 甲基, $R^2 = R^3 = H$, $n = 0$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$;

[0107] R^1 = 甲基, $R^2 = R^3 = H$, $n = 2$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$;

[0108] R^1 = 烯丙基, $R^2 = R^3 = H$, $n = 0$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$;

[0109] R^1 = 烯丙基, $R^2 = R^3 = H$, $n = 2$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$ 。

[0110] R^1 = 甲基, $R^2 = R^3 = H$, $n = 3$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$;

[0111] R^1 = 烯丙基, $R^2 = R^3 = H$, $n = 3$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$ 。

[0112] 在本公开的仍其它实施方案中,式1化合物包括取代基,其中 R^1 = 甲基或烯丙基, $R^2 = R^3 = R^4 = H$, 且 R^5 选自自由以下氨基酸的侧链组成的组: 丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、正缬氨酸、正亮氨酸、脯氨酸、鸟氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、别异亮氨酸、异缬氨酸、肌氨酸等。

[0113] 在本发明的更进一步实施方案中,式1化合物包括取代基,其中:

[0114] R^1 = 甲基, $R^2 = R^3 =$ 甲基, $R^4 = R^5 = H$, $X^1 = NH$ 且 $X^2 = S$;

[0115] R^1 = 烯丙基, $R^2 = R^3 =$ 甲基, $R^4 = R^5 = H$, $X^1 = NH$ 且 $X^2 = S$ 。

[0116] 本领域技术人员将会理解,上述结构示意图可以含有手性中心,其数量将取决于不同的取代基。每个中心的手性可以是R或S。结构图可以仅代表可能的互变异构体、构象非对映异构体或对映异构体形式中的一种,应该理解的是,本发明涵盖任何互变异构体、构象异构体非对映异构体或对映异构体形式,其表现出如本文所述的生物或药理活性。

[0117] 药理学和实用性

[0118] 环状甘氨酸基-2-烯丙基脯氨酸(cG-2-AllylP)描述于2006年4月7日提交的美国发明专利申请号11/399,974,标题为“Cyclic G-2Allyl Proline in Treatment of Parkinson's Disease”,现为2010年8月17日授权的美国专利号7,776,876;2006年3月2日提交的美国发明专利申请号10/570,395,标题为“Neuroprotective Bicyclic Compounds and Methods for Their Use”,现为美国专利号8,067,425;PCT国际专利申请号PCT/US2004/028308,标题为“Neuroprotective Bicyclic Compounds and Methods for Their Use”;2003年9月3日提交的美国临时专利申请序列号60/499,956,标题为“Neuroprotective Bicyclic Compounds and Methods for Their Use”;以及2011年3月8日提交的美国专利申请号13/043,215,标题为“Cyclic Glycyl-2-AllylProline Improves Cognitive Performance in Impaired Animals”。上述专利申请和专利中的每一个都明确地通过引用以其全文并入本文。

[0119] 其他药剂可以与本发明的化合物一起施用。此类其他药剂可以选自由以下组成的组:例如生长因子和相关衍生物,例如胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、胰岛素样生长因子-II (IGF-II)、三肽GPE、转化生长因子- β 1、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白和/或IGF结合蛋白。

[0120] 治疗应用

[0121] 本发明的组合物和方法可用于治疗患有与Pitt Hopkins综合征相关的认知损害和症状的动物,例如人类患者。更一般地,本公开的组合物和方法可用于治疗患有记忆损害、智力残疾、社会互动受损、语言和沟通损害、运动功能受损、受限和重复性兴趣和行为、睡眠行为异常、其他异常行为和癫痫发作的哺乳动物,例如人类患者。

[0122] 药物组合物和施用

[0123] cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和相关的环状哌啶可以作为药物或药物制剂的一部分施用。这可以包括将本发明的化合物与任何药学上合适的载体、佐剂或赋形剂组合。载体、佐剂或赋形剂的选择当然通常取决于所采用的施用途径。

[0124] 一般而言,本公开的化合物将以治疗有效量通过本领域已知的任何常规方式,单独或与所治疗疾病的其他常规治疗剂组合施用。治疗有效量可以根据疾病、疾病的严重程度、被治疗动物的年龄和相对健康状况、一种或多种化合物的效力以及其他因素而有很大的不同。环状G-2-AllylP的治疗有效量可以在每千克动物质量0.001至600毫克的范围内,适于通过例如口服、全身性(例如经皮)、划痕(scarification)或肠胃外(例如静脉内)施用的方法施用。考虑到该技术和本公开,本领域普通技术人员无需过多的实验就能够确定化合物的治疗有效量。

[0125] cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶和其它cGP相关化合物可通过本领域已知的任何外周途径外周施用。这些外周途径可包括肠胃外途径,例如注射入外周循环、皮下、眼眶内、眼内、椎管内、脑池内、局部、输注(使用例如缓慢释放装置或微型泵如渗透泵或皮肤贴片)、植入、气雾剂、吸入、划痕、腹膜内、囊内、肌内、鼻内、口服、口腔、经皮、肺、直肠或阴道。可以将组合物配制成为治疗有效量(例如,消除或减轻患者病理状况的量)对人或其他哺乳动物进行肠胃外施用,以提供对上述神经系统疾病的治疗。

[0126] 理想地,cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶可以在水溶液中口服施用。

[0127] 其他方便的施用途径包括皮下注射(例如溶解在生理相容的载体如0.9%氯化钠中)。

[0128] 所谓“直接或间接通过循环”意指将cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP或相关的环状哌啶施用到任何具有足以将药剂递送到循环中的血流的组织。非限制性实例包括皮肤、鼻、咽、胃肠道或其他这样的组织。当施用于这样的组织时,药剂被组织吸收,在此药剂进入组织间质液,随后被小静脉、毛细血管、小动脉或淋巴管吸收。然后,药剂进入全身循环,并被递送到受累部位,包括大脑。当药剂经皮下或腹膜施用时,药剂被邻近组织吸收,然后药剂进入局部循环,随后被递送至全身循环,在此药剂可被转运至大脑。当药剂接近血脑屏障时,药剂随后可以扩散到脑中,或者扩散到神经组织中,或者扩散到脑脊液中,在那里药剂可以被递送到神经组织中。

[0129] CNS中化合物的有效量可通过施用化合物的前药形式来增加,该化合物包含本发明的化合物和载体,其中载体通过易于在患者体内裂解或消化的键与本发明的化合物连接。可以使用任何合适的键,其在施用后将被裂解或消化。

[0130] 然而,申请人无意排除其他形式的施用。

[0131] 在本公开的进一步实施方案中,恢复动物的神经功能可以包括与另一种药剂组合施用治疗量的环状G-2-AllylP,所述另一种药剂选自例如生长因子和相关衍生物(胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、胰岛素样生长因子-II (IGF-II)、转化生长因子- β 1、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白、IGF结合蛋白、IGFBP-3、碱性成纤维细胞生长因子、酸性成纤维细胞生长因子、hst/Kfgk基因产物、FGF-3、FGF-4、FGF-6、角质细胞生长因子、雄激素诱导的生长因子、int-2、成纤维细胞生长因子同源因子-1 (FHF-1)、FHF-2、FHF-3和FHF-4、角质细胞生长因子2、神经胶质细胞激活因子、FGF-10、FGF-16、睫状神经营养因子、脑源性生长因子、神经营养因子3、神经营养因子4、骨形态发生蛋白2 (BMP-2)、神经胶质细胞系源性神经营养因子、活性依赖性神经营养因子、细胞因子白血病抑制因子、制瘤素M、白介素)、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素或复合干扰素和TNF- α 。其他形式的治疗剂包括:氯美噻唑;犬尿喹啉酸、Semax、他克莫司、L-苏式-1-苯基-2-癸酰基氨基-3-吗啉代-1-丙醇、促肾上腺皮质激素-(4-9)类似物(ORG 2766)、地卓西平(MK-801)、司来吉兰;谷氨酸拮抗剂:NPS1506、GV1505260、MK-801、GV150526;AMPA拮抗剂:2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并(f)喹啉(NBQX)、LY303070、LY300164;针对地址素MAdCAM-1和/或其整合素 α 4受体(α 4 β 1和 α 4 β 7)的抗炎剂:抗MAdCAM-1mAb MECA-367(ATCC登记号HB-9478)。

[0132] cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶和其它cGP相关化合物适宜通过持续释放系统施用。持续释放组合物的合适的实例包括成形制品形式(例如薄膜或微胶囊)的半透性聚合物基质。持续释放基质包括聚乳酸(美国专利号3,773,919;EP 58,481)、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸盐的共聚物(Sidman等人,1983,Biopolymers:22:547-56)、聚(甲基丙烯酸2-羟乙酯)(Langer等人,1981,J.Biomed.Mater.Res.:15:267)、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人,1981,J.Biomed.Mater.Res.:15:267)或聚-D-(-)-3-羟丁酸(EP 133,988)。持续释放组合物还包括脂质体截留的化合物。含有该化合物的脂质体通过本身已知的方法制备:DE 3,218,121、EP 52,322、EP 36,676、EP 88,046、EP 143,949、EP 142,641、日本专利申请83-118008、美国专利号4,485,045和4,544,545、以及EP 102,324。通常,脂质体属于小的(约200-800埃)单层类型,其中脂质含量大于约30mol%胆固醇,调整选择的比例以实现最有效的治疗。

[0133] 对于肠胃外施用,在一个实施方案中,cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶通常可以通过将每一种以所需纯度以单位剂量可注射形式(溶液、悬浮液或乳液)与药学上或肠胃外可接受的载体混合来配制,所述载体即在所用剂量和浓度下对接受者无毒且与制剂的其它成分相容的载体。

[0134] 为了将本发明的化合物递送至粘膜组织,可以将该化合物掺入凝胶制剂中。一旦递送到粘膜(例如口腔、胃肠道、直肠),药剂可从凝胶中扩散出来,或者凝胶可被降解,从而将药剂释放到组织中,在组织中药剂可被吸收到循环中。示例性凝胶制剂可包括由羧基多糖(如羧甲基纤维素、羧乙基纤维素)、甲壳质、壳聚糖、淀粉、纤维素、蛋白质(如透明质酸)或其它聚合物(如聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇)以及本领域已知的其它凝胶物质制成的那些制剂。

[0135] 通常,通过将cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶与液体载体或细碎的固体载体或两者接触来制备制剂。然后,如果需要,将产品成型为所需的制剂。优选地,载体是肠胃外载体,更优选地是与接受者的血液等渗的溶液。

此类载体媒介物的实例包括水、盐水、林格氏溶液、缓冲溶液和葡萄糖溶液。非水性媒介物如不挥发油和油酸乙酯也可用于本发明。

[0136] 载体适当地含有少量添加剂,例如增强等渗性和化学稳定性的物质。此类物质在所用的剂量和浓度下对接受者无毒,并包括缓冲剂,例如磷酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、乙酸和其他有机酸或其盐;抗氧化剂,例如抗坏血酸;低分子量(少于约十个残基)多肽,例如聚精氨酸或三肽;蛋白质,例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;甘氨酸;氨基酸,例如谷氨酸、天冬氨酸、组氨酸或精氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括纤维素或其衍生物、葡萄糖、甘露糖、海藻糖或糊精;螯合剂,例如EDTA;糖醇,例如甘露醇或山梨醇;抗衡离子,例如钠;非离子表面活性剂,例如聚山梨醇酯、泊洛沙姆或聚乙二醇(PEG);和/或中性盐,例如NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂等。

[0137] cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶和其它cGP化合物通常在pH为约4.5至8的条件下配制在此类媒介物中。应当理解,使用某些前述赋形剂、载体或稳定剂将导致化合物盐的形成。最终制剂可以是稳定的液体或冻干固体。

[0138] 药物组合物中的cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶的制剂还可以包括佐剂。可掺入片剂、胶囊等的典型佐剂有粘合剂,例如阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶;赋形剂,例如微晶纤维素;崩解剂,如玉米淀粉或海藻酸;润滑剂,例如硬脂酸镁;甜味剂,例如蔗糖或乳糖;调味剂,例如薄荷、冬青或樱桃。当剂型是片剂时,cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶组合物可以包括粘合剂和任选的光滑包衣。当剂型是胶囊时,除了上述物质之外,其还可以含有液体载体例如脂肪油。各种类型的其它物质可用作包衣或用作剂量单位物理形式的改性剂。糖浆或酏剂可含有活性化合物、甜味剂(例如蔗糖)、防腐剂(如对羟基苯甲酸丙酯)、着色剂和调味剂(例如樱桃)。注射用无菌组合物可以根据常规制药实践来配制。例如,可能需要将活性化合物溶解或悬浮在媒介物中,例如水或天然植物油如芝麻油、花生油或棉籽油或合成脂肪媒介物如油酸乙酯等。可以根据公认的制药实践掺入缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂等。

[0139] 含有cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶的药物制剂通常以水溶液或用于复原的冻干制剂的形式储存在单位或多剂量容器中,例如在密封的安瓿或小瓶中。作为冻干制剂的一个实例,用5mL无菌过滤的1% (w/v) 化合物水溶液填充10mL小瓶,并且将所得到的混合物冻干。通过使用抑菌性注射用水复原冻干化合物来制备溶液。很容易理解,可以使用其他剂型和制剂类型,且所有这些都认为是本公开的一部分。

[0140] 化合物的制备

[0141] 用于制备cG-2-AllylP、环状环己基-G-2-MeP、环状环戊基-G-2-MeP和/或相关的环状哌啶的起始物质和试剂可以从商业供应商处获得,例如Aldrich Chemical Company (Milwaukee,Wis.)、Bachem (Torrance,Calif.)、Sigma (St.Louis,Mo.),或者通过本领域普通技术人员熟知的方法,按照如以下这类参考文献中描述的程序制备:Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis,第1-17卷,John Wiley and Sons,New York,N.Y.,1991;Rodd's Chemistry of Carbon Compounds,第1-5卷和增刊,Elsevier Science Publishers,1989;Organic Reactions,第1-40卷,John Wiley and Sons,New

York, N.Y., 1991; March J; Advanced Organic Chemistry, 第4版 John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1992; 以及 Larock: Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, 1989。在大多数情况下, 氨基酸及其酯或酰胺, 以及受保护的氨基酸是可广泛商购的; 且化学和生物化学文献中广泛描述了修饰的氨基酸及其酰胺或酯的制备, 因此是本领域普通技术人员所熟知的。

[0142] 可以使用常规技术(包括过滤、蒸馏、结晶、色谱等)分离和纯化本公开的起始物质、中间体和最终产物。它们可以用常规方法表征, 包括物理常数和光谱数据。

[0143] 环状G-2-AllylP是一种环状二肽(双环2,5-二酮哌嗪), 并且是被称为环状GP(“cGP”)的一类化合物中的一员。一般来说, cGP和环状G-2-AllylP可以通过肽和修饰肽合成领域的普通技术人员已经熟知的方法, 按照本文所述的反应方案, 或者按照肽和类似物合成领域的普通技术人员熟知的其他方法来制备。参见例如 Bodanzsky: Principles of Peptide Synthesis, Berlin, New York: Springer-Verlag 1993。

[0144] 本公开的二酮哌嗪化合物的合成可以通过溶液相合成或通过固相合成方法(Merrifield等人, 1963 J. Amer. Chem. Soc.: 85, 2149-2156 举例说明)。固相合成可以使用商业肽合成仪进行, 例如 Applied Biosystems Model 430A, 使用为该仪器建立的方案。

[0145] 二酮哌嗪合成的具体实例可以在 Fischer, 2003, J. Peptide Science: 9: 9-35 及其参考文献中找到。考虑到现有的技术和知识以及本公开, 本领域普通技术人员在开发本发明化合物的一种或多种合适的合成方法方面将没有困难。

[0146] 用于所选方法(固相或溶液相)的合适保护基团的选择, 以及如果使用固相合成时合适基材的选择, 将在本领域普通技术人员的技能范围内。用于肽合成的合适保护基团包括叔丁氧基羰基(Boc)、苄基甲氧基羰基(Fmoc)、苄基(Bzl)、叔戊基氧基羰基(Aoc)、甲苯磺酰基(Tos)、苄氧基羰基(Z或Cbz)、邻溴苄氧基羰基(BrZ)等。Goodman M. (编辑)、Methods of organic chemistry中的“Synthesis of Peptides and Peptidomimetics”(Houben-Weyl) (工作台版, E22a, b, c, d, e; 2004; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York) 中识别了另外的保护基团。

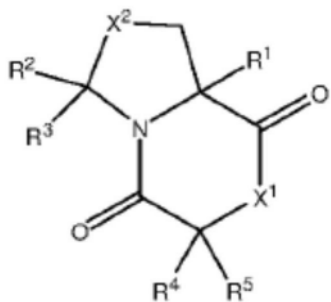
[0147] 用于所选方法的偶联剂的选择也将在本领域普通技术人员的技能范围内。合适的偶联剂包括DCC(N,N'-二环己基碳二亚胺)、Bop(苯并三唑-1-基-氧基-三-(二甲氨基)-六氟磷酸盐)、PyBop(苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷六氟磷酸盐)、BopCl(双(2-氧代-3-噁唑烷基)次膦酰氯)、2-氯-1,3-二甲基咪唑烷鎓六氟磷酸盐(CIP)等。其他化合物可用于合成, 例如防止外消旋化, 如HOBt(N-羟基苯并三唑)和HOAt(1-羟基-7-氮杂苯并三唑)。

[0148] 实施方案

[0149] 下面给出的具体实施方案不旨在限制本发明的范围。本领域技术人员可以通过将下面列表中的一个或多个元素结合到这里没有具体阐述的组合中来创建其他实施方案。所有此类实施方案都被认为在本发明的范围内。

[0150] 实施方案1. 一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法, 所述方法包括向所述动物施用具有下式的化合物:

[0151]



[0152] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

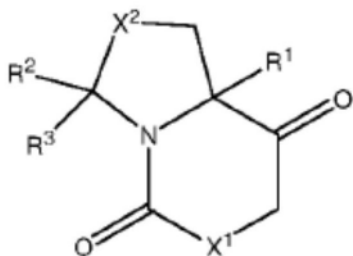
[0153] X^1 选自由以下组成的组: NR' 、O和S;[0154] X^2 选自由以下组成的组: CH_2 、 NR' 、O和S;

[0155] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、 $-C(NR')NR'R'$ 、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个 R' 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0156] 或者 R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中n是0-6的整数;[0157] 或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中n是0-6的整数;[0158] 条件是当 R^1 =甲基且 $R^2=R^3=R^4=H$ 时, $R^5 \neq$ 苄基;并且[0159] 当 $R^1=H$ 时, R^2 和 R^3 中至少一个 $\neq H$ 。

[0160] 实施方案2. 一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法,所述方法包括向所述动物施用具有下式的化合物:

[0161]



[0162] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

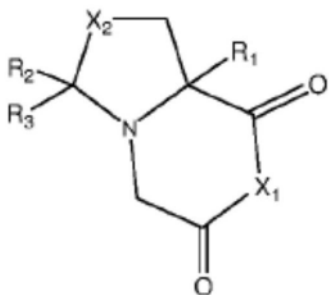
[0163] X^1 选自由以下组成的组: NR' 、O和S;[0164] X^2 选自由以下组成的组: CH_2 、 NR' 、O和S;

[0165] R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、 $-C(NR')NR'R'$ 、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个 R' 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0166] 或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中n是0-6的整数;[0167] 条件是至少一个 $R \neq H$ 。

[0168] 实施方案3. 一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法,所述方法包括向所述动物施用具有下式的化合物:

[0169]



[0170] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

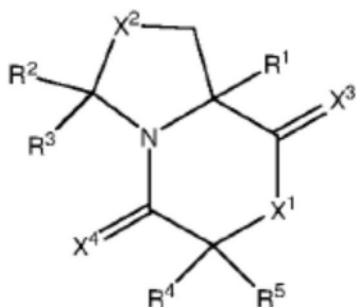
[0171] X^1 选自由以下组成的组: NR' 、O和S;[0172] X^2 选自由以下组成的组: CH_2 、 NR' 、O和S;

[0173] R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、 $-C(NR')NR'R'$ 、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个 R' 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0174] 或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中 n 是0-6的整数。

[0175] 实施方案4.一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法,所述方法包括向所述动物施用具有下式的化合物:

[0176]



[0177] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

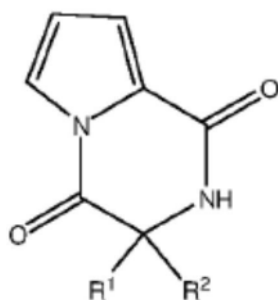
[0178] X^1 、 X^3 和 X^4 独立地选自由以下组成的组:S、O和NH;[0179] X^2 选自由以下组成的组:S、O、 CH_2 和NH;

[0180] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、 $-C(NR')NR'R'$ 、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个 R' 独立地选自由以下组成的组: $-H$ 、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0181] 或者 R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中 n 是0-6的整数;[0182] 或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$,其中 n 是0-6的整数;[0183] 条件是至少一个 $R \neq H$ 且 X^3 和 X^4 均 $\neq O$ 。

[0184] 实施方案5.一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法,所述方法包括向所述动物施用具有下式的化合物:

[0185]



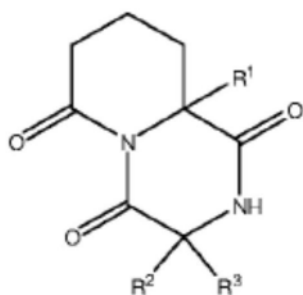
[0186] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

[0187] R^1 和 R^2 独立地选自由以下组成的组:-H、-OR'、-SR'、-NR'R'、-NO₂、-CN、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(NR')NR'R'、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个R'独立地选自由以下组成的组:-H、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0188] 或者 R^1 和 R^2 一起是-CH₂-(CH₂)_n-CH₂-,其中n是0-6的整数。

[0189] 实施方案6.一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法,所述方法包括向所述动物施用具有下式的化合物:

[0190]



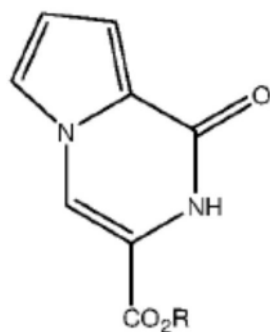
[0191] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

[0192] R^1 、 R^2 和 R^3 独立地选自由以下组成的组:-H、-OR'、-SR'、-NR'R'、-NO₂、-CN、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(NR')NR'R'、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个R'独立地选自由以下组成的组:-H、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0193] 或者 R^2 和 R^3 一起是-CH₂-(CH₂)_n-CH₂-,其中n是0-6的整数。

[0194] 实施方案7.一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法,所述方法包括向所述动物施用具有下式的化合物:

[0195]



[0196] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

[0197] R选自由以下组成的组:烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基。

[0198] 实施方案8.如实施方案1至4或6中任一项所述的方法,其中 R^1 =甲基。

[0199] 实施方案9.如实施方案1至4或6中任一项所述的方法,其中 R^1 =烯丙基。

[0200] 实施方案10.如实施方案1至4中任一项所述的方法,其中 $R^2=R^3$ =甲基且 $X^2=S$ 。

[0201] 实施方案11.如实施方案1所述的方法,其中 R^1 =烯丙基, $R^2=R^3=R^4=R^5=H$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0202] 实施方案12.如实施方案1所述的方法,其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0203] 实施方案13.如实施方案1所述的方法,其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0204] 实施方案14.如实施方案1至13中任一项所述的方法,其进一步包括施用药学上可接受的赋形剂。

[0205] 实施方案15.如实施方案1至13中任一项所述的方法,其进一步包括施用药学上可接受的赋形剂和粘合剂。

[0206] 实施方案16.如实施方案1至13中任一项所述的方法,其进一步包括施用药学上可接受的赋形剂和胶囊。

[0207] 实施方案17.如实施方案1至13中任一项所述的方法,其进一步包括施用至少一种抗凋亡剂、抗坏死剂或神经保护剂。

[0208] 实施方案18.如实施方案17所述的方法,其中所述神经保护剂选自自生长因子和相关衍生物(胰岛素样生长因子-I[IGF-I]、胰岛素样生长因子-II[IGF-II]、转化生长因子- β 1、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白、IGF结合蛋白、IGFBP-3、碱性成纤维细胞生长因子、酸性成纤维细胞生长因子、hst/Kfgk基因产物、FGF-3、FGF-4、FGF-6、角质细胞生长因子、雄激素诱导的生长因子、int-2、成纤维细胞生长因子同源因子-1(FHF-1)、FHF-2、FHF-3和FHF-4、角质细胞生长因子2、神经胶质细胞激活因子、FGF-10和FGF-16、睫状神经营养因子、脑源性生长因子、神经营养因子3、神经营养因子4、骨形态发生蛋白2[BMP-2]、神经胶质细胞系源性神经营养因子、活性依赖性神经营养因子、细胞因子白血病抑制因子、制瘤素M、白介素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、复合干扰素、TNF- α 、氯美噻唑;犬尿喹啉酸、Semax、他克莫司、L-苏式-1-苯基-2-癸酰基氨基-3-吗啉代-1-丙醇、促肾上腺皮质激素-(4-9)类似物[ORG 2766]、地卓西平[MK-801]、司来吉兰、谷氨酸拮抗剂、AMPA拮抗剂和抗炎剂。

[0209] 实施方案19.如实施方案18所述的方法,其中所述谷氨酸和/或NMDA拮抗剂选自由以下组成的组:NPS1506、GV1505260、MK-801和GV150526。

[0210] 实施方案20.如实施方案18所述的方法,其中所述AMPA拮抗剂选自由以下组成的组:2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并(f)喹啉(NBQX)、LY303070和LY300164。

[0211] 实施方案21.如实施方案18所述的方法,其中所述抗炎剂选自由以下组成的组:抗MAdCAM-1抗体和抗整合素 α 4 β 1受体和整合素 α 4 β 7受体的抗体。

- [0212] 实施方案22.如实施方案21所述的方法,其中所述抗MAdCAM-1抗体是MECA-367。
- [0213] 实施方案23.如实施方案1所述的方法,其中所述化合物是环状G-2-AllylP。
- [0214] 实施方案24.如实施方案1所述的方法,其中所述化合物是环状环己基-G-2MeP。
- [0215] 实施方案25.如实施方案1所述的方法,其中所述化合物是环状环戊基-G-2MeP。
- [0216] 实施方案26.一种治疗患有PTHS的动物的所述病症的症状的方法,其包括向所述动物施用药学有效量的环状甘氨酸基-2-烯丙基脯氨酸(cG-2-AllylP)至所述哺乳动物。
- [0217] 实施方案27.如实施方案26所述的方法,其中所述cG-2-AllylP包含水溶液和一种或多种药学上可接受的赋形剂、添加剂、载体或佐剂。
- [0218] 实施方案28.如实施方案26所述的方法,在片剂或胶囊中进一步包含一种或多种赋形剂、载体、添加剂、佐剂或粘合剂。
- [0219] 实施方案29.如实施方案1至30中任一项所述的方法,其中所述化合物直接或间接通过循环施用。
- [0220] 实施方案30.如实施方案1至29中任一项所述的方法,其中所述化合物通过口服、腹膜内、血管内、外周循环、皮下、眼眶内、眼内、椎管内、脑池内、局部、输注、植入、气雾剂、吸入、划痕、腹膜内、囊内、肌内、鼻内、口腔、经皮、肺、直肠或阴道途径施用。
- [0221] 实施方案31.如实施方案1至30中任一项所述的方法,其中所述有效量具有约0.001毫克/千克动物质量(mg/kg)的下限和约200mg/kg的上限。
- [0222] 实施方案32.如实施方案1至31中任一项所述的方法,其中功效的评估是通过测量动物淋巴细胞中磷酸化ERK(pERK)或磷酸化Akt(pAkt)来进行的,其中pERK或pAkt的正常化表明所述病症的严重程度降低。
- [0223] 实施方案33.如实施方案1至32中任一项所述的方法,其中所述治疗产生PTHS症状的改善,所述改善是与未患所述病症的对照动物相比使用选自以下组成的组的一种或多种临床测试评估的:异常行为检查表社区版(ABC)、文兰适应行为量表、严重程度临床总体印象量表(CGI-S)、改善临床总体印象量表(CGI-I)、照顾者压力问卷(CSQ);或使用选自以下组成的组的一种或多种生理测试评估的:脑电图(EEG)峰频率、EEG频带中的总功率、EEG频率的半球一致性、刻板手部运动、QTc和心率变异性(HRV)、ERK1/2和Akt的异常表达或激活、生长相关蛋白-43(GAP-43)的异常表达、突触素(SYN)的异常表达、呼吸不规则性以及心脏和呼吸功能的异常耦合。
- [0224] 实施方案34.如实施方案1-33中任一项所述的方法,其中所述PTHS症状是认知损害或认知功能障碍,以下一种或多种体征或症状:记忆丧失、空间定向丧失、学习能力下降、形成短期或长期记忆的能力下降、情景记忆下降、巩固记忆的能力下降、空间记忆下降、突触发生下降、突触稳定性下降、执行功能缺陷、认知绘图和场景记忆缺陷、陈述性和关系性记忆缺陷、结构或连接关联的快速获得下降、特定事件特定背景的编码和检索下降、情景和/或情景样记忆下降、焦虑、恐惧条件反射异常、社会行为异常、重复行为、夜间行为异常、癫痫活动、运动异常、ERK1/2和Akt的异常表达或激活和心动过缓。
- [0225] 实施方案35.一种用于检测前述实施方案中任一项所述的存在、严重程度或疗效评估的方法,其包括测量患有PTHS的受试者的外周淋巴细胞中的磷酸化ERK1/2或磷酸化Akt的表达,与未患有PTHS的受试者组的外周淋巴细胞中的磷酸化ERK1/2或磷酸化Akt的表达进行比较,或者与治疗前受试者的外周淋巴细胞中的磷酸化ERK1/2或磷酸化Akt的表达

进行比较。

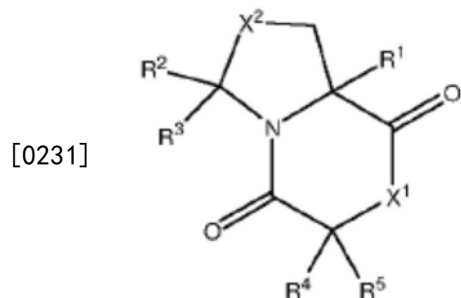
[0226] 实施方案36. 化合物在制备治疗Pitt-Hopkins综合征症状的药物中的用途, 所述化合物是包含环状甘氨酸基-2-烯丙基脯氨酸(cG-2-AllylP)、环状环己基-G-2MeP或环状环戊基-G-2MeP的药学有效量的化合物。

[0227] 实施方案37. 如实施方案36所述的用途, 其中所述化合物是环状环己基-G-2MeP。

[0228] 实施方案38. 如实施方案36所述的用途, 其中所述化合物是环状G-2-AllylP。

[0229] 实施方案39. 如实施方案36所述的用途, 其中所述化合物是环状环戊基-G-2MeP。

[0230] 实施方案40. 化合物在制备用于治疗患有Pitt Hopkins综合征的哺乳动物的这种病症的症状的药物中的用途, 其中所述化合物具有下式:



[0232] 或其药学上可接受的盐或水合物, 其中

[0233] X^1 选自自由以下组成的组: NR' 、O和S;

[0234] X^2 选自自由以下组成的组: CH_2 、 NR' 、O和S;

[0235] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自自由以下组成的组: -H、-OR'、-SR'、-NR'R'、-NO₂、-CN、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(NR')NR'R'、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基; 每个R'独立地选自自由以下组成的组: -H、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0236] 或者 R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, 其中n是0-6的整数;

[0237] 或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, 其中n是0-6的整数;

[0238] 条件是当 R^1 =甲基且 $R^2=R^3=R^4=H$ 时, $R^5 \neq$ 苄基; 并且

[0239] 当 $R^1=H$ 时, R^2 和 R^3 中至少一个 $\neq H$ 。

[0240] 实施方案41. 如实施方案40所述的用途, 其中 R^1 =甲基。

[0241] 实施方案42. 如实施方案40所述的用途, 其中 R^1 =烯丙基。

[0242] 实施方案43. 如实施方案40所述的用途, 其中 $R^2=R^3$ =甲基且 $X^2=S$ 。

[0243] 实施方案44. 如实施方案40所述的用途, 其中 R^1 =烯丙基, $R^2=R^3=R^4=R^5=H$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0244] 实施方案45. 如实施方案40所述的用途, 其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0245] 实施方案46. 如实施方案40所述的用途, 其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0246] 实施方案47. 如权利要求40至46中任一项所述的用途, 其中所述用途进一步包括所述化合物在药学上可接受的赋形剂中, 或在胶囊中。

[0247] 实施方案48.如实施方案40至47中任一项所述的用途,其中所述用途进一步包括所述化合物与药学上可接受的赋形剂和粘合剂。

[0248] 实施方案49.如实施方案40至48中任一项所述的用途,其中所述用途进一步包括所述化合物与药学上可接受的赋形剂,或处于胶囊形式。

[0249] 实施方案50.如实施方案40至49中任一项所述的用途,其进一步包括至少一种抗凋亡化合物、抗坏死化合物、神经保护剂或抗炎剂。

[0250] 实施方案51.如实施方案50所述的用途,其中所述抗凋亡化合物、抗坏死化合物或神经保护剂选自由以下组成的组:胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、胰岛素样生长因子-II (IGF-II)、转化生长因子- β 1、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白、IGFBP-3、碱性成纤维细胞生长因子、酸性成纤维细胞生长因子、hst/Kfgk基因产物、FGF-3、FGF-4、FGF-6、角质细胞生长因子、雄激素诱导的生长因子、int-2、成纤维细胞生长因子同源因子-1 (FHF-1)、FHF-2、FHF-3、FHF-4、角质细胞生长因子2、神经胶质细胞激活因子、FGF-10、FGF-16、睫状神经营养因子、脑源性生长因子、神经营养因子3、神经营养因子4、骨形态发生蛋白2 (BMP-2)、神经胶质细胞系源性神经营养因子、活性依赖性神经营养因子、细胞因子白血病抑制因子、制瘤素M、白介素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、复合干扰素、TNF- α 、氯美噻唑;犬尿喹啉酸、Semax、他克莫司、L-苏式-1-苯基-2-癸酰基氨基-3-吗啉代-1-丙醇、促肾上腺皮质激素-(4-9)类似物(ORG 2766)、地卓西平[MK-801]、司来吉兰、NPS1506、GV1505260、MK-801、GV150526、2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并(f)喹喔啉(NBQX)、LY303070、LY300164和抗MAdCAM-1抗体MECA-367。

[0251] 实施方案52.如实施方案40至50中任一项所述的用途,所述化合物为环状G-2-AllylP。

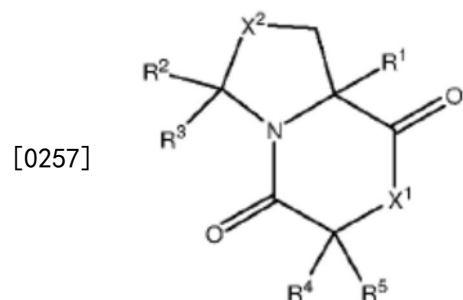
[0252] 实施方案53.如实施方案40至50中任一项所述的用途,其中所述化合物为环状环己基-G-2MeP。

[0253] 实施方案54.如实施方案40至53中任一项所述的用途,其中所述化合物为环状环戊基-G-2MeP。

[0254] 实施方案55.如实施方案40所述的用途,其在片剂中进一步包含一种或多种赋形剂、载体、添加剂、佐剂或粘合剂。

[0255] 实施方案56.如权利要求40所述的用途,其在胶囊中进一步包含微乳液、粗乳液或液晶。

[0256] 实施方案57.一种治疗患有Pitt Hopkins综合征的哺乳动物的方法,所述方法包括向所述哺乳动物施用具有下式的化合物:



[0258] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

- [0259] X^1 选自由以下组成的组： NR' 、O和S；
- [0260] X^2 选自由以下组成的组： CH_2 、 NR' 、O和S；
- [0261] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自由以下组成的组： $-H$ 、 $-OR'$ 、 $-SR'$ 、 $-NR'R'$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NR'R'$ 、 $-C(NR')NR'R'$ 、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基；每个 R' 独立地选自由以下组成的组： $-H$ 、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基；
- [0262] 或者 R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$ ，其中 n 是0-6的整数；
- [0263] 或者 R^2 和 R^3 一起是 $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$ ，其中 n 是0-6的整数；
- [0264] 条件是当 R^1 =甲基且 $R^2=R^3=R^4=H$ 时， $R^5 \neq$ 苄基；并且
- [0265] 当 $R^1=H$ 时， R^2 和 R^3 中至少一个 $\neq H$ 。
- [0266] 实施方案58.如实施方案57所述的方法，其中 R^1 =甲基。
- [0267] 实施方案59.如实施方案57所述的方法，其中 R^1 =烯丙基。
- [0268] 实施方案60.如实施方案57所述的方法，其中 $R^2=R^3$ =甲基且 $X^2=S$ 。
- [0269] 实施方案61.如实施方案57所述的方法，其中 R^1 =烯丙基， $R^2=R^3=R^4=R^5=H$ ， $X^1=NH$ ， $X^2=CH_2$ 。
- [0270] 实施方案62.如实施方案57所述的方法，其中 R^1 =甲基， $R^2=R^3=H$ ， R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$ ， $X^1=NH$ ， $X^2=CH_2$ 。
- [0271] 实施方案63.如实施方案57所述的方法，其中 R^1 =甲基， $R^2=R^3=H$ ， R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$ ， $X^1=NH$ ， $X^2=CH_2$ 。
- [0272] 实施方案64.如权利要求57所述的方法，其中所述方法进一步包括将所述化合物与药学上可接受的赋形剂一起或以凝胶形式施用。
- [0273] 实施方案65.如实施方案57所述的方法，其中所述方法进一步包括将所述化合物与药学上可接受的赋形剂和粘合剂一起施用。
- [0274] 实施方案66.如实施方案57所述的方法，其中所述方法进一步包括将所述化合物与药学上可接受的赋形剂一起或以胶囊形式施用。
- [0275] 实施方案67.如实施方案57所述的方法，其进一步包括施用至少一种抗凋亡化合物、抗坏死化合物、神经保护剂或抗炎剂。
- [0276] 实施方案68.如实施方案67所述的方法，其中所述抗凋亡化合物、抗坏死化合物或神经保护剂选自由以下组成的组：胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、胰岛素样生长因子-II (IGF-II)、转化生长因子- $\beta 1$ 、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白、IGFBP-3、碱性成纤维细胞生长因子、酸性成纤维细胞生长因子、hst/Kfgk基因产物、FGF-3、FGF-4、FGF-6、角质细胞生长因子、雄激素诱导的生长因子、int-2、成纤维细胞生长因子同源因子-1 (FHF-1)、FHF-2、FHF-3、FHF-4、角质细胞生长因子2、神经胶质细胞激活因子、FGF-10、FGF-16、睫状神经营养因子、脑源性生长因子、神经营养因子3、神经营养因子4、骨形态发生蛋白2 (BMP-2)、神经胶质细胞系源性神经营养因子、活性依赖性神经营养因子、细胞因子白血病抑制因子、制瘤素M、白介素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、复合干扰素、TNF- α 、氯美噻唑；犬尿喹啉酸、Semax、他克莫司、L-苏式-1-苯基-2-癸酰基氨基-3-吗啉代-1-丙醇、促肾上腺皮质激素-(4-9)类似物(ORG 2766)、地卓西平[MK-801]、司来吉兰、NPS1506、

GV1505260、MK-801、GV150526、2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并(f)喹喔啉(NBQX)、LY303070、LY300164和抗MAdCAM-1抗体MECA-367。

[0277] 实施方案69.如实施方案57所述的方法,其中所述化合物是cG-2-AllylP。

[0278] 实施方案70.如实施方案57所述的方法,其中所述化合物是环状环己基-G-2MeP。

[0279] 实施方案71.如实施方案57所述的方法,其中所述化合物是环状环戊基-G-2MeP。

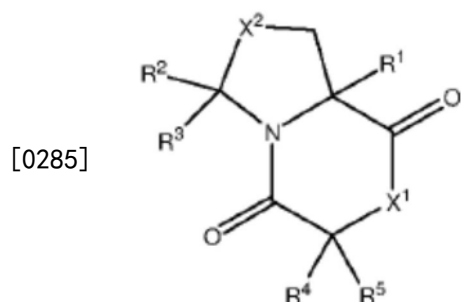
[0280] 实施方案72.一种治疗Pitt-Hopkins综合征症状的组合物,所述组合物包含含有环状甘氨酸基-2-烯丙基脯氨酸(cG-2-AllylP)、环状环己基-G-2MeP或环状环戊基-G-2MeP的药学有效量的化合物。

[0281] 实施方案73.如实施方案72所述的组合物,其中所述化合物是环状环己基-G-2MeP。

[0282] 实施方案74.如实施方案72所述的组合物,其中所述化合物是环状G-2-allylP。

[0283] 实施方案75.如实施方案72所述的组合物,其中所述化合物是环状环戊基-G-2MeP。

[0284] 实施方案76.一种用于治疗患有Pitt Hopkins综合征的哺乳动物的所述病症的症状的组合物,所述组合物包含具有下式的化合物:



[0286] 或其药学上可接受的盐或水合物,其中

[0287] X^1 选自自由以下组成的组:NR',O和S;

[0288] X^2 选自自由以下组成的组:CH₂,NR',O和S;

[0289] R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 R^5 独立地选自自由以下组成的组:-H、-OR'、-SR'、-NR'R'、-NO₂、-CN、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(NR')NR'R'、三卤代甲基、卤素、烷基、取代的烷基、杂烷基、取代的杂烷基、烯基、取代的烯基、炔基、取代的炔基、芳基、取代的芳基、杂芳基、取代的杂芳基、芳基烷基、取代的芳基烷基、杂芳基烷基和取代的杂芳基烷基;每个R'独立地选自自由以下组成的组:-H、烷基、杂烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基;

[0290] 或者 R^4 和 R^5 一起是-CH₂-(CH₂)_n-CH₂-,其中n是0-6的整数;

[0291] 或者 R^2 和 R^3 一起是-CH₂-(CH₂)_n-CH₂-,其中n是0-6的整数;

[0292] 条件是当 R^1 =甲基且 R^2 = R^3 = R^4 =H时, R^5 ≠苄基;并且

[0293] 当 R^1 =H时, R^2 和 R^3 中至少一个≠H。

[0294] 实施方案77.如实施方案76所述的组合物,其中 R^1 =甲基。

[0295] 实施方案78.如实施方案76所述的组合物,其中 R^1 =烯丙基。

[0296] 实施方案79.如实施方案76所述的组合物,其中 R^2 = R^3 =甲基且 X^2 =S。

[0297] 实施方案80.如实施方案76所述的组合物,其中 R^1 =烯丙基, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 =H, X^1 =NH, X^2 =CH₂。

[0298] 实施方案81.如实施方案76所述的组合物,其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0299] 实施方案82.如实施方案76所述的组合物,其中 R^1 =甲基, $R^2=R^3=H$, R^4 和 R^5 一起是 $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$ 。

[0300] 实施方案83.如实施方案76至82中任一项所述的组合物,其进一步包含在药学上可接受的赋形剂中或在凝胶中的所述化合物。

[0301] 实施方案84.如实施方案76至83中任一项所述的组合物,其进一步包含所述化合物与药学上可接受的赋形剂和粘合剂。

[0302] 实施方案85.如实施方案76至84中任一项所述的组合物,其中所述用途进一步包括所述化合物与药学上可接受的赋形剂,或处于胶囊形式。

[0303] 实施方案86.如实施方案76至85中任一项所述的组合物,其进一步包含至少一种抗凋亡化合物、抗坏死化合物、神经保护剂或抗炎剂。

[0304] 实施方案87.如实施方案86所述的组合物,其中所述抗凋亡化合物、抗坏死化合物或神经保护剂选自由以下组成的组:胰岛素样生长因子-I (IGF-I)、胰岛素样生长因子-II (IGF-II)、转化生长因子- β 1、激活素、生长激素、神经生长因子、生长激素结合蛋白、IGFBP-3、碱性成纤维细胞生长因子、酸性成纤维细胞生长因子、hst/Kfgr基因产物、FGF-3、FGF-4、FGF-6、角质细胞生长因子、雄激素诱导的生长因子、int-2、成纤维细胞生长因子同源因子-1 (FHF-1)、FHF-2、FHF-3、FHF-4、角质细胞生长因子2、神经胶质细胞激活因子、FGF-10、FGF-16、睫状神经营养因子、脑源性生长因子、神经营养因子3、神经营养因子4、骨形态发生蛋白2 (BMP-2)、神经胶质细胞系源性神经营养因子、活性依赖性神经营养因子、细胞因子白血病抑制因子、制瘤素M、白介素、 α -干扰素、 β -干扰素、 γ -干扰素、复合干扰素、TNF- α 、氯美噻唑;犬尿喹啉酸、Semax、他克莫司、L-苏式-1-苯基-2-癸酰基氨基-3-吗啉代-1-丙醇、促肾上腺皮质激素-(4-9)类似物(ORG 2766)、地卓西平[MK-801]、司来吉兰、NPS1506、GV1505260、MK-801、GV150526、2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并(f)喹喔啉(NBQX)、LY303070、LY300164和抗MAdCAM-1抗体MECA-367。

[0305] 实施方案88.如实施方案76至87中任一项所述的组合物,所述化合物为环状G-2-AllylP。

[0306] 实施方案89.如实施方案76至87中任一项所述的组合物,其中所述化合物为环状环己基-G-2MeP。

[0307] 实施方案90.如实施方案76至87中任一项所述的组合物,其中所述化合物为环状环戊基-G-2MeP。

[0308] 实施方案91.如实施方案76所述的组合物,其在片剂中进一步包含一种或多种赋形剂、载体、添加剂、佐剂或粘合剂。

[0309] 实施方案92.如实施方案76所述的组合物,其在胶囊中进一步包含微乳液、粗乳液或液晶。

[0310] 实施方案93.如权利要求57至71中任一项所述的方法,其中所述治疗产生PTHS症状的改善,所述改善是与未患所述病症的对照动物相比使用选自由以下组成的组的一种或多种临床测试评估的:异常行为检查表社区版(ABC)、文兰适应行为量表、严重程度临床总体印象量表(CGI-S)、改善临床总体印象量表(CGI-I)、照顾者压力问卷(CSQ);或使用选自

由以下组成的组的一种或多种生理测试评估的：脑电图 (EEG) 峰频率、EEG频带中的总功率、EEG频率的半球一致性、刻板手部运动、QTc和心率变异性 (HRV)、ERK1/2和Akt的异常表达或激活、生长相关蛋白-43 (GAP-43) 的异常表达、突触素 (SYN) 的异常表达、呼吸不规则性以及心脏和呼吸功能的异常耦合。

[0311] 实施方案94. 如实施方案57至71或93中任一项所述的方法，其中所述PTHS症状是认知损害或认知功能障碍，以下一种或多种体征或症状：记忆丧失、空间定向丧失、学习能力下降、形成短期或长期记忆的能力下降、情景记忆下降、巩固记忆的能力下降、空间记忆下降、突触发生下降、突触稳定性下降、执行功能缺陷、认知绘图和场景记忆缺陷、陈述性和关系性记忆缺陷、结构或连接关联的快速获得下降、特定事件特定背景的编码和检索下降、情景和/或情景样记忆下降、焦虑、恐惧条件反射、社会行为异常、重复行为、夜间行为异常、癫痫活动、运动异常、ERK1/2和Akt的异常表达或激活和心动过缓。

[0312] 实施方案95. 如实施方案1至71或93-94中任一项所述的方法，其中所述化合物的剂量为约0.001mg/kg至约600mg/kg。

[0313] 实施方案96. 如实施方案72至92中任一项所述的组合物，其中化合物的量足以产生约0.001mg/kg至约600mg/kg范围内的化合物的施用剂量。

[0314] 实施方案97. 如实施方案1至96中任一项或多项，其中所述动物或哺乳动物为人类。

[0315] 实施例

[0316] 通过以下实施例进一步说明本公开。这些实施例仅用于说明，并不旨在限制本发明的范围。

[0317] 实施例1：化合物合成的一般方法

[0318] 使用Scharlau 60 (40-60 μ m目) 硅胶进行快速色谱分析。在0.20mm预包被的硅胶板 (ALUGRAM[®] SIL G/UV₂₅₄) 上进行分析薄层色谱，使用紫外荧光或加热浸在高锰酸钾碱性溶液中的板来显现化合物。

[0319] 以摄氏度 (°C) 为单位的熔点是在Electrothermal[®]熔点测定仪上测定的，并且是未经校正的。

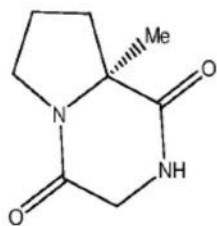
[0320] 在20°C下在Perkin Elmer 341旋光计上使用10cm光程长吸收池测量旋光度，并以10⁻¹degcm²g⁻¹为单位给出。在指定浓度 (以g/100cm³为单位测量) 下在指定的溶剂中制备样品。在Perkin Elmer Spectrum One FT-IR光谱仪上记录红外光谱。将样品在氯化钠圆盘上制备成薄膜，或在溴化钾圆盘上制备成固体。用br表示宽信号。作为吸收最大值的频率 (ν) 以波数 (cm⁻¹) 给出。

[0321] 在环境温度下在Bruker AVANCE DRX400 (¹H, 400MHz; ¹³C, 100MHz) 或Bruker AVANCE 300 (¹H, 300MHz; ¹³C, 75MHz) 谱仪上记录NMR谱。对于¹H NMR数据，化学位移描述为相对于SiMe₄的低场百万分率，并连续报告为位置 (δ_H)、相对积分、多重性 (s=单峰、d=双峰、t=三重峰、dd=双二重峰、m=多重峰、br=宽峰)、耦合常数 (J/Hz) 和归属。对于¹³C NMR数据，化学位移以相对于CDCl₃的百万分率描述，并连续报告为位置 (δ_C)、由DEPT实验确定的杂合程度和归属。¹H NMR谱使用SiMe₄ (δ 0.00) 或CDCl₃ (δ 7.26) 作为内部参考。¹³C NMR谱使用CDCl₃ (δ 77.0) 作为内部参考。当由于甘氨酸-脯氨酸酰胺键周围的不同构象而在NMR谱中出现两组峰时，次要顺式构象异构体的化学位移用星号 (*) 标记。

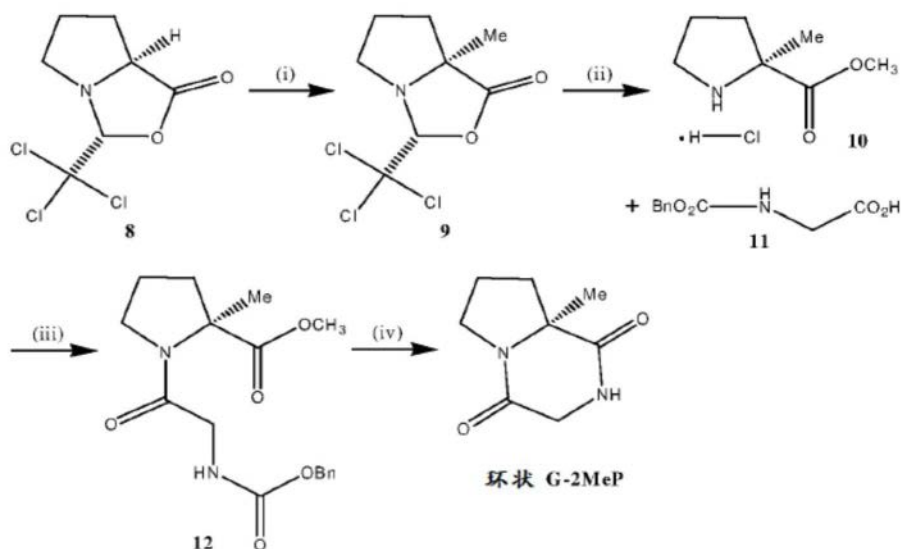
[0322] 在VG-70SE质谱仪上记录精确的质量测量。

[0323] 在使用前蒸馏己烷和二氯甲烷。使用镁屑和碘干燥甲醇,并在氮气下蒸馏。将三乙胺用氢化钙干燥,并在氮气下蒸馏。

[0324] 实施例2: (8aS)-甲基-六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,-二酮(环状G-2MeP)的合成



[0325]



[0326] 方案1:试剂、条件和产率; (i) LDA, THF, -78°C , 碘甲烷, $-78^{\circ}\text{C} \rightarrow -50^{\circ}\text{C}$, 2h (63%); (ii) SOCl_2 , CH_3OH , 回流, N_2 , 2.5h (98%); (iii) Et_3N , BoPCl, CH_2Cl_2 , RT, N_2 , 20.5h (78%); (iv) 10% Pd/C, CH_3OH , RT, 15h (98%)。

[0327] (2R,5S)-4-甲基-2-三氯甲基-1-氮杂-3-氧杂双环[3.3.0]辛烷-4-酮9

[0328] 在 -78°C 下,在氮气气氛下,将n-BuLi (1.31M, 4.68cm^3 , 6.14mmol) 逐滴添加至二异丙胺 (0.86cm^3 , 6.14mmol) 在无水的四氢呋喃 (10cm^3) 中的搅拌溶液中。将溶液搅拌5min,升温至 0°C 并搅拌15min。然后在 -78°C 下经20min将该溶液逐滴添加至噁唑烷酮8 (1.00g, 4.09mmol) 在无水的四氢呋喃 (20cm^3) 中的溶液中(变成深棕色),再搅拌30分钟,然后经5min逐滴添加碘甲烷 (0.76cm^3 , 12.3mmol)。经2h将溶液升温至 -50°C 。添加水 (15cm^3),将溶液升温至室温,用氯仿 ($3 \times 40\text{cm}^3$) 萃取。将合并的有机萃取物干燥(MgSO_4),过滤,并在真空中蒸发至干燥,得到深棕色半固体。通过快速柱色谱(15%乙酸乙酯-己烷)纯化残余物,得到呈淡黄色固体的噁唑烷酮9 (0.67g, 63%): mp $55^{\circ}\text{C} - 57^{\circ}\text{C}$ (lit., $57^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$); δ_{H} (300MHz, CDCl_3) 1.53 (3H, s, CH_3), 1.72-2.02 (3H, m, Pro β -H和Pro γ -H₂), 2.18-2.26 (1H, m, Pro β -H), 3.15-3.22 (1H, m, Pro δ -H), 3.35-3.44 (1H, m, Pro δ -H) 和4.99 (1H, s, NCH)。

[0329] L-2-甲基脯氨酸甲酯盐酸盐10

[0330] a) 使用乙酰氯

[0331] 在氮气气氛下,将噁唑烷酮9 (0.60g, 2.33mmol) 溶解于无水甲醇 (15cm³) 中,并将乙酰氯 (0.33cm³, 4.66mmol) 逐滴添加至冰冷溶液中。将溶液在回流下加热4.5h,然后在减压下除去溶剂,得到棕色油状物,通过快速柱色谱 (10%CH₃OH-CH₂Cl₂) 纯化,得到呈片状白色固体的盐酸盐10 (0.2g, 48%): mp 107°C-109°C (lit., 106°C-108°C); δ_{H} (300MHz, CDCl₃) 1.81 (3H, s, CH₃), 1.93-2.14 (3H, m, Pro β -H_AH_B和Pro γ -H₂), 2.33-2.39 (1H, m, Pro β -H_AH_B), 3.52-3.56 (2H, m, Pro δ -H₂) 和3.82 (3H, s, CO₂CH₃)。

[0332] b) 使用亚硫酰氯

[0333] 用亚硫酰氯 (0.045cm³, 0.62mmol) 逐滴处理噁唑烷酮9 (53mg, 0.21mmol) 在无水甲醇 (1cm³) 中的冰冷溶液。将溶液在回流下加热2.5h,冷却,并在减压下除去溶剂,得到棕色油状物。将油状物溶解在甲苯 (5cm³) 中,浓缩至干燥以除去残余的亚硫酰氯和甲醇,然后通过快速柱色谱 (10%CH₃OH-CH₂Cl₂) 纯化,得到呈片状白色固体的盐酸盐10 (16mg, 43%)。¹H NMR归属与上文报告的一致。

[0334] N-苄氧羰基-甘氨酸-L-2-甲基脯氨酸甲酯12

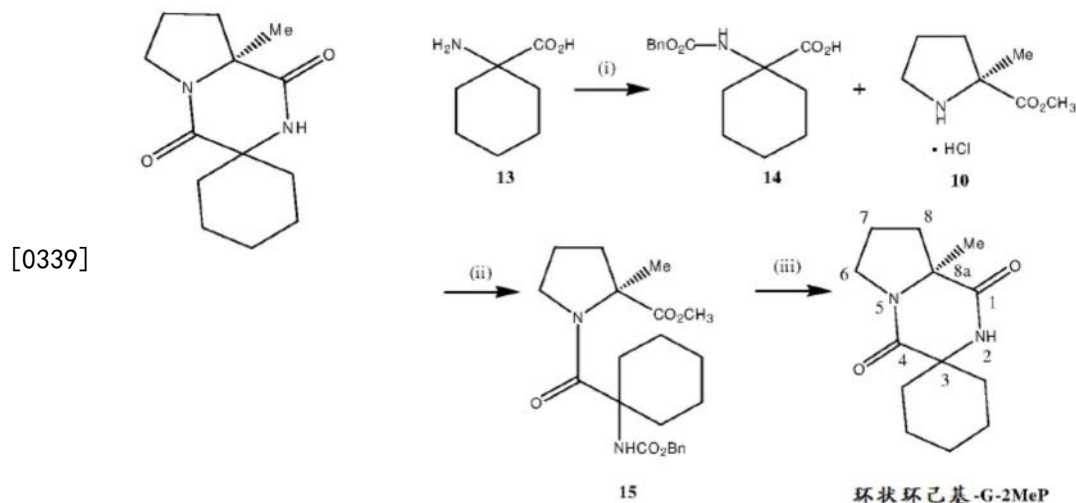
[0335] 在室温下,在氮气气氛下,将无水三乙胺 (0.27cm³, 1.96mmol) 逐滴添加至盐酸盐10 (0.11g, 0.61mmol) 和N-苄氧羰基-甘氨酸11 (98.5%) (0.17g, 0.79mmol) 在无水二氯甲烷 (35cm³) 中的溶液中,并将反应混合物搅拌10min。添加双 (2-氧代-3-噁唑烷基) 次膦酰氯 (BoPCl, 97%) (0.196g, 0.77mmol), 将所得无色溶液搅拌20.5h。将溶液依次用10%盐酸水溶液 (30cm³) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (30cm³) 洗涤,干燥 (MgSO₄), 过滤并在真空中蒸发至干燥。通过快速柱色谱 (50%-80%乙酸乙酯-己烷; 梯度洗脱) 纯化所得残余物,得到呈无色油状物的二肽12 (0.18g, 92%)。通过¹³C NMR分析显示酰胺12作为构象异构体的反式:顺式比为98:2的混合物存在 (该比率由分别归属于主要和次要构象异构体的Pro γ -C原子在 δ 20.8和23.5处的共振的相对强度估计): $[\alpha]_{\text{D}}$ -33.0 (c 1.0在MeOH中); ν_{max} (膜)/cm⁻¹ 3406, 2952, 1732, 1651, 1521, 1434, 1373, 1329, 1310, 1284, 1257, 1220, 1195, 1172, 1135, 1107, 1082, 1052, 1029, 986, 965, 907, 876, 829, 775, 738和699; δ_{H} (300MHz, CDCl₃) 1.49 (3H, s, CH₃), 1.77-2.11 (4H, m, Pro β -H₂和Pro γ -H₂), 3.43-3.48 (2H, m, Pro δ -H₂), 3.61 (3H, s, OCH₃), 3.85-3.89 (2H, m, Gly α -H₂), 5.04 (2H, s, PhCH₂), 5.76 (1H, br s, N-H) 和7.21-7.28 (5H, s, ArH); δ_{C} (75MHz, CDCl₃) 13.8* (CH₃, Pro α -CH₃), 21.1 (CH₃, Pro α -CH₃), 20.8* (CH₂, Pro γ -C), 23.5 (CH₂, Pro γ -C), 38.0 (CH₂, Pro β -C), 40.8* (CH₂, Pro β -C), 43.3 (CH₂, Gly α -C), 45.5* (CH₂, Gly α -C), 46.6 (CH₂, Pro δ -C), 48.7* (CH₂, Pro δ -C), 51.9* (CH₃, OCH₃), 52.1 (CH₃, OCH₃), 60.0* (quat., Pro α -C), 66.0 (quat., Pro α -C), 66.3 (CH₂, PhCH₂), 68.6* (CH₂, PhCH₂), 127.5 (CH, Ph), 127.6 (CH, Ph), 127.9* (CH, Ph), 128.1 (CH, Ph), 128.3* (CH, Ph), 136.2 (quat., Ph), 155.9 (quat., NCO₂), 166.0 (quat., Gly-CON), 169.4* (quat., Gly-CON) 和173.6 (quat., CO₂CH₃); m/z (EI+) 334.1535 (M⁺.C₁₇H₂₂N₂O₅要求334.1529)。

[0336] (8aS)-甲基六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮 (环状G-2MeP)

[0337] 向二肽12 (0.167g, 0.51mmol) 在甲醇 (8.0cm³) 中的溶液中添加10%钯活性炭 (8.1mg, 0.076mmol), 并用氢气冲洗容器。所得悬浮液在氢气气氛下剧烈搅拌15h。然后将混合物通过硅藻土垫过滤,然后用甲醇通过硅胶短塞过滤,并在减压下除去溶剂,得到呈黄色固体的环状G-2MeP (83mg, 98%): mp 133°C-135°C; $[\alpha]_{\text{D}}$ -128.1 (c 0.52在MeOH中); δ_{H} (300MHz, CDCl₃) 1.36 (3H, s, CH₃), 1.87-2.01 (3H, m, Pro β -H_AH_B和Pro γ -H₂), 2.07-2.21 (1H,

m, Pro β -H_AH_B) , 3.45-3.64 (2H, m, Pro δ -H₂) , 3.82 (1H, dd, J 17.1和4.1, CH_AH_BNH) , 3.99 (1H, d, J 17.1, CH_AH_BNH) 和7.66 (1H, br s, N-H) ; δ_c (75MHz, CDCl₃) 20.2 (CH₂, Pro γ -C) , 23.2 (CH₃, Pro α -CH₃) , 35.0 (CH₂, Pro β -C) , 44.7 (CH₂, Pro δ -C) , 45.9 (CH₂, CH₂NH) , 63.8 (quat. , Pro α -C) , 163.3 (quat. , NCO) 和173.3 (quat. , CONH) ; m/z (EI+) 168.08986 (M⁺. C₈H₁₂N₂O₂要求168.08988) 。

[0338] 实施例3: (8aS) - 甲基-螺[环己烷-1,3(4H) - 四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪]-1,4(2H) - 二酮(环状环己基-G-2-MeP)的合成



[0340] 方案2:试剂、条件和产率; (i) BnO_2CCl , Na_2CO_3 , H_2O -二噁烷 (3:1), 19h, 96%; (ii) Et_3N , HOAt , CIP , 1,2-二氯乙烷, 回流, N_2 , 19h (23%); (iii) 10% Pd/C , CH_3OH , RT, 17h (65%)。

[0341] N-苄氧羰基-1-氨基环乙烷-1-甲酸(14)

[0342] 向1-氨基环己烷甲酸13 (0.72g, 5.02mmol) 和碳酸钠 (1.6g, 15.1mmol) 溶解于水-二噁烷 (21cm³, 3:1) 中的悬浮液中逐滴添加氯甲酸苄酯 (0.79cm³, 5.52mmol), 并将溶液在室温下搅拌19.5h。将水层用二乙醚 (60cm³) 洗涤, 用2M HCl酸化, 用乙酸乙酯 (2×60cm³) 萃取。将有机层合并, 干燥 (MgSO₄), 过滤并在减压下蒸发, 得到无色油状物, 将其静置固化得到呈白色固体的粗氨基甲酸酯14 (1.23g, 88%): mp 152°C-154°C (lit., 148°C-150°C); δ_{H} (400MHz, CDCl₃) 1.27-1.56 (3H, m, 3×环己基-H), 1.59-1.73 (3H, m, 3×环己基-H), 1.85-1.91 (2H, m, 2×环戊基-H), 2.05-2.09 (2H, m, 2×环戊基-H), 5.02 (1H, br s, N-H), 5.12 (2H, s, OCH₂Ph) 和7.27-7.36 (5H, s, Ph); δ_{C} (100MHz, CDCl₃) 21.1 (CH₂, 2×环己基-C), 25.1 (CH₂, 2×环己基-C), 32.3 (CH₂, 环己基-C), 59.0 (quat., 1-C), 67.1 (CH₂, OCH₂Ph), 128.1 (CH, Ph), 128.2 (CH, Ph), 128.5 (CH, Ph), 136.1 (quat., Ph), 155.7 (quat., NCO₂) 和178.7 (quat., CO₂H)。

[0343] N-苄氧羰基-环己基-甘氨酸基-L-2-甲基脯氨酸甲酯 (15)

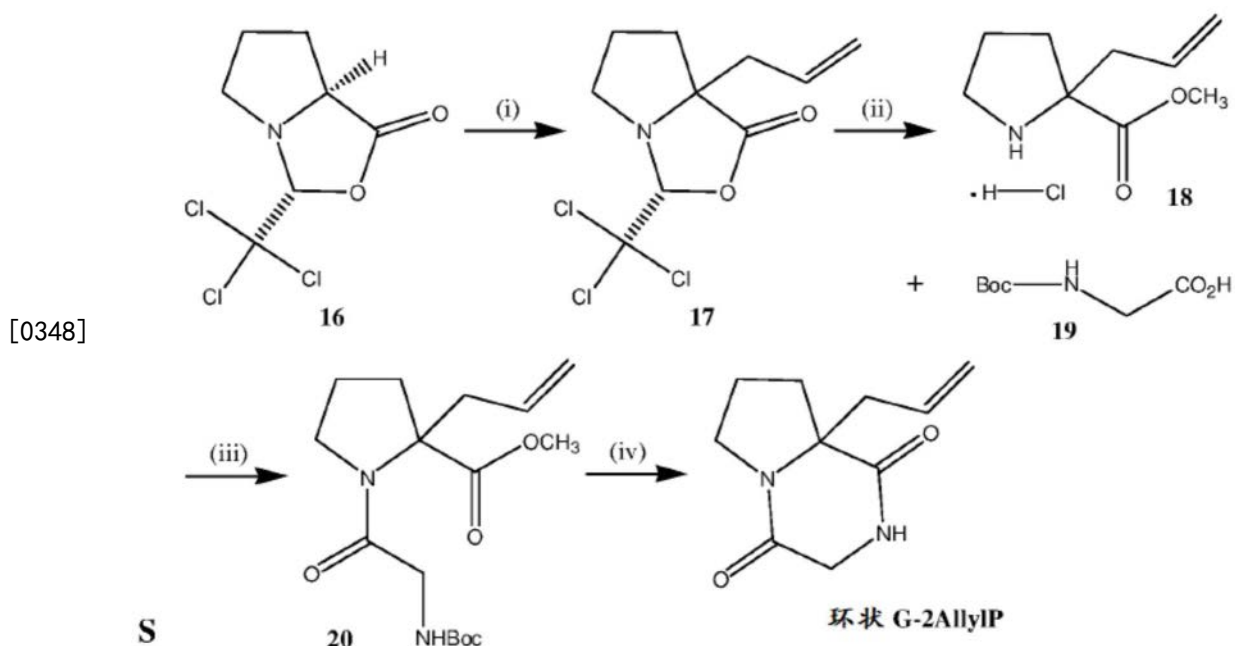
[0344] 在室温下,在氮气气氛下,将无水三乙胺(0.21cm^3 , 1.5mmol)逐滴添加至盐酸盐10 (84.0mg , 0.47mmol)、羧酸14 (0.17g , 0.61mmol)和1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (16mg , 0.12mmol)在无水1,2-二氯乙烷(26cm^3)中的溶液中,并将反应混合物搅拌10分钟。添加2-氯-1,3-二甲基咪唑烷鎓六氟磷酸盐 (0.13g , 0.47mmol),并将所得溶液在回流下加热21h,然后依次用10%盐酸水溶液(30cm^3)和饱和碳酸氢钠水溶液(30cm^3)洗涤,干燥(MgSO_4),过滤,并在真空中蒸发至干燥。通过快速柱色谱(40%-50%乙酸乙酯-己烷;梯度洗脱)纯化所

得残余物,得到呈白色固体的酰胺15 (16mg, 9%)。通过¹³C NMR分析显示酰胺15作为构象异构体的反式:顺式比为11:1的混合物存在(该比率由分别归属于主要和次要构象异构体的Proδ-C原子在δ41.3和48.2处的共振的相对强度估计): mp219°C-222°C; [α]_D-44.9 (c 1.31在CH₂Cl₂中); ν_{max} (膜)/cm⁻¹3239, 2927, 1736, 1707, 1617, 1530, 1450, 1403, 1371, 1281, 1241, 1208, 1194, 1165, 1150, 1132, 1089, 1071, 1028, 984, 912, 796, 749, 739和699; δ_H (400MHz, CDCl₃) 1.24-2.10 (17H, m, Proα-CH₃, Proβ-H₂, Proγ-H₂和5×环己基-H₂), 3.25-3.48 (1H, br m, Proδ-H_AH_B), 3.61-3.87 (4H, br m, OCH₃ and Proδ-H_AH_B), 4.92-5.19 (3H, m, N-H and OCH₂Ph) 和7.35-7.37 (5H, s, Ph); δ_C (100MHz, CDCl₃) 21.26 (CH₂, 环己基-C), 21.33 (CH₂, 环己基-C), 21.7 (CH₃, Proα-CH₃), 24.8 (CH₂, 环己基-C), 25.0 (CH₂, Proγ-C), 29.4* (CH₂, 环己基-C), 29.7* (CH₂, 环己基-C), 31.1 (CH₂, 环己基-C), 31.6 (CH₂, 环己基-C), 31.9* (CH₂, 环己基-C), 32.2* (CH₂, 环己基-C), 32.8* (CH₂, 环己基-C), 37.3 (CH₂, Proβ-C), 41.4* (CH₂, Proδ-C), 48.2 (CH₂, Proδ-C), 52.1 (CH₃, OCH₃), 59.1 (quat., Glyα-C), 66.7 (CH₂, OCH₂Ph), 67.3* (CH₂, OCH₂Ph), 67.4 (quat., Proα-C), 128.0* (CH, Ph), 128.1* (CH, Ph), 128.3 (CH, Ph), 128.5 (CH, Ph), 128.7 (CH, Ph), 136.6 (quat., Ph), 153.7 (quat., NCO₂), 171.0 (quat., Gly-CO) 和174.8 (quat., CO₂CH₃); m/z (EI+) 402.2151 (M⁺.C₂₂H₃₀N₂O₅要求402.2155)。

[0345] (8aS)-甲基-螺[环己烷-1,3(4H)-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪]-1,4(2H)-二酮(环状环己基-G-2MeP)

[0346] 向酰胺15 (40mg, 0.01mmol) 在甲醇(3.3cm³) 中的溶液中添加10% 钯活性炭(1.6mg, 0.015mmol), 并用氢气冲洗容器。将所得悬浮液在氢气气氛下剧烈搅拌61.5h, 然后用甲醇(15cm³) 通过Celite™ 垫过滤。将滤液在减压下浓缩至干燥, 得到黄色半固体, 将其通过反相C18快速柱色谱(0-10%CH₃CN/H₂O; 梯度洗脱) 纯化得到呈白色固体的环状环己基-G-2MeP (19mg, 81%): mp174°C-177°C; [α]_D-63.8 (c 1.13在CH₂Cl₂中); ν_{max} (膜)/cm⁻¹3215, 2925, 2854, 1667, 1646, 1463, 1427, 1276, 1232, 1171, 1085, 1014, 900, 868, 818, 783, 726和715; δ_H (400MHz, CDCl₃) 1.31-1.89 (12H, m, 9×环己基-H和8a-CH₃), 1.94-2.15 (4H, m, 7-H₂和8-H₂), 2.26 (1H, td, J 13.7和4.5, 1×环己基-H), 3.44-3.51 (1H, m, 6-H_AH_B), 3.79-3.86 (1H, m, 6-H_AH_B) 和6.40 (1H, br s, N-H); δ_C (100MHz, CDCl₃) 19.5 (CH₂, 7-C), 20.6 (CH₂, 环己基-C), 20.8 (CH₂, 环己基-C), 24.5 (CH₂, 环己基-C), 25.0 (CH₃, 8a-CH₃), 33.7 (CH₂, 环己基-C), 36.3 (CH₂, 8-C), 36.5 (CH₂, 环己基-C), 44.7 (CH₂, 6-C), 59.5 (quat., 8a-C), 64.0 (quat., 3-C), 168.1 (quat., 4-C) 和171.6 (quat., 1-C); m/z (EI+) 236.15246 (M⁺.C₁₃H₂₀N₂O₂要求236.15248)。

[0347] 实施例4: (8aS)-烯丙基-六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮(环状G-2-AllylP)的合成



[0349] 方案3: 试剂、条件和产率; (i) LDA, THF, -78°C , 烯丙基溴, $-78^{\circ}\text{C} \rightarrow -30^{\circ}\text{C}$, N_2 , 4h (60%); (ii) 乙酰氯, CH_3OH , 回流, N_2 , 24h (63%); (iii) Et_3N , BocPCl , CH_2Cl_2 , RT, N_2 , 19.5h (45%); (iv) TFA, CH_2Cl_2 , 1h, 然后 Et_3N , CH_2Cl_2 , 23h (37%)。

[0350] (2R,SS)-4-烯丙基-2-三氯甲基-1-氮杂-3-氧杂双环[3.3.0]辛烷-4-酮17

[0351] 在 -78°C 下,在氮气气氛下,将 $n\text{-BuLi}$ (1.31M , 9.93cm^3 , 13.0mmol) 逐滴添加至搅拌的二异丙胺 (1.82cm^3 , 13.0mmol) 在无水四氢呋喃 (20cm^3) 中的溶液中。将溶液搅拌5min,升温至 0°C ,搅拌15min,然后在 -78°C 下经20min逐滴添加至前噁唑烷酮16 (2.12g , 8.68mmol) 在无水四氢呋喃 (40cm^3) 中的溶液中,并将反应混合物再搅拌30min,然后经5min逐滴添加烯丙基溴 (2.25cm^3 , 26.0mmol)。经4h将溶液缓慢升温至 -30°C ,用 H_2O (30cm^3) 淬灭,并将混合物升温至室温,用氯仿 ($3 \times 80\text{cm}^3$) 萃取。将合并的有机萃取物干燥 (MgSO_4),过滤并在真空中蒸发至干燥,得到深棕色半固体,将其通过快速柱色谱 (10%-20% 乙酸乙酯-己烷; 梯度洗脱) 纯化得到呈橙色油状物的噁唑烷酮17 (1.48g , 60%), 将其在 0°C 下固化,其nmr数据与文献中报告的一致: δ_{H} (400MHz , CDCl_3) $1.58\text{--}1.92$ (2H, m, $\text{Pro } \gamma\text{-H}_2$), $1.96\text{--}2.14$ (2H, m, $\text{Pro } \beta\text{-H}_2$), $2.50\text{--}2.63$ (2H, m, $\text{Pro } \delta\text{-H}_2$), $3.12\text{--}3.23$ (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$), 4.97 (1H, s, NCH), $5.13\text{--}5.18$ (2H, m, CH=CH_2) 和 $5.82\text{--}5.92$ (1H, m, CH=CH_2); δ_{C} (100MHz , CDCl_3) 25.1 (CH_2 , $\text{Pro } \gamma\text{-C}$), 35.1 (CH_2 , $\text{Pro } \beta\text{-C}$), 41.5 (CH_2 , $\text{Pro } \delta\text{-C}$), 58.3 (CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH=CH}_2$), 71.2 (quat., $\text{Pro } \alpha\text{-C}$), 100.4 (quat., CCl_3), 102.3 (CH, NCH), 119.8 (CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH=CH}_2$), 131.9 (CH, $\text{CH}_2\text{CH=CH}_2$) 和 176.1 (quat., C=O); m/z (CI^+) 284.0009 [$(\text{M}+\text{H})^+$, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{35}\text{Cl}_3\text{NO}_2$ 要求 284.0012], 285.9980 [$(\text{M}+\text{H})^+$, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{ClNO}_2$ 要求 285.9982], 287.9951 [$(\text{M}+\text{H})^+$, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}_2\text{NO}_2$ 要求 287.9953] 且 289.9932 [$(\text{M}+\text{H})^+$, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{37}\text{Cl}_3\text{NO}_2$ 要求 289.9923]。

[0352] L-2-烯丙基脯氨酸甲酯盐酸盐18

[0353] 用乙酰氯 (0.36cm^3 , 5.0mmol) 在甲醇 (5cm^3) 中的溶液逐滴处理噁唑烷酮17 (0.64g , 2.24mmol) 在无水甲醇 (15cm^3) 中的冰冷溶液。将溶液在回流下加热24小时,然后冷却,在减压下除去溶剂。将所得棕色油状物溶解在甲苯 (40cm^3) 中,并浓缩至干燥以除去残余的亚硫酸氯和甲醇,然后通过快速柱色谱 (5%-10% $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$; 梯度洗脱) 纯化得到呈绿色固体

的盐酸盐18 (0.29g, 63%), 其NMR数据与文献中报告的一致: δ_{H} (300MHz, CDCl_3) 1.72-2.25 (3H, m, $\text{Pro}\beta\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$ 和 $\text{Pro}\gamma\text{-H}_2$), 2.32-2.52 (1H, m, $\text{Pro}\beta\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$), 2.72-3.10 (2H, m, $\text{Pro}\delta\text{-H}_2$), 3.31-3.78 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.84 (3H, s, CO_2CH_3), 5.20-5.33 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.75-5.98 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) 和 8.06 (1H, br s, N-H); m/z (CI+) 170.1183 [$(\text{M}+\text{H})^+$, $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{NO}_2$ 要求 170.1181]。

[0354] N-叔丁氧羰基-甘氨酸基-L-2-烯丙基脯氨酸甲酯20

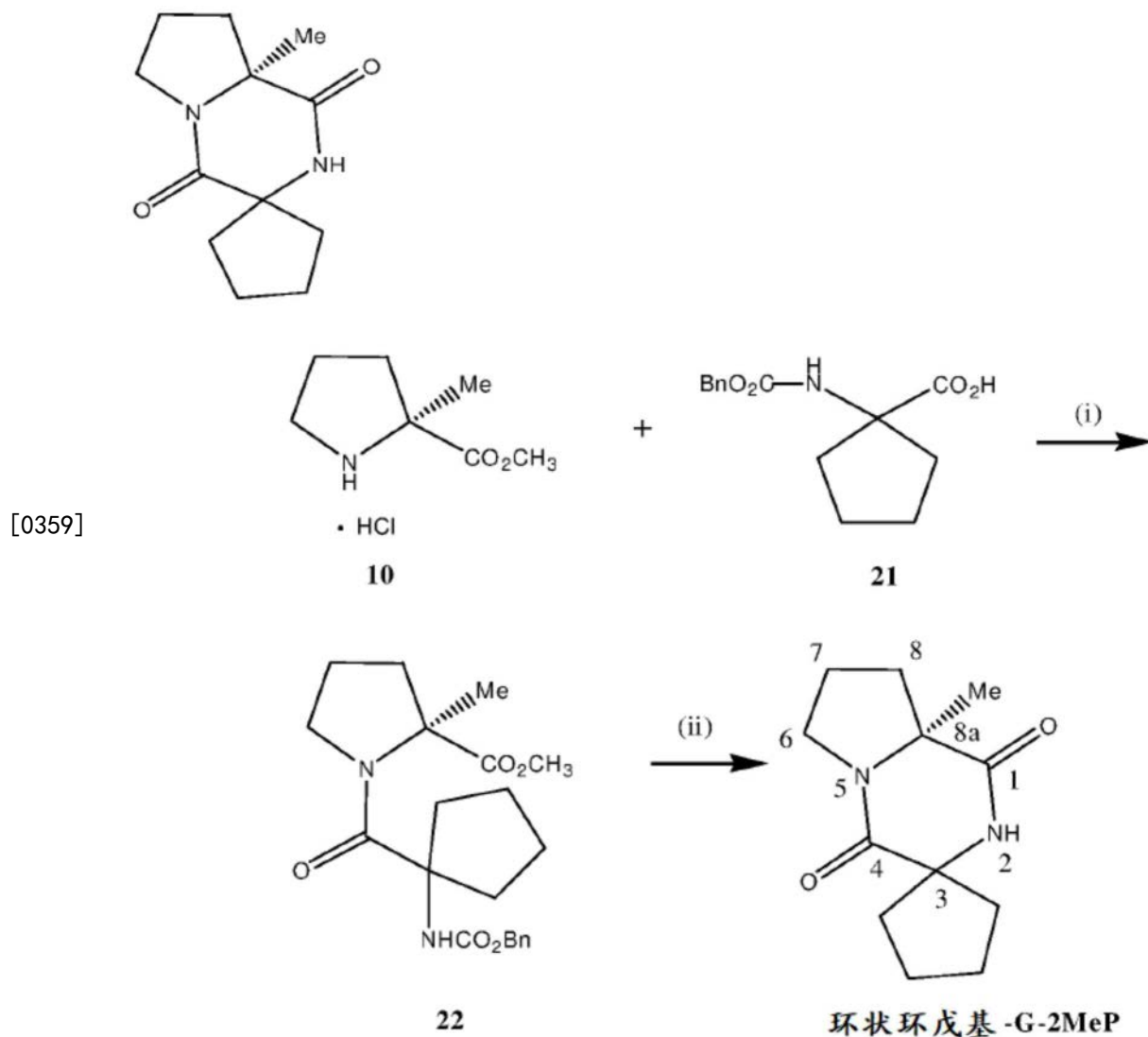
[0355] 在室温下, 在氮气气氛下, 将无水三乙胺 (0.28cm³, 2.02mmol) 逐滴添加至盐酸盐18 (0.13g, 0.63mmol) 和N-叔丁氧羰基-甘氨酸19 (0.14g, 0.82mmol) 在无水二氯甲烷 (35cm³) 中的溶液中, 并将反应混合物搅拌10min。添加双 (2-氧代-3-噁唑烷基) 次膦酰氯 (BoPCl, 97%) (0.20g, 0.80mmol), 并将溶液搅拌19.5h, 然后依次用10% 盐酸水溶液 (35cm³) 和饱和碳酸氢钠水溶液 (35cm³) 洗涤, 干燥 (MgSO_4), 过滤, 并在真空中蒸发至干燥。通过快速柱色谱 (40% 乙酸乙酯-己烷) 纯化所得残余物, 得到呈浅黄色油状物的二肽20 (0.09g, 45%): $[\alpha]_{\text{D}} +33.8$ (c 0.83 在 CH_2Cl_2 中); ν_{max} (膜) /cm⁻¹ 3419, 3075, 2977, 2930, 2874, 1739, 1715, 1656, 1499, 1434, 1392, 1366, 1332, 1268, 1248, 1212, 1168, 1122, 1051, 1026, 1003, 943, 919, 867, 830, 779, 739, 699 和 679; δ_{H} (300MHz, CDCl_3) 1.42 [9H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.93-2.08 (4H, m, $\text{Pro}\beta\text{-H}_2$ 和 $\text{Pro}\gamma\text{-H}_2$), 2.59-2.67 (1H, m, $\text{CH}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.09-3.16 (1H, m, $\text{CH}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.35-3.44 (1H, m, $\text{Pro}\delta\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$), 3.56-3.62 (1H, m, $\text{Pro}\delta\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$), 3.70 (3H, s, OCH_3), 3.89 (2H, d, J 4.2, $\text{Gly}\alpha\text{-H}_2$), 5.06-5.11 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.42 (1H, br s, Gly-NH) 和 5.58-5.72 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$); δ_{C} (75MHz, CDCl_3) 23.7 (CH_2 , $\text{Pro}\gamma\text{-C}$), 28.3 [CH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 35.0 (CH_2 , $\text{Pro}\beta\text{-C}$), 37.6 (CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 43.3 (CH_2 , $\text{Gly}\alpha\text{-C}$), 47.5 (CH_2 , $\text{Pro}\delta\text{-C}$), 52.5 (CH_3 , OCH_3), 68.8 (quat., $\text{Pro}\alpha\text{-C}$), 79.5 [quat., $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 119.4 (CH_2 , $\text{CH}=\text{CH}_2$), 132.9 (CH , $\text{CH}=\text{CH}_2$), 155.7 (quat., NCO_2), 166.9 (quat., Gly-CON) 和 173.8 (quat., CO_2CH_3); m/z (EI+) 326.1845 (M^+ , $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ 要求 326.1842)。

[0356] (8aS)-烯丙基-六氢吡咯并[1,2-a]吡嗪-1,4-二酮 (环状G-2AllylP)

[0357] 在室温下, 向二肽20 (0.09g, 0.28mmol) 在二氯甲烷 (9cm³) 中的溶液中逐滴添加三氟乙酸 (1cm³, 0.013mmol), 并将反应混合物在氮气气氛下搅拌1h。将该溶液在减压下蒸发, 得到无色油状物, 将其溶解在二氯甲烷 (10cm³) 中, 添加无水三乙胺 (0.096cm³, 0.69mmol), 将反应混合物搅拌4.5h, 之后进一步添加三乙胺 (0.096cm³, 0.69mmol)。将反应混合物搅拌过夜, 浓缩至干燥, 得到绿色油状物, 通过快速柱色谱 (10% $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 纯化, 得到呈灰白色固体的环状G-2AllylP (20mg, 37%): mp 106°C-109°C; $[\alpha]_{\text{D}} -102.7$ (c 0.95 在 CH_2Cl_2); ν_{max} (CH_2Cl_2) /cm⁻¹ 3456, 3226, 2920, 1666, 1454, 1325, 1306, 1299, 1210, 1133, 1109, 1028, 1010, 949, 928, 882, 793, 761 和 733; δ_{H} (400MHz, CDCl_3) 1.92-2.01 (2H, m, $\text{Pro}\gamma\text{-H}_2$), 2.09-2.16 (2H, m, $\text{Pro}\beta\text{-H}_2$), 2.39-2.56 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2=\text{CH}_2$), 3.46-3.53 (1H, m, $\text{Pro}\delta\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$), 3.78-3.87 (2H, m, $\text{Pro}\delta\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$ 和 $\text{Gly}\alpha\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$), 4.09 (1H, d, J 17.2, $\text{Gly}\alpha\text{-H}_{\text{A}}\text{H}_{\text{B}}$), 5.16-5.20 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.73-5.84 (1H, m, $\text{CH}=\text{CH}_2$) 和 7.17 (1H, br s, N-H); δ_{C} (100MHz, CDCl_3) 20.1 (CH_2 , $\text{Pro}\gamma\text{-C}$), 34.1 (CH_2 , $\text{Pro}\beta\text{-C}$), 41.7 (CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH}_2=\text{CH}_2$), 44.9 (CH_2 , $\text{Pro}\delta\text{-C}$), 46.4 (CH_2 , $\text{Gly}\alpha\text{-C}$), 67.2 (quat., $\text{Pro}\alpha\text{-C}$), 120.9 (CH_2 , $\text{CH}=\text{CH}_2$), 131.0 (CH , $\text{CH}=\text{CH}_2$), 163.4 (quat., NCO) 和 171.7 (quat., CONH); m/z (EI+) 195.1132 (M^+ , $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2$ 要求 195.1134)。

[0358] 实施例5: (8aS)-甲基-螺[环戊烷-1,3(4H)-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪]-1,4(2H)-

二酮(环状环戊基-G-2-MeP)的合成



[0360] 方案4:试剂、条件和产率; (i) Et_3N , HOAt , CIP , 1,2-二氯乙烷, 83°C , N_2 , 19h (23%); (ii) 10% Pd/C , CH_3OH , RT, 17h (65%)。

[0361] N-苄氧羰基-1-氨基环戊烷-1-甲酸21

[0362] 在 0°C 下,将氯甲酸苄酯(0.290g,1.1mmol)在二噁烷(2.5cm^3)中的溶液逐滴添加至1-氨基环戊烷甲酸(Fluka)(0.2g,1.54mmol)和碳酸钠(0.490g,4.64mmol)在水(5cm^3)中的溶液中。室温下继续搅拌过夜,并用乙醚洗涤反应混合物。将水层用2M盐酸酸化,用乙酸乙酯萃取,干燥(Na_2SO_4),过滤并除去溶剂,得到呈油状物的氨基甲酸酯21(0.253g,62%),将其静置固化。通过 ^1H NMR分析表明氨基甲酸酯21为构象异构体的70:30的混合物(该比率由分别归属于主要和次要构象异构体的N-H质子在 $\delta 5.31$ 和 7.29 - 7.40 处的共振的积分估计):mp 70°C - 80°C (lit. $^{182^\circ\text{C}}$ - 86°C , 乙酸乙酯, 石油醚); δ_{H} (400MHz; CDCl_3 ; Me_4Si) 1.83 (4H, br s, $2 \times$ 环戊基- H_2), 2.04 (2H, br s, 环戊基- H_2), 2.20-2.40 (2H, m, 环戊基- H_2), 5.13 (2H, br s, OCH_2Ph), 5.31 (0.7H, br s, N-H) 和 7.29-7.40 (5.3H, m, Ph和N- H^*); δ_{C} (100MHz; CDCl_3) 24.6 (CH_2 , 环戊基-C), 37.5 (CH_2 , 环戊基-C), 66.0 (quat., 环戊基-C), 66.8 (CH_2 , OCH_2Ph), 128.0 (CH, Ph), 128.1 (CH, Ph), 128.4 (CH, Ph), 136.1 (quat, Ph), 155.8 (quat., NCO_2) 和 179.5 (quat., CO_2H)。

[0363] N-苄氧羰基环戊基-甘氨酸基-L-2-甲基脯氨酸甲酯22

[0364] 在室温下,在氮气气氛下,将无水三乙胺(0.19cm³,1.4mmol)逐滴添加至盐酸盐10(78mg,0.43mmol)、羧酸21(0.15g,0.56mmol)和1-羟基-7-氮杂苯并三唑(Acros)(15mg,0.11mmol)在无水1,2-二氯乙烷(24cm³)中的溶液中,并将反应混合物搅拌10分钟。添加2-氯-1,3-二甲基咪唑烷鎓六氟磷酸盐(CIP)(Aldrich)(0.12g,0.43mmol),并将所得溶液在回流下加热19h,然后依次用10%盐酸水溶液(30cm³)和饱和碳酸氢钠水溶液(30cm³)洗涤,干燥(MgSO₄),过滤,并在真空中蒸发至干燥。通过快速柱色谱(60%乙酸乙酯-己烷)纯化所得残余物,得到呈白色固体的酰胺22(39mg,23%)。通过¹³C NMR分析显示酰胺22作为氨基甲酸酯构象异构体的反式:顺式比为3:1的混合物存在(该比率由分别归属于主要和次要构象异构体的氨基甲酸酯羰基-C原子在 δ 154.1和155.7处的共振的相对强度估计):mp 200°C-203°C;[α]_D-54.5(c 1.52在CH₂Cl₂中); $\nu_{\max}$ (膜)/cm⁻¹3432,3239,3042,2953,1736,1712,1627,1540,1455,1417,1439,1374,1282,1256,1216,1194,1171,1156,1136,1100,1081,1042,1020,107,953,917,876,756和701; δ_H (400MHz,CDCl₃)1.33-1.53(3H,br m,Pro α -CH₃),1.62-2.20(11H,m,Pro β -H₂,Pro γ -H₂和7 $\times$ 环戊基-H),2.59-2.71(1H,br m,1 $\times$ 环戊基-H),3.31-3.42(1H,br m,Pro δ -H_AH_B),3.58-3.79(4H,br m,OCH₃和Pro δ -H_AH_B),4.92-5.17(3H,m,N-H和OCH₂Ph)和7.27-7.42(5H,s,Ph); δ_C (100MHz,CDCl₃)21.7(CH₃,Pro α -CH₃),24.1*(CH₂,环戊基-C),24.2(CH₂,环戊基-C),24.4(CH₂,Pro γ -C),24.5(CH₂,环戊基-C),36.4(CH₂,环戊基-C),37.1(CH₂,环戊基-C),37.2*(CH₂,环戊基-C),37.7(CH₂,Pro β -C),38.2*(CH₂,环戊基-C),48.5(CH₂,Pro δ -C),52.1(CH₃,OCH₃),66.6(CH₂,OCH₂Ph),66.9(quat.,Pro α -C),67.2(quat.,Gly α -C),127.8(CH,Ph),128.2(CH,Ph),128.4(CH,Ph),136.6(quat.,Ph),154.1(quat.,NCO₂),155.7*(quat.,NCO₂),170.5(quat.,Gly-CO)和174.7(quat.,CO₂CH₃);m/z(EI+)388.1991(M⁺.C₂₁H₂₈N₂O₅要求388.1998)。*表示归属于次要构象异构体的共振。

[0365] (8aS)-甲基-螺[环戊烷-1,3(4H)-四氢吡咯并[1,2-a]吡嗪]-1,4(2H)-二酮(环状环戊基-G-2MeP)

[0366] 向酰胺22(54mg,0.14mmol)在甲醇(4.6cm³)中的溶液中添加10%钯活性炭(2.2mg,0.021mmol),并用氢气冲洗容器。在氢气气氛下剧烈搅拌所得悬浮液17h,然后用甲醇(15cm³)通过CeliteTM垫过滤。将滤液在减压下浓缩至干燥,得到黄色半固体,将其通过反相C18快速柱色谱(0-10%CH₃CN/H₂O;梯度洗脱)纯化得到呈黄色固体的环状环戊基-G-2MeP(20mg,65%):mp 160°C-163°C;[α]_D-97.9(c 1.61在CH₂Cl₂中); $\nu_{\max}$ (膜)/cm⁻¹3429,2956,2928,2856,1667,1643,1463,1432,1373,1339,1254,1224,1175,1086,1048,976,835,774和730; δ_H (300MHz,CDCl₃)1.47(3H,br s,8a-CH₃),1.56-2.19(11H,m,8-H₂,7-H₂和7 $\times$ 环戊基),2.58-2.67(1H,br m,1 $\times$ 环戊基),3.48-3.56(1H,m,6-H_AH_B),3.72-3.82(1H,m,6-H_AH_B)和6.56(1H,br s,N-H); δ_C (75MHz,CDCl₃)19.9(CH₂,7-C),24.6(CH₂,环戊基),24.92(CH₃,8a-CH₃),24.93(CH₂,

[0367] 环戊基),36.0(CH₂,8-C),38.7(CH₂,环戊基),41.9(CH₂,环戊基),44.8(CH₂,6-C),64.3(quat.,8a-C),66.8(quat.,3-C),168.3(quat.,4-C)和172.2(quat.,1-C);m/z(EI+)222.1369(M⁺.C₁₂H₁₈N₂O₂要求222.1368)。

[0368] 体外和体内测试

[0369] 以下药理学研究证明了环状G-2-AllylP在减轻PTHS症状中的功效。以下研究不是限制性的,本发明的其它组合物和方法无需过多的实验就可以开发出来。所有这些组合物和方法都被认为是本公开的一部分。以下所有实验都是使用根据由智利大学动物伦理委员会或类似监管机构批准的指南制定的方案进行的。

[0370] 实施例6:口服施用后cG2-AllylP向脑中的递送

[0371] 在一项体内研究中,雄性Sprague Dawley大鼠(14周龄)通过口服管饲接受了单剂量的cG-2-AllylP,剂量为100mg/kg或200mg/kg。在给药后1.5和4小时收集脑脊液(CSF)和全血,在给药后4小时收集脑组织,以评估cG-2-AllylP暴露。下表1显示了给药后1.5小时CSF和血液中血液、CSF和脑中的cG-2-AllylP。

[0372]	野生型大鼠的 CSF、血液和脑中 cG-2-AllylP 的浓度			
	平均测试品暴露			
	剂量	100 mg/kg	200 mg/kg	200:100 mg/kg
	给药后 1.5 小时			
	CSF	40.4 µg/ml	82.2 µg/ml	2.03:1
	血液	58.5 µg/ml	116.0 µg/ml	1.98:1
	给药后 4 小时			
	CSF	11.0 µg/ml	24.7 µg/ml	2.25:1
	血液	15.6 µg/ml	34.2 µg/ml	2.19:1
	脑	22.6 µg/ml	37.0 µg/ml	1.63:1
	CSF =脑脊液。			

[0373] 在单次口服剂量后1.5小时,血液和CSF中的cG-2-AllylP浓度大致成比例增加,4小时后,血液、CSF和脑中的cG-2-AllylP浓度大致成比例增加。给药后4小时,血液和脑组织中cG-2-AllylP的浓度大致相等。

[0374] 实施例7:cG-2-AllylP在Pitt Hopkins综合征Tcf4^{+/-}小鼠模型中的作用

[0375] A. 小鼠模型的相关性

[0376] 已经建立了几个PTHS基因操纵的啮齿动物模型(Thaxton等人,2018;Sweatt, 2013)。这些模型围绕杂合子Tcf4(Tcf4^{+/-})有着共同的基础。单倍剂量不足的小鼠(Tcf4^{+/-})已被表征为PTHS的模型系统(Kennedy等人,2016)。Kennedy等人(2016)的工作表明,Tcf4^{+/-}小鼠表现出与PTHS相关的认知和运动失调一致的行为,包括厌恶社会互动、学习缺陷和大肌肉运动控制损害。

[0377] B. 实验设计

[0378] 由Gen.DDI(智利圣地亚哥)在Tcf4^{+/-}突变和野生型同窝仔对照(WT)小鼠中进行体内行为研究。同窝仔对照由基因型Tcf4^{+/+}组成。所有使用的Tcf4突变小鼠都是Tcf4突变的杂合小鼠,因为Tcf4的纯合突变导致自胚胎至出生后第1天的致死。每个治疗组10只14周龄的小鼠用于行为实验。根据1986年英国动物(科学实验)法案的要求进行实验。将小鼠置于塑料笼子(35×30×12cm)中,每5只一笼,并在开始试验前使小鼠适应该动物设施持续至少一周。室温(21℃±2℃)、相对湿度(55%±5%)、12小时的明暗周期(早7点到晚7点照明)以及空气交换都是自动控制的。这些动物可以自由获得商业食物颗粒和水。测试在生理周期

的光照阶段进行,测试的顺序由最后进行压力最大的测试的原则确定。测定设计用于再现和扩展Tcf4^{+/-}小鼠的原始行为特征。Tcf4^{+/-}和WT对照小鼠在测试前治疗6周,并在给予cG-2-AllylP后30分钟进行测试,如下表2所述。

[0379]

给药方案					
组号	测试组	口服	浓度	治疗	N
1	WT + 媒介物	o.p.		BID, 测试前 30 min	10
2	KO + 媒介物	o.p.		BID, 测试前 30 min	10
3	WT + cG-2-AllylP	o.p.	100 mg/kg	BID, 测试前 30 min	10
4	KO + cG-2-AllylP	o.p.	100 mg/kg	BID, 测试前 30 min	10
5	WT + cG-2-AllylP	o.p.	200 mg/kg	BID, 测试前 30 min	10
6	KO + cG-2-AllylP	o.p.	200 mg/kg	BID, 测试前 30 min	10
BID = 一天给药两次; KO = 敲除; o.p. = 经口; WT = 野生型同窝仔对照。					

[0380] 实施例8:旷场活动减退

[0381] 旷场 (OF) 测试是一种用于确定焦虑/活动过度的组合测试,并且对于适应新环境,这是最基本的学习形式之一,其中随着重复暴露于相同环境的探索减少被视为记忆的指标。这通常在暴露于旷场的两个阶段进行研究,即10分钟和24小时适应阶段。

[0382] 用于本研究的装置是一个灰色PVC封闭场,50×30厘米,分成10厘米的正方形。测试前5-20min将小鼠带到实验房间。将一只小鼠放入一个角落正方形中面向角落,并观察3分钟。计数进入的正方形数(整个身体)和直立数(两只前爪离开地面,但不作为修饰的一部分)。还记录了到第一次直立的等待时间。用视频跟踪装置记录小鼠在旷场周围的移动持续300秒(vNT4.0,Viewpoint)。记录小鼠进入旷场最亮的中心部分的等待时间、在该中心区域所花费的总时间和总活动(以厘米为单位的路径长度)。

[0383] 旷场 (OF) 测试是一种用于表征动物的探索行为、焦虑和/或活动减退和活动过度的测试,这些动物习惯于在新的和熟悉的条件下进行日常行为。在暴露于旷场期间,小鼠会习惯于周围的环境,从而探索得更少,随着时间的推移,它们表现出的运动量会减少。

[0384] 在本实验中,我们记录了第一次暴露期间 (T1)、10分钟后第二次暴露期间 (T2) 和24小时后第三次暴露期间 (T3) 的运动和直立。在10分钟和24小时时未能减少运动或直立分别表明短期和长期记忆的缺陷。

[0385] 为了评估cG-2-AllylP是否有效治疗PTHS的活动减退,我们进行了旷场研究。在30分钟的测试过程中,与野生型同窝仔相比,Tcf4^{+/-}小鼠的旷场运动得分较低。

[0386] 结果在图2中示出。

[0387] 纵轴显示相对移动距离,横轴显示动物和其治疗。仅用媒介物治疗的野生型 (WT) 小鼠 (左栏) 被认为100%移动。与WT小鼠相比,仅用媒介物治疗的Tcf4^{+/-}小鼠 (左数第二栏) 仅表现出约60%的活动性,因此被发现是活动减退。用NNZ-2591 (cG-2-AllylP) 治疗的WT小

鼠(左数第三栏)表现出比用媒介物治疗的WT小鼠略高的活动性,但是这种差异很小并且无统计学显著性。与仅用媒介物治疗的Tcf4^{+/-}小鼠相比,我们惊奇地发现用100mg/kg NNZ-2591(cG-2-AllylP)治疗的Tcf4^{+/-}小鼠(左数第四栏)显示出与仅用媒介物治疗的WT小鼠几乎相同的活动性。用200mg/kg NNZ-2591(cG-2-AllylP)治疗的WT小鼠(左数第五栏)显示出与仅用媒介物或用100mg/kg NNZ-2591(cG-2-AllylP)治疗的WT小鼠几乎相同的活动性。NNZ-2591(cG-2-AllylP)的作用具有统计学显著性。我们的结论是,100mg/kg或200mg/kg的NNZ-2591(cG-2-AllylP)使Tcf4^{+/-}小鼠的这种轻度至中度活动减退正常化。

[0388] 旷场(活动减退)

[0389] ANOVA=方差分析;ns=不显著;WT=野生型同窝仔对照;****=p<0.00001

[0390]	ANOVA总结	
	F	166.2
	P值	<.00001
	P值总结	****
[0391]	平均值间差异显著(P<0.05)?	是
	R方	0.939

[0392]	Tukey多重比较测试		总结	P值
	WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物		****	<0.00001
	WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		ns	0.1546
	WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		ns	>0.9999
	WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.3821
	WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.9782
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		****	<0.0001
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP 1 (200 mg/kg)		****	<0.0001
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		****	<0.0001
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		****	<0.0001
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		ns	0.1137
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.9957
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.5145
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.3037
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.9524
	WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.8203

[0393] 实施例9:自我修饰

[0394] 反复自我修饰是小鼠的特征。与野生型小鼠相比,*Tcf4*^{+/-}小鼠显示出自我修饰量增加。为了观察NNZ-2591 (cG-2-AllylP) 是否能使*Tcf4*^{+/-}小鼠的自我修饰行为正常化,我们进行了一系列研究,如图3所示。

[0395] 纵轴显示在10分钟的测试期间以秒为单位的修饰所花费的时间量,横轴显示动物和治疗。仅用媒介物治疗的野生型 (WT) 小鼠 (左栏) 自我修饰约110秒。与仅用媒介物治疗的WT小鼠相比,仅用媒介物治疗的*Tcf4*^{+/-}小鼠 (左数第二栏) 的自我修饰增加。用100mg/kg NNZ-2591治疗的WT小鼠 (cG-2-AllylP; 左数第三栏) 自我修饰的时间与仅用媒介物治疗的WT小鼠大致相同。这种差异无统计学显著性。我们意外地发现用100mg/kg NNZ-2591 (cG-2-AllylP; 左数第四栏) 或200mg/kg (右栏) 治疗的*Tcf4*^{+/-}小鼠花费了与媒介物治疗的WT小鼠

大约相同的自我修饰的时间,并且少于仅用媒介物治疗的Tcf4^{+/-}小鼠所花费的自我修饰时间。这一具有统计学显著性的发现在Tcf4^{+/-}小鼠中是完全出乎意料的。

[0396] 自我修饰/重复行为

[0397] ANOVA=方差分析;ns=不显著;WT=野生型同窝仔对照;****=p<0.0001

[0398]

ANOVA总结	
F	53.01
P值	<0.0001
P值总结	****
平均值间差异显著 (P<0.05) ?	是
R方	0.8307

[0399]

Tukey多重比较测试	总结	P值
WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/-} + 媒介物	****	0.0001
WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	>0.9999
WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	0.0567

[0400]

WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	>0.9999
WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9149
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	0.0645
WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	>0.9999
WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9313
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.0645
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.4130
WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9313

[0401] 我们的结论是,*Tcf4*^{+/-}突变导致的重复行为(自我修饰)的增加可通过用100mg/kg或200mg/kg剂量的cG-2-AllylP治疗来纠正。

[0402] 实施例10:恐惧条件反射

[0403] 对事件或背景的恐惧条件反射代表了一种在许多物种中已经被很好研究过的联想学习的形式。在老鼠身上,恐惧通常表现为停止运动,也称为僵硬行为。僵硬适合于猎物物种,因为捕猎者经常定位移动的猎物。在背景(延迟)恐惧条件反射中使用的依赖测量是一种僵硬反应,在非条件刺激(足底电击)和条件刺激(CS;例如,可听音)(特定背景和/或这样的提示)成对出现后发生。如果在一个条件反射背景中,施加一个伴随着可听音的足底电击,小鼠不仅会学习可听音,还会学习背景。

[0404] 背景恐惧条件反射是一个基本的条件反射程序。它包括把一只动物置于一个新的环境中,提供一个厌恶刺激,然后移走。当动物被放回到相同的环境中时,如果它记得并把那个环境与厌恶刺激联系起来,它通常会表现出一种僵硬反应。僵硬是对恐惧的一种反应,被定义为“除了呼吸没有任何动作”。这种僵硬行为可能会持续几秒到几分钟,这取决于厌恶刺激的强度、呈现的次数以及受试者所达到的学习程度。

[0405] 与野生型小鼠相比,具有*Tcf4*^{+/-}突变的动物表现出较少的僵硬行为。这种适应不

良性行为会产生严重的后果。因此,为了确定NNZ-2591 (cG-2-A1ly1P) 是否可以恢复Tcf4^{+/+}小鼠的正常恐惧条件反射,我们进行了一系列的研究。图4显示了这些研究的结果。

[0406] 图4的纵轴显示在5分钟的测试期间内僵硬行为所花费的时间百分比。横轴显示动物和它们的治疗。

[0407] 仅用媒介物治疗的野生型小鼠 (左栏) 有大约50%的时间处于僵硬行为。相比之下,Tcf4^{+/+}小鼠 (左数第二栏) 表现出僵硬行为时间的显著减少。这具有统计学显著性。

[0408] 用100mg/kg (左数第三栏) 或200mg/kg (左数第五栏) NNZ-2591 (cG-2-A1ly1P) 治疗的WT小鼠表现出与媒介物治疗的WT小鼠大约相同的僵硬行为时间。

[0409] 与媒介物治疗的Tcf4^{+/+}小鼠相比,用100mg/kg (左数第四栏) 或200mg/kg (右栏) 治疗的小鼠在僵硬行为方面花费的时间与WT小鼠相似。WT和200mg/kg治疗的动物之间的差异无统计学显著性。然而,NNZ-2591 (cG-2-A1ly1P) 治疗的小鼠在僵硬行为中花费的时间量很大且在统计学上显著高于媒介物治疗的Tcf4^{+/+}小鼠。

[0410] 恐惧条件反射

[0411] ANOVA=方差分析;ns=不显著;WT=野生型同窝仔对照;****=p<0.0001;***=p<0.001;*=p<0.05

[0412]

ANOVA总结	
F	169.4
P值	<0.0001
P值总结	****
平均值间差异显著 (P<0.05) ?	是
R方	0.9401

Tukey多重比较测试		总结	P值
WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物		****	<0.0001
WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		ns	0.8232
WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		*	0.0109
WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.6468
WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.9492
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		****	<0.0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		****	<0.0001
[0413]	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	0.2139
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.0811
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	nx	0.2819
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		****	<0.0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		***	0.0006
[0414]	WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9897

[0415] 实施例11:社会互动

[0416] 人的社会认知和社会记忆非常重要。与未患PTHS的人相比,患有PTHS的人表现出较低的社会认知和记忆。类似地,与野生型小鼠相比,*Tcf4*^{+/-}小鼠表现出显著减少的社会互动。因此,为了确定NNZ-2591 (cG-2-AllylP) 是否可以有效地使这种病症正常化,我们在小鼠中进行了一系列研究,其中我们确定了小鼠嗅闻一只新来小鼠所花费的时间。

[0417] 为了进行这些研究,通过重复暴露(以诱导熟悉性)后嗅闻新来小鼠所花费的时间,以及在引入新的刺激动物时恢复高水平的嗅闻来评估小鼠。我们测量了每组动物嗅闻的次数。这些研究的结果在图5中示出。纵轴显示嗅闻一只新来小鼠所花费的时间,横轴显示动物和治疗。

[0418] 仅用媒介物治疗的WT小鼠嗅闻新来小鼠所花费的时间(左栏)用作实验中的对照。仅用媒介物治疗的*Tcf4*^{+/-}小鼠(左数第二栏)表现出嗅闻新来小鼠的时间量显著减少。用

100mg/kg (左数第三栏) 或200mg/kg (左数第五栏) 治疗的WT小鼠表现出几乎相同的嗅闻新来小鼠的时间。用100mg/kg (左数第四栏) 或200mg/kg (右栏) 剂量的cG-2-AllylP治疗的Tcf4^{+/-}小鼠, 与仅用媒介物治疗的Tcf4^{+/-}小鼠相比, 显示出与新来小鼠相处的时间量的实质性的和统计学上显著的增加。

[0419] 社交能力

[0420] ANOVA=方差分析; ns=不显著; WT=野生型同窝仔对照; ****=p<0.0001

[0421]	Tukey 多重比较测试	总结	P 值
	WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/-} + 媒介物	****	<0.0001
[0422]	WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	>0.9999
	WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	0.2590
	WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.8811
	Tcf4 ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
	Tcf4 ^{+/-} + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
	Tcf4 ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
	Tcf4 ^{+/-} + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	>0.9999
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.2321
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.8553
	Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.2590
	Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.8811
	WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg) vs Tcf4 ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.8811

[0423] 实施例12: 筑巢

[0424] 筑巢是小鼠养育后代所需的活动, 是社会适应和日常生活活动的指标。Tcf4^{+/-}小鼠筑巢质量明显低于野生型小鼠。因此, 为了确定NNZ-2591 (cG-2-AllylP) 是否可以恢复筑巢的质量, 我们进行了一系列的研究。结果在图6中示出。纵轴显示1-5级的筑巢质量, 横轴显示动物和治疗。

[0425] 仅用媒介物治疗的野生型小鼠表现出约5的筑巢质量。相比之下,仅用媒介物治疗的Tcf4^{+/+}小鼠(左数第二栏)筑巢质量明显较低。用100mg/kg NNZ-2591 (cG-2-AllylP;左数第三栏)或200mg/kg (左数第五栏)治疗的WT动物与媒介物治疗的WT小鼠的筑巢质量几乎相同。用100mg/kg (左数第四栏)或200mg/kg NNZ-2591 (cG-2-AllylP;右栏)治疗的Tcf4^{+/+}小鼠的筑巢质量正常化到与WT小鼠几乎相同的水平。用NNZ-2591治疗的Tcf4^{+/+}小鼠的筑巢质量差异实质性的且在统计学上显著的优于仅用媒介物治疗的Tcf4^{+/+}小鼠的筑巢质量。

[0426] 日常生活测试

[0427] ANOVA=方差分析;no=不显著;WT=野生型同窝仔对照;****=p<0.0001。

[0428]

ANOVA总结	
F	121.9
P值	<0.0001
P值总结	****
平均值间差异显著 (P<0.05) ?	是
R方	0.9186

[0429]

Tukey 多重比较测试	总结	P 值
WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/+} + 媒介物	****	<0.0001
WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	>0.9999
WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/+} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	0.9951
WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9951
WT + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/+} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	>0.9999
Tcf4 ^{+/+} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
Tcf4 ^{+/+} + 媒介物 vs Tcf4 ^{+/+} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
Tcf4 ^{+/+} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001

[0430]	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	0/9951
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9951
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	>0.9999
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	>0.9999
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9951
	WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9951

[0431] 实施例13:后肢力

[0432] 后肢力是小鼠跳离捕猎者能力的重要度量。然而,具有*Tcf4*^{+/-}突变的动物跳离捕猎者的能力明显较低,这使得这种突变非常严重,并可能危及生命。后肢力也被认为是人运动功能的替代。为了确定NNZ-2591 (cG-2-AllylP) 是否可以给这种病症提供一种有益的治疗,我们进行了一系列的研究,在这些研究中我们测量了后肢力。这些结果在图7中示出。纵轴显示以牛顿(N)表示的力,横轴显示动物和治疗。

[0433] 仅用媒介物治疗的野生型小鼠能够产生约8N的力。相比之下,媒介物治疗的*Tcf4*^{+/-}小鼠(左数第二栏)只能产生约0.3N。这是一个实质性的和统计学上显著的缺陷。用100mg/kg NNZ-2591(左数第三栏)或200mg/kg NNZ-2591(左数第五栏)治疗的WT小鼠能够产生与媒介物治疗的WT小鼠大约相同水平的力。用100mg/kg(左数第四栏)或200mg/kg NNZ-2591(右栏)治疗的*Tcf4*^{+/-}小鼠产生的力与WT小鼠产生的力几乎相同。相比之下,用100mg/kg(左数第四栏)或200mg/kg NNZ-2591治疗的*Tcf4*^{+/-}小鼠能够产生与媒介物治疗的*Tcf4*^{+/-}小鼠相比实质性的和统计学上显著的更大的力。因此,我们的结论是,PTHS引起的虚弱和运动功能障碍通过cG-2-AllylP治疗而正常化。

[0434] 力的测试(后肢)

[0435] ANOVA=方差分析;ns=不显著;WT=野生型同窝仔对照;****= $p < 0.00001$ 。

[0436]	ANOVA总结	
	F	28.14
	P值	<.0001
	P值总结	****
	平均值间差异显著($P < 0.05$)?	是
	R方	0.7226

Tukey 多重比较测试		总结	P 值
WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物		****	<0.0001
WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		ns	0.9490
WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)		ns	0.6371
WT + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.9853
WT + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		ns	0.3631
[0437]	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	****	<0.0001
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + 媒介物 vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	****	<0.0001
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg)	ns	0.1649
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.6371
	WT + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.0616
[0438]	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs	ns	0.9490
	WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 mg/kg) vs <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)	ns	0.9978
[0439]	WT + cG-2-AllylP (200 mg/kg) vs	ns	0.7702
	<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 mg/kg)		

[0439] 总结

[0440] 如表3中所总结的,使用*Tcf4*^{+/-}小鼠模型,用200mg/kg的cG-2-AllylP治疗6周挽救了PTHS表型的所有测试行为。在100mg/kg的剂量下,用cG-2-AllylP治疗挽救了所有测试的行为,除了恐惧条件反射,恐惧条件反射得到了改善,但仍然与野生型显著不同。

表 3. 正常化为野生型水平的行为总结

	旷场	自我修饰	恐惧条件反射	筑巢	社交能力	力
[0441] <i>Tcf4</i> ^{+/-} cG-2-AllylP (100 mg/kg)	✓	✓	×	✓	✓	✓
<i>Tcf4</i> ^{+/-} cG-2-AllylP (200 mg/kg)	✓	✓	✓	✓	✓	✓

[0442] 参考文献:

[0443] 参考的所有专利和专利申请以及以下参考文献均通过引用以其全文并入本文。

[0444] Amiel J,Rio M,de Pontual L,et al.Mutations in TCF4,encoding a class I basic helix-loop-helix transcription factor,are responsible for Pitt-Hopkins syndrome,a severe epileptic encephalopathy associated with autonomic dysfunction.Am J Hum Genet.2007;80 (5) :988-993.

[0445] Bertrand N,Castro DS,Guillemot F.Proneural genes and the specification of neural cell types.Nat Rev Neurosci.2002;3 (7) :517-530.

[0446] Blake DJ,Forrest M,Chapman RM,et al.TCF4,schizophrenia,and Pitt-Hopkins Syndrome.Schizophr Bull.2010;36 (3) :443-447.doi:https://doi.org/10.1093/schbul/sbq035.

[0447] Brockschmidt A,Todt U,Ryu S,et al.Severe mental retardation with breathing abnormalities (Pitt-Hopkins syndrome) is caused by haploinsufficiency of the neuronal bHLH transcription factor TCF4.Hum Mol Genet.2007;16 (12) :1488-1494.

[0448] Brzozka MM,Radyushkin K,Wichert SP,Ehrenreich H,Rossner MJ.Cognitive and Sensorimotor Gating Impairments in Transgenic Mice Overexpressing the Schizophrenia Susceptibility Gene *Tcf4* in the Brain.Biol Psychiatry.2010;68 (1) :33-40.https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.03.015.

[0449] Crux S,Herms J,Dorostkar MM.*Tcf4* regulates dendritic spine density and morphology in the adult brain.PLoS ONE.2018;13 (6) :e0199359.https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199359.

[0450] de Pontual L,Mathieu Y,Golzio C,et al.Mutational,functional,and expression studies of the TCF4 gene in Pitt-Hopkins Syndrome.Hum Mutat.2009;30 (4) :669-676.

[0451] Flora A,Garcia JJ,Thaller C,Zoghbi HY.The E-protein *Tcf4* interacts with *Math1* to regulate differentiation of a specific subset of neuronal progenitors.Proc Nat Acad Sci U.S.A.2007;104 (39) :15382-15387.DOI:10.1073/pnas.0707456104.

[0452] Forrest MP,Waite AJ,Martin-Rendon E,Blake DJ.Knockdown of human TCF4

affects multiple signaling pathways involved in cell survival, epithelial to mesenchymal transition and neuronal differentiation. *PLoS One*. 2013; 8(8): e73169. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073169>.

[0453] Guan J, Mathai S, Harris P, et al. Peripheral administration of a novel diketopiperazine, NNZ 2591, prevents brain injury and improves somatosensory-motor function following hypoxia-ischemia in adult rats. *Neuropharmacology*. 2007; 53(6): 749-762. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.08.010>.

[0454] Guan J, Zhang R, Dale-Gandar L, Hodgkinson S, Vickers MH. NNZ-2591, a novel diketopiperazine, prevented scopolamine-induced acute memory impairment in the adult rat. *Behav Brain Res*. 2010; 210(2): 221-228. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.02.039>

[0455] Guan J, Gluckman P, Yang P et al. Cyclic glycine-proline regulates IGF-1 homeostasis by altering the binding of IGFBP-3 to IGF-1. *Sci Rep*. 2014; 4: 4388. DOI:10.1038/srep04388.

[0456] Kennedy AJ et al. Tcf4 Regulates Synaptic Plasticity, DNA Methylation, and Memory Function. *Cell Rep*. 2016 Sep 6; 16(10): 2666-2685. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.08.004>.

[0457] Krishnamurthi RV, Mathai S, Kim AH, Zhang R, Guan J. A novel diketopiperazine improves functional recovery given after the onset of 6-OHDA-induced motor deficit in rats. *Br J Pharmacol*. 2009; 156(4): 662-672.

[0458] Navarrete K, Pedroso I, De Jong S, et al. TCF4 (e2-2; ITF2): A schizophrenia-associated gene with pleiotropic effects on human disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2013; 162B(1): 1-16. doi: <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32109>.

[0459] Pscherer A, Dorflinger U, Kirfel J, et al. The helix-loop-helix transcription factor SEF-2 regulates the activity of a novel initiator element in the promoter of the human somatostatin receptor II gene. *EMBO J*. 1996; 15(23): 6680-6690. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb01058.x>

[0460] Rosenfeld JA, Leppig K, Ballif BC, et al. Genotype-phenotype analysis of TCF4 mutations causing Pitt-Hopkins syndrome shows increased seizure activity with missense mutations. *Genet Med*. 2009; 11(11): 797-805.

[0461] Sepp M, Kanike K, Eesmaa A, Urb M, Timmusk T. Functional diversity of human basic helix-loop-helix transcription factor TCF4 isoforms generated by alternative 5' exon usage and splicing. *PLoS One*. 2011; 6(7): e22138. doi:10.1371/journal.pone.0022138.

[0462] Sweatt JD. Pitt-Hopkins Syndrome: intellectual disability due to loss of TCF4-regulated gene transcription. *Exp Mol Med*. 2013; 45: e21. doi:10.1038/emmm.2013.32.

[0463] Sweetser DA, Elsharkawi I, Yonker L, et al. Pitt-Hopkins Syndrome. 2012 Aug 30 [Updated 2018 Apr 12]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. Gene **Reviews**[®] [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019.

[0464] Thaxton C, Kloth AD, Clark EP, Moy SS, Chitwood RA, Philpot BD. Common Pathophysiology in Multiple Mouse Models of Pitt-Hopkins Syndrome.

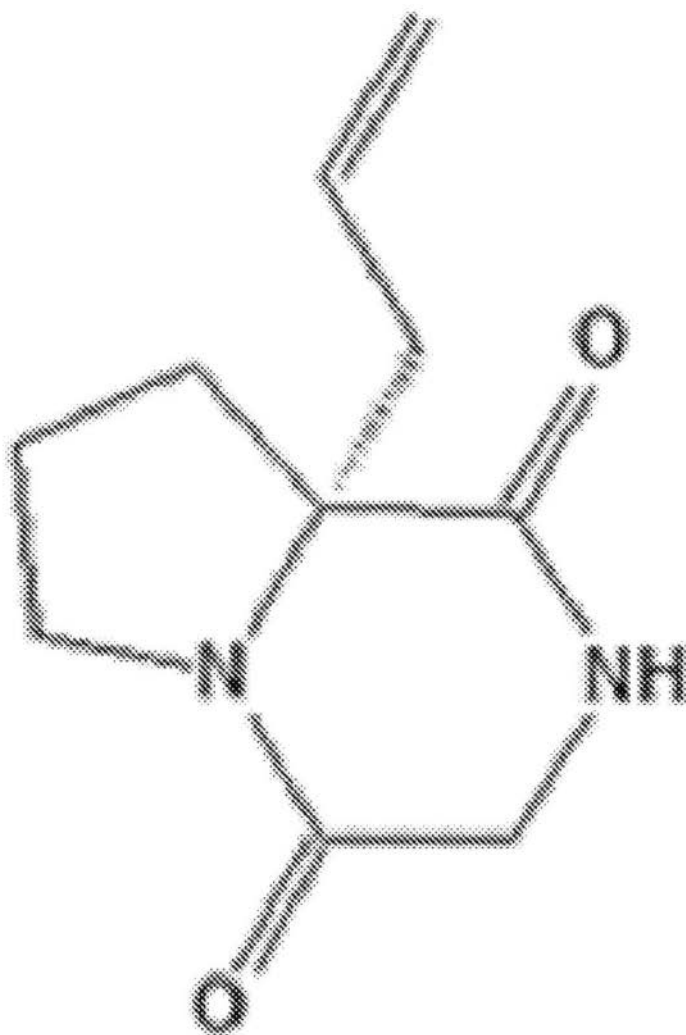
[0465] J Neurosci. 2018;24;38(4):918-936. doi:101523/JNEUROSCI.1305-17.2017. Epub 2017 Dec 8.

[0466] UK Animals (Scientific Procedures) Act, 1986.

[0467] United States Census Bureau. Population Clock; July 12th 2019; 0.045UTC. www.census.gov/popclock.

[0468] 工业适用性

[0469] 本公开的实施方案在医学和兽医领域中是有用的,并且在工业上是适用的。



环状甘氨酸基-2-烯丙基脯氨酸的结构

图1

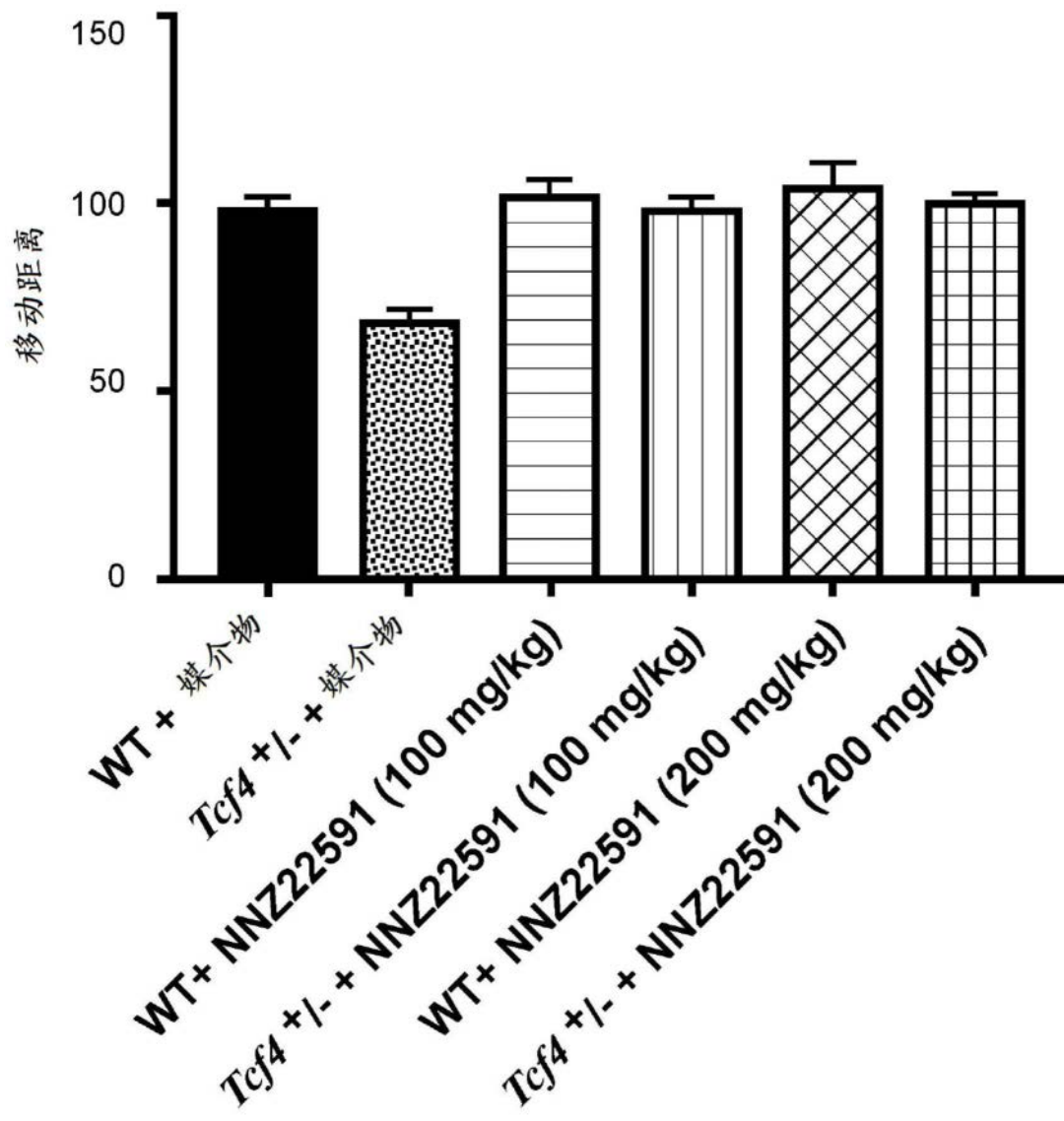


图2

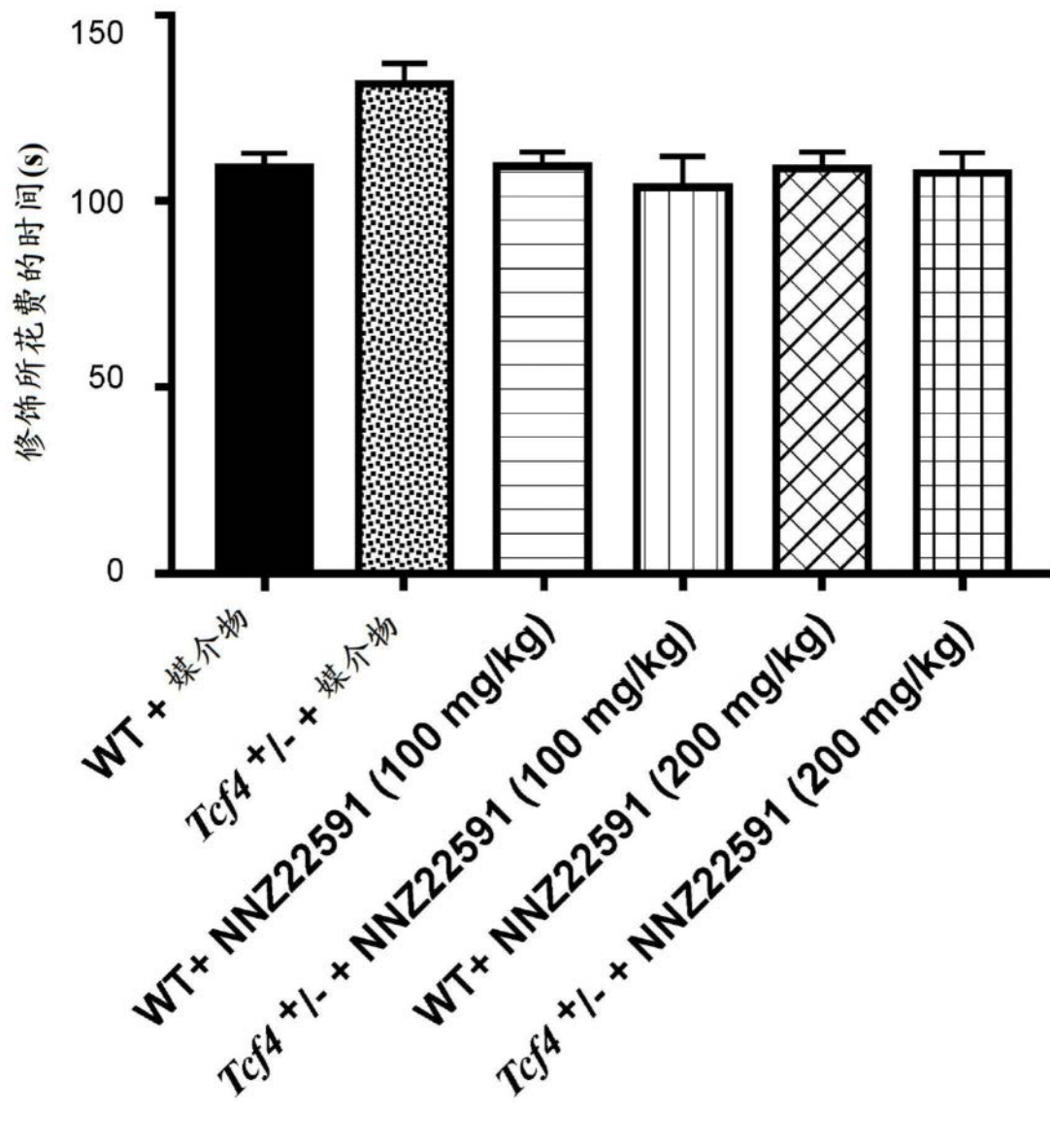


图3

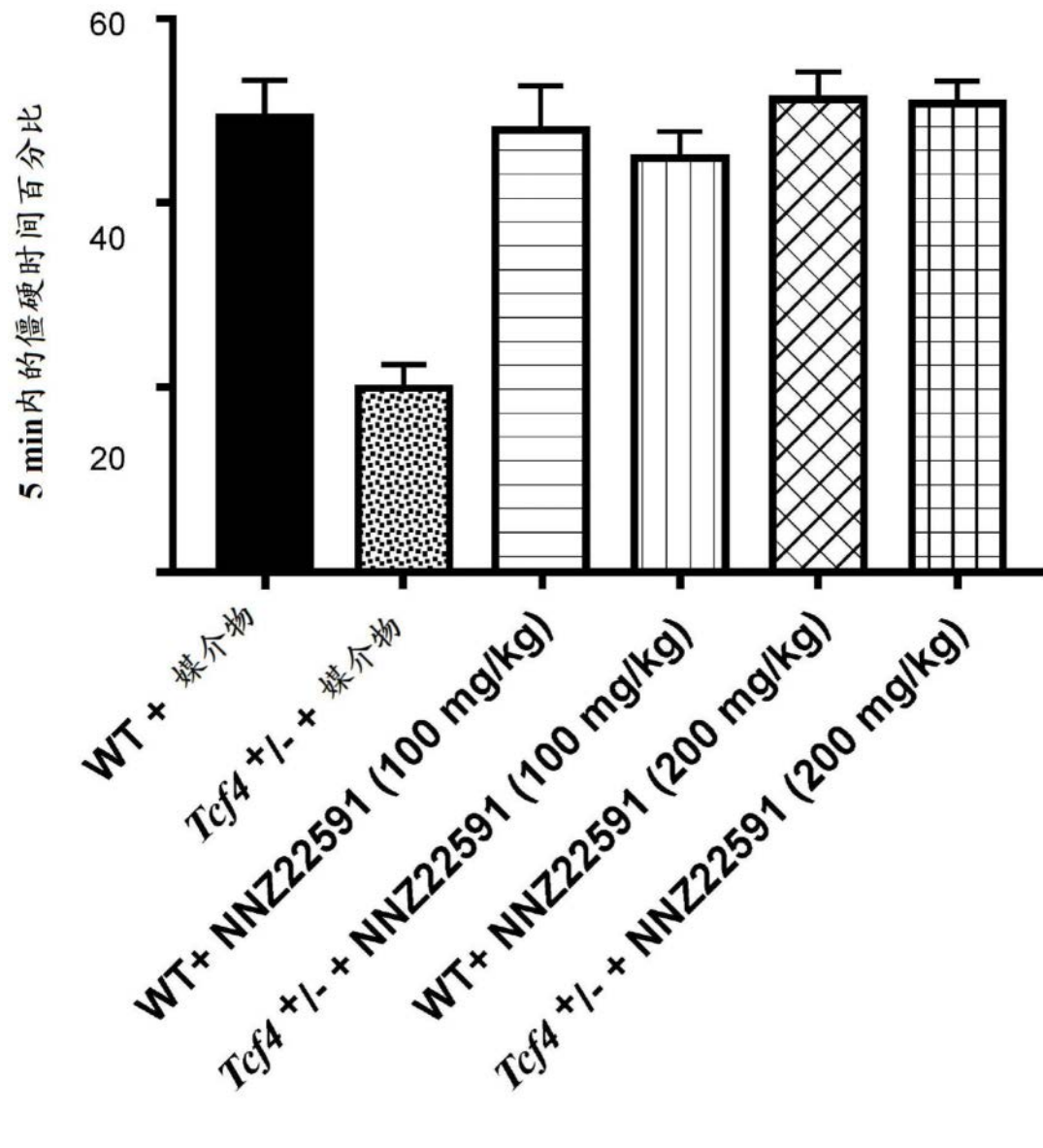


图4

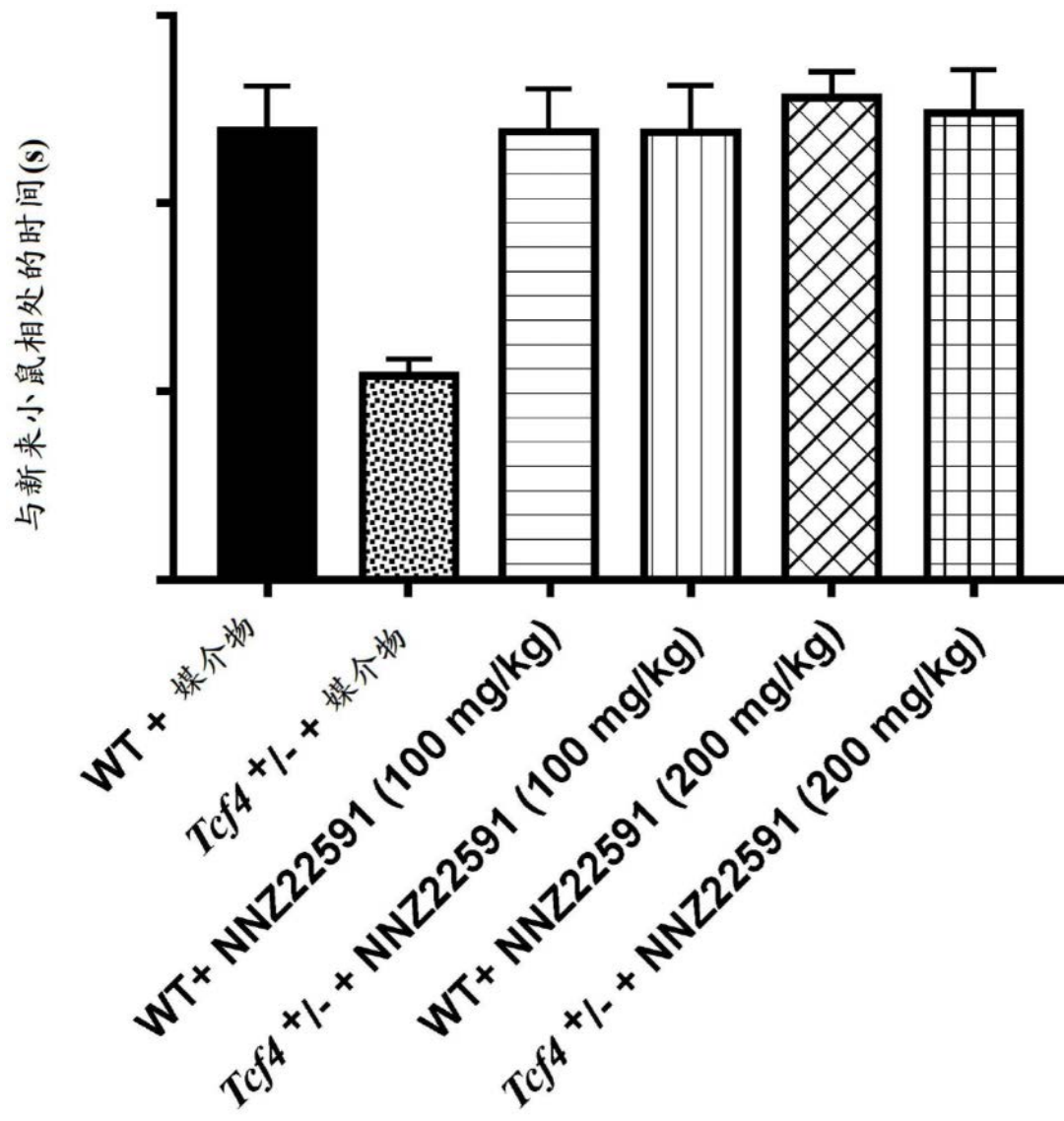


图5

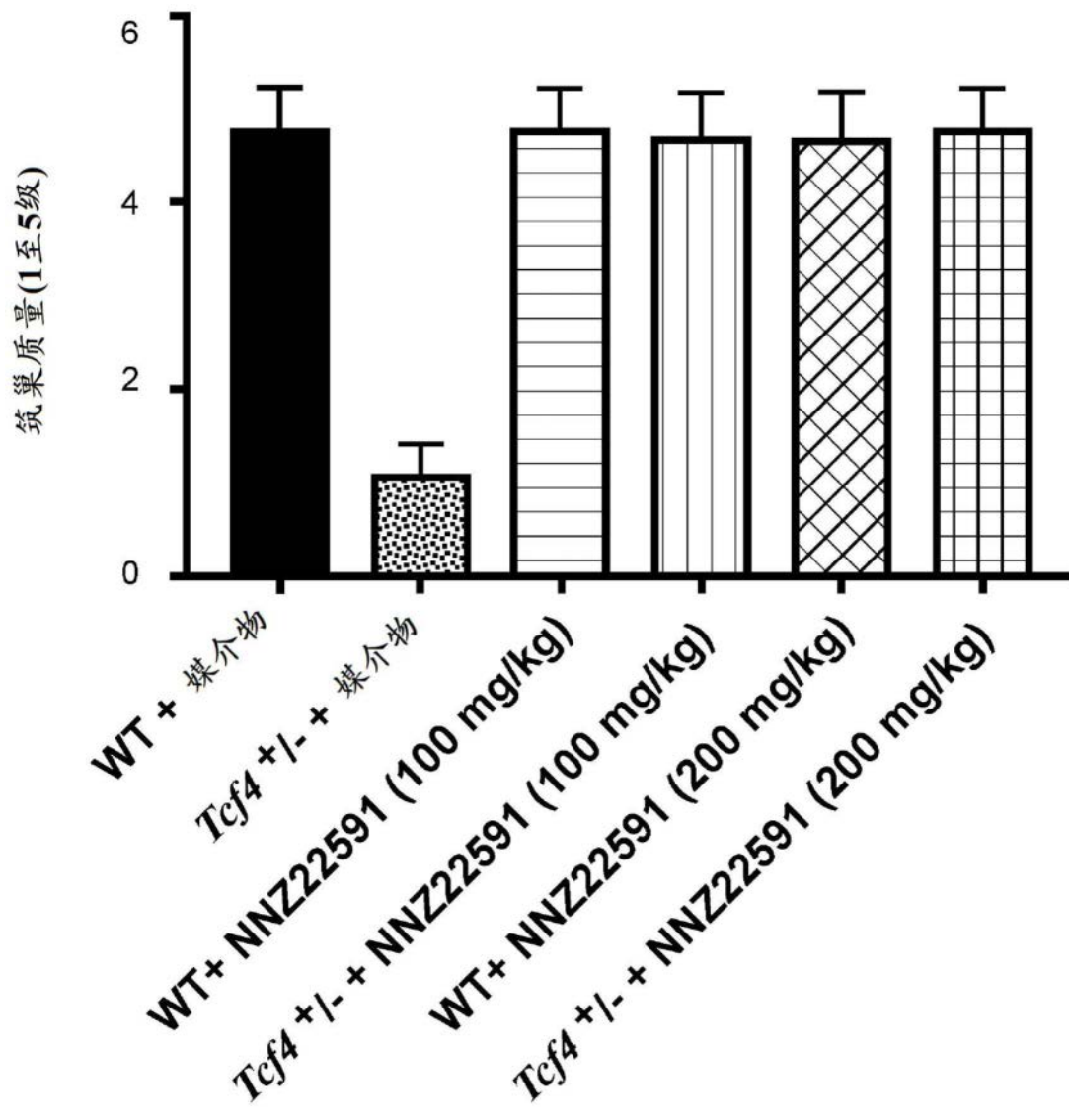


图6

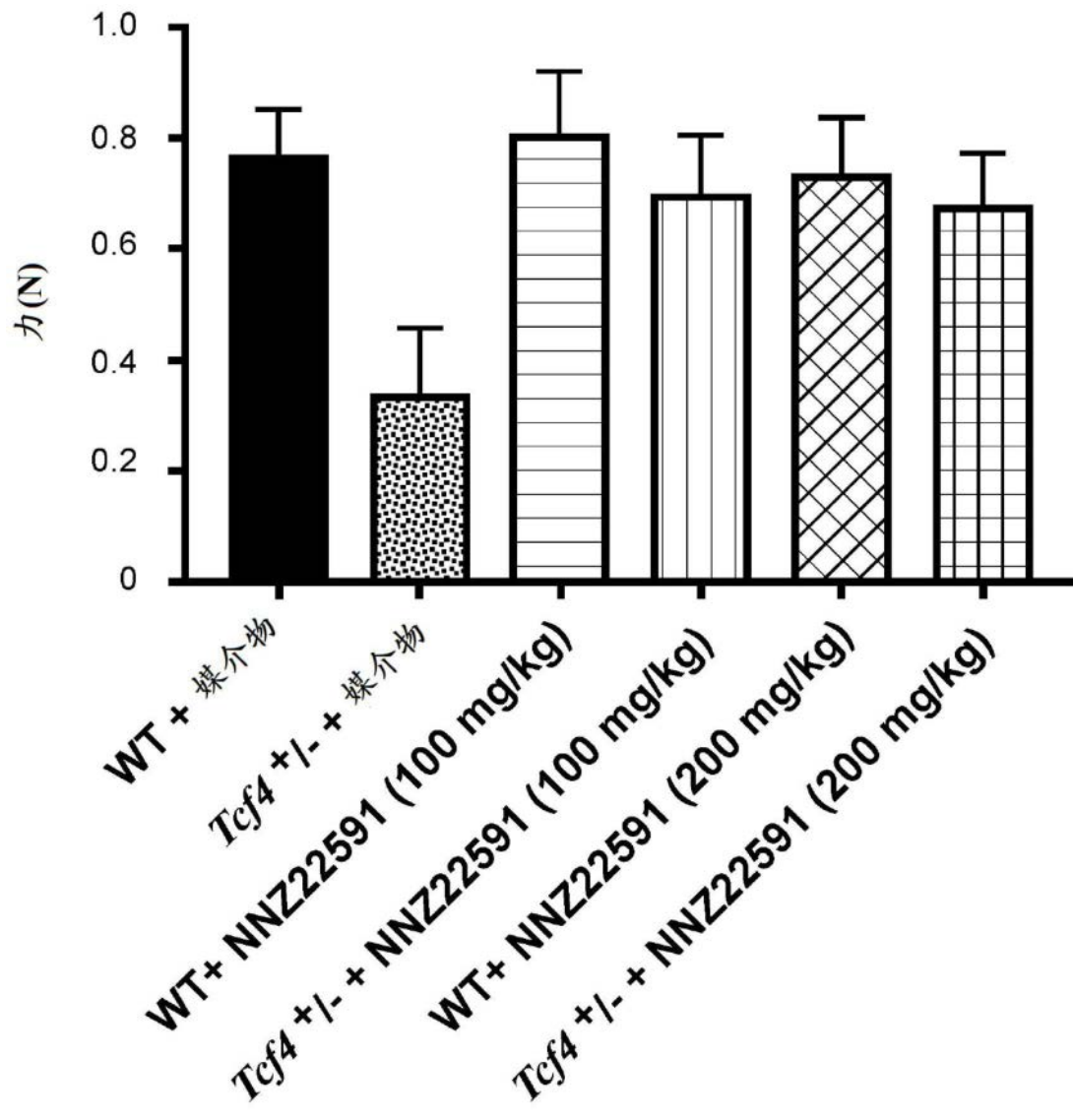


图7