

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291235 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.08.23(51) Int. Cl. A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01)
A61K 31/423 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2020.04.24

(54) БИЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ СИНДРОМА ПИТТА-ХОПКИНСА

(31) 62/924,452

(32) 2019.10.22

(33) US

(86) PCT/US2020/029739

(87) WO 2021/080646 2021.04.29

(71) Заявитель:
НЕЙРЕН ФАРМАСЬЮТИКАЛС
ЛИМИТЕД (NZ)

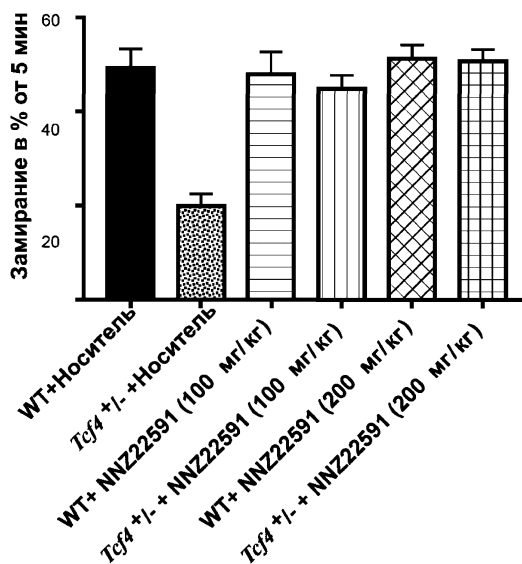
(72) Изобретатель:

Кограм Патрисия (GB), Пилчер
Джонатан (AU), Гласс Лоуренс Ирвин
(US)

(74) Представитель:

Абильманова К.С. (KZ)

(57) Варианты осуществления настоящего изобретения обеспечивают соединения, композиции, способы и применение терапевтических дикетопиперазинов, включая циклический G-2-аллилпролин и другие соединения циклического глицилпролина, для лечения синдрома Питта-Хопкинса и его симптомов, а также для производства композиций, лекарственных средств, включая таблетки, капсулы, жидкие составы, гели, растворы для инъекций и другие составы, пригодные для лечения таких состояний.



A1

202291235

202291235

A1

БИЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ СИНДРОМА ПИТТА-ХОПКИНСА

5 ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

По данной международной патентной заявке РСТ испрашивается приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/924,452, поданной 22 октября 2019 г., и относящейся к бициклическим соединениям, структурно родственными дикетопиперазинам, и способам их терапевтического применения при
10 лечении синдрома Питта-Хопкинса. Например, это изобретение относится к применению циклического глицилпролина ("cGP") и его аналогов, включая циклический глицил-2-аллилпролин ("циклический G-2-AllylP" или "cG-2-AllylP"), циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные соединения и их фармацевтические композиции при лечении синдрома
15 Питта-Хопкинса (СПХ). Предварительная патентная заявка полностью включена в данное описание посредством ссылки.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Синдром Питта-Хопкинса (СПХ) – это редкое генетическое заболевание,
20 вызванное гетерозиготной гипоморфной или нулевой мутацией, или делецией гена фактора транскрипции 4 (*TCF4*) на хромосоме 18q21.1 человека (Sweatt, 2013). Гаплонедостаточность *TCF4* была предложена в качестве основного механизма СПХ. *TCF4* кодирует основной фактор транскрипции спираль-петля-спираль (bHLH), который, как известно, гетеродимеризуется с несколькими другими факторами
25 транскрипции bHLH, которые играют важную роль в нейрогенезе и миграции нейронов в головном мозге.

В настоящее время не существует лекарства или лечения, специально предназначенного для СПХ.

30 Клиническая картина

Синдром Питта-Хопкинса (СПХ) характеризуется значительной задержкой развития с умеренной или тяжелой умственной отсталостью и поведенческими изменениями, характерными чертами лица и эпизодической гипервентиляцией и/или

задержкой дыхания в состоянии бодрствования. Речь значительно замедлена, и большинство пациентов невербальны, а рецептивная речь часто сильнее экспрессивной. Другими распространенными симптомами являются симптомы расстройства аутистического спектра, нарушение сна, стереотипные движения рук, судороги, запоры и близорукость тяжелой степени (Sweetser et al, 2012).

Официальных исследований распространенности не проводилось, поэтому реальная распространенность СПХ не установлена. Rosenfeld et al (2009) оценили частоту делеций хромосомы 18q21, связанных с СПХ, в диапазоне от 1:34.000 до 1:41.000. Sweetser et al (2012) отмечают, что, если делеции обнаруживаются примерно у одной трети людей с СПХ, частота такого состояния может достигать 1:11.000. Согласно приведенному выше диапазону оценок распространенности, если население США в настоящее время составляет не менее 327.167.434 человек (перепись населения США от 2018 г.), то от 8000 до 30.000 граждан США могут страдать от СПХ.

Синдром Питта-Хопкинса поражает как мужчин, так и женщин, и может поражать людей любого этнического или расового происхождения. Приблизительно 1000 страдающих лиц были зарегистрированы в реестре пациентов Фонда Питта-Хопкинса.

Синдром Питта-Хопкинса является серьезно ограничивающим расстройством, при котором больные люди редко достигают функциональной способности заботиться о себе, защищать себя от вреда, устанавливать нормальные взрослые отношения или добиваться оплачиваемой работы. Такая тяжелая инвалидность приводит к значительным затратам на медицинскую помощь и поддерживающую терапию. Данное состояние также связано со сложным поведением, которое вызывает острый и хронический стресс у лиц, осуществляющих уход. Одобренные лекарственные препараты, показанные для лечения СПХ, отсутствуют.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Нами была обнаружена новая проблема в данной области, а именно, как эффективно лечить синдром Питта-Хопкинса. С этой целью мы изучили эффекты некоторых аналогов дикетопиперазинов на животной модели синдрома Питта-Хопкинса (СПХ). Мышей с мутациями гена *tcf4* (*TCF4*) и мышей без мутации изучали в рамках контролируемого клинического исследования. Поскольку мыши с мутацией гена *tcf4* проявляют признаки СПХ, исследования эффектов дикетопиперазинов, cG-2-

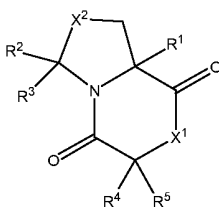
AllylP, циклического циклогексил-G-2-MeP, циклического циклопентил-G-2-MeP и родственных циклических пиперидинов позволяют прогнозировать их влияние на человека с СПХ.

Таким образом, мы лечим пациентов с СПХ с помощью сG-2-AllylP, циклического циклогексил-G-2-MeP, циклического циклопентил-G-2-MeP или родственных циклических пиперидинов, чтобы обойти дефицит *TCF4*, имитируя естественное действие сGP, восстанавливая аномальную морфологию дендритных клеток и стимулируя синтез белка в возбуждающих синапсах посредством, но не обязательно исключительно посредством, следующих механизмов:

1. Снижение нейровоспаления и патологической активации глии ;
2. Нормализация экспрессии и активации АКТ перед mTOR в пути PI3K-АКТ-mTOR;
3. Нормализация экспрессии и активации ERK в сигнальном пути MAPK-ERK; и/или
4. Восстановление нормальных уровней и/или биодоступности IGF-1 .

Как описано ниже, пероральное введение сG-2-AllylP в течение 6 недель может восстановить фенотип мышинной модели СПХ с нокаутированным геном *Tcf4*^{+/-}, не оказывая влияния на контрольных мышей дикого типа.

Циклический GP представляет собой сG-2-AllylP и родственные соединения, представленные формулой 1.



Формула 1

В некоторых аспектах, соединения формулы 1 включают заместители, где:
X¹ выбирают из группы, состоящей из NR', O и S;
X² выбирают из группы, состоящей из CH₂, NR', O и S;
R¹, R², R³, R⁴ и R⁵ независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила,

алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила; или R⁴ и R⁵, взятые вместе, представляют собой CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6; или R² и R³, взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6; при условии, что когда R¹ = метил и R² = R³ = R⁴ = H, то R⁵ ≠ бензил и; когда R¹ = H, по меньшей мере один из R² и R³ ≠ H.

В дополнительных аспектах данное изобретение относится к соединению формулы 1 или его фармацевтически приемлемой соли, стереоизомеру или гидрату, где R¹ = аллил, R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H, X¹ = NH, X² = CH₂ (циклический глицил-2-аллилпролин).

В других аспектах данное изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим фармацевтически приемлемый эксципиент и терапевтически эффективное количество циклического G-2-AllylP.

В дополнительных аспектах данное изобретение обеспечивает способы лечения животного с когнитивными нарушениями, включающие введение этому животному эффективного количества композиции, содержащей циклический G-2-AllylP. В еще других аспектах изобретения животным, подлежащим лечению, является человек.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Данное раскрытие сущности изобретения описано со ссылкой на его конкретные варианты осуществления. Другие аспекты данного изобретения можно оценить со ссылкой на чертежи, на которых:

ФИГ. 1 изображает химическую структуру cG-2-AllylP.

ФИГ. 2 представляет собой график, показывающий результаты клинического исследования "в открытом поле" эффектов cG-2-AllylP или носителя у мышей, имеющих мутацию *tcf4*^{+/-}, на гипоактивность (пройденное расстояние) по сравнению с мышами дикого типа.

ФИГ. 3 представляет собой график, показывающий результаты исследований эффектов cG-2-AllylP или носителя у мышей, имеющих мутацию *tcf4*^{+/-}, на

повторяющееся поведение (время, затрачиваемое на уход за собой) по сравнению с мышами дикого типа.

ФИГ. 4 представляет собой график, показывающий результаты исследований воздействия эффектов сG-2-AllylP или носителя у мышей, имеющих мутацию *tcf4*^{+/-}, на формирование рефлекса страха (временное замирание на месте) по сравнению с мышами дикого типа.

ФИГ. 5 представляет собой график, показывающий результаты исследований воздействия эффектов сG-2-AllylP или носителя у мышей, имеющих мутацию *tcf4*^{+/-}, на коммуникабельность (время, проведенное с новой мышью) по сравнению с мышами дикого типа.

ФИГ. 6 представляет собой график, показывающий результаты исследований воздействия эффектов сG-2-AllylP или носителя у мышей, имеющих мутацию *tcf4*^{+/-}, на повседневную жизнь (строительство гнезда) по сравнению с мышами дикого типа.

ФИГ. 7 представляет собой график, показывающий результаты исследований воздействия эффектов сG-2-AllylP или носителя у мышей, имеющих мутацию *tcf4*^{+/-}, на двигательную активность (сила задних конечностей) по сравнению с мышами дикого типа.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

"Алкенил" относится к ненасыщенному разветвленному, прямоцепочечному или циклическому углеводородному радикалу, имеющему по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь. Радикал может находиться либо в цис-, либо в транс -конформации относительно двойной связи (связей). Примеры алкенильных групп включают аллил, этенил, пропенил, изопропенил, бутенил, изобутенил, циклопентенил и т.п. В некоторых вариантах осуществления алкенильные группы представляют собой (C₂ -C₆) алкенил, а в других вариантах осуществления особенно полезным может быть аллил.

"Алкил" относится к насыщенному разветвленному, прямоцепочечному или циклическому углеводородному радикалу. Примеры алкильных групп включают метил, этил, изопропил, циклопропил, трет -бутил, циклопропилметил, гексил и т.п. В некоторых вариантах осуществления алкильные группы представляют собой (C₁ -C₆) алкил.

"Алкинил" относится к ненасыщенному разветвленному, прямоцепочечному или циклическому углеводородному радикалу, имеющему по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Примеры алкинильных групп включают этинил, пропинил, бутинил, изобутинил и т.п. В некоторых вариантах осуществления алкинильная группа представляет собой (C₂-C₆) алкинил.

"Арил" относится к ненасыщенному циклическому углеводородному радикалу с сопряженной системой π-электронов. Примеры арильных групп включают фенил, нафтил и т.п. В некоторых вариантах осуществления арильная группа представляет собой (C₅-C₂₀) арил.

"Арилалкил" относится к алкильной, алкенильной или алкинильной группе с прямой цепью, в которой один из атомов водорода, связанных с концевым атомом углерода, заменен арильной группой. Примеры арилалкильных групп включают бензил, нафтилметил, бензилиден и т.п.

"Когнитивные нарушения" и "когнитивная дисфункция" означают один или несколько признаков или симптомов потери памяти, потери пространственной ориентации, снижения способности к обучению, снижения способности формировать кратковременную или долговременную память, снижения эпизодической памяти, снижения способности к консолидации памяти, снижения пространственной памяти, снижения рецептивной речи и/или коммуникации, снижения экспрессивной речи и/или коммуникации, снижения синаптогенеза, снижения синаптической стабильности, дефицита исполнительской функции, дефицита когнитивного картирования и памяти сцен, дефицита декларативной и реляционной памяти, снижения быстрого приобретения конфигуральных или конъюнктивных ассоциаций, снижения контекстно-специфического кодирования и извлечения определенных событий, снижения эпизодической и/или событийной памяти, тревожности, патологического условно-рефлекторного замирания, аномального социального поведения, повторяющегося поведения, ограничительного поведения, аномального поведения во время сна, агрессивного поведения, самоповреждающего поведения, стереотипных движений рук, приступов ярости, судорожной активности, аномальной локомоции, аномальной экспрессии или активации ERK1/2 или Akt и брадикардии.

"Содержащий" и "содержит" означает включение перечисленных элементов, но не ограничиваясь ими.

"Состоящий из" означает включение перечисленных элементов и никаких других.

"Состоящий в основном из" означает включение перечисленных элементов и их эквивалентов.

5 "Фактор роста" относится к внеклеточно активному полипептиду, который стимулирует рост или пролиферацию клетки путем взаимодействия с рецептором на клетке.

"Гетероалкил" относится к алкильному фрагменту, в котором один или несколько атомов углерода заменены другим атомом, таким как N, P, O, S и т.п.

10 Примеры гетероалкильных групп включают пирролидин, морфолин, пиперидин, пиперазин, имидазолидин, пиразолидин, тетрагидрофуран, (C₁-C₁₀) замещенные амины, (C₂ - C₆) тиоэфиры и т.п.

"Гетероарил" относится к арильному фрагменту, в котором один или несколько атомов углерода заменены другим атомом, таким как N, P, O, S и т.п. Примеры
15 гетероарильных групп включают карбазол, фуран, имидазол, индазол, индол, изохинолин, пурин, пиазин, пиразол, пиридазин, пиридин, пиррол, тиазол, тиофен, триазол и т.п.

"Фармацевтически приемлемый эксципиент" относится к эксципиенту, который можно использовать при приготовлении фармацевтической композиции, которая в целом безопасна, нетоксична и желательна, и включает эксципиенты,
20 которые приемлемы для применения в ветеринарии, а также для фармацевтического применения у человека. Такие эксципиенты могут быть твердыми, жидкими, полутвердыми или, в случае аэрозольной композиции, газообразными.

"Фармацевтически приемлемая соль" относится к соли, которая является
25 фармацевтически приемлемой и обладает желаемыми фармакологическими свойствами. Такие соли включают соли, которые могут образовываться, когда кислые протоны, присутствующие в соединениях, способны реагировать с неорганическими или органическими основаниями. Подходящие неорганические соли включают соли, образованные со щелочными металлами, например, натрием и калием, магнием,
30 кальцием и алюминием. Подходящие органические соли включают соли, образованные с органическими основаниями, такими как аминовые основания, например, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, трометамин, N-метилглюкамин и т.п. Такие соли также включают кислотно-аддитивные соли, образованные

неорганическими кислотами (например, хлористоводородной и бромистоводородной кислотами) и органическими кислотами (например, уксусной кислотой, лимонной кислотой, малеиновой кислотой, алкан- и аренсульфокислотами, такими как метансульфокислота и бензолсульфокислота). Когда присутствуют две кислотные группы, фармацевтически приемлемая соль может представлять собой моносоли одноосновной кислоты или соли двухосновной кислоты; и аналогичным образом, когда присутствует более двух кислотных групп, некоторые или все такие группы могут присутствовать в виде солей.

"Защитная группа" имеет значение, обычно связанное с ней в органическом синтезе, т.е. группа, которая селективно блокирует один или несколько реакционноспособных участков в многофункциональном соединении, так что химическая реакция может быть проведена селективно на другом незащищенном реакционноспособном участке, и такая группа, может быть легко удалена после завершения селективной реакции.

"Стереоизомер" представляет собой молекулу, имеющую структуру циклического G-2-аллилпролина, но имеющую хиральный центр. Термин "циклический G-2-аллилпролин" включает все стереоизомеры.

"Замещенный" означает, что один или несколько атомов водорода в алкильном, гетероалкильном, алкенильном, алкинильном, арильном, гетероарильном или арилалкильном радикале независимо заменены другим заместителем. Заместители включают -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', тригалогенметил и галоген, где каждый R' независимо представляет собой -H, алкил, гетероалкил, алкенил, алкинил, арил, арилалкил, гетероарил или гетероарилалкил.

"Симптом" или "симптомы" означает одно или несколько когнитивных нарушений или когнитивных дисфункций, один или несколько признаков или симптомов потери памяти, потери пространственной ориентации, снижения способности к обучению, снижения способности формировать кратковременную или долговременную память, снижения эпизодической памяти, снижения способности к консолидации памяти, снижения пространственной памяти, снижения рецептивной речи и/или коммуникации, снижения экспрессивной речи и/или коммуникации, снижения синаптогенеза, снижения синаптической стабильности, дефицита исполнительной функции, дефицита когнитивного картирования и памяти сцен,

дефицита декларативной и реляционной памяти, снижения быстрого приобретения конфигуральных или конъюнктивных ассоциаций, снижения контекстно-специфического кодирования и извлечения определенных событий, снижения эпизодической и/или событийной памяти, тревожности, патологического условно-рефлекторного замирания, аномального социального поведения, повторяющегося поведения, ограничительного поведения, аномального поведения во время сна, агрессивного поведения, самоповреждающего поведения, стереотипных движений рук, приступов ярости, судорожной активности, аномальной локомоции, аномальной экспрессии или активации ERK1/2 или Akt и брадикардии

10 "Терапевтически эффективное количество" означает количество, которое при введении животному для лечения заболевания является достаточным для осуществления лечения заболевания. "Терапевтически эффективное количество" означает количество, которое снижает неблагоприятные симптомы или проявления, способствует желаемым симптомам или проявлениям и/или лечит лежащее в основе
15 расстройство, и/или является целебным.

"Терапия" или "лечение" заболевания включает профилактику, что означает подавление симптома заболевания у животного, которое может быть предрасположено к заболеванию, но еще не испытывает или не проявляет симптомов заболевания, угнетение заболевания (замедление или прекращение его развития), обеспечивающее
20 облегчение симптомов или побочных эффектов заболевания (включая паллиативное лечение) и облегчение заболевания (вызывающее регрессию заболевания). Лечение не включает коррекцию генетических аномалий синдрома Питта-Хопкинса.

Неявные атомы водорода (такие как атомы водорода в пиррольном кольце и т.п.) опущены в формулах для ясности, но следует понимать, что они присутствуют.

25 "ATF3" означает активирующий транскрипционный фактор 3.

"IL1-бета" означает интерлейкин-1-бета.

"IL-6" означает интерлейкин-6.

"BDNF" означает нейротропный фактор головного мозга.

"Cdh2" означает кадгерин-2.

30 "Cebpb" означает ССАТ/ энхансер - связывающий белок-бета.

"Crem" означает связывание элемента ответа циклического АМР.

"Egr1" означает белок 1 раннего ответа роста.

"Gria 4" означает ионотропный рецептор глутамата АМРА 4.

"Grm5" означает метаботропный рецептор глутамата 5.

"Mapk 1" означает митоген-активированную протеинкиназу 1.

"Nr4a1" означает член 1 группы А подсемейства 4 ядерных рецепторов, также известный как фактор роста нервов IB.

5 "Ntf3" означает нейротрофин 3.

"Ntf4" означает нейротрофин 4.

"Pcdh8" означает протокадгерин-8.

"Plm1" означает белок утечки пре-мРНК 1.

"Ppp3ca" означает протеинфосфатазу 3, каталитическую субъединицу, альфа.

10 "Tnf" означает фактор некроза опухоли.

СПХ означает синдром Питта-Хопкинса.

"сG-2-AllylP", "циклический глицил-2-аллилP", "NNZ2591" и "NNZ-2591" означают (8aS)-аллил-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-1,4-дион.

15 "Циклический циклогексил-G-2-MeP" означает (8aS)-метил-спиро[циклогексан-1,3(4H)-тетрагидропирроло[1,2-а]пиразин]-1,4(2H)-дион.

"Циклический циклопентил-G-2-MeP" означает (8aS)-метил-спиро[циклопентан-1,3(4H)-тетрагидропирроло[1,2-а]пиразин]-1,4(2H)-дион.

"*tcf4*" и "*TCF4*" относятся к гену, связанному с СПХ.

"*tcf4*^{+/-}" означает гетерозиготную мутацию гена *TCF4*, связанную с СПХ.

20 *Tcf4*^{+/+} означает *TCF4* дикого типа.

Генетические аномалии при синдроме Питта-Хопкинса

Нарушение структуры и функции синапсов является фундаментальным признаком СПХ. *TCF4* представляет собой фактор транскрипции, который регулирует
25 нейрогенез и миграцию нейронов в головном мозге. У человека потеря функции гена *TCF4* приводит к редкому нарушению развития нервной системы, СПХ, который характеризуется умственной отсталостью, задержкой развития и аутичным поведением. *TCF4* сильно экспрессируется во время эмбрионального и раннего постнатального развития (de Pontual et al, 2009) и имеет особенно высокую экспрессию
30 в гиппокампе (Brzózka et al, 2010; Sepp et al, 2011; Navarrete et al, 2013). Данный ген также экспрессируется в мозге, лимфоцитах, фибробластах, кишечнике, мышцах и межмышечном сплетении у взрослых (Pscherer et al, 1996; Amiel et al, 2007; Brockschmidt et al, 2007; de Pontual et al, 2009). Недавние когнитивные и

визуализирующие исследования также показали, что *TCF4* важен для нормальной функции мозга (Blake et al, 2010; Navarrete et al, 2013).

Делеции и мутации гена *TCF4* нарушают способность соответствующего белка контролировать нисходящую активность генов, связанных с развитием и функционированием нервной системы (Sweatt, 2013). В частности, исследования показали, что *TCF4* взаимодействует с потенциально большим репертуаром транскрипционных факторов, включая продукты пронеуральных генов, таких как *ASCL1*, *ATOH1* и *NEUROD1*, для регуляции нейрогенеза, клеточной дифференцировки, клеточной сигнализации и выживания в развивающемся мозге (Flora et al. al, 2007; Blake et al, 2010; Brzózka et al, 2010; Bertrand et al, 2002; Forrest et al, 2013).

Работа Cux et al. (2018) над последствиями функциональной потери *TCF4* на дендритных шипиках в зрелых нейронах показала как при гомо-, так и при гетерозиготной потере *TCF4*, уменьшение количества дендритных шипиков и изменения их морфологии. Эта работа показала, что *TCF4* играет важную роль в синаптической пластичности в зрелых нейронах, независимо от его функции развития, и функциональная потеря *TCF4* может способствовать неврологическим симптомам при СПХ.

Изменения в *TCF4* также, по-видимому, изменяют экспрессию генов компонентов сигнальных путей IGF, в частности, подавляют регуляцию генов, кодирующих IGF-связывающие белки 3, 4 и 5 (Forrest et al, 2013). Сообщалось, что циклический глицин-пролин регулирует связывание IGF-1 с IGF-связывающим белком 3 в головном мозге и, как следствие, регулирует биодоступность IGF-1 (Guan et al, 2014). Этот механизм саморегуляции поддерживает гомеостаз IGF-1, увеличивая биодоступность при дефиците IGF-1 и снижая биодоступность при избыточных уровнях IGF-1. Как cGP, так и cG-2-AllylP, также ингибируют нейровоспаление, которое является частью патологии, лежащей в основе СПХ, и способствует сверхактивации микроглии, что имеет решающее значение для развития и поддержания синапсов. В многочисленных животных моделях нарушений развития нервной системы cG-2-AllylP нормализует фенотип микроглии, что способствует восстановлению синаптической функции и морфологии.

Клинические инструменты для оценки синдрома Питта-Хопкинса

Синдром Питта-Хопкинса можно оценить с помощью одного или нескольких клинических тестов, например, Aberrant Behavior Checklist Community Edition (ABC) (Опросник для оценки аберрантного поведения издание Сообщества), Aberrant Behavior Checklist (Stereotypy), Vinelands (Опросник для оценки аберрантного поведения (стереотипия), шкала Вайнленда), Clinical Global Impression of Severity (CGI-S) (Шкала оценки общего клинического впечатления о тяжести), Caregiver Strain Questionnaire (CSQ) (Опросник для оценки напряжения лица, осуществляющего уход), Children's Yale-Brown OC Scale (CYBOCS-PDD) (Шкала оценки симптомов 5 обсессивно-компульсивного расстройства у детей), Child Autism Rating Scale (Шкала оценки детского аутизма), Interview of Repetitive Behaviors (Опросник для оценки повторяющегося поведения), Nisonger Child Behavior Rating Scale (Шкала оценки детского поведения Нисонгера), Pervasive Developmental Disorder Behavior Inventory (Опросник для оценки первазивного расстройства развития), Stereotyped Behavior 10 Scale (Шкала оценки стереотипного поведения), Repetitive Behavior Scale (Шкала оценки повторяющегося поведения), Rossago Scale (Шкала Россаго), Repetitive Behavior Questionnaire (Опросник для оценки повторяющегося поведения), PedQL™ Measurement Model (модель измерения PedQL™) и Stereotyped Behavior Scale (Шкала оценки стереотипного поведения), или с помощью одного или несколько 15 физиологических тестов, выбранных из группы, состоящей из частоты спайков электроэнцефалограммы (ЭЭГ), общей мощности в частотных диапазонах ЭЭГ, движения руки, интервала QTc и вариабельности сердечного ритма (BCR), и нарушения дыхания по сравнению с контрольными животными, не страдающими 20 указанным расстройством.

Тревожность можно оценить с помощью одного или нескольких показателей, включая Anxiety, Depression and Mood Scale (ADAMS) (Шкала оценки тревожности, депрессии и настроения), Child and Adolescent Symptom Inventory (CASI) (Опросник 25 для оценки симптомов у детей и подростков), Child Behavior Checklist (CBCL) (Опросник для оценки поведения ребенка), Multidimensional Anxiety Scale for Children 30 (MASC) (Многомерная шкала оценки тревожности у детей), Pediatric Autism Rating Scale (PARS) (Шкала оценки детского аутизма), Revised Child Anxiety and Depression Scale (RCAD) (Модифицированная шкала оценки детской тревожности и депрессии), Screen for Child Anxiety Related Disorders (SCARED) (Скрининг расстройств,

связанных с детской тревожностью), Nisonger Child Behavior Rating Form (Форма оценки поведения ребенка Нисонгера) и Anxiety Diagnostic Interview Scale (ADIS) (Опросная шкала диагностики тревожности).

Социальную коммуникацию можно оценить с помощью клинических инструментов, например, ABAS-II Domain scores (Шкала системы оценки адаптивного поведения ABAS-II), Aberrant Behavior Checklist (ABC)-Lethargy/Social Withdrawal (Опросник для оценки аберрантного поведения – летаргия / социальное отчуждение), ADI-R (Опросник для диагностики аутизма - пересмотренный), Autism Diagnostic Observation Scale-Generic (ADOS-G)-new severity scores (Универсальная шкала наблюдения для диагностики аутизма – новая шкала оценки тяжести), Autism Impact Measure (Оценка влияния аутизма), Autism Spectrum Rating Scales (Шкала оценки расстройств аутистического спектра), Autism Treatment Evaluation Checklist (ATEC) (Опросник для оценки эффективности лечения аутизма), Ball Toss Game (Игра с бросанием мяча), Behavior Assessment Scale (BAS) (Шкала оценки поведения), Behavior Assessment System for Children 2nd Edition BASC-2 (subscales relevant to social) (Система оценки поведения детей, 2-е издание BASC-2 (подшкалы, относящиеся к социальной компетентности), Behavior Rating Inventory of Executive Function (Поведенческий опросник по оценке управляющих функций), California Verbal Learning Task-Children's Version (VLT-C) and Modified VLT-C (MVLT-C) (Калифорнийский тест на слухоречевую память - версия для детей (VLT-C) и модифицированная версия VLT-C (MVLT-C)), Caregiver-Child Interaction, Jahromi 2009, CGI (Опросник для оценки взаимодействия лица, осуществляющего уход, и ребенка, Джахроми, 2009 г.), Childhood Autism Rating Scale (CARS) (Шкала оценки детского аутизма), Children's Social Behavior Questionnaire (Опросник для оценки социального поведения детей), Clinical Evaluation of Language Fundamentals (CELF-3 and 4)-Pragmatics Profile (Клиническая оценка основных языковых навыков (CELF-3 и 4) - профиль прагматики), Communication and Symbolic Behavior Scales (CSBS) (Шкала коммуникации и символического поведения), Comprehension of Affective Speech Task (Задание на понимание аффективной речи), General Trust Scale (Шкала общего доверия), Gilliam Autism Rating Scale (GARS) (Шкала оценки аутизма Гиллиама), Joint Attention Measure from the ESCS (JAMES) (Оценка совместного внимания от ESCS (ДЖЕЙМС)), Let's Face It!, Observational Assessment of Spontaneous Expressive Language (OSEL) (Посмотрим правде в глаза!, Наблюдательная оценка спонтанной

экспрессивной речи), Parent Questionnaire, Nagaraj et al. 2006 (Анкета для родителей, Nagaraj et al. 2006 г.), Parent's Rating Questionnaire, Chan et al, 2009 (Анкета для оценки родителей, Chan et al, 2009), Pervasive Developmental Disorder Behavior Inventory (PDD-BI) (Short version available: PDD-BI-Screening Version) (Опросник для оценки

5 первазивного расстройства развития (доступна краткая версия: скрининг PDD-BI), Reading the Mind in Films-Adult, Reading the Mind in Films-Child, Reading the Mind in the Eyes Task-Revised (RMET-R)-Adult, Reading the Mind in the Eyes Task-Revised (RMET-R)-Child, Reading the Mind in Voice-Adult (Чтение психического состояния по

фильмам – тест для взрослых, Чтение психического состояния по фильмам – тест для

10 детей, Чтение психического состояния по взгляду, пересмотренный тест (RMET-R) – для взрослых, Чтение психического состояния по взгляду, пересмотренный тест (RMET-R) – для детей, Чтение психического состояния по голосу – тест для взрослых),

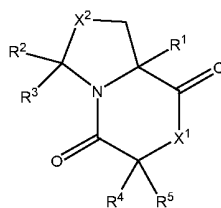
Social Communication Questionnaire (SCQ) (Опросник по оценке социальной коммуникации), Social Responsiveness Scale (Шкала социальной отзывчивости), Social

15 Skills Improvement System (SSiS) (Система улучшения социальных навыков), Theory of Mind Test (Тест на построение модели психического состояния другого человека) и VABS-Socialization and Communication (Шкала адаптивного поведения Вайнленда (VABS) - социализация и коммуникация).

20

Соединения изобретения

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают производные циклического глицилпролина ("сGP"), имеющие структуру, описанную ниже.



25

Формула 1

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения формулы 1 содержат заместители, где:

X^1 выбирают из группы, состоящей из NR' , O и S;

30 X^2 выбирают из группы, состоящей из CH_2 , NR' , O и S;

R^1, R^2, R^3, R^4 и R^5 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

или R^2 и R^3 , взятые вместе, представляют собой $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

при условии, что когда $R^1 = \text{метил}$ и $R^2=R^3=R^4=\text{H}$, то $R^5 \neq \text{бензил}$ и;

когда $R^1 = \text{H}$, по меньшей мере один из R^2 и $R^3 \neq \text{H}$.

[0150] В дополнительных вариантах осуществления изобретения соединения формулы 1 включают заместители, где:

$R^1=\text{метил}$, $R^2=R^3=R^4=R^5=\text{H}$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$;

$R^1=\text{аллил}$, $R^2=R^3=R^4=R^5=\text{H}$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$;

$R^1=R^2=R^3=\text{H}$, $R^4=R^5=\text{метил}$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$;

$R^1=R^4=R^5=\text{H}$, $R^2=R^3=\text{метил}$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$.

В других вариантах осуществления изобретения соединения формулы 1 включают заместители где;

R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-$ и:

$R^1=\text{метил}$, $R^2=R^3=\text{H}$, $n=0$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$;

$R^1=\text{метил}$, $R^2=R^3=\text{H}$, $n=2$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$;

$R^1=\text{аллил}$, $R^2=R^3=\text{H}$, $n=0$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$;

$R^1=\text{аллил}$, $R^2=R^3=\text{H}$, $n=2$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$.

$R^1=\text{метил}$, $R^2=R^3=\text{H}$, $n=3$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$;

$R^1=\text{аллил}$, $R^2=R^3=\text{H}$, $n=3$, $X^1=\text{NH}$, $X^2=\text{CH}_2$.

В других вариантах осуществления изобретения соединения формулы 1 включают заместители, где $R^1=\text{метил}$ или аллил, $R^2=R^3=R^4=\text{H}$ и R^5 выбирают из группы, состоящей из боковых цепей аминокислот: аланина, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, цистеина, глутаминовой кислоты, глутамина, гистидина,

изолейцина, лейцина, лизина, метионина, пролина, серина, треонина, триптофана, тирозина, валина, норвалина, норлейцина, цитрулина, орнитина, гомоцистеина, гомосерина, аллоизолейцина, изовалина, саркозина и т.п.

В дополнительных вариантах осуществления изобретения соединения формулы 1 включают заместители, где:

R^1 =метил, $R^2=R^3$ =метил, $R^4=R^5=H$, $X^1=NH$ и $X^2=S$;

R^1 =аллил, $R^2=R^3$ =метил, $R^4=R^5=H$, $X^1=NH$ и $X^2=S$.

Специалистам в данной области техники понятно, что указанные выше структурные представления могут содержать хиральные центры, количество которых будет зависеть от различных заместителей. Хиральность может быть либо R, либо S в каждом центре. Структурные чертежи могут представлять только одну из возможных таутомерных, конформационных диастереомерных или энантиомерных форм, и следует понимать, что изобретение охватывает любую таутомерную, конформационно-изомерную диастереомерную или энантиомерную форму, которая проявляет биологическую или фармакологическую активность, как описано здесь.

Фармакология и полезность

Циклический глицил-2-аллилпролин (сG-2-AllylP) описан в заявке на патент США № 11/399,974, поданной 7 апреля 2006 г., и озаглавленной "Циклический G-2-аллилпролин в лечении болезни Паркинсона", в настоящее время патент США № 7,776,876, выданный 17 августа 2010 г., в заявке на полезную модель США №: 10/570,395, поданной 2 марта 2006 г., и озаглавленной "Нейропротекторные бициклические соединения и способы их применения", в настоящее время патент США № 8,067,425, в международной патентной заявке PCT №: PCT/US2004/028308, озаглавленной "Нейропротекторные бициклические соединения и способы их применения", в предварительной заявке на патент США № 60/499,956, поданной 3 сентября 2003 г., и озаглавленной "Нейропротекторные бициклические соединения и способы их применения", и заявке на патент США № 13/043,215, поданной 8 марта 2011 г., и озаглавленной "Циклический глицил-2-аллилпролин улучшает когнитивные способности у животных с нарушениями". Каждая из вышеупомянутых патентных заявок и патентов явным образом полностью включена в данное описание посредством ссылки.

Другие агенты можно вводить вместе с соединением согласно данному изобретению. Такие другие агенты могут быть выбраны из группы, состоящей, например, из факторов роста и связанных с ними производных, например, инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), инсулиноподобного фактора роста-II (IGF-II), трипептида GPE, трансформирующего фактора роста- β 1, активина, гормона роста, фактора роста нервной ткани, белка, связывающего гормон роста, и/или белков, связывающих IGF.

Терапевтические применения

Композиции и способы по настоящему изобретению находят применение при лечении животных, таких как пациенты-люди, страдающих когнитивными нарушениями и симптомами, связанными с синдромом Питта-Хопкинса. В еще более широком смысле композиции и способы согласно настоящему изобретению находят применение при лечении млекопитающих, таких как пациенты-люди, страдающих нарушением памяти, умственной отсталостью, нарушением социального взаимодействия, нарушением речи и коммуникации, нарушением двигательной функции, ограниченными и повторяющимися интересами и поведением, аномальным поведением во сне, другими отклонениями в поведении и судорогами.

Фармацевтические композиции и их введение

cG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и родственные циклические пиперидины можно вводить как часть лекарственного средства или фармацевтического препарата. Это может включать объединение соединения согласно изобретению с любым фармацевтически подходящим носителем, адъювантом или эксципиентом. Выбор носителя, адъюванта или эксципиента, конечно, как правило, будет зависеть от используемого пути введения.

В общем, соединения по данному описанию будут вводиться в терапевтически эффективных количествах любым из обычных способов, известных в данной области техники, либо по отдельности, либо в комбинации с другими обычными терапевтическими агентами для лечения заболевания. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в широких пределах в зависимости от заболевания, его тяжести, возраста и относительного состояния здоровья подвергаемого лечению

животного, активности соединения(-й) и других факторов. Терапевтически эффективные количества циклического G-2-AllylP могут составлять от 0,001 до 600 мг на килограмм массы животного, что подходит для введения такими способами, как пероральное, системное (например, чрескожное), скарификация или парентеральное (например, внутривенное) введение. Специалист в данной области техники сможет без ненужных экспериментов, принимая во внимание такую квалификацию и данное описание изобретения, определить терапевтически эффективное количество соединения.

sG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные циклические пиперидины и другие родственные сGP соединения можно вводить периферически *любым* периферическим путем, известным в данной области техники. Они могут включать парентеральные пути, например, инъекцию в периферический кровоток, подкожное, интраорбитальное, офтальмологическое, интраспинальное, интракостальное, местное введение, инфузию (например, с использованием устройств с медленным высвобождением или мининасосов, таких как осмотические насосы или кожные пластыри), имплантацию, аэрозоль, ингаляцию, скарификацию, внутрибрюшинное, внутрикапсульное, внутримышечное, интраназальное, пероральное, трансбуккальное, чрескожное, легочное, ректальное или вагинальное введение. Композиции могут быть составлены для парентерального введения людям или другим млекопитающим в терапевтически эффективных количествах (например, количествах, которые устраняют или уменьшают патологическое состояние пациента) для обеспечения терапии неврологических заболеваний, описанных выше.

Желательно, sG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные циклические пиперидины можно вводить перорально в водном растворе.

Другие удобные пути введения включают подкожную инъекцию (например, растворенную в физиологически совместимом носителе, таком как 0,9% хлорида натрия).

Под "прямо или косвенно через кровоток" мы подразумеваем введение sG-2-AllylP, циклического циклогексил-G-2-MeP, циклического циклопентил-G-2-MeP или родственных циклических пиперидинов в любую ткань, которая имеет кровоток, достаточный для доставки агента в кровоток. Неограничивающие примеры включают

кожу, нос, глотку, желудочно-кишечный тракт или другие подобные ткани. При введении в такую ткань агент абсорбируется тканью, где агент попадает в интерстициальную жидкость ткани, а затем абсорбируется венолами, капиллярами, артериолами или лимфатическими протоками. Затем агент попадает в большой круг кровообращения, где он может быть доставлен в пораженный участок, включая головной мозг. Когда агент вводят подкожно или перитонеально, он абсорбируется соседними тканями, затем агент попадает в кровоток локально, а затем доставляется в большой круг кровообращения, где он может транспортироваться в головной мозг. Когда агент приближается к гематоэнцефалическому барьеру, агент затем может диффундировать в головной мозг, либо в нервную ткань, либо в спинномозговую жидкость, откуда он может быть доставлен в нервные ткани.

Эффективное количество соединения в ЦНС может быть увеличено посредством введения пролекарственной формы соединения, которая включает соединение согласно изобретению и носитель, где носитель соединен с соединением согласно изобретению связью, которая восприимчива к расщеплению или перевариванию внутри пациента. Можно использовать любую подходящую связь, которая будет расщеплена или переварена после введения.

Тем не менее заявители не намерены исключать другие формы введения.

В дополнительных вариантах осуществления изобретения восстановление неврологической функции у животного может включать введение терапевтического количества циклического G-2-AllylP в комбинации с другим агентом, выбранным, например, из факторов роста и связанных с ними производных (инсулиноподобный фактор роста- I (IGF-I), инсулиноподобный фактор роста-II (IGF-II), трансформирующий фактор роста- β 1, активин, гормон роста, фактор роста нервной ткани, белок, связывающий гормон роста, IGF-связывающие белки, IGFBP-3, основной фактор роста фибробластов, кислотный фактор роста фибробластов, продукт гена *hst/Kfgk*, FGF-3, FGF-4, FGF-6, фактор роста кератиноцитов, андроген-индуцированный фактор роста, *int-2*, гомологичный фактор-1 фактора роста фибробластов (FHF-1), FHF-2, FHF-3 и FHF-4, фактор роста кератиноцитов 2, глиально-активирующий фактор, FGF-10, FGF-16, цилиарный нейротрофический фактор, мозговой фактор роста, нейротрофин 3, нейротрофин 4, костный морфогенетический белок 2 (BMP-2), нейротрофический фактор, полученный из линии глиальных клеток, зависящий от активности нейротрофический фактор, цитокиновый фактор,

ингибирующий лейкемию, онкостатин М, интерлейкин), α -интерферон, β -интерферон, γ -интерферон или интерферон консенсуса и TNF- α . Другие формы терапевтических агентов включают клонетиазол; кинуреновую кислоту, Семакс, такролимус, L-трео-1-фенил-2-деcanoиламино-3-морфолино-1-пропанол, аналог адренокортикотропина-(4-9) (ORG 2766), дизолципин (МК-801), селегилин; антагонисты глутамата, NPS1506, GV1505260, МК-801, GV150526; антагонисты АМРА, 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамоилбензо(f)хиноксалин (NBQX), LY303070, LY300164, противовоспалительные агенты, направленные против адресина MAdCAM-1 и/или его рецепторов 4α интегрина ($\alpha 4\beta 1$ и $\alpha 4\beta 7$), антитела MECA-367 против MAdCAM-1 (учетный номер ATCC: HB-9478).

cG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные циклические пиперидины и другие соединения, родственные cGP, подходящим способом вводят с помощью системы замедленного высвобождения. Подходящие примеры композиций с замедленным высвобождением включают полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Матрицы замедленного высвобождения включают полилактиды (патент США № 3,773,919; EP 58,481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (Sidman *et al.*, 1983, *Biopolymers*: 22: 547-56), поли(2-гидроксиэтилметакрилат) (Langer *et al.*, 1981, *J. Biomed. Mater. Res.*: 15: 267), этиленвинилацетат (Langer *et al.*, 1981, *J. Biomed. Mater. Res.*: 15: 267) или поли-D-(-)-3-гидроксимасляная кислота (EP 133,988). Композиции с замедленным высвобождением также включают липосомально захваченное соединение. Липосомы, содержащие соединение, получают широко известными способами: DE 3,218,121, EP 52,322, EP 36,676, EP 88,046, EP 143,949, EP 142,641, заявка на патент Японии № 83-118008, патенты США №№ 4,485,045 и 4,544,545 и EP 102,324. Обычно липосомы представляют собой маленькие (от или около 200 до 800 Ангстрем) однослойные типы, в которых содержание липидов превышает примерно 30 мольных процентов холестерина, при этом выбранная пропорция регулируется для наиболее эффективной терапии.

Для парентерального введения, в одном варианте осуществления, cG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные циклические пиперидины могут быть составлены, как правило, путем смешивания каждого из них до желаемой степени чистоты, в дозированной форме для

инъекций (раствор, суспензия или эмульсия), с фармацевтически или парентерально приемлемым носителем, т.е. носителем, который нетоксичен для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и совместим с другими ингредиентами препарата.

5 Для доставки соединения по настоящему изобретению в слизистую оболочку можно включить соединение в состав геля. После доставки в слизистую оболочку (например, полость рта, желудочно-кишечный тракт, прямую кишку) агент может диффундировать из геля или гель может разлагаться, тем самым высвобождая агент в ткани, где он может всасываться в кровоток. Примеры составов геля могут включать

10 составы, изготовленные с карбоксиполисахаридами, такими как карбоксиметилцеллюлоза, карбоксиэтилцеллюлоза, хитин, хитозан, крахмал, целлюлоза, с белками, такими как гиалуроновая кислота, или другими полимерами, такими как поливинилпирролидин, поливиниловые спирты, а также другие гелевые материалы, известные в данной области техники.

15 Как правило, составы готовят посредством контактирования сG-2-AllylP, циклического циклогексил-G-2-MeP, циклического циклопентил-G-2-MeP и/или родственных циклических пиперидинов с жидкими носителями или тонкоизмельченными твердыми носителями или с обоими. Затем, при необходимости, продукту придается желаемая лекарственная форма. Предпочтительно носитель

20 представляет собой парентеральный носитель, более предпочтительно раствор, изотонический крови реципиента. Примеры таких носителей включают воду, физиологический раствор, раствор Рингера, буферный раствор и раствор декстрозы. Также можно использовать неводные носители, такие как нелетучие масла и этилолеат.

25 Подходящий носитель содержит небольшие количества добавок, таких как вещества, которые повышают изотоничность и химическую стабильность. Такие материалы нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфат, цитрат, сукцинат, уксусная кислота и другие органические кислоты или их соли; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота;

30 низкомолекулярные (менее примерно десяти остатков) полипептиды, например, полиаргинин или трипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; глицин; аминокислоты, такие как глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота,

гистидин или аргинин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая целлюлозу или ее производные, глюкозу, маннозу, трегалозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; противоионы, такие как натрий; 5 неионогенные поверхностно-активные вещества (ПАВ), такие как полисорбаты, полоксамеры или полиэтиленгликоль (ПЭГ); и/или нейтральные соли, например, NaCl, KCl, MgCl₂, CaCl₂ и т.п.

cG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные циклические пиперидины и другие соединения cGP, обычно 10 содержатся в таких носителях при pH от или около 4,5 до 8. Следует понимать, что использование некоторых из вышеупомянутых эксципиентов, носителей или стабилизаторов приведет к образованию солей соединения. Конечный препарат может представлять собой стабильную жидкость или лиофилизированное твердое вещество.

Составы cG-2-AllylP, циклического циклогексил-G-2-MeP, циклического 15 циклопентил-G-2-MeP и/или родственных циклических пиперидинов в фармацевтических композициях также могут включать адъюванты. Типичными адъювантами, которые могут быть включены в таблетки, капсулы и т.п., являются связующие вещества, такие как гуммиарабик, кукурузный крахмал или желатин; наполнитель, такой как микрокристаллическая целлюлоза; разрыхлитель, такой как 20 кукурузный крахмал или альгиновая кислота; смазывающее вещество, такое как стеарат магния; подсластитель, такой как сахароза или лактоза; ароматизатор, такой как перечная мята, грушанка или вишня. Когда лекарственные формы представляют собой таблетки, cG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные циклические пиперидиновые композиции 25 могут включать связующие вещества и, необязательно, гладкое покрытие. Когда лекарственная форма представляет собой капсулу, в дополнение к вышеуказанным материалам она также может содержать жидкий носитель, такой как жирное масло. Другие материалы различных типов могут быть использованы в качестве покрытий или в качестве модификаторов физической формы дозированной единицы. Сироп или 30 эликсир могут содержать активное соединение, подсластитель, такой как сахароза, консерванты, такие как пропилпарабен, краситель и ароматизатор, такой как вишня. Стерильные композиции для инъекций могут быть приготовлены в соответствии с обычной фармацевтической практикой. Например, может быть желательным

растворение или суспензия активного соединения в носителе, таком как вода или встречающееся в природе растительное масло, такое как кунжутное, арахисовое или хлопковое масло, или синтетический жировой носитель, такой как этилолеат или тому подобное. Буферы, консерванты, антиоксиданты и т.п. могут быть включены в соответствии с принятой фармацевтической практикой.

Фармацевтическая композиция, содержащая cG-2-AllylP, циклический циклогексил-G-2-MeP, циклический циклопентил-G-2-MeP и/или родственные циклические пиперидины, обычно хранится в одноразовых или многодозовых контейнерах, например, в запечатанных ампулах или флаконах, в виде водного раствора или в виде лиофилизированной композиции для восстановления. В качестве примера лиофилизированного состава, флаконы объемом 10 мл наполняют 5 мл стерильно отфильтрованного 1% (масса/объем) водного раствора соединения, и полученную смесь лиофилизируют. Раствор готовят путем восстановления лиофилизированного соединения с использованием бактериостатической воды для инъекций. Следует понимать, что могут быть использованы другие лекарственные формы и типы препаратов, и все они считаются частью настоящего описания сущности изобретения.

Получение соединений

Исходные материалы и реагенты, используемые при получении cG-2-AllylP, циклического циклогексил-G-2-MeP, циклического циклопентил-G-2-MeP и/или родственных циклических пиперидинов, можно приобрести у коммерческих поставщиков, таких как Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Wis. (Милуоки, шт. Висконсин)), Bachem (Torrance, Calif. (Торранс, шт. Калифорния)), Sigma (St.Louis, Mo. (Сент-Луис, шт. Миссури)), или получают способами, хорошо известными специалистам в данной области техники, в соответствии со способами, описанными в таких справочниках, как Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, vols 1-17, John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1991; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, vols. 1-5 and supplements, Elsevier Science Publishers, 1989; Organic Reactions, vols. 1-40, John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1991; March J; Advanced Organic Chemistry, 4th ed. John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1992; and Larock: Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, 1989. В большинстве случаев аминокислоты и их сложные эфиры или амиды, а также защищенные аминокислоты,

широко доступны в продаже; и получение модифицированных аминокислот и их амидов или сложных эфиров подробно описано в химической и биохимической литературе и, таким образом, хорошо известно специалистам в данной области техники.

Исходные материалы, промежуточные продукты и конечные продукты согласно данному описанию сущности изобретения могут быть выделены и очищены с использованием обычных способов, включая фильтрацию, дистилляцию, кристаллизацию, хроматографию и тому подобное. Их можно охарактеризовать с использованием обычных способов, включая физические константы и спектральные данные.

Циклический G-2-AllylP представляет собой циклический дипептид (бициклический 2,5-дикетопиперазин) и относится к классу соединений, известных как циклические GP ("cGP"). В общем, cGP и циклический G-2-AllylP могут быть получены такими способами, которые уже хорошо известны специалистам в области синтеза пептидов и модифицированных пептидов, следуя схемам реакций, изложенным в настоящем документе, или следуя другим способам, хорошо известным специалистам в области синтеза пептидов и аналогов. См., например, Bodanzsky: Principles of Peptide Synthesis, Berlin, New York: Springer-Verlag 1993.

Синтез дикетопиперазиновых соединений согласно описанию настоящего изобретения может осуществляться путем жидкофазного синтеза или *способом* твердофазного синтеза, как описано, например, у Merrifield *et al.* 1963 *J. Amer. Chem. Soc.*: 85, 2149-2156. Твердофазный синтез можно проводить с использованием коммерческих синтезаторов пептидов, таких как Applied Biosystems Model 430A, с использованием протоколов, установленных для прибора.

Конкретные примеры синтеза дикетопиперазина можно найти в Fischer, 2003, *J. Peptide Science* : 9: 9-35 и ссылках в данном документе. Специалисту в данной области техники не составит труда, принимая во внимание имеющиеся опыт и знания, а также данное описание, разработать один или несколько подходящих способов синтеза соединений по настоящему изобретению.

Выбор подходящих защитных групп для выбранного способа (твердофазного или жидкофазного) и подходящих субстратов, если используется твердофазный синтез, находится в компетенции специалиста в данной области техники. Подходящие защитные группы для пептидного синтеза включают *трет*-бутилоксикарбонил (Boc),

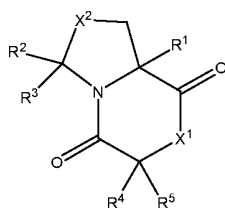
флуоренилметилоксикарбонил (Fmoc), бензил (Bzl), *трет*-амилоксикарбонил (Aoc), тозил (Tos), бензилоксикарбонил (Z или Cbz), *о*-бромбензилоксикарбонил (BrZ) и тому подобное. Дополнительные защитные группы указаны в Goodman M. (ed.), "Synthesis of Peptides and Peptidomimetics" in Methods of Organic chemistry (Houben-
5 Weyl) (Workbench Edition, E22a,b,c,d,e; 2004; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (Штутгарт, Нью-Йорк)).

Выбор связующего агента для выбранного способа также находится в компетенции специалиста в данной области техники. Подходящие связующие агенты включают DCC (N,N'-дициклогексилкарбодиимид), Вop (гексафторфосфат бензотриазол-1-ил-окси-трис-(диметиламино)-фосфония), РyВop (гексафторфосфат бензотриазол-1-ил-окситрипирролидинофосфония), ВopCl (бис(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфинхлорид), гексафторфосфат 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния (CIP) и т.п. В синтезе можно использовать другие соединения, например, для предотвращения рацемизации, такие как HOBt (N-гидроксibenзотриазол) и HOAt (1-гидрокси-7-азабензотриазол).
10
15

Варианты осуществления изобретения

Конкретные варианты осуществления изобретения, представленные ниже, не предназначены для ограничения объема изобретения. Специалисты в данной области
20 техники могут создать другие варианты осуществления, включив один или несколько элементов из приведенного ниже списка в комбинации, конкретно не указанные здесь. Считается, что все такие варианты осуществления входят в объем изобретения.

Вариант 1. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение животному соединения, имеющего формулу:



25 или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

X¹ выбирают из группы, состоящей из NR', O и S;

X² выбирают из группы, состоящей из CH₂, NR', O и S;

R¹, R², R³, R⁴ и R⁵ независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR',
30 -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила,

галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R'
5 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

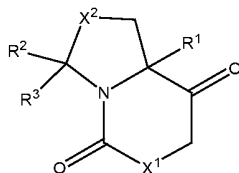
или R⁴ и R⁵, взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

или R² и R³, взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n
10 представляет собой целое число от 0 до 6;

при условии, что когда R¹= метил и R²=R³=R⁴=H, то R⁵ ≠ бензил и;

когда R¹ = H, по меньшей мере один из R² и R³ ≠ H.

Вариант 2. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение животному соединения, имеющего формулу:



15 или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

X¹ выбирают из группы, состоящей из NR', O и S;

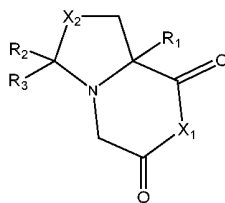
X² выбирают из группы, состоящей из CH₂, NR', O и S;

R¹, R² и R³ независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R',
20 -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают
25 из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R² и R³, взятые вместе представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

при условии, что хотя бы один R ≠ H.

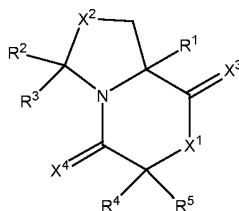
Вариант 3. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение животному соединения, имеющего формулу:



или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

- 5 X^1 выбирают из группы, состоящей из NR' , O и S;
 X^2 выбирают из группы, состоящей из CH_2 , NR' , O и S;
 R^1 , R^2 и R^3 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила,
10 замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;
15 или R^2 и R^3 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6.

Вариант 4. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение животному соединения формулы:



- 20 или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где
 X^1 , X^3 и X^4 независимо выбирают из группы, состоящей из S, O и NH;
 X^2 выбирают из группы, состоящей из S, O, CH_2 и NH;
 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 и R^5 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила,
25 галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного

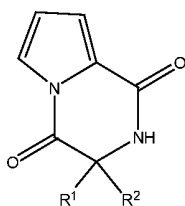
арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R⁴ и R⁵, взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

или R² и R³ взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

при условии, что по меньшей мере один R ≠ H и что оба X³ и X⁴ ≠ O.

Вариант 5. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение животному соединения формулы:

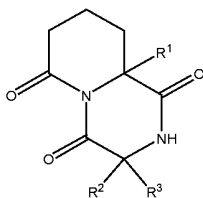


или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

R¹ и R² независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R¹ и R² взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6.

Вариант 6. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение животному соединения формулы:

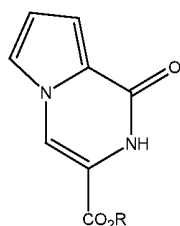


или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

R^1 , R^2 и R^3 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R^2 и R^3 , взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6.

Вариант 7. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение животному соединения формулы:



или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

R выбирают из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила.

Вариант 8. Способ по любому из вариантов 1-4 или 6, где R^1 = метил.

Вариант 9. Способ по любому из вариантов 1-4 или 6, где R^1 = аллил.

Вариант 10. Способ по любому из вариантов 1-4, где $R^2 = R^3$ = метил и $X^2 = S$.

Вариант 11. Способ по варианту 1, где R^1 = аллил, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 12. Способ по варианту 1, где R^1 = метил, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)₃-CH₂-, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 13. Способ по варианту 1, где R^1 = метил, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)₂-CH₂-, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 14. Способ по любому из вариантов 1-13, дополнительно включающий введение фармацевтически приемлемого эксципиента.

Вариант 15. Способ по любому из вариантов 1-13, дополнительно включающий введение фармацевтически приемлемого эксципиента и связующего вещества.

Вариант 16. Способ по любому из вариантов 1-13, дополнительно включающий введение фармацевтически приемлемого эксципиента и капсулы.

5 Вариант 17. Способ по любому из вариантов 1-13, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного другого антиапоптотического, антинекротического или нейропротекторного агента.

Вариант 18. Способ по варианту 17, отличающийся тем, что нейропротекторный агент выбирают из факторов роста и связанных с ними производных (инсулиноподобный фактор роста- I [IGF-I], инсулиноподобный фактор роста-II [IGF-II], трансформирующий фактор роста- β 1, активин, гормон роста, фактор роста нервной ткани, белок, связывающий гормон роста, IGF-связывающие белки, IGFBP-3, основной фактор роста фибробластов, кислотный фактор роста фибробластов, продукт гена hst/Kfgk, FGF-3, FGF-4, FGF-6, фактор роста кератиноцитов, андроген-индуцированный фактор роста, int-2, гомологичный фактор-1 фактора роста фибробластов (FHF-1), FHF-2, FHF-3 и FHF-4, фактор роста кератиноцитов 2, глиально-активирующий фактор, FGF-10 и FGF-16, цилиарный нейротрофический фактор, мозговой фактор роста, нейротрофин 3, нейротрофин 4, костный морфогенетический белок 2 [BMP-2], нейротрофический фактор, полученный из линии глиальных клеток, зависящий от активности нейротрофический фактор, цитокиновый фактор, ингибирующий лейкемию, онкостатин М, интерлейкин, α -интерферон, β -интерферон, γ -интерферон или интерферон консенсуса и TNF- α , клометиазол; кинуреновая кислота, Семакс, такролимус, L-трео-1-фенил-2-деcanoиламино-3-морфолино-1-пропанол, аналог адренокортикотропина-(4-9) [ORG 2766], дизолципин [МК-801], селегилин; антагонист глутамата, антагонист AMPA и противовоспалительный агент).

10
15
20
25

Вариант 19. Способ по варианту 18, отличающийся тем, что указанный антагонист глутамата и/или NMDA выбирают из группы, состоящей из NPS1506, GV1505260, МК-801 и GV150526.

30

Вариант 20. Способ по варианту 18, отличающийся тем, что указанный антагонист AMPA выбирают из группы, состоящей из 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамойлбензо(f)хиноксалина (NBQX), LY303070 и LY300164.

Вариант 21. Способ по варианту 18, отличающийся тем, что указанный противовоспалительный агент выбирают из группы, состоящей из антитела против MAdCAM-1 и антитела против рецептора интегрина $\alpha 4\beta 1$ и рецептора интегрина $\alpha 4\beta 7$.

5 Вариант 22. Способ по варианту 21, отличающийся тем, что указанное антитело против MAdCAM-1 представляет собой MECA-367.

Вариант 23. Способ по варианту 1, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой циклический G-2-AllylP.

10 Вариант 24. Способ по варианту 1, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой циклогексил-G-2MeP.

Вариант 25. Способ по варианту 1, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой циклопентил-G-2MeP.

15 Вариант 26. Способ лечения симптома СПХ у животного, страдающего таким расстройством, включающий введение указанному млекопитающему фармацевтически эффективного количества циклического глицил-2-аллилпролина (сG-2-AllylP).

Вариант 27. Способ по варианту 26, отличающийся тем, что указанный сG-2-AllylP содержит водный раствор и один или несколько фармацевтически приемлемых эксципиентов, добавок, носителей или адъювантов.

20 Вариант 28. Способ по варианту 26, дополнительно включающий один или несколько эксципиентов, носителей, добавок, адъювантов или связующих веществ в таблетке или капсуле.

Вариант 29. Способ по любому из вариантов 1-30, отличающийся тем, что соединение вводят либо прямо, либо опосредованно через кровоток.

25 Вариант 30. Способ по любому из вариантов 1-29, отличающийся тем, что указанное соединение вводят перорально, внутривентриально, внутрисосудисто, через периферическое кровообращение, подкожно, интраорбитально, офтальмологически, интраспинально, интракостально, местно, путем инфузии, имплантата, аэрозоля, ингаляции, скарификации, внутривентриальным, внутрикапсульным, 30 внутримышечным, интраназальным, трансбуккальным, чрескожным, легочным, ректальным или вагинальным путем.

Вариант 31. Способ по любому из вариантов 1-30, отличающийся тем, что указанное эффективное количество имеет нижний предел около 0,001 миллиграмма на килограмм массы (мг/кг) животного и верхний предел около 200 мг/кг.

5 Вариант 32. Способ по любому из вариантов 1-31, отличающийся тем, что оценку эффективности проводят путем измерения фосфорилированного ERK (pERK) или фосфорилированного Akt (pAkt) в лимфоцитах животного, где нормализация либо pERK, либо pAkt указывает на снижение тяжести указанного расстройства.

10 Вариант 33. Способ по любому из вариантов 1-32, отличающийся тем, что указанное лечение вызывает улучшение симптома СПХ согласно оценке с использованием одного или нескольких клинических тестов, выбранных из группы, состоящей из Aberrant Behavior Checklist Community Edition (ABC) (Опросник для оценки аберрантного поведения издание Сообщества), Vineland Adaptive Behavior Scales (Шкала адаптивного поведения Вайнленда), Clinical Global Impression of Severity (CGI-S) (Шкала оценки общего клинического впечатления о тяжести), Clinical
15 Global Impression Improvement (CGI-I) (Шкала оценки общего клинического впечатления об улучшении), Caregiver Strain Questionnaire (CSQ) (Опросник для оценки напряжения лица, осуществляющего уход), или одного или нескольких физиологических тестов, выбранных из группы, состоящей из частоты спайков электроэнцефалограммы (ЭЭГ), общей мощности в частотных диапазонах ЭЭГ,
20 полушарной когерентности частот ЭЭГ, стереотипных движений рук, интервала QTc и вариабельности сердечного ритма (BCP), аномальной экспрессии или активации ERK1/2 и Akt, аномальной экспрессии рост-ассоциированного белка-43 (GAP-43), аномальной экспрессии синаптофизина (SYN), нарушения дыхания и сочетания сердечной и дыхательной функций по сравнению с контрольными животными, не
25 страдающими указанным расстройством.

Вариант 34. Способ по любому из вариантов 1-33, отличающийся тем, что указанный симптом СПХ представляет собой когнитивное нарушение или когнитивную дисфункцию, один или несколько признаков или симптомов потери памяти, потери пространственной ориентации, снижения способности к обучению,
30 снижения способности формировать кратковременную или долговременную память, снижения эпизодической памяти, снижения способности к консолидации памяти, снижения пространственной памяти, снижения синаптогенеза, снижения синаптической стабильности, дефицита исполнительной функции, дефицита

когнитивного картирования и памяти сцен, дефицита декларативной и реляционной памяти, снижения быстрого приобретения конфигуральных или конъюнктивных ассоциаций, снижения контекстно-специфического кодирования и извлечения определенных событий, снижения эпизодической и/или событийной памяти, тревожности, патологического условно-рефлекторного замирания, аномального социального поведения, повторяющегося поведения, аномального поведения во время сна, судорожной активности, аномальной локомоции, аномальной экспрессии или активации ERK1/2 или Akt и брадикардии.

Вариант 35. Способ обнаружения наличия, тяжести или оценки терапевтической эффективности любого из предыдущих вариантов воплощения изобретения, включающий измерение экспрессии фосфо-ERK1/2 или фосфо-Akt в периферических лимфоцитах субъекта с СПХ по сравнению с экспрессией фосфо-ERK1/2 или фосфо-Akt в периферических лимфоцитах группы субъектов, не страдающих СПХ, или экспрессии фосфо-ERK1/2 или фосфо-Akt в периферических лимфоцитах субъекта до лечения.

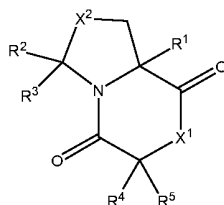
Вариант 36. Применение соединения в производстве лекарственного средства для лечения симптома синдрома Питта-Хопкинса, причем указанное соединение представляет собой фармацевтически эффективное количество соединения, содержащего циклический глицил-2-аллилпролин (сG-2-AllylP), циклический циклогексил-G-2MeP или циклический циклопентил-G-2MeP.

Вариант 37. Применение варианта 36, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой циклогексил-G-2MeP.

Вариант 38. Применение варианта 36, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой циклический G-2-AllylP.

Вариант 39. Применение варианта 36, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклопентил-G-2MeP.

Вариант 40. Применение соединения в производстве лекарственного средства для лечения симптома синдрома Питта-Хопкинса. у млекопитающего, страдающего таким расстройством, отличающееся тем, что указанное соединение имеет формулу:



или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

X^1 выбирают из группы, состоящей из NR' , O и S;

X^2 выбирают из группы, состоящей из CH_2NR' , O и S;

R^1, R^2, R^3, R^4 и R^5 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR',
5 -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила,
галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила,
алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила,
замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного
арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R'
10 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила,
алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n
представляет собой целое число от 0 до 6;

или R^2 и R^3 вместе представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет
15 собой целое число от 0 до 6;

при условии, что когда $R^1 = \text{метил}$ и $R^2 = R^3 = R^4 = H$, то $R^5 \neq \text{бензил}$ и;

когда $R^1 = H$, по меньшей мере один из R^2 и $R^3 \neq H$.

Вариант 41. Применение варианта 40, где $R^1 = \text{метил}$.

Вариант 42. Применение варианта 40, где $R^1 = \text{аллил}$.

20 Вариант 43. Применение варианта 40, где $R^2 = R^3 = \text{метил}$ и $X^2 = S$.

Вариант 44. Применение варианта 40, где $R^1 = \text{аллил}$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $X^1 =$
NH, $X^2 = CH_2$.

Вариант 45. Применение варианта 40, где $R^1 = \text{метил}$, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 ,
взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

25 Вариант 46. Применение варианта 40, где $R^1 = \text{метил}$, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 ,
взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 47. Применение по любому из пп. 40-46, отличающееся тем, что
применение дополнительно включает указанное соединение в фармацевтически
приемлемом эксципиенте или в геле.

30 Вариант 48. Применение любого из вариантов 40-47, отличающееся тем, что
применение дополнительно включает указанное соединение с фармацевтически
приемлемым эксципиентом и связующим веществом.

Вариант 49. Применение любого из вариантов 40-48, отличающееся тем, что применение дополнительно включает указанное соединение с фармацевтически приемлемым эксципиентом или в капсуле.

Вариант 50. Применение любого из вариантов 40-49, дополнительно включающее по меньшей мере одно антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение, нейропротекторный агент или противовоспалительный агент.

Вариант осуществления 51. Применение варианта 50, отличающееся тем, что антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение или нейропротекторный агент выбирают из группы, состоящей из инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), инсулиноподобного фактора роста-II (IGF-II), трансформирующего фактора роста- β 1, активина, гормона роста, фактора роста нервной ткани, белка, связывающего гормон роста, IGFBP-3, основного фактора роста фибробластов, кислотного фактора роста фибробластов, продукта гена *hst/Kfgr*, FGF-3, FGF-4, FGF-6, фактора роста кератиноцитов, андроген-индуцированного фактора роста, *int-2*, гомологичного фактора-1 фактора роста фибробластов (FHF-1), FHF-2, FHF-3, FHF-4, фактора роста кератиноцитов 2, глиально-активирующего фактора, FGF-10, FGF-16, цилиарного нейротрофического фактора, мозгового фактора роста, нейротрофина 3, нейротрофина 4, костного морфогенетического белка 2 (BMP-2), нейротрофического фактора, полученного из линии глиальных клеток, зависящего от активности нейротрофического фактора, цитокинового фактора, ингибирующего лейкемию, онкостатина M, интерлейкина, α -интерферона, β -интерферона, γ -интерферона или интерферона консенсуса, TNF- α , клонетиазола; кинуреновой кислоты, Семакса, такролимуса, L-трео-1-фенил-2-деканоиламино-3-морфолино-1-пропанола, аналога адренокортикотропина-(4-9) (ORG 2766), дизолципина [МК-801], селегилина, NPS1506, GV1505260, МК-801, GV150526, 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамойлбензо(f)хиноксалина (NBQX), LY303070, LY300164 и антитела MECA-367 против MAdCAM-1.

Вариант 52. Применение любого из вариантов 40-50, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой циклический G-2-AllylP.

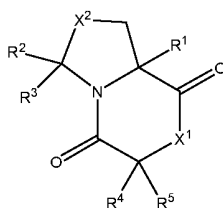
Вариант 53. Применение любого из вариантов 40-50, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклогексил-G-2MeP.

Вариант 54. Применение любого из вариантов 40-53, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклопентил-G-2MeP.

Вариант 55. Применение варианта 40, дополнительно включающее один или несколько эксципиентов, носителей, добавок, адъювантов или связующих веществ в таблетке.

Вариант 56. Применение по п.40, дополнительно включающее микроэмульсию, крупнозернистую эмульсию или жидкие кристаллы в капсуле.

Вариант 57. Способ лечения млекопитающего, страдающего синдромом Питта-Хопкинса, включающий введение млекопитающему соединения, имеющего формулу:



или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

X^1 выбирают из группы, состоящей из NR^1 , O и S;

X^2 выбирают из группы, состоящей из CH_2 , NR^1 , O и S;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 и R^5 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R^1 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

или R^2 и R^3 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

при условии, что когда $R^1 = \text{метил}$ и $R^2 = R^3 = R^4 = H$, то $R^5 \neq \text{бензил}$ и;

когда $R^1 = H$, по меньшей мере один из R^2 и $R^3 \neq H$.

Вариант 58. Способ по варианту 57, где $R^1 = \text{метил}$.

Вариант 59. Способ по варианту 57, где $R^1 = \text{аллил}$.

Вариант 60. Способ по варианту 57, где $R^2 = R^3 = \text{метил}$ и $X^2 = S$.

Вариант 61. Способ по варианту 57, где $R^1 = \text{аллил}$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 62. Способ по варианту 57, где $R^1 = \text{метил}$, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 63. Способ по варианту 57, где $R^1 = \text{метил}$, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 64. Способ по п. 57, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение указанного соединения вместе с фармацевтически приемлемым эксципиентом или в геле.

Вариант осуществления 65. Способ по варианту 57, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение указанного соединения вместе с фармацевтически приемлемым эксципиентом и связующим веществом.

Вариант 66. Способ по варианту 57, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение указанного соединения вместе с фармацевтически приемлемым эксципиентом или в капсуле.

Вариант 67. Способ согласно варианту 57, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного антиапоптотического соединения, антинекротического соединения, нейропротекторного агента или противовоспалительного агента.

Вариант осуществления 68. Способ по варианту 67, отличающийся тем, что антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение или нейропротекторный агент выбирают из группы, состоящей из инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), инсулиноподобного фактора роста-II (IGF-II), трансформирующего фактора роста- $\beta 1$, активина, гормона роста, фактора роста нервной ткани, белка, связывающего гормон роста, IGFBP-3, основного фактора роста фибробластов, кислотного фактора роста фибробластов, продукта гена *hst/Kfgk*, FGF-3, FGF-4, FGF-6, фактора роста кератиноцитов, андроген-индуцированного фактора роста, *int-2*, гомологичного фактора-1 фактора роста фибробластов (FHF-1), FHF-2, FHF-3, FHF-4, фактора роста кератиноцитов 2, глиально-активирующего фактора, FGF-10, FGF-16, цилиарного нейротрофического фактора, мозгового фактора роста, нейротрофина 3, нейротрофина 4, костного морфогенетического белка 2 (BMP-2), нейротрофического фактора, полученного из линии глиальных клеток, зависящего от

активности нейротрофического фактора, цитокинового фактора, ингибирующего лейкемию, онкостатина М, интерлейкина, α -интерферона, β -интерферона, γ -интерферона, интерферона консенсуса, TNF- α , клонетиазола; кинуреновой кислоты, Семакса, такролимуса, L-трео-1-фенил-2-деканоиламино-3-морфолино-1-пропанола, аналога адренокортикотропина-(4-9) (ORG 2766), дизолципина [МК-801], селегилина, NPS1506, GV1505260, МК-801, GV150526, 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамоилбензо(f)хиноксалина (NBQX), LY303070, LY300164 и антитела MECA-367 против MAdCAM-1.

Вариант 69. Способ по варианту 57, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой cG-2-AllylP.

Вариант 70. Способ по варианту 57, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклогексил-G-2MeP.

Вариант 71. Способ по варианту 57, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклопентил-G-2MeP.

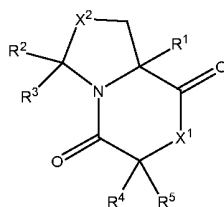
Вариант 72. Композиция для лечения симптома синдрома Питта-Хопкинса, причем указанная композиция содержит фармацевтически эффективное количество соединения, содержащего циклический глицил-2-аллилпролин (cG-2-AllylP), циклический циклогексил-G-2MeP или циклический циклопентил-G-2MeP.

Вариант 73. Композиция по варианту 72, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклогексил-G-2MeP.

Вариант 74. Композиция по варианту 72, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический G-2-AllylP.

Вариант 75. Композиция по варианту 72, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклопентил-G-2MeP.

Вариант 76. Композиция для лечения симптома синдрома Питта-Хопкинса у млекопитающего, страдающего таким расстройством, содержащая соединение, имеющее формулу:



или его фармацевтически приемлемую соль или гидрат, где

X¹ выбирают из группы, состоящей из NR', O и S;

X^2 выбирают из группы, состоящей из CH_2 , NR' , O и S;

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 и R^5 независимо выбирают из группы, состоящей из H, $-OR'$, $-SR'$, $-NR'R'$, $-NO_2$, $-CN$, $-C(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NR'R'$, $-C(NR')NR'R'$, тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из $-H$, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

10 или R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

или R^2 и R^3 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

при условии, что когда $R^1 = \text{метил}$ и $R^2 = R^3 = R^4 = H$, то $R^5 \neq \text{бензил}$ и;

15 когда $R^1 = H$, по меньшей мере один из R^2 и $R^3 \neq H$.

Вариант 77. Композиция по варианту 76, где $R^1 = \text{метил}$.

Вариант 78. Композиция по варианту 76, где $R^1 = \text{аллил}$.

Вариант 79. Композиция по варианту 76, где $R^2 = R^3 = \text{метил}$ и $X^2 = S$.

Вариант 80. Композиция по варианту 76, где $R^1 = \text{аллил}$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$,
20 $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 81. Композиция по варианту 76, где $R^1 = \text{метил}$, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

Вариант 82. Композиция по варианту 76, где $R^1 = \text{метил}$, $R^2 = R^3 = H$, R^4 и R^5 , вместе взятые представляют собой $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

25 Вариант 83. Композиция по любому из вариантов 76-82, дополнительно содержащая указанное соединение в фармацевтически приемлемом эксципиенте или в геле.

Вариант 84. Композиция по любому из вариантов 76-83, дополнительно содержащая указанное соединение с фармацевтически приемлемым эксципиентом и
30 связующим веществом.

Вариант 85. Композиция по любому из вариантов 76-84, отличающаяся тем, что применение дополнительно включает указанное соединение с фармацевтически приемлемым эксципиентом или в капсуле.

Вариант 86. Композиция по любому из вариантов 76-85, дополнительно содержащая по меньшей мере одно антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение, нейропротекторный агент или противовоспалительный агент.

5 Вариант 87. Композиция по варианту 86, отличающаяся тем, что антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение или нейропротекторный агент выбирают из группы, состоящей из инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), инсулиноподобного фактора роста-II (IGF-II), трансформирующего фактора роста- β 1, активина, гормона роста, фактора роста
10 нервной ткани, белка, связывающего гормон роста, IGFBP-3, основного фактора роста фибробластов, кислотного фактора роста фибробластов, продукта гена hst/Kfgk, FGF-3, FGF-4, FGF-6, фактора роста кератиноцитов, андроген-индуцированного фактора роста, int-2, гомологичного фактора-1 фактора роста фибробластов (FHF-1), FHF-2, FHF-3, FHF-4, фактора роста кератиноцитов 2, глиально-активирующего фактора, FGF-
15 10, FGF-16, цилиарного нейротрофического фактора, мозгового фактора роста, нейротрофина 3, нейротрофина 4, костного морфогенетического белка 2 (BMP-2), нейротрофического фактора, полученного из линии глиальных клеток, зависящего от активности нейротрофического фактора, цитокинового фактора, ингибирующего
20 лейкемию, онкостатина M, интерлейкина, α -интерферона, β -интерферона, γ -интерферона, интерферона консенсуса, TNF- α , клонетазола; кинуреновой кислоты, Семакса, такролимуса, L-трео-1-фенил-2-деcanoиламино-3-морфолино-1-пропанола, аналога адренокортикотропина-(4-9) (ORG 2766), дизолципина [МК-801], селегилина, NPS1506, GV1505260, МК-801, GV150526, 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамойлбензо(f)хиноксалина (NBQX), LY303070, LY300164 и антитела MECA-367
25 против MAdCAM-1.

Вариант 88. Композиция по любому из вариантов 76-87, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический G-2-AllylP.

Вариант 89. Композиция по любому из вариантов 76-87, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклогексил-G-2MeP.

30 Вариант 90. Композиция по любому из вариантов 76-87, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический цикlopентил-G-2MeP.

Вариант 91. Композиция по варианту 76, дополнительно содержащая один или несколько эксципиентов, носителей, добавок, адъювантов или связующих веществ в таблетке.

Вариант 92. Композиция по варианту 76, дополнительно содержащая микроэмульсию, крупнозернистую эмульсию или жидкие кристаллы в капсуле.

Вариант 93. Способ по любому из пп.57-71, отличающийся тем, что указанное лечение вызывает улучшение симптома СПХ согласно оценке с использованием одного или нескольких клинических тестов, выбранных из группы, состоящей из состоящей из Aberrant Behavior Checklist Community Edition (ABC) (Опросник для оценки аберрантного поведения издание Сообщества), Vineland Adaptive Behavior Scales (Шкала адаптивного поведения Вайнленда), Clinical Global Impression of Severity (CGI-S) (Шкала оценки общего клинического впечатления о тяжести), Clinical Global Impression Improvement (CGI-I) (Шкала оценки общего клинического впечатления об улучшении), Caregiver Strain Questionnaire (CSQ) (Опросник для оценки напряжения лица, осуществляющего уход), или одного или нескольких физиологических тестов, выбранных из группы, состоящей из частоты спайков электроэнцефалограммы (ЭЭГ), общей мощности в частотных диапазонах ЭЭГ, полушарной когерентности частот ЭЭГ, стереотипных движений рук, интервала QTc и вариабельности сердечного ритма (BCP), аномальной экспрессии или активации ERK1/2 и Akt, аномальной экспрессии рост-ассоциированного белка-43 (GAP-43), аномальной экспрессии синаптофизина (SYN), нарушения дыхания и сочетания сердечной и дыхательной функций по сравнению с контрольными животными, не страдающими указанным расстройством.

Вариант 94. Способ по любому из вариантов 57-71 или 93, отличающийся тем, что указанный симптом СПХ представляет собой когнитивное нарушение или когнитивную дисфункцию, один или несколько признаков или симптомов потери памяти, потери пространственной ориентации, снижения способности к обучению, снижения способности формировать кратковременную или долговременную память, снижения эпизодической памяти, снижения способности к консолидации памяти, снижения пространственной памяти, снижения синаптогенеза, снижения синаптической стабильности, дефицита исполнительской функции, дефицита когнитивного картирования и памяти сцен, дефицита декларативной и реляционной памяти, снижения быстрого приобретения конфигуральных или конъюнктивных

ассоциаций, снижения контекстно-специфического кодирования и извлечения определенных событий, снижения эпизодической и/или событийной памяти, тревожности, патологического условно-рефлекторного замирания, аномального социального поведения, повторяющегося поведения, аномального поведения во время сна, судорожной активности, аномальной локомоции, аномальной экспрессии или активации ERK1/2 или Akt и брадикардии.

Вариант 95. Способ по любому из вариантов 1-71 или 93-94, отличающийся тем, что доза соединения составляет от примерно 0,001 мг/кг до примерно 600 мг/кг.

Вариант 96. Композиция по любому из вариантов 72-92, отличающаяся тем, что количество соединения является достаточным для получения введенной дозы соединения в диапазоне от примерно 0,001 мг/кг до примерно 600 мг/кг.

Вариант 97. Любой один или несколько вариантов 1-96, отличающийся тем, что указанным животным или млекопитающим является человек.

ПРИМЕРЫ

Настоящее описание сущности изобретения дополнительно иллюстрируется следующими примерами. Эти примеры предлагаются только в качестве иллюстрации и не предназначены для ограничения объема изобретения.

Пример 1: Общие способы синтеза соединений

Флэш-хроматографию проводили на силикагеле Scharlau 60 (ячейки 40-60 мкм). Аналитическую тонкослойную хроматографию проводили на предварительно покрытых силикагелем пластинах диаметром 0,20 мм (ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄) и соединения визуализировали с помощью УФ-флуоресценции или путем нагревания пластин, погруженных в перманганат калия в щелочном растворе.

Температуры плавления в градусах Цельсия (°C) определяли на приборе для измерения температуры плавления Electrothermal® и не корректировали.

Оптические вращения измеряли при 20°C на поляриметре Perkin Elmer 341 с использованием кювет с длиной оптического пути 10 см и выражали в единицах 10⁻¹ град/см²г⁻¹. Образцы готовили в указанном растворителе в указанной концентрации (измеряется в г/100 см³). ИК-спектры записывали на ИК-Фурье-спектрометре Perkin Elmer Spectrum One. Образцы готовили в виде тонких пленок на дисках из хлорида натрия или в виде твердых частиц на дисках из бромиды калия. Уширенный сигнал,

обозначенный ушир. (br). Частоты (ν) как максимумы поглощения даны в волновых числах (см^{-1}).

Спектры ЯМР записывали на спектрометре Bruker AVANCE DRX400 (^1H , 400 МГц; ^{13}C , 100 МГц) или Bruker AVANCE 300 (^1H , 300 МГц; ^{13}C , 75 МГц) при температуре окружающей среды. Для данных ^1H ЯМР химические сдвиги описываются в частях на миллион в сторону слабого поля от SiMe_4 и указываются последовательно как положение (δ_{H}), относительный интеграл, мультиплетность (с = синглет, д = дублет, т = триплет, дд = двойной дублет, м = мультиплет, ушир. = уширенный), константа связи (Дж/Гц) и назначение. Для данных ^{13}C ЯМР химические сдвиги описываются в частях на миллион по отношению к CDCl_3 и указываются последовательно как положение (δ_{C}), степень гибридизации, определенная с помощью экспериментов DEPT, и назначение. Спектры ^1H ЯМР были соотнесены с внутренним стандартом с использованием SiMe_4 (δ 0,00) или CDCl_3 (δ 7,26). Спектры ^{13}C ЯМР были соотнесены с внутренним стандартом с использованием CDCl_3 (δ 77,0). Когда в спектрах ЯМР возникают два набора пиков из-за различных конформаций вокруг амидной связи глицин-пролина, химический сдвиг для минорного *цис*-конформера отмечен звездочкой (*).

Точные измерения массы регистрировали на масс-спектрометре VG-70SE.

Гексан и дихлорметан перед использованием перегоняли. Метанол сушили с использованием магниевых стружек и йода и перегоняли в атмосфере азота. Триэтиламин сушили над гидридом кальция и перегоняли в атмосфере азота.

Пример 2: Синтез (8a*S*)-метил-гексагидропирроло[1,2-а]пиразин-1,-диона (циклический G-2MeP)

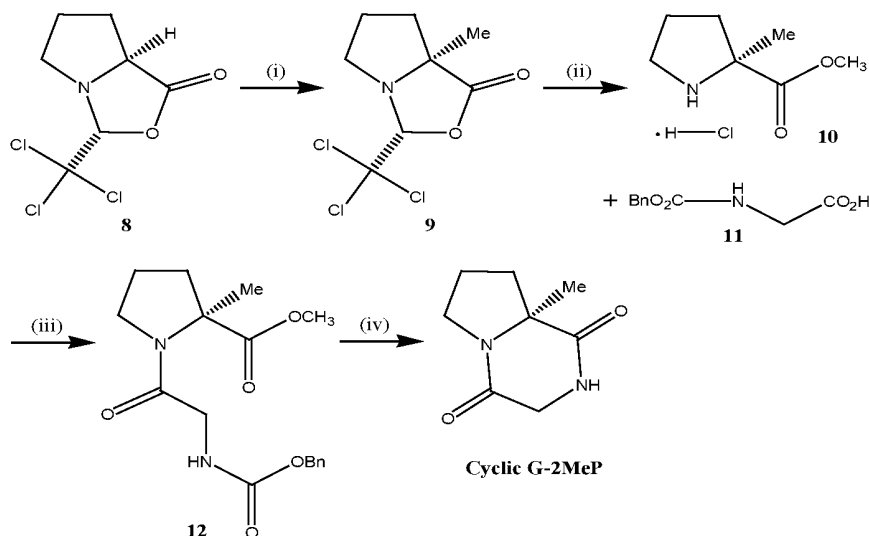
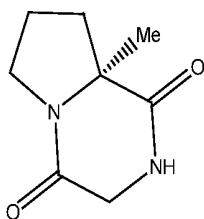


Схема 1: Реагенты, условия и выходы: (i) LDA, THF, -78°C , йодметан, $-78 \rightarrow -50^{\circ}\text{C}$, 2 ч (63%); (ii) SOCl_2 , CH_3OH , нагрев с обратным холодильником, N_2 , 2,5 ч (98%); (iii) Et_3N , BOPCl , CH_2Cl_2 , КТ, N_2 , 20,5 ч (78%); (iv) 10% Pd/C , CH_3OH , КТ, 15 ч (98%).

(2R,5S)-4-Метил-2-трихлорметил-1-аза-3-оксабицикло[3.3.0]октан-4-он **9**

$n\text{-BuLi}$ (1,31 М, 4,68 см³, 6,14 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору диизопропиламина (0,86 см³, 6,14 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (10 см³) при -78°C в атмосфере азота. Раствор перемешивали 5 мин., нагревали до 0°C и перемешивали 15 мин. Затем раствор по каплям добавляли к раствору оксазолидинона **8** (1,00 г, 4,09 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (20 см³) при -78°C в течение 20 мин. (цвет стал темно-коричневым), перемешивали еще 30 мин., затем йодметан (0,76 см³, 12,3 ммоль) добавляли по каплям в течение 5 мин. Раствор нагревали до -50°C в

течение 2 часов. Добавляли воду (15 см³), раствор нагревали до комнатной температуры и экстрагировали хлороформом (3×40 см³). Объединенные органические экстракты сушили (MgSO₄), фильтровали и упаривали досуха *в вакууме* с получением темно-коричневого полутвердого вещества. Очистка остатка колоночной флэш-хроматографией (15% этилацетат-гексан) давала *оксазолидинон. 9* (0,67 г, 63%) в виде бледно-желтого твердого вещества: т.пл. 55-57°C (лит., 57-60°C); δH (300 МГц, CDCl₃) 1,53 (3H, с, CH₃), 1,72-2,02 (3H, м, Pro β -H и Pro γ -H₂), 2,18-2,26 (1H, м, Pro β -H), 3,15-3,22 (1H, м, Pro δ -H), 3,35-3,44 (1H, м, Pro δ -H) и 4,99 (1H, с, NCH).

Метил L-2-метилпролината гидрохлорид 10

а) с помощью ацетилхлорида

Оксазолидинон **9** (0,60 г, 2,33 ммоль) растворяли в сухом метаноле (15 см³) в атмосфере азота и к охлаждаемому льдом раствору по каплям добавляли ацетилхлорид (0,33 см³, 4,66 ммоль). Раствор нагревали с обратным холодильником в течение 4,5 часов, затем растворитель удаляли при пониженном давлении с получением коричневого масла, которое очищали колоночной флэш-хроматографией (10% CH₃OH-CH₂Cl₂), получая *гидрохлорид 10* (0,2 г, 48%) в виде хлопьевидного белого твердого вещества: т.пл. 107-109°C (лит., 106-108°C); δH (300 МГц, CDCl₃) 1,81 (3H, с, CH₃), 1,93-2,14 (3H, м, Pro β -H_AH_B и Pro γ -H₂), 2,33-2,39 (1H, м, Pro β -H_AH_B), 3,52-3,56 (2H, м, Pro δ -H₂) и 3,82 (3H, с, CO₂CH₃).

б) с использованием тионилхлорида

Охлажденный льдом раствор оксазолидинона **9** (53 мг, 0,21 ммоль) в сухом метаноле (1 см³) по каплям обрабатывали тионилхлоридом (0,045 см³, 0,62 ммоль). Раствор нагревали с обратным холодильником в течение 2,5 часов, охлаждали и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением коричневого масла. Масло растворяли в толуоле (5 см³), концентрировали досуха для удаления остаточного тионилхлорида и метанола, затем очищали колоночной флэш-хроматографией (10% CH₃OH-CH₂Cl₂) с получением *гидрохлорида 10* (16 мг, 43%) в виде хлопьевидного белого твердого вещества. Данные ¹H ЯМР согласуются с указанными выше.

Метил-N-бензилоксикарбонил-глицил-L-2-метилпролинат 12

Сухой триэтиламин (0,27 см³, 1,96 ммоль) добавляли по каплям к раствору гидрохлорида **10** (0,11 г, 0,61 ммоль) и *N*-бензилоксикарбонил-глицина **11** (98,5%) (0,17 г, 0,79 ммоль) в сухом дихлорметане (35 см³) в атмосфере азота при комнатной
5 температуре и реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин. Добавляли бис(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфинхлорид (BoPCl, 97%) (0,196 г, 0,77 ммоль) и полученный бесцветный раствор перемешивали в течение 20,5 часов. Раствор последовательно промывали 10%-ным водным раствором хлористоводородной кислоты (30 см³) и насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (30 см³),
10 сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали досуха *в вакууме*. Очистка полученного остатка колоночной флэш-хроматографией (50-80% этилацетат-гексан; градиентное элюирование) дает *дипептид*. **12** (0,18 г, 92%) в виде бесцветного масла. Анализ ¹³C ЯМР показал, что амид **12** существует в виде *транс:цис* -смеси конформеров 98:2 (соотношение оценено по относительным интенсивностям резонансов при δ 20,8 и
15 23,5, приписанных атомам Proγ-C минорных и мажорных конформеров соответственно): [α]_D -33,0 (с 1,0 в MeOH); ν_{макс.} (пленка)/см⁻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 и 699; δH (300 МГц, CDCl₃) 1,49 (3H, с, CH₃), 1,77-2,11 (4H, м, Proβ-H₂ и Proγ-H₂), 3,43-3,48 (2H, м, Proδ-H₂), 3,61 (3H, с, OCH₃), 3,85-3,89 (2H, м, Glyα-H₂), 5,04 (2H, с, PhCH₂), 5,76 (1H, ушир. с, N-H) и 7,21-7,28 (5H, с, ArH); δC (75 МГц, CDCl₃) 13,8* (CH₃, Proα-CH₃), 21,1 (CH₃, Proα-CH₃), 20,8 * (CH₂, Proγ-C), 23,5 (CH₂, Proγ-C), 38,0 (CH₂, Proβ-C), 40,8* (CH₂, Proβ-C), 43,3 (CH₂, Glyα-C), 45,5* (CH₂, Glyα-C), 46,6 (CH₂, Proδ-C), 48,7* (CH₂, Proδ-C), 51,9* (CH₃, OCH₃), 52,1 (CH₃, OCH₃), 60,0* (четв., Proα-C), 66,0 (четв., Proα-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 (четв., Ph), 155,9 (четв., NCO₂), 166,0 (четв., Gly-CON), 169,4* (четв., Gly-CON) и 173,6 (четв., CO₂CH₃); m/z (EI+) 334,1535 (M⁺. C₁₇H₂₂N₂O₅ требует 334,1529).

20
25

(8aS)-метил-гексагидропирроло[1,2-*a*]пиразин-1,4-дион (циклический *G*-2MeP)

К раствору дипептида **12** (0,167 г, 0,51 ммоль) в метаноле (8,0 см³) добавляли 10% Pd на активированном угле (8,1 мг, 0,076 ммоль) и сосуд продували газообразным водородом. Полученную суспензию энергично перемешивали в атмосфере водорода в течение 15 часов. Затем смесь фильтровали через слой целита, затем через короткую прокладку из силикагеля с метанолом и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением *циклического G*-2MeP (83 мг, 98%) в виде твердого вещества желтого цвета: т.пл. 133-135°C; $[\alpha]_D -128,1$ (*c* 0,52 в MeOH); δ_H (300 МГц, CDCl₃) 1,36 (3H, с, CH₃), 1,87-2,01 (3H, м, Pro β -H_AH_B и Pro γ -H₂), 2,07-2,21 (1H, м, Pro δ -H_AH_B), 3,45-3,64 (2H, м, Pro δ -H₂), 3,82 (1H, дд, *J* 17,1 и 4,1, CH_AH_BNH), 3,99 (1H, д, *J* 17,1, CH_AH_BNH) и 7,66 (1H, ушир. с, N-H); δ_C (75 МГц, 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 (четв., Pro α -C), 163,3 (четв., NCO) и 173,3 (четв., CONH); *m/z* (EI⁺) 168,08986 (M⁺. C₈H₁₂N₂O₂ требует 168,08988).

Пример 3: Синтез (*8aS*)-метил-спиро[циклогексан-1,3(4H)-тетрагидропирроло[1,2-*a*]пиразин]-1,4(2H)-диона (циклический циклогексил-*G*-2-MeP)

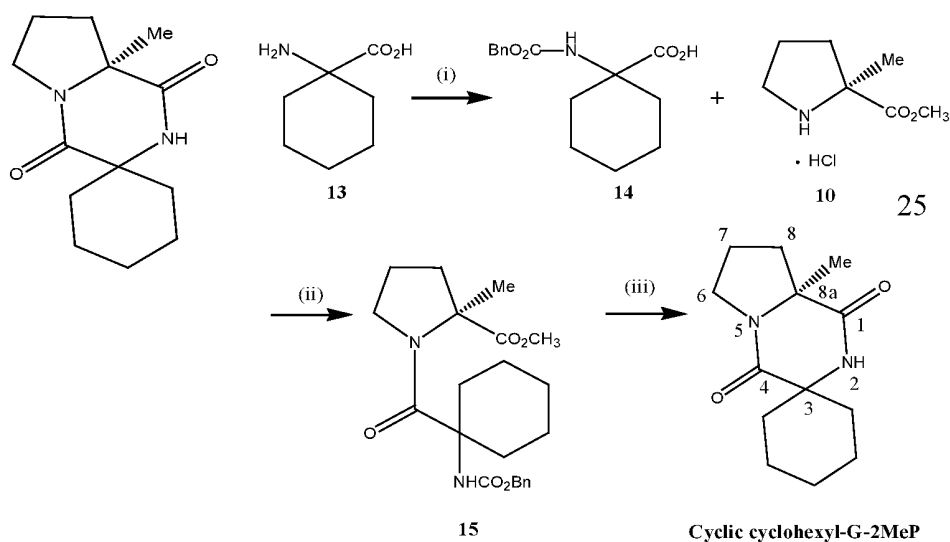


Схема 2: Реагенты, условия и выходы: (i) BnO_2CCl , Na_2CO_3 , H_2O -диоксан (3:1), 19 ч, 96%; (ii) Et_3N , HOAt , CIP , 1,2-дихлорэтан, нагрев с обратным холодильником, N_2 , 19 ч (23%); (iii) 10% Pd/C , CH_3OH , КТ, 17 ч (65%).

5 *N*-бензилоксикарбонил-1-аминоциклогексан-1-карбоновая кислота (**14**)

К суспензии 1-аминоциклогексанкарбоновой кислоты **13** (0,72 г, 5,02 ммоль) и карбоната натрия (1,6 г, 15,1 ммоль), растворенных в воде-диоксане (21 cm^3 , 3:1), добавляли по каплям бензилхлорформиат (0,79 cm^3 , 5,52 ммоль) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 19,5 часов. Водный слой промывали диэтиловым эфиром (60 cm^3), подкисляли 2М HCl и экстрагировали этилацетатом (2×60 cm^3). Органические слои объединяли, сушили (MgSO_4), фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением бесцветного масла, которое при стоянии затвердевало до сырого *карбамата*. **14** (1,23 г, 88%) в виде белого твердого вещества: т.пл. 152-154°C (лит., 148-150°C); δ_{H} (400 МГц, CDCl_3) 1,27–1,56 (3H, м, 3 х циклогексил-Н), 1,59-1,73 (3H, м, 3 х циклогексил-Н), 1,85–1,91 (2H, м, 2 х циклопентил-Н), 2,05-2,09 (2H, м, 2 х циклопентил-Н), 5,02 (1H, ушир.с, N-Н), 5,12 (2H, с, OCH_2Ph) и 7,27-7,36 (5H, с, Ph); δ_{C} (100 МГц, CDCl_3) 21,1 (CH_2 , 2 х циклогексил-С), 25,1 (CH_2 , 2 х циклогексил-С), 32,3 (CH_2 , циклогексил-С), 59,0 (четв., 1-С), 67,1 (CH_2 , OCH_2Ph), 128,1 (CH, Ph), 128,2 (CH, Ph), 128,5 (CH, Ph), 136,1 (четв., Ph), 155,7 (четв., NCO_2) и 178,7 (четв., CO_2H).

Метил-N-бензилоксикарбонил-циклогексил-глицил-*L*-2-метилпролинат (**15**)

Сухой триэтиламин (0,21 cm^3 , 1,5 ммоль) по каплям добавляли к раствору гидрохлорида **10** (84,0 мг, 0,47 ммоль), карбоновой кислоты **14** (0,17 г, 0,61 ммоль) и 1-гидрокси-7-азабензотриазола (16 мг, 0,12 ммоль) в сухом 1,2-дихлорэтано (26 cm^3) в атмосфере азота при комнатной температуре и реакционную смесь перемешивают в течение 10 минут. Добавляли гексафторфосфат 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния (0,13 г, 0,47 ммоль) и полученный раствор нагревали с обратным холодильником в течение 21 ч, затем последовательно промывали 10%-ным водным раствором хлористоводородной кислоты (30 cm^3) и насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. (30 cm^3), сушили (MgSO_4), фильтровали и выпаривали досуха в вакууме. Очистка полученного остатка колоночной флэш-хроматографией (40-50% этилацетат-гексан; градиентное элюирование) дает *амид* **15** (16 мг, 9%) в виде белого

твердого вещества. Анализ ^{13}C ЯМР показал, что амид **15** существует в виде *транс:цис*- смеси конформеров 11:1 (соотношение оценено по относительным интенсивностям резонансов при δ 41,3 и 48,2, отнесенных к атомам Pro δ -C минорных и мажорных конформеров соответственно): т.пл. 219-222 °C; $[\alpha]_D$ -44,9 (с 1,31 в CH_2Cl_2); $\nu_{\text{макс.}}$ (пленка)/ см^{-1} 3239, 2927, 1736, 1707, 1617, 1530, 1450, 1403, 1371, 1281, 1241, 1208, 1194, 1165, 1150, 1132, 1089, 1071, 1028, 984, 912, 796, 749, 739 и 699; δ_{H} (400 МГц, CDCl_3) 1,24-2,10 (17H, м, Pro α -CH₃, Pro β -H₂, Pro γ -H₂ и 5 х циклогексил-H₂), 3,25-3,48 (1H, ушир.м, Pro δ -H_AH_B), 3,61-3,87 (4H, ушир.м, OCH₃ и Pro δ -H_AH_B), 4,92-5,19 (3H, м, N-H и OCH₂Ph) и 7,35-7,37 (5H, с, Ph); δ_{C} (100 МГц, CDCl_3) 21,26 (CH₂, циклогексил-C), 21,33 (CH₂, циклогексил-C), 21,7 (CH₃, Pro α -CH₃), 24,8 (CH₂, циклогексил-C), 25,0 (CH₂, Pro γ -C), 29,4**Ошибка! Закладка не определена.** (CH₂, циклогексил-C), 29,7**Ошибка! Закладка не определена.** (CH₂, циклогексил-C), 31,1 (CH₂, циклогексил-C), 31,6 (CH₂, циклогексил-C), 31,9**Ошибка! Закладка не определена.** (CH₂, циклогексил-C), 32,2**Ошибка! Закладка не определена.** (CH₂, циклогексил-C), 32,8**Ошибка! Закладка не определена.** (CH₂, циклогексил-C), 37,3 (CH₂, Pro β -C), 41,4**Ошибка! Закладка не определена.** (CH₂, Pro δ -C), 48,2 (CH₂, Pro δ -C), 52,1 (CH₃, OCH₃), 59,1 (четв., Gly α -C), 66,7 (CH₂, OCH₂Ph), 67,3**Ошибка! Закладка не определена.** (CH₂, OCH₂Ph), 67,4 (четв., Pro α -C), 128,0* (CH, Ph), 128,1**Ошибка! Закладка не определена.** (CH, Ph), 128,3 (CH, Ph), 128,5 (CH, Ph), 128,7 (CH, Ph), 136,6 (четв., Ph), 153,7 (четв., NCO₂), 171,0 (четв., Gly-CO) и 174,8 (четв., CO₂CH₃); m/z (EI⁺) 402,2151 (M⁺. C₂₂H₃₀N₂O₅ требует 402,2155).

(8aS)-Метил-стиро[циклогексан-1,3(4H)-тетрагидротирроло[1,2-а]тиразин]-1,4(2H)-дион (**циклический циклогексил-G-2MeP**)

К раствору амида **15** (40 мг, 0,01 ммоль) в метаноле (3,3 см³) добавляли 10% Pd на активированном угле (1,6 мг, 0,015 ммоль) и сосуд продували газообразным водородом. Полученную суспензию энергично перемешивали в атмосфере водорода в течение 61,5 ч, затем фильтровали через слой CeliteTM с метанолом (15 см³). Фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении с получением желтого полутвердого вещества, которое очищали колоночной флэш-хроматографией с обращенной фазой C18 (0-10% CH₃CN/H₂O; градиентное элюирование) с получением **циклического циклогексил-G- 2MeP** (19 мг, 81%) в виде белого твердого вещества.

т.пл. 174-177°C; $[\alpha]_D -63,8$ (c 1,13 в CH_2Cl_2); $\nu_{\text{макс.}}$ (пленка)/ см^{-1} 3215, 2925, 2854, 1667, 1646, 1463, 1427, 1276, 1232, 1171, 1085, 1014, 900, 868, 818, 783, 726 и 715; δ_{H} (400 МГц, CDCl_3) 1,31–1,89 (12H, м, 9 х циклогексил-Н и 8a- CH_3), 1,94–2,15 (4H, м, 7- H_2 и 8- H_2), 2,26 (1H, тд, J 13,7 и 4,5, 1 х циклогексил-Н), 3,44–3,51 (1H, м, 6- H_AH_B), 3,79–3,86 (1H, м, 6- H_AH_B) и 6,40 (1H, ушир. с, N-Н); δ_{C} (100 МГц, CDCl_3) 19,5 (CH_2 , 7-С), 20,6 (CH_2 , циклогексил-С), 20,8 (CH_2 , циклогексил-С), 24,5 (CH_2 , циклогексил-С), 25,0 (CH_3 , 8a- CH_3), 33,7 (CH_2 , циклогексил-С), 36,3 (CH_2 , 8-С), 36,5 (CH_2 , циклогексил-С), 44,7 (CH_2 , 6-С), 59,5 (четв., 8a-С), 64,0 (четв., 3-С), 168,1 (четв., 4-С) и 171,6 (четв., 1-С); m/z (EI^+) 236,15246 (M^+ . $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ требует 236,15248).

Пример 4: Синтез (8aS)-аллил-гексагидропирроло[1,2-а]пиазин-1,4-диона (Циклический G-2-AllylP)

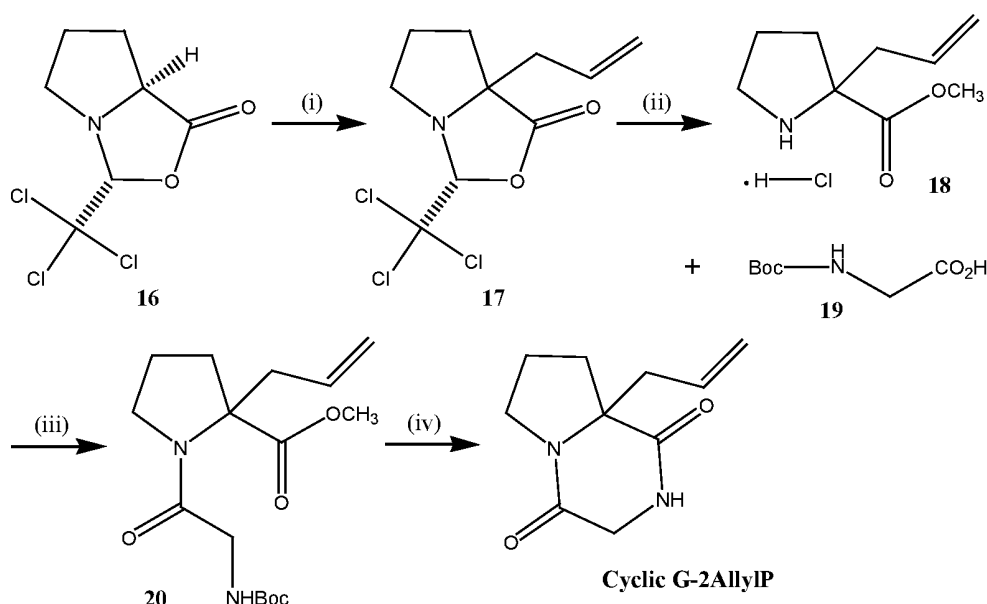


Схема 3: Реагенты, условия и выходы: (i) LDA, THF, -78°C , аллилбромид, $-78 \rightarrow -30^\circ\text{C}$, N_2 , 4 ч (60%); (ii) ацетилхлорид, CH_3OH , нагрев с обратным холодильником, N_2 , 24 ч (63%); (iii) Et_3N , BocPCl , CH_2Cl_2 , КТ, N_2 , 19,5 ч (45%); (iv) TFA, CH_2Cl_2 , 1 ч, затем Et_3N , CH_2Cl_2 , 23 ч (37%).

(2R,5S)-4-Аллил-2-трихлорметил-1-аза-3-оксабицикло[3.3.0]октан-4-он 17

$n\text{-BuLi}$ (1,31 М, 9,93 см^3 , 13,0 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору диизопропиламина (1,82 см^3 , 13,0 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (20 см^3)

при температуре -78°C в атмосфере азота. Раствор перемешивали в течение 5 мин., нагревали до 0°C , перемешивали в течение 15 мин., затем добавляли по каплям к раствору прооксазолидинона **16** (2,12 г, 8,68 ммоль) в сухом тетрагидрофуране (40 см^3) при -78°C в течение 20 мин. и реакционную смесь перемешивали еще 30 мин., затем добавляли по каплям аллилбромид ($2,25\text{ см}^3$, 26,0 ммоль) в течение 5 минут. Раствор медленно нагревали до -30°C в течение 4 ч, гасили H_2O (30 см^3), смесь нагревали до комнатной температуры и экстрагировали хлороформом ($3 \times 80\text{ см}^3$). Объединенные органические экстракты сушили (MgSO_4), фильтровали и выпаривали досуха *в вакууме* с получением темно-коричневого полутвердого вещества, которое очищали колоночной флэш-хроматографией (10-20% этилацетат-гексан; градиентное элюирование) с получением *оксазолидинона* **17** (1,48 г, 60 %) в виде оранжевого масла, затвердевающего при 0°C , для которого данные ЯМР согласуются с литературными данными: δ_{H} (400 МГц, CDCl_3) 1,58–1,92 (2H, м, $\text{Pro}\gamma\text{-H}_2$), 1,96–2,14 (2H, м, $\text{Pro}\beta\text{-H}_2$), 2,50–2,63 (2H, м, $\text{Pro}\delta\text{-H}_2$), 3,12–3,23 (2H, м, $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$), 4,97 (1H, с, NCH), 5,13–5,18 (2H, м, CH=CH_2) и 5,82–5,92 (1H, м, CH=CH_2); δ_{C} (100 МГц, 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 (четв., $\text{Pro}\alpha\text{-C}$), 100,4 (четв., CCl_3), 102,3 (CH, NCH), 119,8 (CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH=CH}_2$), 131,9 (CH, $\text{CH}_2\text{CH=CH}_2$) и 176,1 (четв., C=O); m/z (CI^+) 284,0009 [$(\text{M}+\text{H})^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{35}\text{Cl}_3\text{NO}_2$ требует 284,0012], 285,9980 [$(\text{M}+\text{H})^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{ClNO}_2$ требует 285,9982], 287,9951 [$(\text{M}+\text{H})^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{35}\text{Cl}^{37}\text{Cl}_2\text{NO}_2$ требует 287,9953] и 289,9932 [$(\text{M}+\text{H})^+$. $\text{C}_{10}\text{H}_{13}^{37}\text{Cl}_3\text{NO}_2$ требует 289,9923].

Метил L-2-аллилпролината гидрохлорид 18

Охлажденный льдом раствор оксазолидинона **17** (0,64 г, 2,24 ммоль) в сухом метаноле (15 см^3) по каплям обрабатывали раствором ацетилхлорида (0,36 см³, 5,0 ммоль) в метаноле (5 см^3). Раствор нагревали с обратным холодильником в течение 24 ч, затем охлаждали и растворитель удаляли при пониженном давлении. Полученное коричневое масло растворяли в толуоле (40 см^3) и концентрировали досуха для удаления остаточного тионилхлорида и метанола, затем очищали колоночной флэш-хроматографией (5-10% $\text{CH}_3\text{OH-CH}_2\text{Cl}_2$, градиентное элюирование) с получением *гидрохлорида 18* (0,29 г, 63 %) в виде зеленого твердого вещества, для которого данные ЯМР согласуются с литературными данными: δ_{H} (300 МГц, CDCl_3) 1,72–2,25 (3H, м, $\text{Pro}\delta\text{-H}_A\text{H}_B$ и $\text{Pro}\gamma\text{-H}_2$), 2,32–2,52 (1H, м, $\text{Pro}\beta\text{-H}_A\text{H}_B$), 2,72–3,10 (2H, м, $\text{Pro}\delta\text{-H}_2$), 3,31–

3,78 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 3,84 (3H, с, CO_2CH_3), 5,20-5,33 (2H, м, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,75-5,98 (1H, м, $\text{CH}=\text{CH}_2$) и 8,06 (1H, ушир. с, N-H); m/z (CI+) 170,1183 [(M+H)⁺. $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{NO}_2$ требует 170,1181].

5 *Метил-N-трет-бутилоксикарбонил-глицерил-L-2-аллилпролинат 20*

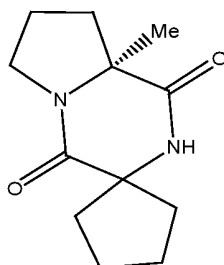
Сухой триэтиламин (0,28 см³, 2,02 ммоль) добавляли по каплям к раствору гидрохлорида **18** (0,13 г, 0,63 ммоль) и *N*-трет-бутилоксикарбонил-глицина **19** (0,14 г, 0,82 ммоль) в сухом дихлорметане (35 см³) в атмосфере азота при комнатной температуре и реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин. Добавляли бис(2-
10 оксо-3-оксазолидинил)фосфинхлорид (BoPCl , 97%) (0,20 г, 0,80 ммоль) и раствор перемешивали в течение 19,5 ч, затем последовательно промывали 10%-ным водным раствором хлористоводородной кислоты (35 см³) и насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (35 см³), сушили (MgSO_4), фильтровали и выпаривали досуха
в вакууме. Очистка полученного остатка колоночной флэш-хроматографией (40%
15 этилацетат-гексан) дала на выходе дипептид **20** (0,09 г, 45%) в виде светло-желтого масла: $[\alpha]_D^{+33,8}$ (с 0,83 в CH_2Cl_2) ; $\nu_{\text{макс.}}$ (пленка)/см⁻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 и 679; δ_{H} (300 МГц, CDCl_3) 1,42 [9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1,93-2,08 (4H, м, $\text{Pro}\beta\text{-H}_2$ и $\text{Pro}\gamma\text{-H}_2$), 2,59-2,67 (1H, м, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}=\text{CH}_2$), 3,09-3,16 (1H,
20 м, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{CH}=\text{CH}_2$), 3,35-3,44 (1H, м, $\text{Pro}\delta\text{-H}_A\text{H}_B$), 3,56-3,62 (1H, м, $\text{Pro}\delta\text{-H}_A\text{H}_B$), 3,70 (3H, с, OCH_3), 3,89 (2H, д, J 4,2, $\text{Gly}\alpha\text{-H}_2$), 5,06-5,11 (2H, м, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,42 (1H, ушир.с, Gly-NH) и 5,58-5,72 (1H, м, $\text{CH}=\text{CH}_2$); δ_{C} (75 МГц, 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 (четв., $\text{Pro}\alpha\text{-C}$), 79,5 [четв., $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 119,4 (CH_2 , $\text{CH}=\text{CH}_2$), 132,9 (CH , $\text{CH}=\text{CH}_2$), 155,7 (четв., NCO_2), 166,9 (четв., Gly-CON) и 173,8
25 (четв., CO_2CH_3); m/z (EI+) 326,1845 (M^+ . $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ требует 326,1842).

(8aS)-Аллил-гексагидротирроло[1,2-а]тиразин-1,4-дион (циклический G-2AllylP)

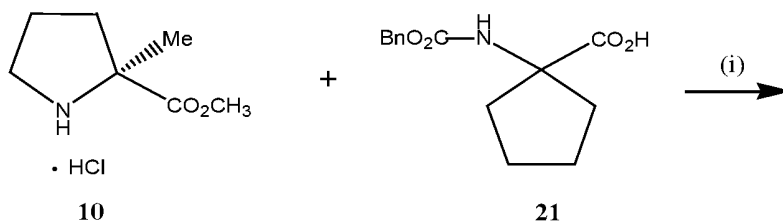
30 К раствору дипептида **20** (0,09 г, 0,28 ммоль) в дихлорметане (9 см³) при комнатной температуре по каплям добавляли трифторуксусную кислоту (1 см³, 0,013 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч в атмосфере азота. Раствор

выпаривали при пониженном давлении с получением бесцветного масла, которое растворяли в дихлорметане (10 см³), добавляли сухой триэтиламин (0,096 см³, 0,69 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 4,5 ч, после чего добавляли триэтиламин (0,096 см³, 0,69 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5
ночи, концентрировали досуха с получением зеленого масла, которое очищали колоночной флэш-хроматографией (10% CH₃OH-CH₂Cl₂) с получением **циклического G-2AllylP** (20 мг, 37%) в виде твердого вещества белого цвета с желтоватым оттенком: т.пл. 106-109°C; [α]_D -102,7 (с 0,95 в CH₂Cl₂); ν_{макс.} (CH₂Cl₂)/см⁻¹ 3456, 3226, 2920, 1666, 1454, 1325, 1306, 1299, 1210, 1133, 1109, 1028, 1010, 949, 928, 882, 793, 761 и 733; δ_H (400 МГц, CDCl₃) 1,92-2,01 (2H, м, Proγ-H₂), 2,09-2,16 (2H, м, Proβ-H₂), 2,39-2,56 (2H, м, CH₂CH₂=CH₂), 3,46- 3,53 (1H, м, Proδ-H_{AH_B}), 3,78-3,87 (2H, м, Proδ-H_{AH_B} и Glyα-H_{AH_B}), 4,09 (1H, д, J 17,2, Glyα-H_{AH_B}), 5,16-5,20 (2H, м, CH=CH₂), 5,73-5,84 (1H, м, CH=CH₂) и 7,17 (1H, ушир.с, N-H); δ_C (100 МГц, CDCl₃) 20,1 (CH₂, Proγ-C), 34,1 (CH₂, Proβ-C), 41,7 (CH₂, CH₂CH₂=CH₂), 44,9 (CH₂, Proδ-C), 46,4 (CH₂, Glyα-C), 67,2 (четв., Proα-C), 120,9 (CH₂, CH=CH₂), 131,0 (CH, CH=CH₂), 163,4 (четв., NCO) и 171,7 (четв., CONH); m/z (EI⁺) 195,1132 (M⁺. C₁₀H₁₅N₂O₂ требует 195,1134).

Пример 5: Синтез (8aS)-метил-спиро[циклопентана-1,3(4H)-тетрагидропирроло[1,2-a]пирозин]-1,4(2H)-диона (циклический циклопентил-G-2-MeP)



5



10

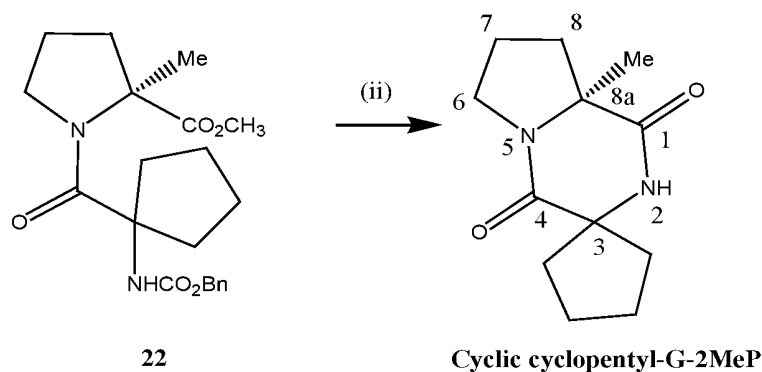


Схема 4: Реагенты, условия и выходы: (i) Et₃N, HOAt, CIP, 1,2-дихлорэтан, 83°C, N₂, 19 ч (23%); (ii) 10% Pd/C, CH₃OH, КТ, 17 ч (65%).

N-бензилоксикарбонил-1-аминоциклопентан-1-карбоновая кислота **21**

Раствор бензилхлорформиата (0,290 г, 1,1 ммоль) в диоксане (2,5 см³) по каплям добавляли к раствору 1-аминоциклопентанкарбоновой кислоты (Fluka) (0,2 г, 1,54 ммоль) и карбоната натрия (0,490 г, 4,64 ммоль) в воде (5 см³) при 0°C. Перемешивание продолжали при комнатной температуре в течение ночи и реакционную смесь промывали эфиром. Водный слой подкисляли 2М соляной кислотой, экстрагировали этилацетатом, сушили (Na₂SO₄), фильтровали и удаляли растворитель с получением карбамата **21** (0,253 г, 62%) в виде масла, затвердевающего при стоянии. Карбамат **21** представляет собой смесь конформеров 70:30, как было показано с помощью анализа ¹H ЯМР (отношение было оценено по интегрированию резонансов при δ 5,31 и 7,29-7,40, отнесенных к протонам N-H мажорных и минорных конформеров, соответственно): т.пл. 70-80°C (лит. ¹ 82-86°C, этилацетат, петролейный эфир); δ_H (400 МГц; CDCl₃; Me₄Si) 1,83 (4H, ушир.с, 2 х циклопентил-H₂), 2,04 (2H, ушир.с, циклопентил-H₂), 2,20-2,40 (2H, м, циклопентил-H₂), 5,13 (2H, ушир.с, OCH₂Ph), 5,31 (0,7H, ушир.с, N-H) и 7,29-7,40 (5,3H, м, Ph и N-H*); δ_C (100 МГц; CDCl₃) 24,6 (CH₂, циклопентил-C), 37,5 (CH₂, циклопентил-C), 66,0 (четв., циклопентил-C), 66,8 (CH₂,

OCH₂Ph), 128,0 (CH, Ph), 128,1 (CH, Ph), 128,4 (CH, Ph), 136,1 (четв., Ph), 155,8 (четв., NCO₂) и 179,5 (четв., CO₂H).

Метил-N-бензилоксикарбонилциклопентил-глицил-L-2-метилпролилат 22

5 Сухой триэтиламин (0,19 см³, 1,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору гидрохлорида **10** (78 мг, 0,43 ммоль), карбоновой кислоты **21** (0,15 г, 0,56 ммоль) и 1-гидрокси-7- азабензотриазола (Acros) (15 мг, 0,11 ммоль) в сухом 1,2-дихлорэтано (24 см³) в атмосфере азота при комнатной температуре, и реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин. Добавляли 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (CIP) (Aldrich) (0,12 г, 0,43 ммоль) и полученный раствор нагревали с обратным холодильником в течение 19 ч, затем последовательно промывали 10%-ным водным раствором хлористоводородной кислоты (30 см³) и насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (30 см³), высушивали (MgSO₄), фильтровали и выпаривали досуха *в вакууме*. Очистка полученного остатка колоночной флэш-хроматографией (60% этилацетат-гексан) дала на выходе *амид 22* (39 мг, 23%) в виде белого твердого вещества. Анализ ¹³C ЯМР показал, что амид **22** существует в виде *транс:цис*-смеси конформеров карбамата в соотношении 3:1 (соотношение оценено по относительным интенсивностям резонансов при δ 154,1 и 155,7, отнесенных к карбамат-карбонильным C-атомам мажорных и минорных конформеров соответственно): т.пл. 200-203°C; [α]_D -54,5 (с 1,52 в CH₂Cl₂); ν_{макс.} (пленка)/см⁻¹ 3432, 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 и 701; δ_H (400 МГц, CDCl₃) 1,33-1,53 (3H, ушир.м, Proα-CH₃), 1,62-2,20 (11H, м, Proβ-H₂, Proγ-H₂ и 7 х циклопентил-H), 2,59-2,71 (1H, ушир.м, 1 х циклопентил-H), 3,31-3,42 (1H, ушир.м, Proδ-H_AH_B), 3,58-3,79 (4H, ушир.м, OCH₃ и Proδ-H_AH_B), 4,92-5,17 (3H, м, N-H и OCH₂Ph) и 7,27-7,42 (5H, с, Ph); δ_C (100 МГц, CDCl₃) 21,7 (CH₃, Proα-CH₃), 24,1* (CH₂, циклопентил-C), 24,2 (CH₂, циклопентил-C), 24,4 (CH₂, Proγ-C), 24,5 (CH₂, циклопентил-C), 36,4 (CH₂, циклопентил-C), 37,1 (CH₂, циклопентил-C), 37,2* (CH₂, циклопентил-C), 37,7 (CH₂, Proβ-C), 38,2* (CH₂, циклопентил-C), 48,5 (CH₂, Proδ-C), 52,1 (CH₃, OCH₃), 66,6 (CH₂, OCH₂Ph), 66,9 (четв., Proα-C), 67,2 (четв., Glyα-C), 127,8 (CH, Ph), 128,2 (CH, Ph), 128,4 (CH, Ph), 136,6 (четв., Ph), 154,1 (четв., NCO₂), 155,7*

* обозначает резонанс, отнесенный к минорному конформеру.

(четв., NCO₂), 170,5 (четв., Gly-CO) и 174,7 (четв., CO₂CH₃); *m/z* (EI⁺) 388,1991 (M⁺. C₂₁H₂₈N₂O₅ требует 388,1998).

(8aS)-Метил-спиро[циклопентан-1,3(4H)-тетрагидротиролол[1,2-а]тиразин]-
1,4(2H)-дион (циклический циклопентил-G-2MeP)

К раствору амида **22** (54 мг, 0,14 ммоль) в метаноле (4,6 см³), добавляли 10% Pd на активированном угле (2,2 мг, 0,021 ммоль) и сосуд продували газообразным водородом. Полученную суспензию энергично перемешивали в атмосфере водорода в течение 17 ч, затем фильтровали через слой Celite™ с метанолом (15 см³). Фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении с получением желтого полутвердого вещества, которое очищали колоночной флэш-хроматографией с обращенной фазой C18 (0-10% CH₃CN/H₂O; градиентное элюирование) с получением **циклопентил-G-2MeP** (20 мг, 65%) в виде желтого твердого вещества: т.пл. 160-163°C; [α]_D -97,9 (с 1,61 в CH₂Cl₂); ν_{макс.} (пленка)/см⁻¹ 3429, 2956, 2928, 2856, 1667, 1643, 1463, 1432, 1373, 1339, 1254, 1224, 1175, 1086, 1048, 976, 835, 774 и 730; δ_H (300 МГц, CDCl₃) 1,47 (3H, ушир.с, 8a-CH₃), 1,56-2,19 (11H, м, 8-H₂, 7-H₂ и 7 х циклопентил), 2,58-2,67 (1H, ушир.м, 1 х циклопентил), 3,48-3,56 (1H, м, 6-H_AH_B), 3,72-3,82 (1H, м, 6-H_AH_B) и 6,56 (1H, ушир.с, N-H); δ_C (75 МГц, CDCl₃) 19,9 (CH₂, 7-C), 24,6 (CH₂, циклопентил), 24,92 (CH₃, 8a-CH₃), 24,93 (CH₂, циклопентил), 36,0 (CH₂, 8-C), 38,7 (CH₂, циклопентил), 41,9 (CH₂, циклопентил), 44,8 (CH₂, 6-C), 64,3 (четв., 8a-C), 66,8 (четв., 3-C), 168,3 (четв., 4-C) и 172,2 (четв., 1-C); *m/z* (EI⁺) 222,1369 (M⁺. C₁₂H₁₈N₂O₂ требует 222,1368).

Тестирование *in vitro* и *in vivo*

Следующие фармакологические исследования демонстрируют эффективность циклического G-2-AllylP в ослаблении симптомов СПХ. Они не имеют ограничительного характера, и другие композиции и способы по данному изобретению могут быть разработаны без излишних экспериментов. Все эти композиции и способы считаются частью настоящего описания сущности изобретения. Все следующие эксперименты проводились с использованием протоколов, разработанных в соответствии с руководящими принципами,

одобренными Комитетом по контролю этических норм обращения с животными Университета Чили или аналогичными регулирующими органами.

Пример 6: Доставка cG2-AllylP в головной мозг после перорального введения

- 5 В исследовании *in vivo* самцы крыс линии Спрег-Дули (Sprague Dawley) (в возрасте 14 недель) получали однократную дозу cG-2-AllylP, либо 100 мг/кг, либо 200 мг/кг через пероральный желудочный зонд. Спинномозговую жидкость (СМЖ) и цельную кровь собирали через 1,5 и 4 часа после введения дозы, а ткань головного мозга собирали через 4 часа после введения дозы для оценки воздействия cG-2-AllylP.
- 10 В **Таблице 1** ниже показаны уровни cG-2-AllylP в крови, СМЖ и головном мозге, а также уровни в СМЖ и крови через 1,5 часа после введения дозы.

Концентрация cG-2-AllylP в СМЖ, крови и головном мозге у крыс дикого типа			
	Средний объём потребления исследуемого препарата		
Доза	100 мг/кг	200 мг/кг	200:100 мг/кг
1,5 часа после введения дозы			
СМЖ	40,4 мкг/мл	82,2 мкг/мл	2,03:1
Кровь	58,5 мкг/мл	116,0 мкг/мл	1,98:1
4 часа после введения дозы			
СМЖ	11,0 мкг/мл	24,7 мкг/мл	2,25:1
Кровь	15,6 мкг/мл	34,2 мкг/мл	2,19:1
Мозг	22,6 мкг/мл	37,0 мкг/мл	1,63:1
СМЖ = спинномозговая жидкость.			

- Отмечалось приблизительно пропорциональное увеличение концентрации cG-2-AllylP в крови и СМЖ через 1,5 часа и в крови, СМЖ и головном мозге через 4 часа после однократного перорального введения дозы. Через 4 часа после введения дозы концентрация cG-2-AllylP в крови и ткани головного мозга была примерно эквивалентной.

Пример 7: Эффекты cG-2-AllylP в $Tcf4^{+/-}$ Мышиная модель синдрома Питта-Хопкинса

А. Релевантность мышинной модели

5 Было создано несколько генетически модифицированных моделей СПХ на грызунах (Thaxton et al, 2018; Sweatt, 2013). Эти модели имеют общую основу вокруг гетерозиготного $Tcf4$ ($Tcf4^{+/-}$). Гаплонедостаточные мыши ($Tcf4^{+/-}$) были охарактеризованы как модельная система для СПХ (Kennedy et al, 2016). Работа Kennedy et al (2016) показала, что мыши $Tcf4^{+/-}$ демонстрируют поведение, соответствующее когнитивной и двигательной дисрегуляции, связанной с СПХ, включая отвращение к социальному взаимодействию, дефицит способности к обучению и нарушение крупной моторики.

Б. Экспериментальный план

15 Исследования поведения *in vivo* проводились на мутантных мышах $Tcf4^{+/-}$ и одноплетных контрольных мышах дикого типа (WT) от Gen.DDI (Сантьяго, Чили). Контрольные одноплетники состоят из генотипов $Tcf4^{+/+}$. Все использованные мутантные мыши $Tcf4$ были гетерозиготными по мутации $Tcf4$, потому что гомозиготные мутации $Tcf4$ приводят к эмбриональной или постнатальной летальности в 1 день жизни. Для поведенческих экспериментов использовали по десять мышей в группе лечения в возрасте 14 недель. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями Закона Великобритании о животных (научные процедуры) 1986 г. Мышей содержали в пластиковых клетках (35 × 30 × 12 см по 5 штук в каждой) и приучали к помещениям для животных не менее недели перед началом теста. Комнатная температура (21°C ± 2°C), относительная влажность (55% ± 5%), 12-часовой цикл чередования света и темноты (свет включали с 7:00 до 19:00) и воздухообмен контролировались автоматически. Животные имели свободный доступ к кормовым гранулам, имеющимся в продаже, и воде. Тестирование проводили в световую фазу суточного цикла, при этом порядок тестирования определялся принципом проведения наиболее стрессовых тестов в последнюю очередь. Анализы были разработаны для воспроизведения и расширения исходной поведенческой характеристики мышей $Tcf4^{+/-}$. Мышей $Tcf4^{+/-}$ и контрольных мышей WT лечили в течение 6 недель до тестирования и тестировали через 30 минут после введения дозы cG-2-AllylP, как описано в Таблице 2 ниже.

Режимы дозирования					
№ группы	Группы тестирования	Перорально	Концентрация	Лечение	Кол-во
1	WT + Носитель	о.р.		BID, за 30 мин до теста	10
2	KO + Носитель	о.р.		BID, за 30 мин до теста	10
3	WT + cG-2-AllylP	о.р.	100 мг/кг	BID, за 30 мин до теста	10
4	KO + cG-2-AllylP	о.р.	100 мг/кг	BID, за 30 мин до теста	10
5	WT + cG-2-AllylP	о.р.	200 мг/кг	BID, за 30 мин до теста	10
6	KO + cG-2-AllylP	о.р.	200 мг/кг	BID, за 30 мин до теста	10
BID = дозирование два раза в день; KO = нокаутные мыши; о.р. = перорально; WT = контроль однопометников дикого типа.					

Пример 8: Гипоактивность в открытом поле

Тест "Открытое поле" (ОП) - это комбинированный тест, который используется для определения тревожности/гиперактивности, а также для привыкания к новой среде, одна из самых элементарных форм обучения, в которой снижение исследовательской активности в зависимости от многократного воздействия одной и той же среды принимается за индекс памяти. Как правило, исследование выполняется посредством двух сеансов воздействия в открытом поле, 10-минутного и 24-часового сеансов привыкания.

Устройство, используемое для этого исследования, представляет собой закрытую арену из серого ПВХ размером 50 x 30 см, разделенную на квадраты по 10 см. Мышей доставляют в помещение для проведения эксперимента за 5-20 мин до тестирования. Мышь помещают в угловой квадрат лицом к углу и наблюдают в течение 3 мин. Подсчитывается количество посещенных квадратов (все тело) и количество вертикальных стоек (обе передние лапы оторваны от земли, но не как часть груминга). Отмечается также задержка до первой вертикальной стойки. Движение мыши по полю записывалось устройством видеотрекинга в течение 300 с (vNT4.0, Viewpoint). Задержка для мыши, чтобы войти в самую яркую, центральную часть поля, общее время, проведенное в этой центральной области, и общая активность (с точки зрения длины пути в сантиметрах) были зарегистрированы.

Тест открытого поля (ОП) - это тест, используемый для характеристики исследовательского поведения, тревожности и/или гипо- и гиперактивности у животных, привыкших к ежедневному обращению в новых и знакомых условиях. Во

время пребывания в открытом поле мыши привыкают к окружающей среде и, таким образом, меньше исследуют ее, уменьшая количество передвижений, которые они демонстрируют с течением времени.

В настоящем эксперименте мы регистрировали передвижение и вертикальные стойки во время первоначального воздействия (T1), во время второго воздействия через 10 минут (T2) и во время третьего воздействия через 24 часа (T3). Неспособность снизить двигательную активность или количество вертикальных стоек через 10 минут и 24 часа указывает на дефицит кратковременной и долговременной памяти соответственно.

Чтобы оценить, эффективен ли cG-2-AllylP для лечения гипоактивности при СПХ, мы провели исследования в открытом поле. Более низкие баллы по показателям локомоции в открытом поле были обнаружены у мышей *Tcf4*^{+/-} по сравнению с однопометниками WT в течение 30-минутной тестовой сессии.

Результаты показаны на **ФИГ. 2**.

Относительное пройденное расстояние показано по вертикальной оси, а животные и их лечение показаны по горизонтальной оси. Передвижение мышей дикого типа (WT), которым вводили только носитель (левая колонка), принималось за 100%. Мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие только носитель (вторая колонка слева), демонстрировали только около 60% подвижности по сравнению с мышами дикого типа и, следовательно, были признаны гипоактивными. Мыши WT, получавшие NNZ-2591 (cG-2-AllylP) (третья колонка слева), демонстрировали немного более высокую подвижность, чем мыши WT, получавшие носитель, но это различие было небольшим и статистически незначимым. В отличие от мышей *Tcf4*^{+/-}, получавших только носитель, мы неожиданно обнаружили, что мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие 100 мг/кг NNZ-2591 (cG-2-AllylP); четвертая колонка слева), демонстрировали почти идентичную подвижность, что и мыши WT, получавшие только носитель. Мыши WT, получавшие 200 мг/кг NNZ-2591 (cG-2-AllylP); пятая колонка слева), демонстрировали почти такую же подвижность, что и мыши WT, получавшие либо только носитель, либо 100 мг/кг NNZ-2591 (cG-2-AllylP). Эффект NNZ-2591 (cG-2-AllylP) был статистически значимым. Мы пришли к выводу, что NNZ-2591 (cG-2-AllylP) в дозе 100 мг/кг или 200 мг/кг нормализовал гипоактивность от легкой до умеренной у мышей *Tcf4*^{+/-}.

Открытое поле (гипоактивность)

ANOVA = дисперсионный анализ; ns = незначимый; WT = контроль однопометников дикого типа;

**** = $p < 0,00001$

Резюме дисперсионного анализа (ANOVA)	
F	166,2
P-значение	<.00001
Сводные P-значения	****
Значительная разница между средними значениями ($P < 0,05$)?	Да
R-квадрат	0,939

5

Тест множественного сравнения Тьюки	Сводные данные	P-значение
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + носитель	****	<0,00001
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,1546
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	>0,9999
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,3821
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9782
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP 1 (200 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,1137
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9957
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,5145
$Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,3037
$Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9524
WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,8203

Пример 9: Уход за собой (груминг)

Повторяющийся уход за собой - особенность мышей. Мыши $Tcf4^{+/-}$ демонстрируют повышенный уход за собой по сравнению с мышами дикого типа.

Чтобы увидеть, может ли NNZ-2591 (сG-2-AllylP) нормализовать поведение по уходу за собой у мышей *Tcf4^{+/-}* мы провели серию исследований, как показано на **ФИГ. 3**.

Количество времени, затраченное на уход за собой в секундах в течение 10-минутного периода тестирования, показано по вертикальной оси, а животные и их лечение показаны по горизонтальной оси. Мыши дикого типа (WT), которым вводили только носитель (левая колонка), ухаживали за собой в течение примерно 110 секунд. У мышей *Tcf4^{+/-}*, получавших только носитель (вторая колонка слева), наблюдалось усиление ухода за собой по сравнению с мышами WT, получавшими только носитель. Мыши WT, получавшие 100 мг/кг NNZ-2591 (сG-2-AllylP; третья колонка слева), ухаживали за собой примерно столько же времени, сколько и мыши WT, получавшие только носитель. Это различие не было статистически значимым. Мы неожиданно обнаружили, что мыши *Tcf4^{+/-}*, получавшие 100 мг/кг NNZ-2591 (сG-2-AllylP; четвертая колонка слева) или 200 мг/кг (правая колонка), тратили на уход за собой примерно столько же времени, сколько и мыши WT, получавшие носитель, и меньше времени, затрачиваемого на уход за собой у мышей *Tcf4^{+/-}*, получавших только носитель. Это статистически значимое открытие было совершенно неожиданным для мышей *Tcf4^{+/-}*.

Уход за собой/повторяющееся поведение

ANOVA = дисперсионный анализ; ns = незначимый; WT = контроль однопометников дикого типа;

**** = $p < 0,00001$

Резюме дисперсионного анализа (ANOVA)	
F	53,01
P-значение	< 0,0001
Сводные P-значения	****
Значительная разница между средними значениями ($P < 0,05$)?	Да
R-квадрат	0,8307

Тест множественного сравнения Тьюки	Сводные данные	P-значение
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель	****	0,0001
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	>0,9999
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,0567
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	>0,9999
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9149
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,0645
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	>0,9999
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9313
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,0645
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,4130
WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9313

Мы пришли к выводу, что усиление повторяющегося поведения (уход за собой) как следствие мутации *Tcf4*^{+/-} было скорректировано лечением cG-2-AllylP в дозах либо 100 мг/кг, либо 200 мг/кг.

5

Пример 10: Условно-рефлекторное замирание

Выработка условного рефлекса замирания в связи с переживанием чувства страха, обусловленного либо событием, либо контекстом, представляет собой форму ассоциативного обучения, которая хорошо изучена у многих видов. У мышей страх часто проявляется в виде остановки движения, также известной как замирание. Замирание является адаптивной функцией, присущей видам-жертвам, потому что хищники часто находят движущуюся добычу. Зависимая мера, используемая в контекстной (отсроченной) выработке условно-рефлекторного страха, представляет собой реакцию замирания, которая возникает вследствие сочетания безусловного стимула (электроболевое раздражение лап животных) с условным стимулом (УС;

10

15

например, слышимый звуковой сигнал), определенного контекста и/или подобного раздражителя. Если в контексте выработки условного рефлекса применяется электроболевое раздражение лап животных в сочетании со звуковым сигналом, обучение будет происходить не только по сигналу, но и по контексту.

5 Контекстное условно-рефлекторное замирание в связи с переживанием чувства страха является базовой процедурой выработки условного рефлекса. Оно включает в себя взятие животного и помещение его в новую среду, применение аверсивного (вызывающего отрицательную реакцию) раздражителя, а затем его удаление. Когда животное возвращается в ту же среду, оно обычно демонстрирует реакцию замирания, 10 если оно помнит и связывает эту среду с аверсивным раздражителем. Замирание является реакцией на страх, который определяется как "отсутствие движения, кроме дыхания". Такое замирание может длиться от секунд до минут в зависимости от силы аверсивного раздражителя, количества представлений и степени обучения, достигнутого субъектом.

15 Животные с мутацией *Tcf4*^{+/-} демонстрируют менее выраженное замирание, чем мыши дикого типа. Такое неадаптивное поведение может иметь серьезные последствия. Поэтому, чтобы определить, может ли NNZ-2591 (сG-2-AllylIP) восстанавливать нормальную условно-рефлекторную реакцию на страх у мышей *Tcf4*^{+/-}, мы провели серию исследований. На **ФИГ. 4** представлены результаты этих 20 исследований.

Процент времени, проведенного в замирании в течение 5-минутного тестового периода, показан по вертикальной оси **ФИГ. 4**. Животные и их лечение показаны по горизонтальной оси.

Мыши дикого типа (WT), которым вводили только носитель (левая колонка), 25 около 50% времени проводили в состоянии замирания. Мыши *Tcf4*^{+/-} (вторая колонка слева), напротив, демонстрировали существенное сокращение времени, затрачиваемого на замирание. Это было статистически значимо.

Мыши WT, которым вводили 100 мг/кг (третья колонка слева) или 200 мг/кг (пятая колонка слева) NNZ-2591 (сG-2-AllylIP), демонстрировали примерно такое же 30 количество времени в состоянии замирания, что и мыши WT, которым вводили носитель.

В отличие от мышей *Tcf4*^{+/-}, получавших носитель, мыши, получавшие либо 100 мг/кг (четвертая колонка слева), либо 200 мг/кг (правая колонка), проводили такое же

время в состоянии замирания, что и мыши WT. Разница между животными дикого типа и животными, получавшими 200 мг/кг, не была статистически значимой. Однако количество времени, проведенное в состоянии замирания у мышей, получавших NNZ-2591 (сG-2-AllylP), было значительным и статистически значимо выше, чем у мышей *Tcf4*^{+/-}, получавших носитель.

Условно-рефлекторное замирание

ANOVA = дисперсионный анализ; ns = незначимый; WT = контроль однопометников дикого типа;

**** = p<0,0001; *** = p<0,001; * = p<0,05

Резюме дисперсионного анализа (ANOVA)	
F	169,4
P-значение	<0,0001
Сводные P-значения	****
Значительная разница между средними значениями (P<0,05)?	Да
R-квадрат	0,9401

Тест множественного сравнения Тьюки	Сводные данные	P-значение
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель	****	<0,0001
WT + носитель против WT + сG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,8232
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (100 мг/кг)	*	0,0109
WT + носитель против WT + сG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,6468
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9492
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против WT + сG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против WT + сG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
WT + сG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,2139
WT + сG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + сG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,0811
WT + сG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,2819
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + сG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + сG-2-AllylP	***	0,0006

(200 мг/кг)		
WT+ cG-2-AllylP (200 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9897

Пример 11: Социальное взаимодействие

Социальное признание и социальная память у людей очень важны. Люди с СПХ демонстрируют более низкий уровень социального признания и памяти по сравнению с людьми без СПХ. Точно так же мыши *Tcf4*^{+/-} демонстрируют существенно сниженное социальное взаимодействие по сравнению с мышами дикого типа. Поэтому, чтобы определить, может ли NNZ-2591 (cG-2-AllylP) быть эффективным для нормализации этого состояния, мы провели серию исследований на мышах, в которых мы определили количество времени, которое мыши тратили на обнюхивание новой мыши.

Для проведения этих исследований мышей оценивали по количеству времени, затрачиваемому на обнюхивание новой мыши при повторных воздействиях, чтобы вызвать знакомство и восстановление высокого уровня обнюхивания при введении нового животного-стимула. Измеряли количество "подходов" для обнюхивания в каждой из групп животных. Результаты этих исследований показаны на **ФИГ. 5**. Время, затраченное на обнюхивание новой мыши, показано по вертикальной оси, а животные и лечение показаны по горизонтальной оси.

Время, затрачиваемое на обнюхивание новой мыши мышами дикого типа (WT), которым вводили только носитель (левая колонка), использовали в качестве контроля в эксперименте. Мыши *Tcf4*^{+/-}, которым вводили только носитель (вторая колонка слева), демонстрировали значительно меньшее количество времени, в течение которого они обнюхивали новую мышь. Мыши WT, получавшие либо 100 мг/кг (третья колонка слева), либо 200 мг/кг (пятая колонка слева), показали почти одинаковое время, потраченное на обнюхивание новой мыши. Мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие cG-2-AllylP в дозах либо 100 мг/кг (четвертая колонка слева), либо 200 мг/кг (правая колонка), демонстрировали существенное и статистически значимое увеличение времени, проведенного с новой мышью по сравнению с мышами *Tcf4*^{+/-}, которым вводили только носитель.

Коммуникабельность

ANOVA = дисперсионный анализ; ns = незначимый; WT = контроль однопометников дикого типа;

**** = $p < 0,00001$

Тест множественного сравнения Тьюки	Сводные данные	Р-значение
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + носитель	****	<0,0001
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	>0,9999
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,2590
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,8811
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	>0,9999
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,2321
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,8553
$Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,2590
$Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,8811
WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,8811

5 Пример 12: Строительство гнезда

Строительство гнезда – это деятельность, необходимая мышам для выращивания потомства, и показатель социальной адаптации и повседневной деятельности. Мыши $Tcf4^{+/-}$ строят гнезда значительно более низкого качества, чем мыши дикого типа. Поэтому, чтобы определить, может ли NNZ-2591 (cG-2-AllylP) восстановить качество строительства гнезд, мы провели серию исследований. Результаты показаны на **ФИГ. 6**. Вертикальная ось показывает качество строительства гнезда по шкале от 1 до 5, а горизонтальная ось показывает животных и способы лечения.

Мыши дикого типа, получавшие только носитель, демонстрировали качество строительства гнезда около 5. Напротив, мыши $Tcf4^{+/-}$, получавшие только носитель (вторая колонка слева), строили гнезда значительно более низкого качества. Животные

дикого типа (WT), получавшие либо 100 мг/кг (NNZ-2591 (cG-2-AllylP; третья колонка слева), либо 200 мг/кг (пятая колонка слева), строили гнезда качества, почти идентичного гнездам мышей WT, получавших носитель. Мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие либо 100 мг/кг (четвертая колонка слева), либо 200 мг/кг NNZ-2591 (cG-2-AllylP; правая колонка), нормализовали качество гнезд до уровней, почти идентичных у мышей WT. Различия в качестве гнезд, построенных мышами *Tcf4*^{+/-}, получавшими NNZ-2591, были существенными и статистически значимо лучше, чем гнезда, построенные мышами *Tcf4*^{+/-}, получавшими только носитель.

10

Тест для оценки повседневной жизни

ANOVA = дисперсионный анализ; ns = незначимый; WT = контроль однопометников дикого типа;

**** = $p < 0,00001$

Резюме дисперсионного анализа (ANOVA)	
F	121,9
P-значение	<0,0001
Сводные P-значения	****
Значительная разница между средними значениями ($P < 0,05$)?	Да
R-квадрат	0,9186

Тест множественного сравнения Тьюки	Сводные данные	P-значение
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель	****	<0,0001
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	>0,9999
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,9951
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9951
WT + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	>0,9999
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + носитель против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,9951
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9951

WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	>0,9999
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	>0,9999
<i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9951
WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг) против <i>Tcf4</i> ^{+/-} + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9951

Пример 13: Сила задних конечностей

Сила задних конечностей является важным показателем способности мыши отпрыгивать от хищника. Однако животные с мутацией *Tcf4*^{+/-} имеют значительно более низкую способность отпрыгивать от хищника, что делает эту мутацию очень серьезной и потенциально опасной для жизни. Сила задних конечностей также считается заменителем двигательной функции человека. Чтобы определить, может ли NNZ-2591 (cG-2-AllylP) обеспечить эффективное лечение этого состояния, мы провели серию исследований, в которых измеряли силу задних конечностей. Эти результаты показаны на **ФИГ. 7**. Вертикальная ось показывает силу в ньютонах (Н), а горизонтальная ось показывает животных и лечение.

Мыши дикого типа, которым вводили только носитель, были способны генерировать усилие около 8 Н. Напротив, мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие носитель (вторая колонка слева), были способны продуцировать только около 0,3 Н. Это существенный и статистически значимый дефицит. Мыши дикого типа (WT), получавшие либо 100 мг/кг NNZ-2591 (третья колонка слева), либо 200 мг/кг (пятая колонка слева), были способны генерировать примерно такие же уровни силы, что и мыши WT, получавшие носитель. Мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие либо 100 мг/кг (четвертая колонка слева), либо 200 мг/кг NNZ-2591 (правая колонка), продуцировали силу, почти идентичную той, которую производят мыши WT. Напротив, мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие либо 100 мг/кг (четвертая колонка слева), либо 200 мг/кг NNZ-2591, были способны продуцировать значительно и статистически значимо большую силу, чем мыши *Tcf4*^{+/-}, получавшие носитель. Таким образом, мы делаем вывод, что слабость и двигательная дисфункция, вызванные СПХ, нормализовались при лечении cG-2-AllylP.

Испытание силы (задние конечности)

ANOVA = дисперсионный анализ; ns = незначимый; WT = контроль однопометников дикого типа;

**** = $p < 0,00001$

Резюме дисперсионного анализа (ANOVA)	
F	28.14
P-значение	<.0001
Сводные P-значения	****
Значительная разница между средними значениями ($P < 0,05$)?	Да
R-квадрат	0,7226

Тест множественного сравнения Тьюки	Сводные данные	P-значение
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + носитель	****	<0,0001
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,9490
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,6371
WT + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9853
WT + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,3631
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
$Tcf4^{+/-}$ + носитель против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	****	<0,0001
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	ns	0,1649
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,6371
WT + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,0616
$Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9490
$Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (100 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,9978
WT + cG-2-AllylP (200 мг/кг) против $Tcf4^{+/-}$ + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	ns	0,7702

Резюме

- 5 Как показано в **Таблице 3**, на примере мышинной модели $Tcf4^{+/-}$, лечение cG-2-AllylP в дозе 200 мг/кг в течение 6 недель восстанавливало все протестированные формы поведения фенотипа СПХ. В дозе 100 мг/кг лечение cG-2-AllylP восстанавливало все протестированные формы поведения, за исключением реакции условно-рефлекторного замирания, которая была улучшена, но оставалась
- 10 существенно отличной от этого показателя у мышей дикого типа.

Таблица 3. Резюме форм поведения, нормализованных к уровням дикого типа						
	Открытое поле	Уход за собой	Условно-рефлекторное замирание	Строительство гнезда	Коммуникативность	Сила
<i>Tcf4^{+/-}</i> + cG-2-AllylP (100 мг/кг)	✓	✓	✗	✓	✓	✓
<i>Tcf4^{+/-}</i> + cG-2-AllylP (200 мг/кг)	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Ссылки:

Все упомянутые патенты и заявки на патенты, а также следующие ссылки полностью включены в настоящее описание посредством ссылки.

- 5 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.
- Bertrand N, Castro DS, Guillemot F. Proneural genes and the specification of neural
10 cell types. *Nat Rev Neurosci.* 2002;3(7):517-530.
- 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>.
- Brockschmidt A, Todt U, Ryu S, et al. Severe mental retardation with breathing
15 abnormalities (Pitt-Hopkins syndrome) is caused by haploinsufficiency of the neuronal bHLH transcription factor TCF4. *Hum Mol Genet.* 2007;16(12):1488-1494.
- 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>.
20
- 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>.
- de Pontual L, Mathieu Y, Golzio C, et al. Mutational, functional, and expression
25 studies of the TCF4 gene in Pitt-Hopkins Syndrome. *Hum Mutat.* 2009;30(4):669-676.
- 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.
- Forrest MP, Waite AJ, Martin-Rendon E, Blake DJ. Knockdown of
30 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>.

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>.

- 5 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>

- 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.

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

- 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.

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>.

- 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>

- 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.

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.

- 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.

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.

Thaxton C, Kloth AD, Clark EP, Moy SS, Chitwood RA, Philpot BD. Common Pathophysiology in Multiple Mouse Models of Pitt-Hopkins Syndrome. *J Neurosci*. 2018;24;38(4):918-936. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1305-17.2017. Epub 2017 Dec 8.

5 UK Animals (Scientific Procedures) Act, 1986.

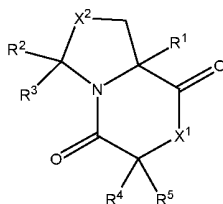
United States Census Bureau, Population Clock; July 12th 2019; 0.045 UTC. [www.census.gov /popclock](http://www.census.gov/popclock).

ПРОМЫШЛЕННАЯ ПРИМЕНИМОСТЬ

Варианты осуществления настоящего изобретения полезны в медицине и ветеринарии и являются промышленно применимыми.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения млекопитающего, страдающего синдромом Питта-Хопкинса, включающий введение млекопитающему соединения, имеющего формулу:



5

или его фармацевтически приемлемой соли или гидрата, где

X^1 выбирают из группы, состоящей из NR' , O и S ;

X^2 выбирают из группы, состоящей из CH_2 , NR' , O и S;

R^1, R^2, R^3, R^4 и R^5 независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -

10 NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из

15 группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

или R^2 и R^3 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_n-CH_2-$, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

при условии, что когда $R^1 = \text{метил}$ и $R^2=R^3=R^4=H$, то $R^5 \neq \text{бензил}$ и;

когда $R^1 = H$, по меньшей мере один из R^2 и $R^3 \neq H$.

2. Способ по п.1, где R^1 = метил.

3. Способ по п.1, где R^1 = аллил.

25 4. Способ по п.1, где $R^2 = R^3 =$ метил и $X^2 = S$.

5. Способ по п.1, где R^1 = аллил, $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$, $X^1 = NH$, $X^2 = CH_2$.

6. Способ по п.1, где R^1 = метил, $R^2=R^3=H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_3-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$.

7. Способ по п.1, где R^1 = метил, $R^2=R^3=H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой

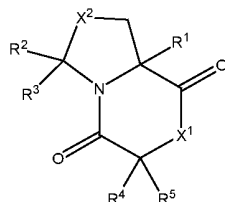
30 $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$.

8. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение указанного соединения вместе с фармацевтически приемлемым эксципиентом или в виде геля.
9. Способ по любому из пп.1-8, отличающийся тем, что способ дополнительно
5 включает введение указанного соединения вместе с фармацевтически приемлемым эксципиентом и связующим веществом.
10. Способ по любому из пп.1-9, отличающийся тем, что способ дополнительно включает введение указанного соединения вместе с фармацевтически приемлемым эксципиентом или в капсуле.
- 10 11. Способ по любому из пп.1-10, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного антиапоптотического соединения, антинекротического соединения, нейропротекторного агента или противовоспалительного агента.
12. Способ по п.11, отличающийся тем, что антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение или нейропротекторный агент выбирают из группы,
15 состоящей из инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), инсулиноподобного фактора роста-II (IGF-II), трансформирующего фактора роста- β 1, активина, гормона роста, фактора роста нервной ткани, белка, связывающего гормон роста, IGFBP-3, основного фактора роста фибробластов, кислотного фактора роста фибробластов, продукта гена *hst/Kfgk*, FGF-3, FGF-4, FGF-6, фактора роста кератиноцитов, андроген-индуцированного фактора роста,
20 *int-2*, гомологичного фактора-1 фактора роста фибробластов (FHF-1), FHF-2, FHF-3, FHF-4, фактора роста кератиноцитов 2, глияльно-активирующего фактора, FGF-10 и FGF-16, цилиарного нейротрофического фактора, мозгового фактора роста, нейротрофина 3, нейротрофина 4, костного морфогенетического белка 2 (BMP-2), нейротрофического фактора, полученного из линии глиальных клеток, зависящего от активности
25 нейротрофического фактора, цитокинового фактора, ингибирующего лейкемию, онкостатина М, интерлейкина, α -интерферона, β -интерферона, γ -интерферона или интерферона консенсуса и TNF- α , клонетиазола; кинуреновой кислоты, Семакса, такролимуса, L-трео-1-фенил-2-деcanoиламино-3-морфолино-1-пропанола, аналога адренокортикотропина-(4-9) (ORG 2766), дизолципина [МК-801], селегилина, NPS1506,
30 GV1505260, МК-801, GV150526, 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамоилбензо(f)хиноксалина (NBQX), LY303070, LY300164 и антитела MECA-367 против MAdCAM-1.

13. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой cG-2-AllylP.
14. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклогексил-G-2MeP.
- 5 15. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклопентил-G-2MeP.
16. Способ по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что указанное лечение приводит к улучшению симптома расстройства, согласно оценке с помощью одного или нескольких клинических тестов, выбранных из группы, состоящей из Aberrant Behavior Checklist
- 10 Community Edition (ABC) (Опросник для оценки аберрантного поведения издание Сообщества), Vineland Adaptive Behavior Scales (Шкала адаптивного поведения Вайнленда), Clinical Global Impression of Severity (CGI-S) (Шкала оценки общего клинического впечатления о тяжести), Clinical Global Impression Improvement (CGI-I) (Шкала оценки общего клинического впечатления об улучшении), Caregiver Strain Questionnaire (CSQ)
- 15 (Опросник для оценки напряжения лица, осуществляющего уход), частоты спайков электроэнцефалограммы (ЭЭГ), общей мощности в частотных диапазонах ЭЭГ, полушарной когерентности частот ЭЭГ, стереотипных движений рук, отслеживания взгляда, вариабельности интервала QTc, вариабельности сердечного ритма (BCP), нарушения дыхания и аномального сочетания сердечной и дыхательной функций по
- 20 сравнению с контрольными животными, не страдающими указанным расстройством.
17. Способ по любому из пп.1-16, отличающийся тем, что указанное лечение уменьшает по меньшей мере один симптом, выбранный из группы, состоящей из тревожности, депрессии, когнитивного нарушения, когнитивной дисфункции, потери памяти, потери пространственной ориентации, снижения способности к обучению, снижения способности
- 25 формировать кратковременную или долговременную память, снижения эпизодической памяти, снижения способности к консолидации памяти, снижения пространственной памяти, снижения синаптогенеза, снижения синаптической стабильности, дефицита исполнительной функции, дефицита когнитивного картирования и памяти сцен, дефицита декларативной и реляционной памяти, снижения быстрого приобретения конфигуральных
- 30 или конъюнктивных ассоциаций, снижения контекстно-специфического кодирования и извлечения определенных событий, снижения эпизодической и/или событийной памяти, патологического условно-рефлекторного замирания, аномального социального поведения,

повторяющегося поведения, аномального поведения во время сна, судорожной активности, аномальной локомоции, аномальной экспрессии фосфо-ERK1/2, аномальной экспрессии фосфо-Akt и брадикардии.

18. Композиция для лечения симптома синдрома Питта-Хопкинса у млекопитающего, страдающего таким расстройством, содержащая соединение, имеющее формулу:



или его фармацевтически приемлемую соль или гидрат, где

X¹ выбирают из группы, состоящей из NR', O и S;

X² выбирают из группы, состоящей из CH₂, NR', O и S;

- 10 R¹, R², R³, R⁴ и R⁵ независимо выбирают из группы, состоящей из -H, -OR', -SR', -NR'R', -NO₂, -CN, -C(O)R', -C(O)OR', -C(O)NR'R', -C(NR')NR'R', тригалогенметила, галогена, алкила, замещенного алкила, гетероалкила, замещенного гетероалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, арилалкила, замещенного арилалкила, гетероарилалкила и замещенного гетероарилалкила; каждый R' независимо выбирают из группы, состоящей из -H, алкила, гетероалкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, гетероарила и гетероарилалкила;

или R⁴ и R⁵, взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

- 20 или R² и R³, взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)_n-CH₂-, где n представляет собой целое число от 0 до 6;

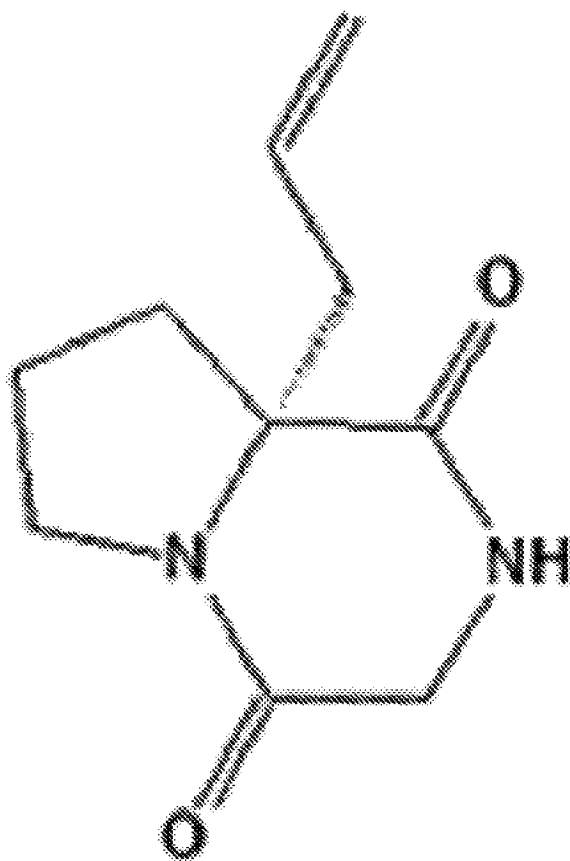
при условии, что когда R¹ = метил и R² = R³ = R⁴ = H, то R⁵ ≠ бензил и;

когда R¹ = H, по меньшей мере один из R² и R³ ≠ H.

19. Композиция по п. 18, где R¹ = метил.
- 25 20. Композиция по п. 18, где R¹ = аллил.
21. Композиция по п. 18, где R² = R³ = метил и X² = S.
22. Композиция по п. 18, где R¹ = аллил, R² = R³ = R⁴ = R⁵ = H, X¹ = NH, X² = CH₂.
23. Композиция по п. 18, где R¹ = метил, R² = R³ = H, R⁴ и R⁵, взятые вместе, представляют собой -CH₂-(CH₂)₃-CH₂-, X¹ = NH, X² = CH₂.

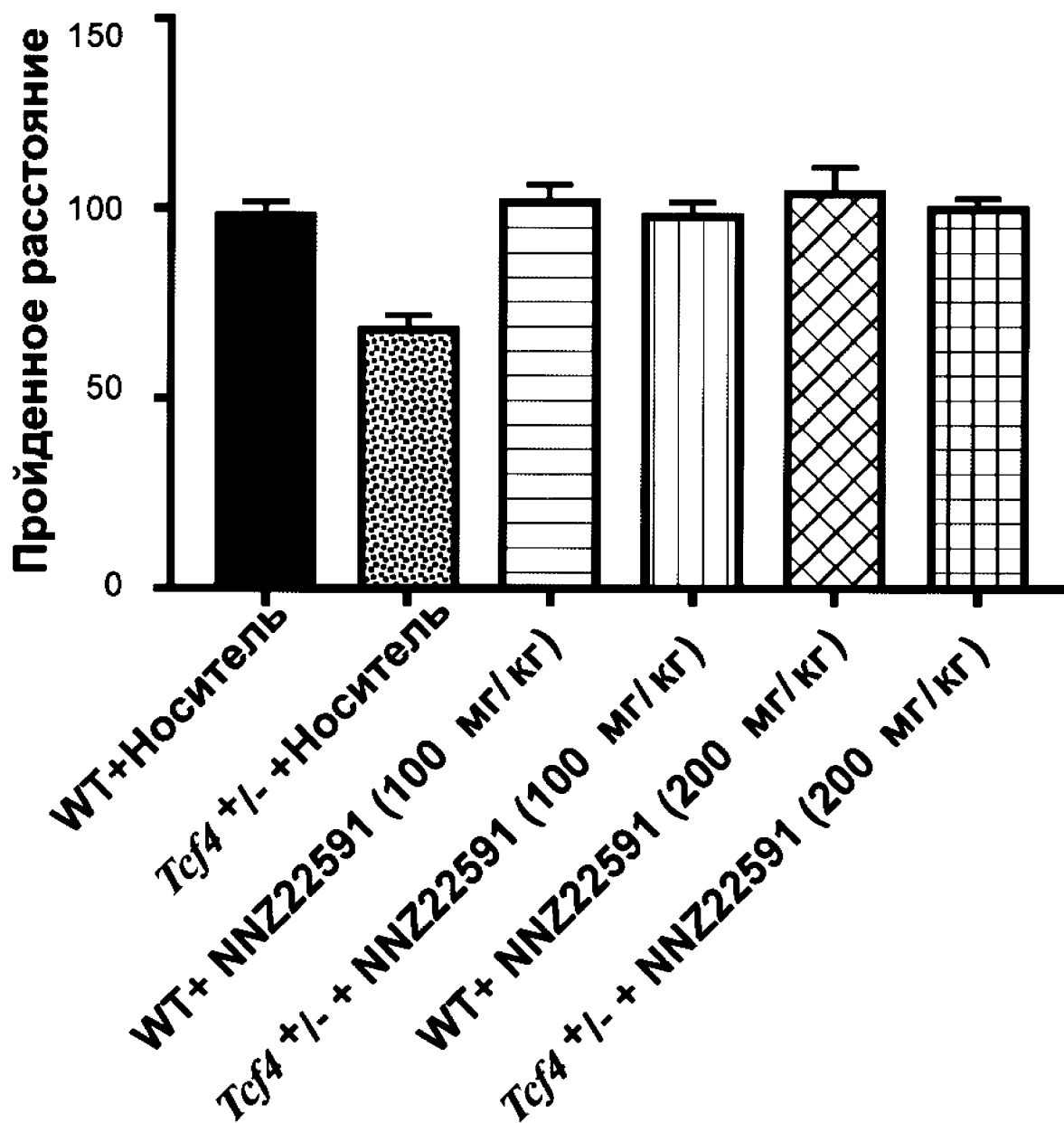
24. Композиция по п.18, где R^1 = метил, $R^2=R^3=H$, R^4 и R^5 , взятые вместе, представляют собой $-CH_2-(CH_2)_2-CH_2-$, $X^1=NH$, $X^2=CH_2$.
25. Композиция по любому из пп.18-24, дополнительно содержащая указанное соединение в фармацевтически приемлемом эксципиенте или в геле.
- 5 26. Композиция по любому из пп.18-25, дополнительно содержащая указанное соединение с фармацевтически приемлемым эксципиентом и связующим веществом.
27. Композиция по любому из пп.18-26, отличающаяся тем, что применение дополнительно включает указанное соединение с фармацевтически приемлемым эксципиентом или в капсуле.
- 10 28. Композиция по любому из пп.18-27, дополнительно содержащая по меньшей мере одно антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение, нейропротекторный агент или противовоспалительный агент.
29. Композиция по п.28, отличающаяся тем, что антиапоптотическое соединение, антинекротическое соединение или нейропротекторный агент выбирают из группы,
- 15 состоящей из инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), инсулиноподобного фактора роста-II (IGF-II), трансформирующего фактора роста- $\beta 1$, активина, гормона роста, фактора роста нервной ткани, белка, связывающего гормон роста, IGFBP-3, основного фактора роста фибробластов, кислотного фактора роста фибробластов, продукта гена *hst/Kfgr*, FGF-3, FGF-4, FGF-6, фактора роста кератиноцитов, андроген-индуцированного фактора роста,
- 20 *int-2*, гомологичного фактора-1 фактора роста фибробластов (FHF-1), FHF-2, FHF-3, FHF-4, фактора роста кератиноцитов 2, глиально-активирующего фактора, FGF-10, FGF-16, цилиарного нейротрофического фактора, мозгового фактора роста, нейротрофина 3, нейротрофина 4, костного морфогенетического белка 2 (BMP-2), нейротрофического фактора, полученного из линии глиальных клеток, зависящего от активности
- 25 нейротрофического фактора, цитокинового фактора, ингибирующего лейкемию, онкостатина М, интерлейкина, α -интерферона, β -интерферона, γ -интерферона или интерферона консенсуса, TNF- α , клометиазола; кинуриновой кислоты, Семакса, такролимуса, L-трео-1-фенил-2-деcanoиламино-3-морфолино-1-пропанола, аналога адренокортикотропина-(4-9) (ORG 2766), дизолципина [МК-801], селегилина, NPS1506,
- 30 GV1505260, МК-801, GV150526, 2,3-дигидрокси-6-нитро-7-сульфамоилбензо(f)хиноксалина (NBQX), LY303070, LY300164 и антитела MECA-367 против MAdCAM-1.

30. Композиция по любому из пп.18-29, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический G-2-AllylP.
31. Композиция по любому из пп.18-29, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический циклогексил-G-2MeP.
- 5 32. Композиция по любому из пп.18-29, отличающаяся тем, что указанное соединение представляет собой циклический цикlopентил-G-2MeP.
33. Композиция по любому из пп.18-32, дополнительно содержащая один или несколько эксципиентов, носителей, добавок, адъювантов или связующих веществ в таблетке.
34. Композиция по любому из пп.18-33, дополнительно содержащая микроэмульсию, крупнозернистую эмульсию или жидкие кристаллы в капсуле.
- 10 35. Способ по любому из пп.1-17, отличающийся тем, что доза соединения составляет от примерно 0,001 мг/кг до примерно 600 мг/кг.
36. Композиция по любому из пп.18-34, отличающаяся тем, что количество соединения является достаточным для получения вводимой дозы соединения в диапазоне от примерно 0,001 мг/кг до примерно 600 мг/кг.
- 15 37. Любой один или несколько пп.1-36, отличающийся тем, что указанное животное или млекопитающее представляет собой человека.

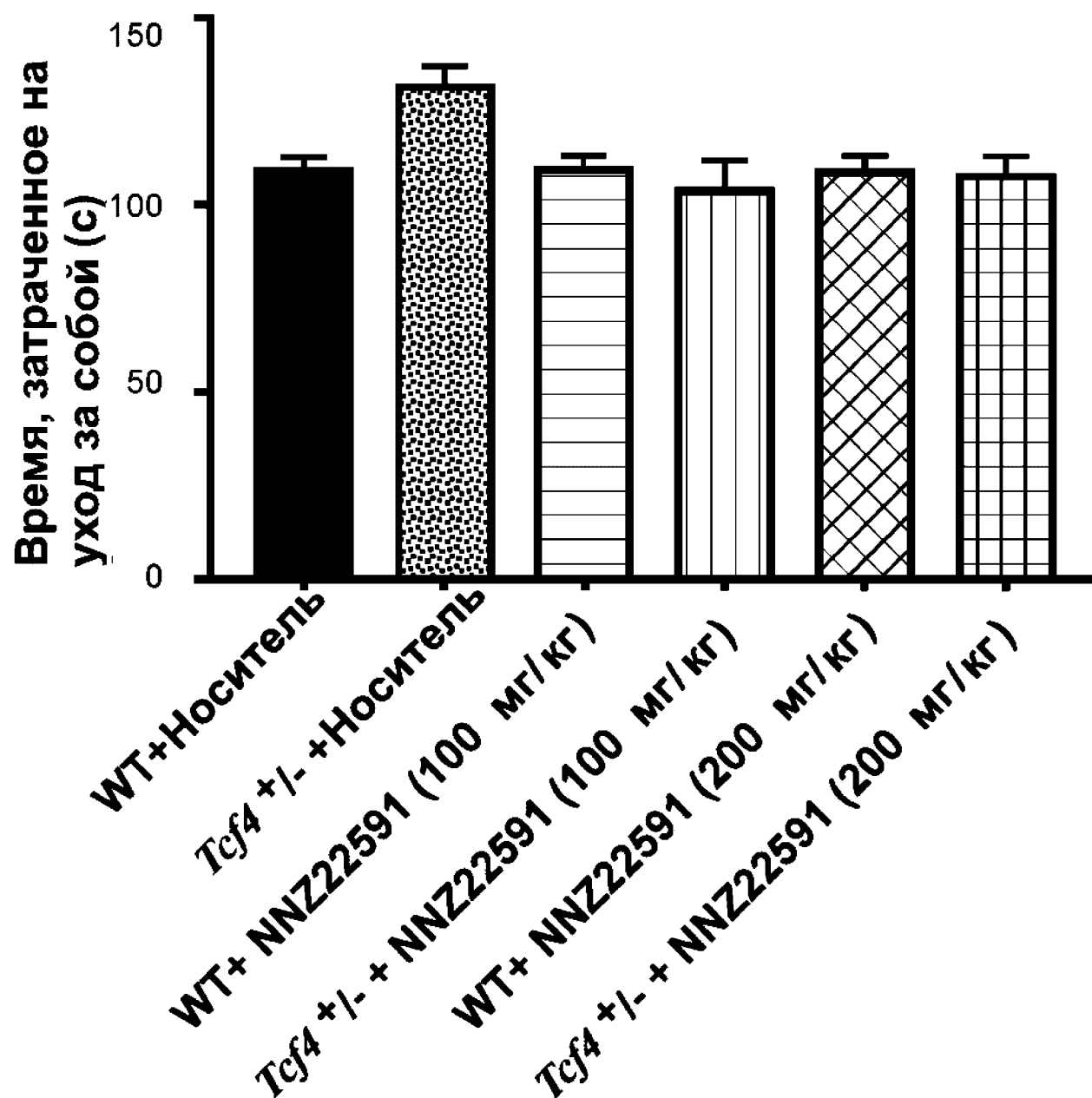


Химическая структура cG-2-AllylP

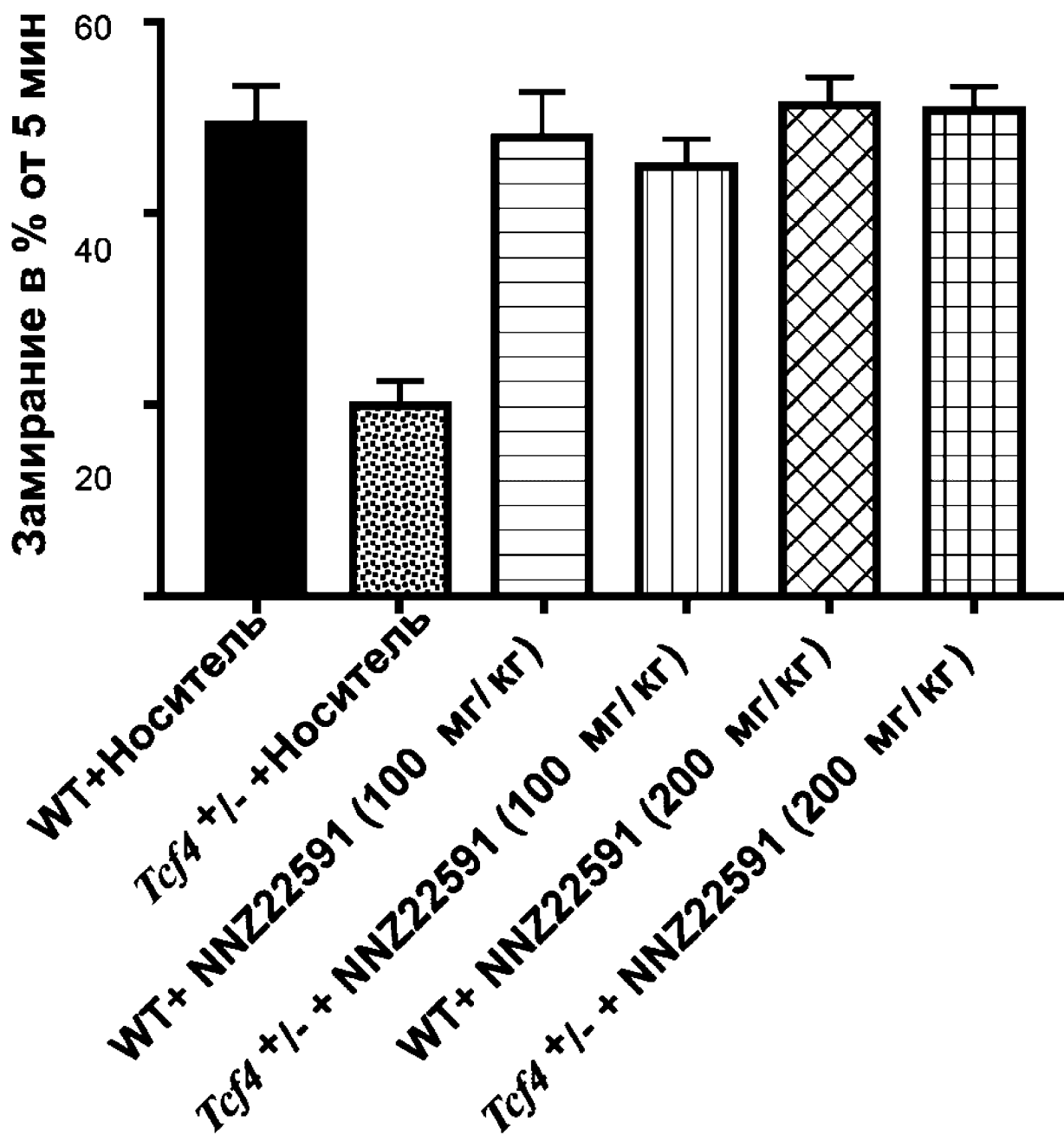
ФИГ. 1



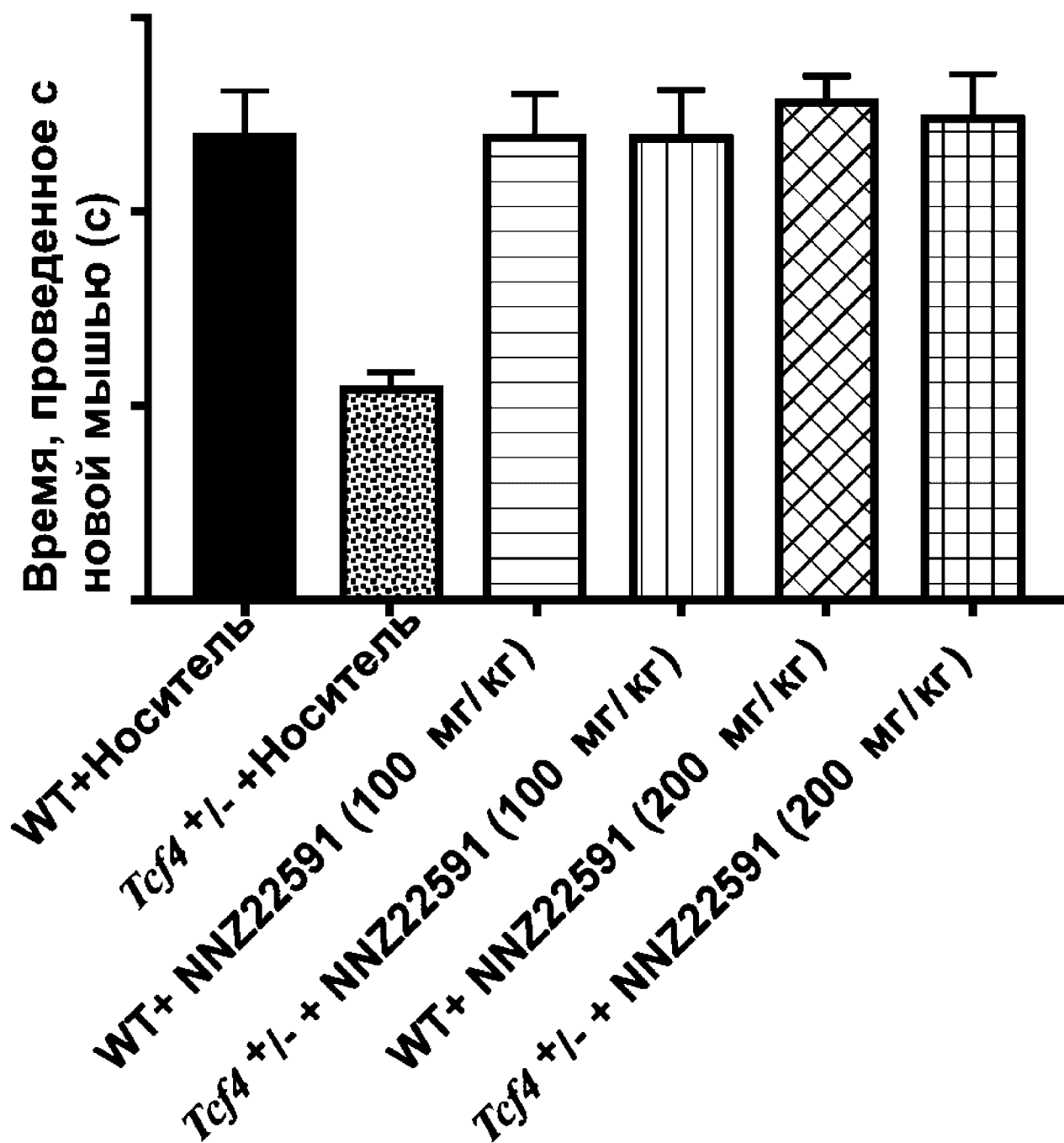
ФИГ. 2



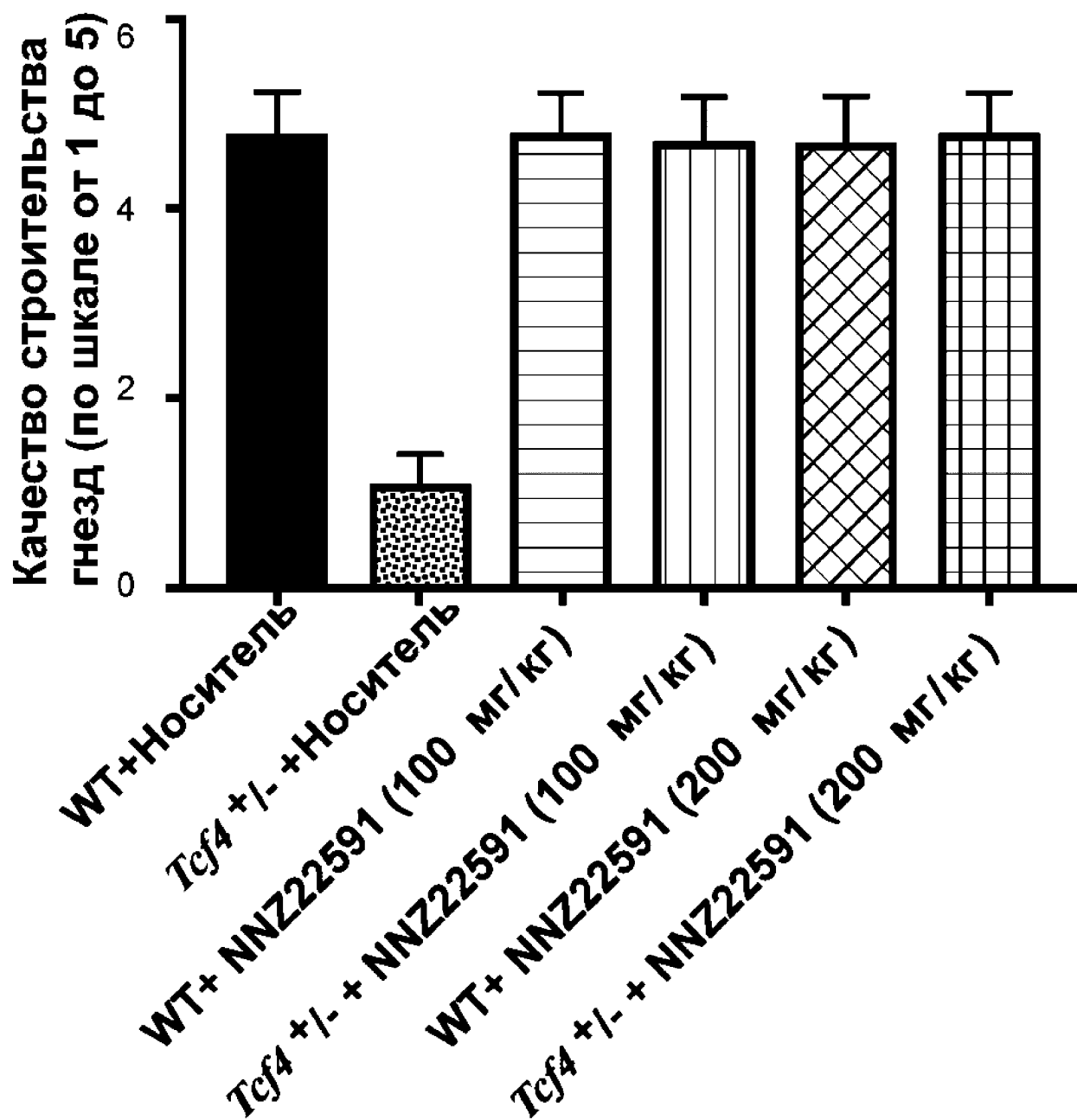
ФИГ. 3



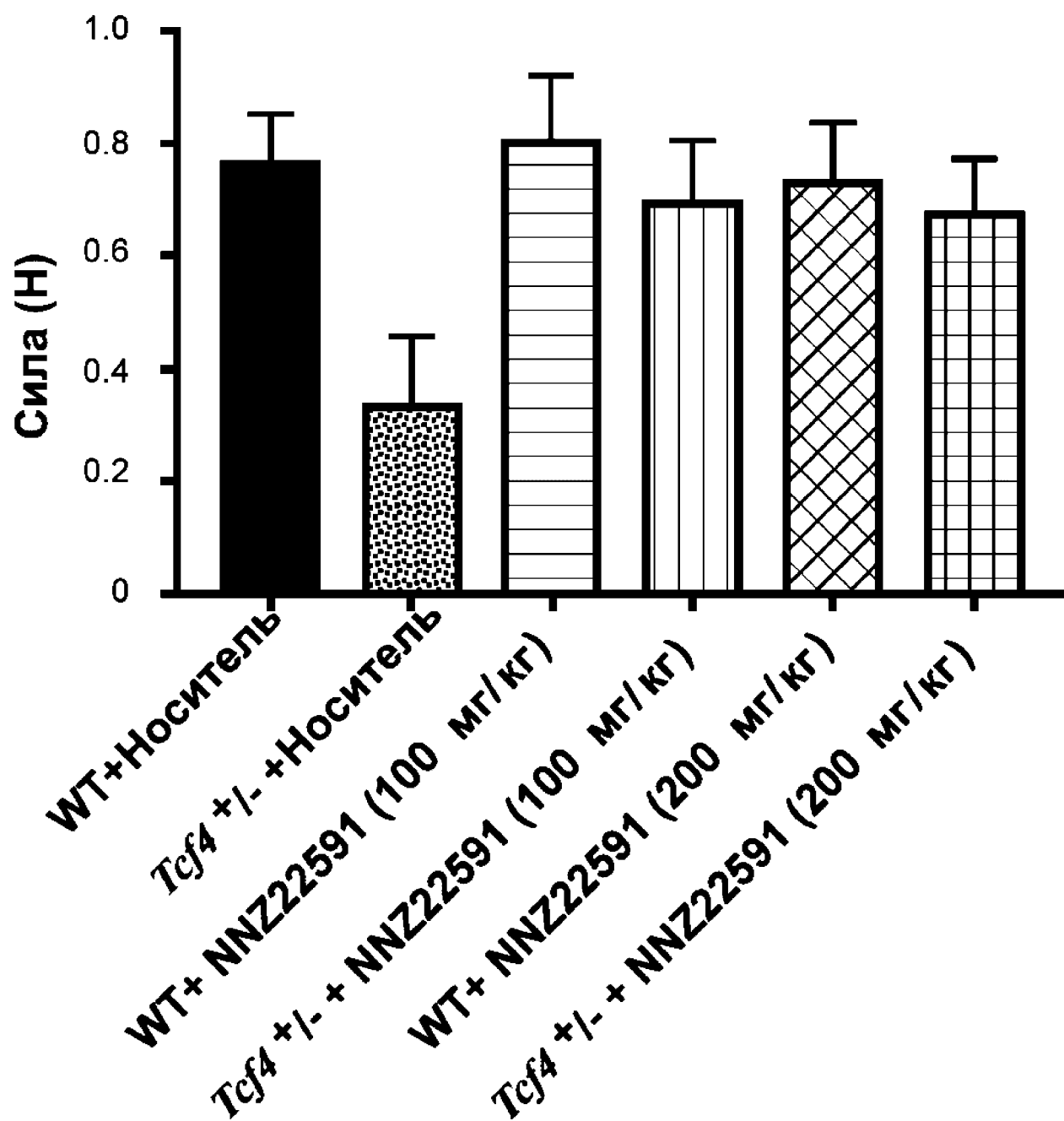
ФИГ. 4



ФИГ. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7