

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202193302** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.03.01

(51) Int. Cl. *A61P 25/08* (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.05.28

(54) **СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЭПИЛЕПСИИ**

(31) **62/853,971**

(32) **2019.05.29**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/034981**

(87) **WO 2020/243349 2020.12.03**

(71) Заявитель:
**ДЗЕ РИДЖЕНТС ОФ ДЗЕ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ КАЛИФОРНИЯ
(US)**

(72) Изобретатель:

**Барабан Скотт К., Гриффин
Алиша Л., Ренсло Адам Р.,
Джейшенкар Приядаршини (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Предложены, помимо прочего, способы и композиции для лечения эпилепсии. В одном аспекте в настоящем документе предложен способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий приведение исследуемого соединения в контакт с рецептором 5-гидрокситриптамина-2В (5-НТ2В) и измерение агонистической активности исследуемого соединения в отношении 5-НТ2В. В другом аспекте в настоящем документе предложен способ лечения эпилепсии у субъекта, нуждающегося в этом. Указанный способ включает введение указанному субъекту эффективного количества агониста специфического 5-НТ2В рецептора.

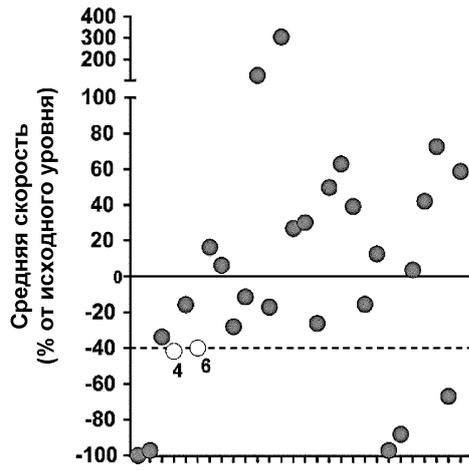
202193302

A1

A1

202193302

Скрининг аналогов клемизола, 100 мкМ



	Испы- тание 1						Испы- тание 2	
	1	2	3	4	5	6	1	2
1	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0
2	-68.2	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-97.2	-97.2
22	-100.0	-100.0	-100.0	-88.0	-100.0	-100.0	-97.2	-97.2
23	-100.0	-75.3	-50.8	-100.0	-46.1	-100.0	-88.2	-88.2
27	-71.4	-100.0	-89.2	13.1	-52.4	-31.8	-67.0	-67.0
4	-85.7	-30.6	-85.6	-68.3	-79.4	145.7	-41.7	-44.8
6	-34.5	38.1	-51.3	10.0	-75.4	-79.2	-40.0	-76.2
3	19.4	-6.4	-14.5	-38.5	-53.8	54.2	-33.7	
9	13.5	-0.7	34.9	-57.3	34.4	33.2	28.1	28.1
16	48.5	-20.3	32.6	-45.5	-53.0	-6.5	-26.3	-26.3
12	-6.6	-14.6	13.8	-25.0	-37.2	-45.4	-17.2	-17.2
5	-7.3	-25.1	-0.7	-60.8	31.1	1.4	-15.8	-15.8
20	17.3	-4.1	-27.1	-14.1	-25.2	-48.1	-15.6	-15.6
10	-27.8	-18.8	94.8	-51.5	3.8	-23.9	-11.6	-11.6
24	67.6	330.2	-70.1	-28.0	-30.1	-3.9	3.5	3.5
8	95.9	-15.7	-46.1	22.4	-21.9	86.1	6.2	6.2
21	17.5	-5.2	11.1	8.5	13.2	24.0	12.5	12.5
7	-56.6	-22.2	118.5	13.5	47.7	58.3	16.2	16.2
14	51.2	34.1	68.9	-23.9	558.5	46.6	26.7	26.7
15	50.0	39.1	87.7	33.2	-12.3	53.4	30.2	30.2
19	92.8	149.7	1.5	53.3	15.6	-41.0	39.1	39.1
25	-56.0	91.3	-65.8	78.7	35.7	152.9	42.0	42.0
17	87.4	19.1	-26.7	184.8	52.9	25.7	49.7	49.7
28	89.9	35.6	121.9	120.8	65.2	-17.0	58.7	58.7
18	62.1	66.9		154.8	113.0	2.1	62.9	62.9
26	116.4	148.3	57.3	118.8	-38.5	116.5	72.5	72.5
11	39.3	402.6	91.2	120.3	149.4	66.8	124.5	124.5
13	265.4	534.2	92.1	812.3	333.9	156.9	304.8	304.8

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-572017EA/042

СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЭПИЛЕПСИИ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки США № 62/853971, поданной 29 мая 2019 года, которая в полном объеме и для всех целей включена в настоящий документ посредством ссылки.

ЗАЯВЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНО ПРАВ НА ИЗОБРЕТЕНИЯ, СДЕЛАННЫЕ НА ОСНОВЕ ФИНАНСИРУЕМОЙ ИЗ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТА НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

[0002] Настоящее изобретение было сделано при поддержке правительства в рамках гранта № R01 NS096976, выданного Национальными институтами здравоохранения. Правительство США имеет определенные права на данное изобретение.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Синдром Драве (DS) представляет собой катастрофическую детскую эпилепсию с тяжелой умственной отсталостью, нарушением социального развития и стойкими лекарственно-устойчивыми судорожными припадками. Одной из основных причин указанного расстройства являются мутации в $Na_v1.1$ (SCN1A), потенциалзависимом натриевом канале. Судорожные припадки, которые испытывают субъекты с DS и другими эпилептическими расстройствами, недостаточно хорошо купируются с помощью доступных противоэпилептических средств (AEDs), при этом дети с DS являются плохими кандидатами для нейрохирургической резекции. Таким образом, в данной области техники существует потребность в вариантах лечения эпилепсии, особенно в случае DS и родственных катастрофических детских эпилепсий. В настоящем документе предложены решения этих и других проблем в данной области техники.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] В настоящем документе, помимо прочего, предложены способы и композиции для лечения эпилепсии. Согласно одному из аспектов в настоящем документе предложен способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий приведение исследуемого соединения в контакт с рецептором 5-гидрокситриптамина-2В (5-НТ_{2В}) и измерение агонистической активности исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}.

[0005] Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий приведение исследуемого соединения в контакт с 5-НТ_{2В} рецептором и измерение агонистической активности исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}. Указанный способ дополнительно включает введение исследуемого соединения животной модели эпилепсии и измерение поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии.

[0006] Согласно еще одному аспекту в настоящем документе предложен способ лечения эпилепсии у субъекта, нуждающегося в этом. Предложенный способ включает

введение указанному субъекту эффективного количества агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0007] Фиг. 1 (А-В): Фенотипический скрининг аналогов клемизола. Был проведен скрининг двадцати восьми аналогов клемизола в отношении эффективности при подавлении судорожно-подобного поведения в виде плавания с высокой скоростью, наблюдаемого у мутантных данио *scn1lab*. На графиках показано изменение средней скорости плавания подвергаемых скринингу личинок через 5 суток с момента оплодотворения (5 dpf), при (фиг. 1А) 100 мкМ или (фиг. 1В) 250 мкМ. Пороговое значение для подавления судорожной активности (положительные совпадения - отмеченные экспериментальные точки) определяли как снижение средней скорости плавания на $\geq 40\%$ (пунктирная линия). Экспериментальные точки, лежащие ниже пунктирной линии, не относящиеся к отмеченным точкам, представляют соединения, которые были классифицированы как токсичные после 90-минутного воздействия. На тепловой карте показано % изменение скорости для шести отдельных личинок из первого испытания (1-6). Среднее изменение скорости по шести отдельным рыбкам показано для испытаний 1 и 2. Аналог клемизола 25 (*) не перешел в раствор при 250 мкМ, поэтому его не рассматривали для дальнейшего исследования.

[0008] Фиг. 2 (А-І): Оценка аналогов клемизола, ослабляющих судорожно-подобное поведение при плавании у мутантных данио *scn1lab*. Аналоги клемизола, идентифицированные как положительные при скрининге *in vivo*, были недавно синтезированы и повторно исследованы на эффективность подавления судорожно-подобного поведения мутантных данио *scn1Lab* через 5 dpf. На графиках показано изменение средней скорости при четырех концентрациях (фиг. 2А) соединения 4, (фиг. 2В) соединения 6 и (фиг. 2С) соединения 20. Каждый столбик представляет собой среднее изменение скорости \pm SEM, полученное из трех независимых экспериментов (шесть отдельных личинок на эксперимент). Токсичность обозначена пунктирными столбиками. Пороговое значение для уменьшения скорости составляет $\geq 40\%$ (пунктирная линия). Двигательную активность личинок регистрировали в течение 10 минут после воздействия в течение 30 минут (черные столбики) и 90 минут (серые столбики). Типичный необработанный график 10-минутного слежения показан для одного эксперимента с шестью отдельными данио *scn1Lab*. Показана химическая структура каждого аналога клемизола (фиг. 2D-2F). Анализы *in vitro* связывания радиолиганда (фиг. 2G) соединения 4, (фиг. 2H) соединения 6 и (фиг. 2I) соединения 20 выявили специфичность к 5-HT_{2B}R по сравнению с подтипами 5-HT₂R. Соединение SB206553 использовали в качестве положительного контроля для связывания 5-HT_{2B}R.

[0009] Фиг. 3 (А-Н): Оценка дозозависимого эффекта агонистов 5HT_{2B}R у мутантных данио *scn1lab*. Агонисты 5HT_{2B}R исследовали на эффективность снижения судорожно-подобного поведения в виде плавания с высокой скоростью мутантных данио *scn1lab* через 5 dpf. На графиках показано изменение средней скорости при трех

концентрациях (фиг. 3А) метилэргоновина, (фиг. 3В) 6- APB, (фиг. 3С) норфенфлуамина, (фиг. 3D) BW-723C86, (фиг. 3Е) PO-60-0175, (фиг. 3F) TL-99, (фиг. 3G) m-CPP и (фиг. 3H) CP-809,101. Двигательную активность личинок регистрировали в течение 10 минут после воздействия в течение 30 минут (черные столбики) и 90 минут (серые столбики). Каждый столбик представляет собой среднее изменение скорости \pm SEM, полученное из трех независимых экспериментов (шесть отдельных личинок на эксперимент). Пороговое значение для уменьшения скорости составляет $\geq 40\%$ (пунктирная линия). Типичные графики слежения при 10-минутной записи показаны для шести отдельных данио *scn1lab* через 5 dpf на исходном уровне и после 30-минутного и 90-минутного воздействия с помощью 100 мкМ каждого соединения.

[0010] Фиг. 4 (А-С): Электрофизиологический анализ для выявления лекарственных средств, спасающих фенотип эпилепсии с мутантным *scn1lab*. (Фиг. 4А) Электрофизиологические записи были получены при применении электрода, помещенного в передний мозг иммобилизованных в агаре личинок *scn1lab* через 5 dpf, которые ранее демонстрировали подавленное судорожно-подобное поведение при анализе двигательной активности. (Фиг. 4В) На столбиковых диаграммах показана частота эпилептиформных событий при 10-минутной эпохе записи для личинок *scn1lab*, подвергшихся воздействию аналогов клемизола 4 (n=15), 6 (n=12), 20 (n=9), 6-APB (n=6), норфенфлурамина (NorFA) (n=8) или метилэргоновина (MeERGO) (n=7), или мутантов *scn1lab* (n=15). На графике показано среднее значение \pm SEM и отдельные экспериментальные точки. (Фиг. 4С) Типичные эпохи записи с применением полевого электрода (10 минут) показаны для аналогов клемизола 4, 6, 20, метилэргоновина (MeERGO) и 6-APB. Указанные соединения продемонстрировали значительные изменения частоты событий по сравнению с не подвергавшимися лечению мутантными данио *scn1lab* (верхний график).

[0011] Фиг. 5 (А-D): Скрининг поведения ресинтезированных аналогов клемизола 5 и 14. Аналоги клемизола (фиг. 5А) 5 и (фиг. 5В) 14 были идентифицированы как обладающие специфическим связыванием с 5HT_{2B}R. Далее они были независимо синтезированы и исследованы. Исследование поведения подтвердило результаты предыдущего скрининга и не показало значительного влияния на судорожно-подобное поведение в виде плавания с высокой скоростью у мутантных данио *scn1lab* через 5 dpf. На графиках показано изменение средней скорости шести рыбок, получавших каждый клемалог (фиг. 5С и 5D). Пороговое значение для уменьшения скорости составляет $\geq 40\%$ (пунктирная линия). Двигательную активность личинок регистрировали в течение 10 минут после воздействия в течение 30 минут (черные столбики) и в течение 90 минут (серые столбики). Необработанный 10-минутный график слежения показан для исходного уровня, 30-минутного и 90-минутного воздействия посредством 100 мкМ.

[0012] Фиг. 6 (А-D): Оценка дозозависимого эффекта агонистов 5HT_{2B}R у мутантных данио *scn1lab*. Агонисты 5HT_{2B}R исследовали на эффективность снижения судорожно-подобного поведения в виде плавания с высокой скоростью у мутантных

данио scn1lab через 5 dpf. На графиках показано изменение средней скорости при трех концентрациях (фиг. 6A) каберголина, (фиг. 6B) бромокриптина, (фиг. 6C) апоморфина и (фиг. 6D) пирибедила. Двигательную активность личинок регистрировали в течение 10 минут после воздействия в течение 30 минут (черные столбики) и 90 минут (серые столбики). Каждый столбик представляет собой среднее изменение скорости \pm SEM, полученное из трех независимых экспериментов (шесть отдельных личинок на эксперимент). Пороговое значение для уменьшения скорости составляет $\geq 40\%$ (пунктирная линия). Токсичность обозначена пунктирными столбцами. Типичные графики слежения при 10-минутной записи показаны для шести отдельных данио scn1lab через 5 dpf на исходном уровне и после 30-минутного и 90-минутного воздействия с помощью 100 мкМ каждого соединения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

I. Определения

[0013] «5HT рецептор», «5-HT рецептор» или «рецептор 5-гидрокситриптамина» относится к группе рецепторов, связанных с G-белком (GPCRs), и лигандзависимым ионным каналам (LGIC), которые находятся в центральной (ЦНС) и периферической нервных системах (ПНС) и в общем случае относятся к группе рецепторов серотонина. 5HT рецепторы можно разделить на семь семейств рецепторов, включающих: 5HT₁ (например, рецепторы, связанные с G_i/G_o-белком), 5HT₂ (например, рецепторы, связанные с G_q/G₁₁-белком), 5HT₃ (например, лигандзависимый Na⁺ и K⁺ катионный канал), 5HT₄ (например, рецепторы, связанные с G_s-белком), 5HT₅ (например, рецепторы, связанные с G_i/G_o-белком), 5HT₆ (например, рецепторы связанные с G_s-белком) и 5HT₇ (например, рецепторы, связанные с G_s-белком). Кроме того, семь семейств 5HT рецепторов можно дополнительно подразделить на ряд подсемейств. Например, семейство 5HT₁ также включает следующие подсемейства: 5HT_{1A} (например, которые, как известно, действуют в кровеносных сосудах и ЦНС и могут участвовать в зависимости, агрессии, тревоге, аппетите, ауторецепторе, кровяном давлении, сердечно-сосудистой функции, рвоте, частоте сердечных сокращений, импульсивности, памяти, настроении, тошноте, ноцицепции, эрекции полового члена, расширении зрачка, дыхании, сексуальном поведении, сне, коммуникабельности, терморегуляции и вазоконстрикции), 5HT_{1B} (например, которые, как известно, действуют в кровеносных сосудах и ЦНС и могут участвовать в зависимости, агрессии, тревоге, ауторецепторе, обучении, двигательной активности, памяти, настроении, эрекции полового члена, сексуальном поведении и вазоконстрикции), 5HT_{1D} (например, которые, как известно, действуют в кровеносных сосудах и ЦНС и могут участвовать в тревоге, ауторецепторе, двигательной активности и вазоконстрикции), 5HT_{1E} (например, которые, как известно, действуют в ЦНС и могут участвовать в мигренях). В качестве другого примера, семейство 5HT₂ можно разделить на следующие подсемейства: 5HT_{2A} (например, которые, как известно, действуют в кровеносных сосудах, ЦНС, желудочно-кишечном тракте, тромбоцитах, ПНС и гладкой мышце и могут участвовать в зависимости, тревоге, аппетите, когнитивных функциях,

воображении, обучении, памяти, настроении, осознании, сексуальном поведении, сне, терморегуляции и вазоконстрикции), 5HT_{2B} (например, которые, как известно, действуют в кровеносных сосудах, ЦНС, желудочно-кишечном тракте, тромбоцитах, ПНС и гладкой мышце и могут участвовать в тревоге, аппетите, сердечно-сосудистой функции, двигательной активности желудочно-кишечного тракта, сне и вазоконстрикции) и 5HT_{2C} (например, которые, как известно, действуют в кровеносных сосудах, ЦНС, желудочно-кишечном тракте, тромбоцитах, ПНС и гладкой мышце и могут участвовать в зависимости, тревоге, аппетите, двигательной активности желудочно-кишечного тракта, двигательной активности, настроении, эрекции полового члена, сексуальном поведении, сне, терморегуляции и вазоконстрикции). Кроме того, семейство 5HT₅ можно дополнительно подразделить на следующие подсемейства: 5HT_{5A} (например, которые могут действовать в ЦНС и играть роль в двигательной активности и сне, а также действовать в качестве авторецептора) и 5HT_{5B} (например, которые могут действовать у грызунов и, по-видимому, представляют собой псевдоген у человека).

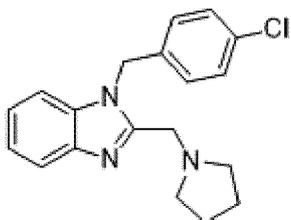
[0014] «Агонист 5HT рецептора» или «агонист 5-HT рецептора» относится к любому агенту, который активирует 5HT рецептор в сравнении с отсутствием агониста 5HT рецептора или способом, аналогичным серотонину. Примеры агонистов 5HT рецептора включают, помимо прочего, одно или более из следующих веществ: ACP-104, ACP-106, AR-116081, AR-116082, ATHX-105, белладонну в комбинации с тартратом эрготамина, BW 723C86, цизаприд, Ciza-MPS, Cizap, Cizap-Mps, серию CSC-500, DOI или его соль, тартрат эрготамина и кофеин, Esorid MPS, флибансерин, Ikaran LP, Manotac Plus, мигрил, миртазапина римафар, миртазапин, наратриптан, нелотансерин, норфенфлурамин, Normagut Tab, нефазодона гидрохлорид, OSU-6162, придофин, сенсифлю, PRX-00933, RP-5063, малую молекулу для агонизирования 5-HT_{2A} для лечения воспалительных заболеваний, малые молекулы для агонизирования 5-HT_{2C} для лечения шизофрении и ожирения, малые молекулы для агонизирования 5HT_{2C} рецептора для лечения ожирения, малые молекулы для целевого воздействия на 5HT_{2C} и 5HT₆ рецепторы для лечения шизофрении, малые молекулы для модулирования 5HT₂ для лечения ЦНС и нарушений обмена веществ, TGVA-01AD, тразодона гидрохлорид, теманогрель гидрохлорид, вабиказерина гидрохлорид, вирдекс, VR-1065, зипрасидона гидрохлорид и зипрасидон-сигиллата. Кроме того, в рамках настоящего изобретения предполагается, что согласно некоторым вариантам реализации агонист 5HT рецептора не включает одно или более из следующих веществ: ацетазоламид, бензодиазепин (диазепам; клобазам), каннабадиол, карбамазепин, клемизол, этосуксимид, фелбамат, фенфлурамин, флуоксетин, габапентин, ганаксолон, лакосамид, ламотриджин, леветирацетам, нитразепам, окскарбазепин, перампенел, фенитоин, фенобарбитал, пирацетам, бромид калия, прегабалин, примидон, ретигабин, руфинамид, стирипентол, тиагабин, топирамат, вальпроевую кислоту, верапамил, вигабатрин и зонисамид.

[0015] «Агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора» относится к любому агенту, способному агонизировать 5-HT_{2B} рецептор в большей степени, чем 5-HT_{2A} рецептор.

Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора представляет собой агент, который имеет низкую активность связывания с 5-HT_{2A} рецептором или 5-HT_{2C} рецептором или не демонстрирует измеримую активность связывания 5-HT_{2A} рецептора или 5-HT_{2C} рецептора. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора представляет собой агент, агонистическая активность которого в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше в отношении 5-HT_{2B} рецептора по сравнению с 5-HT_{2A} рецептором. В несколько раз большая активность может представлять собой величину, выбранную из диапазона от 10 до 100, от 100 до 1000, от 1000 до 10000 или от 10000 до 100000. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора представляет собой агент, который связывается с HT_{2B} рецептором с Kd менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. Kd может представлять собой конкретное значение в диапазоне от 100 пМ до 500 пМ, от 500 пМ до 1 нМ, от 1 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 100 нМ. Конкретное значение можно выбрать из любого приращения на 1 пМ в указанном диапазоне. Kd можно выбрать из поддиапазона в пределах любого из вышеперечисленных диапазонов Kd. Нижняя конечная точка поддиапазона может представлять собой нижнюю границу диапазона или любое значение, выбранное из приращений на 1 пМ, выше нижней границы диапазона до 1 пМ ниже верхней границы диапазона. Верхняя конечная точка поддиапазона может представлять собой верхнюю границу диапазона или любое значение, выбранное из 1 пМ ниже верхней границы диапазона до 1 пМ выше нижней границы диапазона.

[0016] «Аналог» или «аналогичное соединение» используется в соответствии с его простым обычным значением в химии и биологии и относится к химическому соединению, которое структурно аналогично другому соединению (т. е. так называемому «эталонному» соединению), но отличается по составу, например, заменой одного атома на атом другого элемента, или присутствием определенной функциональной группы, или заменой одной функциональной группы на другую функциональную группу, или абсолютной стереохимией одного или более хиральных центров эталонного соединения. Соответственно, аналог представляет собой соединение, которое аналогично или сопоставимо с эталонным соединением по функции и внешнему виду, но не по структуре или происхождению.

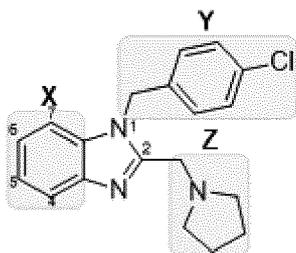
[0017] «Клемизол» относится к соединению, имеющему формулу:



[0018] Согласно вариантам реализации композиция клемизола может включать фармацевтически приемлемые соли клемизола, как описано в настоящем документе (например, «соль клемизола»). Примеры солей клемизола включают, помимо прочего, клемизол-НСl, клемизолпенициллин, клемизол-сульфат или клемизол-ундецилат.

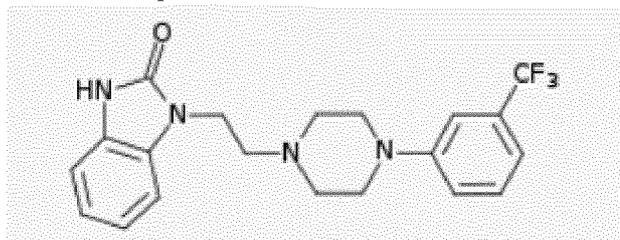
Согласно вариантам реализации композиция клемизола не включает соли клемизола, содержащие фармацевтически активный ингредиент. Согласно вариантам реализации, если композиция клемизола содержит соль, соль клемизола не является топираматом клемизола. Согласно вариантам реализации композиция клемизола может включать составы клемизола.

[0019] «Аналог клемизола», как описано в настоящем документе, относится к соединениям аналогичной структуры. Указанные соединения включают, например, такие соединения, которые описаны в РСТ/US2008/076804 и патенте США № 4011322, которые в полном объеме включены в настоящий документ посредством ссылки. Дополнительные типичные аналоги клемизола описаны, например, в: US 2012/0232062; публикации РСТ № 2009/038248; US 2010/107739; US 2010/107742, WO 2002/089731, WO 2005/032329, WO 2009/039248, WO 2010/039195, WO 2010/107739 и WO 2010/107742, каждый из которых в полном объеме включен в настоящий документ посредством ссылки. Описанные в настоящем документе аналоги клемизола (в том числе соединения, описанные в приведенных выше ссылках) могут содержать заместители (т.е. быть модифицированы) в положении 1 или 2, как указано ниже в формуле (I) (блоки Y и Z). Аналоги клемизола могут содержать заместители (т.е. быть модифицированы) в положениях 4, 5, 6 или 7, как указано в блоке X в формуле (I).



(I).

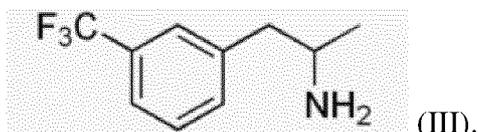
«Флибансерин» относится к соединению, имеющему следующую формулу (II):



(II).

[0020] Согласно вариантам реализации композиция флибансерина может включать фармацевтически приемлемые соли флибансерина (например, «соль флибансерина»). Согласно вариантам реализации композиция флибансерина может включать составы флибансерина.

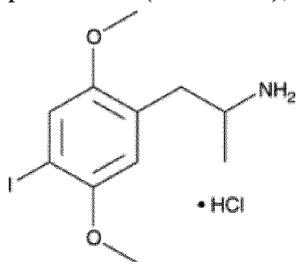
«Норфенфлурамин» относится к соединению, имеющему следующую формулу (III):



(III).

[0021] Согласно вариантам реализации композиция норфенфлурамина может включать фармацевтически приемлемые соли норфенфлурамина (например, «соль норфенфлурамина»). Согласно вариантам реализации композиция норфенфлурамина может включать составы норфенфлурамина.

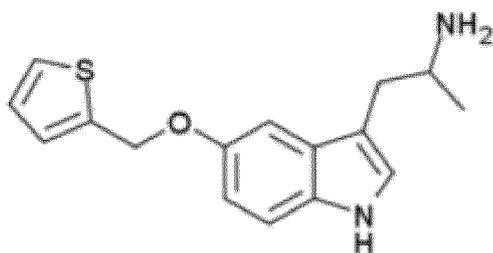
«DOI» относится к 2,5-диметокси-4-йодамфетамину. Согласно вариантам реализации композиция DOI может включать фармацевтически приемлемые соли DOI. Примеры солей DOI включают, помимо прочего, моногидрохлорид 2,5-диметокси-4-йодамфетамин (DOI HCl), имеющий следующую формулу (IV):



(IV).

[0022] Согласно вариантам реализации композиция DOI может включать составы DOI.

«BW 723C86» относится к лекарственному средству на основе производного триптамина, действующему как агонист 5HT_{2B} рецептора и имеющему следующую формулу (V):



(V).

[0023] Согласно вариантам реализации композиция BW 723C86 может включать фармацевтически приемлемые соли BW 723C86 (например, «соль BW 723C86»). Согласно вариантам реализации композиция BW 723C85 может включать составы BW 723C85.

[0024] Подразумевают, что термин «фармацевтически приемлемые соли» включает соли активных соединений, которые получают с применением относительно нетоксичных кислот или оснований в зависимости от конкретных заместителей, присутствующих в соединениях, описанных в настоящем документе. Когда агонист 5-HT_{2B} содержит относительно кислотные функциональные группы, соли присоединения основания можно получить путем приведения нейтральной формы таких соединений в контакт с достаточным количеством требуемого основания либо в чистом виде, либо в инертном растворителе. Примеры фармацевтически приемлемых солей присоединения основания включают соль натрия, калия, кальция, аммония, органического амина или магния или аналогичную соль. Когда агонист 5-HT_{2B} содержит относительно основные функциональные группы, соли присоединения кислоты можно получить путем

приведения нейтральной формы таких соединений в контакт с достаточным количеством требуемой кислоты либо в чистом виде, либо в инертном растворителе. Примеры фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты включают соли, полученные из неорганических кислот, выбранных из соляной, бромистоводородной, азотной, угольной, моногидрокарбоновой, фосфорной, моногидрофосфорной, дигидрофосфорной, серной, моногидросерной, йодоводородной или фосфористой кислот и т.п., а также соли, полученные из относительно нетоксичных органических кислот, выбранных из уксусной, пропионовой, изомасляной, малеиновой, малоновой, бензойной, янтарной, субериновой, фумаровой, молочной, миндальной, фталевой, бензолсульфоновой, *p*-толилсульфоновой, лимонной, винной, щавелевой, метансульфоновой кислот и т.п. Также включены соли аминокислот (например, помимо прочего, аргинат и т.п.) и соли органических кислот (например, помимо прочего, глюкуроновой или галактуриновой кислот и т.п.) (см., например, Berge et al., "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Агонист 5-НТ_{2В} может содержать как основные, так и кислотные функциональные группы, которые позволяют превращаться либо в соли присоединения основания, либо в соли присоединения кислоты.

[0025] Агонист 5-НТ_{2В} может существовать в виде соли, например, с фармацевтически приемлемыми кислотами. Неограничивающие примеры таких солей включают гидрохлориды, гидробромиды, фосфаты, сульфаты, метансульфонаты, нитраты, малеаты, ацетаты, цитраты, фумараты, пропионаты, тартраты (например, помимо прочего, (+)-тартраты, (-)-тартраты или их смеси, в том числе рацемические смеси), сукцинаты, бензоаты и соли с аминокислотами, такими как глутаминовая кислота, и соли четвертичного аммония (например, помимо прочего, метилиодид, этилиодид и т.п.). Указанные соли можно получить способами, известными специалистам в данной области техники. Нейтральные формы агониста 5-НТ_{2В} предпочтительно регенерируют путем приведения такой соли в контакт с основанием или кислотой и выделения исходного соединения общепринятым способом. Исходная форма соединения может отличаться от различных солевых форм некоторыми физическими свойствами, такими как растворимость в полярных растворителях.

[0026] Помимо солевых форм агонист 5-НТ_{2В} можно обеспечить в форме пролекарства. Пролекарства представляют собой такие соединения, которые претерпевают химические изменения в физиологических условиях с образованием агониста 5-НТ_{2В}. Пролекарства агониста 5-НТ_{2В} могут превращаться *in vivo* после введения. Кроме того, пролекарства агониста 5-НТ_{2В} можно превратить в активные соединения с помощью химических или биохимических методов в среде *ex vivo* (например, помимо прочего, при приведении в контакт с подходящим ферментом или химическим реагентом).

[0027] Агонист 5-НТ_{2В} может существовать в несольватированных формах, а также в сольватированных формах, в том числе в гидратированных формах. В общем случае, сольватированные формы эквивалентны несольватированным формам и включены в

объем настоящего изобретения. Агонист 5-HT_{2B} может существовать в нескольких кристаллических или аморфных формах. В общем случае, все физические формы эквивалентны для применений, предполагаемых настоящим изобретением, и, как подразумевают, находятся в пределах объема настоящего изобретения.

[0028] «Эффективное количество» представляет собой количество, достаточное для достижения 5-HT_{2B} агонистом (в том числе его фармацевтически приемлемыми солями) заявленной цели по сравнению с отсутствием агониста 5-HT_{2B} (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) (например, для достижения эффекта, для которого его вводят, лечения заболевания, снижения активности белка/фермента, повышения активности белка/фермента, уменьшения сигнального пути или ослабления одного или более симптомов заболевания или состояния). Примером «эффективного количества» является количество агониста 5-HT_{2B} (в том числе его фармацевтически приемлемых солей), которое достаточно для содействия лечению, профилактике или ослаблению симптома или симптомов заболевания, которое также можно назвать «терапевтически эффективным количеством». «Ослабление» симптома или симптомов (и грамматических эквивалентов данного выражения) означает уменьшение тяжести или частоты симптома(ов) или устранение симптома(ов) (например, судорожных припадков). «Профилактически эффективное количество» лекарственного средства представляет собой количество лекарственного средства, которое при введении субъекту будет оказывать требуемый профилактический эффект, например, путем предотвращения или замедления начала (или повторного появления) повреждения, заболевания, патологии или состояния или снижения вероятности начала (или повторного появления) повреждения, заболевания, патологии или состояния или их симптомов (например, судорожных припадков). Полный профилактический эффект не обязательно наступает при введении одной дозы и может появляться только после введения серии доз. Таким образом, профилактически эффективное количество можно вводить путем одного или более введений. Точные количества будут зависеть от цели лечения и будут установлены специалистом в данной области техники с применением известных методов (см., например, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); и Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins).

[0029] Терапевтически эффективное количество агониста 5-HT_{2B} (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) можно сначала определить на основе анализов клеточных культур. Целевыми концентрациями будут такие концентрации активного соединения(й), которые можно достигнуть с помощью описанных в настоящем документе способов, как определено с применением способов, описанных в настоящем документе или известных в данной области техники.

[0030] Как хорошо известно в данной области техники, терапевтически эффективные количества для применения для людей также можно определить с помощью

животных моделей. Например, дозу для людей можно приготовить таким образом, чтобы обеспечить концентрацию, которая, как было установлено, является эффективной для животных. Дозировку для людей можно регулировать путем мониторинга эффективности соединений и корректировки дозировки в сторону увеличения или уменьшения, как описано выше. Регулировка дозы для достижения максимальной эффективности у людей на основе способов, описанных выше, и других способов находится в пределах возможностей обычного специалиста в данной области.

[0031] Дозировки можно менять в зависимости от требований пациента и применяемого соединения. В контексте настоящего изобретения вводимая пациенту доза должна быть достаточной для обеспечения лечебной терапевтической реакции у пациента с течением времени. Размер дозы также будет зависеть от наличия, характера и степени любых нежелательных побочных эффектов. Определение правильной дозировки для конкретной ситуации находится в компетенции практикующего врача. В общем случае, лечение начинают с более маленьких доз, которые меньше оптимальной дозы соединения. Затем дозу увеличивают небольшими приращениями до тех пор, пока не достигнут оптимального эффекта при данных обстоятельствах.

[0032] Величину дозировки и интервалы между введением лекарственного средства можно регулировать индивидуально для обеспечения уровней вводимого соединения, эффективных для конкретного клинического показания, подлежащего лечению. Это обеспечит терапевтический режим, соразмерный тяжести болезненного состояния субъекта.

[0033] Используя идеи, представленные в настоящем документе, можно разработать эффективную схему профилактического или терапевтического лечения, которая не вызывает значительной токсичности и все же является эффективной для лечения клинических симптомов, проявляемых конкретным пациентом. Такое планирование должно включать тщательный выбор активного соединения с учетом таких факторов, как эффективность соединения, относительная биодоступность, масса тела пациента, наличие и тяжесть неблагоприятных побочных эффектов, предпочтительный способ введения и профиль токсичности выбранного средства.

[0034] «Контроль» или «контрольный эксперимент» используется в соответствии с его простым обычным значением и относится к эксперименту, в котором субъекты или реагенты, участвующие в эксперименте, подвергаются лечению или применяются как в параллельном эксперименте, за исключением пропуска процедуры, реагента или переменной данного эксперимента. В некоторых случаях контроль используют в качестве стандарта сравнения при оценке экспериментальных эффектов. Согласно некоторым вариантам реализации контроль представляет собой измерение активности белка в отсутствие агониста 5-НТ_{2В} (в том числе его фармацевтически приемлемых солей).

[0035] В контексте настоящего документа «исследуемое соединение» относится к экспериментальному соединению, применяемому в процессе скрининга для установления

активности, неактивности или другой модуляции конкретной биологической мишени или пути, например, 5-НТ_{2В} рецептора.

[0036] Термины «модуляция», «модулировать» или «модулятор» используются в соответствии с их простым обычным значением и относятся к процедуре изменения или варьирования одного или более свойств. «Модулятор» относится к композиции, увеличивающей или снижающей уровень целевой молекулы или функцию целевой молекулы или физическое состояние мишени молекулы. «Модуляция» относится к процессу изменения или варьирования одного или более свойств. Например, применительно к воздействию модулятора на биологическую мишень «модулировать» означает изменение путем увеличения или уменьшения свойства или функции биологической мишени или количества биологической мишени (например, 5-НТ рецептора).

[0037] Как определено в настоящем документе, термин «ингибирование», «ингибировать» «ингибирующий» и т.п. применительно к взаимодействию белок-ингибитор означает отрицательное влияние (например, снижение) на активность или функцию белка по сравнению с активностью или функцией белка в отсутствие ингибитора. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирование относится к ослаблению заболевания или симптомов заболевания. Согласно некоторым вариантам реализации ингибирование относится к снижению активности конкретного белка или нуклеиновой кислоты-мишени. Таким образом, ингибирование включает, по меньшей мере частично, частичную или полную блокировку стимуляции, снижение, предотвращение или замедление активации или инактивацию, десенсбилизацию или регуляцию в сторону уменьшения трансдукции сигнала или активности белка/фермента или количества белка. В контексте настоящего документа ингибирование может относиться к ингибированию потенциалзависимого натриевого канала.

[0038] Термины «активация» или «активирование» и т.п. относятся к взаимодействиям белок-соединение, которые положительно влияют (например, увеличивают) на активность или функцию белка по сравнению с активностью или функцией белка в отсутствие соединения-активатора. Активация может относиться к повышенной активности конкретного белка-мишени. Активация может относиться к восстановлению потери функции мутировавшего белка-мишени. В контексте настоящего документа активация может относиться к активации одного или более 5-НТ рецепторов.

[0039] Термин «приведение в контакт» используется в соответствии с его простым обычным значением и относится к процессу, позволяющему по меньшей мере двум различным объектам (например, помимо прочего, химическим соединениям, биомолекулам или клеткам) приблизиться друг к другу на достаточно близкое расстояние, чтобы реагировать, взаимодействовать или физически соприкасаться. Однако следует понимать, что конечный продукт реакции можно получить непосредственно в результате реакции между добавленными реагентами или из промежуточного соединения из одного или более добавленных реагентов, которое может образоваться в реакционной смеси.

[0040] Термин «приведение в контакт» может включать обеспечение возможности двум объектам реагировать, взаимодействовать или физически соприкасаться, при этом два указанных объекта могут представлять собой соединение, описанное в настоящем документе, и белок или фермент. Согласно некоторым вариантам реализации приведение в контакт включает обеспечение возможности описанному в настоящем документе соединению взаимодействовать с рецептором, например, 5-НТ_{2В} рецептором.

[0041] Термин «связанный» или «связанный с» в контексте вещества или активности или функции вещества, связанной с заболеванием, означает, что указанное заболевание вызвано (полностью или частично) или симптом заболевания вызван (полностью или частично) данным веществом или активностью или функцией указанного вещества.

[0042] «Пациент» или «субъект, нуждающийся в этом» относится к живому организму, страдающему заболеванием или состоянием или склонному к заболеванию или состоянию, которое можно лечить путем введения фармацевтической композиции, как предложено в настоящем документе. Неограничивающие примеры включают людей, других млекопитающих, крупный рогатый скот, крыс, мышей, собак, обезьян, коз, овец, коров, оленей, рыбок данио и других животных, не относящихся к млекопитающим. Пациент может представлять собой человека.

[0043] «Заболевание» или «состояние» относятся к состоянию существа или состоянию здоровья пациента или субъекта, которое можно лечить с помощью соединений или способов, предложенных в настоящем документе.

[0044] В настоящем документе термины «эпилептическое расстройство», «эпилептическое заболевание», «припадочное расстройство» или «эпилепсия» относятся к спектру хронических неврологических расстройств, наиболее часто характеризующихся наличием неспровоцированных припадков. См., например, Noebels et. al., Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies, 4th edition, Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012. В контексте настоящего документа эпилепсия может относиться к повреждению головного мозга (например, в результате травмы, инсульта или рака) или генетической мутации. Симптомы эпилептических расстройств могут возникать в результате аномальной электрохимической передачи сигналов между нейронами в головном мозге. Пациенты, перенесшие два или более неспровоцированных судорожных припадков, могут считаться страдающими эпилепсией.

[0045] Типы эпилепсии включают, например, доброкачественную детскую эпилепсию с центрально-височными пиками, лобно-долевую эпилепсию, младенческие судороги, ювенильную миоклоническую эпилепсию (JME), ювенильную абсансную эпилепсию, детскую абсансную эпилепсию (например, пикнолепсию), фебрильные судороги, прогрессирующую миоклоническую эпилепсию Лафора, синдром Леннокса-Гасто, синдром Ландау-Клеффнера, синдром Драве (DS), генерализованную эпилепсию с фебрильными судорогами (GEFS+), тяжелую миоклоническую эпилепсию младенчества (SMEI), доброкачественные семейные судороги новорожденных (BFNC), синдром Веста,

синдром Охтазара, ранние миоклонические энцефалопатии, мигрирующую парциальную эпилепсию, эпилептические энцефалопатии младенческого возраста, комплекс туберозного склероза (TSC), фокальную корковую дисплазию, лиссэнцефалию I типа, синдром Миллера-Дикера, синдром Ангельмана, синдром ломкой X-хромосомы, эпилепсию при расстройствах аутистического спектра, субкортикальную лентовидную гетеротопию, синдром Уокера-Варбурга, болезнь Альцгеймера, посттравматическую эпилепсию, прогрессирующие миоклонические эпилепсии, рефлекторную эпилепсию, синдром Расмуссена, височную эпилепсию, лимбическую эпилепсию, эпилептический статус, абдоминальную эпилепсию, массивный билатеральный миалоклонус, катамениальную эпилепсию, джексоновское припадочное расстройство, болезнь Унверрихта-Лундборга или светочувствительную эпилепсию.

[0046] «Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество» и «фармацевтически приемлемый носитель» или «фрагмент носителя» относятся к веществу, которое способствует введению субъекту и абсорбции субъектом агониста 5-НТ_{2В} (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) и может быть включено в композиции, не вызывая значительного вредного токсикологического воздействия на субъект. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включают воду, NaCl, физиологические солевые растворы, лактат Рингера, обычную сахарозу, обычную глюкозу, связующие вещества, наполнители, разрыхлители, лубриканты, покрытия, подсластители, вкусоароматические добавки, солевые растворы (например, раствор Рингера), спирты, масла, желатины, углеводы (например, помимо прочего, лактозу, амилозу или крахмал, сложные эфиры жирных кислот, гидроксиметилцеллюлозу, поливинилпирролидин) и красители и т.п. Такие препараты можно стерилизовать и, при желании, смешивать с вспомогательными средствами, такими как лубриканты, консерванты, стабилизаторы, смачивающие вещества, эмульгаторы, соли, влияющие на осмотическое давление, буферы, красители и/или ароматические вещества и т.п., которые не взаимодействуют вредным образом с соединениями, описанным в настоящем документе). Специалист в данной области поймет, что в настоящем изобретении можно использовать и другие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества.

[0047] Подразумевают, что термин «препарат» включает состав агониста 5-НТ_{2В} (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) с инкапсулирующим материалом в качестве носителя, образующим капсулу, в которой активный компонент с другими носителями или без них окружен носителем, который, таким образом, связан с ним. Аналогичным образом включены облатки и пастилки. Таблетки, порошки, капсулы, пилюли, облатки и пастилки можно использовать в качестве твердых лекарственных форм, подходящих для перорального введения.

[0048] В контексте настоящего документа термин «введение» означает пероральное введение, введение в виде суппозитория, наружное применение, внутривенное, внутривенное, внутримышечное, внутривенное, интратекальное, интраназальное

или подкожное введение или имплантацию устройства с медленным высвобождением, например, осмотический мини-насос, субъекту. Введение осуществляют любым путем, в том числе парентеральным и чрескожным (например, буккальным, сублингвальным, палатальным путем, путем нанесения на десны, назальным, вагинальным, ректальным или трансдермальным путем). Парентеральное введение включает, например, внутривенное, внутримышечное, внутриартериальное, внутрикожное, подкожное, внутрибрюшинное, внутрижелудочковое и внутричерепное введение. Другие способы доставки включают, помимо прочего, применение липосомальных составов, внутривенную инфузию, трансдермальные пластыри и т. д.

[0049] Агонисты 5-НТ_{2В} (в том числе их фармацевтически приемлемые соли) и их фармацевтические композиции можно доставлять трансдермально, путем наружного применения, приготавливать в виде палочек-аппликаторов, растворов, суспензий, эмульсий, гелей, кремов, мазей, паст, желе, красок, порошков и аэрозолей. Пероральные препараты включают таблетки, пилюли, порошок, драже, капсулы, жидкости, пастилки, облатки, гели, сиропы, пастообразные смеси, суспензии и т.д., подходящие для приема пациентом внутрь. Препараты в твердой форме включают порошки, таблетки, пилюли, капсулы, облатки, суппозитории и диспергируемые гранулы. Препараты в жидкой форме включают растворы, суспензии и эмульсии, например, воду или растворы вода/пропиленгликоль. Агонисты 5-НТ_{2В} (в том числе их фармацевтически приемлемые соли) могут дополнительно включать компоненты, предназначенные для обеспечения замедленного высвобождения и/или удобства. Такие компоненты включают высокомолекулярные, анионные мукомиметические полимеры, гелеобразующие полисахариды и тонкоизмельченные субстраты-носители лекарственного средства. Указанные компоненты более подробно обсуждаются в патентах США №№ 4911920; 5403841; 5212162; и 4861760. Полное содержание указанных патентов включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме и для всех целей. Агонисты 5-НТ_{2В} (в том числе их фармацевтически приемлемые соли) также можно доставлять в виде микросфер для медленного высвобождения в организме. Например, микросферы можно вводить путем внутрикожной инъекции микросфер, содержащих лекарственное средство, которые медленно высвобождаются подкожно (см. Rao, J. Biomater Sci. Polym. Ed. 7:623-645, 1995); в виде биоразлагаемых гелевых составов для инъекций (см., например, Gao Pharm. Res. 12:857-863, 1995); или в виде микросфер для перорального введения (см., например, Eyles, J. Pharm. Pharmacol. 49:669-674, 1997). Составы композиций агонистов 5-НТ_{2В} (в том числе их фармацевтически приемлемых солей) можно доставлять с помощью липосом, которые сливаются с клеточной мембраной или подвергаются эндоцитозу, то есть путем применения лиганд рецепторов, прикрепленных к липосоме, которые связываются с поверхностными рецепторами мембранного белка клетки, что приводит к эндоцитозу. Путем применения липосом, особенно в случае, когда поверхность липосом несет лиганды рецепторов, специфичные в отношении клеток-мишеней или иным образом предпочтительно направленные на конкретный орган,

доставку композиций агонистов 5-HT_{2B} (в том числе их фармацевтически приемлемых солей) можно осуществлять в клетки-мишени *in vivo*. (См., например, Al-Muhammed, J. *Microencapsul.* 13:293-306, 1996; Chonn, *Curr. Opin. Biotechnol.* 6:698-708, 1995; Ostro, *Am. J. Hosp. Pharm.* 46:1576-1587, 1989). Композиции также можно доставлять в виде наночастиц.

[0050] Под «совместным введением» подразумевают, что описанную в настоящем документе композицию вводят одновременно, непосредственно перед или сразу после введения одного или более дополнительных терапевтических средств. Агонист 5-HT_{2B} (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) можно вводить пациенту отдельно или путем совместного введения. Подразумевают, что совместное введение включает одновременное или последовательное введение соединений по отдельности или в комбинации (более одного соединения). Таким образом, при желании, указанные препараты также можно комбинировать с другими активными веществами (например, для уменьшения метаболической деградации). Агонисты 5-HT_{2B} (в том числе их фармацевтически приемлемые соли) можно доставлять трансдермально, путем наружного применения или приготавливать в виде палочек-аппликаторов, растворов, суспензий, эмульсий, гелей, кремов, мазей, паст, желе, красок, порошков и аэрозолей.

[0051] В настоящем документе термины «дополнительная терапия», «дополнительное терапевтическое средство», «вспомогательная терапия» и «вспомогательное терапевтическое средство» используются взаимозаменяемо и относятся к объединению агониста 5-HT_{2B} или его фармацевтически приемлемой соли с другим антиконвульсивным средством для лечения эпилепсии.

[0052] В настоящем документе «противосудорожное лекарственное средство», «противоэпилептическое лекарственное средство», «AED» или «антиконвульсивное лекарственное средство» используются взаимозаменяемо и в соответствии с их общепринятым и обычным значением и включают композиции для ослабления или устранения судорожных припадков. Антиконвульсивные средства включают, помимо прочего, ацетазоламид, бензодиазепин, каннабидиолы, карбамазепин, клобазам, клоназепам, ацетат эсикарбазепина, этосуксимид, этотоин, фелбамат, фенфлурамин, фосфенитоин, габапентин, ганаксолон, гуперзин А, лакозамид, ламотриджин, леветирацетам, нитразепам, окскарбазепин, перампанел, пирацетам, фенobarбитал, фенитоин, бромид калия, прегабалин, примидон, ретигабин, руфинамид, вальпроат натрия, стирипентол, тиагабин, топирамат, вигабатрин или зонисамид.

[0053] В контексте настоящего документа термин «устойчивый» относится к снижению эффективности вещества или лекарственного средства. Например, субъект, «устойчивый» к лечению ингибитором обратного захвата серотонина (таким как, например, фенфлурамин), демонстрирует уменьшенную реакцию по сравнению с реакцией, наблюдаемой при лечении указанного субъекта впервые с помощью ингибитора обратного захвата серотонина.

I. Методы лечения

[0054] В настоящем документе, помимо прочего, предложены способы и композиции для лечения эпилепсии. Согласно одному из аспектов в настоящем документе предложен способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий приведение исследуемого соединения в контакт с рецептором 5-гидрокситриптамина-2В (5-НТ_{2В}) и измерение агонистической активности исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}. Указанный способ может включать выбор в качестве соединения исследуемого соединения, демонстрирующего агонистическую активность в отношении 5-НТ_{2В}. Выбранное соединение может иметь низкую активность связывания с 5-НТ_{2А} рецептором или 5-НТ_{2С} рецептором, или выбранное соединение может не демонстрировать измеримую активность связывания 5-НТ_{2А} рецептора или 5-НТ_{2С} рецептора. Способ лечения эпилепсии может включать введение выбранного соединения пациенту или субъекту, нуждающемуся в этом.

[0055] Согласно другому аспекту в настоящем документе предложен способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий приведение исследуемого соединения в контакт с 5-НТ_{2В} рецептором и измерение агонистической активности исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}. Указанный способ дополнительно включает введение исследуемого соединения животной модели эпилепсии и измерение поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии. Животная модель может представлять собой мутантную данио *scn1lab*. Агонистическую активность исследуемого соединения можно измерить на основе одного или более из следующих свойств: судорожного поведения в виде плавания с высокой скоростью или спонтанных электрографических припадков у мутантных данио *scn1lab*, или связывающей активности исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}.

[0056] Согласно еще одному аспекту в настоящем документе предложен способ лечения эпилепсии у субъекта, нуждающегося в этом. Предложенный способ включает введение указанному субъекту эффективного количества агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора. Агонистическая активность указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора может быть в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с его агонистической активностью в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. В несколько раз большая активность может представлять собой величину, выбранную из диапазона от 10 до 100, от 100 до 1000, от 1000 до 10000 или от 10000 до 100000. Агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора может связываться с 5-НТ_{2В} рецептором с K_d менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. K_d может представлять собой конкретное значение в диапазоне от 100 пМ до 500 пМ, от 500 пМ до 1 нМ, от 1 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 100 нМ. Конкретное значение можно выбрать из любого приращения на 1 пМ в выбранном диапазоне. K_d можно выбрать из поддиапазона в пределах любого из вышеперечисленных диапазонов K_d . Нижняя конечная точка поддиапазона может представлять собой нижнюю границу диапазона или любое значение, выбранное из приращений на 1 пМ, выше нижней границы диапазона до 1 пМ ниже верхней границы диапазона. Верхняя конечная точка поддиапазона может представлять собой верхнюю границу диапазона или любое

значение, выбранное из 1 пМ ниже верхней границы диапазона до 1 пМ выше нижней границы диапазона. Агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора может представлять собой соединение, выбранное путем осуществления способа выбора соединения для лечения эпилепсии, предложенного в настоящем документе.

[0057] Эпилепсия может представлять собой доброкачественную детскую эпилепсию с центрально-височными пиками, лобно-долевую эпилепсию, младенческие судороги, ювенильную миоклоническую эпилепсию (JME), ювенильную абсансную эпилепсию, детскую абсансную эпилепсию (например, пикнолепсию), фебрильные судороги, прогрессирующую миоклоническую эпилепсию Лафора, синдром Леннокса-Гасто, синдром Ландау-Клеффнера, синдром Драве, генерализованную эпилепсию с фебрильными судорогами (GEFS+), тяжелую миоклоническую эпилепсию младенчества (SMEI), доброкачественные семейные судороги новорожденных (BFNC), синдром Веста, синдром Охтахаара, ранние миоклонические энцефалопатии, мигрирующую парциальную эпилепсию, эпилептические энцефалопатии младенческого возраста, комплекс туберозного склероза (TSC), фокальную корковую дисплазию, лиссэнцефалию I типа, синдром Миллера-Дикера, синдром Ангельмана, синдром ломкой X-хромосомы, эпилепсию при расстройствах аутистического спектра, субкортикальную лентовидную гетеротопию, синдром Уокера-Варбурга, болезнь Альцгеймера, посттравматическую эпилепсию, прогрессирующие миоклонические эпилепсии, рефлекторную эпилепсию, синдром Расмуссена, височную эпилепсию, лимбическую эпилепсию, эпилептический статус, абдоминальную эпилепсию, массивный билатеральный миалоклонус, катамениальную эпилепсию, джексоновское припадочное расстройство, болезнь Унверрихта-Лундборга или светочувствительную эпилепсию. Эпилепсия может включать генерализованные припадки или парциальные (т.е. фокальные) припадки. Эпилепсия может представлять собой синдром Драве.

[0058] Эпилепсия может быть результатом неврологического заболевания или повреждения, такого как, например, энцефалит, церебрит, абсцесс, инсульт, опухоль, травма, генетическое расстройство, туберозный склероз, церебральная дисгенезия или гипоксически-ишемическая энцефалопатия. Эпилепсия может быть связана с нейродегенеративным заболеванием, таким как, например, болезнь Альцгеймера или болезнь Паркинсона. Эпилепсия может быть связана с аутизмом. Эпилепсия может быть связана с мутацией одного гена. Эпилепсия может быть связана с компульсивным поведением или электрографическими припадками.

[0059] Введение исследуемого соединения может ингибировать компульсивное поведение или электрографические припадки. Ингибирование можно измерить путем измерения поведенческой активности у животной модели эпилепсии.

[0060] Введение исследуемого соединения может снизить частоту (например, количество случаев) неспровоцированных судорожных припадков у животной модели эпилепсии по сравнению с отсутствием исследуемого соединения. Таким образом, реакцию животной модели эпилепсии на введение исследуемого соединения можно

последовательно отслеживать, сравнивая со временем до введения описанных в настоящем документе соединений (например, используя контроль или контрольное время).

[0061] Введение исследуемого соединения может ослабить или предотвратить миоклонические судороги или эпилептический статус у животной модели эпилепсии по сравнению с отсутствием исследуемого соединения. Введение исследуемого соединения может ослабить или предотвратить миоклонические судороги у животной модели эпилепсии по сравнению с отсутствием исследуемого соединения. Введение исследуемого соединения может уменьшить или предотвратить эпилептический статус у животной модели эпилепсии по сравнению с отсутствием исследуемого соединения. Реакцию животной модели эпилепсии на введение исследуемого соединения можно последовательно отслеживать, сравнивая со временем до введения описанных в настоящем документе соединений (например, используя контроль или контрольное время).

[0062] Животная модель эпилепсии может представлять собой животную модель синдрома Драве (DS). Животная модель DS может представлять собой рыбку данио (*Danio rerio*). Данио (*Danio rerio*) может представлять собой мутант *scn1lab* или мутант *scn1laa*. Данио (*Danio rerio*) может представлять собой мутант *scn1lab*. Данио (*Danio rerio*) может представлять собой мутант *scn1laa*.

[0063] Животная модель DS может представлять собой рыбку данио (*Danio rerio*), устойчивую к противоэпилептическим лекарственным препаратам (AEDs). Данио (*Danio rerio*) может представлять собой мутант *scn1lab* или мутант *scn1laa*, устойчивый к AEDs. Данио (*Danio rerio*) может представлять собой мутант *scn1lab*, устойчивый к AEDs. Данио (*Danio rerio*) может представлять собой мутант *scn1laa*, устойчивый к AEDs.

[0064] AED может представлять собой ацетазоламид, бензодиазепин, каннабидиолы, карбамазепин, клобазам, клоназепам, ацетат эсликарбазепина, этосуксимид, этогоин, фелбамат, фенфлурамин, фосфенитоин, габапентин, ганаксолон, гуперзин А, лакозамид, ламотриджин, леветирацетам, нитразепам, окскарбазепин, перампанел, пирацетам, фенобарбитал, фенитоин, бромид калия, прегабалин, примидон, ретигабин, руфинамид, вальпроевую кислоту, вальпроат натрия, стирипентол, тиагабин, топирамат, вигабатрин или зонисамид. AED может представлять собой вальпроевую кислоту, вальпроат натрия, клоназепам, этосуксимид, фелбамат, габапентин, карбамазепин, окскарбазепин, ламотриджин, леветирацетам, бензодиазепин, фенобарбитал, прегабалин, примидон, тиагабин, топирамат, бромид калия, фенитоин, стирипентол, вигабатрин или зонисамид. AED может представлять собой вальпроевую кислоту, вальпроат натрия, габапентин, топирамат, карбамазепин, окскарбазепин или вигабатрин.

[0065] AED может представлять собой ацетазоламид. AED может представлять собой бензодиазепин. AED может представлять каннабидиолы. AED может представлять собой карбамазепин. AED может представлять собой клобазам. AED может представлять

собой клоназепам. AED может представлять собой ацетат эсликарбазепина. AED может представлять собой этосуксимид. AED может представлять собой этотоин. AED может представлять собой фелбамат. AED может представлять собой фенфлурамин. AED может представлять собой фосфенитоин. AED может представлять собой габапентин. AED может представлять собой ганаксолон. AED может представлять собой гуперзин А. AED может представлять собой лакосамид. AED может представлять собой ламотриджин. AED может представлять собой леветирацетам. AED может представлять собой нитразепам. AED может представлять собой окскарбазепин. AED может представлять собой перампанел. AED может представлять собой пирацетам. AED может представлять собой фенобарбитал. AED может представлять собой фенитоин. AED может представлять собой бромид калия. AED может представлять собой прегабалин. AED может представлять собой примидон. AED может представлять собой ретигабин. AED может представлять собой руфинамид. AED может представлять собой вальпроевую кислоту. AED может представлять собой вальпроат натрия. AED может представлять собой стирипентол. AED может представлять собой тиагабин. AED может представлять собой топирамат. AED может представлять собой вигабатрин. AED может представлять собой зонисамид. Клемизол или аналог клемизола (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или фармацевтическую композицию клемизола или аналога клемизола можно вводить в качестве дополнительного терапевтического средства с одним или более AEDs, описанными в настоящем документе.

[0066] В способах, описанных в настоящем документе, исследуемое соединение можно вводить совместно с противоэпилептическим лекарственным средством (AED). AED может представлять собой ацетазоламид, бензодиазепин, каннабидиолы, карбамазепин, клобазам, клоназепам, ацетат эсликарбазепина, этосуксимид, этотоин, фелбамат, фенфлурамин, фосфенитоин, габапентин, ганаксолон, гуперзин А, лакосамид, ламотриджин, леветирацетам, нитразепам, окскарбазепин, перампанел, пирацетам, фенобарбитал, фенитоин, бромид калия, прегабалин, примидон, ретигабин, руфинамид, вальпроевую кислоту, вальпроат натрия, стирипентол, тиагабин, топирамат, вигабатрин или зонисамид. AED может представлять собой вальпроевую кислоту, вальпроат натрия, клоназепам, этосуксимид, фелбамат, габапентин, карбамазепин, окскарбазепин, ламотриджин, леветирацетам, бензодиазепин, фенобарбитал, прегабалин, примидон, тиагабин, топирамат, бромид калия, фенитоин, стирипентол, вигабатрин или зонисамид. AED может представлять собой вальпроевую кислоту, вальпроат натрия, габапентин, топирамат, карбамазепин, окскарбазепин или вигабатрин.

[0067] AED может представлять собой ацетазоламид. AED может представлять собой бензодиазепин. AED может представлять каннабидиолы. AED может представлять собой карбамазепин. AED может представлять собой клобазам. AED может представлять собой клоназепам. AED может представлять собой ацетат эсликарбазепина. AED может представлять собой этосуксимид. AED может представлять собой этотоин. AED может представлять собой фелбамат. AED может представлять собой фенфлурамин. AED может

представлять собой фосфенитоин. AED может представлять собой габапентин. AED может представлять собой ганаксолон. AED может представлять собой гуперзин А. AED может представлять собой лакосамид. AED может представлять собой ламотриджин. AED может представлять собой леветирацетам. AED может представлять собой нитразепам. AED может представлять собой окскарбазепин. AED может представлять собой перампанел. AED может представлять собой пирарцетам. AED может представлять собой фенобарбитал. AED может представлять собой фенитоин. AED может представлять собой бромид калия. AED может представлять собой прегабалин. AED может представлять собой примидон. AED может представлять собой ретигабин. AED может представлять собой руфинамид. AED может представлять собой вальпроевую кислоту. AED может представлять собой вальпроат натрия. AED может представлять собой стирипентол. AED может представлять собой тиагабин. AED может представлять собой топирамат. AED может представлять собой вигабатрин. AED может представлять собой зонисамид. Клемизол или аналог клемизола (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или фармацевтическую композицию клемизола или аналога клемизола можно вводить в качестве дополнительного терапевтического средства с одним или более AEDs, описанными в настоящем документе.

[0068] Таким образом, исследуемое соединение можно вводить в качестве дополнительных (например, в комбинации с AED) медицинских препаратов для лечения судорожных припадков, в том числе судорожных припадков, связанных с эпилептическими расстройствами, описанными в настоящем документе. Исследуемое соединение можно вводить в качестве дополнительного терапевтического средства (например, в комбинации с AED) для лечения судорожных припадков, в том числе судорожных припадков, связанных с эпилептическими расстройствами, описанными в настоящем документе.

[0069] Эпилепсия может характеризоваться парциальными или генерализованными судорожными припадками. Эпилепсия может характеризоваться парциальными судорожными припадками. Эпилепсия может характеризоваться генерализованными судорожными припадками. Парциальный припадок может представлять собой простой фокальный припадок, сложный фокальный припадок или парциальный фокальный припадок с вторичной генерализацией. Генерализованный припадок может представлять собой генерализованный тонико-клонический припадок, абсанс (т.е. малый эпилептический припадок), миоклонический припадок, клонический припадок, тонический припадок или атонический припадок.

[0070] При совместном введении с описанными в настоящем документе AEDs исследуемое соединение и AED можно вводить одновременно. При одновременном введении исследуемое соединение можно приготовить вместе с AED (то есть в единичной дозированной форме). Исследуемое соединение можно приготовить для отдельного введения от AED, но вводить одновременно. При совместном введении с описанными в настоящем документе AEDs исследуемое соединение можно вводить последовательно

(например, до или после) введения AED. Как описано в настоящем документе, специалист в данной области может легко определить последовательный порядок введения.

[0071] В настоящем документе предложены способы введения животной модели эпилепсии исследуемого соединения и получения электрофизиологической записи животной модели для обнаружения наличия, интенсивности или отсутствия спонтанного электрографического припадка у животной модели. Поведенческая активность животной модели эпилепсии может представлять собой судорожное поведение, судорожное поведение в виде плавания с высокой скоростью или спонтанные электрографические припадки. Согласно вариантам реализации поведенческая активность животной модели эпилепсии может представлять собой судорожное поведение. Согласно вариантам реализации поведенческая активность животной модели эпилепсии может представлять собой судорожное поведение в виде плавания с высокой скоростью. Согласно вариантам реализации поведенческая активность животной модели эпилепсии может представлять собой спонтанные электрографические припадки.

[0072] Судорожное поведение в виде плавания с высокой скоростью у животной модели эпилепсии можно обнаружить с помощью электрофизиологической записи животной модели. Наличие, интенсивность или отсутствие спонтанного электрографического припадка у указанной животной модели эпилепсии можно обнаружить с помощью электрофизиологической записи животной модели.

[0073] Согласно вариантам реализации измерение агонистической активности исследуемого соединения может включать измерение активности связывания исследуемого соединения с рецептором. Согласно вариантам реализации рецептор может представлять собой 5-НТ_{2В} рецептор. Согласно вариантам реализации исследуемое соединение, выбранное в качестве соединения для лечения эпилепсии, имеет низкую активность связывания с 5-НТ_{2А} рецептором или 5-НТ_{2С} рецептором или не демонстрирует измеримую активность связывания 5-НТ_{2А} рецептора или 5-НТ_{2С} рецептора. Согласно вариантам реализации выбранное исследуемое соединение имеет низкую активность связывания с 5-НТ_{2А} рецептором или не демонстрирует измеримую активность связывания 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации выбранное исследуемое соединение имеет низкую активность связывания с 5-НТ_{2С} рецептором или не демонстрирует измеримую активность связывания 5-НТ_{2С} рецептора. Согласно вариантам реализации выбранное исследуемое соединение имеет низкую активность связывания с 5-НТ_{2А} рецептором. Согласно вариантам реализации исследуемое соединение не демонстрирует измеримую активность связывания 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации исследуемое соединение имеет низкую активность связывания с 5-НТ_{2С} рецептором. Согласно вариантам реализации исследуемое соединение не демонстрирует измеримую активность связывания 5-НТ_{2С} рецептора.

[0074] Согласно вариантам реализации исследуемое соединение, выбранное в качестве соединения для лечения эпилепсии, связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с K_d менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. Согласно вариантам реализации выбранное

выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 10000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0077] Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 50 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 500 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 2500 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 5000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 25000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 50000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 1000000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0078] Согласно вариантам реализации соединение, выбранное путем осуществления предложенного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии, представляет собой исследуемое соединение, имеющее по меньшей мере одно из следующих свойств: (1) агонистическую активность в отношении 5-HT_{2B}, (2) пониженную эпилептическую поведенческую активность у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии, (3) ослабление судорожного поведения в виде плавания с высокой скоростью у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии, (4) обнаруженную низкую интенсивность или отсутствие спонтанного электрографического припадка у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии, (5) связывание с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ, или (6) агонистическую активность в отношении 5-HT_{2B}, которая в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0079] Согласно вариантам реализации соединение, выбранное с применением описанного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии, представляет собой исследуемое соединение, обладающее агонистической активностью в отношении 5-НТ_{2В}. Согласно вариантам реализации указанная агонистическая активность в отношении НТ-5_{2В} представляет собой активность связывания НТ-5_{2В} рецептора. Согласно вариантам реализации указанное соединение имеет низкую активность связывания с 5-НТ_{2А} рецептором или 5-НТ_{2С} рецептором или не демонстрирует измеримую активность связывания 5-НТ_{2А} рецептора или 5-НТ_{2С} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении НТ-5_{2В} в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении НТ-5_{2В} в 10 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении НТ-5_{2В} в 100 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении НТ-5_{2В} в 1000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении НТ-5_{2В} в 10000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность выбранного соединения в отношении НТ-5_{2В} в 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

[0080] Согласно вариантам реализации соединение, выбранное с применением описанного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии, представляет собой исследуемое соединение, вызывающее снижение эпилептической поведенческой активности у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии. Согласно вариантам реализации эпилептическая поведенческая активность представляет собой судорожное поведение в виде плаванья с высокой скоростью или спонтанный электрографический припадок. Согласно вариантам реализации эпилептическая поведенческая активность представляет собой судорожное поведение в виде плаванья с высокой скоростью. Согласно вариантам реализации эпилептическая поведенческая активность представляет собой спонтанный электрографический припадок.

[0081] Согласно вариантам реализации соединение, выбранное с применением описанного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии, представляет собой исследуемое соединение, вызывающее ослабление судорожного поведения в виде плаванья с высокой скоростью у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии.

[0082] Согласно вариантам реализации соединение, выбранное с применением описанного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии, представляет собой исследуемое соединение, обнаруженное путем определения низкой интенсивности или отсутствия спонтанного электрографического припадка у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии. Согласно вариантам реализации выбор исследуемого соединения основан на обнаружении низкой интенсивности спонтанного электрографического припадка у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии. Согласно вариантам реализации выбор исследуемого соединения основан на отсутствии спонтанного электрографического припадка у животной модели эпилепсии после введения исследуемого соединения указанной животной модели эпилепсии.

[0083] Согласно вариантам реализации соединение, выбранное с применением описанного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии, представляет собой исследуемое соединение, которое связывается с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. Согласно вариантам реализации выбранное соединение связывается с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 100 нМ. Согласно вариантам реализации выбранное соединение связывается с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 10 нМ. Согласно вариантам реализации выбранное соединение связывается с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 1 нМ. Согласно вариантам реализации выбранное соединение связывается с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 500 пМ. Согласно вариантам реализации выбранное соединение связывается с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 100 пМ.

[0084] В настоящем документе предложен способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий приведение исследуемого соединения в контакт с 5-HT_{2B} рецептором, измерение агонистической активности исследуемого соединения в отношении 5-HT_{2B}, введение исследуемого соединения животной модели эпилепсии и измерение поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии. Согласно вариантам реализации животная модель эпилепсии может представлять собой мутантный данио *scn1lab*. Согласно вариантам реализации агонистическую активность исследуемого соединения измеряют на основе одного или более из следующих свойств: судорожного поведения мутантных данио *scn1lab* в виде плаванья с высокой скоростью, спонтанных электрографических припадков у мутантных данио *scn1lab* или связывающей активности исследуемого соединения в отношении 5-HT_{2B}. Согласно вариантам реализации агонистическую активность исследуемого соединения измеряют по судорожному поведению в виде плаванья с высокой скоростью у мутантных данио *scn1lab*. Согласно вариантам реализации агонистическую активность исследуемого соединения измеряют по спонтанным электрографическим припадкам у мутантных данио *scn1lab*. Согласно вариантам реализации агонистическую активность исследуемого соединения измеряют по его связывающей активности в отношении 5-HT_{2B}.

[0085] В настоящем документе предложен способ лечения эпилепсии. Согласно одному из аспектов указанный способ представляет собой способ лечения эпилепсии путем введения субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора.

[0086] Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора представляет собой клемизол, аналог клемизола или его фармацевтически приемлемую соль. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора не является клемизолом, аналогом клемизола или его фармацевтически приемлемой солью. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора представляет собой метилэргоновин, 6-АРВ, норфенфлурамин, Ro60-0175, BW-723С86, каберголин, бромокриптин или пирибедил. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора представляет собой соединение, выбранное в качестве соединения для лечения эпилепсии посредством описанного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии.

[0087] Аналог клемизола может включать соединения формулы (I), описанные в настоящем документе, и могут включать соединения аналогичной структуры, как описано, например, в РСТ/US2008/076804, WO10107739, WO2009039248 или патенте США № 4011322, которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0088] Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 10 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 100 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 1000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 10000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 100000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора. В несколько раз большая активность может представлять собой величину, выбранную из диапазона от 10 до 100, от 100 до 1000, от 1000 до 10000 или от 10000 до 100000.

[0089] Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 50, 500, 2500, 5000, 25000, 50000 или 1000000 раз

больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 50 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 500 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 2500 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 5000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 25000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 50000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. Согласно вариантам реализации агонистическая активность агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 1000000 раз больше по сравнению с активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора. В несколько раз большая активность может представлять собой величину, выбранную из диапазона от 50 до 500, от 500 до 2500, от 2500 до 5000, от 5000 до 25000, от 25000 до 50000 или от 50000 до 100000.

[0090] Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 100 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 10 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 1 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 500 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 100 пМ. Kd может представлять собой конкретное значение в диапазоне от 100 пМ до 500 пМ, от 500 пМ до 1 нМ, от 1 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 100 нМ. Конкретное значение можно выбрать из любого приращения на 1 пМ в указанном диапазоне. Kd можно выбрать из поддиапазона в пределах любого из вышеперечисленных диапазонов Kd. Нижняя конечная точка поддиапазона может представлять собой нижнюю границу диапазона или любое значение, выбранное из приращений на 1 пМ, выше нижней границы диапазона до 1 пМ ниже верхней границы

диапазона. Верхняя конечная точка поддиапазона может представлять собой верхнюю границу диапазона или любое значение, выбранное из 1 пМ ниже верхней границы диапазона до 1 пМ выше нижней границы диапазона.

[0091] Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 50 нМ, 25 нМ, 15 нМ, 7,5 нМ, 5 нМ, 2 нМ, 800 пМ, 600 пМ, 400 пМ, 200 пМ, 150 пМ или 50 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 50 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 25 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 15 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 7,5 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 5 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 2 нМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 800 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 600 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 400 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 200 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 1500 пМ. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора связывается с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 50 пМ. Kd может представлять собой конкретное значение в диапазоне от 50 пМ до 150 пМ, от 150 пМ до 200 пМ, от 200 пМ до 400 пМ, от 400 пМ до 600 пМ, от 600 пМ до 800 пМ, от 800 пМ до 2 нМ, от 2 нМ до 5 нМ, от 5 до 7,5 нМ, от 7,5 до 15 нМ, от 15 до 25 нМ или от 25 до 50 нМ. Конкретное значение можно выбрать из любого приращения на 1 пМ в указанном диапазоне. Kd можно выбрать из поддиапазона в пределах любого из вышеперечисленных диапазонов Kd. Нижняя конечная точка поддиапазона может представлять собой нижнюю границу диапазона или любое значение, выбранное из приращений на 1 пМ, выше нижней границы диапазона до 1 пМ ниже верхней границы диапазона. Верхняя конечная точка поддиапазона может представлять собой верхнюю границу диапазона или любое значение, выбранное из 1 пМ ниже верхней границы диапазона до 1 пМ выше нижней границы диапазона.

II. Фармацевтические композиции

[0092] В настоящем документе предложены фармацевтические композиции, содержащие агонист 5-HT_{2B} рецептора или его фармацевтически приемлемую соль, применимые для лечения перечисленных выше заболеваний и нарушений. Согласно вариантам реализации агонист специфического 5-HT_{2B} рецептора представляет собой соединение, выбранное в качестве соединения для лечения эпилепсии посредством

описанного в настоящем документе способа выбора соединения для лечения эпилепсии. Фармацевтическую композицию можно приготовить в виде таблетки, порошка, капсулы, пилюли, облатки или пастилки, как описано в настоящем документе. Фармацевтическую композицию можно приготовить в виде таблетки, капсулы, пилюли, облатки или пастилки для перорального введения. Фармацевтическую композицию можно приготовить для растворения в растворе для введения такими способами, как, например, внутривенное введение. Фармацевтическую композицию можно приготовить для перорального введения, введения суппозитория, наружного применения, внутривенного введения, внутривентрикулярного введения, внутримышечного введения, внутриочагового введения, интратекального введения, интраназального введения, подкожного введения, имплантации, трансдермального введения или трансмукозального введения, как описано в настоящем документе.

[0093] При введении в форме фармацевтической композиции указанные фармацевтические композиции могут включать оптические изомеры, диастереомеры, энантиомеры, изоформы, полиморфы, гидраты, сольваты или продукты или фармацевтически приемлемые соли агониста 5-HT_{2B} рецептора. Агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли), включенный в фармацевтическую композицию, может быть ковалентно присоединен к фрагменту носителя, как описано выше. Согласно вариантам реализации агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли), включенный в фармацевтическую композицию, не связан ковалентно с фрагментом носителя. Комбинация ковалентно и нековалентно связанного агониста 5-HT_{2B} рецептора может быть включена в фармацевтическую композицию, описанную в настоящем документе.

[0094] Агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) можно вводить субъекту, нуждающемуся в этом, отдельно или совместно с AED, как описано в настоящем документе. Подразумевают, что совместное введение включает одновременное или последовательное введение, как описано в настоящем документе, агониста 5-HT_{2B} рецептора отдельно или в комбинации (например, более одного соединения - например, AED, описанного в настоящем документе). При желании такие препараты можно комбинировать с другими активными веществами (например, для предотвращения судорожных припадков).

1. Составы

[0095] Агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или фармацевтическую композицию, описанную в настоящем документе, можно приготовить и ввести в самых разнообразных пероральных, парентеральных и топических лекарственных формах. Таким образом, агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, могут находиться в составе для инъекции и могут быть введены путем инъекции (например, внутривенно, внутримышечно, внутрикожно, подкожно, интрадуоденально или внутривентрикулярно). Кроме того, агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том

числе его фармацевтически приемлемые соли) или фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, могут находиться в составе для ингаляции и могут быть введены путем ингаляции. Ингаляция может быть интраназальной. Кроме того, агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или фармацевтическая композиция могут находиться в составе для трансдермальной доставки и могут быть введены трансдермально. Также предполагается, что для введения агониста 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или содержащей его фармацевтической композиции можно использовать несколько путей введения (например, внутримышечный, пероральный, трансдермальный). Описанные в настоящем документе фармацевтические композиции могут включать фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество и один или более агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли). Описанные в настоящем документе фармацевтические композиции могут включать фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество, один или более агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) и один или более AED, описанный в настоящем документе.

[0096] Препарат может включать фармацевтически приемлемые носители. Фармацевтически приемлемые носители могут быть твердыми или жидкими. Препараты в твердой форме включают порошки, таблетки, пилюли, капсулы, облатки, суппозитории и диспергируемые гранулы. Твердый носитель может представлять собой одно или более веществ, которые также могут действовать в качестве разбавителей, вкусоароматических добавок, связующих веществ, консервантов, веществ для улучшения распадаемости таблеток или инкапсулирующего материала.

[0097] В порошках носитель может представлять собой тонкоизмельченное твердое вещество в смеси с тонкоизмельченным активным компонентом. В таблетках активный компонент можно смешивать с носителем, обладающим необходимыми связывающими свойствами, в подходящих пропорциях и уплотнять до обеспечения требуемой формы и размера.

[0098] Порошки и таблетки предпочтительно содержат от 5% до 70% активного соединения. Подходящими носителями являются карбонат магния, стеарат магния, тальк, сахар, лактоза, пектин, декстрин, крахмал, желатин, трагакант, метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза натрия, легкоплавкий воск, масло какао и т.п. Подразумевают, что термин «препарат» включает состав активного соединения с инкапсулирующим материалом в качестве носителя, образующим капсулу, в которой активный компонент с другими носителями или без них окружен носителем, который, таким образом, связан с указанным активным компонентом. Аналогичным образом, включены облатки и пастилки. Таблетки, порошки, капсулы, пилюли, облатки и пастилки можно использовать в качестве твердых лекарственных форм, подходящих для перорального введения.

[0099] Подходящие твердые наполнители включают, помимо прочего, карбонат магния; стеарат магния; тальк; пектин; декстрин; крахмал; трагакант; легкоплавкий воск;

масло какао; углеводы; сахара, в том числе, помимо прочего, лактозу, сахарозу, маннитол или сорбитол, крахмал из кукурузы, пшеницы, риса, картофеля или других растений; целлюлозу, такую как метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза или карбоксиметилцеллюлоза натрия; и камеди, в том числе арабик и трагакант; а также белки, в том числе, помимо прочего, желатин и коллаген. При желании можно добавлять вещества для улучшения распадаемости таблеток или солюбилизующие средства, такие как сшитый поливинилпирролидон, агар, альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

[0100] Ядра драже снабжены подходящими покрытиями, такими как концентрированные растворы сахара, которые также могут содержать аравийскую камедь, тальк, поливинилпирролидон, карбополовый гель, полиэтиленгликоль и/или диоксид титана, растворы лаков и подходящие органические растворители или смеси растворителей. К таблеткам или покрытиям драже можно добавлять красящие вещества или пигменты для идентификации продукта или для указания количества агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или фармацевтической композиции (т.е. дозировки). Кроме того, описанные в настоящем документе фармацевтические препараты можно применять перорально, используя, например, твердые капсулы, сделанные из желатина, а также герметичные капсулы, сделанные из желатина и покрытия, такого как глицерин или сорбитол.

[0101] Для приготовления суппозиториев сначала расплавляют легкоплавкий воск, такой как смесь глицеридов жирных кислот или масло какао, и гомогенно диспергируют в нем активный компонент, например, путем перемешивания. Затем расплавленную гомогенную смесь разливают в формы подходящего размера, дают охладиться и тем самым затвердеть.

[0102] Препараты в жидкой форме включают растворы, суспензии и эмульсии, например, воду или растворы вода/пропиленгликоль. Для парентеральной инъекции жидкие препараты можно приготовить в виде раствора в водном растворе полиэтиленгликоля.

[0103] При необходимости или желательности парентерального применения особенно подходящие смеси для агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или содержащей его фармацевтической композиции представляют собой стерильные растворы для инъекций, предпочтительно масляные или водные растворы, а также суспензии, эмульсии или имплантаты, в том числе суппозитории. В частности, носители для парентерального введения включают водные растворы декстрозы, физиологический раствор, чистую воду, этанол, глицерин, пропиленгликоль, арахисовое масло, кунжутное масло, блок-полимеры полиоксиэтилена и т.п. Ампулы представляют собой удобные однократные дозировки. Агонист 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или содержащую его фармацевтическую композицию также можно включить в липосомы или ввести с помощью трансдермальных насосов или пластырей. Фармацевтические добавки,

подходящие для применения в настоящем изобретении, включают добавки, описанные, например, в *Pharmaceutical Sciences* (17th Ed., Mack Pub. Co., Easton, PA) и WO 96/05309, при этом идеи, представленные в обоих указанных документах, включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0104] Водные растворы, подходящие для перорального применения, можно приготовить путем растворения активного компонента в воде и добавления подходящих красителей, вкусоароматических добавок, стабилизаторов и загустителей, при необходимости. Водные суспензии, подходящие для перорального применения, можно получить путем диспергирования тонкоизмельченного активного компонента в воде с вязким материалом, таким как природные или синтетические камеди, смолы, метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза натрия, гидроксипропилметилцеллюлоза, альгинат натрия, поливинилпирролидон, трагакантовая камедь и аравийская камедь, и диспергирующими или смачивающими средствами, такими как природный фосфатид (например, лецитин), продукт конденсации алкиленоксида с жирной кислотой (например, полиоксиэтиленстеарат), продукт конденсации этиленоксида с алифатическим спиртом с длинной цепью (например, гептадекаэтилен оксидетанол), продукт конденсации этиленоксида с частичным сложным эфиром, полученным из жирной кислоты и гексита (например, моноолеат полиоксиэтиленсорбита) или продукт конденсации этиленоксида с частичным сложным эфиром, полученным из жирной кислоты и гекситолангидрида (например, моноолеат полиоксиэтиленсорбитана). Водная суспензия также может содержать один или более консервантов, таких как этил или н-пропил-п-гидроксибензоат, один или более красителей, один или более вкусоароматических добавок и один или более подсластителей, таких как сахароза, аспартам или сахарин. Можно регулировать осмолярность составов.

[0105] Кроме того, в настоящее изобретение включены препараты в твердой форме, предназначенные для превращения непосредственно перед применением в препараты в жидкой форме для перорального введения. Такие жидкие формы включают растворы, суспензии и эмульсии. Указанные препараты могут содержать, помимо активного компонента, красители, вкусоароматические добавки, стабилизаторы, буферы, искусственные и натуральные подсластители, диспергирующие вещества, загустители, солюбилизующие средства и т.п.

[0106] Масляные суспензии могут содержать загуститель, такой как пчелиный воск, твердый парафин или цетиловый спирт. Для получения перорального препарата с приятным вкусом можно добавлять подсластители, такие как глицерин, сорбитол или сахароза. Указанные составы можно сохранять путем добавления антиоксиданта, такого как аскорбиновая кислота. В качестве примера масляного носителя для инъекций см. Minto, J. *Pharmacol. Exp. Ther.* 281: 93-102, 1997. Описанные в настоящем документе фармацевтические составы также могут быть в форме эмульсий масло-в-воде. Масляная фаза может представлять собой растительное масло или минеральное масло, описанное выше, или их смесь. Подходящие эмульгирующие средства включают природные камеди,

такие как аравийская камедь и трагакантовая камедь, природные фосфатиды, такие как соевый лецитин, сложные эфиры или частичные сложные эфиры, полученные из жирных кислот и гекситолангидрида, такие как моноолеат сорбитана, и продукты конденсации указанных частичных сложных эфиров с этиленоксидом, такие как моноолеат полиоксиэтиленсорбитана. Эмульсия может также содержать подсластители и вкусоароматические вещества, как в составе сиропов и эликсиров. Кроме того, такие составы могут содержать успокоительное средство, консервант или краситель.

[0107] Фармацевтический препарат предпочтительно находится в стандартной лекарственной форме. В такой форме препарат разделен на однократные дозы, содержащие соответствующие количества активного компонента. Стандартная лекарственная форма может представлять собой расфасованный препарат, при этом упаковка содержит дискретные количества препарата, такие как упакованные таблетки, капсулы и порошки во флаконах или ампулах. Кроме того, стандартная лекарственная форма может сама по себе представлять собой капсулу, таблетку, облатку или пастилку, или она может представлять собой подходящее количество любой из перечисленных форм в расфасованном виде.

[0108] Количество активного компонента в препарате с однократной дозой можно менять или регулировать от 0,1 мг до 10000 мг в соответствии с конкретным применением и эффективностью активного компонента. При желании композиция может также содержать другие совместимые терапевтические средства.

[0109] Составы могут включать поверхностно-активное вещество или другой подходящий соразтворитель в композиции. Такие соразтворители включают: полисорбат 20, 60 и 80; Pluronic F-68, F-84 и P-103; циклодекстрин; и полиоксил 35 касторовое масло. Указанные соразтворители обычно применяют на уровне от примерно 0,01% до примерно 2% по массе. Вязкость, превышающая вязкость простых водных растворов, может потребоваться для уменьшения вариабельности при дозировании составов, для уменьшения физического разделения компонентов суспензии или эмульсии состава и/или иным образом для улучшения состава. Такие загущающие вещества включают, например, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, хондроитинсульфат и его соли, гиалуроновую кислоту и ее соли, а также комбинации перечисленных веществ. Указанные средства обычно используют на уровне от примерно 0,01% до примерно 2% по массе.

[0110] Вязкость, превышающая вязкость простых водных растворов, может потребоваться для уменьшения вариабельности при дозировании составов, для уменьшения физического разделения компонентов суспензии или эмульсии состава и/или иным образом для улучшения состава. Такие загущающие вещества включают, например, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, хондроитинсульфат и его соли, гиалуроновую кислоту и ее

соли, комбинации перечисленных веществ и другие вещества, известные специалистам в данной области техники. Указанные вещества обычно используют на уровне от примерно 0,01% до примерно 2% по массе. Специалист в данной области техники может легко определить приемлемые количества любых из перечисленных выше адъювантов.

[0111] Фармацевтические композиции могут дополнительно включать компоненты для обеспечения замедленного высвобождения и/или удобства. Такие компоненты включают высокомолекулярные, анионные мукомиметические полимеры, гелеобразующие полисахариды и субстраты-носители тонкоизмельченного лекарственного средства. Указанные компоненты более подробно обсуждаются в патентах США №№ 4911920; 5403841; 5212162; и 4861760. Полное содержание указанных патентов в полном объеме включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей.

[0112] Фармацевтическая композиция может быть предназначена для внутривенного применения. Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может включать буферы для доведения pH до диапазона, требуемого для внутривенного применения. Известно множество буферов, в том числе соли неорганических кислот, такие как фосфат, борат и сульфат.

[0113] Агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или его фармацевтическую композицию можно доставлять трансдермально для лечения эпилептических расстройств, описанных в настоящем документе, путем наружного применения, приготавливать в виде палочек-аппликаторов, растворов, суспензий, эмульсий, гелей, кремов, мазей, паст, желе, красок, порошков и аэрозолей.

[0114] Агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) можно обеспечить в виде соли в фармацевтических композициях, описанных в настоящем документе, и можно получить с помощью многих кислот, в том числе, помимо прочего, соляной, серной, уксусной, молочной, винной, яблочной, янтарной кислот и т. д. Соли обычно являются более растворимыми в водных или других протонных растворителях, представляющих собой соответствующие формы свободного основания.

[0115] Агонист 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или его фармацевтическую композицию, применяемую для лечения описанных в настоящем документе эпилептических расстройств, можно вводить парентерально, например, путем внутривенного (IV) введения или введения в полость тела или просвет орган. Такие составы для введения обычно включают раствор композиций согласно настоящему изобретению, растворенных в фармацевтически приемлемом носителе. К приемлемым носителям и растворителям, которые можно использовать, относятся вода и раствор Рингера, изотонический хлорид натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды традиционно можно использовать стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое безвкусное нелетучее масло, в том числе синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, при приготовлении препаратов для инъекций можно аналогичным образом использовать жирные кислоты, такие как

олеиновая кислота. Указанные растворы являются стерильными и обычно не содержат нежелательных веществ. Такие составы можно стерилизовать с применением обычных, хорошо известных способов стерилизации. Указанные составы могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для соответствия физиологическим условиям, такие как регуляторы pH и буферные агенты, средства, регулирующие токсичность, например, ацетат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, лактат натрия и т.п. Концентрация композиций согласно настоящему изобретению в указанных составах может варьировать в широких пределах и будет выбрана, прежде всего, на основе объемов жидкости, значений вязкости, массы тела и т.п., в соответствии с конкретным выбранным способом введения и потребностями пациента. Для внутривенного введения состав может представлять собой стерильный препарат для инъекций, такой как стерильная водная или масляная суспензия для инъекций. Такую суспензию можно приготовить в соответствии с известным уровнем техники с применением перечисленных подходящих диспергирующих или смачивающих средств и суспендирующих средств. Стерильный препарат для инъекций также может представлять собой стерильный раствор или суспензию для инъекций в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, таком как раствор 1,3-бутандиола.

[0116] Фармацевтические составы агониста 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) для лечения эпилептического расстройства можно доставлять с применением липосом, которые сливаются с клеточной мембраной или подвергаются эндоцитозу, то есть путем применения лиганд, прикрепленных к липосоме или прикрепленных непосредственно к олигонуклеотиду, которые связываются с поверхностными рецепторами мембранного белка клетки, что приводит к эндоцитозу. Путем применения липосом, особенно в случае, когда поверхность липосом несет лиганды, специфичные в отношении клеток-мишеней или иным образом предпочтительно направленные на конкретный орган, доставку композиций согласно настоящему изобретению можно осуществлять в клетки-мишени *in vivo*. (См., например, Al-Muhammed, J. *Microencapsul.* 13:293-306, 1996; Chonn, *Curr. Opin. Biotechnol.* 6:698-708, 1995; Ostro, *Am. J. Hosp. Pharm.* 46:1576-1587, 1989).

[0117] Совместное введение включает введение одного активного вещества (например, клемизола или аналога клемизола (в том числе его фармацевтически приемлемых солей)) в течение 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 или 24 часов после введения второго активного вещества (например, антиконвульсивного средства). Совместное введение может включать введение одного активного вещества в течение 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 или 24 часов после введения второго активного вещества. Совместное введение может включать введение двух активных веществ одновременно, приблизительно одновременно (например, в течение примерно 1, 5, 10, 15, 20 или 30 минут относительно друг друга) или последовательно в любом порядке. Совместное введение можно осуществлять путем совместного приготовления, т.е. приготовления одной фармацевтической композиции, содержащей оба активных вещества. Согласно

другим вариантам реализации активные вещества можно приготовить по отдельности. Активные и/или вспомогательные вещества могут быть связаны или конъюгированы друг с другом.

[0118] Совместное введение также включает комбинацию со способами лечения эпилептических расстройств, такими как требования к диете или изменение диеты. Соответственно, агонист 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли) или его фармацевтическую композицию можно вводить субъектам, соблюдающим специализированные диеты, в том числе, помимо прочего, кетогенную диету (например, диету с высоким содержанием жиров, достаточным содержанием белка, низким содержанием углеводов).

2. Эффективные дозировки

[0119] Фармацевтическая композиция может включать агонист 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемые соли), содержащийся в терапевтически эффективном количестве, то есть в количестве, эффективном для достижения поставленной для него цели. Фактическое количество, эффективное для конкретного применения, будет зависеть, помимо прочего, от состояния, подлежащего лечению. Например, при введении согласно способам лечения эпилептического расстройства (например, синдрома Драве) такие композиции будут содержать количества агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе фармацевтически приемлемых солей) или его фармацевтической композиции, эффективные для достижения требуемого результата (например, подавления судорожных припадков, что может включать снижение тяжести или устранение судорожных припадков).

[0120] Дозировка и частота (однократной или многократной доз) вводимого агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или его фармацевтической композиции могут меняться в зависимости от множества факторов, в том числе пути введения; размера, возраста, пола, состояния здоровья, массы тела, индексы массы тела и диеты реципиента; характера и степени симптомов заболевания, подлежащего лечению; наличия других заболеваний или других проблем со здоровьем; вида сопутствующего лечения; и осложнений в результате любого заболевания или режима лечения. В сочетании с описанными в настоящем документе способами можно использовать и другие лечебные схемы или терапевтические средства.

[0121] Терапевтически эффективные количества агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или его фармацевтической композиции для лечения описанных в настоящем документе эпилептических заболеваний можно сначала определить на основе анализов клеточных культур. Целевыми концентрациями будут такие концентрации агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или его фармацевтической композиции, которые способны подавлять или иным образом уменьшать судорожные припадки, испытываемые пациентом.

[0122] Терапевтически эффективные количества агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или его фармацевтической композиции

для применения для людей можно определить с помощью животных моделей. Например, дозу для людей можно приготовить таким образом, чтобы обеспечить концентрацию, которая, как было установлено, является эффективной для животных. Дозировку для людей можно регулировать путем мониторинга реакции пациента на лечение и корректировки дозировки в сторону увеличения или уменьшения, как описано выше.

[0123] Дозировки можно изменять в зависимости от требований субъекта и применяемого соединения. В контексте фармацевтических композиций, предложенных в настоящем изобретении, вводимая субъекту доза должна быть достаточной для обеспечения лечебной терапевтической реакции у субъекта с течением времени. Размер дозы также будет зависеть от наличия, характера и степени любых побочных эффектов. В общем случае, лечение начинают с более маленьких доз, которые меньше оптимальной дозы данного соединения. Затем дозу увеличивают путем небольших приращений до тех пор, пока не достигнут оптимального эффекта при данных обстоятельствах.

[0124] Величину дозировки и интервалы между введением лекарственного средства можно регулировать индивидуально для обеспечения уровней вводимого агониста 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или его фармацевтической композиции, эффективных для конкретного эпилептического расстройства, подлежащего лечению. Это обеспечит терапевтический режим, соразмерный тяжести болезненного состояния субъекта.

[0125] Используя изложенные в настоящем документе идеи, можно разработать эффективную схему профилактического или терапевтического лечения, которая не вызывает значительной токсичности и все же является полностью эффективной для лечения клинических симптомов, проявляемых конкретным пациентом. Такое планирование должно включать тщательный выбор агониста 5-HT_{2B} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей) или его фармацевтической композиции с учетом таких факторов, как эффективность, относительная биодоступность, масса тела пациента, наличие и тяжесть неблагоприятных побочных эффектов, предпочтительный способ введения и профиль токсичности выбранного средства.

3. Токсичность

[0126] Соотношение между токсичностью и терапевтическим эффектом для конкретного соединения представляет собой его терапевтический индекс и может быть выражено как отношение между LD₅₀ (количество соединения, летальное для 50% популяции) и ED₅₀ (количество соединения, эффективное для 50% популяции). Предпочтительными являются соединения, имеющие высокие терапевтические индексы. Данные о терапевтических индексах, полученные в результате анализов клеточных культур и/или исследований на животных, можно использовать для определения диапазона доз для применения для людей. Дозировка таких соединений предпочтительно находится в диапазоне концентраций в плазме, включающих ED₅₀ с небольшой токсичностью или с отсутствием токсичности. Дозировка может меняться в данном диапазоне в зависимости от применяемой лекарственной формы и применяемого пути

введения. См., например, Fingl et al., In: THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, Ch.1, p.1, 1975. Точный состав, способ введения и дозировка могут быть выбраны лечащим врачом с учетом состояния пациента и конкретного способа, в котором используют данное соединение.

[0127] При необходимости или желательности парентерального применения особенно подходящие смеси для агониста 5-НТ_{2В} рецептора (в том числе его фармацевтически приемлемых солей), включенные в фармацевтическую композицию, могут представлять собой стерильные растворы для инъекций, масляные или водные растворы, а также суспензии, эмульсии или имплантаты, в том числе суппозитории. Неограничивающие примеры носителей для парентерального введения включают водные растворы декстрозы, физиологический раствор, чистую воду, этанол, глицерин, пропиленгликоль, арахисовое масло, кунжутное масло, блок-полимеры полиоксиэтилена и т.п. Ампулы представляют собой удобные однократные дозировки. Фармацевтические добавки, подходящие для применения в фармацевтических композициях, предложенных в настоящем изобретении, могут включать добавки, описанные, например, в *Pharmaceutical Sciences* (17th Ed., Mack Pub. Co., Easton, PA) и WO 96/05309, при этом идеи, представленные в обоих указанных документах, включены в настоящий документ посредством ссылки.

ВАРИАНТЫ РЕАЛИЗАЦИИ

[0128] Вариант реализации 1. Способ выбора соединения для применения для лечения эпилепсии, включающий:

приведение исследуемого соединения в контакт с рецептором 5-гидрокситриптамина-2В (5-НТ_{2В}); и

измерение агонистической активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}.

[0129] Вариант реализации 2. Способ согласно варианту реализации 1, дополнительно включающий животную модель эпилепсии.

[0130] Вариант реализации 3. Способ согласно варианту реализации 1 или 2, дополнительно включающий введение животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения и измерение поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии.

[0131] Вариант реализации 4. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-3, отличающийся тем, что указанная животная модель эпилепсии представляет собой животную модель синдрома Драве (DS).

[0132] Вариант реализации 5. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-4, отличающийся тем, что животная модель DS представляет собой рыбку данио (*Danio rerio*), устойчивую к противоэпилептическим препаратам (AEDs).

[0133] Вариант реализации 6. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-5, отличающийся тем, что рыбка данио (*Danio rerio*) представляет собой мутант *scn1lab* или мутант *scn1laa*.

[0134] Вариант реализации 7. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-6, отличающийся тем, что поведенческая активность представляет собой судорожное поведение в виде плавания с высокой скоростью.

[0135] Вариант реализации 8. Способ согласно любому из вариантов реализации 2-7, дополнительно включающий введение животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения и получение электрофизиологической записи животной модели для обнаружения наличия, интенсивности или отсутствия спонтанного электрографического припадка у указанной животной модели эпилепсии.

[0136] Вариант реализации 9. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-8, отличающийся тем, что указанная животная модель эпилепсии представляет собой животную модель DS.

[0137] Вариант реализации 10. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-9, отличающийся тем, что животная модель DS представляет собой мутантную данио *scn1lab*.

[0138] Вариант реализации 11. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-10, отличающийся тем, что указанное измерение включает определение активности связывания 5-HT_{2B} рецептора с помощью исследуемого соединения.

[0139] Вариант реализации 12. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-11, отличающийся тем, что указанное соединение имеет низкую активность связывания с 5-HT_{2A} рецептором или 5-HT_{2C} рецептором или не демонстрирует измеримую активность связывания 5-HT_{2A} рецептора или 5-HT_{2C} рецептора.

[0140] Вариант реализации 13. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-12, отличающийся тем, что указанное соединение связывается с 5-HT_{2B} рецептором с K_d менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ.

[0141] Вариант реализации 14. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-13, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного соединения в отношении 5-HT_{2B} рецептора в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0142] Вариант реализации 15. Способ согласно любому из вариантов реализации 1-14, дополнительно включающий выбор указанного исследуемого соединения в качестве указанного соединения на основе по меньшей мере одного из следующих свойств: (1) агонистической активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-HT_{2B}, (2) пониженной эпилептической поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии после введения указанной животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения, (3) ослабления судорожного поведения в виде плавания с высокой скоростью у указанной животной модели эпилепсии после введения указанной животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения, (4) обнаружения низкой интенсивности или отсутствия спонтанного электрографического припадка у указанной животной модели эпилепсии после введения указанной животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения, (5) связывания указанного исследуемого

соединения с 5-HT_{2B} рецептором с Kd менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ, или (б) агонистической активности указанного исследуемого соединения, которая в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0143] Вариант реализации 16. Способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий:

приведение исследуемого соединения в контакт с 5-HT_{2B} рецептором;

измерение агонистической активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-HT_{2B};

введение животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения; и

измерение поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии.

[0144] Вариант реализации 17. Способ согласно варианту реализации 16, отличающийся тем, что животная модель эпилепсии представляет собой мутантную данио *scn1lab*, при этом агонистическую активность указанного исследуемого соединения измеряют на основе одного или более из следующих свойств:

судорожного поведения мутантных данио *scn1lab* в виде плавания с высокой скоростью;

спонтанных электрографических припадков у мутантных данио *scn1lab*; или

связывающей активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-HT_{2B}.

[0145] Вариант реализации 18. Способ лечения эпилепсии у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту эффективного количества агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора.

[0146] Вариант реализации 19. Способ согласно варианту реализации 18, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 10 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0147] Вариант реализации 20. Способ согласно варианту реализации изобретения 18, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 100 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0148] Вариант реализации 21. Способ согласно варианту реализации изобретения 18, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 1000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в отношении 5-HT_{2A} рецептора.

[0149] Вариант реализации 22. Способ согласно варианту реализации изобретения 21, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-HT_{2B} рецептора в 10000 раз больше по сравнению с агонистической

активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

[0150] Вариант реализации 23. Способ согласно варианту реализации 22, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

[0151] Вариант реализации 24. Способ согласно любому из вариантов реализации 18-23, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 100 нМ.

[0152] Вариант реализации 25. Способ согласно любому из вариантов реализации 18-23, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 10 нМ.

[0153] Вариант реализации 26. Способ согласно любому из вариантов реализации 18-23, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 1 нМ.

[0154] Вариант реализации 27. Способ согласно любому из вариантов реализации 18-23, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 500 пМ.

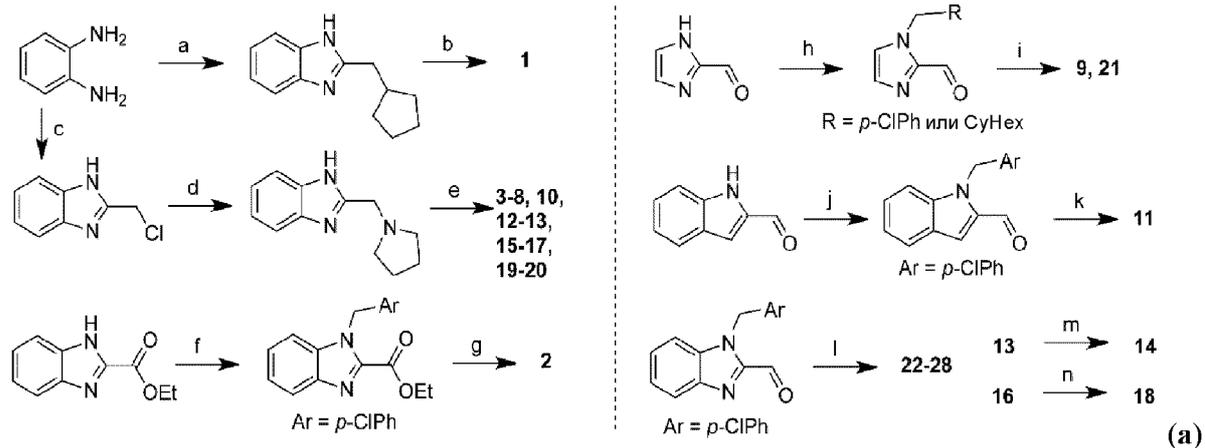
[0155] Вариант реализации 28. Способ согласно любому из вариантов реализации 18-23, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 100 пМ.

ПРИМЕРЫ

Химический синтез аналогов клемизола

[0156] Определение применяемых сокращений: РРА=полифосфорная кислота; Ph=фенил; K₂CO₃=карбонат калия; EtOH=этанол; NaH=гидрид натрия; THF=тетрагидрофуран; TBAI=идодид тетрабутиламмония; LiOH=гидроксид лития; MeOH=метанол; НАТУ=1-[бис(диметиламино)метиле́н]-1Н-1,2,3-триазоло [4,5-*b*]пириди́ний 3-оксид гексафторфосфат, N- [(диметиламино)-1Н-1,2,3-триазоло-[4,5-*b*]пиридин-1-илметиле́н]-N-метилметанаминий гексафторфосфат N-оксид; DIEA=N, N-диизопропилэтиламин; ДМФ=диметилформамид; Na(OAc)₃BH=триацетоксиборгидрид натрия; HCl=соляная кислота; rt=комнатная температура; μw=микроволновая обработка.

[0157] Общий синтез аналогов клемизола 1-28



(a) циклопентилуксусная кислота, PPA, мкВ, 80 °С, 20%; (b) $\text{ClCH}_2(4\text{-ClPh})$, K_2CO_3 , ДМФ, 60 °С, 67%; (c) этил-4-Cl-3-оксобутаноат, SnCl_2 , EtOH, 80 °С; (d) пирролидин, EtOH, 95 °С; 83% для двух стадий (e) $\text{Br-CH}_2\text{R}$, NaH, ТГФ, от 0°С до комнатной температуры, 15-60% или $\text{Br-CH}_2\text{R}$, NaH, ТВАИ, ТГФ, от 0°С до комнатной температуры, 13-54% или пропилиодид, NaH, ТГФ, от 0°С до комнатной температуры, 47%; (f) *n*-Cl-бензилхлорид, NaH, ДМФ, комнатная температура, 54%; (g) (i) LiOH, MeOH/вода, комнатная температура, (ii) пирролидин, НАТУ, DIEA, ДМФ, комнатная температура, 43% за 2 стадии; (h) *n*-Cl-бензилхлорид, K_2CO_3 , CH_3CN , 45 °С, 85% или циклогексилметилбромид, K_2CO_3 , ТВАИ, CH_3CN , 55 °С, 30%; (i) пирролидин, Na(OAc)₃BH, CH_2Cl_2 ; 30-46%; (j) ClCH_2Ar , K_2CO_3 , CH_3CN , 45 °С, 44%; (k) пирролидин, Na(OAc)₃BH, CH_2Cl_2 , комнатная температура, 65%; (l) HNR_2 , Na(OAc)₃BH, CH_2Cl_2 , комнатная температура, 47-85%; (m) H_2 , Pd/C, MeOH, комнатная температура, 55%; (n) 4М HCl в диоксане, комнатная температура.

[0158] Если не указано иное, все применяемые химические реагенты и растворители являются коммерчески доступными. Реакции, чувствительные к воздушной среде и/или влаге, проводили в атмосфере аргона в высушенной в печи стеклянной посуде с применением безводных растворителей от коммерческих поставщиков. Реагенты, чувствительные к воздушной среде и/или влаге, переносили с помощью шприца или канюли и вводили в реакционные сосуды через резиновые перегородки. Удаление растворителя осуществляли с помощью роторного испарителя при давлении примерно от 10 до 50 торр (от примерно 1,33 кПа до примерно 3,67 кПа). Спектры ¹H ЯМР регистрировали на спектрометре Varian INOVA-400 400 МГц. Химические сдвиги приведены в единицах δ (ppm). Спектры ЯМР соотносили с пиками ЯМР остаточного растворителя. Константы взаимодействия (J) приведены в герцах (Гц). Микроволновые реакции проводили в микроволновом реакторе SEM Discover. Колоночную хроматографию осуществляли с применением флэш-хроматографической системы Isolera

Four и картриджей с силикагелем SiliaSep от компании Silicycle. Данные ЖХ/МС получали на масс-спектрометре Waters Micromass ZQ, оборудованном разделительным модулем Waters 2795, испарительным детектором светорассеяния Waters 2424 и детектором на фотодиодной матрице Waters 2996. Разделение проводили на колонке XTerra® MS C18, 5 мкм, 4,6 × 50 мм, при температуре окружающей среды (нерегулируемой) с применением подвижной фазы вода-метанол, содержащей муравьиную кислоту с постоянной концентрацией 0,1%.

[0159] Соединения были приобретены в компаниях Millipore Sigma (метилэргоновина малеат, BW-723C86, 1-(3-хлорфенил)пиперазина гидрохлорид (m-CPP), (+)-норфенфлурамина гидрохлорид), Cayman Chemicals (каберголин, мезилат бромокриптина, (-)-апоморфина гидрохлорид), ApexBio (Ro 60-0175 фумарат), Tocris Bioscience (CP-809,101 гидрохлорид), AK Scientific, Inc (пирибедил) и Axon Medchem (гидробромид TL 99). 10 мМ исходные растворы соединений приготавливали в ДМСО, а затем разбавляли в среде для эмбрионов для анализов.

[0160] ПРИМЕР 1: 1-[(4-Хлорфенил)метил]-2-(циклопентилметил)-1H-бензимидазол (1)

Стадия 1. Смесь *o*-фенилендиамина (0,25 г, 2,3 ммоль), циклопентилуксусной кислоты (0,29 мл, 2,3 ммоль) и полифосфорной кислоты (1,0 мл) нагревали в микроволновом реакторе при 80°C в течение 30 минут. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (50% этилацетата/гексана) с получением 2-(циклопентилметил)-1H-бензимидазола в виде твердого вещества светло-коричневого цвета (93 мг, выход 20%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,57 (dd, J=6,1, 3,2 Гц, 2H), 7,29-7,19 (m, 2H), 2,95 (d, J=7,5 Гц, 2H), 2,48-2,38 (m, 1H), 1,96-1,78 (m, 2H), 1,72-1,50 (m, 4H), 1,36-1,23 (m, 2H); ЖХ-МС (масса/заряд) для C₁₃H₁₇N₂⁺ [M+H]⁺: рассчитано 201,13, найдено 200,99.

Стадия 2: 4-хлорбензилхлорид (0,04 г, 0,2 ммоль) добавляли к смеси 2-(циклопентилметил)-1H-бензимидазола (0,05 г, 0,2 ммоль) и карбоната калия (0,069 г, 0,5 ммоль) в N, N-диметилформамиде (2 мл). После перемешивания при 60°C в течение 3 часов реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (25% этилацетата/гексана) с получением 1-[(4-хлорфенил)метил]-2-(циклопентилметил)-1H-бензимидазола (1) в виде твердого вещества белого цвета (55 мг, выход 67%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,79 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,33-7,15 (m, 5H), 6,98 (d, J=8,3 Гц, 2H), 5,35 (s, 2H), 2,85 (d, J=7,5 Гц, 2H), 2,51-2,39 (m, 1H), 1,85 (td, J=11,5, 6,9 Гц, 2H), 1,73-1,53 (m, 4H), 1,35-1,22 (m, 2H); ЖХ-МС (масса/заряд) C₂₀H₂₂ClN₂⁺ [M+H]⁺: рассчитано 325,14, найдено 324,98.

[0161] ПРИМЕР 2: 1-[(4-Хлорфенил)метил]-2-(пирролидин-1-карбонил)-1H-бензимидазол (2)

Стадия 1. Смесь сложного этилового эфира 1Н-бензимидазол-2-карбоновой кислоты (0,1 г, 0,5 ммоль) и пирролидина (0,216 мл, 2,6 ммоль) нагревали до 130°C в микроволновом реакторе в течение 30 минут. Реакционную смесь концентрировали и высушивали азеотропную смесь с помощью толуола с получением примерно 115 мг 2-(пирролидин-1-карбонил)-1Н-бензимидазола в виде твердого вещества коричневого цвета, которое применяли без дополнительной очистки.

Стадия 2: 4-хлорбензилхлорид (0,03 г, 0,2 ммоль) добавляли к смеси гидрида натрия, 60% (0,005 г, 0,2 ммоль) и 2-(пирролидин-1-карбонил)-1Н-бензимидазола (0,04 г, 0,2 ммоль) в N, N-диметилформамиде (1 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 3 часов реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония и экстрагировали этилацетатом. Органические экстракты промывали водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-50% этилацетата/гексана) с получением 1-[(4-хлорфенил)метил]-2-(пирролидин-1-карбонил)-1Н-бензимидазола (**2**) в виде прозрачного масла (29 мг, выход 46%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,89-7,82 (m, 1H), 7,37-7,24 (m, 7H), 5,71 (s, 2H), 3,90 (br t, J=6,0 Гц, 2H), 3,67 (br t, J=6,3 Гц, 2H), 2,01-1,90 (m, 4H); ЖХ-МС (масса/заряд) для C₁₉H₁₉ClN₃O⁺ [M+H]⁺: рассчитано 340,12, найдено 340,21.

[0162] ПРИМЕР 3: 1-(Циклогексилметил)-2- [(пирролидин-1-ил)метил]-1Н-бензимидазол (**4**)

Стадия 1. Хлорид олова (II), дигидрат (0,209 г, 0,9 ммоль) добавляли к смеси *o*-фенилендиамина (1,0 г, 9,2 ммоль) и этил-4-хлор-3-оксобутаноата (1,25 мл, 9,2 ммоль) в этаноле (20 мл) и нагревали до 80°C в течение 2 часов. Реакционную смесь концентрировали для удаления этанола, промывали гексаном и высушивали с получением примерно 1,7 г неочищенного 2-(хлорметил)-1Н-бензимидазола в виде твердого вещества желтого цвета, которое использовали без дополнительной очистки.

Стадия 2: Смесь 2-(хлорметил)-1Н-бензимидазола (1,5 г, 9,0 ммоль) и пирролидина (14,8 мл, 180,1 ммоль) в этаноле (20 мл) нагревали до 95°C в течение 2 часов и при комнатной температуре в течение 72 часов. Реакционную смесь концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-10% метанола/дихлорметана с 10% 7 N аммиака в метаноле) с получением 2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1Н-бензимидазола в виде твердого вещества красновато-коричневого цвета (1,5 г, выход 83%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,65-7,53 (m, 2H), 7,31-7,20 (m, 2H), 4,17 (s, 2H), 3,50 (s, 2H), 2,94-2,83 (m, 4H), 1,93 (br s, 4H); ЖХ-МС (масса/заряд) для C₁₂H₁₆N₃⁺ [M+H]⁺: рассчитано 202,13, найдено 202,07.

Стадия 3: Циклогексилметилбромид (0,038 мл, 0,3 ммоль) и йодид тетрабутиламмония (0,009 г, 0,025 ммоль) добавляли к охлажденной (0 °C) смеси 2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1Н-бензимидазола (0,05 г, 0,25 ммоль) и гидрида натрия, 60% (0,007 г, 0,3 ммоль) в тетрагидрофуране (1 мл). Реакционную смесь нагревали до 50°C в течение 2 часов, а затем разбавляли этилацетатом, промывали 10% водным раствором

гидроксида аммония, водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (5% метанола/дихлорметана) с получением 1-(циклогексилметил)-2-[[пирролидин-1-ил)метил]-1H-бензимидазола (**4**), в виде масла красновато-коричневого цвета (39 мг, выход 52%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,85-7,68 (m, 1H), 7,38-7,20 (m, 3H), 4,17 (d, $J=7,3$ Гц, 2H), 3,95 (s, 2H), 2,66-2,54 (m, 4H), 1,96-1,63 (m, 10H), 1,30-1,03 (m, 5H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано 298,22, найдено 298,06.

[0163] ПРИМЕР 4: 2-[(Пирролидин-1-ил)метил]-1-{[4-(трифторметил)фенил]метил}-1H-бензимидазол (**6**)

4-(Трифторметил)бензилбромид (0,038 мл, 0,2 ммоль) добавляли к охлажденной (0 °С) смеси 2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-бензимидазола (0,05 г, 0,2 ммоль) и гидрида натрия, 60% (0,007 г, 0,3 ммоль) в тетрагидрофуране (1 мл).

Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, а затем разбавляли этилацетатом, промывали 10% водным раствором гидроксида аммония, водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (5% метанола/дихлорметана) и (50% ацетон/дихлорметан) с получением 2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1-{[4-(трифторметил)фенил]метил}-1H-бензимидазола (**6**) в виде масла бледно-желтого цвета (25 мг, выход 28%), которое затвердевало при стоянии. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,81 (d, $J=7,3$ Гц, 1H), 7,57 (d, $J=8,3$ Гц, 2H), 7,34-7,18 (m, 5H), 5,67 (s, 2H), 3,90 (s, 2H), 2,61-2,49 (m, 4H), 1,77-1,61 (m, 4H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано 360,16, найдено 360,05.

[0164] ПРИМЕР 5: 1-[(4-Хлорфенил)метил]-2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-имидазол (**9**)

Стадия 1: 1H-имидазол-2-карбальдегид (0,25 г, 2,6 ммоль), 4-хлорбензилхлорид (0,5 г, 3,1 ммоль) и карбонат калия (0,72 г, 5,2 ммоль) перемешивали в ацетонитриле (20 мл) при 45 °С в течение 18 часов. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (50% этилацетата/гексана) с получением 1-[(4-хлорфенил)метил]-1H-имидазол-2-карбальдегида в виде масла бледно-зеленого цвета (0,49 г, выход 85%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,82 (s, 1H), 7,32-7,26 (m, 3H), 7,16-7,10 (m, 3H), 5,56 (s, 2H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{ClN}_2\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано 221,04, найдено 220,83.

Стадия 2. Триацетоксиборгидрид натрия (0,053 г, 0,2 ммоль) добавляли к смеси 1-[(4-хлорфенил)метил]-1H-имидазол-2-карбальдегида (0,05 г, 0,2 ммоль) и пирролидина (0,019 мл, 0,2 ммоль) при перемешивании в дихлорметане (2 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 18 часов реакционную смесь промывали 10% водным раствором гидроксида аммония, водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-10% метанола/дихлорметана/10% 7 N аммиак в метаноле) с

получением 1-[(4-хлорфенил)метил]-2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-имидазола (**9**) в виде твердого вещества желтого цвета (19 мг, выход 30%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,36-7,26 (m, 2H), 7,08 (d, $J=8,3$ Гц, 2H), 6,99 (d, $J=1,2$ Гц, 1H), 6,86 (d, $J=1,2$ Гц, 1H), 5,27 (s, 2H), 3,67 (s, 2H), 2,55-2,46 (m, 4H), 1,85-1,67 (m, 4H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClN}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано 276,12, найдено 276,01.

[0165] ПРИМЕР 6: 1-[(4-Хлорфенил)метил]-2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-индол (11)

Стадия 1: 4-хлорбензилхлорид (0,133 г, 0,8 ммоль) добавляли к смеси 1H-индол-2-карбальдегида (0,1 г, 0,7 ммоль) и карбоната калия (0,19 г, 1,4 ммоль) в ацетонитриле (5 мл). После перемешивания при 45°C в течение 18 часов реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (25% этилацетата/гексана) с получением 1-[(4-хлорфенил)метил]-1H-индол-2-карбальдегида в виде твердого вещества оранжевого цвета (81 мг, выход 43%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 9,92 (s, 1H), 7,80 (d, $J=7,8$ Гц, 1H), 7,45-7,35 (m, 3H), 7,30-7,19 (m, 3H), 7,05 (d, $J=8,5$ Гц, 2H), 5,82 (s, 2H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClNO}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано 270,06, найдено 269,96.

Стадия 2. Триацетоксиборгидрид натрия (0,043 г, 0,2 ммоль) добавляли к охлажденной (0°C) смеси 1-[(4-хлорфенил)метил]-1H-индол-2-карбальдегида (0,05 г, 0,2 ммоль) и пирролидина (0,015 мл, 0,2 ммоль) в дихлорметане. После перемешивания при комнатной температуре в течение 18 часов реакционную смесь промывали 10% водным раствором гидроксида аммония, водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (50% этилацетата/гексана) с получением 1-[(4-хлорфенил)метил]-2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-индола (**11**) в виде масла бледно-желтого цвета (39 мг, выход 65%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,70-7,51 (m, 1H), 7,32-7,09 (m, 5H), 6,96 (d, $J=8,3$ Гц, 2H), 6,46 (s, 1H), 5,53 (s, 2H), 3,68 (s, 2H), 2,58-2,41 (m, 4H), 1,80-1,66 (m, 4H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{ClN}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано 325,14, найдено 325,02.

[0166] ПРИМЕР 7: 1-(Циклопентилметил)-2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-бензимидазол (20).

Бромметилциклопентан (0,092 мл, 0,7 ммоль) и йодид тетрабутиламмония (0,009 г, 0,02 ммоль) добавляли к смеси 2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-бензимидазола (0,05 г, 0,2 ммоль) и гидроксида натрия, 60% (0,009 г, 0,4 ммоль) в N, N-диметилформамиде (1 мл). После перемешивания при 55°C в течение 18 часов реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-10% метанола/дихлорметана) с получением 1-(циклопентилметил)-2-[(пирролидин-1-ил)метил]-1H-бензимидазола (**20**) в виде масла красновато-коричневого цвета (35 мг, выход 50%). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,85-7,66 (m, 1H), 7,41-7,22 (m, 3H), 4,28 (d, $J=7,8$ Гц, 2H), 3,96 (s, 2H), 2,64-2,44 (m, 5H), 1,83-1,54 (m, 10H), 1,42-1,24 (m, 2H);

ЖХ-МС (масса/заряд) для $C_{18}H_{26}N_3^+$ $[M+H]^+$: рассчитано 284,21, найдено 284,01.

[0167] ПРИМЕР 8: ($\{1-[(4\text{-Хлорфенил)метил}]-1H\text{-}1,3\text{-бензодиазол-}2\text{-ил}\}$ метил)диэтиламин (24)

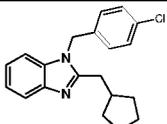
Триацетоксиборгидрид натрия (0,043 г, 0,2 ммоль) добавляли к смеси 1-(4-хлорбензил)-1H-бензимидазол-2-карбальдегида (0,05 г, 0,18 ммоль) и диэтиламина (0,019 мл, 0,18 ммоль) в дихлорметане (2 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 18 часов реакционную смесь промывали водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% этилацетата/гексана) с получением ($\{1-[(4\text{-хлорфенил)метил}]-1H\text{-}1,3\text{-бензодиазол-}2\text{-ил}\}$ метил)диэтиламина (24) в виде масла красновато-коричневого цвета (50 мг, выход 82%). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,80 (d, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,33-7,17 (m, 5H), 7,02 (d, $J=8,8$ Гц, 2H), 5,64 (s, 2H), 3,84 (s, 2H), 2,57 (q, $J=7,1$ Гц, 4H), 1,00 (t, $J=7,2$ Гц, 6H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $C_{19}H_{23}ClN_3^+$ $[M+H]^+$: рассчитано 328,15, найдено 327,98.

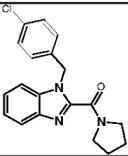
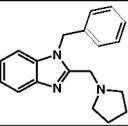
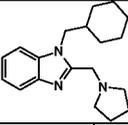
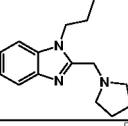
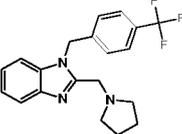
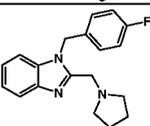
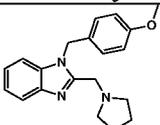
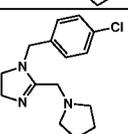
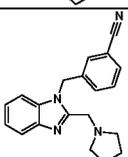
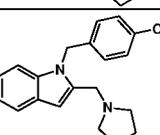
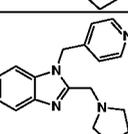
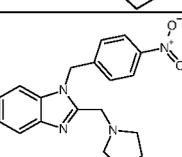
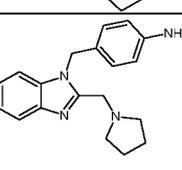
[0168] ПРИМЕР 9: *трет*-Бутил-4-($\{1-[(4\text{-хлорфенил)метил}]-1H\text{-бензимидазол-}2\text{-ил}\}$ метил)пиперазин-1-карбоксилат (25).

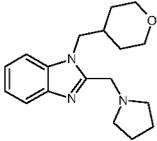
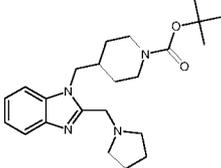
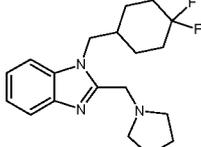
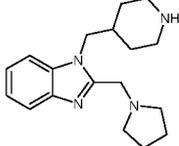
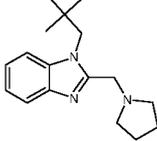
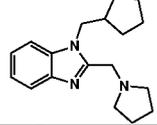
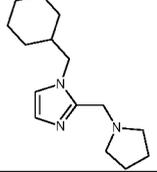
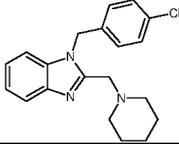
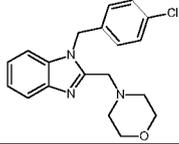
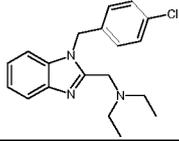
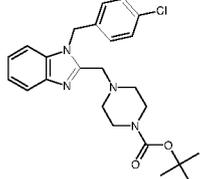
Триацетоксиборгидрид натрия (0,043 г, 0,2 ммоль) добавляли к смеси 1-(4-хлорбензил)-1H-бензимидазол-2-карбальдегида (0,05 г, 0,18 ммоль) и *трет*-бутил-1-пиперазинкарбоксилата (0,034 г, 0,18 ммоль) в дихлорметане (2 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 18 часов реакционную смесь промывали водой и соляным раствором. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, концентрировали и очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-100% этилацетата/гексана) с получением *трет*-бутил-4-($\{1-[(4\text{-хлорфенил)метил}]-1H\text{-бензимидазол-}2\text{-ил}\}$ метил)пиперазин-1-карбоксилата (25) в виде пенистого масла бледно-желтого цвета (59 мг, выход 72%). 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,79 (d, $J=7,4$ Гц, 1H), 7,34-7,19 (m, 6H), 7,03 (d, $J=8,3$ Гц, 2H), 5,55 (s, 2H), 3,77 (s, 2H), 3,33 (br s, 4H), 2,45 (br s, 4H), 1,46 (s, 9H); ЖХ-МС (масса/заряд) для $C_{24}H_{30}ClN_4O_2^+$ $[M+H]^+$: рассчитано 441,20, найдено 441,08.

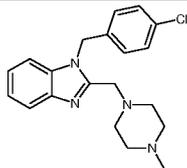
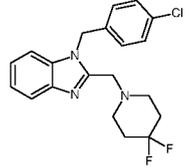
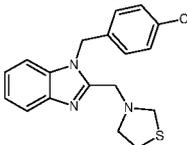
[0169] Фенотипический скрининг аналогов клемизола. Был проведен скрининг двадцати восьми аналогов клемизола, таблица 1А, в отношении эффективности при подавлении судорожно-подобного поведения в виде плаванья с высокой скоростью, наблюдаемого у мутантных данио *scn1lab*.

Таблица 1А: библиотека аналогов клемизола

Соединение	Структура	Мол. масса
1		324,85

Соединение	Структура	Мол. масса
2		339,82
3		337,42
4		297,44
5		289,37
6		359,39
7		309,38
8		367,44
9		275,78
10		316,40
11		324,85
12		384,43
13		336,39
14		306,40

Соединение	Структура	Мол. масса
15		299,41
16		398,54
17		333,42
18		371,35
19		317,43
20		283,41
21		339,43
22		339,86
23		341,83
24		327,85
25		440,97

Соединение	Структура	Мол. масса
26		354,88
27		375,84
28		343,87

[0170] ПРИМЕР 10:

Эпилепсию можно приобрести в результате повреждения головного мозга или генетической мутации. Среди эпилепсий, вызванных генетическими мутациями, в гене SCN1A были обнаружены более 650 вариантов (Harkin, L.A. et al. The spectrum of SCN1A-related infantile epileptic encephalopathies. *Brain* **130**, 843-852 (2007); Mulley J. C., et al., SCN1A mutations and epilepsy. *Hum. Mutat.* **25**, 535-542 (2005)). Миссенс-мутации или мутации со сдвигом рамки генетического кода считывания в указанном гене связаны с генерализованной эпилепсией с фебрильными судорогами плюс (GEFS+) (Ceulemans, B. P., et al., Clinical correlations of mutations in the SCN1A gene: from febrile seizures to severe myoclonic epilepsy in infancy. *Pediatric Neurol.* **30**, 236-243 (2004)), а также с более серьезным расстройством, известным как синдром Драве. Дети с DS вначале демонстрируют нормальное развитие, но в течение первого года жизни часто испытывают эпизоды фебрильных судорог с возможным развитием тяжелых спонтанных рецидивирующих судорожных припадков, умственной отсталости, атаксии и психомоторной дисфункции. Припадки недостаточно хорошо купируются с помощью доступных противоэпилептических средств (AEDs), при этом такие дети являются плохими кандидатами для нейрохирургической резекции (Bender, A. C., et al., SCN1A mutations in Dravet syndrome: Impact of interneuron dysfunction on neural networks and cognitive outcome. *Epilepsy Beh.* **23**, 177-186 (2012)).

[171] В головном мозге млекопитающих имеются четыре основных подтипа альфа-субъединиц потенциалзависимых натриевых каналов: Na_v1.1, Na_v1.2, Na_v1.3 и Na_v1.6, кодируемых генами SCN1A, SCN2A, SCN3A и SCN8A, соответственно. Открытие указанных каналов создает проводимость за счет ионов натрия и приводит к быстрой деполяризации клеточных мембран, например, свойств, обусловленных инициацией потенциала действия Catterall, W. A., et al., Na_v1.1 channels and epilepsy. *J. Physiol.* 588, 1849-1859 (2010)). У мышей Na_v1.1 широко экспрессируется в центральной нервной

системе, в том числе в начальном сегменте аксона парвальбумин-положительных интернейронов гиппокампа и возбуждающих основных клетках (Kim, D. Y., et al., Reduced sodium channel $Na_v1.1$ levels in BACE1-null mice. *J. Biol. Chem.* 286, 8106-8116 (2011); Chen, C., et al., Mice lacking sodium channel beta1 subunits display defects in neuronal excitability, sodium channel expression, and nodal architecture. *J. Neurosci.* 24, 4030-4042 (2004)). Гетерозиготная делеция $Na_v1.1$ у мышей приводит к снижению способности к возбуждению сильно диссоциированных быстро разряжающихся интернейронов (Yu, F. H., et al., Reduced sodium current in GABAergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Nat. Neurosci.* 9, 1142-1149 (2006)). Мыши с глобальной или интернейрон-специфической гетерозиготной делецией $Na_v1.1$ демонстрируют индуцированные температурой и спонтанные судорожные припадки, легкую атаксию, аутизмоподобное поведение и преждевременную смерть (Yu, F. H., et al., Reduced sodium current in GABAergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Nat. Neurosci.* 9, 1142-1149 (2006); Oakley, J. C., et al., Temperature- and age-dependent seizures in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 3994-3999 (2009); Cheah, C. S., et al., Specific deletion of $Na_v1.1$ sodium channels in inhibitory interneurons causes seizures and premature death in a mouse model of Dravet syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 14646-14651 (2012)). Нокаутированная мышь, несущая преждевременный стоп-кодон в домене III канала $Na_v1.1$, также проявляет снижение амплитуды пика при длительном возбуждении интернейронов и повышенную чувствительность к судорожным припадкам, индуцированным температурой (Ogiwara, I., et al., $Na_v1.1$ localizes to axons of parvalbumin-positive inhibitory interneurons: a circuit basis for epileptic seizures in mice carrying an *Scn1a* gene mutation. *J. Neurosci.* 27, 5903-5914 (2007)).

[0172] Создание и описание действующих животных моделей имеет решающее значение для попыток понять патофизиологию DS и способствовать обнаружению новых методов лечения. Хотя значительное внимание было сфокусировано на моделировании мутаций *SCN1A* у мышей, оказалось, что такие животных с трудом поддаются разведению, а на фенотипы эпилепсии сильно влияет генетика фоновых штаммов. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки можно получить от пациентов с DS, но отдельные нейроны не воспроизводят сетевую среду, необходимую для генерации припадков *in vivo*. *Данио рерио* (рыбка данио), простой вид позвоночных, представляет собой альтернативную модельную систему со значительными преимуществами с точки зрения генетических манипуляций, рентабельного разведения и обнаружения новых лекарственных средств *in vivo* (Lessman, C. A., The developing zebrafish (*Danio rerio*): a vertebrate model for high-throughput screening of chemical libraries. *Birth Defects Res. C. Embryo Today* 93, 268-280 (2011); Delvecchio, C., et al., The zebrafish: a powerful platform for *in vivo*, HTS drug discovery. *Assay Drug Dev. Technol.* 9, 354-361 (2011); Rinkwitz, S., et al., Zebrafish: an integrative system for neurogenomics and neurosciences. *Prog. Neurobiol.* 93, 231-243 (2011)). В идеале животная модель должна основываться на известной

генетической причине заболевания (мутации SCN1A), точно отражать ключевые особенности заболевания (эпилепсии) и реагировать или не реагировать на способы лечения, обычно применяемые для пациентов с указанным заболеванием (фармакологическая валидация). В случае успеха такая модель могла бы способствовать пониманию процесса заболевания и активизировать поиск новых способов лечения.

[173] У рыбок данио семейство потенциалзависимых натриевых каналов состоит из четырех наборов дублированных генов: *scn1Laa* & *scn1Lab*, *scn4aa* & *scn4ab*, *scn5Laa* & *scn5Lab* и *scn8aa* & *scn8ab* (Novak, A. E., et al., Embryonic and larval expression of zebrafish voltage-gated sodium channel alpha-subunit genes. *Dev. Dyn.* **235**, 1962-1973 (2006)). Ген *scn1Lab* рыбки данио на 77% идентичен человеческому SCN1A и экспрессируется в центральной нервной системе. Гомозиготный мутант данио по этому гену (первоначально названному *Didys552*) был обнаружен при скрининге химического мутагенеза путем применения оптокинетической реакции в качестве анализа (Schoonheim, P. J., Arrenberg, A. B., Del Bene, F., & Baier H., Optogenetic localization and genetic perturbation of saccade-generating neurons in zebrafish. *J. Neurosci.* **30**, 7111-7120 (2010)). Указанные типы скрининга основаны на индуцировании случайных точечных мутаций с помощью алкилирующего агента N-этил-N-нитрозомочевина (ENU), в результате чего мутации обычно теряют функцию и становятся рецессивными. Хотя это гомозиготная мутация, мутанты данио *scn1Lab* имеют отношение к аутосомно-доминантному синдрому Драве человека, учитывая дубликацию генома у данио и присутствие дополнительного гомолога $Na_v1.1$ (*scn1Laa*). Мутанты *scn1Lab* были исследованы на молекулярном и поведенческом уровнях, которые показали, что у мутантов наблюдаются спонтанные лекарственно-устойчивые судорожные припадки, а затем их использовали в новой программе высокопроизводительного скрининга для идентификации соединений, улучшающих фенотип эпилепсии. При скрининге на основе фенотипа был выявлен клемизол, одобренное FDA соединение, в качестве эффективного ингибитора спонтанного судорожного поведения и электрографических припадков у указанных мутантов. Затем были синтезированы аналоги клемизола для оценки их эффективности с точки зрения улучшения состояния эпилепсии.

[0174] Уход за данио. Данио выращивали в стандартных лабораторных условиях в соответствии с требованиями, изложенными в Руководстве по уходу и использованию животных (ebrary Inc., 2011), и эксперименты были одобрены Институциональным комитетом по уходу за животными и их использованию (протокол № AN108659-03). Эмбрионы получали путем естественного нереста гетерозиготных животных *scn1lab* (*didy^{s552}*), скрещенных со штаммом TL. Гомозиготные мутанты *scn1lab* (n=2500) имели диспергированные меланосомы и выглядели заметно темнее через 3 dpf по сравнению с личинками дикого типа (WT).

[0175] Мониторинг припадков. Через 5 dpf отдельные личинки данио помещали в единственную лунку прозрачного 96-луночного микропланшета с плоским дном, содержащего среду для эмбрионов. Личинки отбирали случайным образом, поскольку

определение пола на данной стадии развития невозможно. Все эксперименты по скринингу лекарственных средств проводились исследователями объективно в слепом режиме применительно к исследуемым соединениям, при этом все электронные материалы были зашифрованы для анализа *post hoc*. Микропланшеты помещали внутрь DanioVision и акклиматизировали в течение 20 минут при комнатной температуре. Для каждой лунки получали графики двигательной активности при эпохе записи в течение 10 минут с применением программного обеспечения EthoVision XT (DanioVision, Noldus Information Technology). Оценку припадков проводили с применением следующей трехстадийной шкалы, разработанной для припадков, вызванных пентилентетразолом: стадия 0, отсутствие или очень низкая плавательная активность; стадия I, повышенная активность, кратковременные приступы плавательной активности; стадия II, быстрое плавание по кругу, напоминающее водоворот; и стадия III, пароксизмальные клонические судороги всего тела и кратковременная потеря позы. Согласно оценкам рыбки WT обычно находились на стадии 0 или I. Графики анализировали в отношении пройденного расстояния (в миллиметрах) и средней скорости (в миллиметрах в секунду). После 90-минутного воздействия лекарственного средства личинки исследовали на токсические побочные эффекты. Соединения, которые уменьшали или останавливали сердцебиение личинки или уменьшали или устраняли реакцию избегания при прикосновении, считались токсичными.

[0176] Для электрофизиологических исследований личинки данию анестезировали с помощью холода и иммобилизовали в 1,2% агарозе; записи потенциала локального поля (LFP) получали с применением структур переднего мозга или тектума зрительного нерва, используя подход на основе единичного электрода, как описано ранее (Baraban, S.C. et al., *Neuroscience*, 131, 759-768, 2005). Сеансы записи LFP при иммобилизации в агарозе продолжительностью 10 минут получали при 1 кГц. Эпилептиформные явления идентифицировали *post hoc* и определяли как мембранные отклонения мультиспайков или полиспайков в сторону увеличения или уменьшения, превышающие 3-кратный исходный уровень шума и длительностью от 150 до 250 мкс (межприпадочный период) или превышающие 5-кратный исходный шум, мульти-спайк и длительностью >500 мкс (судорожный период); оба события оценивали с применением настроек обнаружения порогового значения в Clampfit (Molecular Devices; Саннивейл, Калифорния). Во время электрофизиологических экспериментов непрерывно контролировали кровоток и частоту сердечных сокращений личинок с помощью цифровой камеры Axioscam при частоте кадров видео.

[0177] Анализы связывания рецепторов. Анализ связывания *in vitro* и определение данных K_i осуществляли с помощью Программы скрининга психотропных средств Национального института психиатрии США (NIMH PDSP). Лекарственные средства подвергали скринингу на рекомбинантный, стабильно экспрессируемый 5-HT_{2A}R, 5-HT_{2B}R, 5-HT_{2C}R и H1 человека. Для анализов специфического связывания, пожалуйста,

обратитесь к подробным процедурам на сайте <https://pdspdb.unc.edu/pdspWeb/> (Besnard, J. et al., Nature, 492, 215-220, 2012).

[0178] Статистика. Данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего значения (SEM), если не указано иное. Для анализа поведения пороговое значение изменения средней скорости плавания $\geq 40\%$ ($>1,5 \times$ ст. отклонение 250 контрольных подвергаемых лечению *scn1lab*) считалось значимым. Для сравнения между более чем двумя группами использовали односторонний анализ ANOVA. Когда дисперсия не имела нормального распределения, использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса, а затем критерий множественного сравнения Данна. Различия, считающиеся статистически значимыми, отмечены звездочками (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$).

[0179] Оценка аналогов клемизола, ослабляющих судорожно-подобное поведение при плавании у мутантных данио *scn1lab*. На графиках показано изменение средней скорости плавания личинок через 5 dpf, подвергаемых скринингу при (фиг. 1A) 100 мкМ или (фиг. 2B) 250 мкМ (шесть рыбок на медикаментозное лечение). Пороговое значение для подавления судорожной активности (положительные совпадения - отмеченные экспериментальные точки) определяли как снижение средней скорости плавания на $\geq 40\%$ (пунктирная линия). Красные экспериментальные точки представляют соединения, которые были классифицированы как токсичные после 90-минутного воздействия. На тепловой карте показано % изменение скорости для шести отдельных личинок из первого испытания (1-6). Среднее изменение скорости по шести отдельным рыбкам показано для испытаний 1 и 2.

[0180] Скрининг аналогов клемизола показал, что пять соединений (17,9%) были токсичными при 100 мкМ, количество токсичных соединений увеличилось до 12 (42,9%) при 250 мкМ. Аналоги клемизола 4, 6, 9 и 20 были эффективны при подавлении судорожно-подобного поведения мутанта *scn1lab* при 100 мкМ и 250 мкМ, соответственно. Аналог клемизола 25 (*) не перешел в раствор при 250 мкМ, поэтому его не рассматривали для дальнейшего исследования.

[0181] Для подтверждения противосудорожного эффекта на судорожное поведение мутантов *scn1lab* через 5 dpf независимо синтезировали аналоги клемизола 4, 6, 9 и 20 (с помощью Oxygen Healthcare Research Pvt. Ltd.) с применением той же методологии, которая описана в настоящем документе. Недавно синтезированные соединения повторно исследовали при 10, 50, 100 и 250 мкМ для подтверждения зависимой от концентрации реакции. Аналоги клемизола 4, 6 и 20 ослабляли судорожно-подобное поведение в виде плавания с высокой скоростью, наблюдаемое у мутантных личинок данио *scn1lab*, что подтверждало первоначальные результаты скрининга с аналогами, синтезированными в UCSF (Калифорнийский университет в Сан-Франциско) (фиг. 2A-C). Пороговое значение для уменьшения скорости составляло $\geq 40\%$ (пунктирная линия). Двигательную активность личинок регистрировали в течение 10 минут после воздействия в течение 30 минут (черные столбики) и в течение 90 минут (серые столбики). Типичный необработанный график 10-минутного слежения показан для одного эксперимента с

шестью отдельными данио scn1Lab. Анализы in vitro связывания радиолиганда (фиг. 2G) соединения 4, (фиг. 2H) соединения 6 и (фиг. 2I) соединения 20 выявили специфичность к 5-HT_{2B}R по сравнению с другими подтипами 5-HT₂R. Соединение SB206553 использовали в качестве положительного контроля для связывания 5-HT_{2B}R. Аффинность связывания для других аналогов клемизола приведена в таблице 1B и таблице 2. Ресинтезированное соединение 9 было токсичным при 250 мкМ. Это подтвердило результат второго исследования исходного соединения и позволяет предположить, что ослабление поведения при плавании, наблюдаемое во время испытания 1, может представлять собой ложноположительный результат.

[0182] Таблица 1B: Специфичность рецептора и аффинность связывания (K_i) для соединений, эффективных при подавлении активности спонтанных судорожных припадков у мутантных данио scn1lab.

	Соед. 4 (нМ)	Соед. 6 (нМ)	Соед. 20 (нМ)	MeER GO (нМ)	6- APB (нМ)	CLE M (нМ)	TRA Z (нМ)	LOR (нМ)	FEN (нМ)
5-HT1A	-	-	-	-	1284	0	118	700	673
5-HT1B	-	-	-	-	-	0	0	-	1837
5-HT1D	-	-	-	-	-	0	106	-	1264
5-HT1E	-	-	-	89,1	-	-	0	-	10000
5-HT1F	-	-	-	31	-	-	-	-	-
5-HT2A	10000	10000	10000	0,4	1927	239	35,8	95	-
5-HT2B	612	258	772	2,2	3,6	25	189	128	4134
5-HT2C	10000	10000	10000	4,6	-	197	9	55,5	-
5-HT5	-	-	-	-	-	-	0	3710	10000
5-HT6	-	-	-	-	-	0	0	1980	9080
5-HT7	-	-	-	-	155	0	1782	636	7306
Транспортер 5- HT	-	-	-	-	2698	0	,7	990	667

Адренергетик								1000	
Альфа1А	-	-	-	-	-	-	153	0	269
Адренергетик								1000	
Альфа1В	-	-	-	-	-	-	-	0	142
Адренергетик								1000	
Альфа2А	-	-	-	-	-	-	728	0	531
Адренергетик								1000	
Альфа2В	-	-	-	-	-	-	-	0	247
Адренергетик								1000	
Альфа2С	-	-	-	-	-	-	155	0	252
Адренергетик								1000	1000
Бета1	-	-	-	-	-	-	0	0	991
Адренергетик								1000	1000
Бета2	-	-	-	-	-	-	0	0	7741
								1000	
ДОПАМИН D1	-	-	-	-	-	-	3730	0	10000
								1000	
ДОПАМИН D2	-	-	-	-	-	-	4142	0	10000
								1000	
ДОПАМИН D4	-	-	-	-	-	-	703	0	10000
								1000	1000
ДОПАМИН D5	-	-	-	-	-	-	0	0	10000
Транспортер допамина								1000	1000
Гистамин H1	153	16	161	-	-	1,3	220	-	10000
								1000	
Гистамин H2	-	-	-	-	-	-	3290	0	10000
							402,	1000	
Гистамин H3	-	-	-	-	-	2	0	-	-
Транспортер норэпинефрина							1000	1000	1400
							0	0	10000

[0183] Аналоги клемизола с противосудорожной активностью селективно связывают 5-HT_{2B}R. Аффинность связывания 5-HT_{2R} для 21 из аналогов клемизола определяли с применением анализов связывания радиолигандов, проводимых с помощью Программы скрининга психотропных средств NIMH (Besnard, J. et al., Nature, 492, 215-

220, 2012). Три соединения, оказывающие противосудорожное влияние на судорожное поведение мутантов *scn1lab* через 5 drf, 4, 6 и 20, имели значительное преимущество в отношении 5-HT_{2B}R со значениями K_i 612 нМ, 285 нМ и 772 нМ, соответственно (фиг. 2G-I; таблица 2). Кроме того, указанные аналоги клемизола не показали значительного связывания с 5-HT_{2A}R или 5-HT_{2C}R (K_i >10 000 нМ). Соединения 5, 14 и 23 также демонстрировали селективность в отношении 5-HT_{2B}R со значениями K_i 219 нМ, 606 нМ и 515 нМ. При начальном скрининге библиотеки соединения 5 и 14 не оказывали значительного влияния на поведение при плавании, при этом соединение 23 было идентифицировано как токсичное. Дополнительное исследование независимо синтезированного соединения подтвердило, что соединения 5 и 14 не оказывали значительного влияния на поведение при плавании рыбок данио *scn1lab* (фиг. 5). Четыре из 21 аналога клемизола (соединения 10, 15, 17 и 21) не показали значительного связывания с каким-либо человеческим 5-HT₂R.

[0184] Таблица 2: Аффинность связывания аналогов клемизола (K_i) с человеческими 5-HT₂ рецепторами и H1 рецептором

Соединение	5-HT _{2A} R (нМ)	5-HT _{2B} R (нМ)	5-HT _{2C} R (нМ)	H1 (нМ)
1	> 10000	501,0	2727,0	-
2	-	-	-	-
3	327,0	83,0	292,0	4,8
4	> 10000	612,0	> 10000	153,0
5	> 10000	219,0	> 10000	362,0
6	> 10000	285,0	> 10000	16,0
7	15,0	46,0	345,0	1,0
8	-	-	-	-
9	> 10000	> 10000	447,0	29,0
10	> 10000	> 10000	> 10000	351,0
11	631,0	134,0	248,0	6,4
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	> 10000	606,0	> 10000	27,0
15	> 10000	> 10000	> 10000	865,0
16	-	-	-	-
17	> 10000	> 10000	> 10000	137,0
18	-	-	-	-
19	-	-	-	-
20	> 10000	772,0	> 10000	161,0

21	> 10000	> 10000	> 10000	>10000
22	623,0	306,0	4578,0	8,5
23	> 10000	515,0	> 10000	34,0
24	1259,0	115,0	1408,0	3,7
25	2379,0	482,0	2265,0	76,0
26	316,0	20,0	313,0	1,2
27	> 10000	> 10000	7153,0	442,0
28	> 10000	464,0	1084,0	44,0

[0185] Агонисты 5-HT_{2B}R подавляют судорожную активность у модели данио *scn1lab*. Ряд коммерчески доступных соединений, которые, как известно, связывают 5-HT_{2B}R (Roth, B.L. et al., *The Neuroscientist*, 6, 252-262, 2000) благодаря их способности ослаблять судорожно-подобное поведение при плавании личинок данио *scn1lab* (Таблица 3). Три агониста 5-HT_{2B}R, метилэргоновин, 6-АРВ и норфенфлурамин подавляли судорожное поведение при плавании способом, зависимым от концентрации (фиг. 3А-С). Кроме того, мутантные личинки *scn1lab*, которым давали агонист 5-HT_{2B}R BW-723С86 (фиг. 3D), показали ослабление судорожно-подобного поведения при плавании, но также не смогли достигнуть нашего порога значимости, чтобы гарантировать дальнейшее исследование. Аналогичным образом, 5-HT_{2B}R/5-HT_{2C}R Ro60-0175 агонист постоянно снижал среднюю скорость и обладал пограничной эффективностью после 90-минутного лекарственного воздействия (фиг. 3Е). Обработка с помощью CP-809,101 давала двухфазную реакцию, как и m-CPP, активный метаболит тразодона (фиг. 3Н и фиг. 3G, соответственно). TL-99, который имел самое низкое сродство к 5-HT₂Rs, не смог вызвать какого-либо поведенческого эффекта у мутантных личинок *scn1lab* (фиг. 3F).

[0186] Агонисты дофаминовых рецепторов с описанным 5-HT₂R также исследовали на их способность ослаблять судорожно-подобное поведение при плавании (фиг. 6А-D). Каберголин, агонист дофамина с признанным высоким сродством к активации 5-HT_{2B}R (K_i=1,2 нМ) значительно ослаблял судорожное поведение при плавании при 250 мкМ (фиг. 6А), однако из-за отсутствия зависимости реакции от концентрации его не подвергали дальнейшему испытанию. Бромокриптин значительно снижал судорожно-подобное поведение при плавании при 10 мкМ (фиг. 6В), однако при более высоких концентрациях наблюдалась токсичность. Пирибедил, агонист рецептора дофамина 2 (K_i=1,3 нМ), также проявлял токсичность при 100 и 250 мкМ (фиг. 6D), и неселективный агонист дофамина, апоморфин, значительно увеличивал среднюю скорость плавания мутантных личинок *scn1lab* (фиг. 6С).

[0187] Мониторинг электрографической активности головного мозга для подтверждения подавления судорожных припадков является важным методом устранения ложноположительных результатов при исследовании поведения (Griffin, A. et al., *Frontiers in Pharmacology*, 9, 2018). Поместив микроэлектрод в визуально идентифицируемую область головного мозга личинок данио, иммобилизованных в агаре, можно в течение

нескольких часов отслеживать записи стабильного локального потенциала поля (LFP) (Baraban, SC et al., Nat Commun, 4, 2410, 2013). Через 5 dpf записи LFP личинок данио *scn1Lab* показали в среднем 250 аномальных электрографических припадков в течение 10-минутной эпохи записи. Записи LFP мутантов *scn1lab* подтвердили значительное подавление электрографической судорожной активности после воздействия аналогов клемизола 4, 6 и 20 при 100 мкМ. Типичные эпохи записи LFP только со случайным аномальным электрографическим событием показаны на фиг. 4В и фиг. 4С. Аналогичным образом, 250 мкМ метилэргоновина ($n=7$; $p<0,001$) или 250 мкМ 6-АРВ ($n=6$; $p=0,0238$) значительно подавляли частоту электрографических припадков способом, аналогичным селективным 5-НТ_{2В}R аналогам клемизола 4, 6 и 20 (фиг. 4В и фиг. 4С). Данные по связыванию радиолиганда для метилэргоновина, 6-АРВ и положительно идентифицированных аналогов клемизола 4, 6 и 20 свидетельствовали, что все пять соединений обладают аффинностью связывания с 5-НТ_{2В}R (таблица 3).

[0188] Таблица 3: Соединения, связывающие 5-НТ_{2В}R, исследованные на противосудорожную активность.

Соединение	Основное применение	Класс лекарственных средств	5-НТ _{2А} R	5-НТ _{2В} R	5-НТ _{2С} R
			(нМ)	(нМ)	(нМ)
метилэргонин	гладкая мышца-констриктор	серотонин	0,4	2,2	4,6
BW-723С86	только для исследовательских целей	серотонин	89,7	3,2	114,8
6-АРВ	психотропное средство	серотонин	1927,0	3,6	-
Ro 60-0175	только для исследовательских целей	серотонин	37,2	4,3	9,1
CP-809,101	только для исследовательских целей	серотонин	1,6	6,0	64,0
норфенфлурамин	метаболит фенфлурамина	серотонин	194,0	18,0	306,0
mCPP	психотропное средство/метабо	серотонин	54,5	30,3	13,0

каберголин	лит тразодона				
	гиперпролактинемия	допамин	6,17	1,2	691,8
бромокриптин	болезнь Паркинсона	допамин/ серотонин	107,1	56,2	741,3
	болезнь Паркинсона	допамин	120,2	131,8	102,3
пирибедил	болезнь Паркинсона	допамин	> 10000	1202,3	> 10000
TL-99	только для исследователских целей	допамин	2344,2	2041,7	2290,9

[0189] Следует понимать, что примеры и варианты реализации, описанные в настоящем документе, предназначены только для иллюстративных целей, и что различные модификации или изменения с их учетом будут предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в сущность и сферу действия настоящей заявки и в объем прилагаемой формулы изобретения. Все публикации, патенты и заявки на патенты, приведенные в настоящем документе, включены тем самым в полном объеме посредством ссылки для всех целей.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ выбора соединения для применения для лечения эпилепсии, включающий:

приведение исследуемого соединения в контакт с рецептором 5-гидрокситриптамина-2В (5-НТ_{2В}); и

измерение агонистической активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}.

2. Способ по п. 1, дополнительно включающий животную модель эпилепсии.

3. Способ по п. 2, дополнительно включающий введение животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения и измерение поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии.

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что указанная животная модель эпилепсии представляет собой животную модель синдрома Драве (DS).

5. Способ по п. 4, отличающийся тем, что животная модель DS представляет собой рыбку данио (*Danio rerio*), устойчивую к противоэпилептическим препаратам (AEDs).

6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что рыбка данио (*Danio rerio*) представляет собой мутант *scn1lab* или мутант *scn1laa*.

7. Способ по п. 5, отличающийся тем, что поведенческая активность представляет собой судорожное поведение в виде плавания с высокой скоростью.

8. Способ по п. 2, дополнительно включающий введение животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения и получение электрофизиологической записи животной модели для обнаружения наличия, интенсивности или отсутствия спонтанного электрографического припадка у указанной животной модели эпилепсии.

9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что указанная животная модель эпилепсии представляет собой животную модель DS.

10. Способ по п. 9, отличающийся тем, что животная модель DS представляет собой мутантную данио *scn1lab*.

11. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное измерение включает определение активности связывания 5-НТ_{2В} рецептора с помощью исследуемого соединения.

12. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное соединение имеет низкую активность связывания с 5-НТ_{2А} рецептором или 5-НТ_{2С} рецептором или не демонстрирует измеримую активность связывания 5-НТ_{2А} рецептора или 5-НТ_{2С} рецептора.

13. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанное соединение связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с K_d менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ.

14. Способ по п. 1, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного соединения в отношении 5-НТ_{2В} рецептора в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

15. Способ по п. 1, дополнительно включающий выбор указанного исследуемого соединения в качестве указанного соединения на основе по меньшей мере одного из следующих свойств: (1) агонистической активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}, (2) пониженной эпилептической поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии после введения указанной животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения (3) ослабления судорожного поведения в виде плавания с высокой скоростью у указанной животной модели эпилепсии после введения указанной животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения, (4) обнаружения низкой интенсивности или отсутствия спонтанного электрографического припадка у указанной животной модели эпилепсии после введения указанной животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения, (5) связывания указанного исследуемого соединения с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ, или (6) агонистической активности указанного исследуемого соединения, которая в 10, 100, 1000, 10000 или 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного соединения в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

16. Способ выбора соединения для лечения эпилепсии, включающий:
приведение исследуемого соединения в контакт с 5-НТ_{2В} рецептором;
измерение агонистической активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В};

введение животной модели эпилепсии указанного исследуемого соединения; и
измерение поведенческой активности у указанной животной модели эпилепсии.

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что животная модель эпилепсии представляет собой мутантную данио *scn1lab*, при этом агонистическую активность указанного исследуемого соединения измеряют на основе одного или более из следующих свойств:

судорожного поведения мутантных данио *scn1lab* в виде плавания с высокой скоростью;

спонтанных электрографических припадков у мутантных данио *scn1lab*; или
связывающей активности указанного исследуемого соединения в отношении 5-НТ_{2В}.

18. Способ лечения эпилепсии у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту эффективного количества агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора.

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 10 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

20. Способ по п. 18, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 100 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в

отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

21. Способ по п. 18, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 1000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 10000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что агонистическая активность указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в 100000 раз больше по сравнению с агонистической активностью указанного агониста специфического 5-НТ_{2В} рецептора в отношении 5-НТ_{2А} рецептора.

24. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 100 нМ.

25. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 10 нМ.

26. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 1 нМ.

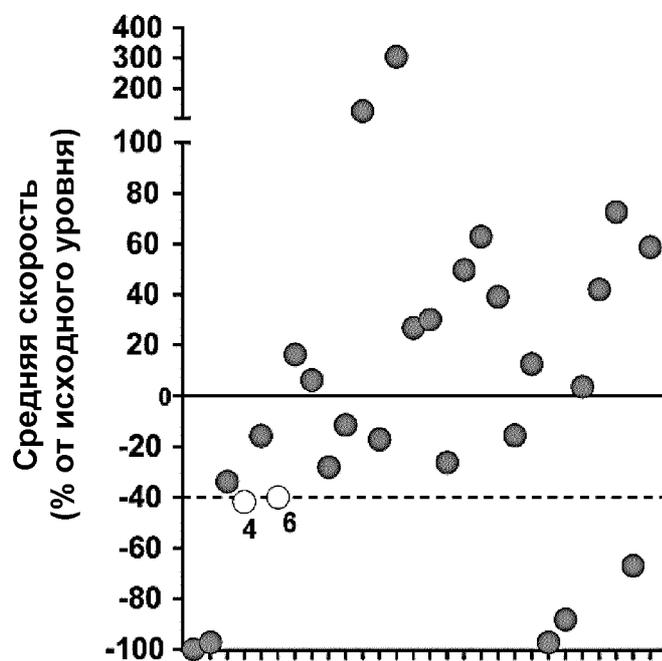
27. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 500 пМ.

28. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанный агонист специфического 5-НТ_{2В} рецептора связывается с 5-НТ_{2В} рецептором с Kd менее 100 пМ.

По доверенности

ФИГ. 1А

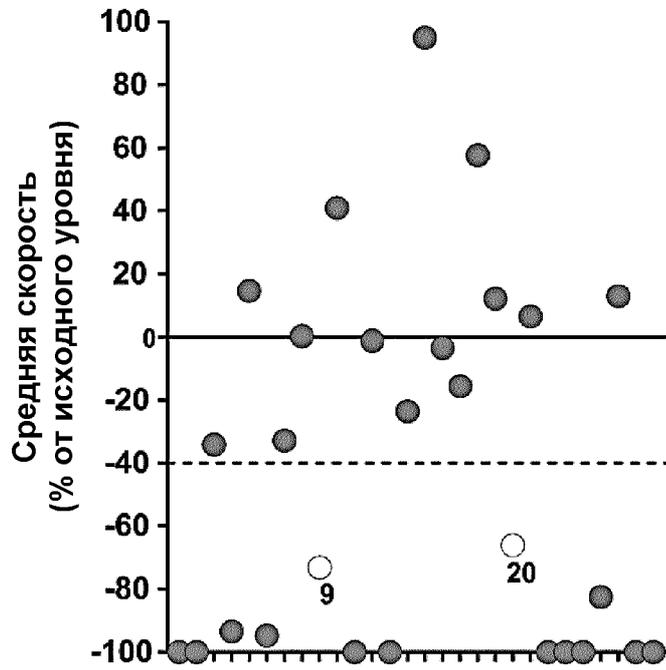
Скрининг аналогов клемизола, 100 мкМ



	1	2	3	4	5	6	Испы- тание 1	Испы- тание 2
1	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0
2	-68.2	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-97.2	-97.2
22	-100.0	-100.0	-100.0	-88.0	-100.0	-100.0	-97.2	-97.2
23	-100.0	-75.3	-50.8	-100.0	-46.1	-100.0	-88.2	-88.2
27	-71.4	-100.0	-89.2	13.1	-52.4	-31.8	-67.0	-67.0
4	-85.7	-30.6	-85.6	-68.3	-79.4	145.7	-41.7	-44.8
6	-34.5	38.1	-51.3	10.0	-75.4	-79.2	-40.0	-76.2
3	-19.4	-6.4	-14.5	-38.5	-53.8	-54.2	-33.7	
9	-13.5	-0.7	-34.9	-57.3	34.4	-33.2	-28.1	-28.1
16	-48.5	-20.3	32.6	-45.5	-53.0	-6.5	-26.3	-26.3
12	-6.6	-14.6	13.8	-25.0	-37.2	-45.4	-17.2	-17.2
5	-7.3	-25.1	-0.7	-60.8	31.1	1.4	-15.8	-15.8
20	17.3	-4.1	-27.1	-14.1	-25.2	-48.1	-15.6	-15.6
10	-27.8	-18.8	94.8	-51.5	3.8	-23.9	-11.6	-11.6
24	67.6	330.2	-70.1	-28.0	-30.1	-3.9	3.5	3.5
8	95.9	-15.7	-46.1	22.4	-21.9	86.1	6.2	6.2
21	17.5	-5.2	11.1	8.5	13.2	24.0	12.5	12.5
7	-56.6	-22.2	118.5	13.5	47.7	58.3	16.2	16.2
14	-51.2	-34.1	68.9	-23.9	558.5	46.6	26.7	26.7
15	50.0	39.1	87.7	33.2	-12.3	53.4	30.2	30.2
19	92.8	149.7	1.5	53.3	15.6	-41.0	39.1	39.1
25	-56.0	91.3	-65.8	78.7	35.7	152.9	42.0	42.0
17	87.4	19.1	-26.7	184.8	52.9	25.7	49.7	49.7
28	89.9	35.6	121.9	120.8	65.2	-17.0	58.7	58.7
18	62.1	66.9		154.8	113.0	2.1	62.9	62.9
26	116.4	148.3	57.3	118.8	-38.5	116.5	72.5	72.5
11	39.3	402.6	91.2	120.3	149.4	66.8	124.5	124.5
13	265.4	534.2	92.1	812.3	333.9	156.9	304.8	304.8

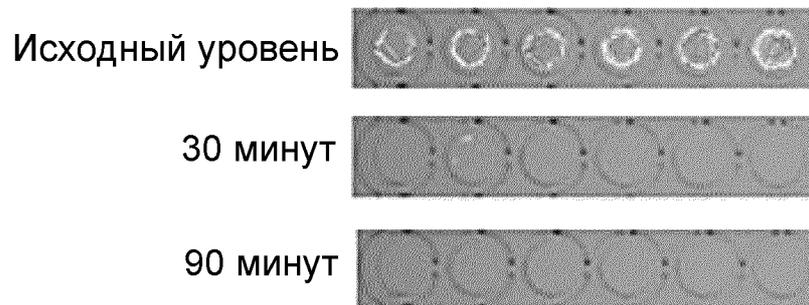
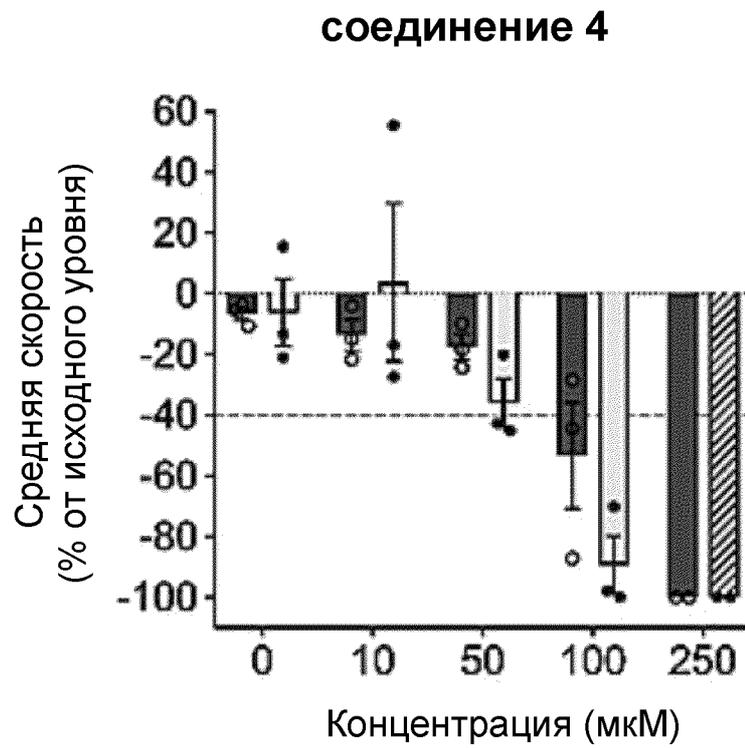
ФИГ. 1В

Скрининг аналогов клемизола, 250 мкМ

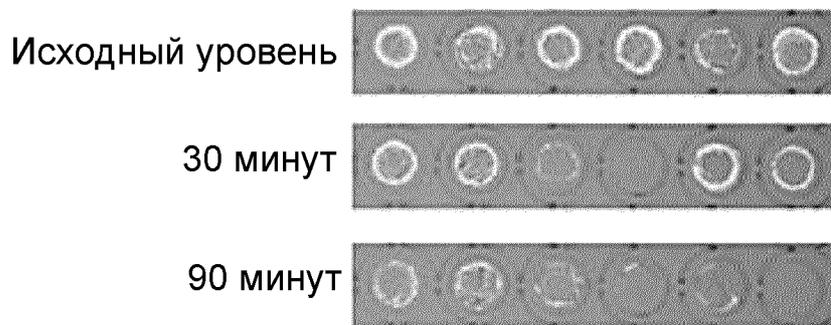
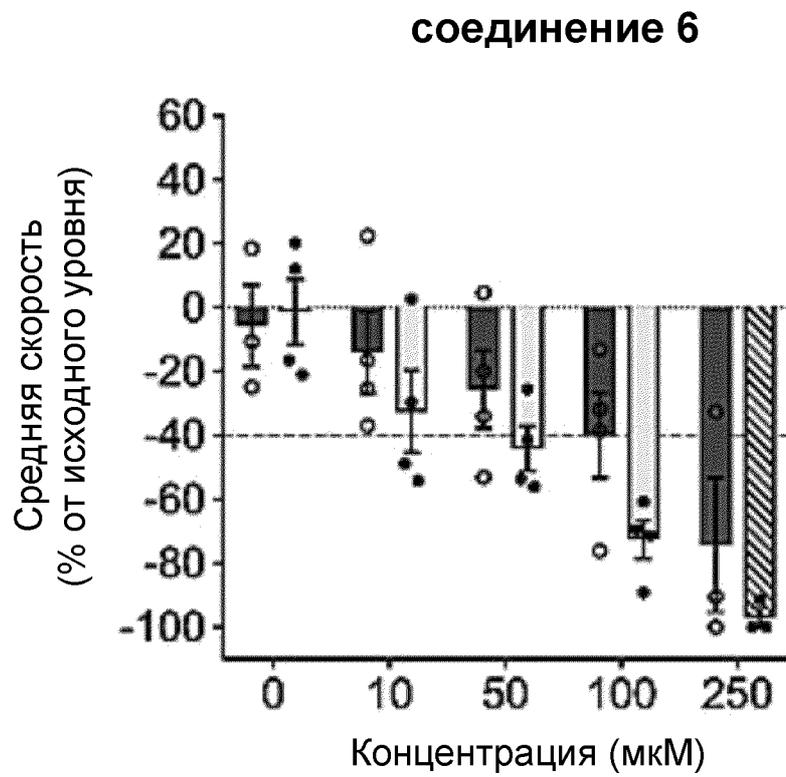


	Испы-						Испы-	
	1	2	3	4	5	6	тание 1	тание 2
2	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	не обнаружено
11	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	не обнаружено
22	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	не обнаружено
23	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	не обнаружено
24	-100.0	-100.0	-90.0	-100.0	-100.0	-100.0	-98.7	не обнаружено
1	-100.0	-60.0	-100.0	-100.0	-100.0	-100.0	-96.2	не обнаружено
6	-100.0	-91.9	-100.0	-100.0	-79.3	-92.7	-94.7	-90.5
4	-93.5	-100.0	-100.0	-67.4	-83.7	-100.0	-93.4	-100.0
27	-100.0	-100.0	-80.1	-86.5	-100.0	-46.3	-90.6	не обнаружено
25*	-87.0	-92.4	-76.5	-56.9	-100.0	-23.6	-82.5	не обнаружено
9	-94.0	-100.0	-22.5	-100.0	-38.8	-100.0	-73.2	-100.0
28	-60.6	-71.8	-32.5	-62.3	-67.2	-100.0	-68.8	не обнаружено
20	-62.7	-80.4	-65.9	-100.0	-60.9	-9.7	-66.1	-66.1
3	2.2	-27.1	-57.6	-5.8	-25.0	-83.3	-34.1	-34.1
7	-68.0	394.8	-62.6	-60.4	-82.2	-58.8	-32.8	-32.8
13	194.7	95.2	-19.4	-75.8	-31.5	-23.2	-25.3	-25.3
14	-24.3	39.8	10.9	-58.3	220.3	-14.3	-23.6	-23.6
17	93.5	-29.6	-12.3	-37.9	40.6	-50.2	-15.5	-15.5
16	56.0	-77.0	-40.7	-16.7	32.0	119.5	-3.4	-3.4
12	54.3	44.4	-13.1	19.5	-21.4	-40.2	-1.2	-1.2
8	-31.4	-20.6	-34.8	69.6	34.3	-9.4	0.3	0.3
21	52.2	-11.5	80.9	-44.9	37.8	-14.2	6.5	6.5
19	63.5	58.3	-5.5	86.9	-0.9	-48.8	12.1	12.1
26	99.2	-40.1	-25.6	-6.4	69.0	76.9	13.0	13.0
5	-3.6	21.9	-2.5	-6.7	108.9	-6.3	14.6	14.6
10	77.0	23.2	55.0	243.2	2.2	-29.7	41.0	41.0
18	44.0	127.9	-27.3	153.3	17.5	58.0	57.7	57.7
15	141.3	62.6	251.8	85.2	66.7	4.8	95.0	95.0

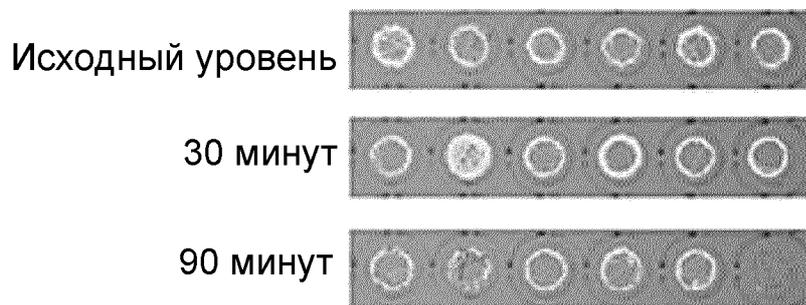
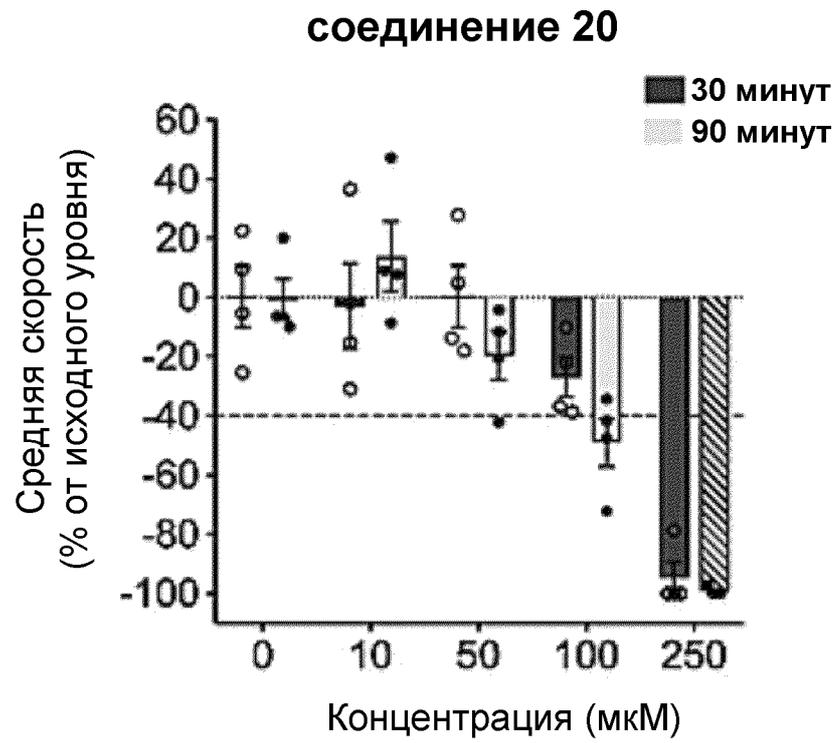
ФИГ. 2А



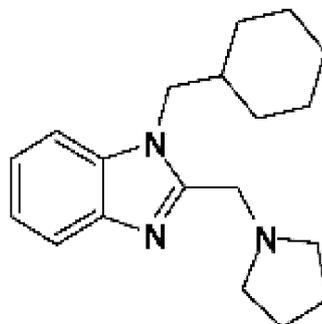
ФИГ. 2В



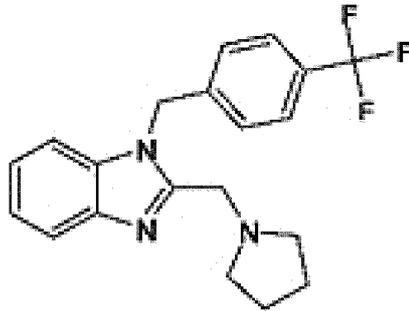
ФИГ. 2С



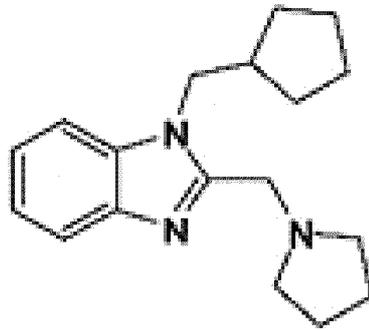
ФИГ. 2D



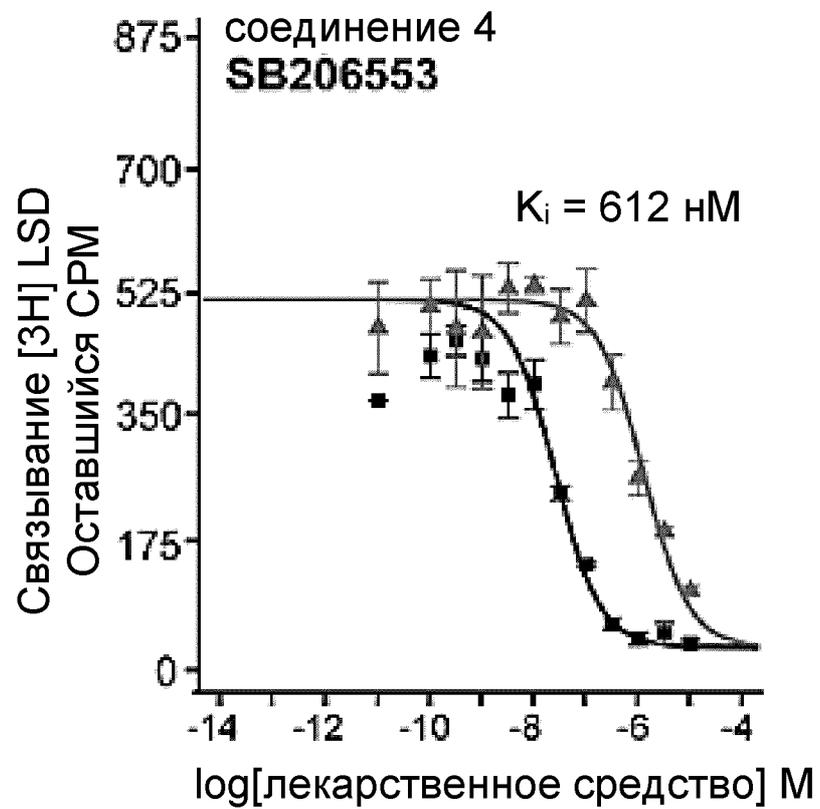
ФИГ. 2E



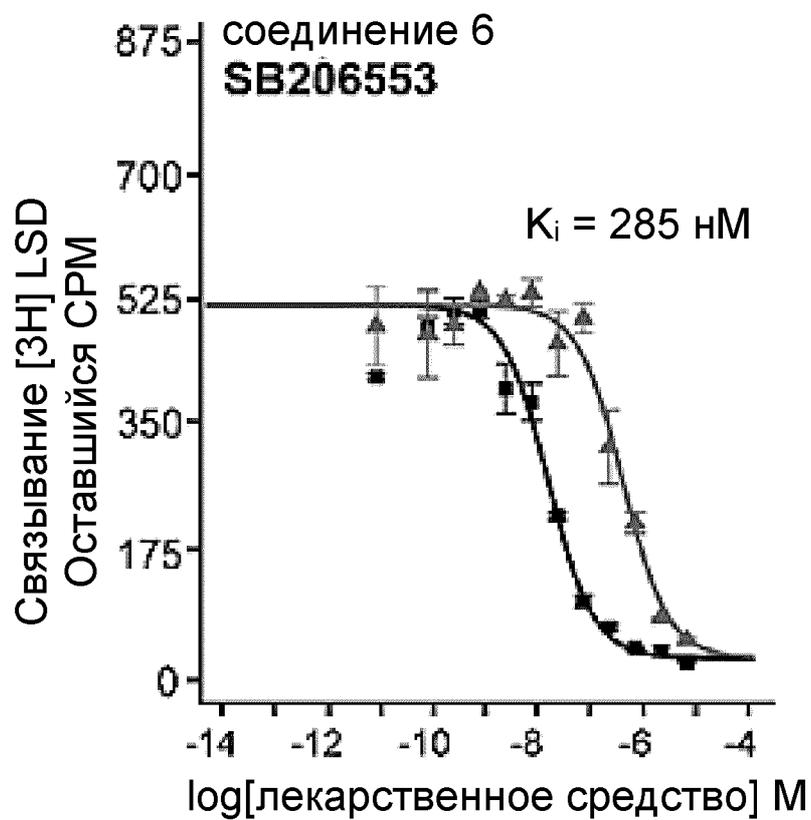
ФИГ. 2F



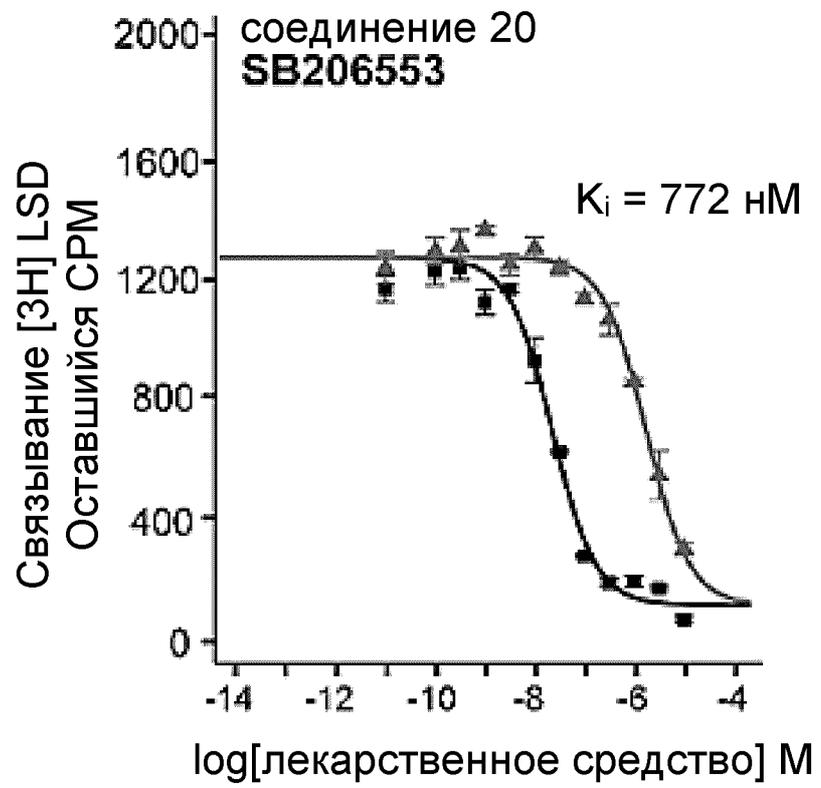
ФИГ. 2G



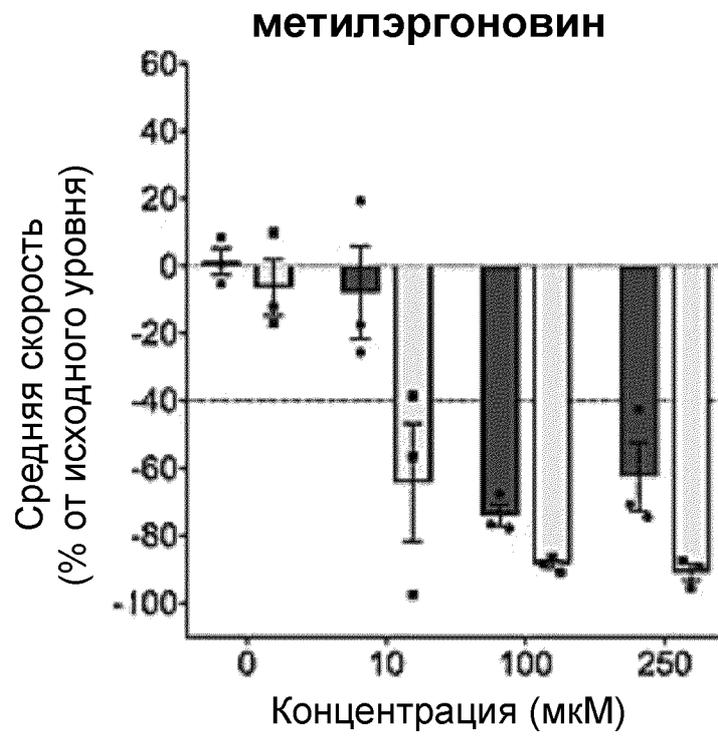
ФИГ. 2Н



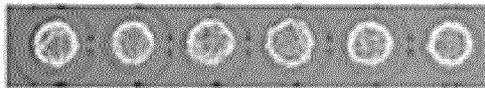
ФИГ. 2I



ФИГ. 3А



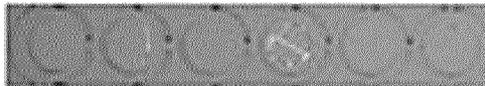
Исходный уровень



30 минут

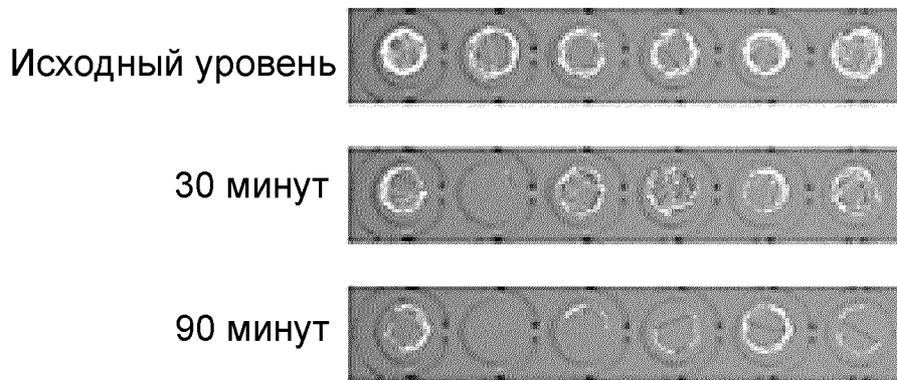
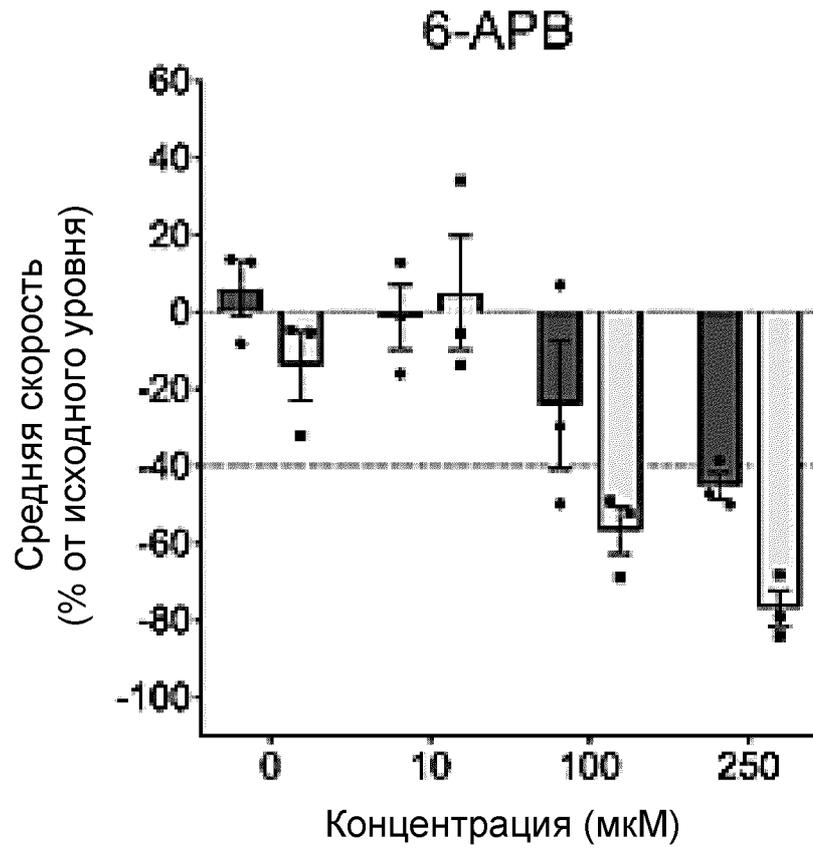


90 минут

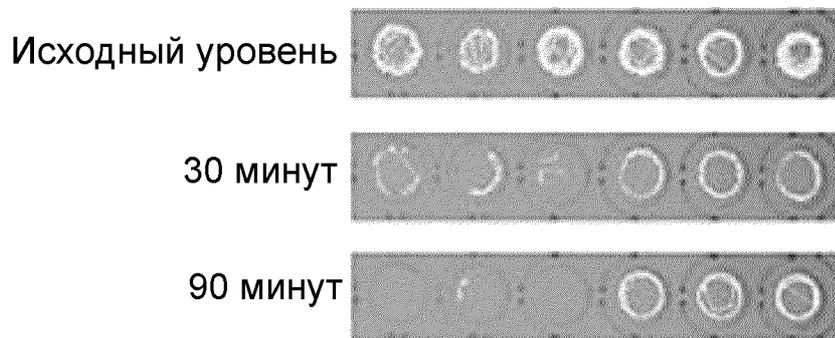
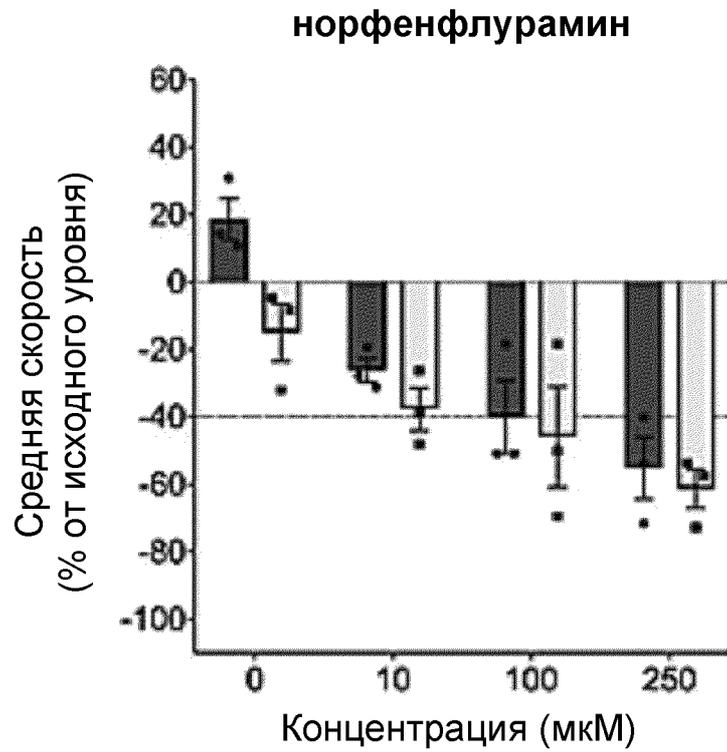


10/24

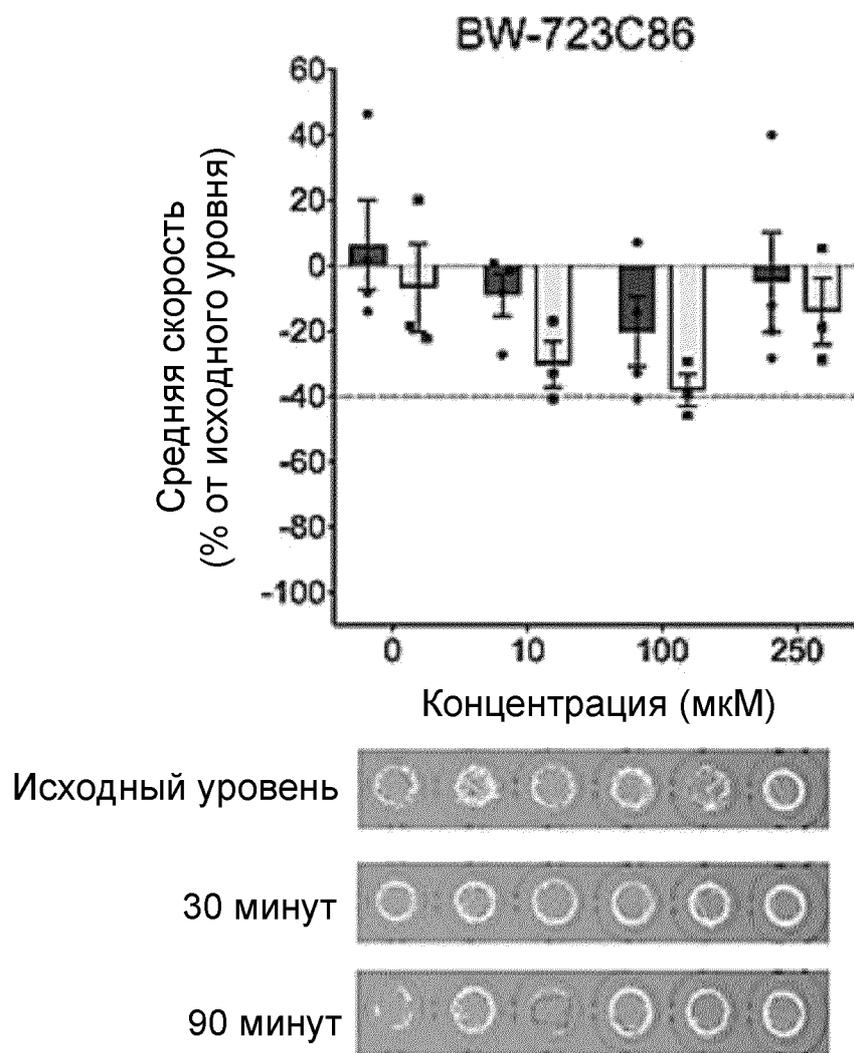
ФИГ. 3В



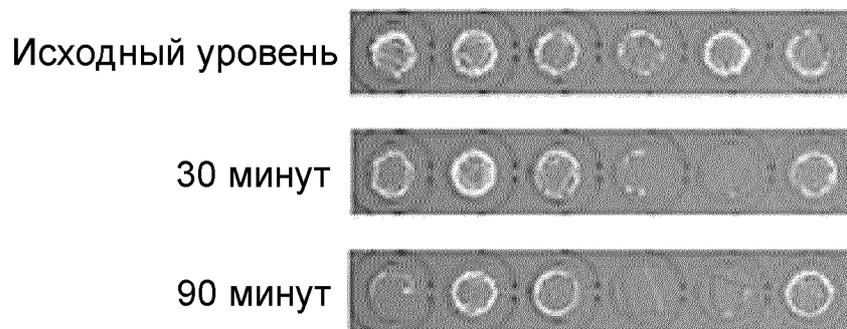
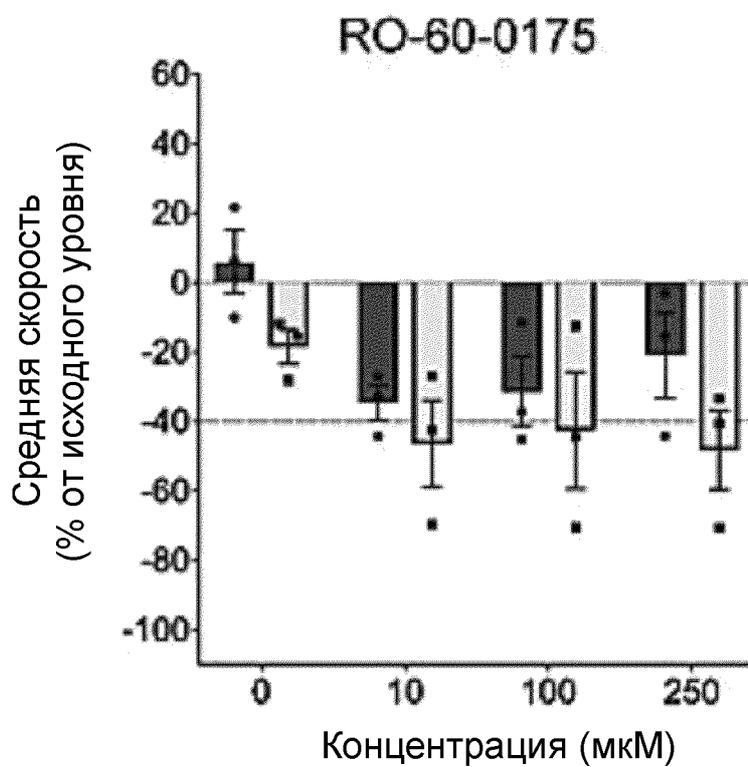
ФИГ. 3С



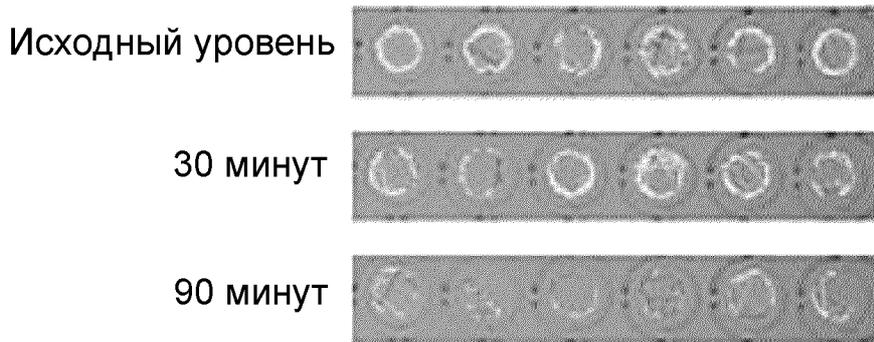
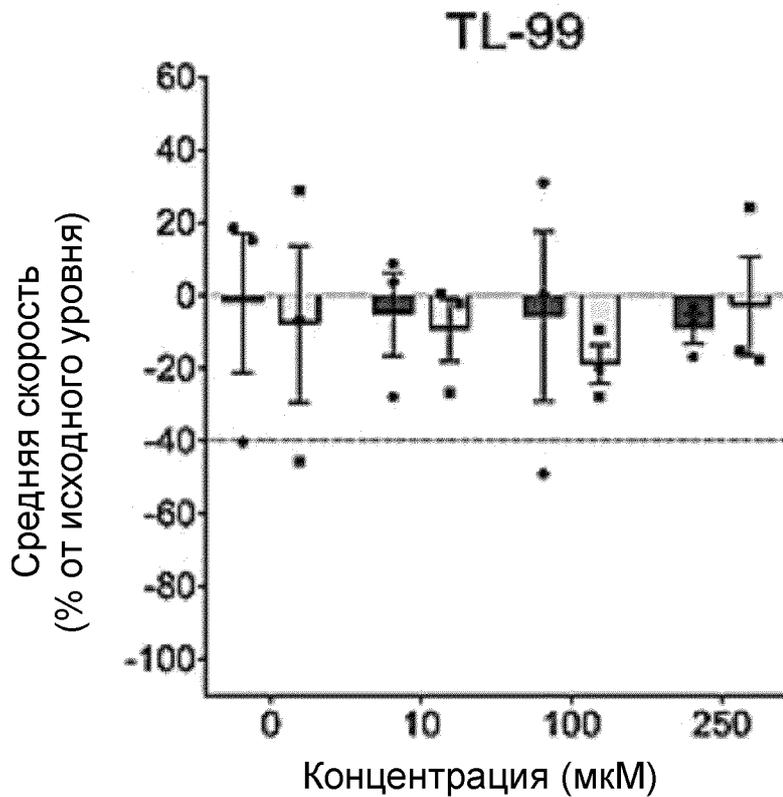
ФИГ. 3D



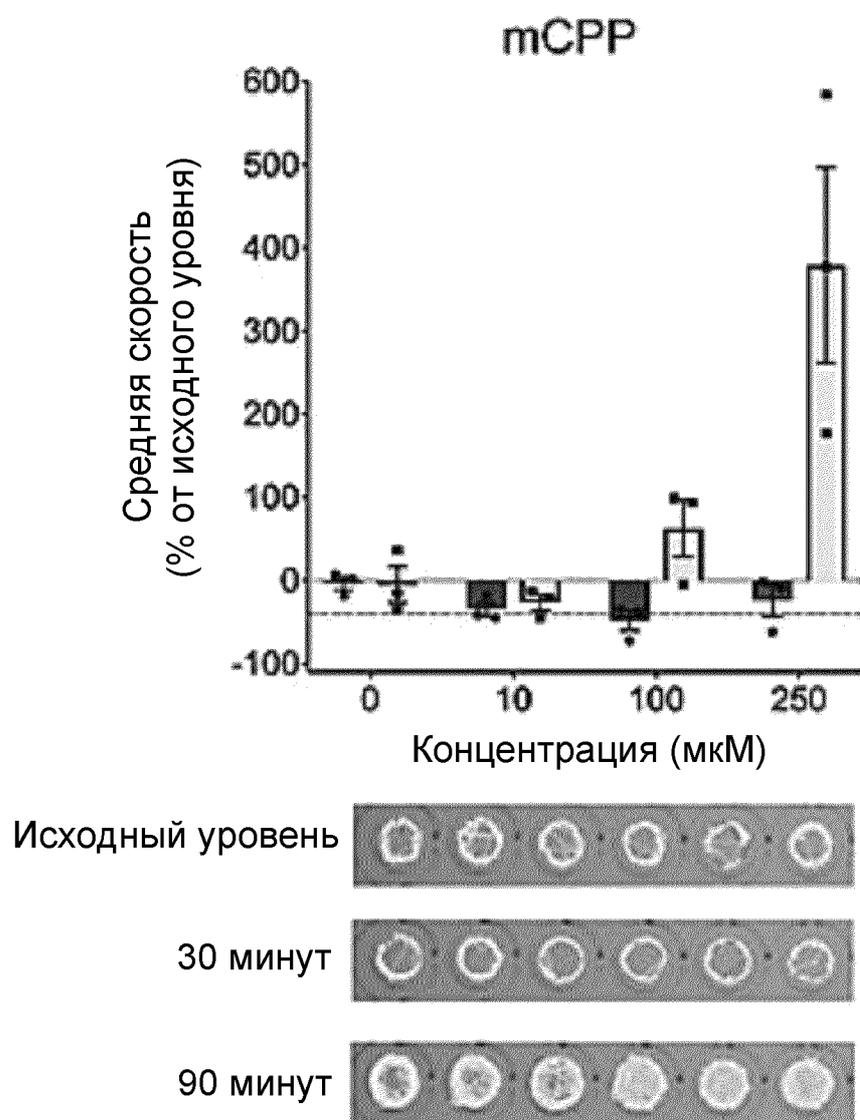
ФИГ. 3Е



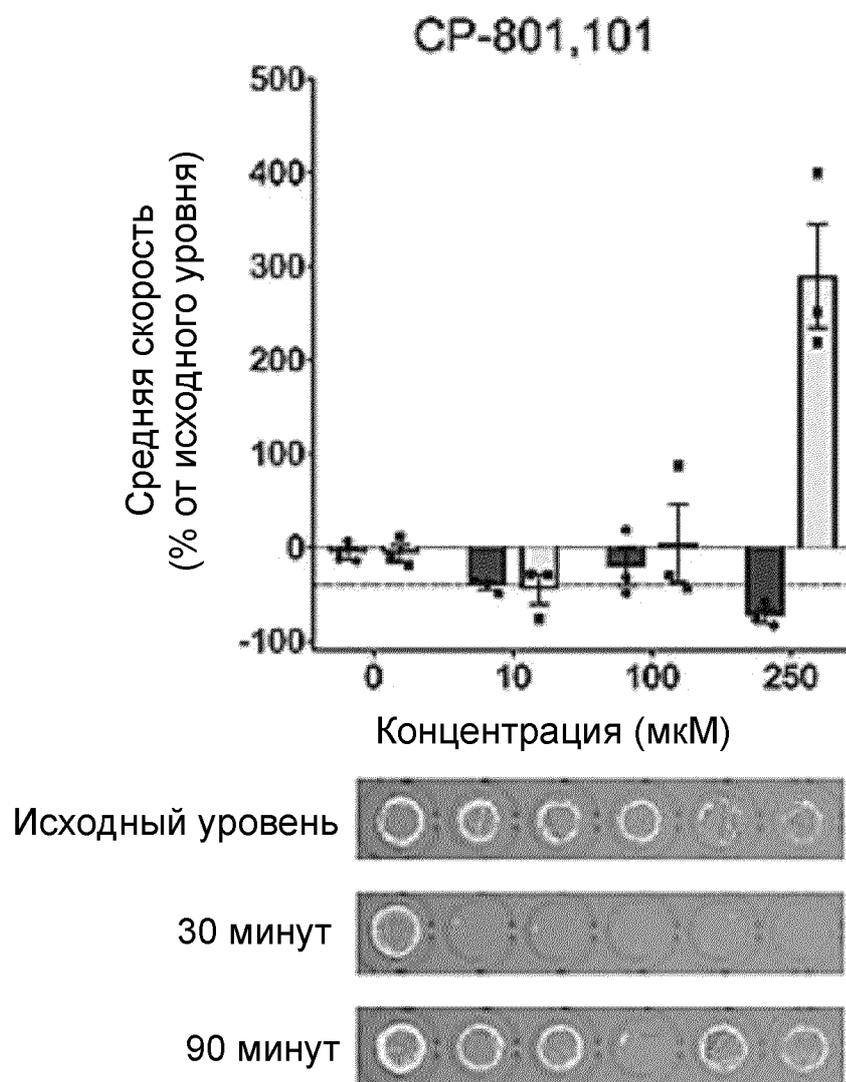
ФИГ. 3F



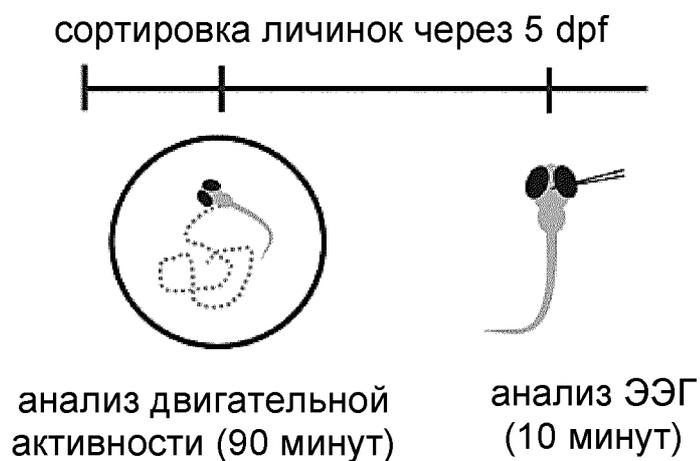
ФИГ. 3G



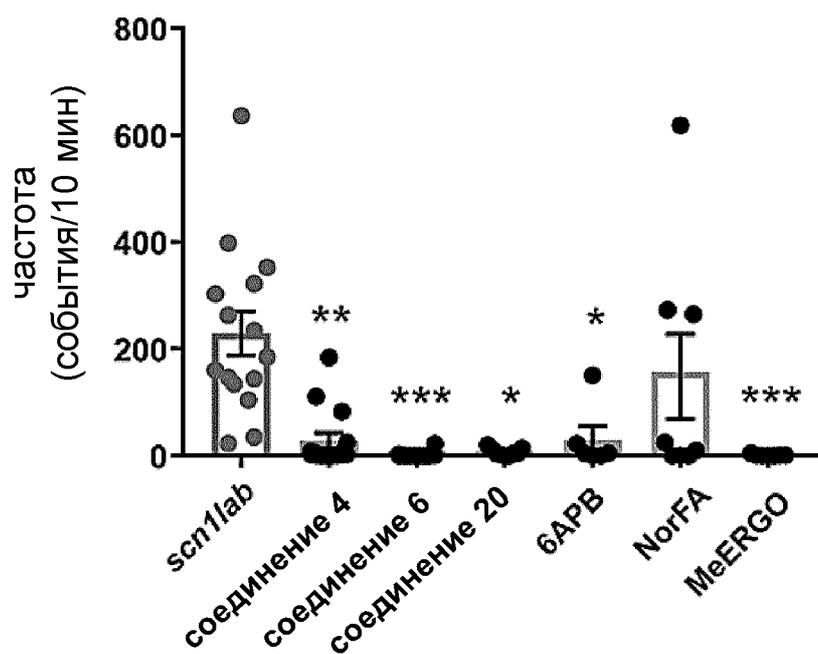
ФИГ. 3Н



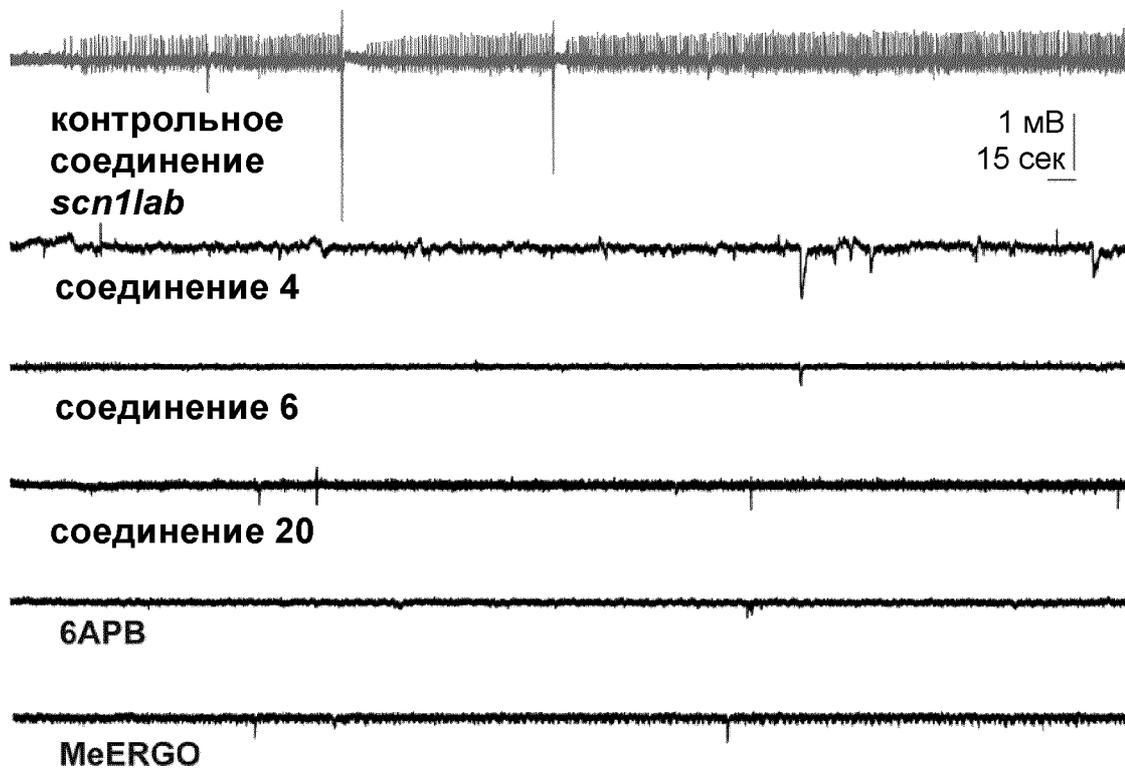
ФИГ. 4А



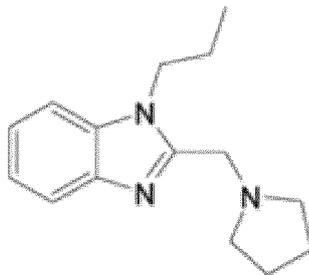
ФИГ. 4В



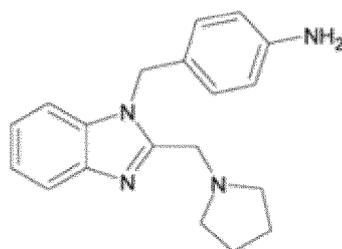
ФИГ. 4С



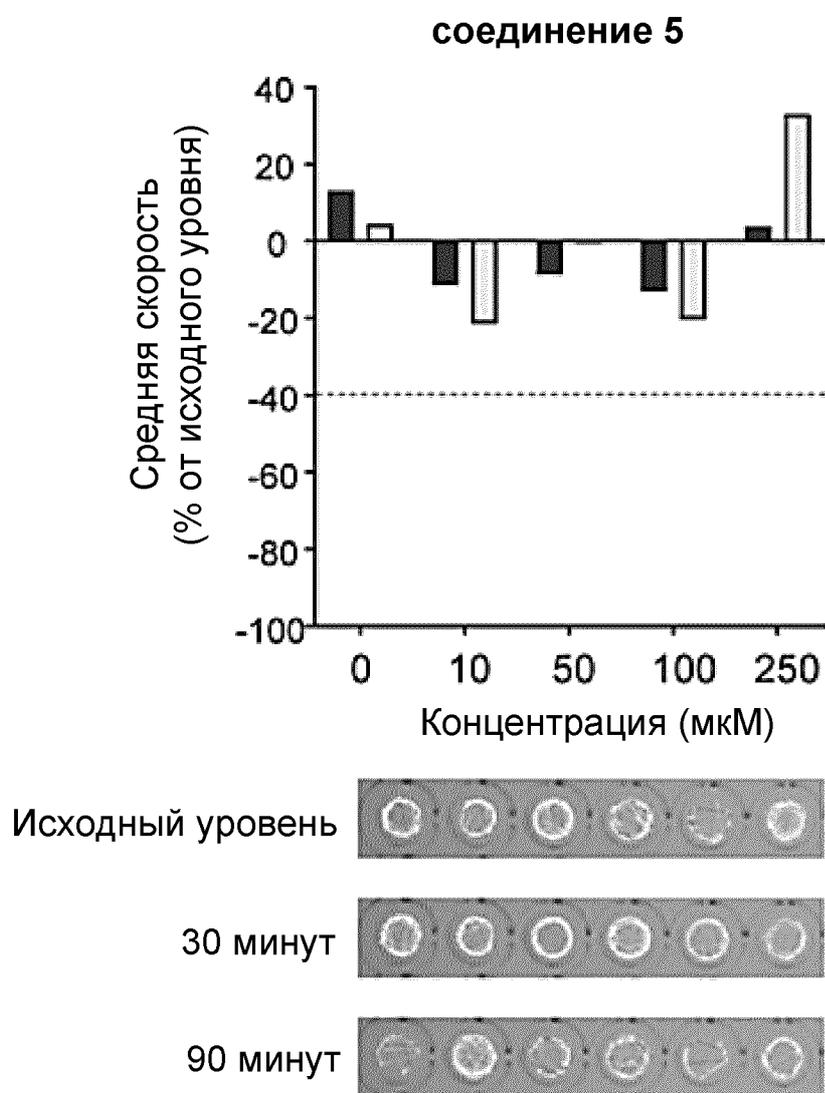
ФИГ. 5А



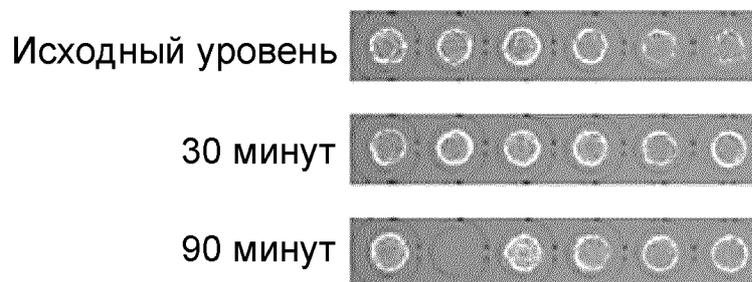
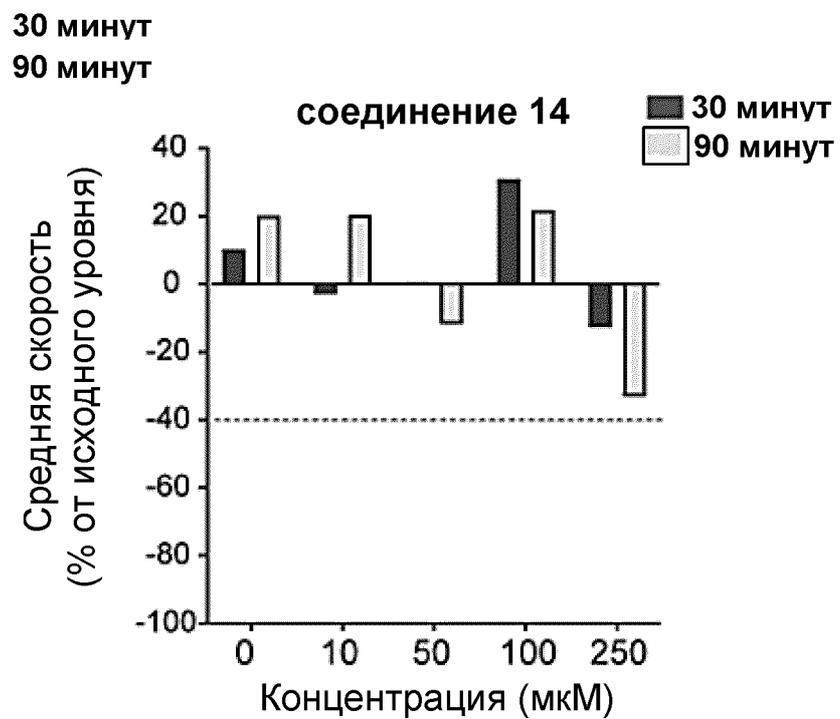
ФИГ. 5В



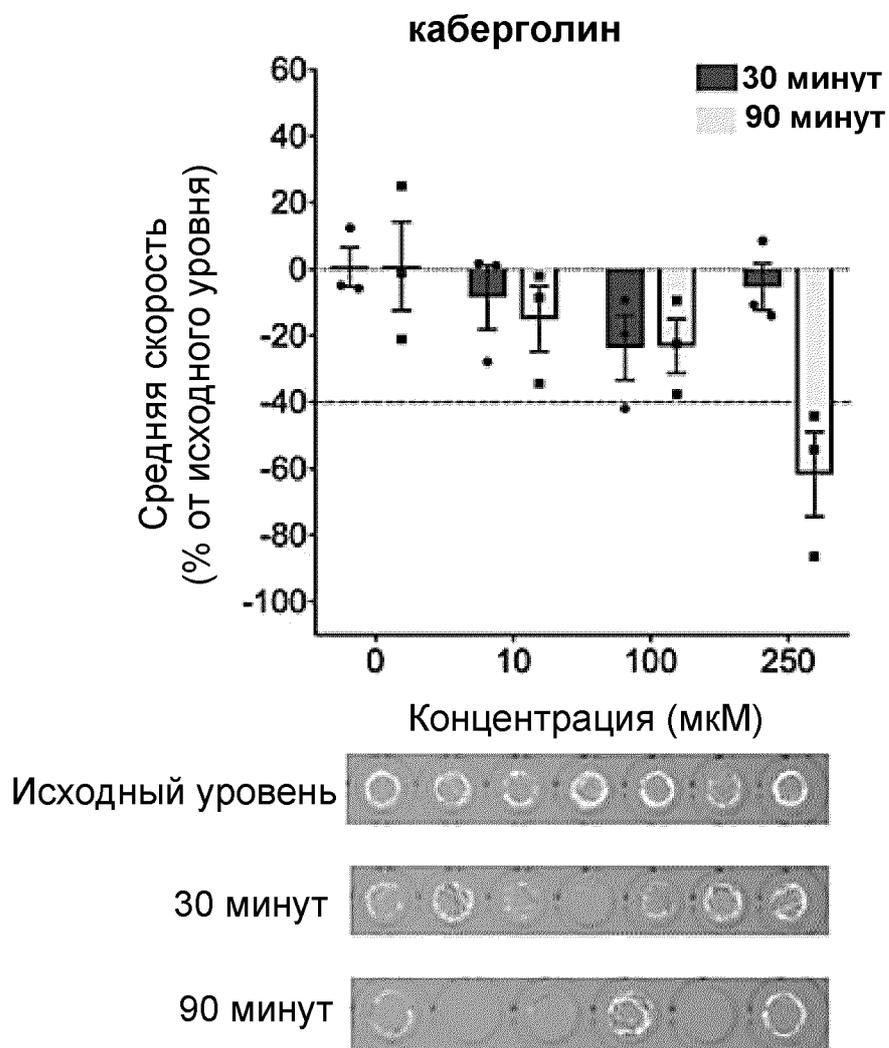
ФИГ. 5С



ФИГ. 5D



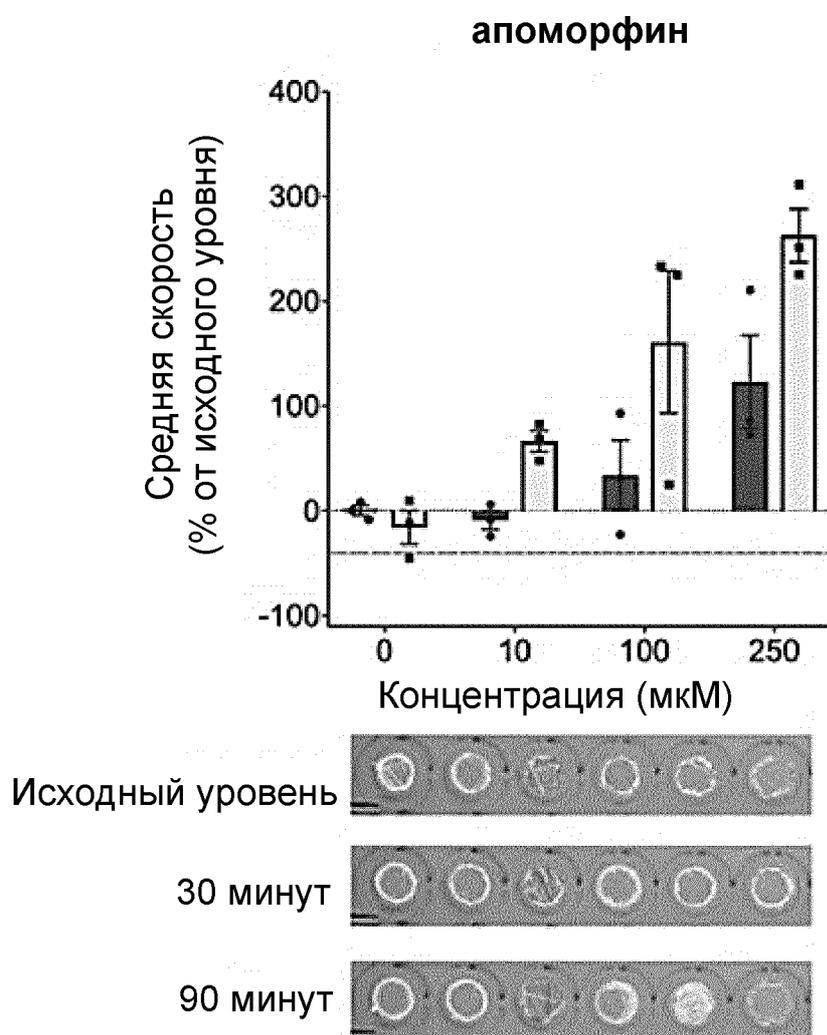
ФИГ. 6А



ФИГ. 6В



ФИГ. 6С



ФИГ. 6D

