

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291396** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.25

(51) Int. Cl. *A61K 31/472* (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.11.06

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

(31) 62/932,724

(32) 2019.11.08

(33) US

(86) PCT/US2020/059481

(87) WO 2021/092439 2021.05.14

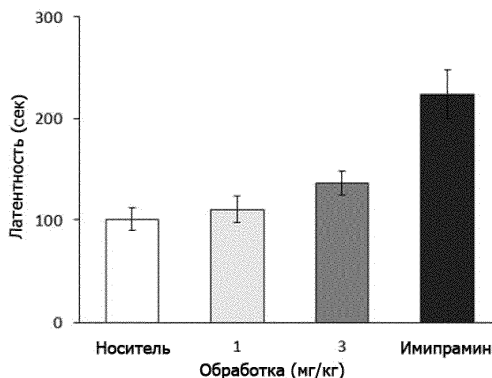
(71) Заявитель:
**КСЕНОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ
ИНК. (СА)**

(72) Изобретатель:
**Харден Синтия Луиз (US), Битч
Грегори Н. (CA)**

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) В некоторых воплощениях настоящего изобретения предусмотрены способы лечения депрессивных расстройств у человека, которые включают пероральное введение терапевтически эффективного количества N-[4-(6-фтор-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил)-2,6-диметилфенил]-3,3-диметилбутанамида (соединения А) нуждающимся в этом людям. Настоящим изобретением также предусмотрены различные усовершенствованные способы терапии и введения соединения А.

Соединение А – латентность до неподвижности



A1

202291396

202291396

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

Уровень техники

Депрессивные расстройства затрагивают более 20 миллионов взрослых в США. Депрессивные расстройства характеризуются грустью, которая достаточно сильна или достаточно постоянна и мешает выполнению функций, а также снижением интереса или удовольствия от деятельности. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Ed. (DSM-5), классифицирует некоторые депрессивные расстройства по конкретным симптомам, как-то большое депрессивное расстройство (часто называемое большой депрессией) или стойкое депрессивное расстройство (дистимия), а другие – по этиологии, как-то предменструальное дисфорическое расстройство, депрессивные расстройства, вызванные другими заболеваниями, или депрессивные расстройства, вызванные химическими веществами/лекарствами. Другой тип депрессивных расстройств включает биполярные расстройства (маниакально-депрессивный психоз). Точные причины депрессивных расстройств неизвестны, но известно, что этому способствуют генетические и экологические факторы.

Первоочередная терапия депрессивных расстройств обычно включает одно или несколько из средств поддержки, психотерапии и антидепрессантов. Для лечения депрессивных расстройств можно использовать несколько классов лекарств и препаратов, как-то селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (SSRI), модуляторы серотонина (5-HT₂-блокаторы), ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (SNRI), ингибиторы обратного захвата норадреналина и дофамина, атипичные антидепрессанты, трициклические антидепрессанты, ингибиторы моноаминоксидазы (MAOI), мелатонинергические антидепрессанты и кетамин-подобные препараты, причем зачастую предпочтительными препаратами вначале являются SSRI. Однако для многих поиски подходящих антидепрессантов для лечения депрессивных расстройств могут осуществляться методом проб и ошибок, так как некоторые антидепрессанты эффективны лишь частично и связаны с дополнительными ограничениями, включая медленное начало терапевтического действия и нежелательные побочные эффекты. Большинство разрешенных антидепрессантов имеют одни и те же серотонинергические и норадренергические пути, что ограничивает разнообразие механизмов действия и оставляет мало возможностей для улучшения результатов у пациентов или персонализированных подходов к лечению.

Вследствие большого числа пораженных взрослых, количества и сложности классификации расстройств, а также зачастую неэффективности и однородности

механизмов действия антидепрессантов первой линии в данной области сохраняется потребность в новых и эффективных способах лечения депрессивных расстройств, включая клиническую депрессию. Настоящее изобретение направлено на удовлетворение этой потребности путем обеспечения композиций и способов и применений для лечения депрессивных расстройств, а также дает и другие сопутствующие преимущества.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении описаны некоторые способы и применения низкомолекулярного соединения N-[4-(6-фтор-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил)-2,6-диметилфенил]-3,3-диметилбутанамида (именуемого здесь как “соединение А”).

В одном воплощении настоящего изобретения предусмотрен способ лечения депрессивных расстройств у нуждающихся в этом людей, включающий введение им терапевтически эффективного количества соединения А. В некоторых случаях депрессивное расстройство при лечении введением соединения А представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD), деструктивное аффективное расстройство, стойкое депрессивное расстройство, расстройство биполярного спектра, послеродовую депрессию, предменструальное дисфорическое расстройство (PMDD), сезонное аффективное расстройство (SAD), атипичную депрессию, терапевтически резистентную депрессию (TRD), депрессию, связанную с возбуждением или тревогой, нарушение адаптации с депрессивным настроением, длительную депрессивную реакцию либо их комбинацию. В некоторых воплощениях депрессивное расстройство при лечении введением соединения А представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD).

В одном дополнительном воплощении способ лечения депрессивных расстройств, включающий введение терапевтически эффективного количества соединения А, также включает усиление открывания калиевых каналов Kv7 у человека.

В другом воплощении настоящего изобретения предусмотрен способ открывания или усиления открывания калиевых каналов Kv7 у человека, включающий введение ему терапевтически эффективного количества соединения А, причем у этого человека имеется депрессивное расстройство типа описанных здесь.

В некоторых аспектах калиевый канал Kv7 представляет собой один или несколько из каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 или Kv7.5. В некоторых случаях открывание или усиление открывания одного или нескольких калиевых каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 или Kv7.5 является избирательным по сравнению с Kv7.1. В других случаях способ включает открывание или усиление открывания калиевых каналов Kv7.2/Kv7.3 (KCNQ2/3).

В одном воплощении настоящего изобретения предусмотрен способ лечения депрессивных расстройств у нуждающегося в этом человека, в котором этому человеку

перорально вводится соединение А. В некоторых случаях пероральное введение человеку включает дозы от 2 до 200 мг соединения А за одно введение. В других случаях пероральное введение человеку включает дозы в 5-1000 мг в сутки.

Соединение А представляет собой низкомолекулярное соединение, которое сейчас исследуется на предмет использования для лечения судорожных расстройств, а его применение в качестве модулятора калиевых каналов описано в U.S. Patent Nos. 8,293,911 и 8,993,593, а также в U.S. Application Serial Nos. 16/409,684 и 16/410,851, содержание которых включено сюда путем ссылки во всей полноте.

Эти и другие аспекты настоящего изобретения станут ясными при обращении к последующему подробному описанию. С этой целью в нем приведены различные ссылки, в которых более подробно описана определенная исходная информация и процедуры, причем каждая из них включена сюда путем ссылки во всей полноте.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 представлены результаты испытания на вынужденное плавание у мышей, включая графики среднего времени от латентного периода (сек, по оси у) до неподвижности, при введении носителя, 1 мг/кг соединения А, 3 мг/кг соединения А и различных доз имипрамина (по оси х).

На фиг. 2 представлены результаты испытания на вынужденное плавание у мышей, включая графики среднего времени в неподвижности (2-6 мин) (сек, по оси у), при введении носителя, 1 мг/кг соединения А, 3 мг/кг соединения А и различных доз имипрамина (по оси х).

На фиг. 3 представлены результаты испытания на вынужденное плавание у мышей, включая графики среднего времени в неподвижности (0-6 мин) (сек, по оси у), при введении носителя, 1 мг/кг соединения А, 3 мг/кг соединения А и различных доз имипрамина (по оси х).

На фиг. 4 представлены графики концентрации соединения А в плазме и головном мозге (мкМ, по оси у) для дозировки в 1 мг/кг и 3 мг/кг (по оси х).

Раскрытие сущности изобретения

В настоящем изобретении представлены новые и усовершенствованные способы и применения для соединения А, в частности, для лечения депрессивных расстройств, путем введения соединения А нуждающемуся в этом человеку-пациенту, в том числе перорально.

В дальнейшем описании приводятся некоторые конкретные подробности с тем, чтобы обеспечить полное понимание различных воплощений. Однако специалистам в

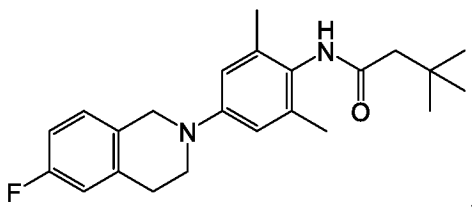
данной области должно быть понятно, что описанные здесь способы и применения на практике могут применяться и без этих подробностей. В других случаях не показаны и не описаны подробно хорошо известные конструкции, чтобы избежать излишней усложненности описания воплощений. Если по контексту не требуется иначе, во всем нижеследующем описании и формуле изобретения слово “включать” и его варианты типа “включает” и “включающий” следует понимать в открытом, включительном смысле, то есть как “включает, но без ограничения”. Кроме того, приведенные здесь заголовки предназначены только для удобства и не определяют объем или смысловой наполненности заявленного изобретения.

Ссылка в настоящем описании на “одно воплощение” или “одно из воплощений” означает то, что определенный признак, структура или характеристика, описанные в связи с этим воплощением, входит по меньшей мере в одно воплощение. Таким образом, появление фраз “в одном воплощении” или “в одном из воплощений” в различных местах по всему описанию не обязательно относится к одному и тому же воплощению. Кроме того, определенные признаки, структуры или характеристики могут комбинироваться любым подходящим образом в одном или нескольких воплощениях. Кроме того, при употреблении в данном описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают и значения множественного числа, если из содержания четко не требуется иначе. Также следует отметить, что термин “или” обычно применяется в значении, включающем “и/или”, если из содержания четко не требуется иначе.

Определения

В настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения, если не указано иначе, следующие термины и сокращения имеют указанные значения.

“Соединение А” означает соединение по следующей формуле:



которое имеет химическое название N-[4-(6-фтор-3,4-дигидро-1H-изохинолин-2-ил)-2,6-диметилфенил]-3,3-диметилбутанамид. Получение соединения А и его применение в качестве открывателя Kv7.2/Kv7.3 (KCNQ2/3) раскрыто в U.S. Patent Nos. 8,293,911 и 8,993,593, а также в U.S. Application Serial Nos. 16/409,684 и 16/410,851. Соединение А отличается от большинства известных противосудорожных средств тем, что оно потенцирует и усиливает открывание потенциал-зависимых калиевых каналов Kv7.2 и Kv7.3 (Kv7.2/Kv7.3), которые важны для контроля возбудимости нейронов.

Соединение А применяется в описанных здесь способах и применениях.

“Терапевтически эффективное количество” в настоящем изобретении означает такое количество соединения А, которое достаточно для лечения указанного заболевания, нарушения или состояния либо обладает требуемым указанным действием на это заболевание, нарушение или состояние либо на один или несколько механизмов, лежащих в основе этого заболевания, нарушения или состояния у человека-субъекта. В некоторых воплощениях при введении соединения А для лечения депрессивного расстройства терапевтически эффективное количество означает такое количество соединения А, которое при введении человеку лечит или облегчает депрессивное расстройство у человека или проявляет ощутимый терапевтический эффект у человека с депрессивным расстройством. Этот эффект может обнаруживаться, к примеру, по снижению количества депрессивных эпизодов или по снижению тяжести депрессивных эпизодов.

“Лечение” в настоящем изобретении означает такое терапевтическое воздействие, связанное с введением соединения А, которое ослабляет указанное заболевание, нарушение или состояние либо один или несколько механизмов, лежащих в основе этого заболевания, нарушения или состояния, включая замедление или прекращение развития этого заболевания, нарушения или состояния либо одного или нескольких механизмов, лежащих в его основе у человека-субъекта. В некоторых воплощениях при введении соединения А для лечения депрессивного расстройства лечение означает терапевтическое воздействие для замедления или прекращения развития депрессивного расстройства и/или регрессии депрессивного расстройства. Регрессия депрессивного расстройства отличается от терапевтического воздействия, замедляющего или останавливающего депрессивное расстройство, тем, что в способе регрессии не только прекращается развитие депрессивного расстройства, но и клеточное поведение в некоторой степени приближается к нормальному состоянию, которое наблюдалось бы при отсутствии депрессивного расстройства. В некоторых воплощениях лечение депрессивного расстройства, включающее введение соединения А, сопровождается изменением клеточной активности одного или нескольких калиевых каналов Kv7 (напр., Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 и/или Kv7.5, особенно Kv7.2 и/или Kv7.3, необязательно в сравнении с Kv7.1) до нормального уровня, который наблюдался бы при отсутствии депрессивного расстройства.

“После еды” означает состояние потребления пищи в течение периода времени от 4 часов до перорального введения эффективного количества (напр., в пределах терапевтически эффективного диапазона доз) соединения А до 4 часов после введения соединения А. Пища может быть твердой, жидкой или смесью твердой и жидкой пищи с

достаточным объемом и содержанием жира с тем, чтобы она не растворялась и не всасывалась быстро в желудке. В некоторых случаях еда представляет собой прием пищи типа завтрака, обеда, ужина или же детское питание (напр., смесь или грудное молоко). Терапевтически эффективное количество соединения А может перорально вводиться субъекту, к примеру, за 30 минут до или через 2 часа после приема пищи, а наиболее предпочтительно стандартная доза соединения А вводится перорально во время еды или в пределах 15 минут после приема пищи.

“Натощак” означает состояние без приема пищи в период времени от по меньшей мере 4 часов до перорального введения терапевтически эффективного количества соединения А до 4 часов после введения соединения А.

Воплощения

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предусмотрен способ лечения депрессивных расстройств у нуждающегося в этом человека, включающий введение им (напр., перорально) терапевтически эффективного количества соединения А. В некоторых случаях депрессивное расстройство при лечении, включающем введение соединения А, представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD), деструктивное аффективное расстройство, стойкое депрессивное расстройство, расстройство биполярного спектра, послеродовую депрессию, предменструальное дисфорическое расстройство (PMDD), сезонное аффективное расстройство (SAD), атипичную депрессию, терапевтически резистентную депрессию (TRD), депрессию, связанную с возбуждением или тревогой либо их комбинацию. В некоторых воплощениях количество вводимого соединения А достаточно для снижения тяжести депрессивного расстройства, частоты депрессивного расстройства или того и другого. В некоторых воплощениях депрессивное расстройство при лечении, включающем введение соединения А, представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD).

В некоторых воплощениях способ лечения депрессивных расстройств введением терапевтически эффективного количества соединения А включает усиление открывания калиевых каналов Kv7 у человека.

В других воплощениях настоящего изобретения предусмотрен способ лечения обсессивно-компульсивного расстройства (OCD), панического расстройства, социального тревожного расстройства, социальной фобии, агорафобии, агорафобии с паническим расстройством, ипохондрии, посттравматического стрессового расстройства (PTSD), терапевтически резистентного биполярного расстройства, генерализованного тревожного расстройства, синдрома дефицита внимания/гиперактивности (ADHD), биполярного расстройства I, биполярного расстройства II, маниакального расстройства,

циклотимического расстройства, биполярного расстройства без дополнительных уточнений, дистимического расстройства, депрессивного расстройства без дополнительных уточнений, легкой депрессии, рекуррентного кратковременного депрессивного расстройства, психоза депрессивного типа, нарушения контроля импульсивности, шизофрении, шизофреноподобного расстройства, шизоаффективного расстройства, болезни Паркинсона, деменции, болезни Альцгеймера, болезни Гентингтона, синдрома Туретта, агрессивности и употребления и/или злоупотребления психоактивных веществ либо их комбинации, включающий введение терапевтически эффективного количества соединения А нуждающимся в этом людям.

В некоторых воплощениях настоящего изобретения предусмотрен способ или применение, включающее открывание или усиление открывания калиевых каналов Kv7 типа калиевых каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 и/или Kv7.5, в частности калиевых каналов Kv7.2/Kv7.3 (KCNQ2/3) у нуждающегося в этом человека путем введения эффективного количества соединения А. В некоторых таких воплощениях у человека имеется депрессивное расстройство типа описанных здесь.

В некоторых случаях описанный здесь способ или применение включает открывание или усиление открывания калиевых каналов Kv7 типа одного или нескольких из каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 или Kv7.5 по сравнению с Kv7.1. В некоторых воплощениях способ или применение является избирательным для Kv7.2 по сравнению с Kv7.1. В других воплощениях способ или применение является избирательным для Kv7.3 по сравнению с Kv7.1. Еще в других воплощениях способ или применение является избирательным для Kv7.4 по сравнению с Kv7.1. А еще в других воплощениях способ или применение является избирательным для Kv7.5 по сравнению с Kv7.1. В некоторых воплощениях способ или применение является избирательным для Kv7.2 и Kv7.3 по сравнению с Kv7.1. В некоторых воплощениях способ или применение является избирательным для Kv7.2 и Kv7.3 по сравнению с другими калиевыми каналами Kv7. В некоторых воплощениях способ или применение является избирательным для Kv7.2 и Kv7.3 по сравнению с Kv7.4 и Kv7.5.

В одном воплощении описанные здесь способы и применения типа способа или применения при лечении депрессивных расстройств у нуждающихся в этом людей осуществляются путем введения (напр., перорально) терапевтически эффективного количества соединения А типа от 0,05 мг/кг до 2,0 мг/кг. Более конкретно типичные количества включают 0,05 мг/кг, 0,10 мг/кг, 0,20 мг/кг, 0,30 мг/кг, 0,40 мг/кг, 0,5 мг/кг, 0,6 мг/кг, 0,7 мг/кг, 0,80 мг/кг, 0,90 мг/кг, 1,0 мг/кг, 1,1 мг/кг, 1,2 мг/кг, 1,3 мг/кг, 1,4 мг/кг, 1,5 мг/кг, 1,6 мг/кг, 1,7 мг/кг, 1,8 мг/кг, 1,9 мг/кг и 2,0 мг/кг или количества в любом

диапазоне между двумя из вышеприведенных значений. В некоторых аспектах способ или применение включает введение (напр., перорально) 0,1-1,0 мг/кг соединения А. В некоторых аспектах способ включает введение (напр., перорально) 0,2-0,5 мг/кг соединения А.

В некоторых воплощениях описанные здесь способы и применения типа способа или применения при лечении депрессивных расстройств у нуждающихся в этом людей осуществляются путем введения (напр., перорально) терапевтически эффективного количества соединения А типа 2-200 мг соединения А в виде одной дозы или дробными дозами. Например, способ может включать введение (напр., перорально) в виде одной дозы или дробными дозами около 2 мг, или около 3 мг, или около 4 мг, или около 5 мг, или около 6 мг, или около 7 мг, или около 8 мг, или около 9 мг, или около 10 мг, или около 11 мг, или около 12 мг, или около 13 мг, или около 14 мг, или около 15 мг, или около 16 мг, или около 17 мг, или около 18 мг, или около 19 мг, или около 20 мг, или около 21 мг, или около 22 мг, или около 23 мг, или около 24 мг, или около 25 мг, или около 26 мг, или около 27 мг, или около 29 мг, или около 30 мг, или около 31 мг, или около 32 мг, или около 33 мг, или около 34 мг, или около 35 мг, или около 36 мг, или около 37 мг, или около 38 мг, или около 39 мг, или около 40 мг, или около 41 мг, или около 42 мг, или около 43 мг, или около 44 мг, или около 45 мг, или около 46 мг, или около 47 мг, или около 48 мг, или около 49 мг, или около 50 мг, или около 51 мг, или около 52 мг, или около 53 мг, или около 54 мг, или около 55 мг, или около 56 мг, или около 57 мг, или около 58 мг, или около 59 мг, или около 60 мг, или около 61 мг, или около 62 мг, или около 63 мг, или около 64 мг, или около 65 мг, или около 66 мг, или около 67 мг, или около 68 мг, или около 69 мг, или около 70 мг, или около 71 мг, или около 72 мг, или около 73 мг, или около 74 мг, или около 75 мг, или около 76 мг, или около 77 мг, или около 78 мг, или около 79 мг, или около 80 мг, или около 81 мг, или около 82 мг, или около 83 мг, или около 84 мг, или около 85 мг, или около 86 мг, или около 87 мг, или около 88 мг, или около 89 мг, или около 90 мг, или около 91 мг, или около 92 мг, или около 93 мг, или около 94 мг, или около 95 мг, или около 96 мг, или около 97 мг, или около 98 мг, или около 99 мг, или около 100 мг, или около 101 мг, или около 102 мг, или около 103 мг, или около 104 мг, или около 105 мг, или около 106 мг, или около 107 мг, или около 108 мг, или около 109 мг, или около 110 мг, или около 111 мг, или около 112 мг, или около 113 мг, или около 114 мг, или около 115 мг, или около 116 мг, или около 117 мг, или около 118 мг, или около 119 мг, или около 120 мг, или около 121 мг, или около 122 мг, или около 123 мг, или около 124 мг, или около 125 мг, или около 126 мг, или около 127 мг, или около 129 мг, или около 130 мг, или около 131

мг, или около 132 мг, или около 133 мг, или около 134 мг, или около 135 мг, или около 136 мг, или около 137 мг, или около 138 мг, или около 139 мг, или около 140 мг, или около 141 мг, или около 142 мг, или около 143 мг, или около 144 мг, или около 145 мг, или около 146 мг, или около 147 мг, или около 148 мг, или около 149 мг, или около 150 мг, или около 151 мг, или около 152 мг, или около 153 мг, или около 154 мг, или около 155 мг, или около 156 мг, или около 157 мг, или около 158 мг, или около 159 мг, или около 160 мг, или около 161 мг, или около 162 мг, или около 163 мг, или около 164 мг, или около 165 мг, или около 166 мг, или около 167 мг, или около 168 мг, или около 169 мг, или около 170 мг, или около 171 мг, или около 172 мг, или около 173 мг, или около 174 мг, или около 175 мг, или около 176 мг, или около 177 мг, или около 178 мг, или около 179 мг, или около 180 мг, или около 181 мг, или около 182 мг, или около 183 мг, или около 184 мг, или около 185 мг, или около 186 мг, или около 187 мг, или около 188 мг, или около 189 мг, или около 190 мг, или около 191 мг, или около 192 мг, или около 193 мг, или около 194 мг, или около 195 мг, или около 196 мг, или около 197 мг, или около 198 мг, или около 199 мг, или около 200 мг, либо введение (напр., перорально) в любом диапазоне между двумя из вышеприведенных значений. В некоторых аспектах способ или применение включает пероральное введение 5-50 мг соединения А в виде одной дозы или дробными дозами. В некоторых аспектах способ или применение включает пероральное введение 10, 20 или 25 мг соединения А в виде одной дозы или дробными дозами. В некоторых аспектах способ или применение включает пероральное введение 20 мг соединения А в виде одной дозы или дробными дозами.

В некоторых аспектах описанные здесь способы и применения типа способа или применения при лечении депрессивных расстройств у нуждающегося в этом человека осуществляют путем введения (напр., перорально) по меньшей мере 20 мг соединения А, например, по меньшей мере 25, 30, 35, 50, 75 или 100 мг соединения А. В некоторых воплощениях описанные здесь способы и применения типа способа или применения при лечении депрессивных расстройств у нуждающегося в этом человека осуществляют путем введения (напр., перорально) по меньшей мере 50 мг соединения А в сутки, например, по меньшей мере 60, 75, 85, 100, 125, 150, 175 или 200 мг соединения А в сутки.

В некоторых воплощениях описанные здесь способы и применения типа способа или применения при лечении депрессивных расстройств у нуждающегося в этом человека осуществляют путем введения (напр., перорально) терапевтически эффективного количества соединения А в сутки типа 5-1000 мг соединения А в сутки, либо 5-500 мг или 5-250 мг соединения А в сутки. Например, способ или применение может включать введение (напр., перорально) около 5 мг, или около 10 мг, или около 15 мг, или около 20

мг, или около 25 мг, или около 30 мг, или около 35 мг, или около 40 мг, или около 45 мг, или около 50 мг, или около 55 мг, или около 60 мг, или около 65 мг, или около 70 мг, или около 75 мг, или около 80 мг, или около 85 мг, или около 90 мг, или около 95 мг, или около 100 мг, или около 105 мг, или около 110 мг, или около 115 мг, или около 120 мг, или около 125 мг, или около 130 мг, или около 135 мг, или около 140 мг, или около 145 мг, или около 150 мг, или около 155 мг, или около 160 мг, или около 165 мг, или около 170 мг, или около 175 мг, или около 180 мг, или около 185 мг, или около 190 мг, или около 195 мг, или около 200 мг, или около 205 мг, или около 210 мг, или около 215 мг, или около 220 мг, или около 225 мг, или около 230 мг, или около 235 мг, или около 240 мг, или около 245 мг, или около 250 мг, или около 255 мг, или около 260 мг, или около 265 мг, или около 270 мг, или около 275 мг, или около 280 мг, или около 285 мг, или около 290 мг, или около 295 мг, или около 300 мг, или около 305 мг, или около 310 мг, или около 315 мг, или около 320 мг, или около 325 мг, или около 330 мг, или около 335 мг, или около 340 мг, или около 345 мг, или около 350 мг, или около 355 мг, или около 360 мг, или около 365 мг, или около 370 мг, или около 375 мг, или около 380 мг, или около 385 мг, или около 390 мг, или около 395 мг, или около 400 мг, или около 405 мг, или около 410 мг, или около 415 мг, или около 420 мг, или около 425 мг, или около 430 мг, или около 435 мг, или около 440 мг, или около 445 мг, или около 450 мг, или около 455 мг, или около 460 мг, или около 465 мг, или около 470 мг, или около 475 мг, или около 480 мг, или около 485 мг, или около 490 мг, или около 495 мг, или около 500 мг, или около же 1000 мг соединения А в сутки либо введение количества в сутки (напр., перорально) в любом диапазоне между двумя из вышеприведенных значений. В некоторых аспектах способ или применение включает пероральное введение 10-200 мг соединения А в сутки, например, от 10, 15, 20, 25, 30, 35 или 40 мг до 75, 100, 125, 150, 175 или 200 мг соединения А в сутки, включая от 20 до 150 мг в сутки. В некоторых аспектах пероральное введение включает 50, 75, 100 или 125 мг соединения А в сутки типа 100 мг в сутки.

В некоторых случаях приведенные выше суточные дозы соединения А вводят (напр., перорально) в виде нескольких доз в сутки, например, в виде двух, трех, четырех или пяти доз в сутки. Например, суточная доза в 100 мг может вводиться в виде пяти доз по 20 мг, четырех доз по 25 мг, трех доз по 33,3 мг или двух доз по 50 мг за все сутки.

В некоторых воплощениях приведенные выше суточные дозы соединения А вводятся (напр., перорально) в виде разовой дозы. Например, можно вводить перорально в виде разовой дозы от 5, 10, 15, 20, 25 или 30 мг до 50, 65, 75, 100, 125 или 150 мг соединения А в сутки, включая 10-25 мг, 10-30 мг и 10-40 мг в сутки в виде разовой дозы

типа 10-25 мг в сутки в виде разовой дозы. При этом любые дозы соединения А, приведенные в предыдущих абзацах, могут быть заключены в стандартные дозовые формы.

В некоторых воплощениях описанных здесь способов и применений при использовании приведенных здесь суточных доз достигается стационарное состояние для соединения А в пределах 6-9 дней, например, примерно за 1 неделю.

В других воплощениях вышеприведенные способы и применения при лечении депрессивных расстройств путем введения (напр., перорально) терапевтически эффективного количества соединения А включают введение соединения А человеку после еды. В некоторых воплощениях пероральное введение соединения А человеку после еды (т.е. с едой или во временной близости от приема пищи) значительно повышает биодоступность и экспозицию соединения А по сравнению с пероральным введением соединения А человеку натощак (т.е. без еды или вне временной близости к приему пищи). В некоторых воплощениях при пероральном введении соединения А человеку после еды повышается один или несколько фармакокинетических параметров соединения А (напр., C_{max} , AUC_{inf} , T_{max} , $t_{1/2}$ и др.) по сравнению с пероральным введением такого же количества соединения А человеку натощак.

В некоторых воплощениях описанных здесь способов и применений соединение А вводится в виде фармацевтически приемлемой пероральной композиции, содержащей соединение А и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей или наполнителей. Количество соединения А, включенного в эти композиции, может соответствовать одному или нескольким количествам, описанным здесь. В некоторых воплощениях эти композиции представляют собой одоразовую дозу.

Примеры фармацевтически приемлемых пероральных композиций, содержащих соединение А, включают твердые формы (например, таблетки, капсулы, пастилки, драже, гранулы, порошки, облатки, составные формы и пленки), жидкие формы (как-то водные растворы, эликсиры, настойки, взвеси, суспензии и дисперсии) и аэрозольные формы (как-то аэрозоли и спреи). В одном воплощении фармацевтически приемлемые пероральные композиции соединения А включают педиатрические суспензии или грануляты. Такие формы могут содержать все вышеуказанные количества соединения А, напр., капсулы могут содержать по 5, 10, 15, 10, 25, 30 или 35 мг соединения А.

В другом воплощении предусмотрены наборы для перорального введения соединения А для лечения депрессивных расстройств при пероральном введении. Такие наборы содержат несколько пероральных стандартных дозовых форм соединения А в сочетании с инструкциями по пероральному введению соединения А.

Здесь описаны и другие воплощения и примеры настоящего изобретения. Эти воплощения и примеры приводятся для иллюстрации и не должны рассматриваться как ограничивающие объем заявленного изобретения.

ПРИМЕРЫ

Проводили исследования для определения действия соединения А на модели поведенческого отчаяния у грызунов (т.е. тест на вынужденное плавание у мышей). Также определяли общее соотношение соединения А в мозге и плазме при испытании на вынужденное плавание. В других исследованиях определяли действие, если оно есть, соединения А на общепринятых моделях депрессии.

Пример 1. Испытание на вынужденное плавание у мышей

Цель. Исследование для оценки возможного действия соединения А в испытании на вынужденное плавание на мышах. Тест на вынужденное плавание является моделью поведенческого отчаяния и чувствителен к обнаружению различных классов антидепрессантов (Can et al., The mouse forced swim test. J. Vis. Exp. 2012 (59), e3638, DOI:10.3791/3638).

План исследования. Сорок (40) самцов мышей CD-1 получали 1-недельный период акклиматизации в испытательном центре перед началом тестирования (сводка по событиям в табл. 1). Животных размещали по 5 мышей на клетку с неограниченным доступом к корму для грызунов и воде (SOP ROD.03.01, SOP ROD.04.01, SOP ROD.18) и содержали с циклом свет/темнота 12 ч/12 ч, при этом вся экспериментальная активность происходила во время светового цикла животных. Все процедуры на животных выполнялись в соответствии с принципами Канадского совета по уходу за животными (CCAC).

Таблица 1. Сводка по событиям в исследовании

День исследования	Главное событие	Процедура
-3	прибытие животных	акклиматизация в виварии
0	испытание на вынужденное плавание	общая проверка здоровья и массы тела; тест на вынужденное плавание; получение крови и мозга животных (n = 20), получавших соединение А

Препарат соединения А. Соединение А (чистотой 99,4%) взвешивали (без поправки на чистоту) и растворяли в ДМСО при предполагаемой 20-кратной конечной концентрации. Исходный 20-кратный раствор соединения А в ДМСО разбавляли в 20 раз 0,5% раствором метилцеллюлозы в воде до требуемой конечной концентрации. Когда соединение А осаждалось в виде мелкодисперсной суспензии, при перемешивании или на вибромешалке получалась гомогенная суспензия. Такие препараты хранили при

комнатной температуре и перемешивали непрерывно или перемешивали на вибромешалке перед введением каждой дозы. Исследуемые препараты приведены в таблице 2.

Таблица 2. Исследуемые препараты

Исследуемый препарат	BEW	Доза	Способ введения	Ppt ¹	Объем дозы	Носитель
Соединение А	1	1 и 3 мг/кг	в/б	30 мин	10 мл/кг	5% ДМСО, 0,5% метилцеллюлоза ² в воде обратного осмоса; вязкость: 400 сП
Имипрамин ³	1,13	30 мг/кг	в/б	30 мин	10 мл/кг	физиологический раствор

¹ Время предварительной обработки; ² Sigma-Aldrich, кат. № M0430 (соответствует спецификациям испытаний фармакопеи США); ³ Имипрамин – известный трициклический антидепрессант, который также может уменьшать симптомы возбуждения и тревоги.

Испытание на вынужденное плавание. Сорок (40) самцов мышей CD-1 получали соответствующую дозу носителя, исследуемого препарата или положительного контроля (обработки приведены в таблице 3). По истечении определенного времени предварительной обработки (Can et al., 2012) животных осторожно помещали в высокие стеклянные цилиндры, наполненные водой (20-25°C). После периода активной деятельности мыши принимали характерную и легко идентифицируемую неподвижную позу. Тест на плавание включал оценку продолжительности неподвижности. В течение 6-минутного сеанса испытания регистрировали латентность до первой неподвижности (в секундах). Также измеряли продолжительность неподвижности (в секундах) за последние 4 минуты испытания. Активность или бездействие в период 0–2 минут не регистрировали.

Таблица 3. Сводка по опытным группам

Группа	Обработка	Способ введения	Ptt	Объем дозы	Размер группы
A	носитель	в/б	30 мин	10 мл/кг	n = 10
B	соединение А (1 мг/кг)	в/б	30 мин	10 мл/кг	n = 10
C	соединение А (3 мг/кг)	в/б	30 мин	10 мл/кг	n = 10
D	имипрамин (30 мг/кг)	в/б	30 мин	10 мл/кг	n = 10

Результаты. Результаты испытания на вынужденное плавание представлены в таблице 4 и на фиг. 1-3.

Таблица 4. Результаты испытания на вынужденное плавание

Группа	Животное	Обработка	Латентность до не- подвижности (сек)	Время в неподвижности (сек)		
				0–2 мин	2–6 мин	0–6 мин
	A1		80	39	222	261
	A2		106	13	226	239
	A3		200	0	188	188
А	A4	носитель	79	38	209	247
	A5		91	22	119	141
	A6		90	20	148	168
	A7		99	20	190	210
	A8		91	5	199	204
	A9		79	15	121	136
	A10		93	24	192	216
среднее значение			100,8	19,6	181,4	201,0
стандартное отклонение			11,4	3,9	12,3	13,6
В	B1	соединение А (1 мг/кг)	77	32	142	174
	B2		84	28	170	198
	B3		206	0	33	33
	B4		100	16	109	125
	B5		70	20	149	169
	B6		109	4	192	196
	B7		144	0	134	134
	B8		105	7	189	196
	B9		130	0	141	141
	B10		80	20	150	170
среднее значение			110,5	12,7	140,9	153,6
стандартное отклонение			13,0	3,8	14,4	15,8
С	C1	соединение А (3 мг/кг)	135	0	166	166
	C2		165	0	144	144
	C3		155	0	122	122
	C4		86	23	184	207
	C5		150	0	82	82
	C6		127	0	146	146
	C7		192	0	101	101
	C8		162	0	90	90
	C9		83	21	163	184
	C10		105	15	166	181
среднее значение			136,0	5,9	136,4	142,3
стандартное отклонение			11,3	3,1	11,3	13,5
D	D1	имипрамин (30 мг/кг)	224	0	32	32
	D2		213	0	45	45
	D3		180	0	63	63
	D4		169	0	133	133
	D5		215	0	84	84
	D6		350	0	10	10
	D7		163	0	126	126
	D8		244	0	42	42
	D9		360	0	0	0
	D10		126	0	102	102
среднее значение			224,4	0,0	63,7	63,7
стандартное отклонение			24,3	0,0	14,7	14,7

Статистический анализ. Результаты в таблице 4 проверяли на значимость по Т-критерию, однофакторным тестам и критерию Даннета, как показано в табл. 5-14.

Таблица 5. Т-критерии по результатам для периода от латентности до неподвижности

	Носитель	1 мг/кг	3 мг/кг	Имипрамин
	80	77	135	224
	106	84	165	213
	200	206	155	180
	79	100	86	169
	91	70	150	215
	90	109	127	350
	99	144	192	163
	91	105	162	244
	79	130	83	360
	93	80	105	126
Т-критерий (1-сторонний)		0,290	0,021	0,000
Т-критерий (2-сторонний)		0,581	0,042	0,000

Таблица 6. Однофакторные тесты на значимость результатов для периода от латентности до неподвижности (Guadalupe)

Эффект	Ограниченная сигмой параметризация Декомпозиция эффективной гипотезы: станд. ошибка оценки 50,44372				
	SS	Степень свободы	MS	F	P
Пересечение	817102,2	1	817102,2	321,1161	0,000000
Обработка	95120,3	3	31706,8	12,4606	0,000010
Ошибка	91604,5	36	2544,6		

Таблица 7. Критерий Даннета для результатов по периоду от латентности до неподвижности (Guadalupe)

№ элемента	Вероятности для апостериорных тестов (двусторонние) Ошибка: между MSE = 2544,6, df = 36,000	
	Обработка	{1} 100,80
1	носитель	
2	1 мг	0,949581
3	3 мг	0,290085
4	имипрамин 30 мг	0,000018

Таблица 8. Т-критерии по результатам за 2–6 мин

	Носитель	1 мг/кг	3 мг/кг	Имипрамин
	222	142	166	32
	226	170	144	45
	188	33	122	63
	209	109	184	133
	119	149	82	84
	148	192	146	10
	190	134	101	126
	199	189	90	42
	121	141	163	0
	192	150	166	102
Т-критерий (1-сторонний)		0,023	0,007	0,000
Т-критерий (2-сторонний)		0,046	0,015	0,000

Таблица 9. Однофакторные тесты на значимость для результатов за 2–6 мин (Guadalupe)

Эффект	Ограниченная сигмой параметризация Декомпозиция эффективной гипотезы: станд. ошибка оценки 41,83426				
	SS	Степень свободы	MS	F	P
Пересечение	682254,4	1	682254,5	389,8361	0,000000
Обработка	71959,8	3	23986,6	13,7058	0,000004
Ошибка	63003,8	36	1750,1		

Таблица 10. Критерий Даннета для результатов за 2–6 мин (Guadalupe)

№ элемента	Вероятности для апостериорных тестов (двусторонние) Ошибка: между MSE = 1750,1, df = 36,000	
	Обработка	{1} 181,40
1	носитель	
2	1 мг	0,093513
3	3 мг	0,055570
4	имипрамин 30 мг	0,000008

Таблица 11. Т-критерии по результатам за 0–6 мин

Носитель	1 мг/кг	3 мг/кг	Имипрамин
261	174	166	32
239	198	144	45

	188	33	122	63
	247	125	207	133
	141	169	82	84
	168	196	146	10
	210	134	101	126
	204	196	90	42
	136	141	184	0
	216	170	181	102
Т-критерий (1-сторонний)		0,018	0,003	0,000
Т-критерий (2-сторонний)		0,035	0,007	0,000

Таблица 12. Однофакторные тесты на значимость для результатов за 0–6 мин (Guadalupe)

Эффект	Ограниченная сигмой параметризация Декомпозиция эффективной гипотезы: станд. ошибка оценки 41,83426				
	SS	Степень свободы	MS	F	P
Пересечение	785680,9	1	785680,9	378,2738	0,000000
Обработка	97328,5	3	32442,8	15,6199	0,000001
Ошибка	74772,6	36	2077,0		

Таблица 13. Критерий Даннета для результатов за 0–6 мин (Guadalupe)

№ ячейки	Вероятности для апостериорных тестов (двусторонние) Ошибка: между MSE = 2077,0, df = 36,000	
	Обработка	{1} 201,00
1	носитель	
2	1 мг	0,066283
3	3 мг	0,018039
4	имипрамин 30 мг	0,000008

Из таблицы 5-13 видно, что соединение А проявляет статистически значимые эффекты на модели испытания на вынужденное плавание у мышей. Например, при дозе в 3 мг/кг двусторонний Т-критерий составлял 0,042, 0,015 и 0,007 (напр., <0,05) для периода от латентности до неподвижности, результатов за 2–6 мин и 0–6 мин, соответственно.

Образцы крови и мозга. Сразу же после испытания на вынужденное плавание всех животных, получавших исследуемые препараты, анестезировали путем ингаляции изофлурана и проводили терминальный забор крови (~1 мл) посредством сердечной пункции в пробирки для сбора крови с калий-ЭДТА (SOP ROD.14.02). Из цельной крови

выделяли плазму центрифугированием при 3000 об/мин при 4°C в течение 5 минут. После выделения плазму помещали в криофлаконы и замораживали при -80°C до отправки на биоанализы. После взятия крови животных обезглавливали и извлекали весь мозг по стандартной рабочей процедуре (SOP ROD.59). Мозги взвешивали, быстро замораживали и хранили при -80°C до отправки. Концентрации соединения А в крови и мозге представлены на фиг. 4. Общее соотношение между мозгом и плазмой (соотношение В/Р) составляло 2,2 для обеих доз 1 и 3 мг/кг, что свидетельствует о хорошем проникновении в ЦНС *in vivo*.

Пример 2. Испытание на подвешивание за хвост

Испытание на подвешивание за хвост (TST) стало одной из самых широко используемых моделей для оценки антидепрессантной активности на мышах. Испытание основано на том, что животные, подвергшиеся кратковременному неизбежному стрессу при подвешивании их за хвост, принимают неподвижную позу. Методика описана в Cryan J.F. et al., *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2005, 29:571-625.

Описание. Устройство состоит из двух подвесных блоков по три клетки в каждом и позволяет одновременно тестировать шесть мышей. Каждую мышь подвешивают за хвост с помощью клейкой ленты на крючок, соединенный с тензодатчиком. Тензодатчик воспринимает все движения мыши и передает их на центральный блок, который оцифровывает сигналы. Сигналы отображаются визуально с помощью светодиодов, что позволяет в режиме реального времени проверять правильность функционирования каждого блока. В центральный блок встроено устройство фильтрации уровней (от 1 до 9), которое можно настроить на требуемую чувствительность, чтобы обеспечить максимальное различие грубых движений тела от других микродвижений животных либо их внутренних органов.

Параметры. Основным измеряемым параметром является “продолжительность неподвижности”. Она рассчитывается из суммарного времени, в течение которого движения животных не превышают порога, определяемого устройством фильтрации уровня. “Энергия”, затрачиваемая животным во время испытания, измеряется как сумма амплитуд отдельных движений в условных единицах. “Сила движений” рассчитывается как общая энергия, затраченная животным во время испытания, деленная на общее время активности животного (в условных единицах). Для всех трех параметров компьютер обеспечивает сбор данных, составление графика экспериментов (рандомизацию) и группирование результатов (для каждой опытной группы автоматически рассчитываются средние значения, медианы и SEM).

Процедура. В сутки испытания мышей переводят из помещения в виварии в

испытательную лабораторию (клетки накрывают сеткой во время транспортировки), где сетчатое покрытие немедленно снимается, а мышей оставляют в покое не менее 1 ч перед тестированием. Затем мышей обрабатывают препаратом, а затем после обработки 1 ч (п/о) или 30 мин (в/б) мышей подвешивают за хвост (напр., с помощью клейкой ленты) в устройстве TST по схеме рандомизации. Испытание длится 6 минут, чтобы получить измерения для всех трех параметров. Эксперименты проводятся с 08:00 до 12:30. Как правило, используют по 12 мышей на опытную группу.

Обработка препаратами. Соединение А и имипрамин составляют и применяют в концентрациях, описанных выше в таблице 2 из примера 1, и вводят за 30 мин до TST. Для каждого эксперимента включают по меньшей мере одну контрольную группу, которая обрабатывается и тестируется параллельно в строго идентичных экспериментальных условиях.

Статистика. Для каждого эксперимента определяют статистическую значимость параметра “продолжительность неподвижности” методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим, если нужно, апостериорным анализом с помощью критерия Даннета. Если параметры “энергия” и “сила движений” не проходят по критерию нормальности, то проводятся межгрупповые сравнения методом однофакторного дисперсионного анализа Kruskal-Wallis по рангам с последующим, если нужно, апостериорным анализом с помощью критерия Данна. Для всех трех параметров статистически значимыми считаются значения $p < 0,05$.

Пример 3. Предпочтение сахарозы и внутричерепная аутоstimуляция

Потребление сахарозы и внутричерепная аутоstimуляция (ICSS) являются гедонистическими мерами поведенческого дефицита у грызунов, вызванного хроническим легким стрессом (CMS). Методика описана в Nielsen C.K. et al., Behav. Brain Res. 2000, 107:21-33. Исследование проводится для оценки потенциальной эффективности соединения А на модели CMS.

Субъекты. Используются самцы крыс Wistar и самцы капюшонных крыс Pieball Virol Glaxo (PVG) весом 250-300 и 220-240 г, соответственно, в начале исследования. Крысы размещаются индивидуально или парами в поликарбонатных клетках и содержатся при 12-часовом цикле свет/темнота (свет включается в 06:00). За исключением того, когда это требуется для испытания, животные имеют свободный доступ к пище и воде. Автоматически контролируется температура ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), относительная влажность ($55 \pm 5\%$) и воздухообмен (16 раз в час). Во всех экспериментах еженедельно измеряется вес тела.

Обработка препаратами. Соединение А и имипрамин составляют и применяют в

концентрациях, описанных выше в таблице 2 из примера 1, ежедневно во время сеансов стресса и/или внутричерепной аутоstimуляции. Для каждого эксперимента включают по меньшей мере одну контрольную группу, которая обрабатывается и тестируется параллельно в строго идентичных экспериментальных условиях.

Режимы стресса. Используются два разных режима стресса (CMS-1 и CMS-2). Каждая неделя CMS-1 состоит из двух периодов (8 и 19 ч) лишения пищи; трех периодов (6, 7 и 19 ч) лишения воды; 2 периодов (7 и 16 ч) с наклоном клетки (45°); двух периодов парного содержания по 17 ч; одного 17-часового периода в грязной клетке (200 мл воды на 100 г подстилки из опилок); одного 6-часового периода стробоскопического освещения низкой интенсивности (150 вспышек/мин); и обратного цикла свет/темнота на 48 часов. Каждая неделя CMS-2 состоит из одного 17-часового периода лишения пищи и воды, за которым сразу следуют 2 часа ограниченного доступа к пище; одного 17-часового периода лишения воды, за которым сразу следует пустая бутылка на 1 час; одного 17-часового периода парного содержания в грязной клетке (200 мл воды на 100 г подстилки из опилок); восьми периодов по 1 ч содержания в маленьких клетках ($25 \times 10 \times 10$ см); одного периода освещения ночью; и обратного цикла свет/темнота на 64 часа в выходные дни.

Гедонистические меры

Потребление сахарозы. Крыс (крысы Wistar для некоторых экспериментов и капюшонные крысы PVG для других экспериментов) проверяют по два раза в неделю (вторник и пятница) на потребление 1% раствора сахарозы. Обследование состоит из 8-10 исходных тестов по 1 ч, при которых в их клетках присутствует раствор сахарозы, после 20-часового периода лишения пищи и воды. Потребление сахарозы измеряют путем взвешивания бутылок до и после тестирования. После стабильного исходного уровня измеряется потребление сахарозы во время протокола CMS в аналогичных условиях с недельными интервалами (по средам) на протяжении всего эксперимента. Лишение пищи и воды перед сахарозными тестами является стрессовым воздействием, на которое накладываются последующие стрессоры, включенные в режим CMS, причем предварительное стрессовое воздействие не учитывается при последующем анализе.

Внутричерепная аутоstimуляция. Крыс (крысы Wistar для некоторых экспериментов и капюшонные крысы PVG для других экспериментов) размещают парами и дают им 2 недели на акклиматизацию перед операцией. Их анестезируют и устанавливают в стереотаксическую рамку с режущим зубцом на 27 мм ниже межусной линии. В вентральную область покрышки (VTA) с одной стороны имплантируют биполярные электроды из нержавеющей стали с расстоянием между кончиками электродов в 0,5 мм. Их координаты: 3,2 мм спереди от межусной линии, 0,6 мм

латерально от средней линии и 8,2 мм вентрально от поверхности черепа. Для крепления электродного блока на черепе используются 5 винтов из нержавеющей стали и зубной цемент. Через две недели после операции каждую крысу обучают тыкать носом для получения награды в виде внутричерепной электрической стимуляции в тестовой камере, помещенной в звукопоглощающий бокс. Тыкание носом в отверстие (диаметром 2,5 см), расположенное в боковой стенке на высоте 1 см над полом, прерывает сходящийся луч света, тем самым инициируя стимуляцию мозга, подаваемую через стимулятор постоянного тока. Каждое касание носом производит серию монофазных прямоугольных волновых импульсов в течение 0,5 сек продолжительностью по 0,1 мсек каждый. Стимуляция осуществляется по графику подкрепления с фиксированным интервалом в 1 сек, чтобы избежать чрезмерной плотности стимуляции. Электростимуляция и регистрация данных контролируется через компьютер и интерфейс. Крыс сначала обучают при фиксированной частоте стимуляции 70 Гц и индивидуально подобранной силе тока (70-300 мА), чтобы поддерживать максимально возможную скорость реакции, не вызывая двигательных нарушений. Их обучают ежедневно по 40 мин в течение примерно 3 недель. После этого составляют кривые скорости от частоты путем ступенчатого изменения частоты при сохранении постоянной силы тока. С интервалом в 2 мин частоту уменьшают, а затем повышают с шагом в 0,05-0,2 логарифмических единиц в диапазоне 1,1-1,9 логарифмов Гц (10-85 Гц). Каждый сеанс включает 15 дискретных 2-минутных проб для каждой частоты при 1 инициирующей стимуляции в начале каждой пробы. Убывающая серия частот используется в качестве разминки, то есть в последующих расчетах используются только данные, полученные в возрастающей фазе. Возрастающая серия частот выбирается индивидуально с тем, чтобы получить восходящую кривую по меньшей мере с двумя соседними точками при максимальной и минимальной скорости реакции, соответственно. В данном исследовании для оценки влияния CMS на вознаграждение используется версия метода сдвига кривой «скорость-частота». Свойства зависимости скорости от частоты, в частности, в отношении разделения эффектов вознаграждения при ICSS на оперантную двигательную способность/производительность, тщательно проверялись и изучались. Поведение при ICSS оценивается путем определения эффективной частоты, при которой скорость реакции будет составлять 50% от максимальной (EF_{50}). Описана математическая модель для оценки EF_{50} по принципу «ломаной линии». Этот метод дает надежные и стабильные оценки EF_{50} . В каждый день испытаний для каждой крысы составляются кривые возрастания скорости от частоты путем моделирования наблюдаемой скорости реакции (тычки носом (NP): 2-минутная проба) в зависимости от $\log_{10}$ задаваемой частоты (F). Эта

зависимость состоит из трех линейных сегментов: горизонтальной нижней асимптоты через минимальную реакцию ($NP_{\min}$), горизонтальной верхней асимптоты через максимальную реакцию ($NP_{\max}$) и линейного перехода между этими асимптотами ($a + b \times F$). Включаются только данные (M) между последней $NP_{\min}$ и первой $NP_{\max}$. Это можно описать следующими уравнениями:

$$(1) \quad \text{пусть } M = \{(F, NP(F)) | \max\{F | NP(F) = NP_{\min}\} \leq F \leq \min\{F | NP(F) = NP_{\max}\}\},$$

(2) подбираем $f(F) = \min(\max(a + b \times F, NP_{\min}), NP_{\max})$ по данным из M методом наименьших квадратов. В случае неоднозначности используется функция с наименьшим значением b .

Определяется эффективная частота (EF_{50}), определяемая как частота, при которой скорость реакции составляет 50% от максимальной. Латеральный сдвиг кривой вдоль оси частот при моделировании, то есть изменение EF_{50} , будет отражать изменения в эффективности вознаграждения при стимуляции. Два раза в неделю (вторник и пятница) проводится тестирование по скорости от частоты. Стабильный ответ достигается, когда максимальная реакция не проявляет тенденции к возрастанию или убыванию, а EF_{50} варьируется менее чем на 10-12%. После этого животных разбивают на две равные группы.

План экспериментов

Влияние на потребление сахарозы у крыс Wistar под воздействием режима CMS-1 (см. выше). Крыс Wistar доставляют в лабораторию за 4 недели до начала эксперимента. За исключением того, когда это требуется по методике стресса, животных размещают поодиночке. В соответствии с исходным уровнем потребления сахарозы животных разбивают на две равные группы. Одна группа крыс подвергается CMS-1 в течение 6 недель, а другая группа содержится в стандартных лабораторных условиях.

Влияние на потребление сахарозы у капюшонных крыс PVG под воздействием режима CMS-1 (см. выше). Капюшонных крыс PVG доставляют в лабораторию за 3 недели до начала эксперимента. За исключением того, когда это требуется по методике стресса, животных размещают поодиночке. В соответствии с исходным уровнем потребления сахарозы животных разбивают на две равные группы. Одна группа крыс подвергается CMS-1 в течение 9 недель, а другая группа содержится в стандартных лабораторных условиях.

Влияние на ICSS у крыс Wistar под воздействием режима CMS-2 (см. выше). Одна группа крыс Wistar содержится поодиночке и подвергается CMS-2 в течение 10 недель, а другая группа (контрольная группа) содержится парами в стандартных лабораторных

условиях. Два раза в неделю у них определяется EF_{50} и проводится сравнение со средним значением из двух последних исходных тестов для каждой отдельной крысы.

Влияние линии крыс и режима стресса на поведение при ICSS (см. выше). Крыс Wistar разбивают на три равные группы: контрольную группу и две группы с 9-недельным режимом CMS-1 и CMS-2, соответственно. Крыс PVG разбивают на две равные группы: одна группа подвергается CMS-2 в течение 9 недель, а другая группа (контрольная группа) содержится в стандартных лабораторных условиях. Контрольные группы содержатся парами. За исключением того, когда это требуется по методике стресса, крысы в стрессовых группах содержатся поодиночке. Два раза в неделю у них определяется EF_{50} и проводится сравнение со средним значением из двух последних исходных тестов для каждой отдельной крысы.

Гистология. По завершении тестирования по ICSS животных забивают, извлекают головной мозг и хранят при -80°C . Делают срезы в 12 мм на криостате и проводят окрашивание крезиловым фиолетовым. Определяют положение кончиков электродов на фронтальных плоскостях по стереотаксическому атласу Paxinos and Watson.

Статистический анализ. В дополнение к сравнению по нормальности либо однородности дисперсии между тестами в контрольной группе и стрессовых группах по данным для потребления сахарозы и для ICSS, также может проводиться оценка данных методами непараметрической статистики. Проводится двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) по рангам, используя дни и обработку (стресс) в качестве факторов, с группированием животных по обработке в предположении, что набор параметров соответствует только одному наблюдению. Поэтому все наблюдения являются независимыми. В экспериментах по ICSS возможно разделение стрессовых групп на подгруппы. Если общая средняя реакция подвергнутого стрессу животного превышает максимальную среднюю реакцию в контрольной группе, то оно относится к подгруппе. Перед проведением сравнения между стрессовой группой (подгруппой и основной группой) и контрольной группой проводится сравнение данных между стрессовой подгруппой и основной группой двухфакторным методом ANOVA по рангам, используя дни и обработку (стресс) в качестве факторов, с группированием животных. Значимость основных эффектов ($p < 0,05$) при обработке сопровождается непарным t-критерием для каждого дня. Для ясности данные по потреблению сахарозы и данные по ICSS могут быть представлены в виде среднего значения $\pm$ SEM, но при этом проводится и непараметрический анализ. Данные по массе тела, которые проходят тесты на нормальность и однородность дисперсии, анализируют одно- или двухфакторным методом ANOVA. Множественные сравнения проводятся с помощью критерия Tukey

и/или Kruskal-Wallis для метода ANOVA по рангам.

Пример 4. Вызванная новизной гипофагия

Подавление питания, вызванное новизной и называемое “гипонеофагией”, служит связанной с тревогой мерой, которая чувствительна к эффектам хронического, но не острого или субхронического применения антидепрессантов. Методика описана в Dulawa S.C. and Hen R., *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2005, 29:771-83.

Отбор субъектов. Самцы мышей Balb/cJ содержатся по графику свет/темнота 12 ч/12 ч (свет включается в 06:00) и размещаются группами по пять мышей одного типа. Они получают пищу и воду *ad libitum*. Поведенческое тестирование проводится во время световой фазы с 07:00 до 17:00.

Прибор и процедура. Соединение А и имипрамин составляют и применяют в концентрациях, описанных выше в табл. 2 из примера 1, и вводят по меньшей мере за 30 мин до тестирования. Уровни соединения А в плазме определяют методом жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием.

Хроническое тестирование. Самцам мышей Balb/cJ вводится доза, напр., 1 или 3 мг/кг в сутки соединения А. Для субхронических и хронических экспериментов используют разные группы мышей. На 23-й день обработки мышей размещают поодиночке. Мышей приучают пить сладкое сгущенное молоко в течение трех дней подряд (дни 25-27). Мышам дают разбавленное сладкое сгущенное молоко (молоко:вода = 1:3) на 30 мин каждый день. Молоко подается в серологических пипетках на 10 мл с сипперами, прикрепленными парафильмом. Пипетки закрывают резиновыми пробками и помещают в клетки через проволочные люки. Тестирование в собственных клетках проводится на 28-й день, когда мышей ненадолго вынимают из своих клеток, чтобы поставить пипетки с молоком, а тестирование начинается, когда мышей возвращают в клетки. Регистрируется латентность до питья и потребляемый объем каждые 5 мин в течение 30 мин. Тестирование в собственных клетках проводится при тусклом освещении (примерно 50 люкс). Тестирование в новых клетках проводится на 29-й день, когда мышей помещают в новые чистые клетки таких же размеров, но без стружки, содержащие пипетки с молоком. Тестирование в новых клетках проводится при ярком освещении (примерно 1200 люкс), при этом под клетки помещают белую бумагу, чтобы усилить отвращение. Мышей, которые никогда не пили в течение 30 мин при тестировании в собственных клетках, исключали из эксперимента, предположительно они так и не научились пить молоко во время обучения. Субхроническое тестирование проводится на другой группе самцов мышей Balb/cJ, получающих дозу, напр., 1 или 3 мг/кг в сутки соединения А. Мышей размещают поодиночке, а затем приучают пить молоко, начиная с

1-го дня обработки. Мышей приучают пить сладкое сгущенное молоко в первые 3 дня. Затем их тестируют на вызванную новизной гипофагию после 4 (в своих клетках) и 5 (в новых клетках) дней субхронической обработки.

Пример 5. Модель «выученная беспомощность»

Парадигма выученной беспомощности представляет собой модель депрессии, в которой животные подвергаются непредсказуемому и неконтролируемому стрессу, напр., электрошоку, после чего у них развивается неспособность приспособиться к неприятным, но устранимым ситуациям. Методика описана в Chourbaji S. et al., Brain Res. Protoc. 2005, 16:70-78.

Материалы. Процедура электрошока проводится в прозрачной шоковой камере из плексигласа ($18 \times 18 \times 30$ см³), оснащенной решетчатым полом из нержавеющей стали (диаметр каждой решетки: 0,5 см, разнесение: 0,6 см). Тест на двустороннее избегание проводится в двухсекционном челночном боксе, оснащенный инфракрасными излучателями на дне каждого из двух отсеков для мониторинга спонтанного перемещения между ними, а также поведенческих реакций на свет (условный раздражитель) или неприятный удар током по лапам (безусловный раздражитель), соответственно. Челночный бокс состоит из одинаковых по размеру отсеков ($18 \times 18 \times 30$ см³), разделенных небольшой дверцей (шириной 6 см и высотой 7 см). В обоих отсеках челночного бокса имеется решетчатый пол (диаметр каждой решетки: 0,5 см, расстояние: 0,6 см), через который подается ток, и сигнальная лампа в верхней части каждого отсека. Составляются графики для процедуры электрошока и для тестирования в челночном боксе, соответственно.

Горячая плитка. Чтобы исключить изменение болевой чувствительности как мешающий фактор, всех мышей тестируют на горячей плитке.

Фармакологическая обработка. Модель проверяют фармакологически, используя соединение А и имипрамин, составленные и применяемые в концентрациях, описанных выше в табл. 2 из примера 1, которые вводят по меньшей мере за 30 мин до тестирования. Оценивают способность соединения А предотвращать беспомощное поведение в челночном боксе.

Животные. Приобретают 10-недельных самцов мышей C57BL/6N, которых акклиматизируют к содержанию поодиночке в поликарбонатных клетках (тип II) при постоянных условиях с 12-часовым циклом свет/темнота при средней комнатной температуре 22°C в течение 2 недель до экспериментов, обеспечивая корм и воду *ad libitum*.

Процедура неизбежного электрошока.

1. Мышей подвергают неизбежному электрошоку во время их активной фазы (в темноте). Животных транспортируют в своих собственных клетках в экспериментальную комнату, а затем помещают в шоковую камеру.

2. Процедура электрошока включает 360 беспорядочных разрядов тока по лапам (0,150 мА) в течение двух дней подряд. Разряды тока непредсказуемы, имеют различную продолжительность (1-3 сек) и интервалы (1-15 сек), составляя общую продолжительность сеанса примерно 52 мин. Во время электрошока свет выключается.

3. Контрольные животные подвергаются такому же обращению и тем же контекстуальным процедурам, но без электрошока. Тщательная очистка 70% этанолом служит для того, чтобы контрольные животные, которые не подвергаются электрошоку, находились в шоковых камерах, не испытывая беспокойства от запаха мышей, подвергавшихся электрошоку. Ежедневная чистка с мылом предотвращает фиксацию вызывающих тревогу веществ.

Оценка выученной беспомощности. Через 24 часа после второй процедуры электрошока проводится оценка выученной беспомощности в темной фазе животных путем тестирования активности в челночном боксе. Каждая проба начинается со светового стимула в 5 сек, сигнализирующего о последующем разряде по лапам максимальной продолжительностью в 10 сек (интенсивность: 0,150 мА). Интервал между пробами составляет 30 сек. Определяются следующие поведенческие реакции: “избегание” как адекватная реакция на световой раздражитель путем немедленного перехода в другой отсек, “бегство” как переход в другой отсек в качестве реакции на электрошок и “отказ”, когда не предпринимается никаких попыток к бегству. Кроме того, регистрируется параметр латентности до побега как время, необходимое для перехода в другой отсек после начала разряда по лапам. Для определения общей активности регистрируют переходы между отсеками перед первым электрошоком (исходная активность), а также активность между пробами (активность в промежутке между пробами или ИТ). Общее время тестирования на беспомощность составляет 20-24 мин, точное время зависит от способности животного усваивать парадигму и правильно реагировать. Перед каждой пробой аппарат тщательно очищают 70% этанолом. Чтобы подчеркнуть оценку “истинных” эффектов выученной беспомощности, которая основывается на неконтролируемости стресса, проводится тестирование дополнительной когорты животных на иммунизацию. Для этих животных проводится предварительный сеанс, идентичный тесту на выученную беспомощность в челночном боксе, при котором они подвергаются электрошоку в контролируемых условиях. Кроме того, отслеживается

исходная активность во время предварительного сеанса.

Чувствительность к боли. Чтобы исключить возможные артефакты при изменении болевой чувствительности, которые могли бы повлиять на эффект электрошока, подгруппу мышей тестируют на горячей плитке перед процедурой выученной беспомощности при температуре 52°C. Регистрируется латентность до первой реакции (соскакивания или облизывания задних лап).

Определение беспомощности. После определения поведенческих параметров подвергнутых электрошоку животных классифицируют как “беспомощных” или “устойчивых” в зависимости от их результатов при тестировании в челночном боксе. В качестве показателей беспомощности принимаются отказы и латентность до побега, и к пулу данных от мышей, подвергнутых описанному протоколу, применяется алгоритм кластеризации методом k-средних ($k = 2$). В качестве показателей активности отдельных животных используется количество отказов и латентность до побега, так как это самые распространенные показатели беспомощности. Эти поведенческие показатели нормализуются (т.е. преобразуются в Z-показатели), чтобы предотвратить различия в диапазоне каждой переменной, которые могли бы привести к систематической ошибке, а затем непреднамеренно использоваться для реализации процесса кластеризации. Эта классификация дополнительно уточняется методом двухступенчатого дискриминантно-канонического анализа, который также обеспечивает классификационные уравнения для идентификации мышей как беспомощных или не беспомощных по этой методике.

Фармакологическая проверка. Обучают и тестируют дополнительных мышей C57BL/6N по методике. Перед фармакологической обработкой этих мышей классифицируют как “беспомощных” или “не беспомощных” по ранее полученным классификационным уравнениям (см. определение беспомощности выше), которые учитывают количество отказов и латентность до побега. Продолжительность беспомощности примерно 10 дней задает короткий период обработки соединением А в 5-6 дней. Так, животных подвергают 5-дневной обработке соединением А. На 6-й день животных повторно тестируют по методике. Для классификации каждого субъекта опять применяются классификационные уравнения, но теперь для расчета используются значения из повторного сеанса тестирования. Изменения в этой классификации по категориям (т.е. переход мышей из группы “беспомощных” в группу “не беспомощных”) после обработки соединением А рассматриваются как показатели чувствительности данного рабочего определения беспомощности. Анализ дополняется оценкой вариаций квадрата расстояний Махаланобиса до центра тяжести в группе беспомощных до/после фармакологической обработки, чтобы получить непрерывный, а не категориальный

показатель эффектов соединения А.

* * * * *

Все патенты США, публикации патентных заявок США, заявки на патенты США, иностранные патенты, заявки на иностранные патенты и непатентные публикации, приведенные в этом описании, включены сюда путем ссылки во всей полноте.

Хотя вышеприведенные композиции, способы и применения были описаны достаточно подробно для облегчения понимания, должно быть понятно, что можно вносить определенные изменения и модификации в рамках прилагаемой формулы изобретения. Соответственно, описанные воплощения следует рассматривать как иллюстративные, а не ограничительные, и заявленное изобретение не должно ограничиваться приведенными здесь подробностями, а его можно модифицировать в пределах объема и эквивалентов прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения депрессивного расстройства у нуждающегося в этом человека, включающий введение ему терапевтически эффективного количества соединения А,
причем соединение А представляет собой N-[4-(6-фтор-3,4-дигидро-1Н-изохинолин-2-ил)-2,6-диметилфенил]-3,3-диметилбутанамид.
2. Способ по п. 1, при этом способ включает усиление открывания калиевых каналов Kv7 у человека.
3. Способ усиления открывания калиевых каналов Kv7 у человека, включающий введение ему эффективного количества соединения А,
причем соединение А представляет собой N-[4-(6-фтор-3,4-дигидро-1Н-изохинолин-2-ил)-2,6-диметилфенил]-3,3-диметилбутанамид и
при этом у человека имеется депрессивное расстройство.
4. Способ по п. 2 или 3, при этом калиевые каналы Kv7 представляют собой один или несколько из каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 или Kv7.5.
5. Способ по п. 4, при этом способ является избирательным для усиления открывания одного или нескольких из каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 или Kv7.5 по сравнению с Kv7.1.
6. Способ по п. 2, при этом способ включает открывание калиевых каналов Kv7.2/ Kv7.3 (KCNQ2/3).
7. Способ по любому из пп. 1-6, при этом депрессивное расстройство представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD), деструктивное аффективное расстройство, стойкое депрессивное расстройство, расстройство биполярного спектра, послеродовую депрессию, предменструальное дисфорическое расстройство (PMDD), сезонное аффективное расстройство (SAD), атипичную депрессию, терапевтически резистентную депрессию (TRD), депрессию, связанную с возбуждением или тревогой, нарушение адаптации с депрессивным настроением, длительную депрессивную реакцию либо их комбинацию.
8. Способ по любому из пп. 1-7, при этом депрессивное расстройство представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD).
9. Способ по любому из пп. 1-8, при этом соединение А вводится человеку перорально.
10. Способ по любому из пп. 1-9, при этом соединение А вводится человеку в дозе от 2 до 200 мг.
11. Способ по п. 10, при этом соединение А вводится человеку в дозе от 2 до 100 мг.

12. Способ по п. 10, при этом соединение А вводится человеку в дозе от 5 до 50 мг.
13. Способ по п. 10, при этом соединение А вводится человеку в дозе 10, 20 или 25 мг.
14. Способ по п. 10, при этом соединение А вводится человеку в дозе 20 мг.
15. Способ по любому из пп. 1-9, при этом соединение А вводится человеку в дозе не менее 20 мг.
16. Способ по п. 15, при этом соединение А вводится человеку в дозе не менее 50 мг.
17. Способ по п. 15, при этом соединение А вводится человеку в дозе не менее 100 мг.
18. Способ по любому из пп. 1-9, при этом соединение А вводится человеку в дозе 5-1000 мг в сутки.
19. Способ по п. 18, при этом соединение А вводится человеку в дозе 5-500 мг в сутки.
20. Способ по п. 18, при этом соединение А вводится человеку в дозе 5-250 мг в сутки.
21. Способ по п. 18, при этом соединение А вводится человеку в дозе 20-150 мг в сутки.
22. Способ по п. 18, при этом соединение А вводится человеку в дозе 100 мг в сутки.
23. Способ по любому из пп. 1-22, при этом соединение А вводится человеку в дозе 0,05-2,0 мг/кг.
24. Способ по п. 23, при этом соединение А вводится человеку в дозе 0,1-1,0 мг/кг.
25. Способ по п. 23, при этом соединение А вводится человеку в дозе 0,2-0,5 мг/кг.
26. Применение соединения А при изготовлении лекарственного средства для лечения депрессивного расстройства у нуждающегося в этом человека,
причем соединение А представляет собой N-[4-(6-фтор-3,4-дигидро-1Н-изохинолин-2-ил)-2,6-диметилфенил]-3,3-диметилбутанамид.
27. Применение по п. 26, при этом лечение депрессивного расстройства включает усиление открывания калиевых каналов Kv7 у человека.
28. Применение соединения А при изготовлении лекарственного средства для усиления открывания калиевых каналов Kv7 у человека,
причем соединение А представляет собой N-[4-(6-фтор-3,4-дигидро-1Н-изохинолин-2-ил)-2,6-диметилфенил]-3,3-диметилбутанамид и
при этом у человека имеется депрессивное расстройство.

29. Применение по п. 27 или 28, при этом калиевые каналы Kv7 представляют собой один или несколько из каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 или Kv7.5.

30. Применение по п. 29, при этом усиление открывания калиевых каналов Kv7 является избирательным для усиления открывания одного или нескольких из каналов Kv7.2, Kv7.3, Kv7.4 или Kv7.5 по сравнению с Kv7.1.

31. Применение по п. 27, при этом усиление открывания калиевых каналов Kv7 включает открывание калиевых каналов Kv7.2/Kv7.3 (KCNQ2/3).

32. Применение по любому из пп. 26-31, при этом депрессивное расстройство представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD), деструктивное аффективное расстройство, стойкое депрессивное расстройство, расстройство биполярного спектра, послеродовую депрессию, предменструальное дисфорическое расстройство (PMDD), сезонное аффективное расстройство (SAD), атипичную депрессию, терапевтически резистентную депрессию (TRD), депрессию, связанную с возбуждением или тревогой, нарушение адаптации с депрессивным настроением, длительную депрессивную реакцию либо их комбинацию.

33. Применение по любому из пп. 26-32, при этом депрессивное расстройство представляет собой большое депрессивное расстройство (MDD).

34. Применение по любому из пп. 26-33, при этом соединение А вводится человеку перорально.

35. Применение по любому из пп. 26-34, при этом соединение А вводится человеку в дозе от 2 до 200 мг.

36. Применение по п. 35, при этом соединение А вводится человеку в дозе от 2 до 100 мг.

37. Применение по п. 35, при этом соединение А вводится человеку в дозе от 5 до 50 мг.

38. Применение по п. 35, при этом соединение А вводится человеку в дозе 10, 20 или 25 мг.

39. Применение по п. 35, при этом соединение А вводится человеку в дозе 20 мг.

40. Применение по любому из пп. 26-34, при этом соединение А вводится человеку в дозе не менее 20 мг.

41. Применение по п. 40, при этом соединение А вводится человеку в дозе не менее 50 мг.

42. Применение по п. 40, при этом соединение А вводится человеку в дозе не менее 100 мг.

43. Применение по любому из пп. 26-34, при этом соединение А вводится человеку

в дозе 5-1000 мг в сутки.

44. Применение по п. 43, при этом соединение А вводится человеку в дозе 5-500 мг в сутки.

45. Применение по п. 43, при этом соединение А вводится человеку в дозе 5-250 мг в сутки.

46. Применение по п. 43, при этом соединение А вводится человеку в дозе 20-150 мг в сутки.

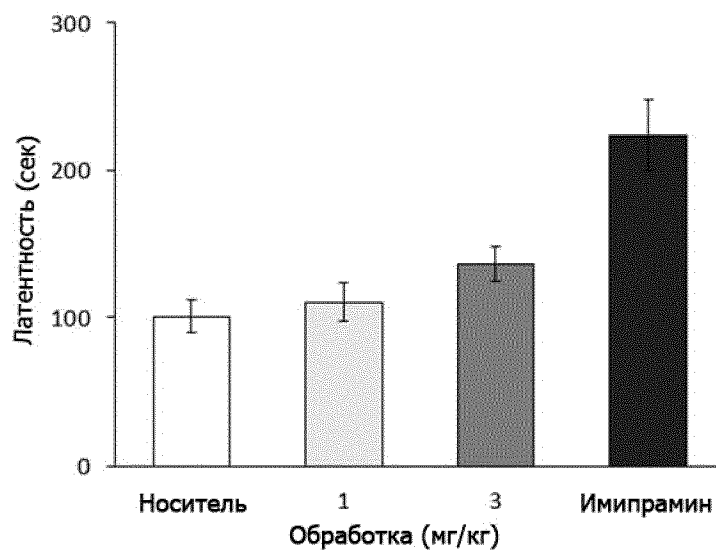
47. Применение по п. 43, при этом соединение А вводится человеку в дозе 100 мг в сутки.

48. Применение по любому из пп. 26-47, при этом соединение А вводится человеку в дозе 0,05-2,0 мг/кг.

49. Применение по п. 48, при этом соединение А вводится человеку в дозе 0,1-1,0 мг/кг.

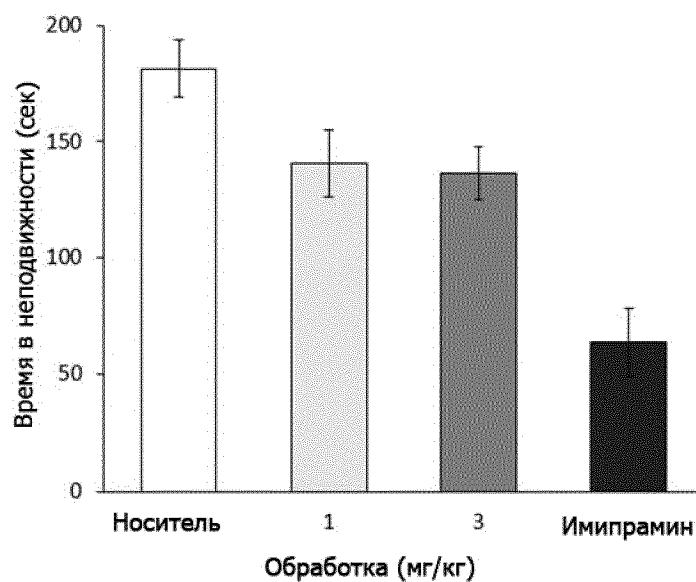
50. Применение по п. 48, при этом соединение А вводится человеку в дозе 0,2-0,5 мг/кг.

Соединение А – латентность до неподвижности



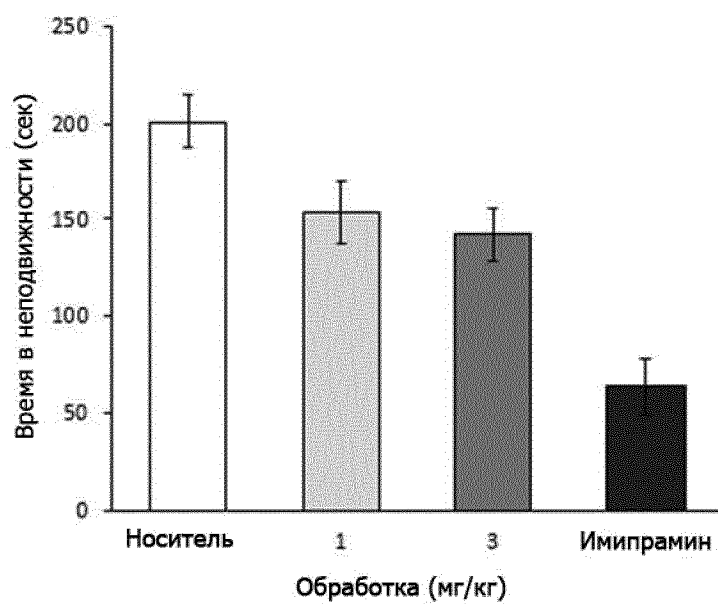
Фиг. 1

Соединение А – время в неподвижности (2-6 мин)

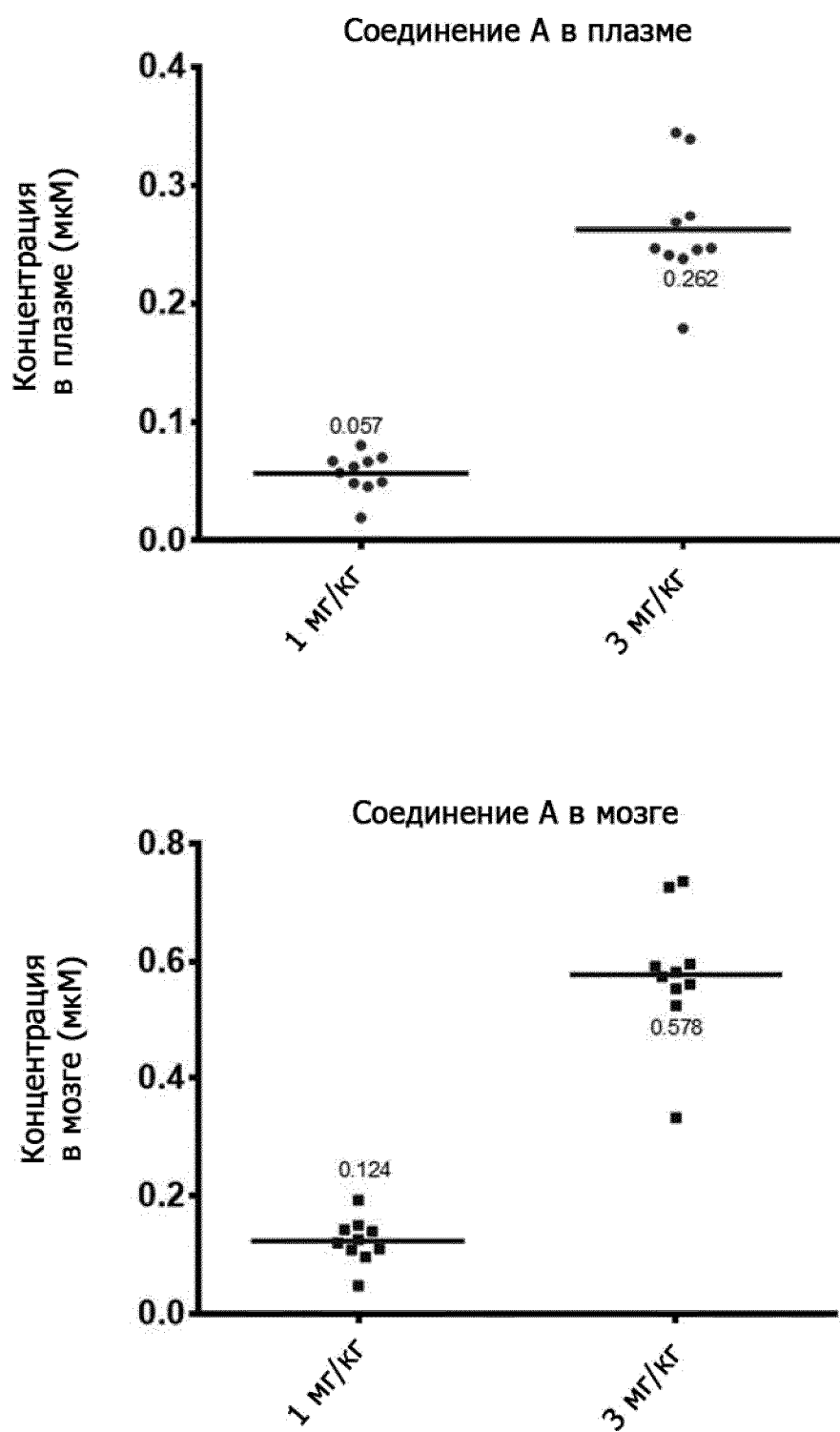


Фиг. 2

Соединение А – время в неподвижности (0-6 мин)



Фиг. 3



Фиг. 4