

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090988** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.07.28

(51) Int. Cl. *A61K 31/5513* (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.10.25

**(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ФЕЛАН-МАКДЕРМИД С ПОМОЩЬЮ
ДИБЕНЗОДИАЗЕПИНОНОВ ФАРНЕЗИЛА**

(31) 62/577,821

(32) 2017.10.27

(33) US

(86) PCT/IB2018/058345

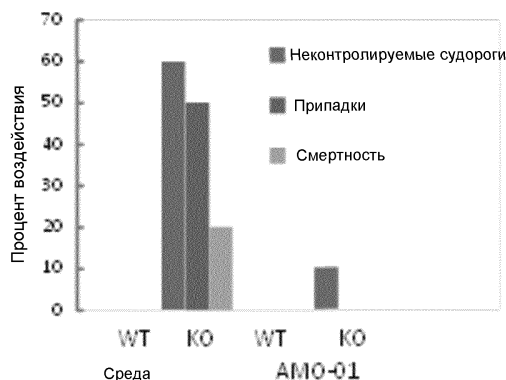
(87) WO 2019/082125 2019.05.02

(71) Заявитель:
АМО ФАРМА ЛТД. (GB)

(72) Изобретатель:
Снейп Майкл, Кограм Патрисия,
Дикон Роберт (GB)

(74) Представитель:
Нагорных И.М. (RU)

(57) Представлены способы лечения синдрома Фелан-Макдермид (СФМ) у субъектов с этим нарушением или у субъектов с предрасположенностью к развитию этого нарушения путем введения соединений дибензодиазепинона фарнезила. Также представлено применение соединений дибензодиазепинона фарнезила в производстве лекарственного препарата для лечения субъекта с СФМ.



A1

202090988

202090988

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ФЕЛАН–МАКДЕРМИД С ПОМОЩЬЮ ДИБЕНЗОДИАЗЕПИНОНОВ ФАРНЕЗИЛА

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0001] Синдром Фелан-Макдермид (СФМ) представляет собой нарушение развития центральной нервной системы, которые впервые было упомянуто в литературе у Watt et al. (1985), а затем более подробно описано у Phelan et al. (2001).

[0002] Клинические признаки СФМ у людей включают в себя тяжелую неонатальную гипотонию (>97% индивидуумов), общую задержку развития (>98%), рост от нормального до ускоренного (95%), отсутствие экспрессивной речи (>98%) и незначительные дисморфические признаки (Phelan 2008). В части поведения, у индивидуумов с синдромом Фелан-Макдермид в целом наблюдается гипочувствительность к боли, плохой зрительный контакт, стереотипные движения, пониженная социальная функция, гиперактивность, искаженная сенсорно-двигательная функция и агрессивное поведение. Фенотип поведения может усугубляться с возрастом, показывая снижение социальной, моторной или психической функции (Soorya et al. 2013). В физическом плане, СФМ может быть ассоциирован с незначительными дисморфическими признаками и лимфедемой.

[0003] Ключевым сопутствующим заболеванием при СФМ является наличие эпилепсии. Примерно у 41% страдающих индивидуумов будут припадки (фебрильные и/или нефебрильные) (Soorya et al. 2013). Holder и Quach (2016) также описывают, что у 46% индивидуумов с синдромом Фелан-Макдермид случаются припадки в некоторый момент их жизни, при этом присутствуют все типы припадков. Наиболее частыми припадками были атипичные малые припадки (90%), при этом другие типы включали в себя тонические (54%), атонические (18%), тонико-клонические (9%) и миоклонические (9%). 20% индивидуумов, охарактеризованных Holder и Quach, страдали от эпилептического состояния, а у 8% был диагностирован синдром Леннокса-Гасто. Припадки могут быть фармакологически контролируемыми или фармако-резистентными. Имеет место тенденция к повышению предрасположенности к припадкам с возрастом, при этом частота возникновения припадков коррелирует с регрессией функциональных способностей (Soorya et al. 2013). Было использовано множество антиконвульсивных средств, при этом

общим для припадков является одновременный прием нескольких лекарственных препаратов.

[0004] Это нарушение у людей характеризуется хромосомной делецией в 22q13.3, которая содержит ген *SHANK3/ProSAP2* (Bonaglia et al. 2001; Anderlid et al. 2002; Wilson et al. 2003). Существует консенсусное мнение в отношении того, что признаки и симптомы СФМ связаны с гаплонедостаточностью белка SHANK3.

[0005] Shcheglovitov et al. (2013) было показано, что линии индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИСК), полученных у пациентов с СФМ, обладали замедленными ответами AMPA- и NMDA-рецепторов, которые отражают ослабленные возбуждающие синапсы. Эти недостатки были связаны с пониженными уровнями наиболее длинной изоформы белка SHANK3 (Shcheglovitov et al. (2013)) и были уменьшены путем введения инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1). Авторами было предложено, что SHANK3 необходим на ранней стадии формирования синапса, а также то, что ИФР-1 способствует созреванию синапсов путем активации потери SHANK3 и привлечения белка PSD95. Bozdagi et al. (2013) также было показано уменьшение фенотипа у мыши с нокаутом *Shank3* с помощью ИФР-1. Klevzon et al. (2014) было сообщено о том, что введение ИФР-1 при плацебо-контролируемых условиях привело к улучшениям социального, повторяющегося и отклоняющегося поведения у мышей с нокаутом *Shank3* в ходе 12-недельного курса лечения.

[0006] Было проведено относительно незначительное клиническое исследование фармакологических вмешательств при СФМ, хотя в настоящее время в Соединенных Штатах проходит исследование эффектов интраназального окситоцина при СФМ (идентификационный номер NCT02710084 на ClinicalTrials.gov). Одобренных способов лечения СФМ не существует. Таким образом, имеет место необходимость в средствах лечения СФМ; представленное в настоящем документе изобретение направлено на такие конечные и другие важные цели.

КРАТКОЕ РАСКРЫТИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Настоящее изобретение относится к способам лечения синдрома Фелан-Макдермид (СФМ) у субъектов, страдающих от этого нарушения, или у субъектов с предрасположенностью к развитию этого нарушения. Как описано более подробно ниже,

было обнаружено, что соединения дибензодиазепинона фарнезила могут ослабить симптомы нарушения у индивидуумов с СФМ, которым введены эти соединения.

[0001] Таким образом, в первом варианте реализации изобретение направлено на способ лечения субъекта с СФМ, причем способ включает введение терапевтически эффективного количества (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, субъекту с СФМ.

[0002] Во втором варианте реализации изобретение направлено на способ ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ, причем способ включает введение терапевтически эффективного количества (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, субъекту с предрасположенностью к развитию СФП.

[0003] В третьем варианте реализации изобретение направлено на применение (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, в лечении субъекта с СФМ или в способе лечения субъекта с СФМ.

[0004] В четвертом варианте реализации изобретение направлено на применение (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, в ингибировании развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ или в способе ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ.

[0005] В пятом варианте реализации изобретение направлено на терапевтически эффективное количество (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или

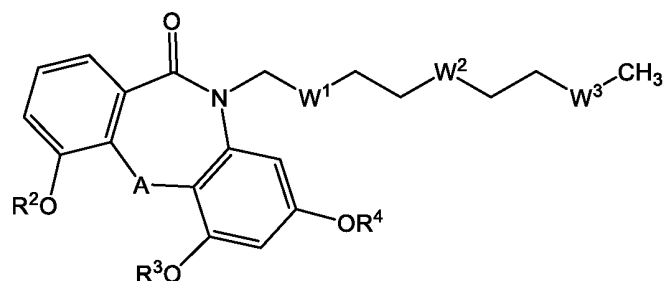
разбавитель, для применения в лечении субъекта с СФМ или в способе лечения субъекта с СФМ.

[0006] В шестом варианте реализации изобретение направлено на терапевтически эффективное количество (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, для применения в ингибировании развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ или в способе ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ.

[0007] В седьмом варианте реализации изобретение направлено на применение по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила для производства лекарственного препарата для лечения субъекта с СФМ.

[0008] В восьмом варианте реализации изобретение направлено на применение по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила для производства лекарственного препарата для ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ.

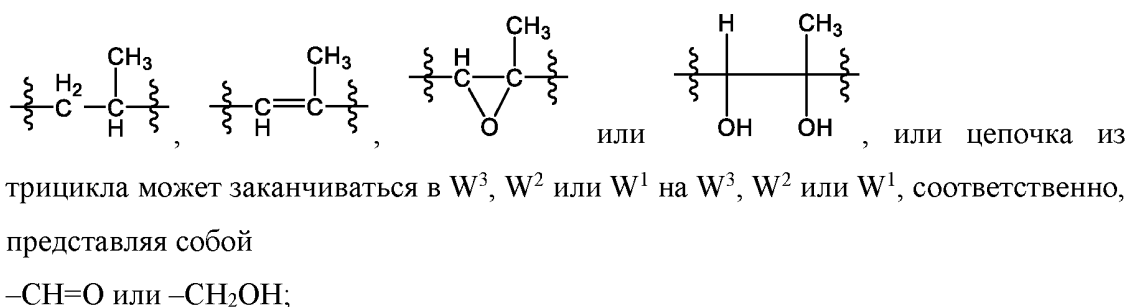
[0009] В каждом из вариантов реализации и аспектов изобретения по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила выбрано из соединений, охваченных Формулой I, или их фармацевтически приемлемых солей:



Формула I

где

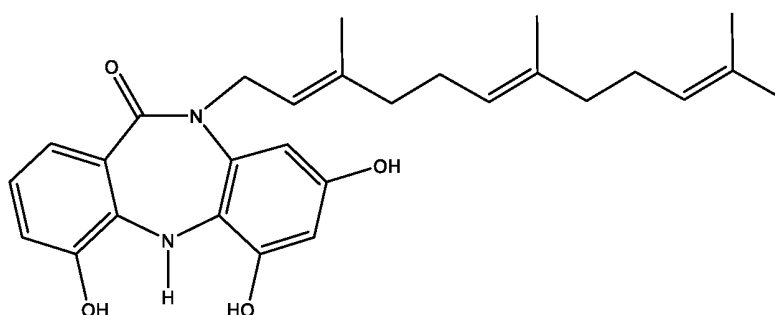
каждый из W^1 , W^2 и W^3 независимо представляет собой



А представляет собой $-\text{NH}-$, $-\text{NCH}_2\text{R}^1-$ или $-\text{NC}(\text{O})\text{R}^1-$, причем R^1 представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-6} -алкен, арил или гетероарил;

каждый из R^2 , R^3 и R^4 независимо представляет собой H , R^5 или $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$, причем каждый R^5 независимо представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил, и причем каждый R^6 независимо представляет собой H , C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил.

[0010] В каждом из вариантов реализации и аспектов изобретения по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила может представлять собой соединение АМО-01 или его фармацевтически приемлемую соль.



АМО-01

[0011] В релевантных вариантах реализации и аспектах изобретения субъект с предрасположенностью к развитию СФМ является субъектом с хромосомной делецией в 22q13.3.

[0008] В каждом из вариантов реализации и аспектов изобретения терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, составляет от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 200 мг средства на кг массы тела субъекта.

[0009] В каждом из вариантов реализации и аспектов изобретения по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, вводят субъекту путем внутривенного, подкожного введения или другим подходящим способом.

[0010] Выше отражено достаточно широкое представление признаков и технических преимуществ настоящего изобретения для того, чтобы можно было лучше понять подробное описание изобретения, представленное далее. В настоящем документе будут описаны дополнительные признаки и преимущества изобретения, которые образуют объект формулы изобретения. Специалисту в данной области техники должно быть ясно, что любой замысел и конкретный вариант реализации, раскрытый в настоящем документе, с легкостью может быть использован в качестве основания для модификации или разработки другого средства для реализации тех же целей настоящего изобретения. Специалисту в данной области техники также должно быть ясно, что такое эквивалентное средство не выходит за рамки сущности и объема изобретения, изложенного в прилагаемой формуле изобретения. Новые признаки, которые рассматриваются, как характеризующие изобретение как в части его организации, так и в части способа функционирования, вместе с дополнительными задачами и преимуществами станут лучше ясны из представленного далее описания при рассмотрении в сочетании с сопроводительными фигурами. Однако следует четко понимать, что любое описание, фигура, пример и т.д. представлено лишь с целью иллюстрации и описания, и никоим образом не предназначено для определения ограничений изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0011] Фигура 1. Активация пути Ras-ERK у трансгенных мышей дикого типа (WT) с нокаутом (KO) *Shank3b*^{-/-}, индексируемая уровнями pERK в гиппокампе и коре головного мозга. «н.с.» означает Не Существенно; **** означает $p < 0,0001$.

[0012] Фигура 2. Тревожность, оцененная посредством теста темно-светлой камеры, у трансгенной модели СФМ с нокаутом *Shank3b* после единичной дозы в 30 мг/кг и/п. АМО-01 или среду вводили за 4 часа до тестирования в группах из $n = 10$ мышей. Общий ANOVA, использованный для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 31,19$, $p < 0,0001$).

Разница между получившими среду мышами дикого типа (WT) и нокаутными (KO) мышами *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. В отличие от этого, АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$), хотя это изменение не было полным, поскольку по-прежнему имела место значительная разница между получившими АМО-01 мышами дикого типа и мышами *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,05$). «н.с.» означает Не Существенно; * означает $p < 0,05$; **** означает $p < 0,0001$.

[0013] Фигура 3. Самоотравмирующее поведение, индексированное избыточным самочесанием, у трансгенной модели СФМ с KO *Shank3b* после единичной дозы в 30 мг/кг и/п. АМО-01. Общий ANOVA, использованный для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 29,14$, $p < 0,0001$). Разница между получившими среду мышами дикого типа и нокаутными мышами *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. В отличие от этого, АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$). Это изменение было полным, поскольку отсутствовала существенная разница между получившими АМО-01 мышами дикого типа и мышами *Shank3b*^{-/-} после лечения. «н.с.» означает Не Существенно; **** означает $p < 0,0001$.

[0014] Фигура 4. Реакция на социальную новизну, индексируемая временем, проведенным во взаимодействии со знакомыми или новыми мышами, у трансгенной модели СФМ с KO *Shank3b* после единичной дозы в 30 мг/кг и/п. АМО-01. Животные дикого типа (WT) проводят больше времени в близком взаимодействии с незнакомой (той, которую они ранее не видели) мышью, а не со знакомой (той, с которой они раньше сталкивались), и лечение АМО-01 не влияло на эту разницу. Эта разница не наблюдалась у получивших среду мышей с KO *Shank3b*, демонстрирующих прерывистое развитие социальной новизны. Лечение АМО-01 нормализует дифференциальную реакцию на социальную новизну у мышей с KO *Shank3b*. Общий ANOVA, использованный для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 52,75$, $p < 0,0001$). «н.с.» означает Не Существенно; **** означает $p < 0,0001$.

[0015] Фигура 5. Поведение при тесте «сужающаяся дорожка» у трансгенной модели СФМ с KO *Shank3b* после единичной дозы 30 мг/кг и/п. АМО-01. Общий ANOVA, использованный для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 29,76$, $p < 0,0001$).

Разница между получившими среду мышами дикого типа и нокаутными мышами *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. В отличие от этого, АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$). Это изменение было полным, поскольку отсутствовала существенная разница между получившими АМО-01 мышами дикого типа и мышами *Shank3b*^{-/-} после лечения. «н.с.» означает Не Существенно; *** означает $p < 0,001$.

[0016] Фигура 6. Поведение при тесте «закапывание шариков» у трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы 30 мг/кг и/п. АМО-01. Общий ANOVA, использованный для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 42,15$, $p < 0,0001$). Разница между получившими среду мышами дикого типа и нокаутными мышами *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. В отличие от этого, АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$). Это изменение было полным, поскольку отсутствовала существенная разница между получившими АМО-01 мышами дикого типа и мышами *Shank3b*^{-/-} после лечения. «н.с.» означает Не Существенно; *** означает $p < 0,001$; **** означает $p < 0,0001$.

[0017] Фигура 7. Пороговое значение аудиогенного припадка у трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы 30 мг/кг и/п. АМО-01.

[0018] Фигура 8. Режим введения АМО-01 субъекту с синдромом Фелан-Макдермид.

[0019] Фигура 9. Вызванные зрительные потенциалы, записанные из зрительной коры головного мозга мужчины возрастом 23 года с генетически подтвержденным синдромом Фелан-Макдермид, непосредственно перед и непосредственно после инфузии общей дозы, введенной в количестве 120 мг/м² в течение шести часов.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

I. Определения

[0020] Используемые в настоящем документе грамматические показатели единственного числа могут означать один или более. Грамматические показатели единственного числа, используемые в настоящем документе в сочетании со словом «содержащий», могут означать один или больше одного. Используемое в настоящем документе слово «другой» может означать по меньшей мере второй или больше. Кроме

того, формы единственного числа включают формы множественного числа, а формы множественного числа включают форму единственного числа, если контекстом явным образом не требуется иное.

[0021] Используемое в настоящем документе слово «приблизительно» относится к числовому значению, в том числе, например, целым числам, долям и процентам вне зависимости от того, указано это явным образом или нет. Термин «приблизительно» в целом относится к диапазону числовых значений (например, +/- 5-10% от указанного значения), которые обычный специалист в данной области техники сочтет эквивалентными указанному значению (например, имеющему такую же функцию или результат). В некоторых случаях термин «приблизительно» может включать числовые значения, которые округлены до ближайшей значащей цифры.

[0022] Используемое в настоящем документе слово «лечить» и все его формы и временные формы (в том числе, например, лечить, для лечения, лечили и лечение) относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактике или превентивному лечению. Субъекты, нуждающиеся в лечении, включают в себя тех, у кого уже был диагностирован СФМ, а также тех, у которых имеется предрасположенность к развитию СФМ, но у которых еще не было диагностировано наличие СФМ.

II. Настоящее изобретение

[0023] Как указано выше, настоящее изобретение основано на выявлении авторами изобретения того факта что некоторые соединения дибензодиазепинона фарнезила могут снижать симптомы синдрома Фелан-Макдермид (СФМ) у индивидуумов с этим нарушением и у тех, кому вводят эти соединения. Таким образом, настоящее изобретение направлено на способы лечения СФМ у субъектов, страдающих от этого нарушения, или у субъектов с предрасположенностью к развитию этого нарушения.

[0024] Субъектом с СФМ или с предрасположенностью к развитию СФМ является субъект с хромосомной делецией в 22q13.3 и/или у которого снижена экспрессия белка SHANK3, и/или у которого продуцируется дисфункциональный белок SHANK3. Хромосомный локус 22q13.3 включает ген *SHANK3/ProSAP2*, который кодирует белок SHANK3.

[0025] SHANK3 («SH3 и множественные домены с анкириновыми повторами 3»; который также известен как пролин-богатый синапс-ассоциированный белок 2 (ProSAP2)) представляет собой каркасный белок, находящийся в дендритах. Он является членом семейства каркасных белков, присутствующих в постсинаптических уплотнениях, вовлеченных в образование синапса, вероятно, через соединение нейротрансмиссерных рецепторов, ионных каналов и других мембранных белков с актиновым цитоскелетом и связанными с G-белком сигнальными путями (Boeckers et al., 2002). Сообщение SHANK3 экспрессируется в сердце, головном мозге и селезенке (Lim et al., 1999). В головном мозге SHANK3 в основном экспрессируется в нейронах.

[0026] Исследования показали, что различные делеции SHANK3 продуцируют разные (хоть и подобные) эффекты в части активности изоформ белка SHANK3 и специфические изменения рецепторов. Был создан широкий ряд нокаутных мышей, у которых ген *Shank3* был нарушен. Были затронуты различные экзоны гена при разных исходах в отношении экспрессии изоформ белка SHANK3. Bozdagi et al. (2010) создали мышь, у которой ген *Shank3* был подвергнут делеции между экзонами 4 и 9 (в том числе доменами с анкириновым повтором). Гетерозиготная экспрессия этой модификации показала снижение уровней мРНК *shank3* на 50%. У молодых гетерозигот (возрастом от 3 до 4 недель) базальная глутаматергическая АМРА-опосредованная передача была снижена за счет пред- и постсинаптических механизмов. В этом отношении, поддержание высокочастотной индуцированной тета-вспышкой гиппокампальной длительной потенциации (LTP; форма синаптической пластичности) было понижено, однако длительная депрессия (LTD) не была. Эти изменения, определенные электрофизиологическим путем, шли параллельно с неудачным поддержанием увеличенного объема синапса, который сопровождает LTP, и снижали направленную миграцию АМРА-рецептора. Эти мыши продемонстрировали дефициты социального взаимодействия. Bozdagi et al. (2013) показали дефициты в этой модели, реверсированные посредством ИФР-1.

[0027] Krouser et al. (2013) сообщили о гомозиготной делеции экзона 21 *Shank3* у исследованных мышей возрастом от 2 до 6 месяцев. Эта делеция снижала преобладающие изоформы белка SHANK3 в гиппокампе, однако имела сложные эффекты при появлении более коротких изоформ. Эта мышь не демонстрировала существенных изменений в глутаматных рецепторах за исключением подтипа mGluR5 метаботропного глутаматного

рецептора. Следовательно, гиппокампальная LTP была дефицитной, отражая пониженное соотношение NMDA/AMPA. У этих мышей не было mGluR-зависимого дефицита LTD. Эти мыши не продемонстрировали отличий в части плотности дендритного шипика или сложности.

[0028] Duffney et al. (2015) создали и сообщили о гетерозиготной мыши с с-концевой (экзон 21) делецией *Shank3*, которая показала снижение белка SHANK3 на 50-70%. Молодые особи продемонстрировали слабое поведение при тесте «социального взаимодействия». У этих мышей были снижены NMDA-опосредованные EPSP в префронтальных корках, тогда как AMPA-опосредованные реакции были интактными. Это наблюдение было связано со снижением субъединиц мембранного NMDA-рецептора. Эти мыши также продемонстрировали снижение гас-зависимого сигналинга кофилина и, следовательно, синаптического актина, однако у этих мышей не была изменена плотность дендритного шипика и, следовательно, величина синапса. Мыши, описанные Bozdagi et al. (2010), имели N-концевую делецию, что приводило к потере наиболее длинных изоформ, а также они имели дефицит кофилина. Uppal et al. (2015) изучили гетерозиготный N-концевой нокаут при возрасте в 5 недель и 3 месяца и не нашли разницы плотности синапса при каждом возрасте. Однако подробное исследование показало повышение перфорированных синапсов при 5 неделях, но не при 3 месяцах. При любом возрасте отличия в спинном мозге, размере головы, длине PSD и области PSD не наблюдались. Jaramillo et al. (2016) сообщили о N-концевой делеции гетерозиготного экзона 4-9 у мышей возрастом от 3 до 5 месяцев на момент исследования. Эта манипуляция обусловила сложный паттерн изменений изоформ белка SHANK3. Эти мыши показали пониженную гиппокампальную LTP с mGluR5-зависимой интактной LTD. На синаптическую передачу и соотношение NMDA/AMPA не было оказано воздействие в гиппокампе, однако соотношение NMDA/AMPA снизилось в стриатуме ввиду пониженной функции NMDA-рецептора.

[0029] Peca et al. (2011) получили нокаутную мышь, в которой были нацелены экзоны 13-16 гена *Shank3*, вызывая делецию домена PDZ. Нокаут продуцирует полное устранение изоформ SHANK3 α (наиболее длинной изоформы) и SHANK3 β , а также существенное понижение гипотетической изоформы SHANK3 γ . Гомозиготная форма этой мыши показала пониженные уровни SAPAP3, Homer-1b/c и PSD93, а также понижение субъединиц GluR2, NR2A и NR2B глутаматного рецептора в стриатуме. Это сопровождалось снижением

плотности дендритного шипика в контексте повышения сложности дендритных разветвлений и общей длины дендритов в стриатуме. Спайки стриарной популяции были снижены ввиду снижения пост-синаптических реакций AMPA при отсутствии изменения соотношения NMDA/AMPA. Гиппокампальная электрофизиология у этих мышей не была изменена.

[0030] Таким образом, среди моделей существует обширная потеря в части синаптических эффектов, однако различные делеции *Shank3* продуцируют разные эффекты в части изоформ белка SHANK3 и разные изменения рецепторов.

[0031] Эффекты от нокаута гена *Shank3* у мышей могут быть сравнены с клеточными линиями ИСК, полученными от пациентов с синдромом Фелан-Макдермид, как сообщено у Shcheglovitov et al. (2013). Эти авторы сообщают о том, что постсинаптические реакции AMPA и NMDA существенно ослаблены в клетках ИСК с синдромом Фелан-Макдермид при отсутствии отличий в ГАМК-эргическом ингибировании. Эти изменения отразили менее возбуждающие синапсы и связаны с пониженными уровнями наиболее длинной изоформы белка SHANK3.

[0032] Holder и Quach (2016) привели данные у Shcheglovitov et al. (2013) в отношении повышенной склонности к припадкам при синдроме Фелан-Макдермид путем ссылки на исследованные ИСК, как имеющие повышенную входную резистентность по сравнению с контрольными нейронами, потенциально связанную с пониженной экспрессией субъединиц активируемых гиперполяризацией управляемых циклическими нуклеотидами (HCN) каналов. Holder и Quach предлагают, что это «указывает на тенденцию к повышенной возбудимости, которая потенциально лежит в основе повышенной распространенности эпилепсии у индивидуумов с мутациями SHANK3 по сравнению с общей популяцией».

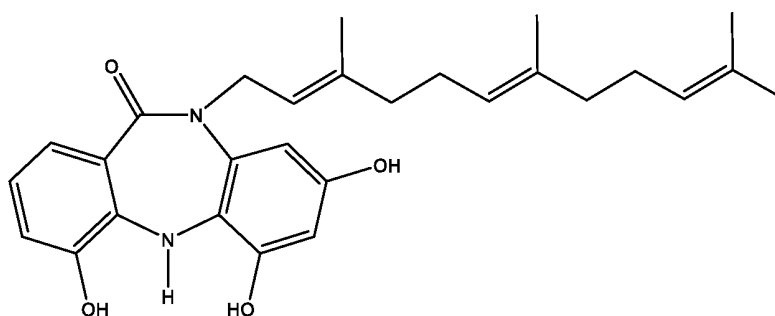
[0033] Ключевым молекулярным отклонением при СФМ является избыточная активность ферментативного пути Ras-ERK, которая играет решающую роль в синаптической пластичности и нейрональном выживании (Grewal et al., 1999). Путь Ras-ERK также был вовлечен в вырабатывание припадков в соответствии с количеством сходящихся наборов данных, свидетельствующих об активации этого пути в различных экспериментальных моделях, а также в использовании ингибиторов пути Ras-ERK. Активация пути Ras-ERK индексируется уровнями фосфорилированной формы ERK (pERK). Эта активация наблюдается при различных формах адаптации синаптических

механизмов, которые лежат в основе возбудимости в головном мозге. Davis et al., (2000) показали, что индуцирование гиппокампальной LTP у крыс сопровождается быстрым, но временным повышением pERK.

[0034] Исходя из этой избыточной активности, а также, как описано ниже, в модели нокаутной мыши C57BL/6^{-/-} с СФМ был оценен проникающий в головной мозг ингибитор пути Ras-ERK, который в настоящем документе называется АМО-01. Было обнаружено, что введение единичной дозы АМО-01 и/п тестируемым животным двухмесячного возраста, существенно улучшает все отклоняющиеся нейроповеденческие признаки, ассоциированные с мышами, тем самым создавая основу настоящего изобретения.

Дибензодиазепиноны фарнезила

[0035] АМО-01 (10-фарнезил-4,6,8-тригидрокси-дибензодиазепин-11-он) является дибензодиазепиноном фарнезила и членом класса соединений дибензодиазепинона, содержащих фрагмент фарнезила. Структура АМО-01 является следующей:



АМО-01

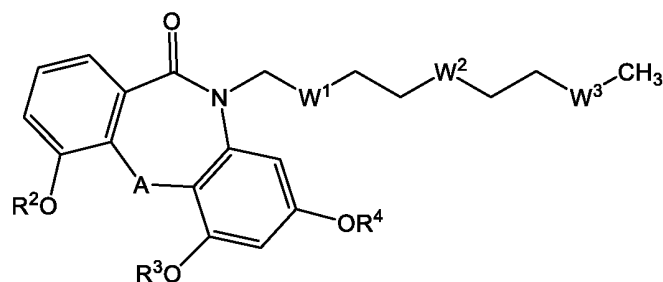
Каждый из способов, согласно настоящему изобретению, может быть реализован на практике путем введения АМО-01 или его фармацевтически приемлемой соли субъекту с СФМ или субъекту с предрасположенностью к развитию СФМ.

[0036] Соединения дибензодиазепинона фарнезила продуцируются штаммами *Micromonospora*, родом бактерий семейства *Micromonosporaceae*, которые являются грамм-положительными, спорообразующими, в целом аэробными и образующими разветвленный мицелий. Члены рода также в целом продуцируют аминогликозидные антибиотики.

[0037] АМО-01 продуцируется штаммом 046-ECO11 *Micromonospora* sp. Штамм 046-ECO11 был депонирован 7 марта 2003 г. Международным органом по депонированию в Канаде (IDAC), Бюро микробиологии, здравоохранения Канады, 1015 Арлингтон Стрит, Виннипег, Манитоба, Канада R3E 3R2, под № доступа 070303-01. Больше подробной

информации по штамму 046-ECO11 и средствам для получения АМО-01 может быть найдено в международной заявке на получение патента WO 2004/065591, опубликованной 5 августа 2004 г., содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

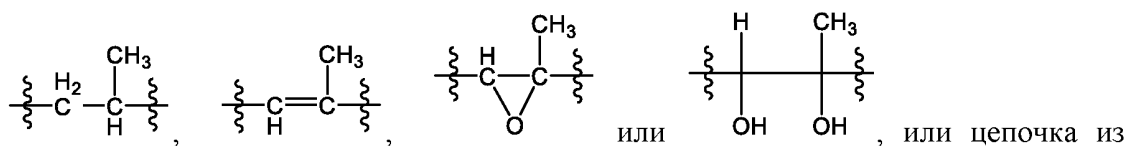
[0038] В дополнение к АМО-01, а также его фармацевтически приемлемым солям, каждый из способов настоящего изобретения может быть реализован на практике путем введения субъекту с СФМ или субъекту с предрасположенностью к развитию СФМ по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила, выбранного из соединений, подпадающих под Формулу I, или их фармацевтически приемлемой соли:



Формула I

где

каждый из W^1 , W^2 и W^3 независимо представляет собой



трицикла может заканчиваться в W^3 , W^2 или W^1 на W^3 , W^2 или W^1 , соответственно, представляя собой

$-\text{CH}=\text{O}$ или $-\text{CH}_2\text{OH}$;

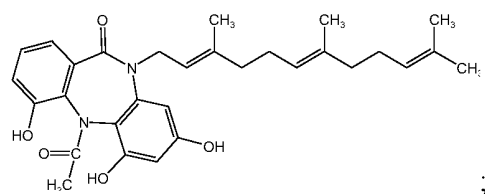
A представляет собой $-\text{NH}-$, $-\text{NCH}_2\text{R}^1-$ или $-\text{NC}(\text{O})\text{R}^1-$, причем R^1 представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-6} -алкен, арил или гетероарил;

каждый из R^2 , R^3 и R^4 независимо представляет собой H, R^5 или $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$, причем каждый R^5 независимо представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил, и причем каждый R^6 независимо представляет собой H, C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил.

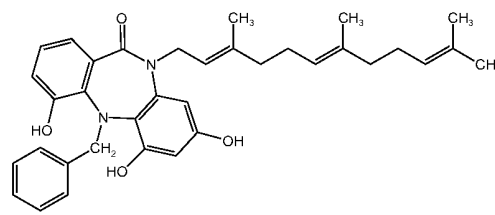
[0039] В некоторых вариантах реализации изобретения представлены соединения Формулы I, где A выбран из группы, состоящей из NH, NCH_2R^1 и $\text{NC}(\text{O})\text{R}^1$; где R^2

представляет собой H; R^3 представляет собой H; а R^4 представляет собой H. В другом варианте реализации каждый из R^2 , R^3 и R^4 представляет собой H, а все другие группы являются такими, как определено выше. Еще в одном варианте реализации каждый из R^2 , R^3 и R^4 представляет собой H; и W^1 представляет собой $-\text{CH}=\text{CH}-$, а все другие группы являются такими, как определено выше. Еще в одном варианте реализации каждый из R^2 , R^3 и R^4 представляет собой H, и W^2 представляет собой $-\text{CH}=\text{CH}-$, а все другие группы являются такими, как определено выше. Еще в одном варианте реализации каждый из R^2 , R^3 и R^4 представляет собой H, и W^3 представляет собой $-\text{CH}=\text{CH}-$, а все другие группы являются такими, как определено выше. Еще в одном варианте реализации A представляет собой NH; каждый из R^2 , R^3 и R^4 представляет собой H; а все другие группы являются такими, как определено выше. Еще в одном варианте реализации A представляет собой NH; каждый из W^1 , W^2 и W^3 представляет собой $-\text{CH}=\text{CH}-$; а все другие группы являются такими, как определено выше. Под изобретение подпадают все фармацевтически приемлемые соли упомянутых выше соединений.

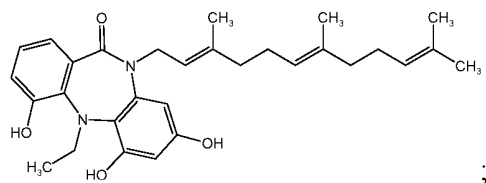
[0040] Далее представлены дополнительные примеры соединений Формулы I и соединений дибензодиазепинона фарнезила, согласно изобретению:



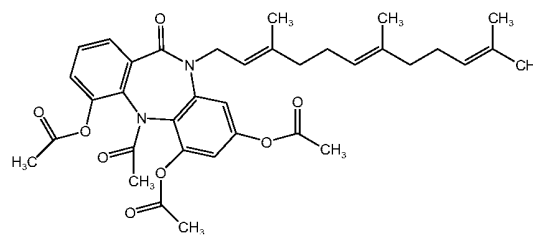
Формула III



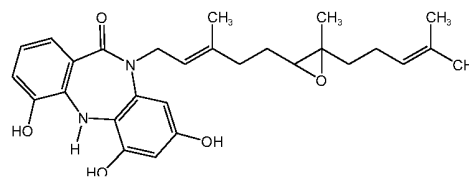
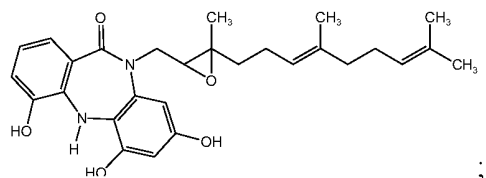
Формула IV



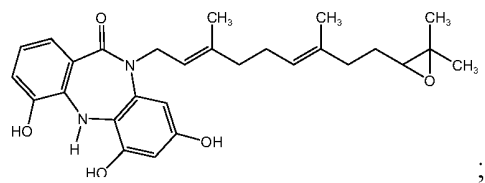
Формула V



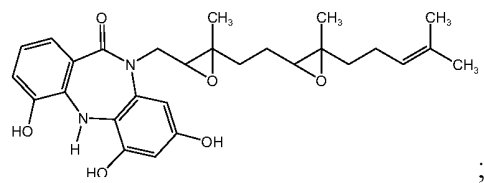
Формула VI



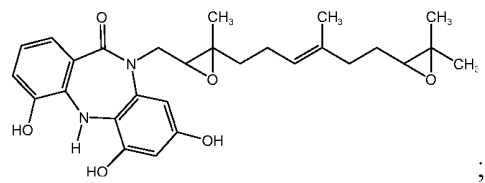
Формула VII



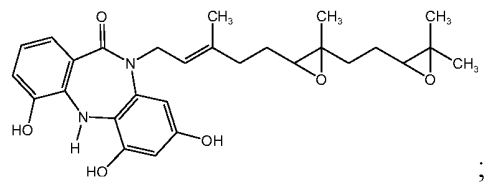
Формула VIII



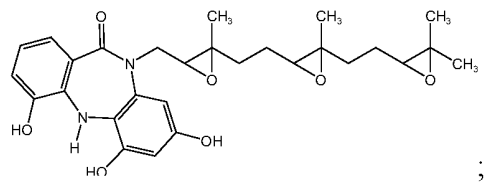
Формула IX



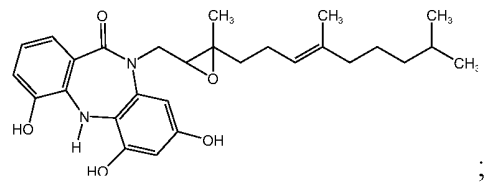
Формула X



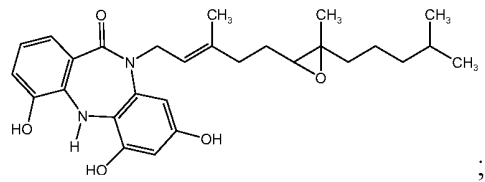
Формула XI



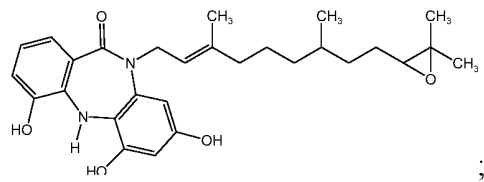
Формула XII



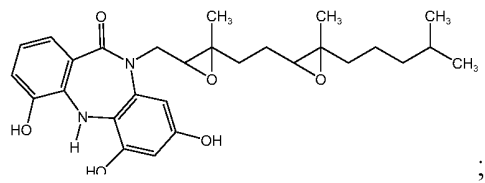
Формула XIII



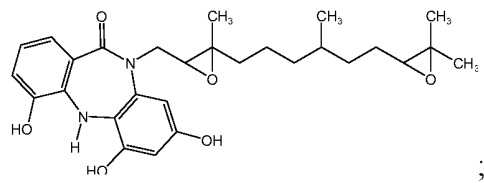
Формула XIV



Формула XV



Формула XVI

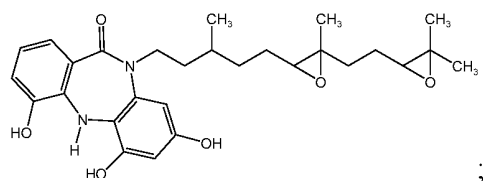


Формула XVII

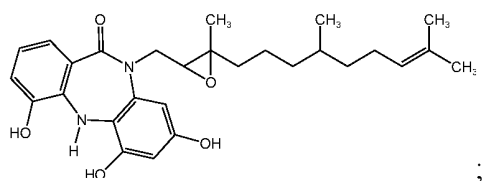


Формула XVIII

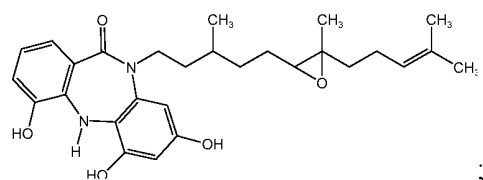




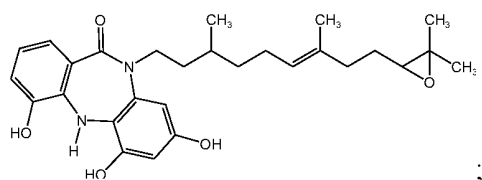
Формула XIX



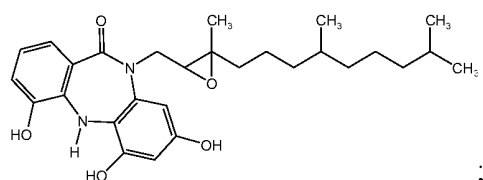
Формула XX



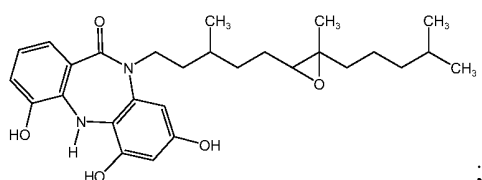
Формула XXI



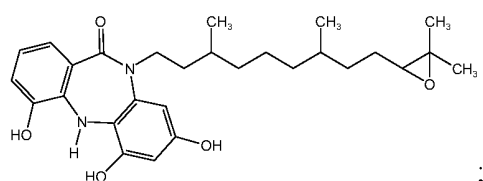
Формула XXII



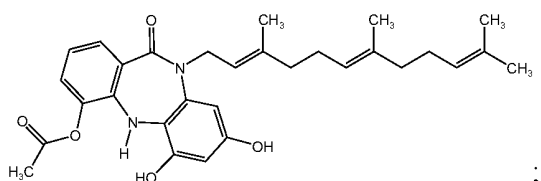
Формула XXIII



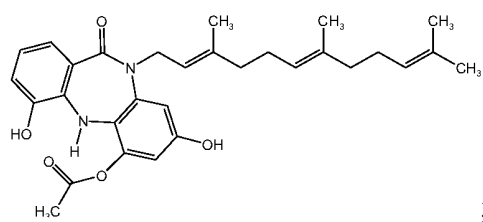
Формула XXIV



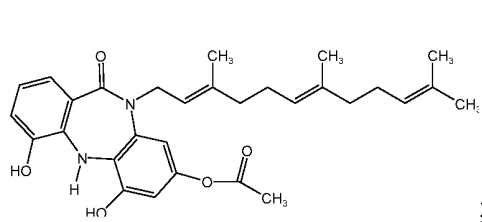
Формула XXV



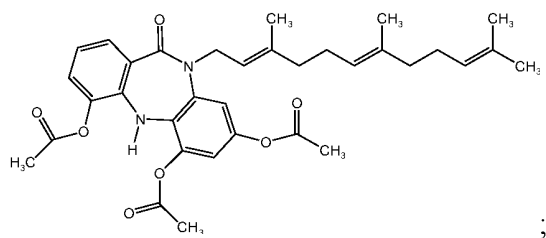
Формула XXVI



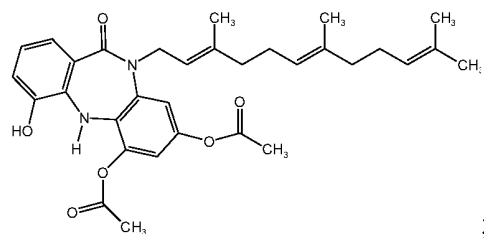
Формула XXVII



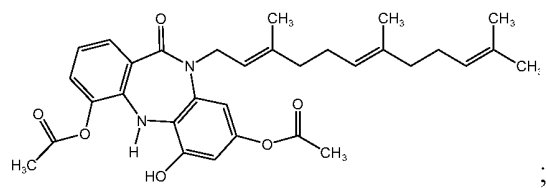
Формула XXVIII



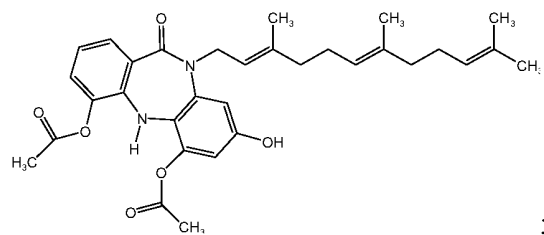
Формула XXIX



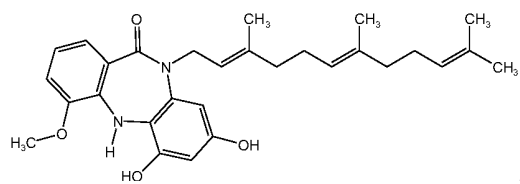
Формула XXX



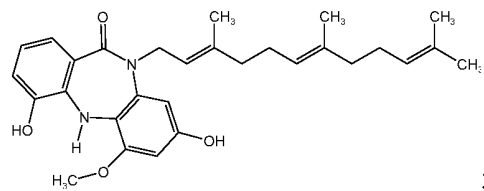
Формула XXXI



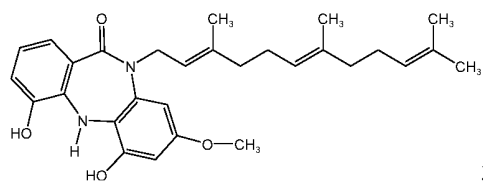
Формула XXXII



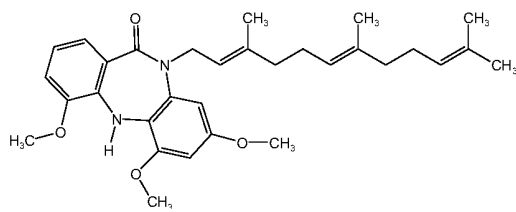
Формула XXXIII



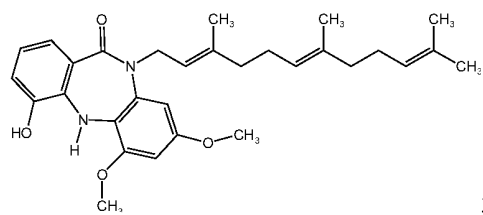
Формула XXXIV



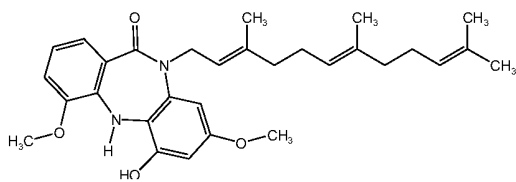
Формула XXXV



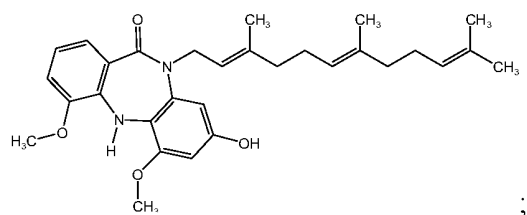
Формула XXXVI



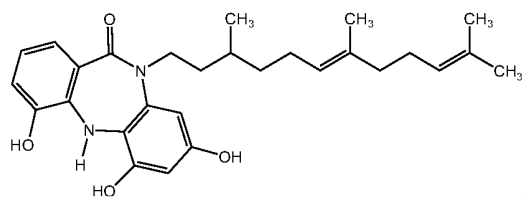
Формула XXXVII



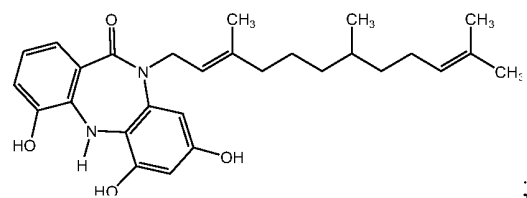
Формула XXXVIII



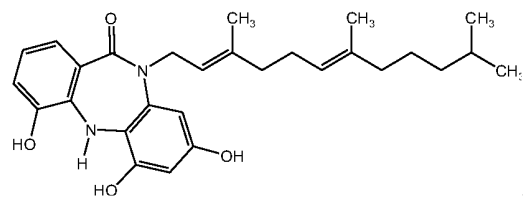
Формула XXXIX



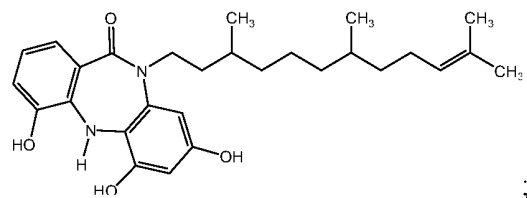
Формула XL



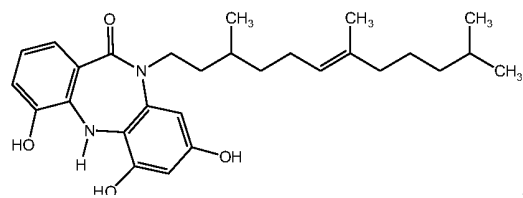
Формула XLI



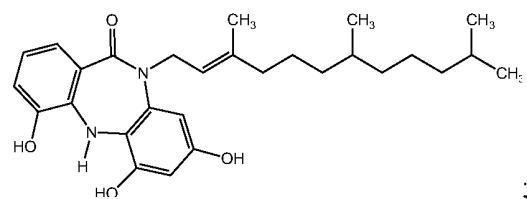
Формула XLII



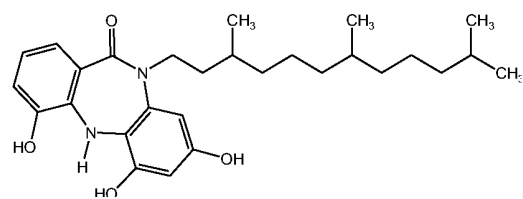
Формула XLIII



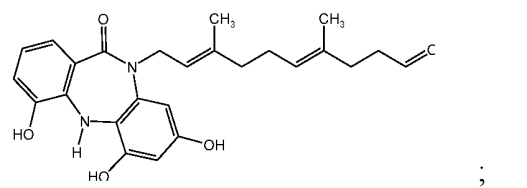
Формула XLIV



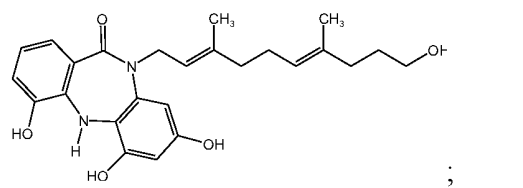
Формула XLV



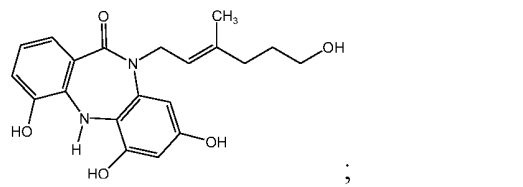
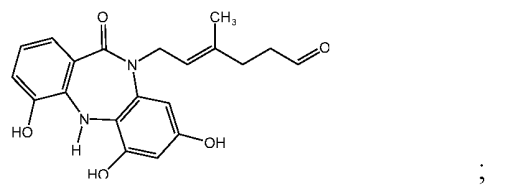
Формула XLVI



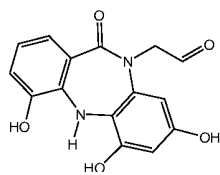
Формула XLVII



Формула XLVIII

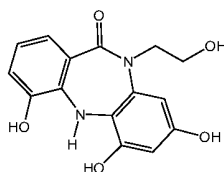


Формула XLIX



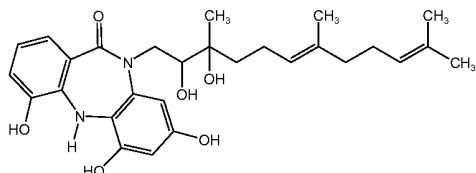
;

Формула L



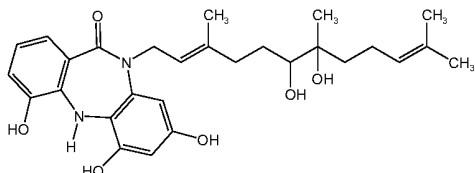
;

Формула LI



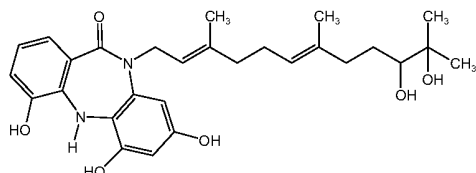
;

Формула LII



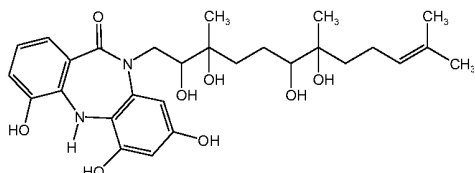
;

Формула LIII



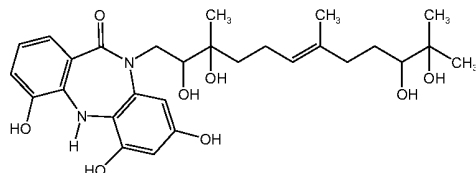
;

Формула LIV



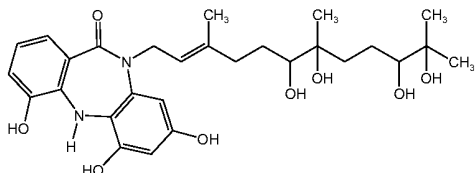
;

Формула LV



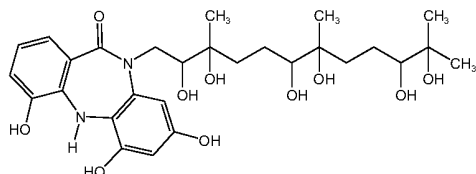
;

Формула LVI



; и

Формула LVII



.

Формула LVIII

Формула LIX

[0041] Используемый в настоящем документе термин «алкил» относится к линейным или разветвленным углеводородным группам. Примеры алкильных групп включают в себя, без ограничения, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, пентил, гексил, гептил, цикlopентил, циклогексил, циклогексиметил и тому подобное. Алкил необязательно может

быть замещен заместителями, выбранными из ацила, amino, ациламино, ацилокси, карбоалкокси, карбокси, карбоксиамидо, циано, галогена, гидроксила, нитро, тио, алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклила, арила, гетероарила, алкокси, арилокси, сульфинила, сульфонила, оксо, гуанидино и формила.

[0042] Термин «алкенил» относится к линейным, разветвленным или циклическим углеводородным группам, содержащим по меньшей мере одну двойную углерод-углеродную связь. Примеры алкенильных групп включают в себя, без ограничения, винил, 1-пропен-2-ил, 1-бутен-4-ил, 2-бутен-4-ил, 1-пентен-5-ил и тому подобное. Алкенил необязательно может быть замещен заместителями, выбранными из ацила, amino, ациламино, ацилокси, карбоалкокси, карбокси, карбоксиамидо, циано, галогена, гидроксила, нитро, тио, алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклила, арила, гетероарила, алкокси, арилокси, сульфинила, сульфонила, формила, оксо и гуанидино. Часть(и) двойной связи ненасыщенной углеводородной цепи может находиться в цис- или транс-конфигурации.

[0043] Термины «циклоалкил» и «циклоалкильное кольцо» относятся к насыщенному или частично ненасыщенному карбоциклическому кольцу в системе с одним или слитым карбоциклическим кольцом, имеющем от трех до пятнадцати кольцевых членов. Примеры циклоалкильных групп включают в себя, без ограничения, циклопропил, циклобутил, циклогексил и циклогептил. Циклоалкил необязательно может быть замещен заместителями, выбранными из ацила, amino, ациламино, ацилокси, карбоалкокси, карбокси, карбоксиамидо, циано, галогена, гидроксила, нитро, тио, алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклила, арила, гетероарила, алкокси, арилокси, сульфинила, сульфонила и формила.

[0044] Термины «гетероциклил» и «гетероциклический» относятся к насыщенному или частично ненасыщенному кольцу, содержащему от одного до четырех гетероатомов или гетерогрупп, выбранных из O, N, NH, NR_x, PO₂, S, SO или SO в системе с одним или слитым гетероциклическим кольцом, имеющем от трех до пятнадцати кольцевых членов. Примеры гетероциклила или гетероциклического кольца включают в себя, без ограничения, морфолинил, пиперидинил и пирролидинил. Гетероциклил, гетероциклическое или гетероциклильное кольцо необязательно может быть замещено заместителями, выбранными из ацила, amino, ациламино, ацилокси, оксо, тиокарбонила, имино,

карбоалкокси, карбокси, карбоксиамидо, циано, галогена, гидроксила, нитро, тио, алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклила, арила, гетероарила, алкокси, арилокси, сульфинила, сульфонила и формила.

[0045] Термин «аминокислота» относится к любой природной аминокислоте; природные аминокислоты хорошо известны специалисту в данной области техники.

[0046] Термин «галоген» относится к атому галогена, например, бром, хлор, фтор и йод.

[0047] Термины «арил» или «арильное кольцо» относятся к ароматическим группам в системе с одним или слитым кольцом, имеющем от трех до пятнадцати кольцевых членов. Примеры арила включают в себя, без ограничения, фенил, нафтил, бифенил, терфенил. Арил необязательно может быть замещен одной или более замещающей группами, выбранными из ацила, амина, ациламина, ацилокси, азидо, алкидио, карбоалкокси, карбокси, карбоксиамидо, циано, галогена, гидроксила, нитро, тио, алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклила, арила, гетероарила, алкокси, арилокси, сульфинила, сульфонила и формила.

[0048] Термины «гетероарил» и «гетероарильное кольцо» относятся к ароматическим группам в системе с одним или слитым кольцом, имеющем от трех до пятнадцати кольцевых членов и содержащим по меньшей мере один гетероатом, такой как O, N, S, SO и SO₂. Примеры гетероарильных групп включают в себя, без ограничения, пиридиновые, тиазолиновые, тиадiazолиновые, изохинолиновые, пиразолиновые, оксазолиновые, оксадиазолиновые, триазолиновые и пирролиновые группы. Гетероарильные группы необязательно могут быть замещены одной или более замещающей группами, выбранными из ацила, амина, ациламина, ацилокси, карбоалкокси, карбокси, карбоксиамидо, циано, галогена, гидроксила, нитро, тио, тиокарбонила, алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклила, арила, гетероарила, алкокси, арилокси, сульфинила, сульфонила и формила.

[0049] Термины «аралкил» и «гетероаралкил» относятся к арильной группе или гетероарильной группе, соответствующим образом связанной непосредственно через алкильную группу, такую как бензил. Аралкил и гетероаралкил необязательно могут быть замещены как арильные и гетероарильные группы.

[0050] Подобным образом, термины «аралкенил» и «гетероаралкенил» относятся к арильной группе или гетероарильной группе, соответствующим образом связанной

непосредственно через алкеновую группу, такую как бензил. Аралкенил и гетероаралкенил необязательно могут быть замещены как арильные и гетероарильные группы.

[0051] Соединения настоящего изобретения могут иметь один или более асимметрических атомов углерода и могут существовать в виде оптических изомеров, образующих смеси рацемических или нерацемических соединений. Соединения настоящего изобретения пригодны в виде единых изомеров или в виде смеси стереохимических изомерных форм. Диастереоизомеры, т.е. несовпадающие при наложении стереохимические изомеры, могут быть разделены традиционными средствами, такими как хроматография, дистилляция, кристаллизация или сублимация. Оптические изомеры могут быть получены путем разделения рацемических смесей, согласно традиционным процессам.

[0052] Используемая в настоящем документе ссылка на субъекта с СФМ подразумевает субъекта, у которого выявлена хромосомная делеция в 22q13.3 и имеется по меньшей мере два из следующих симптомов: гипотония (низкий тонус), нормальный или ускоренный рост, отсутствие речи или ее существенная задержка, а также задержка общего развития.

[0053] Используемая в настоящем документе ссылка на субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ подразумевает субъекта, у которого выявлена хромосомная делеция в 22q13.3, и/или субъекта, у которого имеется по меньшей мере два из следующих симптомов: гипотония (низкий тонус), нормальный или ускоренный рост, отсутствие речи или ее существенная задержка, а также задержка общего развития.

[0054] Как станет ясно, характер хромосомной(ых) делеции(й) у субъекта с СФМ или предрасположенностью к развитию СФМ может варьироваться в части размера, величины и конкретного местоположения в локусе. Кроме того, ввиду того, что считается, что СФМ связан с гаплонедостаточностью *SHANK3*, хромосомная делеция в 22q13.3 может иметь место в одном или обоих аллелях. Находясь в обоих аллелях, делеция может отличаться между аллелями.

[0055] Используемая в настоящем документе пониженная экспрессия белка *SHANK3* у субъекта представляет собой понижение экспрессии белка *SHANK3* по меньшей мере на 30% по сравнению с субъектом, у которого нет хромосомной делеции в 22q13.3. Понижение экспрессии белка *SHANK3* может быть по меньшей мере на 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%,

60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или больше по сравнению с субъектом, у которого нет хромосомной делеции в 22q13.3.

[0056] Используемый в настоящем документе дисфункциональный белок SHANK3 является белком SHANK3, который не поддерживает нормальную синаптическую функцию.

III. Способы лечения

[0057] Настоящее изобретение направлено на способы лечения субъекта с СФМ или субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ. Каждый из способов, согласно изобретению, включает введение терапевтически эффективного количества (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, субъекту, такому как субъект с СФМ или субъект с предрасположенностью к развитию СФМ. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01.

[0058] Изобретение также направлено на применение (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, в (a) лечении субъекта с СФМ, (b) способах лечения субъекта с СФМ, (c) лечении субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ или (d) способах лечения субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01.

[0059] Изобретение также направлено на терапевтически эффективное количество (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, для применения в (a) лечении субъекта с СФМ, (b) способе лечения субъекта с СФМ, (c) лечении субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ или (d) способах лечения субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ. В некоторых вариантах реализации

по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01.

[0060] Изобретение также направлено на применение по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила для производства лекарственного препарата для лечения субъекта с СФМ, а также на применение по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила для производства лекарственного препарата для ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01.

[0061] Используемые в настоящем документе термины «лечить», «для лечения» и «лечение» имеют свои обычные и традиционные значения, и они включают в себя одно или более из следующего: уменьшение интенсивности симптома СФМ у субъекта с СФМ или субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ; блокирование симптома СФМ у такого субъекта; блокирование или уменьшение интенсивности повторного проявления симптома СФМ у такого субъекта; снижение остроты и/или частоты возникновения симптома СФМ у такого субъекта; блокирование прогрессирования СФМ у такого субъекта; и лечение или регулирование СФМ у такого субъекта. Под лечением подразумевается уменьшение интенсивности и др. на значение от приблизительно 1% до приблизительно 100% по сравнению с субъектом, которому не было проведено лечение. Предпочтительно, уменьшение интенсивности и др. происходит на приблизительно 100%, приблизительно 99%, приблизительно 98%, приблизительно 97%, приблизительно 96%, приблизительно 95%, приблизительно 90%, приблизительно 80%, приблизительно 70%, приблизительно 60%, приблизительно 50%, приблизительно 40% или приблизительно 30% по сравнению с субъектом, которому не было проведено лечение. Лечение могут начинать перед, одновременно или после проявления клинических симптомов нарушения. Таким образом, у субъекта могут проявляться симптомы СФМ или же ему лишь поставлен диагноз предрасположенности к развитию СФМ, однако у него в настоящий момент не проявляются симптомы нарушения. Результаты лечения могут быть перманентными или могут продолжаться в течение периода, составляющего несколько суток (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток), недель (например, 1, 2, 3 или 4 недели) или месяцев (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или больше месяцев).

[0062] Количество по меньшей мере одного дибензодиазепинона фарнезила, вводимого субъекту при реализации способов настоящего изобретения на практике, будет варьироваться в зависимости от таких факторов, как возраст и вес субъекта, а также характера и остроты симптомов нарушения. Однако вводимое субъекту количество будет терапевтически эффективным количеством, т.е. количеством, достаточным для эффективного лечения. В качестве примера, терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного дибензодиазепинона фарнезила составляет от приблизительно 0,1 мкг до приблизительно 200 мг на кг массы тела субъекта. Другие диапазоны терапевтически эффективного количества включают в себя, но без ограничения, от приблизительно 10 мкг/кг до приблизительно 200 мг/кг; от приблизительно 100 мкг/кг до 200 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 200 мг/кг; от приблизительно 10 мг/кг до 200 мг/кг; от приблизительно 10 мкг/кг до 100 мг/кг; от приблизительно 100 мкг/кг до 100 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 100 мг/кг; от приблизительно 10 мг/кг до 100 мг/кг; от приблизительно 0,1 мкг/кг до 50 мг/кг; от приблизительно 1 мкг/кг до 50 мг/кг; от приблизительно 10 мкг/кг до 50 мг/кг; от приблизительно 100 мкг/кг до 50 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 50 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 40 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 30 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 20 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 10 мг/кг; от приблизительно 1 мг/кг до 5 мг/кг; от приблизительно 0,1 мг/кг до 10 мг/кг; от приблизительно 0,1 мг/кг до 5 мг/кг; от приблизительно 10 мг/кг до 50 мг/кг; и от приблизительно 20 мкг/кг до 40 мг/кг массы тела субъекта. Конкретные примеры терапевтически эффективного количества включают в себя, но без ограничения, приблизительно 0,1, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 и 60 мг/кг массы тела субъекта. Выражаясь альтернативным образом, терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного дибензодиазепинона фарнезила составляет от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 1000 мг/м². Другие диапазоны терапевтически эффективного количества включают в себя, но без ограничения, от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 1000 мг/м²; от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 500 мг/м²; от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 400 мг/м²; от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 300 мг/м²; от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 250 мг/м²; от

приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 200 мг/м²; от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 150 мг/м²; от приблизительно 1 мг/м² до приблизительно 100 мг/м²; от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 1000 мг/м²; от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 500 мг/м²; от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 400 мг/м²; от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 300 мг/м²; от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 200 мг/м²; от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 150 мг/м²; от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 100 мг/м²; от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 1000 мг/м²; от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 500 мг/м²; от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 400 мг/м²; от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 300 мг/м²; от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 200 мг/м²; и от приблизительно 100 мг/м² до приблизительно 150 мг/м². Конкретные примеры терапевтически эффективного количества включают в себя, но без ограничения, приблизительно 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 мг/м², или больше.

[0063] В ходе курса лечения, по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила могут вводить субъекту один раз или два раза, три раза, четыре раза, пять раз, шесть раз или больше. Время между каждой дозой в режиме дозирования может варьироваться между несколькими сутками, неделями, месяцами или годами, и включает введение один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или больше недель. То же количество по меньшей мере одного дибензодиазепинона фарнезила могут вводить в каждой дозе из режима дозирования, или же количество в каждой дозе может варьироваться. Подходящие дозы и режимы дозирования легко могут быть определены с помощью технологий, которые хорошо известны специалисту в данной области техники, без проведения излишних экспериментов. Такое определение будет частично основано на переносимости и эффективности конкретной дозы.

[0064] Значения частоты введения включают в себя 4, 3, 2 или один раз в сутки, через сутки, в каждые третьи сутки, в каждые четвертые сутки, в каждые пятые сутки, в каждые шестые сутки, один раз в неделю, в каждые восьмые сутки, в каждые девятые сутки, в каждые десятые сутки, в каждые две недели, в месяц и в каждые два месяца. Длительность лечения будет определена исходя из симптомов и остроты нарушения у конкретного

субъекта и наилучшим образом будет определена лечащим врачом. Однако предполагается, что лечение будет длиться в течение некоторого количества суток, недель, месяцев или лет. Действительно, в некоторых случаях лечение может длиться в течение всей жизни субъекта.

[0065] В зависимости от средств введения, дозировка может вводиться полностью сразу, как, например, при пероральном введении через капсулу или жидкость, или медленно в течение некоторого периода времени, как, например, при внутримышечном или внутривенном введении. При введении в течение некоторого времени, длительность введения может составлять, например, 10, 20, 30, 40, 50 или 60 минут, или 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 или 10 часов, или больше. В одном варианте реализации изобретения доза составляет 120 мг/м^2 и доставляется субъекту в течение 6 часов.

[0066] Используемый в настоящем документе «субъект» включает в себя, но без ограничения, человека, не являющегося человеком примата, птицу, лошадь, корову, козу, овцу, домашнее животное, такое как собака, кошка или грызун, или другое млекопитающее.

IV. Составы и дозы

[0067] В каждом из способов лечения, согласно изобретению, по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтические композиции вводятся в фармацевтически приемлемой форме и в по существу нетоксичных количествах.

[0068] Фармацевтические композиции, согласно изобретению, будут содержать по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила, как описано в настоящем документе. Фармацевтические композиции также будут содержать один или более фармацевтически приемлемых носителей или разбавителей.

[0069] Подходящие примеры носителей и разбавителей хорошо известны специалисту в данной области техники и включают в себя воду, воду для инъекций, физиологический раствор, забуференный физиологический раствор, декстрозу, глицерин, этанол, пропиленгликоль, полисорбат 80 (Tween-80™), поли(этилен)гликоль 300 и 400 (ПЭГ 300 и 400), ПЭГилированное касторовое масло (например, Кремофор EL), полоксамер 407 и 188, гидрофильные и гидрофобные носители, а также их комбинации. Гидрофобные носители включают в себя, например, жировые эмульсии, липиды, ПЭГилированные фосфолипиды,

полимерные матриксы, биологически совместимые полимеры, липосферы, везикулы, частицы и липосомы. В частности, эти термины исключают среду для культивирования клеток. Композиции могут также содержать стабилизирующие агенты, буферы, антиоксиданты и консерванты, регуляторы тоничности, объемообразующие агенты, эмульгаторы, суспендирующие или обеспечивающие вязкость агенты, инертные разбавители, наполнители и их комбинации.

[0070] Характер носителей и разбавителей будет зависеть от способа применения фармацевтических композиций и средств, используемых для введения фармацевтических композиций субъекту. Например, фармацевтические композиции для препаратов для внутримышечного введения могут быть приготовлены, если носителем является вода для инъекций, 0,9% физиологический раствор или 5% раствор глюкозы.

[0071] Кроме того, фармацевтические композиции могут вводить в жидкой форме. Жидкость может быть предназначена для пероральной дозировки, для офтальмологической или назальной дозировки в виде капель, или для применения в качестве раствора для промывания желудка или орошения. Если фармацевтическая композиция представлен в форме жидкости, то она может представлять собой раствор или суспензию фармацевтического состава. Существует широкое разнообразие подходящих композиций для раствора или суспензии фармацевтических композиций, которые хорошо известны специалисту в данной области техники, в зависимости от показания к их использованию. Жидкие композиции для перорального введения, приготовленные в воде или других водных средах, могут содержать различные суспендирующие агенты, такие как метилцеллюлоза, альгинаты, трагакант, пектин, кельгин, каррагенан, аравийскую камедь, поливинилпирролидон и поливиниловый спирт. Жидкие композиции могут также включать в себя растворы, эмульсии, сиропы и эликсиры, содержащие, вместе с активным(и) соединением(ями), смачивающие агенты, подсластители, а также окрашивающие агенты и ароматизаторы.

[0072] Соединения дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтические композиции могут получать и вводить с помощью любых традиционных известных средств, в том числе, но без ограничения, путем перорального, сублингвального, интраназального, интраокулярного, ректального, трансдермального, мукозального, ингаляционного, парентерального введения или местного применения. Парентеральные режимы введения

включают в себя, без ограничения, интрадермальное, подкожное (п/к, п/ж, под-К, «Гипо»), внутримышечное (в/м), внутривенное (в/в), интраперитонеальное (и/п), внутриартериальное, интрамедуллярное, интракардиальное, интраартикулярное (синовиальное соединение), интрасиновиальное (область синовиальной жидкости), интракраниальное, интраспинальное и интратекальное (спинномозговые жидкости). Для реализации такого введения может быть использовано любое известное устройство, подходящее для парентеральной инъекции или инфузии составов лекарственного средства.

V. Пример 1

Мыши

[0073] Поколения гомозиготных мышей *Shank3b*^{-/-} с делециями экзонов 13-16, изначально полученные из лаборатории «Jackson Laboratory», и однопометников дикого типа (WT) возвращали на фоне C57BL/6J и подвергали повторному возвратному скрещиванию на фоне C57BL/6J в ходе более восьми поколений. Полученных в результате мышей с нокаутом (KO) Shank3 упорядочивали по группам одного и того же генотипа в помещении с контролируемой температурой и влажностью с 12-часовым светотемновым циклом (светло с 7:00 до 19:00). Температуру и влажность в помещении записывали непрерывно в помещении хранения. Тестирование проводили в ходе световой фазы. Пища и вода были доступны *ad libitum*. Тестирование проводили на мышях с нокаутом Shank3 и их однопометниках дикого типа при N = 10 мышей на группу лечения, при двухмесячном возрасте тестируемых особей на момент поведенческих экспериментов. Мышей помещали в пластиковые клетки, доступные в продаже, и эксперименты проводили в соответствии с требованиями Акта о надлежащем обращении с животными в научных экспериментах в Соединенном Королевстве от 1986 г. Все эксперименты проводили с ослеплением генотипа и лекарственной терапии для эксперименталистов. Перед проведением какого-либо эксперимента, животных выдерживали в течение минимального периода акклиматизации, составлявшего одну неделю. Использовали только здоровых животных. В ходе периода акклиматизации не проводили какое-либо профилактическое или терапевтическое лечение.

Активность Ras-ERK

[0074] В изначальном эксперименте определяли активность пути Ras-ERK в головном мозге и лимфоцитах при лечении по сравнению с животными, не использовавшимися ранее в опытах. Сравнивали группы мышей при N = 10. Для определения уровней биомаркера в головном мозге использовали следующие способы и реагенты. Двадцать микрограмм лизата белка из каждого образца отделяли путем электрофореза в полиакриламидных гелях в присутствии 8-16% додецилсульфата натрия (Bio-Rad, 161-1222) и затем переносили на нитроцеллюлозные мембраны (Bio-Rad, 162-0115). Мембраны обрабатывали на основе субстрата для ЭХЛ вестерн-блоттинга (Pierce, 32106) с (ERK) 1/2 (1/2000) (Cell Signaling). Общее содержание белка ERK 1/2 (фосфорилированного) оценивали с помощью мембран для блоттинга с антифосфо-ERK антителами (1/2000) (Cell Signaling). Фосфорилирование ERK нормализовали по содержанию белка в том же образце и выражали в виде % изменения относительно базовых условий, рассматривая базовые уровни как 100%. Загрузку белка оценивали с помощью мембран для стриппинга и повторного блоттинга с b-актиновым антителом (1/1000) (Sigma Chemical Co.). Фосфор-ERK1/2 (Thr-202/Tyr-204) (Cell Signaling Technology®, #4370) общий ERK, p44/42 MAPK (Erk1/2) Антитело #9102 (Cell Signaling Technology®). Для контроля загрузки, мембраны подвергали стриппингу и повторно отбирали пробу с антителом против тубулина (Sigma, A3853). Для определения биомаркера лимфоцитов использовали FACStar plus (Becton Dickinson) с возбуждающим лазером, настроенным на 488 нм, и зеленую флуоресценцию от ФИТЦ (GST) собирали через фильтр с полосой 515-545 нм. Среднюю интенсивность ФИТЦ-флуоресценции вычисляли относительно флуоресценции эталонных клеток. Средняя интенсивность клеточной флуоресценции (MFI) прямо пропорциональна среднему пределу молекул Ab на клетку.

Поведенческое тестирование

[0075] АМО-01 от АМО Pharma Ltd вводили мышам следующим образом:

А. АМО-01 при единичной дозе 30 мг/кг интраперитонеально в среде этанола, ПЭГ 400 и полисорбата 80 и 5% декстрозы

В. Дозирование среды интраперитонеально в количестве 15 мл/кг

Группы мышей при N = 10 лечили за 4 часа перед тестированием в первые сутки тестирования. Тестирование проводили в течение пяти суток после единичной интраперитонеальной дозы, введенной в День 1.

[0076] Исследовали следующие группы:

1. Нокаутные мыши *Shank3b*^{-/-} + среда, N = 10
2. Нокаутные мыши *Shank3b*^{-/-} + АМО-01 30 мг/кг и/п, N = 10
3. Однопометники дикого типа + среда, N = 10
4. Однопометники дикого типа + АМО-01 30 мг/кг и/п, N = 10

[0077] Проводили следующие тесты.

[0078] День 1: Повышенная тревожность при тесте в темно-светлой камере. Тестирование проводили в двухкамерном тестовом устройстве (Med Associates, Сейнт Олбанс, штат Вермонт), с одной стороны которого «темную камеру» все время поддерживали темной, а другую камеру освещали, которая при тестировании была «светлой камерой». После помещения мышей в темную камеру, светлую камеру освещали, а дверцу между двумя камерами открывали. Мышам позволяли свободно исследовать устройство в течение 5 минут. Время задержки перехода из затемненной в освещенную камеру и процент времени, проведенного в освещенной камере, использовали в качестве индексов поведения, подобного тревожности.

[0079] День 2: Избыточное чесание, приводящее к повреждениям кожи. У нокаутных мышей *Shank3b*^{-/-} появлялись явно выраженные повреждения кожи различных степеней в общей инкубированной колонии. В ходе этого теста количественную оценку времени чесания во всех последовательностях: умывание, почесывание/протираание головы и ушей, а также чесание всего тела, проводил наблюдатель, не знавший генотип во время этой количественной оценки.

[0080] День 3: Отклонения в социальном распознавании и реакции на социальную новизну. Этот тест состоял из трех фаз с различными возбудителями, расположенными в каждой из двухсторонних камер. Фаза 1 содержит два идентичных несоциальных возбудителя (NS1 и NS2), фаза 2 содержит несоциальный возбудитель (NS1) и социальный возбудитель (Soc1), а фаза 3 содержит известный социальный возбудитель (Soc1) и новый социальный возбудитель (Soc2). Сравнивали индекс предпочтения для одного возбудителя по сравнению с другим возбудителем на каждой фазе.

[0081] День 4: Сенсорно-моторную функцию оценивали с помощью тестов «сужающаяся дорожка». Использовали стандартный подход для оценки эффективности «ходьбы по сужающейся дорожке» (время ожидания до падения).

[0082] День 5: Повседневные действия/типичные для видов модели поведения оценивали с помощью «закапывания шариков». Для оценки поведения при «закапывании шариков» использовали стандартный подход.

[0083] Пороговое значение, оцененное при аудиогенных припадках, оценивали в отдельной когорте при $N = 10$ на группу. Припадки вызывали с помощью 60-секундного непрерывного возбудителя (124 дБ). Неосведомленный наблюдатель оценивал скорости двигательной реакции и количественное значение остроты припадков после звукового возбуждения, согласно классификации: неконтролируемые судороги, припадки и остановка дыхания.

[0084] Результаты тестирования функции пути Ras-ERK показаны на Фигуре 1, где показана активация пути Ras-ERK у мышей дикого типа (WT) и мышей с нокаутом *shank3*, индексированная уровнями pERK в гиппокампе и коре головного мозга. В гиппокампе изменений не наблюдалось, что проводит параллель с отсутствием эффекта, наблюдаемого в этой области с использованием электрофизиологии в исследованиях у Pesa et al. (2011). В противовес этому, почти трехкратное увеличение pERK наблюдалось в коре головного мозга (Pesa et al. 2011 сообщили о стриально-корковых изменениях у этой мыши). Существенное увеличение также наблюдалось в циркулирующих по периферии лимфоцитах (данные не показаны).

[0085] Результаты теста в темно-светлой камере представлены на Фигуре 2, на которой показано снижение тревожного поведения, вызванного темно-светлой камерой, с помощью АМО-01 у мышей с КО *Shank3b*. Тревожность оценивали путем тестирования в темно-светлой камере трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы АМО-01, составлявшей 30 мг/кг и/п, или среды, введенной за 4 часа перед тестирования в группах из $N = 10$ мышей. Общий ANOVA использовали для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 31,19$, $p < 0,0001$). Разница между получившими среду мышами дикого типа и мышами с нокаутом *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$), хотя это изменение не было полным, поскольку по-прежнему имела место значительная разница между получившими АМО-01 мышами дикого типа и КО-мышами *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,05$).

[0086] Результаты теста чесания представлены на Фигуре 3, на которой показано уменьшение поведения с избыточным чесанием с помощью АМО-01 у мышей с КО *Shank3b*. Самоотравмирующее поведение, индексированное избыточным самочесанием, у трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы в 30 мг/кг АМО-01 и/п. Общий ANOVA использовали для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 29,14$, $p < 0,0001$). Разница между получившими среду мышами дикого типа и нокаутными мышами *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$). Это изменение было полным, поскольку отсутствовала существенная разница между получавшими АМО-01 мышами дикого типа и КО-мышами *Shank3b*^{-/-} после лечения.

[0087] Результаты тестирования социального распознавания и реакции на социальную новизну представлены на Фигуре 4, на которой показано снижение реакции на социальную новизну с помощью АМО-01 у мышей с КО *Shank3b*. Реакцию на социальную новизну индексировали временем, проведенным во взаимодействии со знакомыми или новыми мышами, у трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы в 30 мг/кг АМО-01 и/п. Общий ANOVA использовали для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 52,75$, $p < 0,0001$).

[0088] Результаты тестов «сужающаяся дорожка» представлены на Фигуре 5, на которой показано уменьшение поведения «сужающейся дорожки» с помощью АМО-01 у мышей с КО *Shank3b*. Поведение при тесте «сужающаяся дорожка» у трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы 30 мг/кг АМО-01 и/п. Общий ANOVA использовали для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 29,76$, $p < 0,0001$). Разница между получившими среду мышами дикого типа и нокаутными мышами *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$). Это изменение было полным, поскольку отсутствовала существенная разница между получавшими АМО-01 мышами дикого типа и КО-мышами *Shank3b*^{-/-} после лечения.

[0089] Результаты теста «закапывание шариков» представлены на Фигуре 6, на которой показано уменьшение поведения «закапывание шариков» с помощью АМО-01 у мышей с

КО *Shank3b*. Поведение при тесте «закапывание шариков» у трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы 30 мг/кг АМО-01 и/п. Общий ANOVA использовали для анализа этого эксперимента, был существенным ($F = 42,15$, $p < 0,0001$). Разница между получившими среду мышами дикого типа и нокаутными мышами *Shank3b*^{-/-} была существенной ($p < 0,001$). АМО-01 не обладало каким-либо значительным эффектом у мышей дикого типа. АМО-01 существенно снизило дефицит, наблюдаемый у КО-мышей *Shank3b*^{-/-} ($p < 0,0001$). Это изменение было полным, поскольку отсутствовала существенная разница между получавшими АМО-01 мышами дикого типа и КО-мышами *Shank3b*^{-/-} после лечения.

[0090] Результаты теста порогового значения припадка представлены на Фигуре 7, на которой показано уменьшение пониженного порогового значения аудиогенного припадка с помощью АМО-01 у мышей с КО *Shank3b*. Пороговое значение аудиогенного припадка у трансгенной модели СФМ с КО *Shank3b* после единичной дозы 30 мг/кг АМО-01 и/п.

[0091] Таким образом, можно наблюдать, что эксперименты, представленные в настоящем документе, показали, что в модели гомозиготной нокаутной мыши *Shank3b*^{-/-} путь Ras-ERK активируется в коре головного мозга (интенсивной волной), тогда как активность в гиппокампе остается без изменений. Эти данные согласуются с представленными у Pesa et al. (2011), которые показали измененную пластичность стриато-кортикальных путей при отсутствии гиппокампальных изменений в этой модели. Повышение активации пути Ras-ERK согласуется с понижением порогового значения припадка в коре головного мозга - Nateri et al. (2007).

[0092] Введение 30 мг/кг АМО-01 и/п не влияло на тревожность, чесание, социальную функцию, сенсорно-моторную функцию или типичные для видов модели поведения или познание у мышей дикого типа. Эти данные согласуются с результатами предыдущих тестов поведения у мышей дикого типа с этим соединением. В отличие от этого, данная доза инвертировала дефициты во всех этих областях в трансгенной модели синдрома Фелан-Макдермид у мыши с нокаутом *Shank3*. Эта инверсия представляла существенную нормализацию функции в областях тревожности и аудиогенного припадка, а также полную нормализацию функции чесания, социальной функции, сенсорно-моторной функции и типичных для вида функций. Это широкое уменьшение фенотипа синдрома Фелан-

Макдермид возникало после единичной дозы АМО-01 и сохранялось по меньшей мере в течение пяти суток.

VI. Пример 2

[0093] Мужчине возрастом двадцать три года с генетически подтвержденным диагнозом синдрома Фелан-Макдермид вводили АМО-01.

[0094] Исследуемый лекарственный препарат готовили из стерильной нерасфасованной массы композиции, содержащей 32,8 мг/мл (3,15% об/об) активного лекарственного вещества, растворенного в стерильном 0,9% солевом растворе, для получения изотонического конечного дозирования состава. Каждая пробирка с лекарственным препаратом содержала 70 мг лекарственного вещества АМО-01 в 2,134 мл состава (плюс 2% избытка). Это соответствует общему содержанию лекарственного препарата 71,4 мг активного лекарственного вещества на 2,176 мл формулы. АМО-01 вводили в виде единичной дозы через внутривенные инфузии в течение 6-часового периода при общей вводимой дозе 120 мг/м².

[0095] Частоту припадков и вызванные зрительные потенциалы (ВЗП) оценивали вместе с клиническими мерами. ВЗП обеспечивают неинвазивную технологию оценки функциональной целостности зрительных путей в головном мозге от радужной оболочки до зрительной коры через глазной нерв/зрительную лучистость. ВЗП записывается с поверхности головы через зрительную кору и извлекается из выполняемой ЭЭГ через усреднение сигналов. ВЗП отражают сумму возбуждательных и ингибиторных постсинаптических потенциалов, имеющих место на апикальных дендритах (Zemon et al., 1986), которые модулируют возбуждательные и ингибиторные сигналы, принимаемые пирамидальными клетками. Основные положительные и отрицательные пики, а также минимумы форм волны ВЗП, отражают различные клеточные события. Возбудитель в виде шахматной доски с меняющимся контрастом, используемый в данном исследовании, дает положительный пик при приблизительно 60 мс (P0 или P60), отражая активацию первичной зрительной коры от латерального колленчатого тела. Отрицательный пик при приблизительно 75 мс (N0 или N75) отражает деполяризацию и глутаматергическую постсинаптическую активность, распространяющуюся на поверхностные слои первичной зрительной коры, а положительный пик при приблизительно 100 мс (P1 или P100) отражает

поверхностную гиперполяризацию и ГАМК-эргическую активность (Zemon et al., 1980). ВЗП использовались в клинических исследованиях; например, противоэпилептическое лекарственное средство (габапентин; Conte et al., 2009) и детская смесь (O'Connor et al., 2009). Оба получили разрешение FDA частично на основе положительных результатов из исследований ВЗП. Данные из проводимых в настоящее время исследований в Маунт-Синай обеспечивают поддержку для использования ВЗП в качестве меры реакции на лечение. Оценки клинической реакции проводили перед лечением, через 6 часов после лечения, а также через одну неделю, две недели и четыре недели после лечения, в соответствии со схемой на Фигуре 8.

Результаты

[0096] У субъекта была детально задокументированная история медицинских припадков, которые происходили регулярно 3-4 раза в неделю еженедельно в течение четырех лет с наступления девятнадцатилетнего возраста. Его припадки включали тонико-клонические судороги, сопровождавшиеся снижением насыщения кислородом, а также изменениями ортостатического артериального давления. Эти припадки имели острый, серьезный характер и потенциально являлись угрозами для жизни.

[0097] Субъект находился на пороге одного из этих острых припадков в течение часа или перед инфузией исследуемого лекарственного препарата - его перииктальный период перед припадками мог быть обнаружен за счет того, что он сопровождался традиционными индивидуальными и поведенческими изменениями. По информации от врача-исследователя, инфузированный исследуемый лекарственный препарат, по всей видимости, полностью остановил приближающийся эпизод припадка. Следует отметить, что все припадки прекратились на следующие две недели (и по информации от врача-исследователя, это был первый двухнедельный период без припадков с момента среднего-позднего юношеского возраста субъекта, по меньшей мере пять лет назад). В течение этого периода без припадков этот молодой человек «пробудился» на нескольких разных уровнях и стал более социальным, более вовлеченным (например, имел улучшенный зрительный контакт), более взаимодействующим, менее беспокойным, а также улучшились его моторные функции. Приблизительно через три недели после инфузии исследуемого лекарственного препарата вновь стали появляться «незначительные события», возможно,

представлявшие собой мелкие комплексные частичные припадки, хоть и не сопровождавшиеся судорогами - эти редкие/спорадические эпизоды были описаны врачом-исследователем как «более короткие с меньшим количеством движений».

[0098] ВЗП записывали непосредственно перед инфузии АМО-01 и через шесть часов после нее. На Фигуре 9 показано то, каким образом ВЗП этого субъекта улучшались за счет лечения.

[0099] В целом, эти данные подтверждают, что введение АМО-01 субъекту-человеку с потерей функции гена SHANK3, могут дать в результате клиническую выгоду в отношении множества признаков синдрома Фелан-Макдермид, которые продолжают существовать в обход воздействия этого соединения, как наблюдается *in vivo* в модели этого нарушения у мыши с нокаутом Shank3b.

* * * *

[00100] Несмотря на то, что изобретение было описано со ссылкой на некоторые варианты его реализации, специалист в данной области техники поймет, что могут быть осуществлены различные модификации без выхода за рамки сущности и объема изобретения. Объем прилагаемой формулы изобретения не подлежит ограничению конкретными описанными вариантами реализации.

ССЫЛКИ

- [00101] Все патенты и публикации, упомянутые в настоящем описании, указывают на уровень навыков специалиста в области техники, к которой относится изобретение. Полное содержание каждого указанного патента или публикации включено в настоящий документ посредством ссылки. Все представленные ниже ссылки были указаны в настоящей заявке:
- Anderlid BM, Schoumaus J, Anneren G, Paez I, Dumanski J, Blennow E, Nordenskjöld M. (2002) FISH-mapping of a 100-kb terminal 22q13 deletion. *Hum Genet.* 110:439-443.
- Boeckers TM, Bockmann J, Kreutz MR, Gundelfinger ED. (2002) ProSAP/Shank proteins - a family of higher order organizing molecules of the postsynaptic density with an emerging role in human neurological disease. *J Neurochem.* 81:903-910.
- Bonaglia M, Giorda R, Borgatti R, Felisari G, Gagliardi C, Selicorni A, Zuffardi O. (2001) Disruption of the ProSAP2 Gene in a t(12;22)(q24.1;q13.3) is associated with the 22q13.3 Deletion syndrome. *Am J Hum Genet.* 69:261-268.
- Bozdagi O, Sakurai T, Papapetrou D, Wang X, Dickstein DL, Takahashi N, Kajiwar Y, Yang M, Katz AM, Scattoni ML, Harris MJ, Saxena R, Silverman JL, Crawley JN, Zhou Q, Hof PR, Buxbaum JD. (2010) Haploinsufficiency of the autism-associated Shank3 gene leads to deficits in synaptic function, social interaction, and social communication. *Mol Autism.* 1:15.
- Bozdagi O, Tavassoli T, Buxbaum JD. (2013) Insulin-like growth factor-1 rescues synaptic and motor deficits in a mouse model of autism and developmental delay. *Mol Autism.* 4:9.
- Conte MM, Victor JD. VEP indices of cortical lateral interactions in epilepsy treatment. *Vision Research.* May 2009;49(9):898-906.
- Davis S, Vanhoutte P, Pages C, Caboche J, Laroche S. (2000). The MAPK/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus in vivo. *J Neurosci.* 20(12): 4563-4572.
- Duffney LJ, Zhong P, Wei J, Matas E, Cheng J, Qin L, Ma K, Dietz DM, Kajiwar Y, Buxbaum JD, Yan Z. (2015) Autism-like Deficits in Shank3-Deficient Mice Are Rescued by Targeting Actin Regulators. *Cell Rep.* 11:1400-1413.
- Grewal SS, York RD, Stork PJ. (1999) Extracellular-signal-regulated kinase signalling in neurons. *Curr Opin Neurobiol.* 9:544-553.
- Holder J, Quach M. (2016). The spectrum of epilepsy and electroencephalographic abnormalities due to SHANK3 loss-of-function mutations. *Epilepsia,* 57(10): 1651-1659.
- Jaramillo TC, Speed HE, Xuan Z, Reimers JM, Liu S, Powell CM. (2016) Altered Striatal Synaptic Function and Abnormal Behaviour in Shank3 Exon4-9 Deletion Mouse Model of Autism. *Autism Res.* 9:350-75.
- Kolevzon A, Bush L, Wang AT, Halpern D, Frank Y, Grodberg D, Rapaport R, Tavassoli T, Chaplin W, Soorya L, Buxbaum JD. (2014) A pilot controlled trial of insulin-like growth factor-1 in children with Phelan-McDermid syndrome. *Mol Autism.* 5:54.

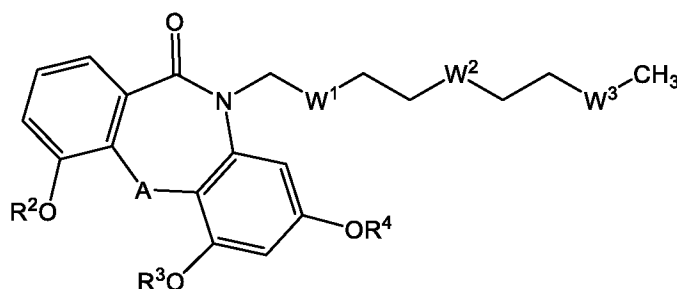
- Kouser M, Speed HE, Dewey CM, Reimers JM, Widman AJ, Gupta N, Liu S, Jaramillo TC, Bangash M, Xiao B, Worley PF, Powell CM. (2013) Loss of predominant Shank3 isoforms results in hippocampus-dependent impairments in behavior and synaptic transmission. *J Neurosci.* 33:18448-68.
- Lim S, Naisbitt S, Yoon J, Hwang JI, Suh PG, Sheng M, Kim E. (1999) Characterization of the Shank family of synaptic proteins. Multiple genes, alternative splicing, and differential expression in brain and development. *J Biol Chem.* 274:29510-8.
- Nateri A, Gennadij R, Gebhardt C, Da Costa C, Naumann H, Vreugdenhil M, Makwana M, Brandner S, Adams R, Jefferys J, Kann O, Behrens A. (2007). ERK activation causes epilepsy by stimulating NMDA receptor activity. *EMBO.* 26(23): 4891-4901.
- Peça J, Feliciano C, Ting J, Wang W, Wells W, Talaingair T, Lascola C, Fu Z. (2011) Shank3 mutant mice display autistic-like behaviors and striatal dysfunction. *Nature.* 472 (7344): 437-442.
- Phelan MC, Rogers RC, Saul RA et al. (2001) 22q13 Deletion Syndrome. *Am. J. Medic. Genet.* 101:91-99.
- Phelan MC. (2008) Deletion 22q13.3 syndrome. *Orphanet J. Rare Dis.* 3:14.
- Shcheglovitov A, Shcheglovitov O, Yazawa M, Portmann T, Shu R, Sebastiano V, Krawisz A, Freohlich W, Bernstein J, Hallmayer J, Dolmetch R. (2013) SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature.* 503: 267-271.
- Soorya L, Klevzon A, Zweifach J, Lim T, Dobry Y, Schwartz L, Frank Y, Wang A, Cai G, Parkhomenko E, Halpern D, Grodberg D, Anagartia B, Willner J, Yang A, Canitano R, Chaplin W, Betancur C, Buxbaum J. (2013) Prospective investigation of autism and genotype-phenotype correlations in 22q13 deletion syndrome and SHANK3 deficiency. *Mol. Autism.* 4: 1-18.
- Uppal N, Puri R, Yuk F, Janssen WG, Bozdagi-Gunal O, Harony-Nicolas H, Dickstein DL, Buxbaum JD, Hof PR. (2015) Ultrastructural analyses in the hippocampus CA1 field in Shank3-deficient mice. *Mol Autism.* 6:41.
- Watt JL, Olson, IA, Johnston AW et al. (1985) A familial pericentric inversion of chromosome 22 with a recombinant subject illustrating a “pure” partial monosomy syndrome. *J. Med. Genet.* 22: 283-287.
- Wilson H, Wong A, Shaw S, Tse W, Stapleton G, Phelan M, Hu S, Marshall J, McDermid H. (2003) Molecular characterization of the 22q13 deletion syndrome supports the role of the haploinsufficiency of SHANK3/PROSAP2 in the major neurological symptoms. *J Med Genet.* 40:474-584.
- Zemon V, Kaplan E, Ratliff F. Bicuculline enhances a negative component and diminishes a positive component of the visual evoked cortical potential in the cat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* Dec 1980;77(12):7476-7478.
- Zemon V, Kaplan E, Ratliff F. Evoked Potentials. In: Cracco RQ, Rodis-Wollner I, eds. *Frontiers of Clinical Neuroscience.* Vol 3. New York: Alan R. Liss; 1986:287-295.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения субъекта с синдромом Фелан-Макдермид (СФМ), включающий введение терапевтически эффективного количества (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, субъекту с СФМ.

2. Способ ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ, включающий введение терапевтически эффективного количества (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, субъекту с предрасположенностью к развитию СФП.

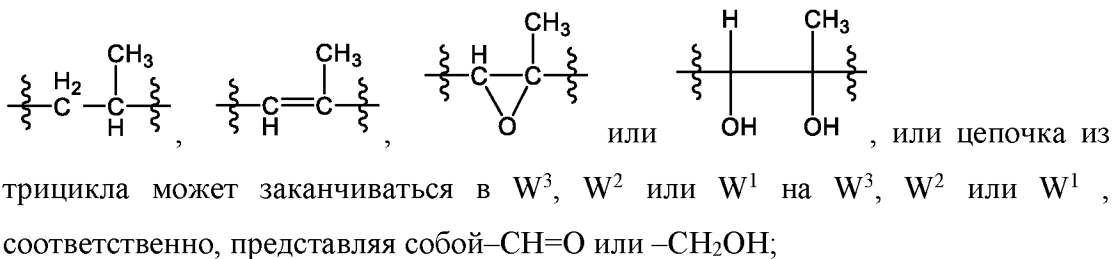
3. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила выбрано из соединений, охваченных Формулой I, или их фармацевтически приемлемых солей:



Формула I

где

каждый из W^1 , W^2 и W^3 независимо представляет собой



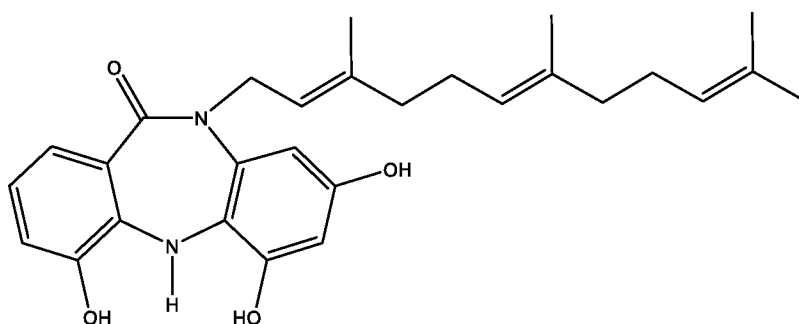
A представляет собой $-NH-$, $-NCH_2R^1-$ или $-NC(O)R^1-$, причем R^1 представляет собой

C_{1-6} -алкил, C_{2-6} -алкен, арил или гетероарил;

каждый из R^2 , R^3 и R^4 независимо представляет собой H, R^5 или $-C(O)R^6$, причем каждый R^5 независимо представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил, и

причем каждый R^6 независимо представляет собой H, C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил.

4. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01 или его фармацевтически приемлемую соль



АМО-01.

5. Способ по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что субъект с СФМ или субъект с предрасположенностью к развитию СФМ является субъектом с хромосомной делецией в 22q13.3.

6. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 0,1 мкг/кг до 200 мг/кг соединения дибензодиазепинона фарнезила на массу тела субъекта.

7. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 80 до 160 мг/м², доставляемое субъекту в течение 4-8 часов.

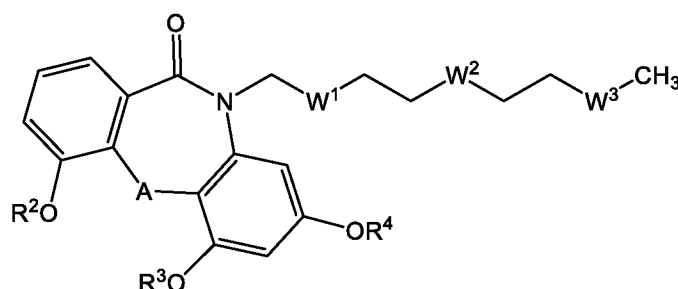
8. Способ по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет 120 мг/м², доставляемое субъекту в течение 6 часов.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, вводят субъекту путем внутривенного или подкожного введения.

10. Применение (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, в лечении субъекта с СФМ или в способе лечения субъекта с СФМ.

11. Применение (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, в ингибировании развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ или в способе ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ.

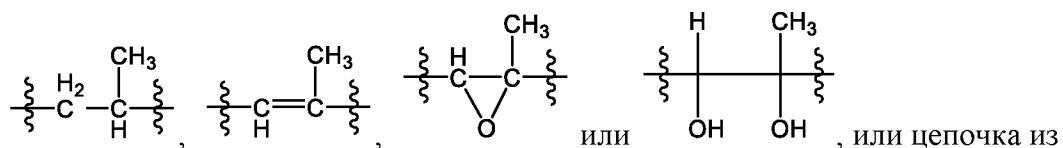
12. Применение по п. 10 или п. 11, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила выбрано из соединений, охваченных Формулой I, или их фармацевтически приемлемых солей:



Формула I

где

каждый из W^1 , W^2 и W^3 независимо представляет собой



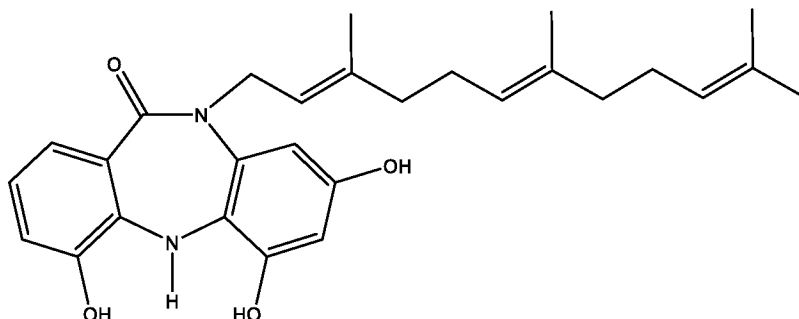
или цепочка из трицикла может заканчиваться в W^3 , W^2 или W^1 на W^3 , W^2 или W^1 ,

соответственно, представляя собой, $-\text{CH}=\text{O}$ или $-\text{CH}_2\text{OH}$;

A представляет собой $-\text{NH}-$, $-\text{NCH}_2\text{R}^1-$ или $-\text{NC}(\text{O})\text{R}^1-$, причем R^1 представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-6} -алкен, арил или гетероарил;

каждый из R^2 , R^3 и R^4 независимо представляет собой H, R^5 или $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$, причем каждый R^5 независимо представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил, и причем каждый R^6 независимо представляет собой H, C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил.

13. Применение по п. 10 или п. 11, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01 или его фармацевтически приемлемую соль



АМО-01.

14. Применение по любому из пп. 10-13, отличающееся тем, что субъект с СФМ или субъект с предрасположенностью к развитию СФМ является субъектом с хромосомной делецией в 22q13.3.

15. Применение по любому из пп. 10-14, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 0,1 мкг/кг до 200 мг/кг соединения дибензодиазепинона фарнезила на массу тела субъекта.

16. Применение по любому из пп. 10-14, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 80 до 160 мг/м², доставляемое субъекту в течение 4-8 часов.

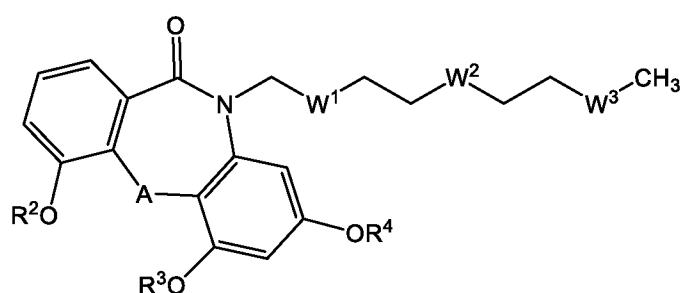
17. Применение по любому из пп. 10-14, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет 120 мг/м², доставляемое субъекту в течение 6 часов.

18. Применение по любому из пп. 10-17, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, вводят субъекту путем внутривенного или подкожного введения.

19. Терапевтически эффективное количество (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, для применения в лечении субъекта с СФМ или в способе лечения субъекта с СФМ.

20. Терапевтически эффективное количество (i) по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила или (ii) фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, для применения в ингибировании развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ или в способе ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ.

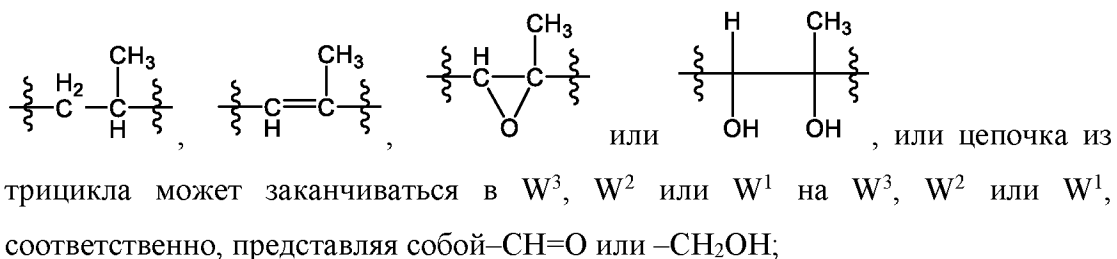
21. Терапевтически эффективное количество по п. 19 или п. 20, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила выбрано из соединений, охваченных Формулой I, или их фармацевтически приемлемых солей:



Формула I

где

каждый из W^1 , W^2 и W^3 независимо представляет собой

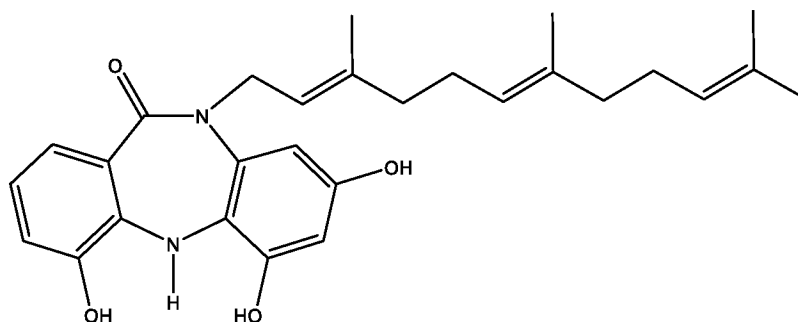


A представляет собой $-NH-$, $-NCH_2R^1-$ или $-NC(O)R^1-$, причем R^1 представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-6} -алкен, арил или гетероарил;

каждый из R^2 , R^3 и R^4 независимо представляет собой H, R^5 или $-C(O)R^6$, причем каждый R^5 независимо представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил, и

причем каждый R⁶ независимо представляет собой H, C₁₋₆-алкил, C₂₋₇-алкален, арил или гетероарил.

22. Терапевтически эффективное количество по п. 19 или п. 20, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01 или его фармацевтически приемлемую соль



АМО-01.

23. Терапевтически эффективное количество по любому из пп. 19-22, отличающееся тем, что субъект с СФМ или субъект с предрасположенностью к развитию СФМ является субъектом с хромосомной делецией в 22q13.3.

24. Терапевтически эффективное количество по любому из пп. 19-23, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 0,1 мкг/кг до 200 мг/кг соединения дибензодиазепинона фарнезила на массу тела субъекта.

25. Терапевтически эффективное количество по любому из пп. 19-23, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 80 до 160 мг/м².

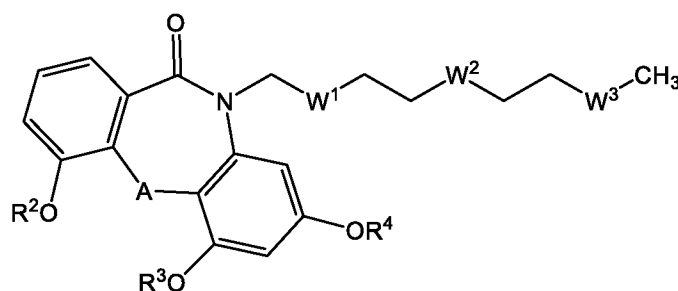
26. Терапевтически эффективное количество по любому из пп. 19-23, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет 120 мг/м².

27. Терапевтически эффективное количество по любому из пп. 19-26, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, вводят субъекту путем внутривенного или подкожного введения.

28. Применение по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила для производства лекарственного препарата для лечения субъекта с СФМ.

29. Применение по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила для производства лекарственного препарата для ингибирования развития СФМ у субъекта с предрасположенностью к развитию СФМ.

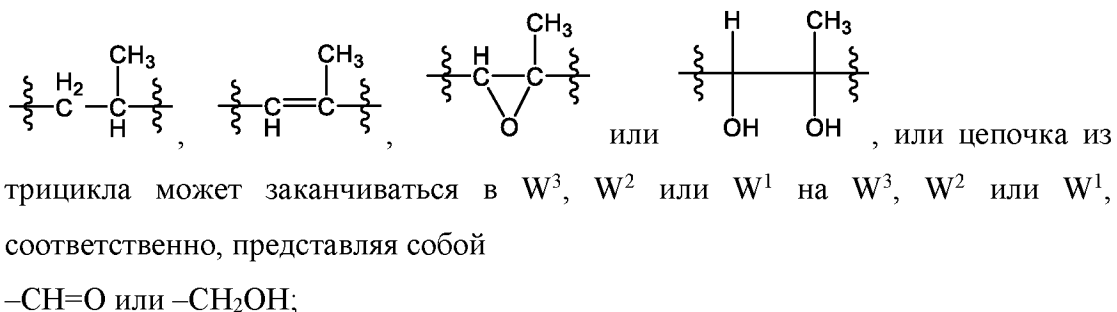
30. Применение по п. 28 или п. 29, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила выбрано из соединений, охваченных Формулой I, или их фармацевтически приемлемых солей:



Формула I

где

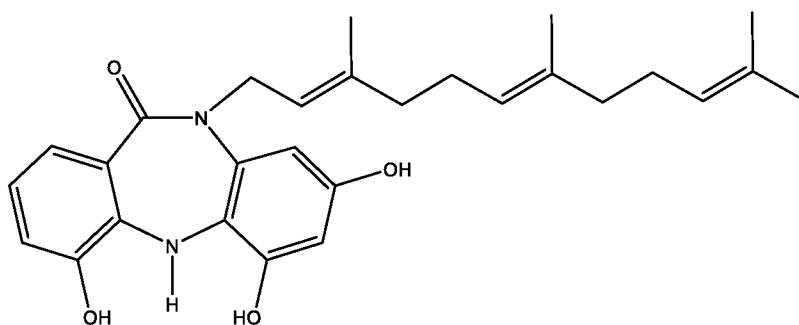
каждый из W^1 , W^2 и W^3 независимо представляет собой



A представляет собой $-\text{NH}-$, $-\text{NCH}_2\text{R}^1-$ или $-\text{NC}(\text{O})\text{R}^1-$, причем R^1 представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-6} -алкен, арил или гетероарил;

каждый из R^2 , R^3 и R^4 независимо представляет собой H, R^5 или $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$, причем каждый R^5 независимо представляет собой C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил, и причем каждый R^6 независимо представляет собой H, C_{1-6} -алкил, C_{2-7} -алкален, арил или гетероарил.

31. Применение по п. 28 или п. 29, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила представляет собой АМО-01 или его фармацевтически приемлемую соль



АМО-01.

32. Применение по любому из пп. 28-31, отличающееся тем, что субъект с СФМ или субъект с предрасположенностью к развитию СФМ является субъектом с хромосомной делецией в 22q13.3.

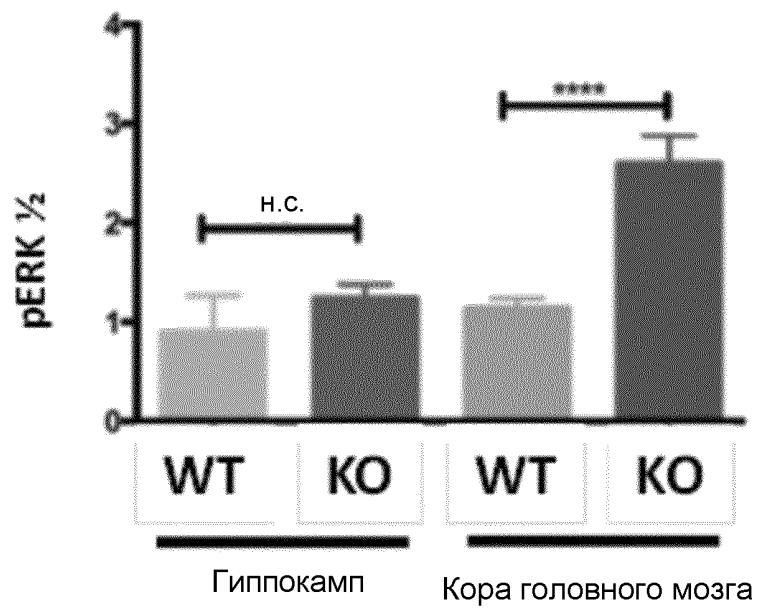
33. Применение по любому из пп. 28-32, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 0,1 мкг/кг до 200 мг/кг соединения дибензодиазепинона фарнезила на массу тела субъекта.

34. Применение по любому из пп. 28-32, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет от 80 до 160 мг/м².

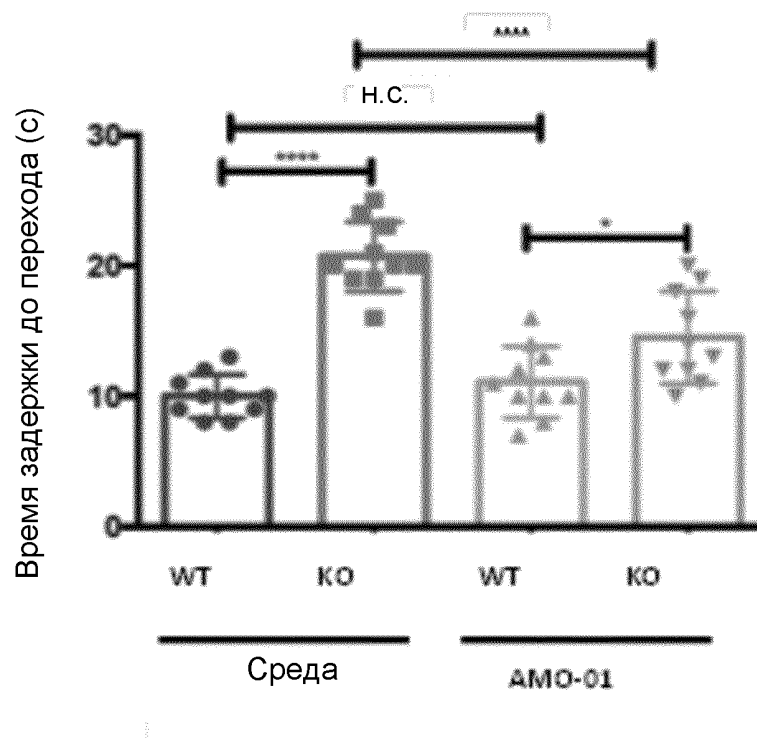
35. Применение по любому из пп. 28-32, отличающееся тем, что терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения дибензодиазепинона фарнезила составляет 120 мг/м².

36. Применение по любому из пп. 28-35, отличающееся тем, что по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила или фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение дибензодиазепинона фарнезила и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель, вводят субъекту путем внутривенного или подкожного введения.

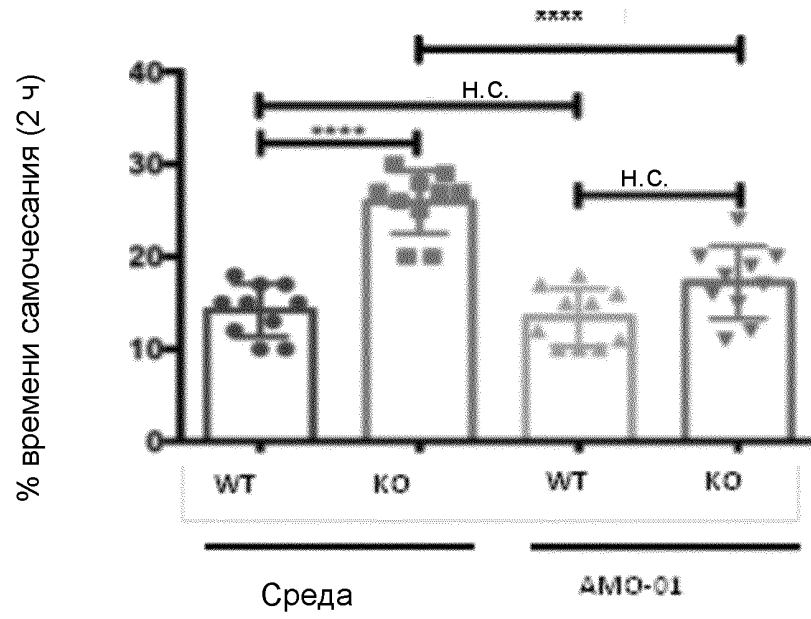
Фигура 1



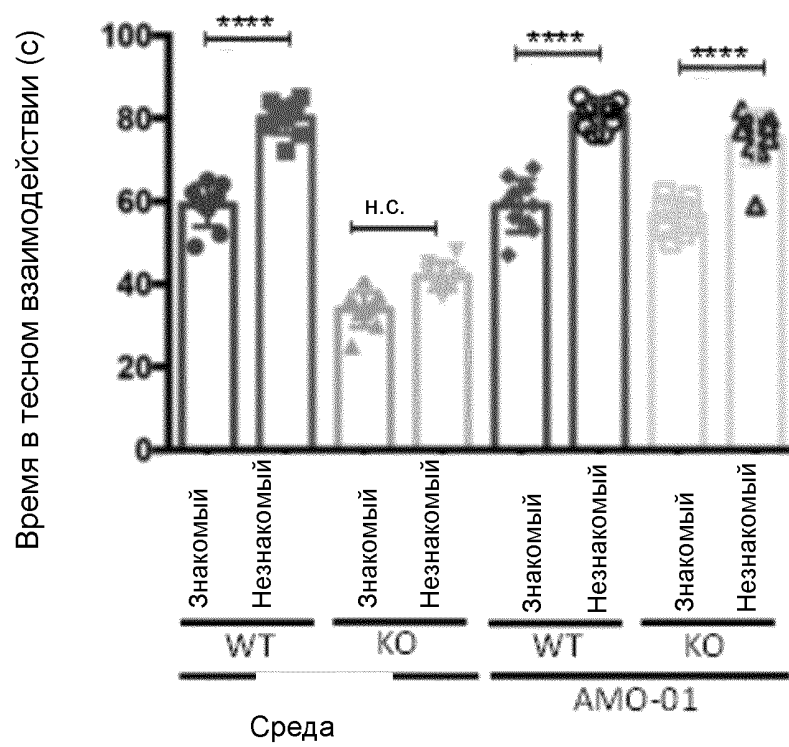
Фигура 2



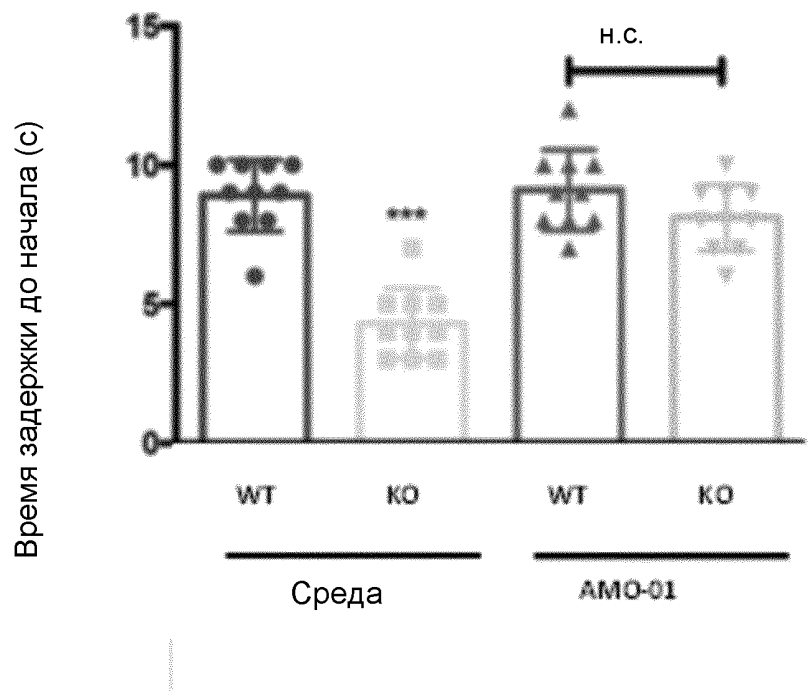
Фигура 3



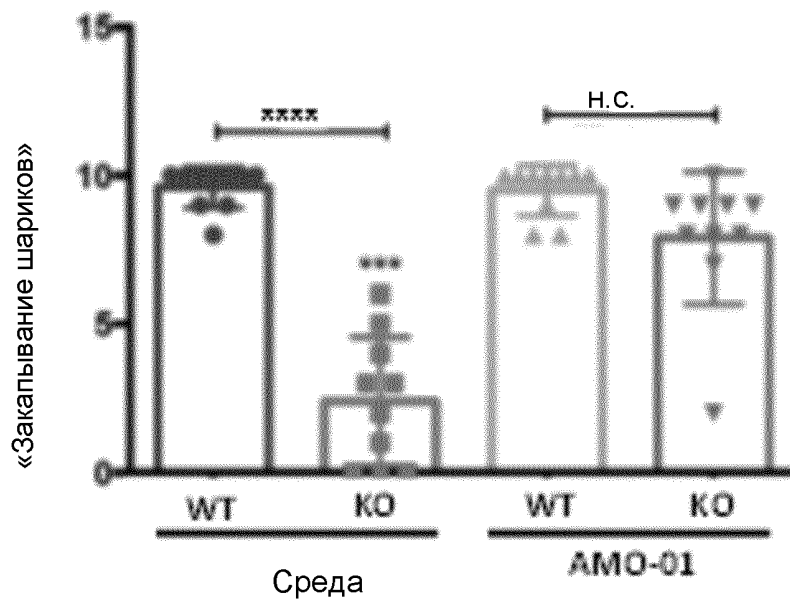
Фигура 4



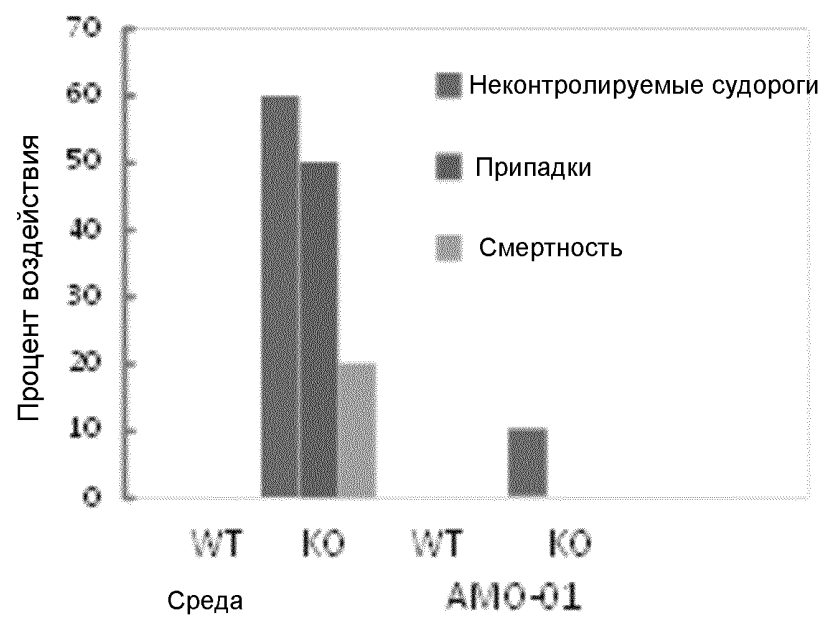
Фигура 5



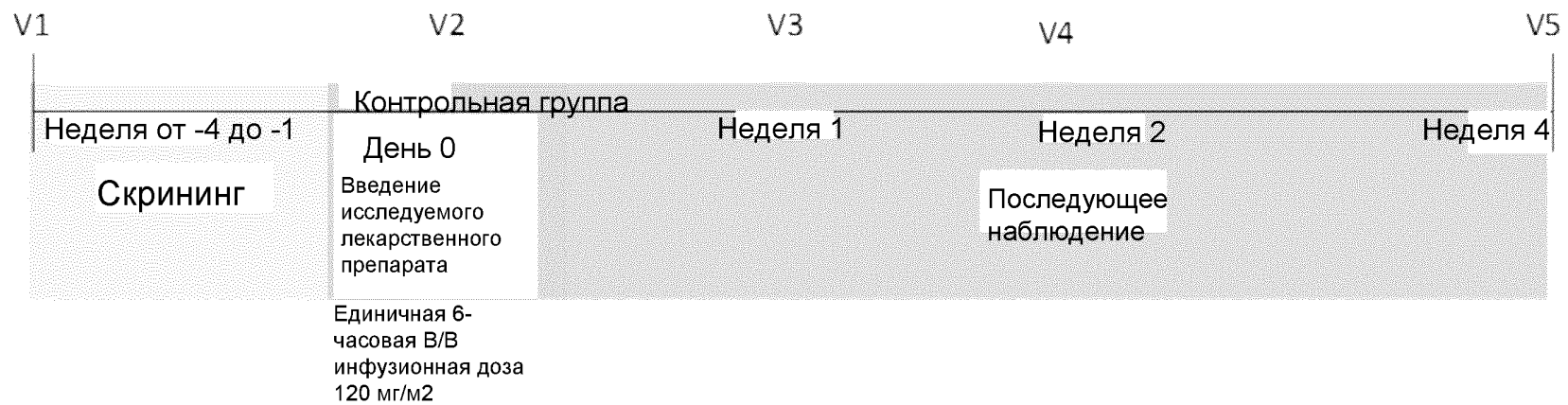
Фигура 6



Фигура 7



Фигура 8



Фигура 9

