



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **93388** (13) **C2**  
(51) МПК (2011.01)  
**C07D 291/00**  
**A61K 31/554** (2011.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

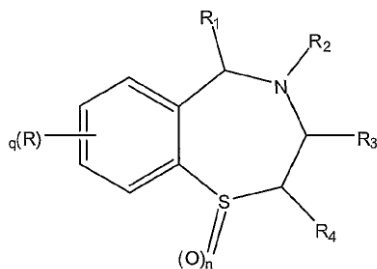
ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) АГЕНТ ДЛЯ ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЛІКУВАННЯ ПОРУШЕНЬ, ЩО ВКЛЮЧАЮТЬ МОДУЛЮВАННЯ R<sub>y</sub>R РЕЦЕПТОРІВ

1

(21) а200803742  
(22) 17.08.2006  
(24) 10.02.2011  
(86) РСТ/US2006/032405, 17.08.2006  
(31) 11/212,413  
(32) 25.08.2005  
(33) US  
(46) 10.02.2011, Бюл.№ 3, 2011 р.  
(72) МАРКС ЕНДРЮ РОБЕРТ, US, ЛЕНДРІ ДО-  
НАЛЬД В., US, ДЕН ШИСЯНЬ, US, ЧЕН ЧЖЕН  
ЧЖУАН, US, ЛЕНАРТ ШТЕФАН Є., US  
(73) ДЗЕ ТРАСТІЗ ОФ КОЛАМБІЯ ЮНІВЕРСІТІ ІН  
ДЗЕ СІТІ ОФ НЬЮ ЙОРК, US  
(56) EP 0565721 A; 20.10.1993  
WO 2005/037195 A; 28.04.2005  
WO 91/04328 A; 04.04.1991  
US 5580866 A; 03.12.1996  
US 4963671 A; 16.10.1991  
US 3519647 A; 07.07.1970  
US 5221681 A; 22.06.1993  
US 6489125 B1; 03.12.2002  
(57)  
1. Сполука формули I:



(Формула I)

у якій

n дорівнює 0, 1 або 2;

q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен R незалежно являє собою галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(O)<sub>2</sub>алкіл, -S(O)алкіл, -OS(O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, -O-ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілариламіно, алкілтіо, циклоалкіл, алкіларил, арил, гетероарил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо чи (гете-

2

ро-)ариламіно; де кожен ацил, -O-ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілариламіно, алкілтіо, циклоалкіл, алкіларил, арил, гетероарил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро)ариламіно може бути заміщений;

R<sub>1</sub> являє собою H, оксо, алкіл, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил чи гетероцикліл; де кожен алкіл, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути заміщений;

R<sub>2</sub> являє собою H, -C(=O)R<sub>5</sub>, -C(=S)R<sub>6</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, -P(=O)R<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>, алкіл, арил, алкіларил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл чи гетероцикліл; де кожен алкіл, арил, алкіларил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероцикліл може бути заміщений;

m дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 чи 8;

R<sub>3</sub> являє собою H, -CO<sub>2</sub>Y, -C(=O)NHY, ацил, -O-ацил, циклоалкіл, гетероарил чи гетероцикліл; де кожен ацил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути заміщений;

Y являє собою алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил чи гетероцикліл; і де кожен алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути заміщений;

R<sub>4</sub> являє собою H, алкіл, алкеніл, алкіларил, циклоалкіл чи гетероцикліл; де кожен алкіл, алкеніл, циклоалкіл і гетероцикліл може бути заміщений; або один чи більше з R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> чи R<sub>4</sub> містить флуоресцентну, біолоюмінесцентну, хемілюмінесцентну, колориметричну чи радіоактивну мічену групу;

R<sub>5</sub> являє собою -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, алкіл, заміщений -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -C(=O)NHNHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>15</sub>, -C(=O)NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -CH<sub>2</sub>X, ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл чи гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

R<sub>6</sub> являє собою -OR<sub>15</sub>, -NHNHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -CH<sub>2</sub>X, ацил, алкеніл, алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл чи гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл,

(13) **C2**

(11) **93388**

(19) **UA**

циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

$R_7$  являє собою  $-OR_{15}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNH_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-CH_2X$ , алкіл, алкеніл, алкініл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі чи гетероцикліалкіл; де кожен алкіл, алкеніл, алкініл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

$R_8$  і  $R_9$  незалежно являють собою  $OH$ , ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі чи гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

$R_{10}$  являє собою  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-OH$ ,  $-SO_2R_{11}$ ,  $-NHSO_2R_{11}$ ,  $C(=O)(R_{12})$ ,  $NHC=OR_{12}$ ,  $-OC=O(R_{12})$  чи  $-P(=O)R_{13}R_{14}$ ;

$R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$  і  $R_{14}$  незалежно являють собою  $H$ ,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHNH_2$ ,  $-NHOH$ , ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі чи гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

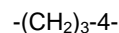
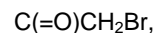
$X$  являє собою галоген,  $-CN$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-SO_2R_7$  чи  $-P(=O)R_8R_9$ ;

$R_{15}$  і  $R_{16}$  незалежно являють собою  $H$ , ацил, алкеніл, алкоксил,  $-OH$ ,  $-NH_2$ , алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі чи гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероциклілі і гетероцикліалкіл може бути заміщений; чи необов'язково  $R_{15}$  і  $R_{16}$  разом з атомом азоту, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщений; і

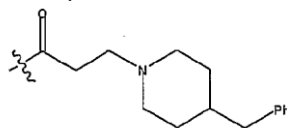
атом азоту в бензотіазепіновому кільці може необов'язково бути четвертинним атомом азоту; чи її енантіомер, діастереомер, таутомер, фармацевтично прийнятна сіль, гідрат, сольват, комплекс і проліки;

за умови, що, коли  $q$  дорівнює 0 і  $n$  дорівнює 0, то  $R_5$  не є  $H$ ,  $Me$ ,  $Et$ ,  $-C(=O)NH_2$ ,  $(=O)NHPh$ ,  $-C(=S)NH$ -н-бутилом,  $-C(=O)NHC(=O)CH_2Cl$ ,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(=O)CH=CH_2$ ,  $-S(=O)_2Me$ ,  $-S(=O)_2Et$ ,  $-C(=O)O(CH_3)_3$ , 9- $\beta$ -D-рибофуранозил-9H-пурин-6-ілом чи  $-C(=O)Ph$ ; крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 0, а  $n$  дорівнює 1 або 2, то  $R_5$  не є  $H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-S(=O)_2Me$ ,  $-S(=O)_2Et$  чи  $-C(=O)O(CH_3)_3$ ; крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 1, а  $R$  є  $Me$ ,  $Cl$ ,  $F$  або  $CN$  у 6 положенні бензотіазепінового кільця, чи  $Br$  у 7 положенні бензотіазепінового кільця, то  $R_2$  не є  $H$ ,  $Me$ ,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(=O)Ph$ ,  $-S(=O)_2Me$ ,  $S(=O)Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ;

крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 1,  $n$  дорівнює 0, а  $R$  є  $OH$  чи  $C_1$ - $C_3$ алкоксил у 7 положенні бензотіазепінового кільця, то  $R_2$  не є  $H$ , -



бензилпіперидином,



або

крім того, за умови, що дана сполука не є  $S1$ ,  $S3$ ,  $S4$ ,  $S6$ ,  $S7$ ,  $S20$ ,  $S24$ ,  $S25$ ,  $S26$ ,  $S27$  чи  $S36$ ;

крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 0,  $n$  дорівнює 0 чи 2,  $R_1$  є  $H$  чи оксогрупою,  $R_3$  є  $H$  чи  $Me$ , а  $R_4$  є  $H$ , то  $R_2$  не є  $-C=ONHPh$ ,  $-C=ONHCOCH_2Cl$ ,  $-C=ONH_2$ ,  $-C=ONH(n-Bu)$ ,  $-C=S(NHPh)$ ,  $-C=S(NHCOCH_2Cl)$ ,  $-C=S(NH_2)$ ,  $-C=SNH(n-Bu)$ ,  $-CH_2CH_2N(Me)_2$ ,  $-CH_2CH_2NH_2$  чи  $-C=OCHCl_2$ ;

крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 2, кожен  $R$  є метоксигрупою в 7 та 8 положеннях бензотіазепінового кільця,  $R_3$  та  $R_4$  є кожен  $H$ , і  $n$  дорівнює 0 чи 2, а  $R_1$  не є метилом,  $-CH_2Ph$  чи 3,4-диметоксибензилом, і  $R_2$  не є  $-C(=O)Me$ ;

крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 0, кожен з  $R_1$ ,  $R_2$  та  $R_4$  є  $H$ , а  $R_3$  не є  $H$  чи  $CH_3$ ;

крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 0,  $R_2$  є  $H$ ,  $-CH_2C(=O)OCH_3$ ,  $-CH_2C(=O)NH_2$ ,  $-C(=O)-C_6H_4-Cl$ ,  $-CH_2-C_6H_4-Cl$ ,  $-(CH_2)_3$ -морфоліно,  $-(CH_2)_3$ -4-метилпіперазіно,  $-(CH_2)_2-C(=O)OCH_3$ , 2,2',3,3'-тетрагідро-4(5H)-1,4-бензотіазепіном чи  $-CH_2-Ph$ ,  $R_3$  і  $R_4$  є або  $H$ , або  $CH_3$ , але не є обидва  $CH_3$ , то  $R_1$  не є оксогрупою;

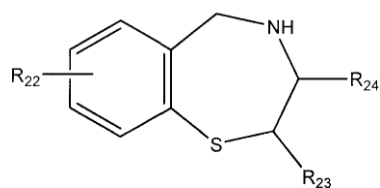
крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 2, кожен  $R$  є метоксигрупою в 7 і 8 чи 7 і 9 положеннях бензотіазепінового кільця, кожен з  $R_1$ ,  $R_2$  і  $R_4$  є  $H$ , і  $n$  дорівнює 0, то  $R_3$  не є  $H$ ;

крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 0, кожен з  $R_1$ ,  $R_3$  і  $R_4$  є  $H$ , і  $n$  дорівнює 0, то  $R_2$  не є метилом, бензотриазолілметилом, 4-метоксибензилом,  $Ph-C\equiv C-CH_2$ , 4-хлорбензилом, етилом, пентилом,  $-CH_2P(O)(OCH_2CH_3)_2$ ,  $Ph-CO-CH_2CH_2$ ,  $C(=O)CH=CH_2$  і  $C(=O)CH_2Br$ ;

крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 1,  $R$  є  $CH_3$  в 9 положенні бензотіазепінового кільця, кожен з  $R_1$ ,  $R_3$  і  $R_4$  є  $H$ , і  $n$  дорівнює 0, то  $R_2$  не є метилом, бензотриазолілметилом, пентилом,  $-CH_2P(O)(OCH_2CH_3)_2$  чи 4-метоксибензилом; крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 1,  $n$  дорівнює 0,  $R$  є  $-OCH_3$  в 7 положенні бензотіазепінового кільця, і кожен з  $R_1$ ,  $R_3$  і  $R_4$  є  $H$ , то  $R_2$  не є  $-C(=O)CH_2I$ ,  $-C(=O)C(=O)OH$ , (4-бензилпіперидин-1-іл)пропілом,  $-S(=O)_2R_{19}$ ,  $-S(=O)_2NR_{20}$ ,  $-C(=O)NHR_{20}$  чи  $-C(=O)OR_{20}$ , де  $R_{19}$  є  $R_{20}$  чи алкіном;  $R_{20}$  є арилом, алкілом,  $-(CH_2)_2N(R_{21})_2$  чи  $-(CH_2)_2SR_{21}$ , де  $j$  дорівнює 0, 1, 2 чи 3, а  $R_{21}$  являє собою алкіл чи циклоалкіл;

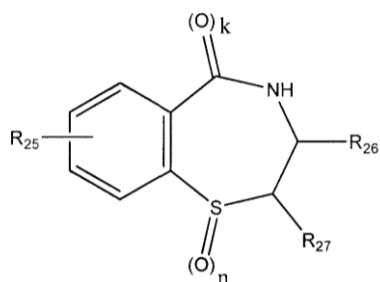
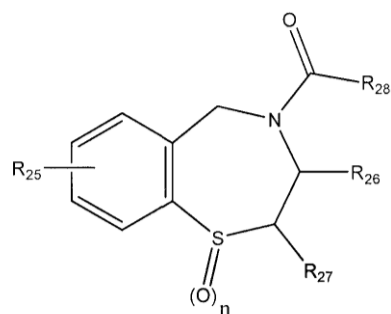
крім того, за умови, що, коли  $q$  дорівнює 1,  $n$  дорівнює 1 чи 2,  $R$  являє собою  $-OCH_3$  в 7 положенні бензотіазепінового кільця, і кожен з  $R_1$ ,  $R_3$  і  $R_4$  є  $H$ , то  $R_2$  не є  $CO(CH_2)_tN(R_{21})_2$ ,  $SO_2(CH_2)_tN(R_{21})_2$ ,  $SO_2NH(CH_2)_tN(R_{21})_2$ ,  $CO(CH_2)_tSR_{21}$ ,  $SO_2(CH_2)_tSR_{21}$  чи  $SO_2NH(CH_2)_tSR_{21}$ , де  $t$  дорівнює 1, 2 чи 3; і, крім того, за умови, що з формули I виключено такі структури

5



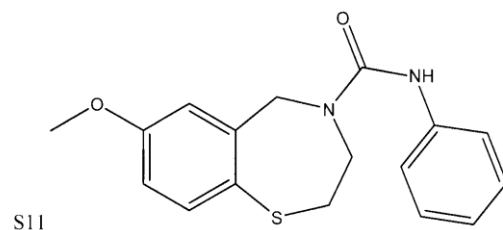
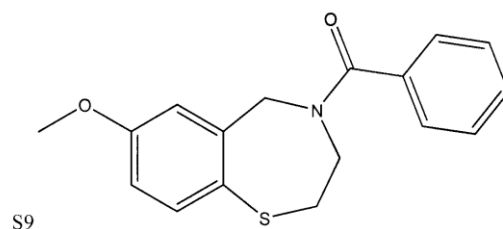
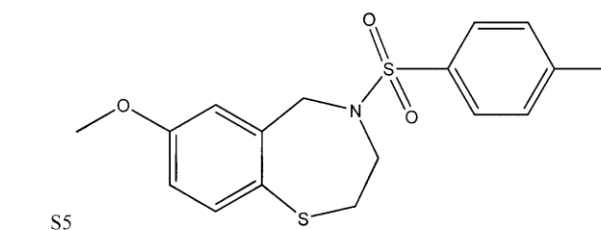
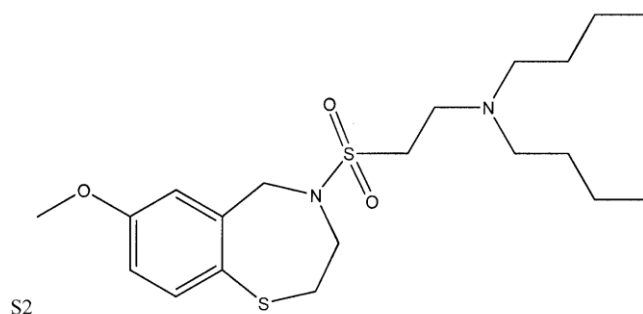
93388

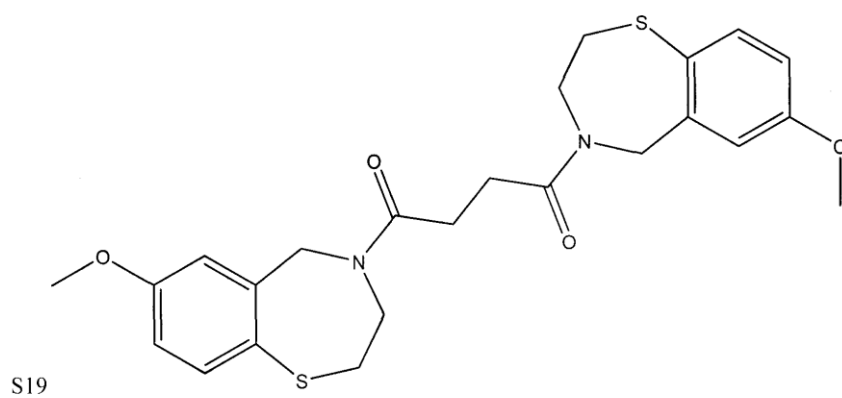
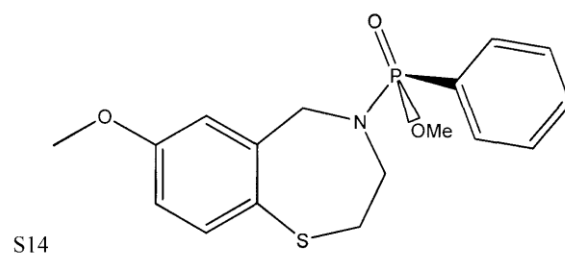
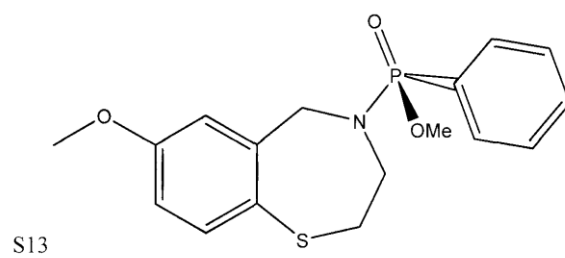
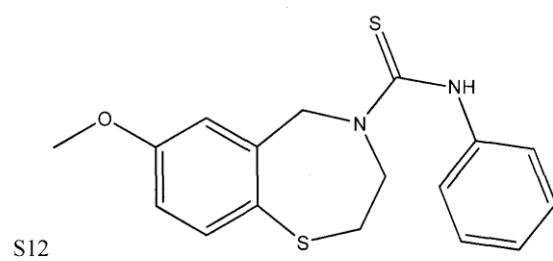
6



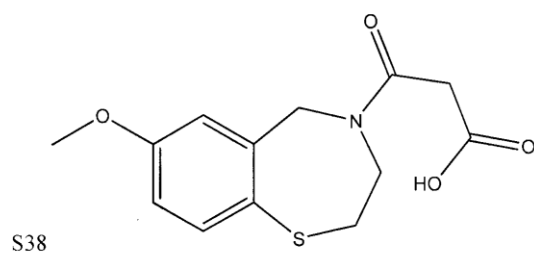
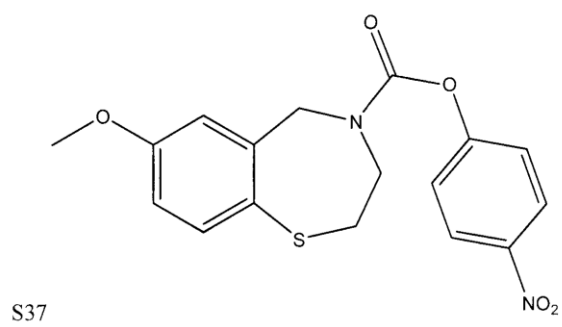
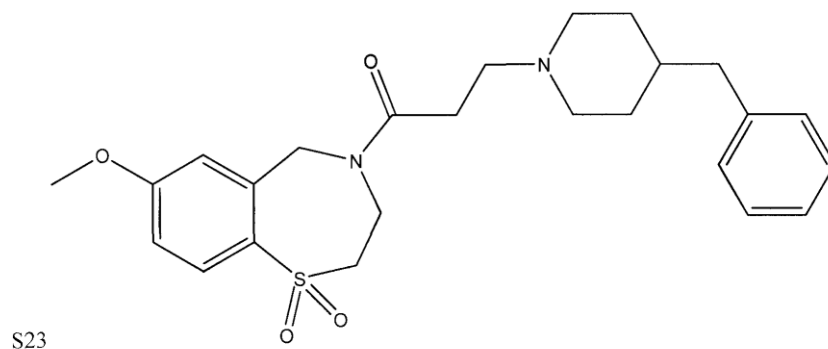
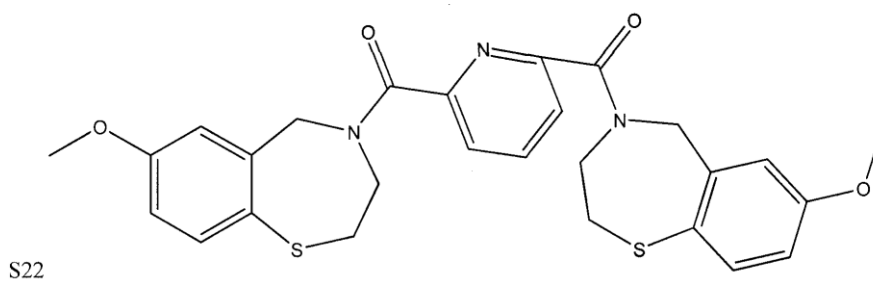
де  $k$  дорівнює 0 чи 1,  $R_{22}$  являє собою  $OR_{29}$ ,  $SR_{29}$ ,  $NR_{29}$ , алкіл чи галогенід в положенні 6, 7, 8 чи 9 бензотіазепінового кільця;  $R_{29}$  являє собою алкіл, арил чи H;  $R_{23}$  та  $R_{24}$  незалежно являють собою H, алкіл чи арил;  $R_{25}$  являє собою H,  $OR_{30}$ ,  $SR_{30}$ ,  $N(R_{30})_2$ , алкіл чи галогенід в положенні 6, 7, 8 чи 9 бензотіазепінового кільця;  $R_{30}$  являє собою алкіл, арил чи ацил;  $R_{26}$  та  $R_{27}$  незалежно являють собою H, алкіл, алкеніл чи арил; та  $R_{28}$  являє собою алкеніл, карбонову кислоту чи алкіл, що містить O, S чи N.

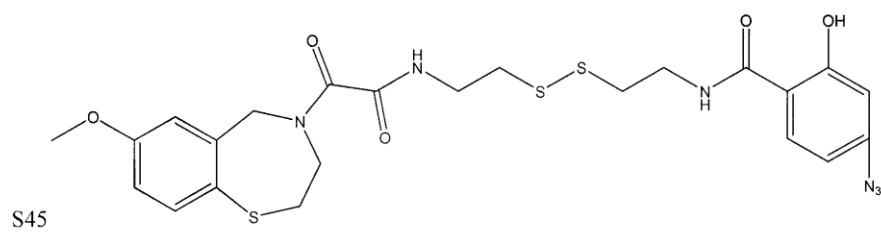
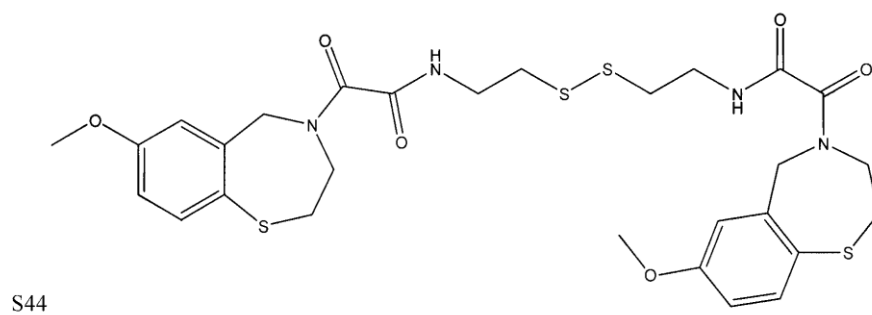
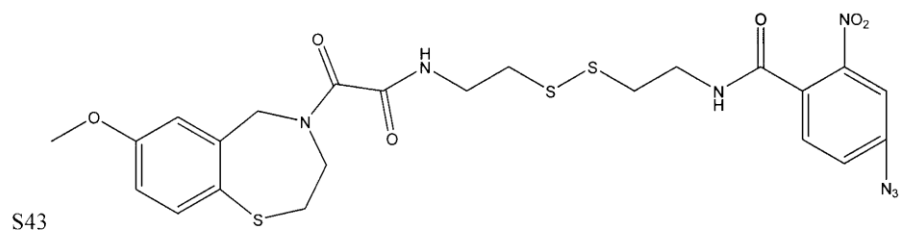
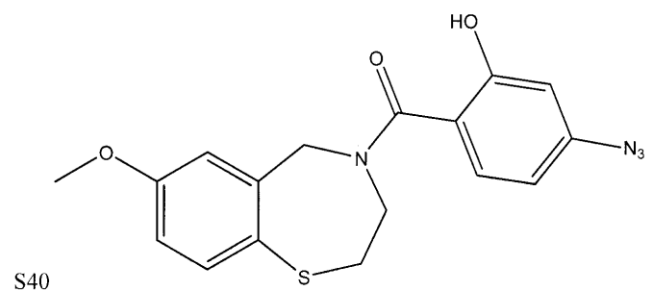
2. Сполука, вибрана із групи, яка включає

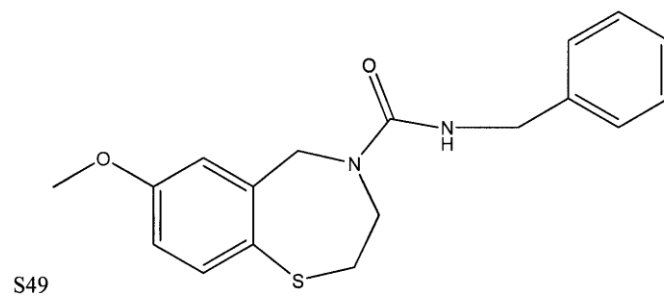
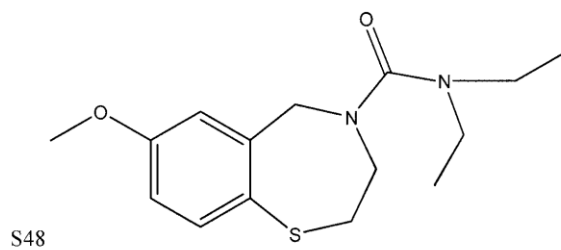
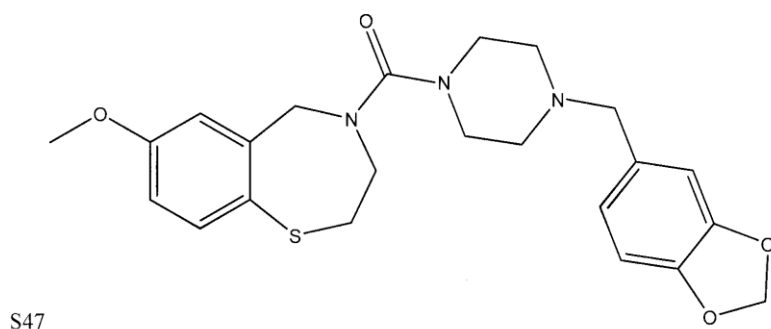
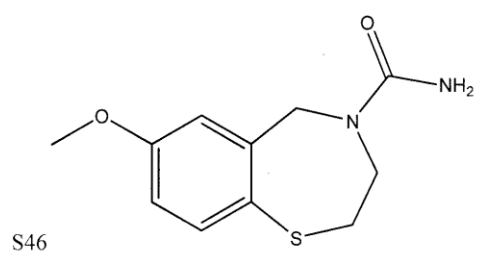


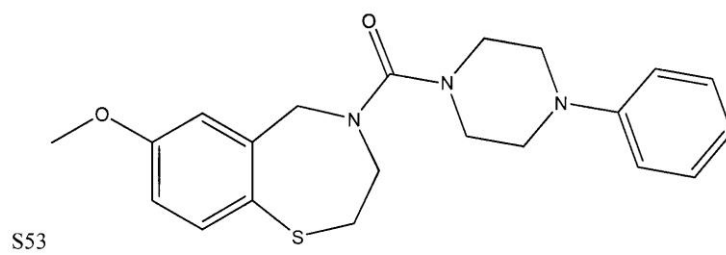
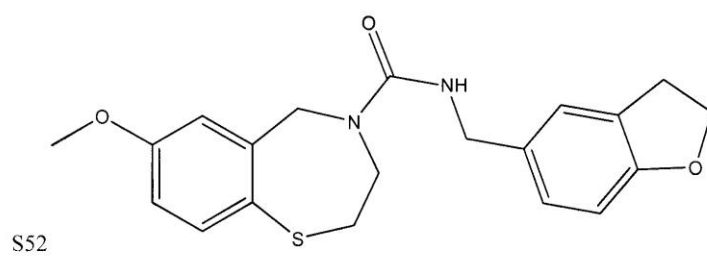
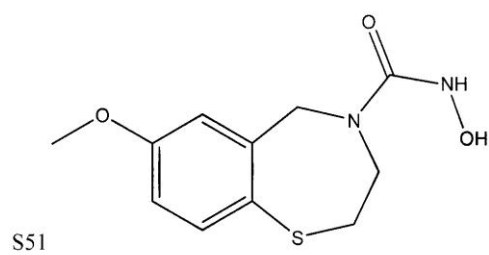
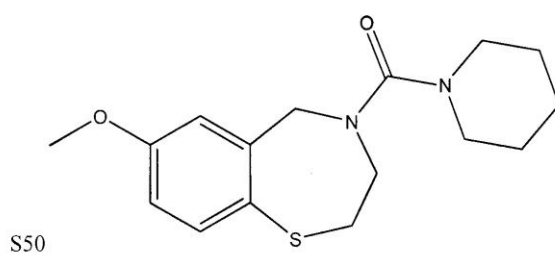


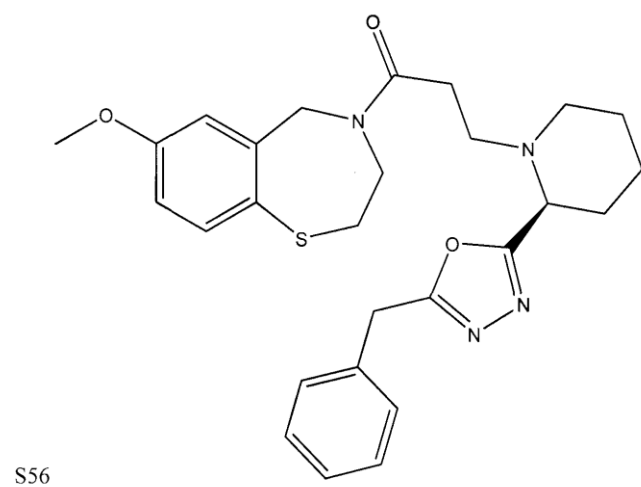
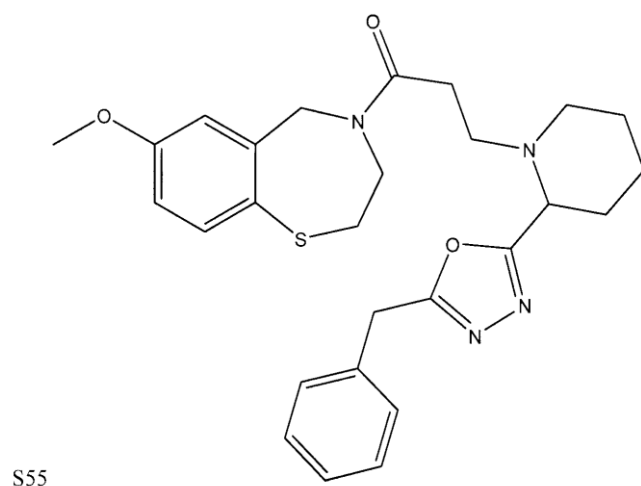
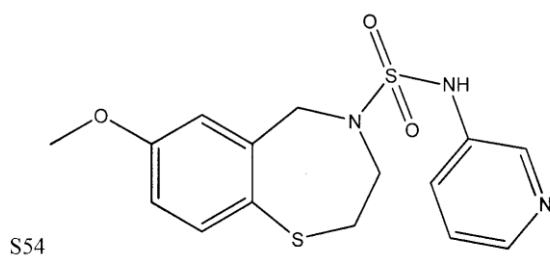


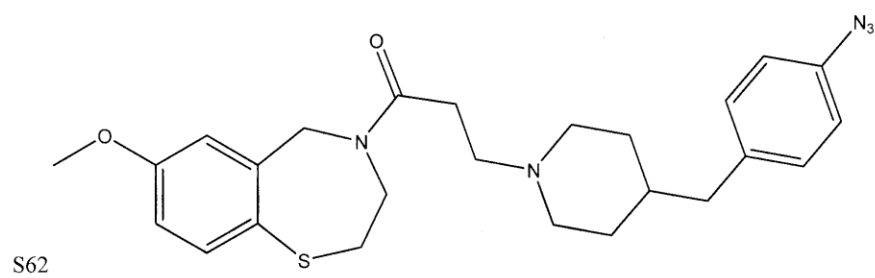
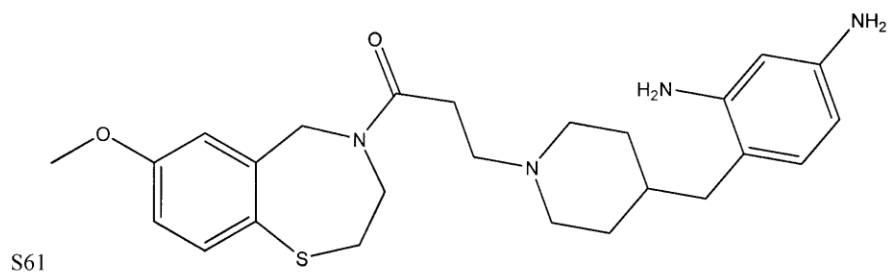
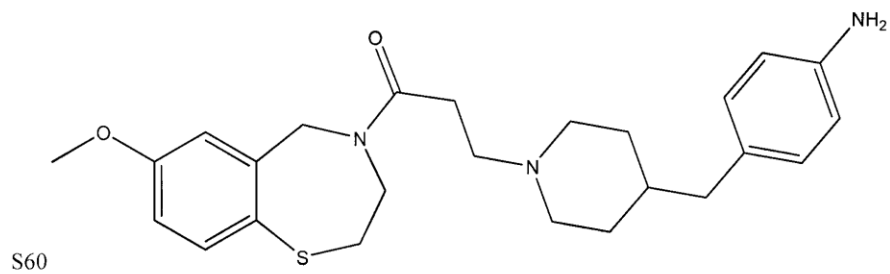
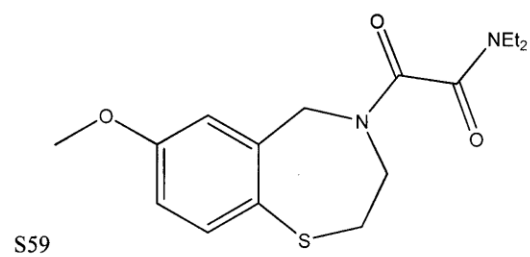
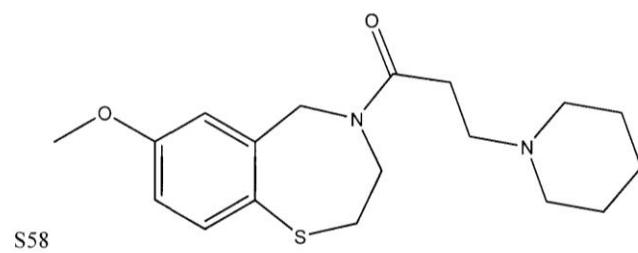
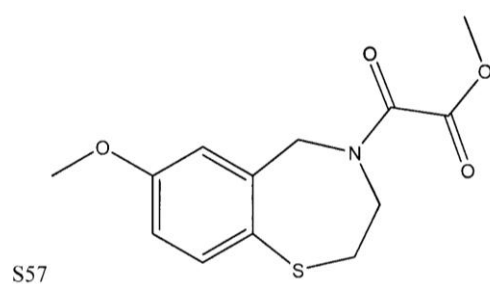


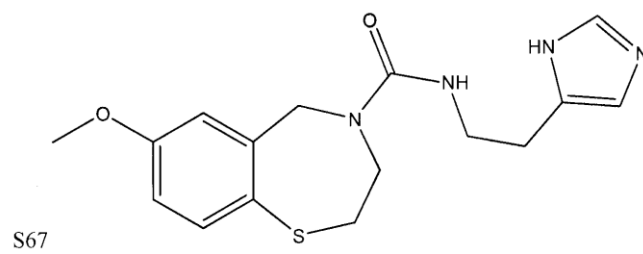
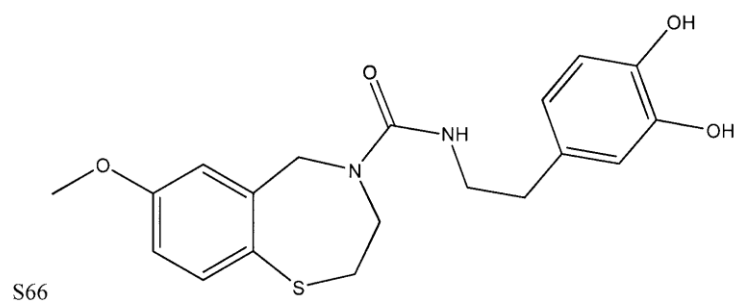
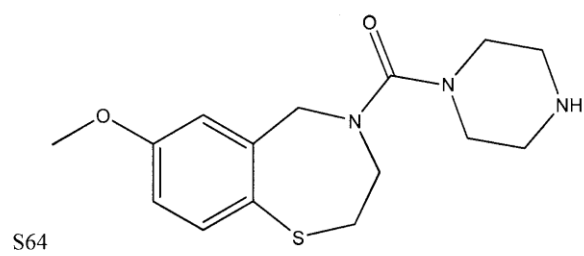
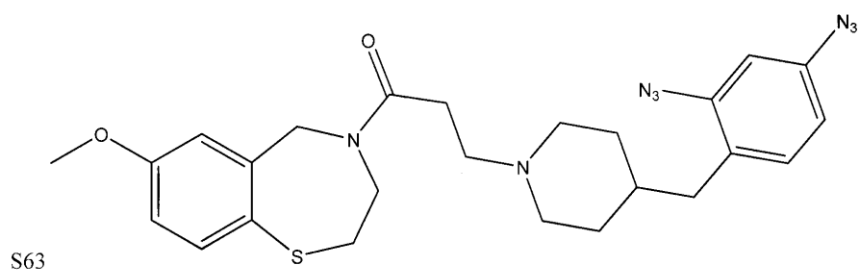










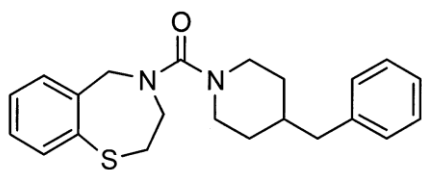


23

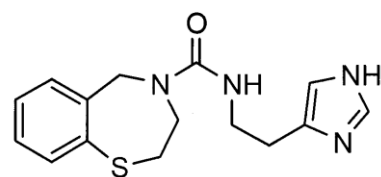
93388

24

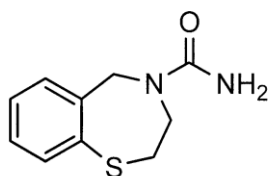
S69



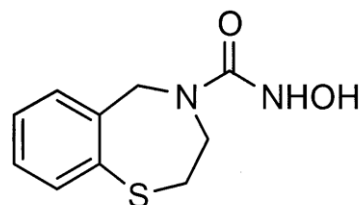
S73



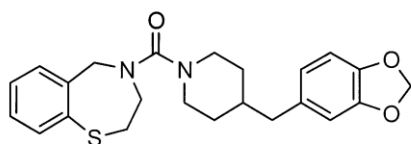
S70



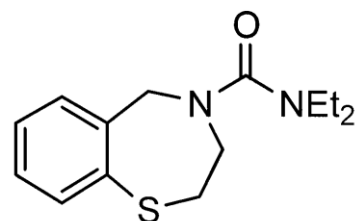
S74



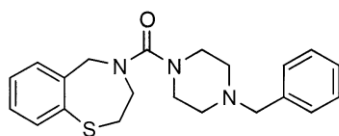
S71



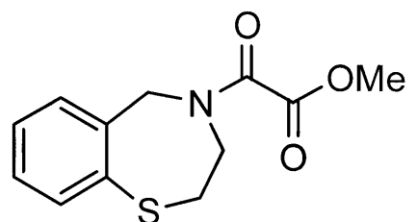
S75



S72



S76

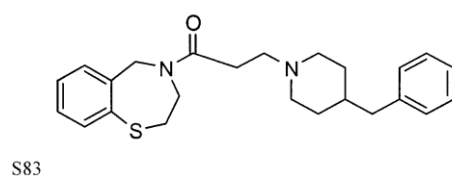
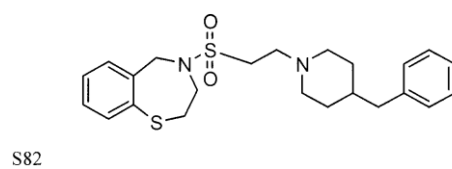
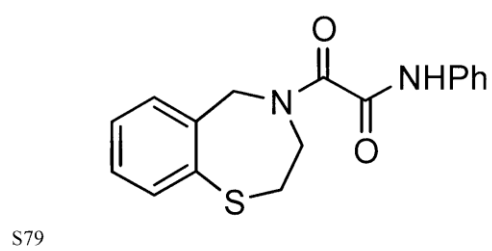
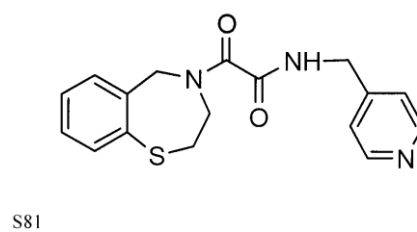
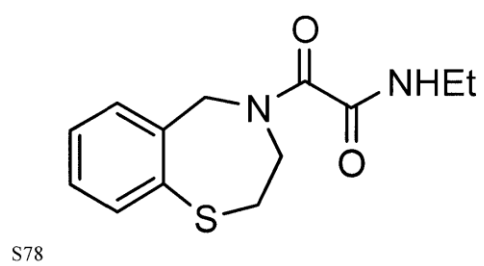
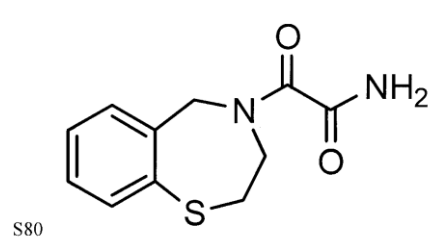
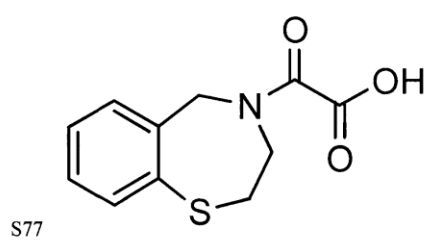




25

93388

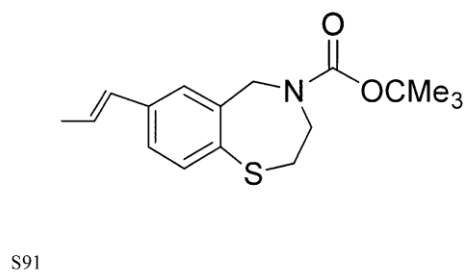
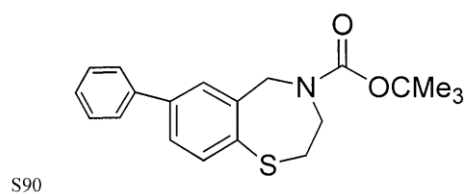
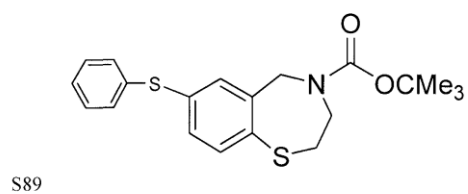
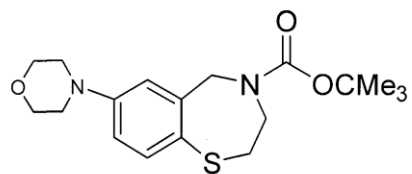
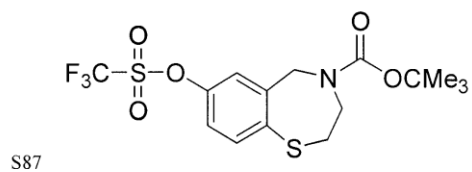
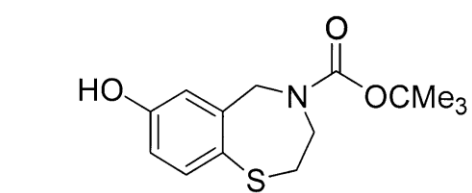
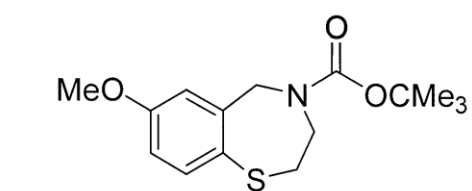
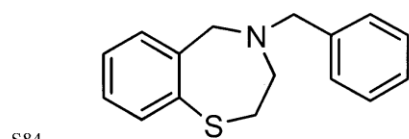
26



27

93388

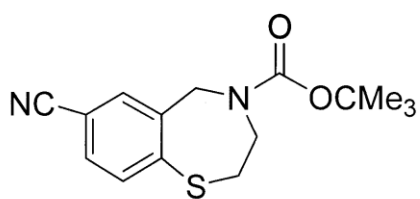
28



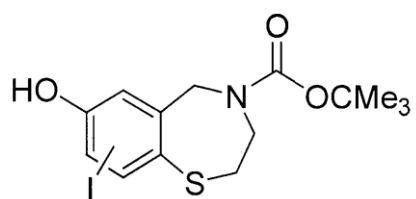
29

93388

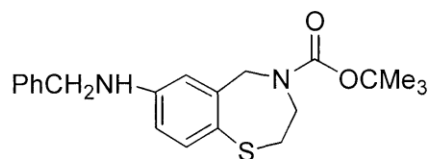
30



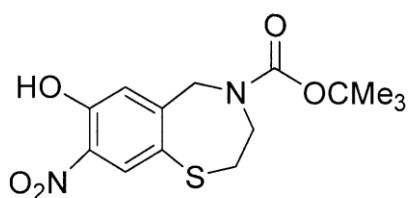
S92



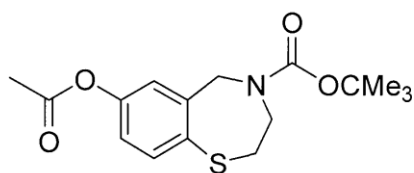
S96



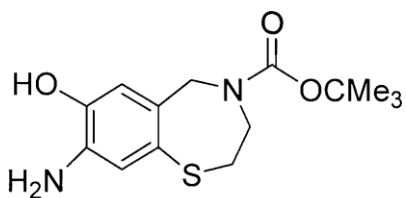
S93



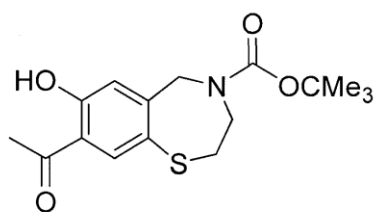
S97



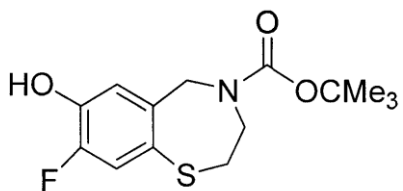
S94



S98



S95

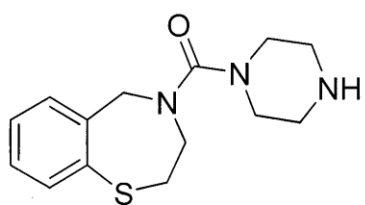
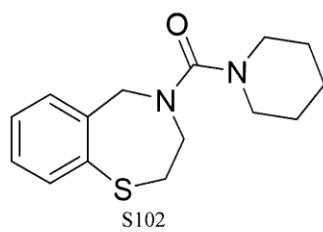
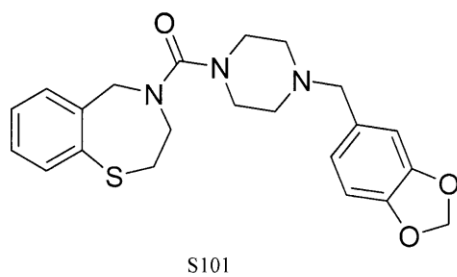
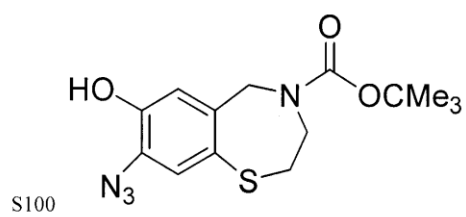


S99

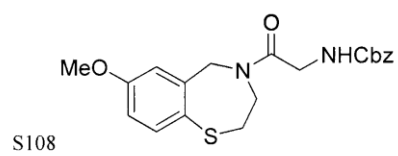
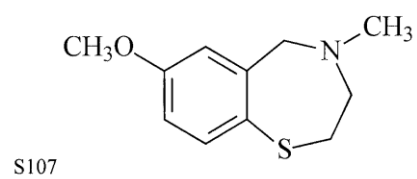
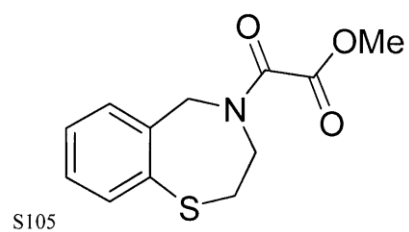
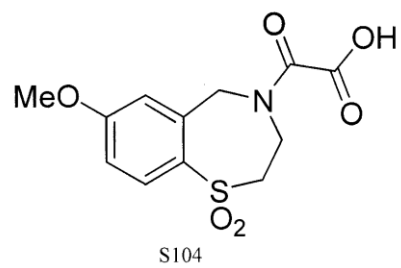
31

93388

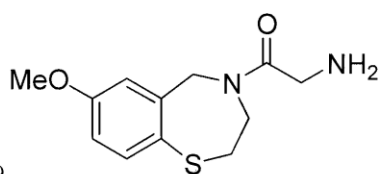
32



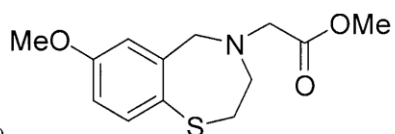
S103



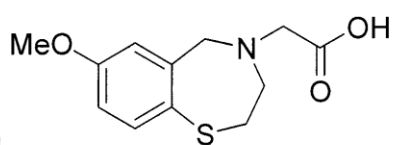
33



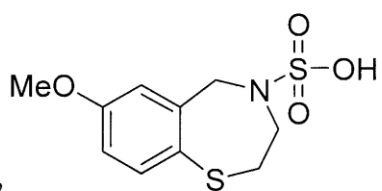
S109



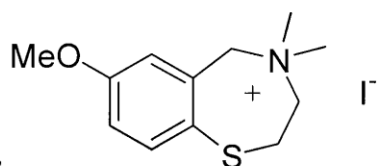
S110



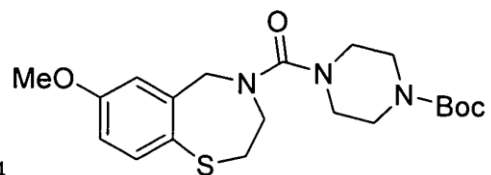
S111



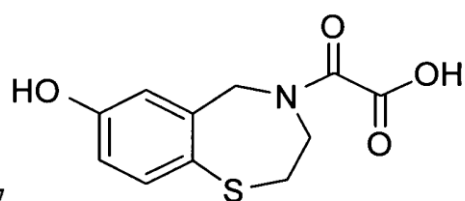
S112



S113



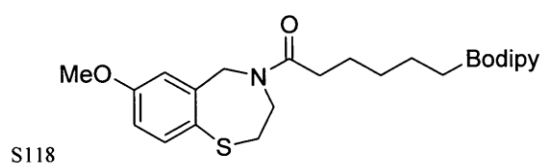
S114



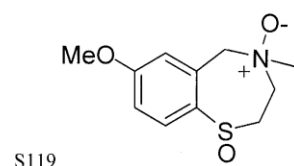
S117

93388

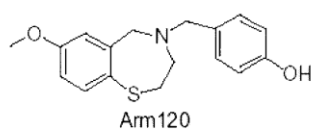
34



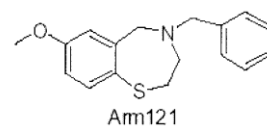
S118



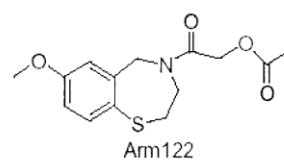
S119



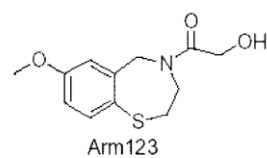
S120



S121



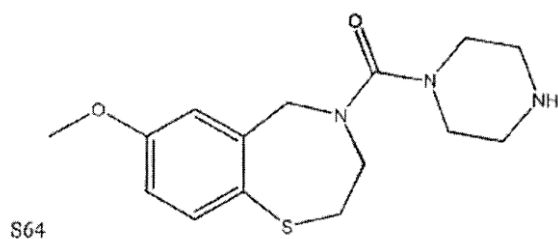
S122



S123

чи її фармацевтично прийнятна сіль чи гідрат.

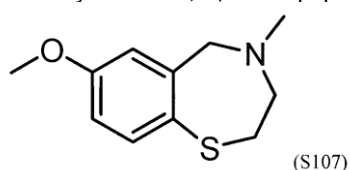
3. Сполука за п. 2, що має формулу



чи її фармацевтично прийнятна сіль чи гідрат.

4. Сполука за п. 3, де фармацевтично прийнятна сіль являє собою гідрохлоридну сіль.

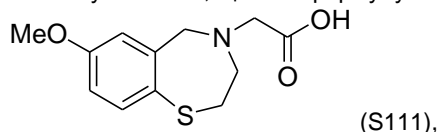
5. Сполука за п. 2, що має формулу



чи її фармацевтично прийнятна сіль чи гідрат.

6. Сполука за п. 5, де фармацевтично прийнятна сіль являє собою гідрохлоридну сіль.

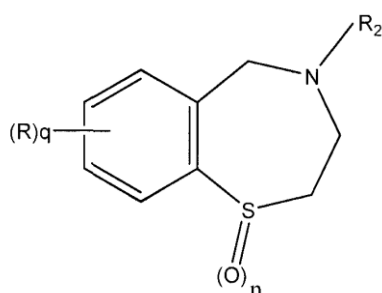
7. Сполука за п. 2, що має формулу



чи її фармацевтично прийнятна сіль чи гідрат.

8. Сполука за п. 7, де фармацевтично прийнятна сіль являє собою гідрохлоридну сіль.

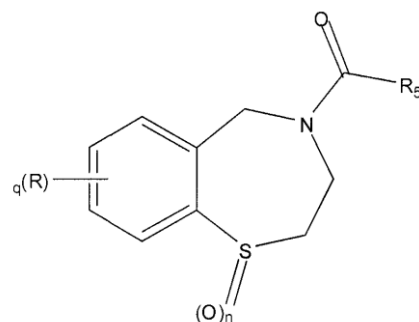
9. Сполука за п. 1, що має формулу I-a:



(Формула I-a)

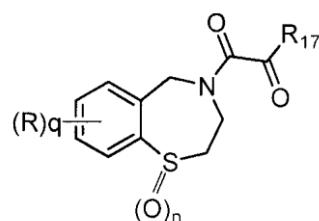
чи її енантіомер, діастереомер, таутомер, фармацевтично прийнятна сіль, гідрат, сольват, комплекс чи проліки, де R, R<sub>2</sub>, q і n мають значення, визначені в п. 1.

10. Сполука за п. 9, що має формулу I-e:



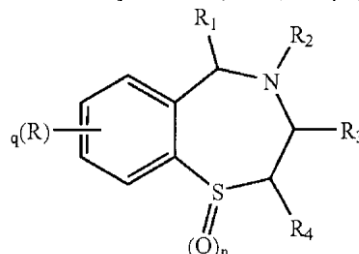
(Формула I-e)

у якій R<sub>5</sub> є -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>; чи формулу I-i:



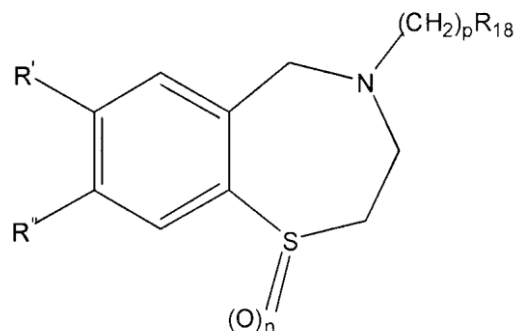
(Формула I-i)

в якій R<sub>17</sub> являє собою -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл чи гетероциклілалкіл, при цьому кожен алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл та гетероциклілалкіл може бути заміщений; чи формулу I:



(Формула I)

в якій R<sub>1</sub>, R<sub>3</sub> і R<sub>4</sub> є H, а R<sub>2</sub> є -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>; чи формулу I-k:



(Формула I-k)

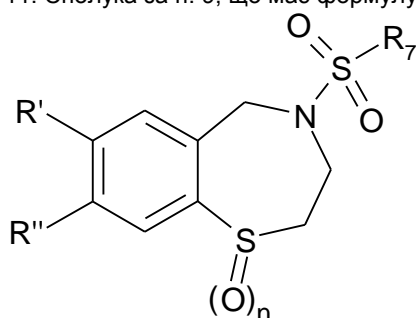
в якій R' і R'' незалежно являють собою H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл,

алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо чи (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо чи (гетеро-)ариламіно може бути заміщений;

$R_{18}$  являє собою H,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)OR_{15}$ ,  $-OR_{15}$ , алкіл, арил, циклоалкіл чи гетероцикліл, при цьому кожен алкіл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл може бути заміщений; а  $r$  дорівнює 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 чи 10; в якій  $n$ ,  $q$ ,  $R$ ,  $R_{15}$ ,  $R_{16}$ ,  $X$ ,  $m$  і  $R_{10}$  мають значення, визначені в п. 1;

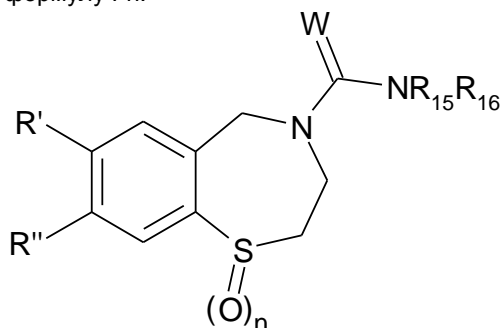
чи її енантіомер, діастереомер, таутомер, фармацевтично прийнятна сіль, гідрат, сольват, комплекс чи проліки.

11. Сполука за п. 9, що має формулу I-d:



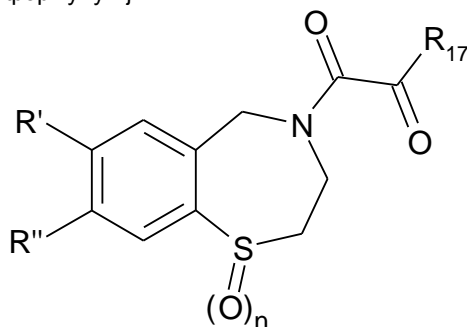
(Формула I-d),

де  $R'$ ,  $R''$  мають значення, визначені в п. 10, а  $R_7$  і  $n$  мають значення, визначені в п. 1; чи формулу I-h:



(Формула I-h)

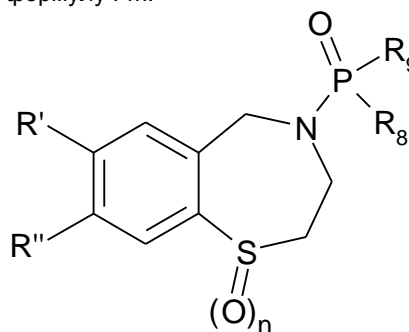
де  $R'$ ,  $R''$  мають значення, визначені в п. 10,  $R_{15}$ ,  $R_{16}$  і  $n$  мають значення, визначені в п. 1, і  $W \in S$  чи  $O$ ; або формулу I-j:



(Формула I-j)

де  $R'$ ,  $R''$ ,  $R_{17}$  мають значення, визначені в п. 10, і  $n$  має значення, визначені в п. 1; або

формулу I-m:

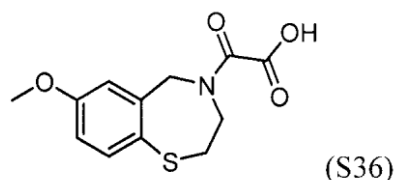


(Формула I-m)

де  $R'$ ,  $R''$  мають значення, визначені в п. 10, і  $R_8$ ,  $R_9$  і  $n$  мають значення, визначені в п. 1;

чи її енантіомер, діастереомер, таутомер, фармацевтично прийнятна сіль, гідрат, сольват чи комплекс.

12. Фармацевтично прийнятна сіль сполуки формули:

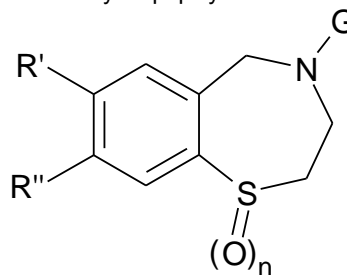


(S36)

з фармацевтично прийнятною основою.

13. Сполука за п. 12, де фармацевтично прийнятна сіль являє собою натрієву сіль.

14. Сполука формули II:



(Формула II)

в якій:

$n$  дорівнює 0, 1 чи 2;

$R'$  і  $R''$  незалежно вибирають з групи, що включає H, атом галогену,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-N_3$ ,  $-SO_3H$ ,  $-S(=O)_2$ алкіл,  $-S(=O)$ алкіл,  $-OS(=O)_2CF_3$ , ацил,  $-OC(=O)Me$ , алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо чи (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщений;

$G$  являє собою  $-SO_2R_7$ ,  $-C(=W)NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)C(=O)R_{17}$ ,  $-(CH_2)_pR_{18}$ ,  $-P(=O)R_8R_9$ ;

чи один чи більше з  $R'$ ,  $R''$  чи  $G$  містить флуоресцентну чи радіоактивну мічену групу;

$R_7$  являє собою  $-OR_{15}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-CH_2X$ , алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцик-

ліл чи гетероцикліалкіл; де кожен алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

$R_8$  і  $R_9$  незалежно являють собою ОН, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл чи гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

W являє собою S чи O;

X являє собою атом галогену,  $-CN$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-SO_2R_7$  чи  $-P(=O)R_8R_9$ ;

$R_{15}$  і  $R_{16}$  незалежно являють собою H, ацил, алкеніл, алкоксил,  $-OH$ ,  $-NH_2$ , алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл чи гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений; чи необов'язково  $R_{15}$  і  $R_{16}$  разом із атомом азоту, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, який може бути заміщений;

$R_{17}$  являє собою  $-OR_{15}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHN R_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-CH_2X$ , алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл чи гетероцикліалкіл; де кожен алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений;

r дорівнює 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 чи 10;

$R_{18}$  являє собою  $-OR_{15}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)OR_{15}$ , алкіл, арил, циклоалкіл, гетероцикліл; де кожен алкіл, арил, циклоалкіл, гетероцикліл може бути заміщений;

атом азоту в бензотіазепіновому кільці може необов'язково бути четвертинним атомом азоту; чи

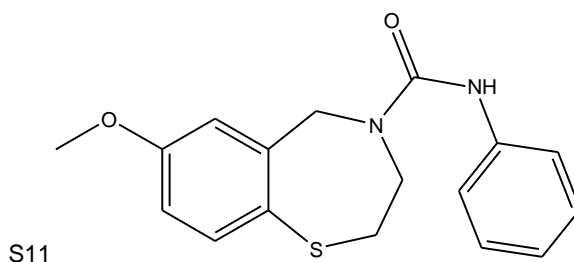
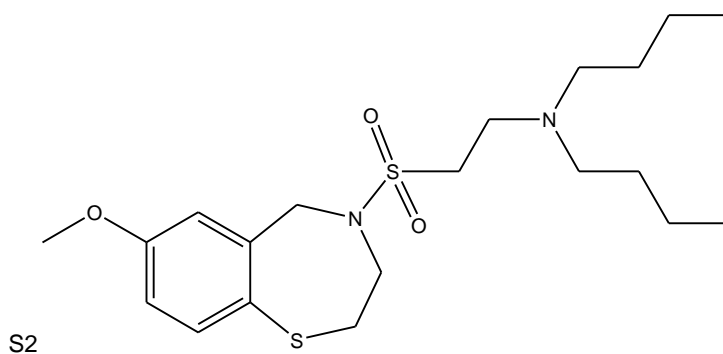
її енантіомер, діастереомер, таутомер, фармацевтично прийнятна сіль, гідрат, сольват чи комплекс;

за умови, що вказана сполука не є:

- 4-етил-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 2,3-дигідро-1,4-бензодіазепін-4(5H)-карботіоамідом;
- N-бутил-2,3-дигідро-1,4-бензодіазепін-4(5H)-карботіоамідом;
- 4-(метилсульфоніл)-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 4-(етилсульфоніл)-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 4-(метилсульфоніл)-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепін-1-оксидом;
- 4-(1H-бензотриазол-1-ілметил)-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 4-(2H-бензотриазол-1-ілметил)-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 4-[(4-метоксифеніл)метил]-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 4-(3-феніл-2-пропін-1-іл)-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 4-[(4-хлорфеніл)метил]-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- 4-пентил-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіном;
- діетиловим естером [(2,3-дигідро-1,4-бензотіазепін-4(5H)-іл)метил]фосфонові кислоти;
- 3-(2,3-дигідро-1,4-бензотіазепін-4(5H)-іл)-1-фенілпропан-1-оном;

крім того, за умови, що вказана сполука не є S3, S4 і S36.

15. Сполука за п. 14, вибрана з групи, що включає:

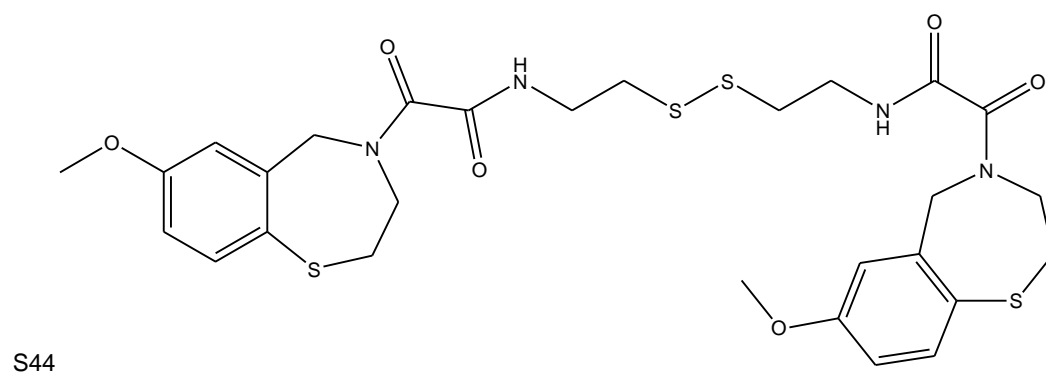
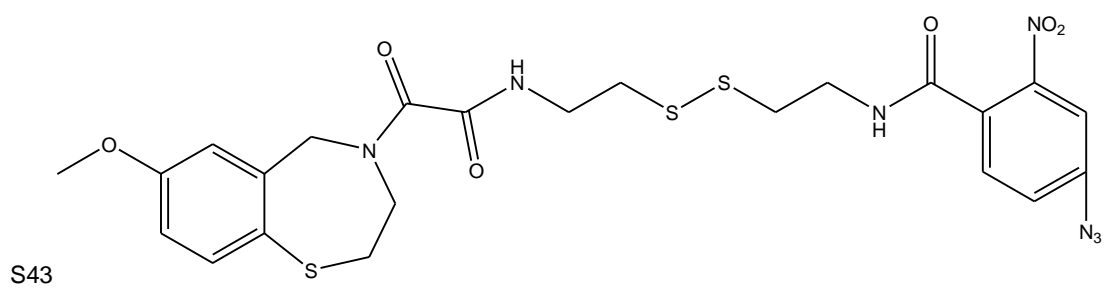
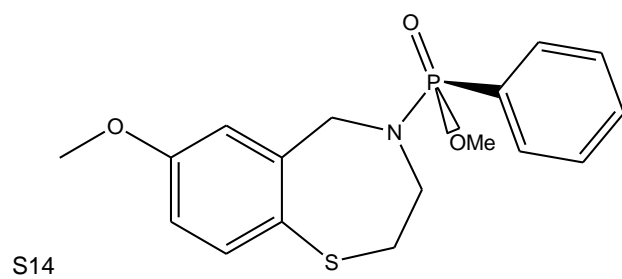
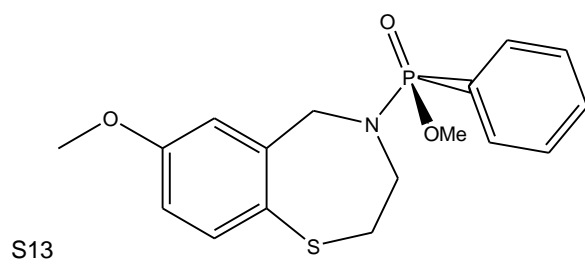
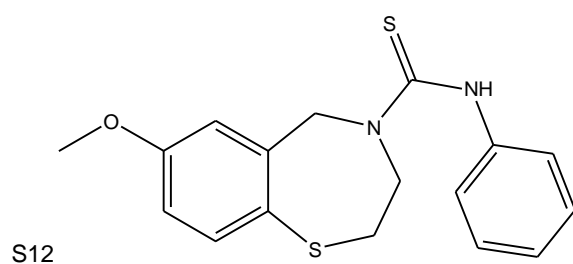




41

93388

42

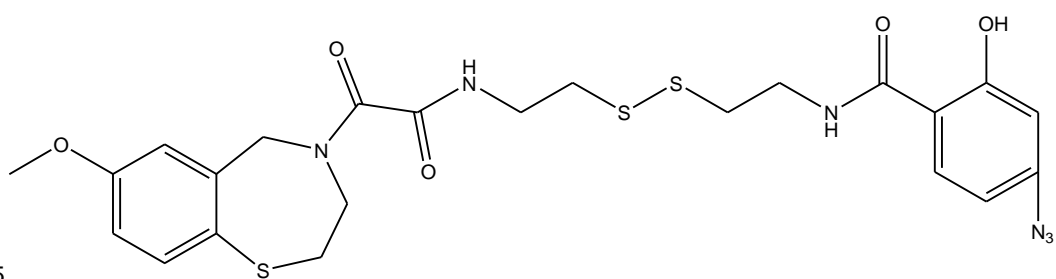


43

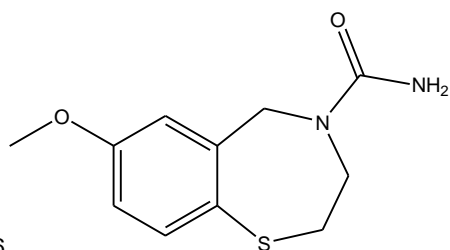
93388

44

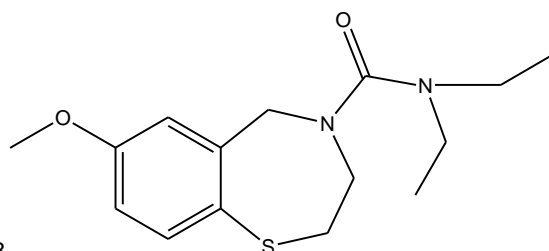
S45



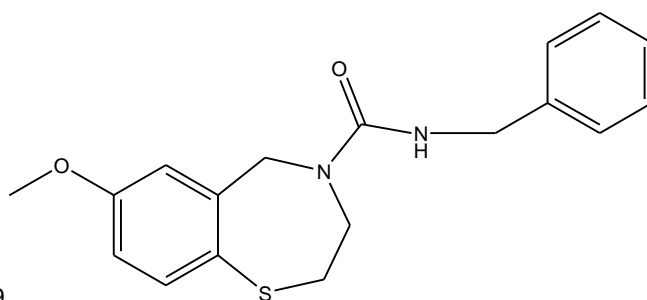
S46



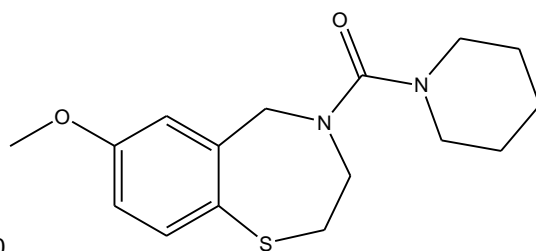
S48



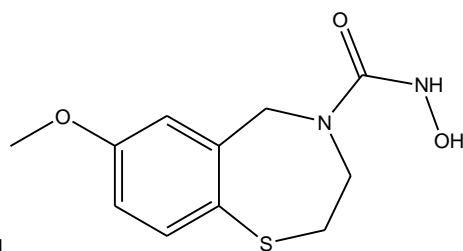
S49

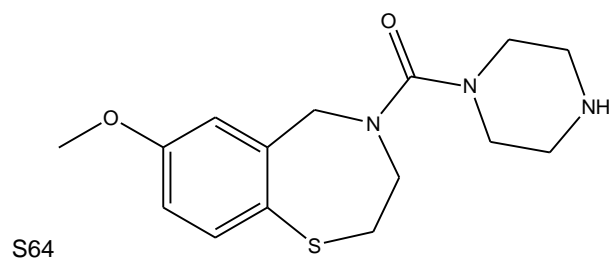
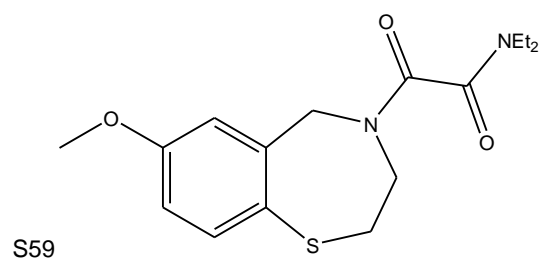
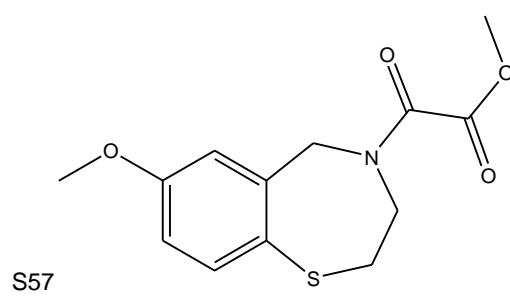
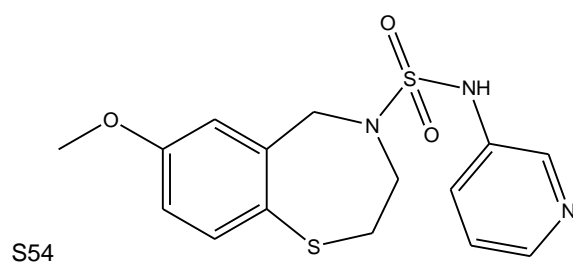
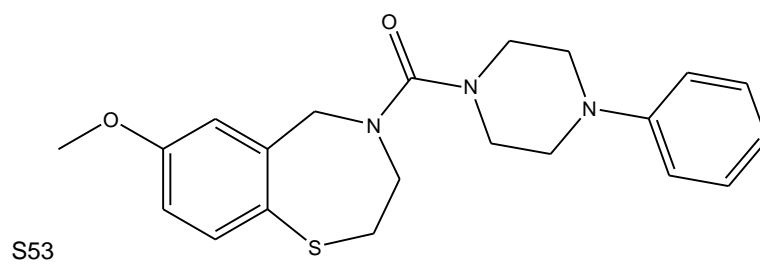
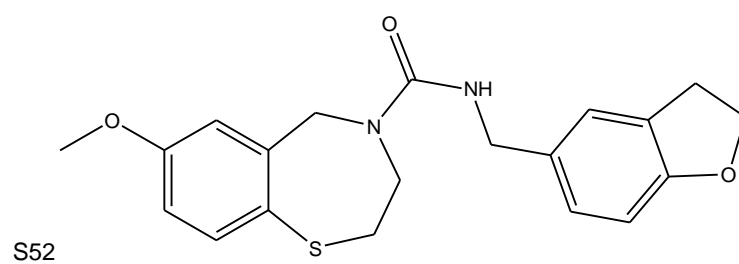


S50



S51

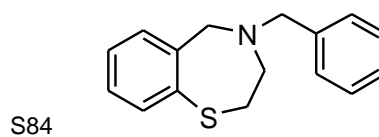
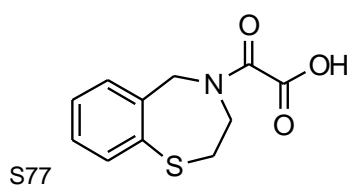
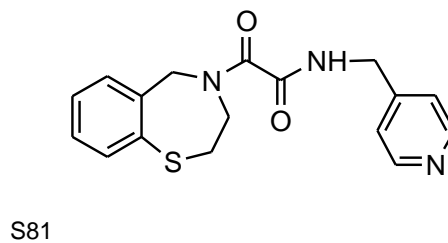
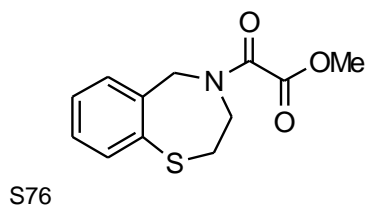
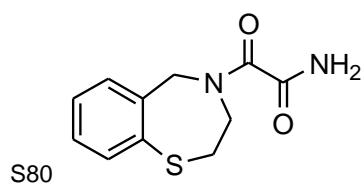
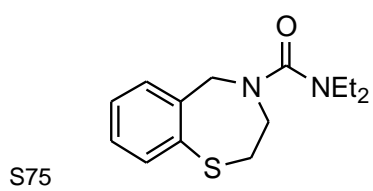
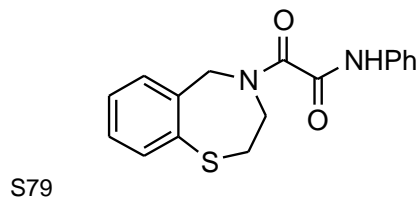
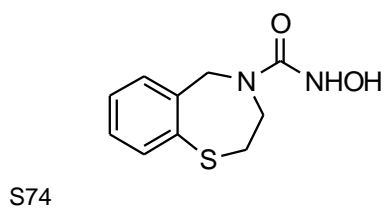
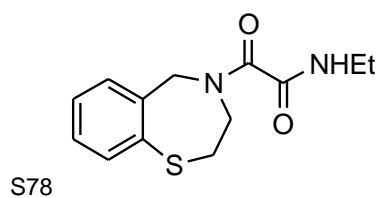
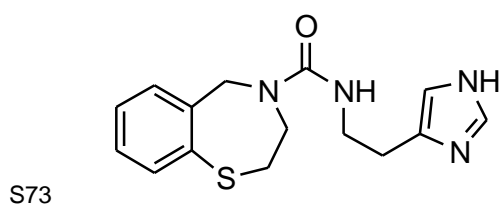
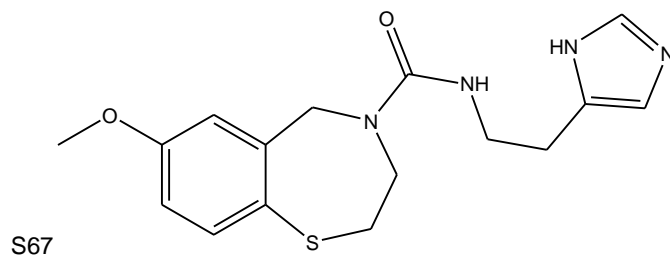
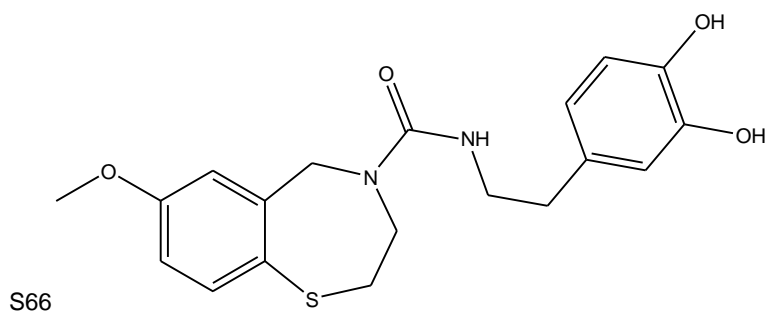


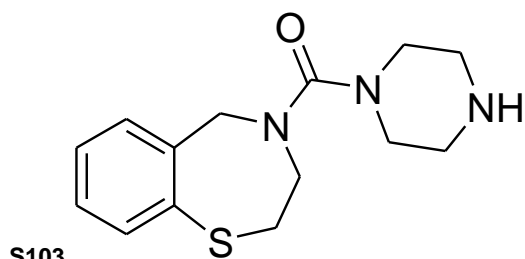
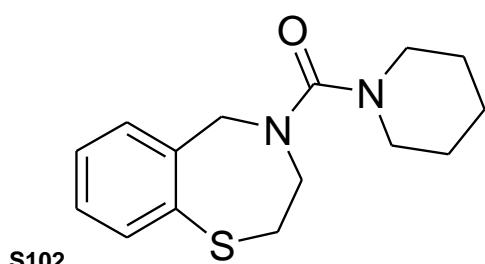


47

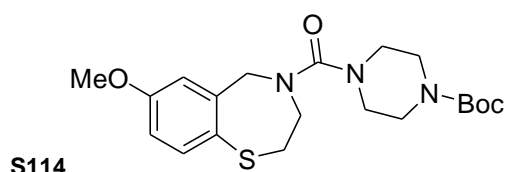
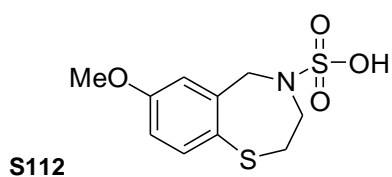
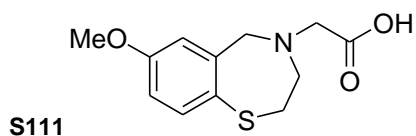
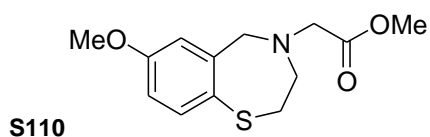
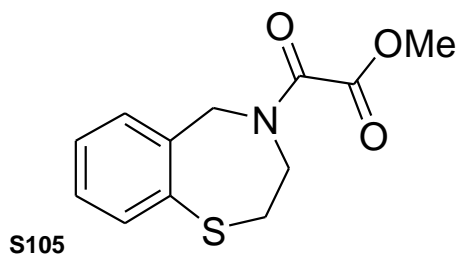
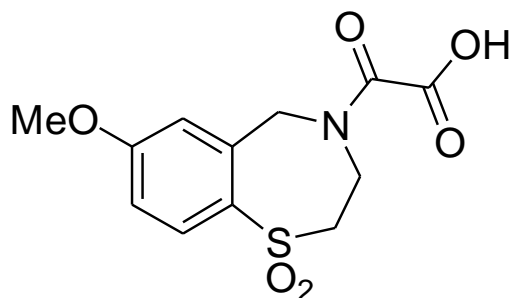
93388

48

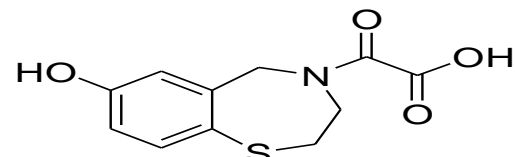




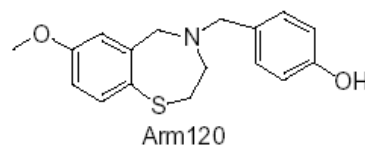
S104



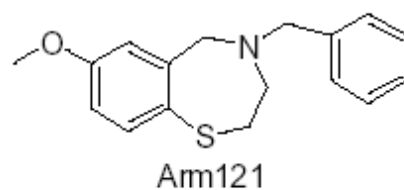
S117



S120



S121



чи її фармацевтично прийнятна сіль чи гідрат.

16. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп. 1-15 і щонайменше одну допоміжну речовину, вибрану з групи, що включає антиоксиданти, аромасполуки, буферні агенти, зв'язуючі агенти, барвники, дезінтегранти, розріджувачі, емульгатори, ексципієнти, наповнювачі, речовини, що покращують смак, желюючі агенти, гліданди, консерванти, агенти, що підсилюють проникнення через шкіру, солубілізатори, стабілізатори, суспендуючі агенти, підсолоджувачі, агенти для додавання тонічності, носії й агенти для підвищення в'язкості.

17. Фармацевтична композиція за п. 16 в формі капсули, гранули, порошку, розчину, суспензії чи таблетки, призначена для введення пероральним, сублінгвальним, букальним, парентеральним, внутрішньовенним, черезшкірним, інгаляційним, інтраназальним, вагінальним, внутрішньом'язовим чи ректальним способом.

18. Спосіб одержання фармацевтичної композиції для лікування чи попередження порушень і захворювань, пов'язаних із RyR рецепторами, що регулюють функціонування кальцієвих каналів у клітинах, що включає об'єднання сполуки за будь-яким з пп. 1-15 і щонайменше однієї допоміжної речовини, що вибрана з групи, яка вклю-

чає антиоксиданти, аромасполуки, буферні агенти, агенти зв'язування, барвники, дезінтегранти, розріджувачі, емульгатори, ексципієнти, наповнювачі, речовини, що покращують смак, желючі агенти, гліданди, консерванти, агенти, що підсилюють проникнення через шкіру, солюбілізатори, стабілізатори, суспендуючі агенти, підсолоджувачі, агенти для додавання тонічності, носії й агенти для підвищення в'язкості.

19. Спосіб за п. 18, в якому порушення і захворювання вибирають з групи, що включає серцеві порушення і захворювання, порушення і захворювання скелетних м'язів, порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, злоскісну гіпертермію, діабет і синдром раптової смерті дитини уві сні.

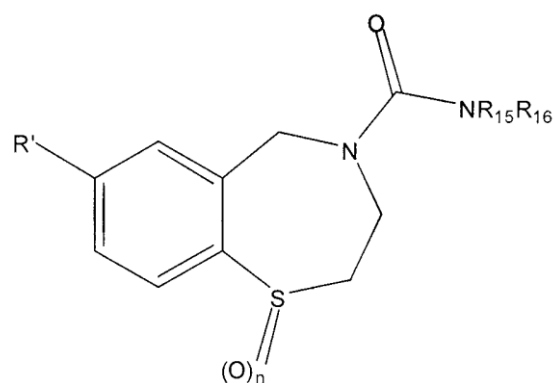
20. Спосіб за п. 19, у якому серцеві порушення і захворювання вибирають із групи, яка включає порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями; раптову кардіогенну смерть, викликану фізичними навантаженнями; раптову кардіогенну смерть, застійну серцеву недостатність, хронічне обструктивне захворювання легень і високий кров'яний тиск.

21. Спосіб за п. 20, у якому порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, і викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, вибирають із групи, яка включає передсердну і шлуночкову аритмію, передсердну і шлуночкову фібриляцію, передсердну і шлуночкову тахіаритмію, передсердну і шлуночкову тахікардію, катехоламінергічну поліморфну шлуночкову тахікардію (CPVT) і їх варіанти, викликані фізичними навантаженнями.

22. Спосіб за п. 19, у якому порушення і захворювання скелетних м'язів вибирають із групи, яка включає утому скелетних м'язів, утому скелетних м'язів, викликану фізичними навантаженнями, м'язову дистрофію, порушення діяльності сечового міхура і нетримання.

23. Спосіб за п. 19, у якому порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, вибирають із групи, яка включає хворобу Альцгеймера, форми втрати пам'яті і викликану віком утрату пам'яті.

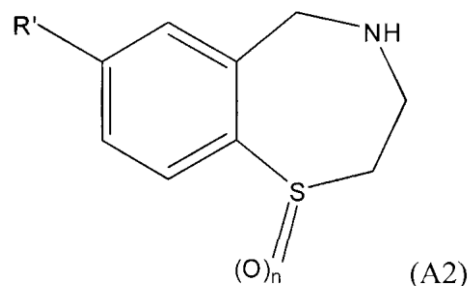
24. Спосіб одержання сполуки формули A1:



(A1),

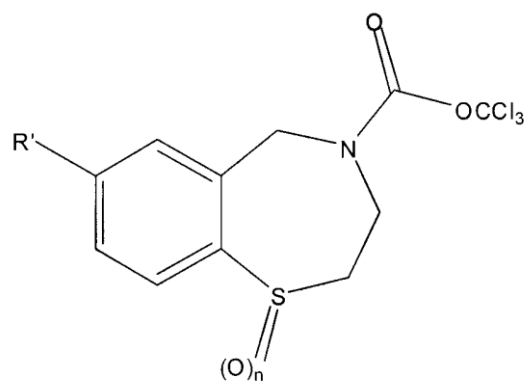
в якій R' є OMe чи H, а n, R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> мають значення, визначені в п. 1, що включає:

(i) взаємодію сполуки формули A2:



(A2)

з трифосгеном з утворенням сполуки формули A3:



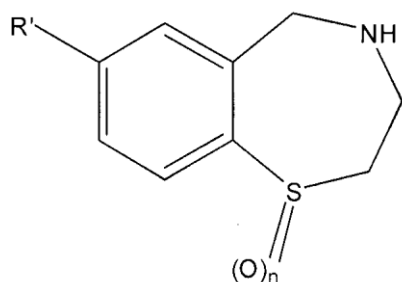
(A3);

(ii) взаємодію сполуки формули A3 з аміном формули HNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub> в умовах, достатніх для одержання сполуки формули A1, чи

(i) взаємодію аміну формули HNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub> з трифосгеном з утворенням сполуки формули A4:



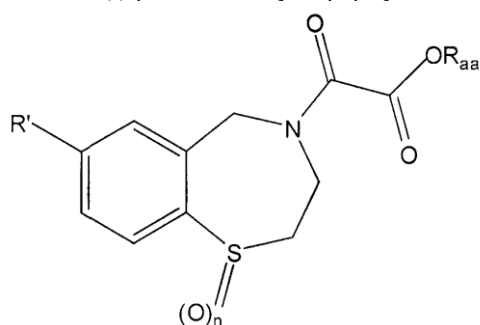
і (ii) взаємодію сполуки формули A4 зі сполукою формули A2:



(A2)

в умовах, достатніх для одержання сполуки формули A1.

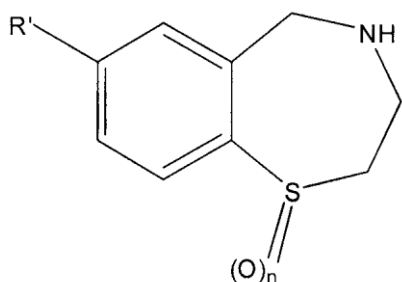
25. Спосіб одержання сполуки формули A5:



(A5)

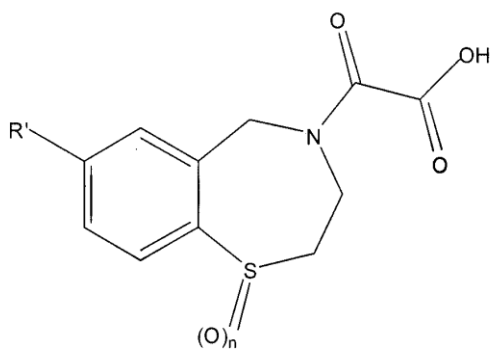
в якій R' є OMe чи H, n дорівнює 0, 1 чи 2, а Raa являє собою C1-C4алкіл чи арил, що включає:

(i) взаємодію сполуки формули A2:



з хлорангідридом кислоти формули  $\text{ClC(=O)C(=O)ORaa}$  у присутності основи в умовах, достатніх для одержання сполуки формули A5.

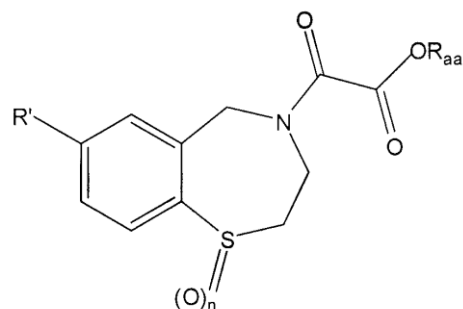
26. Спосіб одержання сполуки формули A6,



(A6),

в якій R' є OMe чи H, n дорівнює 0, 1 чи 2,

що включає взаємодію сполуки формули A5

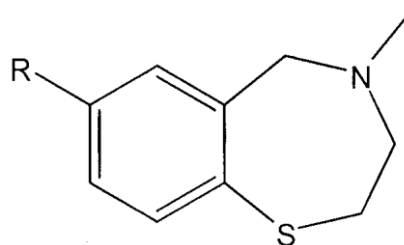


(A5)

в якій Raa має значення, визначені в п. 25, з кислотою чи основою в умовах, достатніх для одержання сполуки формули A6.

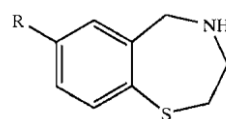
27. Спосіб за п. 26, в якому n дорівнює 0, а R' є -OCH3.

28. Спосіб одержання сполук формули A7:



(A7)

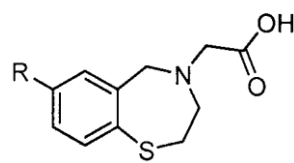
в якій R являє собою OR'', SR'', NR'', алкіл, H чи галогенід, а R'' являє собою алкіл, арил чи H, що включає взаємодію сполуки формули A8:



(A8)

з формальдегідом ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) і ціаноборгідридом натрію ( $\text{NaB(CN)H}_3$ ) в умовах, достатніх для одержання сполуки формули A7.

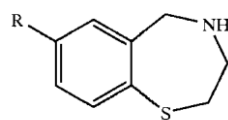
29. Спосіб одержання сполук формули A9:



(A9)

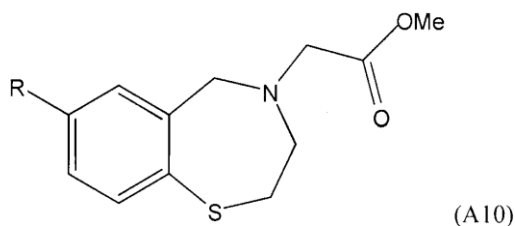
в якій R вибирають з групи, що включає OR'', SR'', NR'', алкіл, H чи галогенід, а R'' являє собою алкіл, арил чи H, що включає

(i) взаємодію сполук формули A8:



(A8)

з метил-1-бромацетатом і піридином в умовах, достатніх для одержання сполуки формули A10:



Даний винахід здійснювали за підтримкою уряду по гранту NIH № PO1 HL 67849-01. По суті, уряд Сполучених Штатів може мати визначені права відносно даного винаходу. За даною заявою претендується пріоритет відповідно до патентної заявки США із серійним номером 11/212413, поданої 25 серпня 2005 року.

Галузь техніки, до якої належить винахід

Даний винахід належить до сполук і до їхнього застосування для лікування і попередження порушень, зв'язаних з RyR рецепторами, що регулюють функціонування кальцієвих каналів у клітинах. Більш конкретно, у даному винаході описані сполуки, що належать до 1,4-бензотіазепінів і застосовні для лікування порушень серцевої діяльності і скелетних м'язів. У даному винаході описані також фармацевтичні композиції, що містять сполуки і предмети виробництва, що містять дані фармацевтичні композиції.

Рівень техніки

Саркоплазматична мережа (SR) являє собою структуру в клітинах, що виступає, крім іншого, як спеціалізований внутрішньоклітинний запас кальцію ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Канали в SR, які називаються р'анодиноними рецепторами (RyR), відкриваються і закриваються, регулюючи вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з SR у внутрішньоклітинну цитоплазму клітини. Вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазму клітини з SR підвищує цитоплазматичну концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$ . Імовірність відкриття (Po) рецептора RyR належить до імовірності того, що канал RyR відкритий у будь-який даний момент і, таким чином, здатний вивільнити  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазму з SR.

Існує три типи р'анодиноних рецепторів, усі з яких є у високому ступені зв'язаними між собою  $\text{Ca}^{2+}$  каналами: RyR1, RyR2 і RyR3. RyR1 переважно знаходиться в скелетному м'язі, а також в інших тканинах, RyR2 переважно знаходиться в серці, а також в інших тканинах, а RyR3 переважно знаходиться в мозку, а також в інших тканинах. RyR-канали утворюються чотирма RyR поліпептидами разом з чотирма FKBP зв'язувальними білками (FKBP), а саме: FKBP12 (кальстабин1) і FKBP12.6 (кальстабин2). Кальстабин1 зв'язується з RyR1, кальстабин2 зв'язується з RyR2, і кальстабин1 зв'язується з RyR3. FKBP білки (кальстабин1 і кальстабин2) зв'язуються з RyR каналом (одна молекула на субодиницю RyR), стабілізують функціонування RyR-каналу і полегшують сполучене

і (ii) обробку сполуки формули A10 гідроксидом натрію в умовах, достатніх для одержання сполуки формули A9.

пропускання між сусідніми RyR каналами, запобігаючи, таким чином, аномальну активацію каналу під час знаходження каналу в закритому стані.

Крім кальстабинових зв'язувальних білків, протеїнкіназа А (PKA) також зв'язується з цитоплазматичною поверхнею RyR рецепторів. PKA фосфорилування RyR рецепторів приводить до часткової дисоціації кальстабинів з RyR. Дисоціація кальстабинів з RyR приводить до підвищеної імовірності відкриття RyR і, отже, підвищеного вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з SR у внутрішньоклітинну цитоплазму.

Вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з SR у скелетних м'язових клітинах і клітинах серця є ключовим фізіологічним механізмом, що регулює м'язову діяльність, оскільки підвищена концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  у внутрішньоклітинній цитоплазмі приводить до м'язового скорочення.

Поєднання збудження-скорочення (ЕС) скелетних м'язів включає електричну деполяризацію плазматичної мембрани в поперечному каналці (Т-каналі), що активує керовані напругою  $\text{Ca}^{2+}$  канали L-типу (LTCC). LTCC ініціюють вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з SR за допомогою фізичної взаємодії з RyR1. Зростання цитоплазматичної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ , що виходить у результаті, викликає актин-міозинову взаємодію і м'язове скорочення. Щоб відбулося розслаблення, внутрішньоклітинний  $\text{Ca}^{2+}$  нагнітається назад у SR через  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазні насоси (SERCA) SR, що регулюється фосфоламбаном (PLB) у залежності від типу м'язового волокна.

Було показано, що форми захворювань, які приводять до тривалої активації симпатичної нервової системи і підвищених рівнів катехоламіну в плазмі, приводять до погано адаптованої активації внутрішньоклітинних шляхів, які проводять напругу, що викликає дестабілізацію закритого стану RyR1 каналу і внутрішньоклітинний витік  $\text{Ca}^{2+}$ . Було знайдено, що внутрішньоклітинний витік  $\text{Ca}^{2+}$  SR через RyR1 канали виснажує внутрішньоклітинні запаси кальцію SR, збільшує компенсаторну витрату енергії і приводить до значного прискорення м'язової стомлюваності. Даний викликаний стресом м'язовий дефект надовго знижує продуктивність окремого м'яза і продуктивність *in vivo*, особливо в ситуаціях підвищеного навантаження.

Крім того, було також показано, що дестабілізація закритого стану RyR1 відбувається в патоло-



гічних умовах підвищеної симпатичної активації і включає виснаження стабілізуючої кальстабін1 (FKBP12) субодиниці каналу. Контрольно-перевірочні експерименти показали, що PKA активація як виконавчий механізм симпатичної нервової системи збільшує PKA-фосфорилування RyR1 по Ser-2843, що знижує афінність до зв'язування кальстабін1 і RyR1 і підвищує імовірність відкриття каналу.

У серцевого поперечносмугастого м'язу RyR2 є основним каналом вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ , необхідним для сполучення ЕС і м'язового скорочення. Під час сполучення ЕС деполяризація клітинної мембрани серцевого м'язу при нульовій фазі біоелектричного потенціалу активує керовані напругою  $\text{Ca}^{2+}$  канали. У свою чергу, втікання  $\text{Ca}^{2+}$  через відкриті керовані напругою канали ініціює вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з SR через RyR2. Цей процес відомий як викликане  $\text{Ca}^{2+}$  вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ . Потім опосередковане RyR2, викликане  $\text{Ca}^{2+}$  виділення  $\text{Ca}^{2+}$  активує скорочувальні білки в серцевій клітині, що приводить до скорочення серцевого м'язу.

Фосфорилування серцевого RyR2 PKA являє собою важливу частину реакції «напад-втеча», що підвищує ріст серцевого ЕС за рахунок збільшення кількості  $\text{Ca}^{2+}$ , що вивільняється, для даного тригера. Даний сигнальний шлях являє собою механізм, по якому активація симпатичної нервової системи, у відповідь на стрес, приводить до підвищеного хвилинного серцевого викиду. PKA-фосфорилування RyR2 збільшує імовірність відкриття каналу за рахунок дисоціації кальстабін2 (FKBP12.6) з каналного комплексу. Це, у свою чергу, підвищує чутливість RyR2 до  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної активації.

Незважаючи на успіхи в лікуванні, серцева недостатність залишається значною причиною смертності в західних країнах. Істотною ознакою серцевої недостатності є знижена скорочуваність міокарда. При серцевій недостатності аномалії в скорочуваності відбуваються, частково, від змін у сигнальному шляху, що дає можливість серцевому біоелектричному потенціалу запускати вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  через RyR2 канали і скорочення м'язів. Зокрема, для серця з недостатністю амплітуда  $\text{Ca}^{2+}$  перехідного режиму в цілій клітині знижена, а тривалість збільшена.

Серцева аритмія, поширена ознака серцевої недостатності, приводить до численних смертних випадків, зв'язаних з даним захворюванням. Передсердна фібриляція (AF) є найбільш розповсюдженим випадком серцевої аритмії в людини і являє собою головну причину захворюваності і смертності. Структурні й електричні зміни - включаючи скорочення передсердної рефрактерності, втрату залежної від швидкості адаптації рефрактерності й скорочення довжини хвилі знову вхідних хвиль малої амплітуди - супроводжують стійку тахікардію. Дана зміна, очевидно, важлива для розвитку, підтримки і прогресування передсердної фібриляції. На підставі досліджень припускають, що переміщення кальцію відіграє роль в електричній зміні при передсердній фібриляції.

Приблизно 50% усіх пацієнтів із хворобами серця вмирають від смертельної серцевої аритмії. У

деяких випадках шлуночкова аритмія в серці швидко стає смертельною - явище, яке називається «раптова кардіогенна смерть» (SCD). Смертельна шлуночкова аритмія і SCD трапляються також у молодих, здорових в інших відношеннях індивідумів, відносно яких невідомо про наявність структурної хвороби серця. Фактично, шлуночкова аритмія являє собою найбільш розповсюджену причину раптової смерті в індивідумів, здорових в інших відношеннях.

Катехоламінергічна поліморфна шлуночкова тахікардія (CPVT) являє собою спадкове порушення в індивідумів зі структурно нормальними серцями. Вона характеризується викликанною фізичними навантаженнями шлуночковою тахікардією - летальною аритмією, що викликає SCD. У суб'єктів з CPVT фізичне зусилля і/або стрес приведуть до двоспрямованої і/або поліморфної шлуночкової тахікардії, що приводить до SCD навіть під час відсутності детектованої структурної хвороби серця. CPVT переважно успадковується аутосомно-домінантним чином. В індивідумів з CPVT шлуночкова аритмія присутня, коли вони піддаються фізичним навантаженням, але аритмія не виявляється в стані спокою. У результаті досліджень індивідумів з CPVT були встановлені мутації в людському гені RyR2 у хромосомі 1q42-q43.

Серця з недостатністю (наприклад, у пацієнтів із серцевою недостатністю й у тваринних моделей серцевої недостатності) характеризуються нездатною до адаптації реакцією, що включає хронічну гіперадренергічну стимуляцію. При серцевій недостатності хронічна бета-адренергічна стимуляція зв'язана з активацією бета-адренорецепторів у серці, що шляхом сполучення з G-білками активують аденілілциклазу і, таким чином, збільшують внутрішньоклітинну концентрацію цАМФ. цАМФ активує цАМФ-залежну PKA, яка, як було показано, індукує гіперфосфорилування RyR2. Таким чином, хронічна серцева недостатність являє собою хронічний гіперадренергічний стан, що приводить до декількох патологічних наслідків, включаючи PKA-гіперфосфорилування RyR2.

Було висловлене припущення, що PKA-гіперфосфорилування RyR2 є чинником, що сприяє зниженій скорочувальній функції й аритмогенезу при серцевій недостатності. Відповідно до цієї гіпотези, PKA-гіперфосфорилування RyR2 у серцях з недостатністю було показано *in vivo* як на тваринних моделях, так і на пацієнтах із серцевою недостатністю, що піддаються пересадці серця.

При серцевій недостатності гіперфосфорилування RyR2 PKA викликає дисоціацію FKBP12.6 (кальстабін2) з RyR2 каналу. Це приводить до помітних змін у біофізичних властивостях RyR2 каналу, включаючи підвищену імовірність відкриття ( $P_o$ ) внаслідок збільшеної чутливості до  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної активації; дестабілізації каналу, що приводить до станів субпровідності; і ослабленого сполученого пропускання каналів, що приведе до дефектного сполучення і серцевої дисфункції. Таким чином, PKA-гіперфосфорильований RyR2 дуже чутливий до незначної стимуляції  $\text{Ca}^{2+}$ , і це виявляється у вигляді діастолічного витоку  $\text{Ca}^{2+}$  SR через PKA-гіперфосфорильований RyR2 канал.

Нездатна до адаптації реакція при серцевій недостатності приводить до виснаження FKBP12.6 з каналного макромолекулярного комплексу. Це веде до зрушення вліво в чутливості RyR2 до викликаного  $\text{Ca}^{2+}$  вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ , що приводить до того, що канали більш активні при концентраціях  $\text{Ca}^{2+}$  від низьких до помірних. Згодом даний «витік», який виріс, через RyR2 приводить до повернення вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  SR до більш низького рівня, що, у свою чергу, знижує ріст сполучення ЕС і сприяє ослабленню систолічної скорочуваності.

Крім того, субпопуляція особливо «текучих» RyR2 здатна вивільняти  $\text{Ca}^{2+}$  SR під час фази відпочинку серцевого циклу, діастолі. Це приводить до деполяризації кардіоміоцитної мембрани, відомої як уповільнені наступні деполяризації (DAD), що, як відомо, ініціюють смертельну серцеву аритмію.

У пацієнтів з CPVT мутаціями в RyR2 і структурно нормальними в інших відношеннях серцями задіяне аналогічне явище. Точніше, відомо, що фізичні навантаження і стрес індуюють вивільнення катехоламінів, що активують бета-адренорецептори в серці. Активація даних бета-адренорецепторів приводить до PKA-гіперфосфорилування RyR2 каналів. Крім того, факти наводять на думку про те, що PKA-гіперфосфорилування RyR2, що відбувається внаслідок активації бета-адренергічних рецепторів, з більшою імовірністю приведе мутовані RyR2 канали у відкритий стан у фазі розслаблення серцевого циклу, підвищуючи імовірність аритмії.

Відомо, що серцева аритмія пов'язана з діастолічним витокм  $\text{Ca}^{2+}$  SR у пацієнтів з CPVT мутаціями в RyR2 і структурно-нормальними в інших відношеннях серцями. У цих випадках найбільш розповсюдженим механізмом індукування і підтримки шлуночкової тахікардії є аномальна автоматичність. Одна з форм аномальної автоматичності, відома як очікуюча аритмія, пов'язана з аномальним вивільненням  $\text{Ca}^{2+}$ , що ініціює DAD. DAD є аномальними деполяризаціями в кардіоміоцитах, що відбуваються після реполяризації біоелектричного потенціалу серця. Молекулярна основа аномального SR вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ , що приводить до DAD, з'ясована не повністю. Однак відомо, що DAD блокуються ріданином, що підтверджує те, що RyR2 відіграє ключову роль у патогенезі даного аномального вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ .

У патенті США № 6489125 обговорюється JTV-519 моногідрохлорид 4-[3-(4-бензилпіперидин-1-іл)пропіоніл]-7-метокси-2,3,4,5-тетрагідро-1,4-бензотіазепіну, відомий також як k201 або ICP-Calstan 100, 1,4-бензотіазепін, як новий модулятор RyR кальцій-іонних каналів.

У заявці США із серійним номером 10/763498, що знаходиться одночасно на розгляді, обговорюється RyR2 як мішень для лікування і попередження серцевої недостатності і серцевої аритмії, включаючи передсердну фібриляцію і серцеву аритмію, що приводить до викликані фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті (SCD). Було знайдено, що RyR2 канали з 7 різними мутаціями CPVT (наприклад, S2246L, R5474S, N4104K, R4497C, P2328C, Q4201R, V4653F) мають

функціональні дефекти, що приводять до того, що дані канали протікають (тобто кальцієвий витік) при стимуляції під час фізичних навантажень. Було показано, що механізм VT при CPVT аналогічний механізму VT при серцевій недостатності.

Було показано, що причиною аритмії і раптової смерті (у пацієнтів з CPVT), викликані фізичними навантаженнями, є знижена афінність FKBP12.6 (кальстабину2) стосовно RyR2. Крім того, було показано, що фізичне навантаження активує RyR2 у результаті фосфорилування аденозин 3',5'-монофосфатом (цАМФ)-залежною протеїнкіназою (PKA). Мутантні RyR2 канали, що нормально функціонували в планарних ліпідних бішарах у базальних умовах, були більш чутливі до активації шляхом PKA фосфорилування, виявляючи підвищену активність (імовірність відкриття) і більш тривалі відкриті стани в порівнянні з каналами дикого типу. Крім того, PKA-фосфорильовані мутантні RyR2 канали були резистентні до інгібування  $\text{Mg}^{2+}$ , фізіологічного інгібітору даного каналу, і виявляли знижене зв'язування з FKBP12.6 (ака кальстабину2, що стабілізує канал у закритому стані). Ці дані вказують на те, що під час фізичних навантажень, коли RyR2 фосфорильований PKA, мутантні CPVT канали з більшою імовірністю відкриті під час фази розслаблення серцевого циклу (діастолі), підвищуючи імовірність аритмії витокм  $\text{Ca}^{2+}$ , що ініціюється SR.

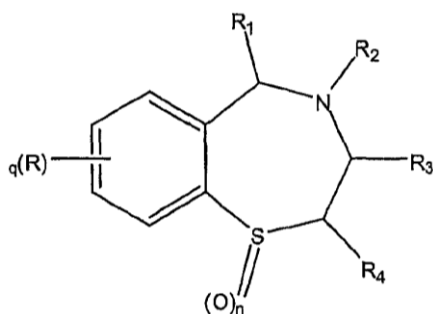
Крім того, у патентній заявці США № 09/288606, що знаходиться одночасно на розгляді, обговорюється спосіб регулювання скорочення серця суб'єкта при введенні сполуки, що регулює PKA-фосфорилування RyR2 рецептору, а точніше, що зменшує PKA-фосфорилування. У патентній заявці США № 10/608723, що знаходиться одночасно на розгляді, також обговорюється спосіб лікування і профілактики передсердної тахіаритмії й аритмії, викликані фізичним навантаженням і стресом, при введенні агента, що інгібує PKA-фосфорилування RyR2.

Суть винаходу

У світлі викладеного вище, необхідно знайти нові агенти, ефективні для лікування або попередження порушень і захворювань, зв'язаних з RyR рецепторами, що регулюють функціонування кальцієвих каналів у клітинах, включаючи скелетні м'язові порушення і захворювання і, особливо, серцеві порушення і захворювання. Більш конкретно, залишається потреба в знаходженні нових сполук, які можна використовувати для лікування зв'язаних з RyR порушень, наприклад, за рахунок заповнення витоку з RyR каналів і підвищення зв'язування FKBP білків (кальстабину1 і кальстабину2) із PKA-фосфорильованим RyR і з мутованим RyR, що, інакше, володіє зниженою афінністю або не зв'язується з FKBP12 і FKBP12.6. Варіанти здійснення даного винаходу вирішують деякі або всі ці потреби.

Відповідно, у цілому в даному винаході запропоновані сполуки, які можна класифікувати як 1,4-бензотіазепіни і які іноді називають тут «RyCal».

Крім того, у даному винаході запропоновані сполуки формули I:



у якій

$n$  дорівнює 0, 1 або 2;

$q$  дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен  $R$  незалежно вибирають із групи, яка включає  $H$ , галоген,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-N_3$ ,  $-SO_3H$ ,  $-S(=O)_2$ алкіл,  $-S(=O)$ алкіл,  $-OS(=O)_2CF_3$ , ацил,  $-O$ -ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілариламіно, алкілтіо, циклоалкіл, алкіларил, арил, гетероарил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил,  $-O$ -ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілариламіно, алкілтіо, циклоалкіл, алкіларил, арил, гетероарил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути необов'язково заміщений;

$R_1$  вибирають із групи, яка включає  $H$ , оксо, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_5$  вибирають із групи, яка включає  $H$ ,  $-C(=O)R_5$ ,  $-C(=S)R_6$ ,  $-SO_2R_7$ ,  $-P(=O)R_8R_9$ ,  $-(CH_2)_m$ - $R_{10}$ , алкіл, арил, алкіларил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероцикліл; де кожен алкіл, арил, алкіларил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_3$  вибирають із групи, яка включає  $H$ ,  $-CO_2Y$ ,  $-C(=O)NHY$ , ацил,  $-O$ -ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений; і де  $Y$  вибирають із групи, яка включає  $H$ , алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен алкіл, арил, алкіларил, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_4$  вибирають із групи, яка включає  $H$ , алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_5$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-(CH_2)_qNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-C(=O)NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-CH_2X$ , ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути необов'язково заміщений; і де  $q$  дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

$R_6$  вибирають із групи, яка включає  $-OR_{15}$ ,  $-NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-CH_2X$ , ацил, алкеніл, алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути необов'язково заміщений;

$R_7$  вибирають із групи, яка включає  $-OR_{15}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-CH_2X$ , алкіл, алкеніл, алкініл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен алкіл, алкеніл, алкініл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути необов'язково заміщений;

$R_8$  і  $R_9$  незалежно вибирають із групи, яка включає  $OH$ , ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути необов'язково заміщений;

$R_{10}$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $OH$ ,  $-SO_2R_{11}$ ,  $-NHSO_2R_{11}$ ,  $C(=O)(R_{12})$ ,  $NHC(=O)(R_{12})$ ,  $-OC(=O)(R_{12})$  і  $-P(=O)R_{13}R_{14}$ ;

$R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$  і  $R_{14}$  незалежно вибирають із групи, яка включає  $H$ ,  $OH$ ,  $NH_2$ ,  $-NHNH_2$ ,  $-NHOH$ , ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути необов'язково заміщений;

$X$  вибирають із групи, яка включає галоген,  $-CN$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-SO_2R_7$  і  $-P(=O)R_8R_9$ ; і

$R_{15}$  і  $R_{16}$  незалежно вибирають із групи, яка включає  $H$ , ацил, алкеніл, алкоксил,  $OH$ ,  $NH_2$ , алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути необов'язково заміщений; і необов'язково  $R_{15}$  і  $R_{16}$  разом з атомом азоту, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщений;

атом азоту в бензотіазепіновому кільці може необов'язково бути четвертинним атомом азоту; і

їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки;

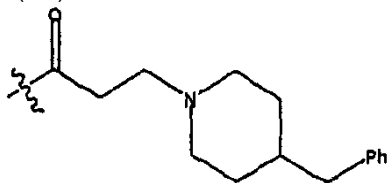
за умови, що коли  $q$  дорівнює 0 і  $n$  дорівнює 0, то  $R_5$  не є  $H$ ,  $Et$ ,  $-C(=O)NH_2$ ,  $(=O)NHPh$ ,  $-C(=S)NH$ - $n$ Бутіл,  $-C(=O)NHC(=O)CH_2Cl$ ,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(O)CH=CH_2$ ,  $-S(=O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ;

крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 0, а  $n$  дорівнює 1 або 2, то  $R_5$  не є  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-S(=O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ;

крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 1, а  $R$  є  $Me$ ,  $Cl$  або  $F$  у 6 положенні бензотіазепінового

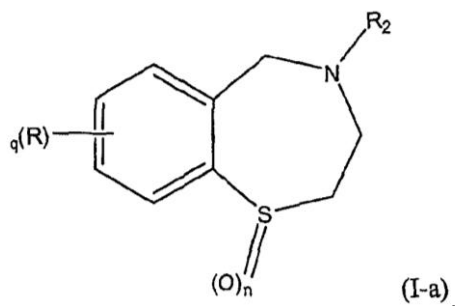
циклу, то  $R_5$  не є H, Me,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(=O)Ph$ ,  $-S(=O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ; і,

крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 1,  $n$  дорівнює 0, а  $R$  є  $OCT_3$ , OH,  $C_1$ - $C_3$  алкоксил у 7 положенні бензотіазепінового циклу, то  $R_5$  не є H,  $-C(=O)CH=CH_2$  або



В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I, описані вище, за умови, що дана сполука не є S24 або S68.

Крім того, у даному винаході запропоновані сполуки формули I-a:



у якій

$n$  дорівнює 0, 1 або 2;

$q$  дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен  $R$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-N_3$ ,  $-SO_3H$ ,  $-S(=O)_2$ алкіл,  $-S(=O)$ алкіл,  $-OS(=O)_2CF_3$ , ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщеною або незаміщеною;

$R_5$  вибирають із групи, яка включає H,  $-C(=O)(R_5)$ ,  $-CS(R_6)$ ,  $-SO_2R_7$ ,  $-P(=O)R_8R_9$ ,  $-(CH_2)_m-R_{10}$ , алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероциклі; де кожен алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероциклі може бути заміщеним або незаміщеним;

$R_5$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNH_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-C(=O)NHNH_{15}R_{16}$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-CH_2X$ , ацил, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

$R_6$  вибирають із групи, яка включає  $-OR_{15}$ ,  $-NHNH_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-CH_2X$ , ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алке-

ніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

$R_7$  вибирають із групи, яка включає H,  $-OR^{15}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNH_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-CH_2X$ , алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

$R_8$  і  $R_9$  незалежно вибирають із групи, яка включає  $-OH$ , ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

$R_{10}$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ , OH,  $-SO_2R_{11}$ ,  $-NHSO_2R_{11}$ ,  $-C(=O)(R_{12})$ ,  $-NH(C=O)R_{12}$ ,  $-O(C=O)R_{12}$  і  $-P(O)R_{13}R_{14}$ ;

$m$  дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

$R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$  і  $R_{14}$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, OH,  $NH_2$ ,  $-NHNH_2$ ,  $-NHOH$ , ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

$X$  вибирають із групи, яка включає галоген,  $-CN$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-SO_2R_7$  і  $-P(=O)R_8R_9$ ; і

$R_{15}$  і  $R_{16}$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, ацил, алкеніл, алкоксил, OH,  $NH_2$ , алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, алкоксил, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним; і необов'язково  $R_{15}$  і  $R_{16}$  разом з N, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщений або незаміщений;

атом азоту в бензотіазепіновому кільці може необов'язково бути четвертинним атомом азоту; і

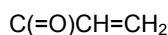
їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки;

за умови, що коли  $q$  дорівнює 0 і  $n$  дорівнює 0, то  $R_5$  не є H, Et,  $-C(=O)NH_2$ ,  $(=O)NHPh$ ,  $-C(=S)NH-n$ Бутіл,  $-C(=O)NHC(=O)CH_2Cl$ ,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(=O)CH=CH_2$ ,  $-S(O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ;

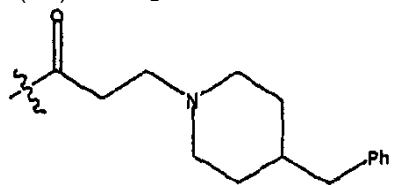
крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 0 і  $n$  дорівнює 1 або 2, то  $R_5$  не є  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-S(=O)_2Me$  або  $-S(O)_2Et$ ;

крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 1, а  $R$  є Me, Cl або F у 6 положенні бензотіазепінового циклу, то  $R_5$  не є H, Me,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(=O)Ph$ ,  $-S(=O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ; і

крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 1,  $n$  дорівнює 0, а  $R$  є  $OCT_3$ , OH,  $C_1$ - $C_3$  алкоксил у 7 положенні бензотіазепінового циклу, то  $R_5$  не є H, -



або

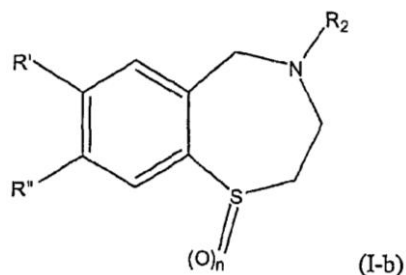


У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-a, у яких кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл;

а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-a, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -C(=O)R<sub>5</sub>, -C=S(R<sub>6</sub>), -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, -P(=O)R<sub>8</sub>R<sub>9</sub> і -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-b:



у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілакіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілакіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

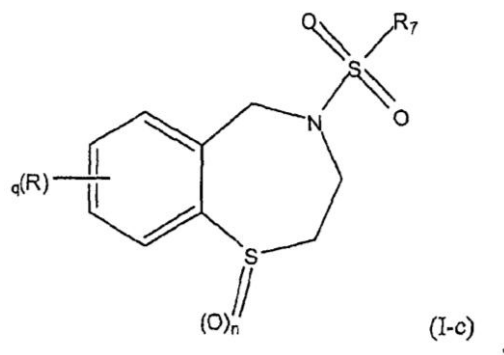
R<sub>5</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a;

і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-b, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-b, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -C(=O)R<sub>5</sub>, -C=S(R<sub>6</sub>), -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, -P(=O)R<sub>8</sub>R<sub>9</sub> і -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-c:

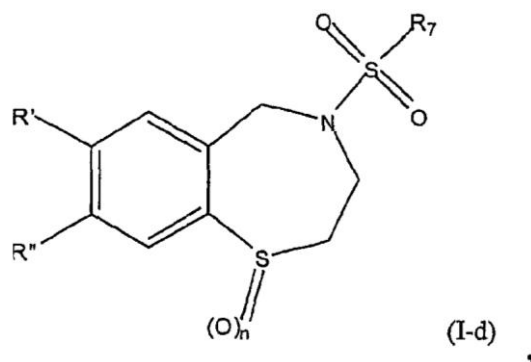


у якій кожен R, R<sub>7</sub>, q і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a, і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-c, у якій кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-c, у яких R<sub>7</sub> вибирають із групи, яка включає -OH, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілакіл, гетероцикліл і гетероциклілакіл; де кожен алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілакіл, гетероцикліл і гетероциклілакіл може бути заміщеним або незаміщеним.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-d:



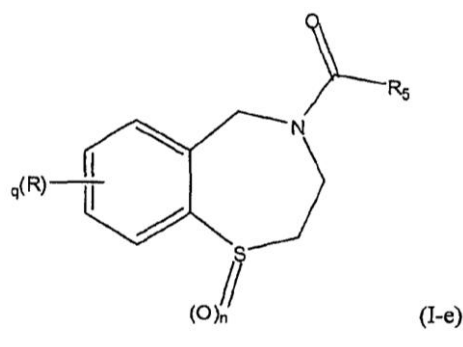
у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілакіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілакіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

$R_7$  і  $n$  мають значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-d, у яких  $R'$  і  $R''$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а  $n$  дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках  $R'$  є H або OMe, а  $R''$  є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-d, у яких  $R_7$  вибирають із групи, яка включає -OH, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або незаміщеним.

В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i:



у якій кожен R, R<sub>5</sub>, q і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a, і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

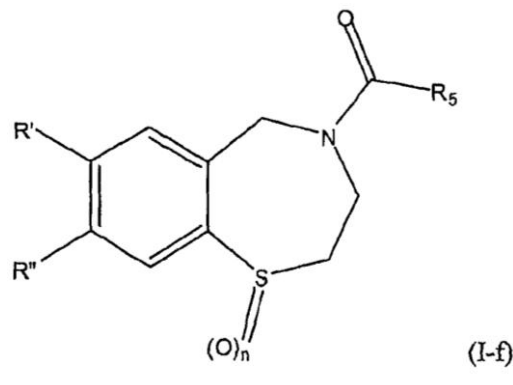
У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких кожен R вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або незаміщеним.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких R<sub>5</sub> являє собою алкіл, заміщений щонайменше однією міченою групою, такою, як флуоресцентна, біolumінесцентна, хемілюмінесцентна, колориметрична і радіоактивна мічена групи. Флуоресцентну мічену групу можна вибрати з bodipy, дансилу,

флуоресцеїну, родаміну, Texas red, ціанінових барвників, пірену, кумаринів, Cascade Blue™, Pacific Blue, Marina Blue, Oregon Green, 4',6'-діамідино-2-феніліндоли (DAPI), індопірових барвників, люциферину жовтого, пропідіумйодиду, порфіринів, аргініну і їхніх варіантів і похідних.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-f:



у якій  $R'$  і  $R''$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

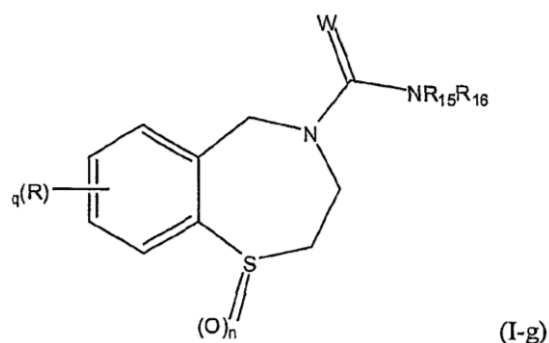
R<sub>5</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a;

і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-f, у яких  $R'$  і  $R''$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках  $R'$  є H або OMe, а  $R''$  є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-f, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або незаміщеним.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g:



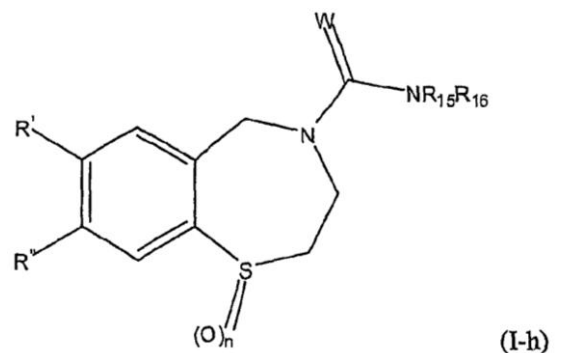
у якій W є S або O; кожен R, R<sub>15</sub>, R<sub>16</sub>, q і n має значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g, у якій кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1-4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1-4</sub>алкіл, -S-C<sub>1-4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g, у яких R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, OH, NH<sub>2</sub>, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним; і необов'язково R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> разом з N, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщеним.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g, у яких W є O або S.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h,



у якій W є S або O;

у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)

арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>15</sub>, R<sub>16</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a;

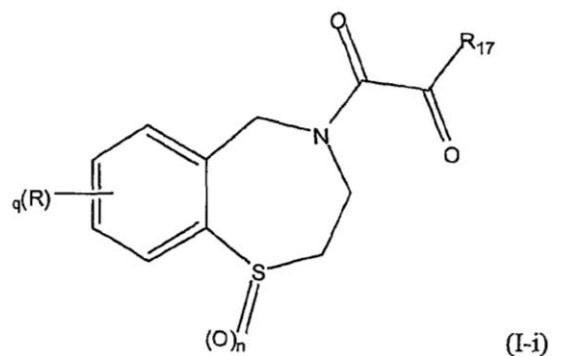
і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1-4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1-4</sub>алкіл, -S-C<sub>1-4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h, у яких R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, OH, NH<sub>2</sub>, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; і де кожен алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним; і необов'язково R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> разом з N, з яким вони зв'язано, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщеним.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h, у яких W є O або S.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i,



у якій R<sub>17</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

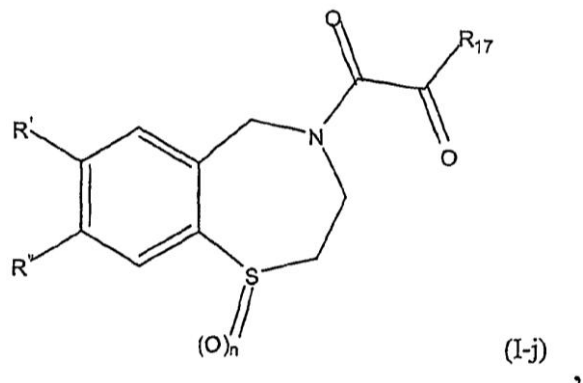
кожен R, q і n має значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -

OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких R<sub>17</sub> є -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub> і -OR<sub>15</sub>. У деяких інших варіантах здійснення R<sub>17</sub> є -OH, -OMe, -NEt, -NHEt, -NHPh, -NH<sub>2</sub> або -NHCH<sub>2</sub>піридил.

В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-j,



у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>17</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNH<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

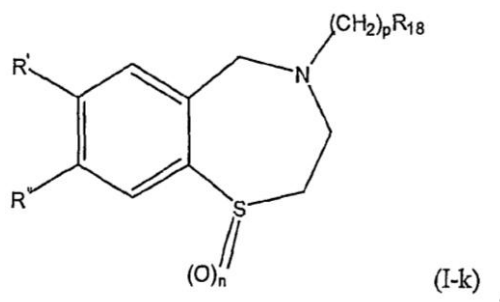
n має значення, визначені для сполук формули I-a; і

їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-j, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-j, у яких R<sub>17</sub> є -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub> і -OR<sub>15</sub>. У деяких інших варіантах здійснення R<sub>17</sub> є -OH, -OMe, -NEt, -NHEt, -NHPh, -NH<sub>2</sub> або -NHCH<sub>2</sub>піридил.

В іншому варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-k,



у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>18</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -C(=O)NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -C(=O)OR<sub>15</sub>, -OR<sub>15</sub>, алкіл, арил, циклоалкіл, гетероцикліл і щонайменше одну мічену групу; де кожен алкіл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл може бути заміщеною або незаміщеною;

у якій p дорівнює 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10;

і n дорівнює 0, 1 або 2;

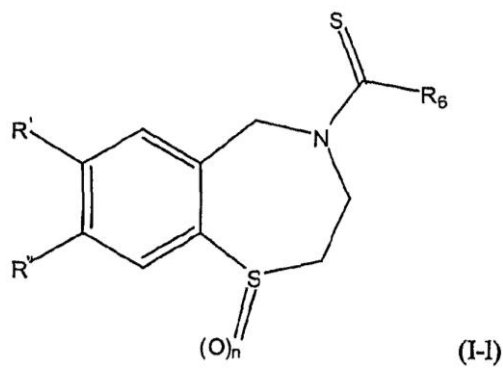
їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-k, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-k, у яких R<sub>18</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -C(=O)OR<sub>15</sub>, -OR<sub>15</sub>, алкіл, арил, і щонайменше одну мічену групу; де кожен алкіл і арил може бути заміщеним або незаміщеним. У деяких випадках m дорівнює 1, а R<sub>18</sub> є Ph, C(=O)OMe, C(=O)OH, аміноалкілом, NH<sub>2</sub>, NHOH або NHCBz. В інших випадках m дорівнює 0, а R<sub>18</sub> є C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкілом, таким як Me, Et, пропіл і бутил. В інших випадках m дорівнює 2, а R<sub>18</sub> являє собою піролідін, піперидин, піперазин або морфолін. У деяких варіантах здійснення m дорівнює 3, 4, 5, 6, 7 або 8, а R<sub>18</sub> є флуоресцентною міченою групою, вибраною з числа bodipy, дансилу, флуоресцеїну, родаміну, Texas red, ціанінових барвників, пірену, кумаринів, Cascade Blue™, Pacific Blue, Marina Blue, Oregon Green, 4',6'-діамідино-2-феніліндолю (DAPI), індолірових барвників, люциферину жовтого, пропідіум-йодиду, порфіринів, аргініну і їхніх варіантів і похідних.



У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-I,



у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

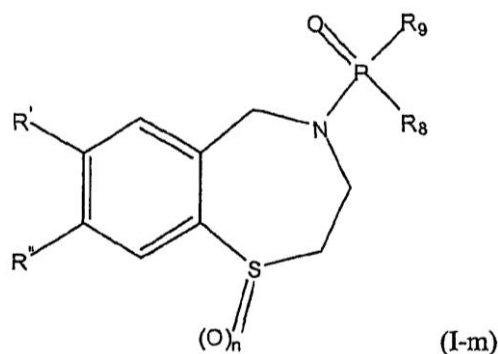
R<sub>6</sub> і n мають значення, визначені для сполук формули I-a;

і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-I, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-I, у яких R<sub>6</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -OR<sub>15</sub>, -NHOH, -CH<sub>2</sub>X, ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл, де кожен ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним. У деяких варіантах здійснення R<sub>6</sub> є -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, таким як -NHPh, піролідін, піперидин, піперазин, морфолін і так далі. У деяких інших випадках R<sub>6</sub> є алкоксил, таким як -O-tBu.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-m,



у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-m, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-m, у яких R<sub>8</sub> і R<sub>9</sub> незалежно являють собою алкіл, арил, -OH, алкоксил або алкіламіно. У деяких випадках R<sub>8</sub> являє собою C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкіл, такий як Me, Et, пропіл і бутіл; а R<sub>9</sub> являє собою арил, такий як феніл.

В одному з варіантів здійснення дану сполуку вибирають із групи, яка включає S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S9, S11, S12, S13, S14, S19, S20, S22, S23, S25, S26, S36, S37, S38, S40, S43, S44, S45, S46, S47, S48, S49, S50, S51, S52, S53, S54, S55, S56, S57, S58, S59, S60, S61, S62, S63, S64, S66, S67, S68, S69, S70, S71, S72, S73, S74, S75, S76, S77, S78, S79, S80, S81, S82, S83, S84, S85, S86, S87, S88, S89, S90, S91, S92, S93, S94, S95, S96, S97, S98, S99, S100, S101, S102, S103, S104, S105, S107, S108, S109, S110, S111, S112, S113, S114, S115, S116, S117, S118, S119, S120, S121, S122 і S123.

Сполуки даного винаходу можуть необов'язково містити мічену групу, таку як флуоресцентна, біоломінесцентна, хемілюмінесцентна, колориметрична або радіоактивна мічена група. Придатні флуоресцентні мічені групи включають, але не обмежуються ними, bodipy, дансил, флуоресцеїн, родамін, Texas red, ціанінові барвники, пірен, ку-

марин, Cascade Blue™, Pacific Blue, Marina Blue, Oregon Green, 4',6-діамідино-2-феніліндол (DAPI), індопірові барвники, люциферин жовтий, пропідіуміодид, порфірини і їхні варіанти і похідні. Фахівець у даній галузі техніки легко вибере придатний маркер або мічену групу, і введе таку мічену групу в будь-яку зі сполук даного винаходу без надмірних експериментальних зусиль.

У даному винаході запропоновані також способи одержання сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m і їхніх солей, гідратів, сольватів, комплексів і проліків.

У даному винаході запропонований також спосіб або лікування попередження різних порушень і захворювань у суб'єкта, що зв'язані з RyR рецепторами, таких як м'язові і серцеві порушення, що включає введення даному суб'єкту сполуки в кількості, яка ефективна для лікування або попередження або порушення захворювання, пов'язаного з RyR рецепторами, при цьому дана сполука має формулу I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m або її солей, гідратів, сольватів, комплексів і проліків.

Крім того, запропонований спосіб запобігання або лікування витоку, пов'язаного з RyR2 рецептором у суб'єкта, що включає введення даному суб'єкту сполуки в кількості, яка ефективна для запобігання або лікування витоку, пов'язаного з RyR2 рецептором, при цьому дана сполука має формулу I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m або її солей, гідратів, сольватів, комплексів і проліків. Суб'єкт являє собою, наприклад, систему *in vitro* (наприклад, культивовані клітини або тканини) або систему *in vivo* (наприклад, тварини або людини).

Крім того, у даному винаході запропонований спосіб модулювання зв'язування RyR і FKBP у суб'єкта, що включає введення даному суб'єкту сполуки в кількості, яка ефективна для модулювання рівня RyR-пов'язаного FKBP, при цьому дана сполука має формулу I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m або її солей, гідратів, сольватів, комплексів і проліків. Суб'єкт являє собою, наприклад, систему *in vitro* (наприклад, культивовані клітини або тканини) або систему *in vivo* (наприклад, тварини або людини).

У даному винаході запропоновані також продукти виробництва для лікування або попередження різних порушень і захворювань у суб'єкта, що зв'язані з RyR рецепторами, таких як м'язові і серцеві порушення. Дані продукти виробництва включають фармацевтичну композицію з однієї або більше сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m або її солей, гідратів, сольватів, комплексів і проліків. Дані продукти виробництва пакують із показаннями для різних порушень, що фармацевтичні композиції здатні лікувати і/або попередити.

Інші можливості і переваги даного винаходу будуть очевидні з наступного докладного опису. Однак варто розуміти, що даний докладний опис і конкретні приклади, хоча і показують різні варіанти здійснення винаходу, приведені лише з метою ілюстрації, оскільки для фахівця в даній галузі техніки з цього докладного опису будуть очевидні

різні зміни і модифікації в межах суті й обсягу винаходу.

Короткий опис креслень

На Фіг. 1, варіанти здійснення A, B, C і D являють собою, відповідно, (A) імуноблоти РКА фосфорильованих RyR2 у присутності FKBP12.6 і зростаючих концентрацій JNV-519; (B) імуноблоти РКА фосфорильованих RyR2 у присутності 0,5 нМ S36; (C) графік протікання струму через плазматичну мембрану, потенціалзалежні  $\text{Ca}^{2+}$  канали L-типу, що повністю блоковані ніфедипіном, але не S36, у виділених кардіоміоцитах мишей; і (D) графік потенціалзалежного  $\text{Ca}^{2+}$  струму L-типу в каналах у присутності JTV-519 і S36.

На Фіг. 2 у варіантах здійснення A, B, C і D показане попередження викликані фізичними вправами шлуночкової аритмії за допомогою JTV-519 в оброблених кальстабином2 (FKBP12.6)<sup>+/-</sup> миші з гаплонедостатністю. Варіант здійснення A являє собою приклад телеметричних електрокардіограм (ECG) необробленої кальстабин2 (FKBP12.6)<sup>+/-</sup> миші (ліворуч), обробленої JTV-519 кальстабин2 (FKBP12.6)<sup>+/-</sup> миші (у середині) і кальстабин2 (FKBP12.6)<sup>-/-</sup> миші (праворуч). Варіант здійснення B являє собою запис телеметричних даних стійкої поліморфічної шлуночкової тахікардії (sVT) у необробленої кальстабин2 (FKBP12.6)<sup>+/-</sup> миші з гаплонедостатністю (зверху) і (нижче) обробленої JTV-519 кальстабин2 (FKBP12.6)<sup>+/-</sup> миші, кожну з яких піддавали тестуванню відразу після ін'єкції 0,5 мг епінефрину на кілограм маси тіла. Варіант здійснення C являє собою графіки, на яких представлена кількість мишей з кардіогенною смертю (ліворуч), стійкою VTs (посередині) і нестійкою VTs (праворуч) в експериментальних групах мишей, підданих фізичному тестуванню й ін'єкції 5 мг/кг епінефрину. У варіанті здійснення D приведені графіки, на яких зіставляють залежність дози від фармакологічних ефектів JTV-519 і S36 щодо раптової кардіогенної смерті (ліворуч), стійкої VTs (посередині) і нестійкої VTs (праворуч).

Фіг. 3 являє собою графік, на якому показане часткове укорочення (FS) лівого шлуночка, що оцінювали за допомогою ехокардіографії в М-режимі через 2 тижні після інфаркту міокарда в плацебо в порівнянні з мишами, обробленими гусал. У мишей, оброблених гусал, проявилось значне поліпшення FS у групах з 100 нм і 200 нм у порівнянні з плацебо.

Фіг. 4 являє собою графік, на якому представлені співвідношення маси серця і маси тіла (HW/BW) і кількісний аналіз петлі тиск-об'єм (dP/dt) через один тиждень після інфаркту міокарда в плацебо у мишей, оброблених S36. Обробка S36 приводить до істотного зменшення співвідношення HW/BW і зростання швидкості росту тиску у випадку S46 у порівнянні з мишами, обробленими плацебо.

Фіг. 5 являє собою графік, на якому підсумовані величини EC<sub>50</sub> для JTV-519 і ряду Rusc сполук, на якому показано декілька сполук з більш високою біологічною активністю, про що свідчать істотно більш низькі значення IC<sub>50</sub> у порівнянні з JTV-519.

На Фіг. 6 варіант здійснення А, В і С представляють, відповідно, (А) відстеження одноканального струму нефосфорильованого RyR2-P2328S і нефосфорильованого RyR2-WT, обробленого gusal; (В) відстеження одноканального струму фосфорильованого RyR2-P2328S і нефосфорильованого RyR2-P232XS, обробленого gusal; (С) імуноблот-аналіз на зв'язування кальстабину2 з RyR2-P2328S у присутності або за відсутності PKA і gusal.

На Фіг. 7 варіанти здійснення А і В являють собою, відповідно, (А) імуноблот RyR2, імуноосадженого антитілом до RyR2, і імуноблоти PKA фосфорильовання RyR2 по Ser-2809 і кальстабину2; і (В) гістограму, що визначає порівняльну кількість PKA фосфорильованих RyR2 по Ser-2808 (відповідно Ser-2809 людини), пов'язаного з RyR2 у мишей дикого типу (контроль) і кальстабину2 - недостатніх (FKBP12.6)<sup>-/-</sup> мишей.

На Фіг. 8 варіант здійснення А, В і С являють собою, відповідно, гістограми (А) кількісних ехокардіограм у М-режимі *in vivo*, на яких зіставляють фракції викиду (EF) до і після симулятивної операції або тривалого лігування лівої передньої спадної коронарної артерії (LAD) у мишей дикого типу і з нокаутуванням RyR2-S2808A мишей; (В) кількісний аналіз *in vivo* петлі тиск-об'єм з часом (dP/dt) для мишей дикого типу і з нокаутуванням RyR2-S2808A мишей після симулятивної операції або тривалого лікування лівої передньої спадної коронарної артерії (LAD); і (С) кількісна оцінка по ехокардіограмі в М-режимі кінцево-систолічного діаметра (ESD) для мишей дикого типу і з нокаутуванням RyR2-S2808A мишей після симулятивної операції або накладення постійної лігатури на ліву передню спадну коронарну артерію (LAD).

На Фіг. 9 у варіантах здійснення А, В, С і D показаний вплив JTV-519 на афінність кальстабину2 до RyR2 у кальстабину2 (FKBP12.6)<sup>+/-</sup> мишей з гаплонедостатністю після фізичних вправ. Варіант здійснення А являє собою імуноблоти еквівалентних кількостей RyR2, підданого імунному осажденню антитілом до RyR2 (зверху). Варіант здійснення В являє собою гістограми, на яких показана кількість PKA фосфорильовання RyR2 по Ser-2809 і кількість кальстабину2, пов'язаного з RyR2 для контрольного тварин і тварин після фізичного навантаження, відразу після яких робили ін'єкцію 0,5 мг/кг епінефрину. Варіант здійснення С являє собою одноканальні відстеження RyR2 каналів, виділених із сердець гаплонедостатніх кальстабину2<sup>+/-</sup> і кальстабину2<sup>-/-</sup> недостатніх мишей відразу після фізичного тестування й ін'єкції 0,5 мг епінефрину на кілограм маси тіла, як необроблених (зверху), так і після обробки (у середині і знизу) JTV-519. Зазначено середню імовірність відкриття (Po), час відкриття (To) і середній час закриття (Tc), а закритий стан позначений як «с». Пунктирними лініями показані рівні субпровідності для часткових відкриттів RyR2. Варіант здійснення D являє собою гістограму, на якій підсумовані середні імовірності відкриття одиничних RyR2 каналів для гаплонедостатніх кальстабину2<sup>+/-</sup> мишей і кальстабину2<sup>-/-</sup> недостатніх мишей після фізичного навантаження з обробкою JTV-519 і без неї. «\*» означає рі-

вень значимості  $P < 0,05$ . Числа в прямокутниках показують кількість вимірюваних одиничних каналів.

На Фіг. 10 у варіантах здійснення А, В, С, D, E і F показане нормалізоване пропускання RyR2 каналів і збільшене зв'язування кальстабину2 з RyR2 каналами після обробки JTV-519. Варіант здійснення А є імуноблотом підданих імунному осажденню RyR2 каналів дикого типу (RyR2-WT), фосфорильованих PKA під час відсутності або в присутності інгібіуючого пептиду PKI<sub>5-24</sub>, і інкубованих з кальстабином2 (250 нМ) при зазначених концентраціях JTV-519; з імуноблота видна кількість RyR2 (зверху) і кількість кальстабину2 (знизу), пов'язаного з імуноосадженим RyR2 після інкубування в присутності або за відсутності зазначених концентрацій JTV-519. Варіант здійснення В являє собою імуноблоти RyR2-S2809D, що імітують конститутивне PKA фосфорильовання RyR2, яке аналізували, як у варіанті здійснення А. Варіант здійснення С являє собою криві зв'язування міченого 35S кальстабину2 з нефосфорильованим або фосфорильованим PKA RyR2 або з RyR2-S2809D у присутності або за відсутності JTV-519, що є документальним підтвердженням різниці в спорідненості до зв'язування кальстабину2 стосовно RyR2. Варіанти здійснення D, E і F є відстеженнями одиничних каналів (ліворуч) і амплітудними гістограмами (праворуч) PKA-фосфорильованих (варіанти здійснення E і F) або нефосфорильованих RyR2 (варіант здійснення D у присутності PKA інгібітору PKI<sub>4</sub>), інкубованих з кальстабином2 (250 нМ) з JTV-519 (1 мкМ) (варіант здійснення F) або без нього (варіанти здійснення D і E). Відстеження одиничних каналів показані при 150 нМ  $[Ca^{2+}]$ , що імітують діастолічну фазу або фазу відпочинку серця; відкриття каналів спрямовані нагору, ризиком позначений повний рівень відкриття каналів (4 пА), «с» позначає закритий стан каналів. В амплітудних гістограмах амплітуди представлені на осі x, а події по осі y показують число відкриттів каналів.

На Фіг. 11, у варіантах здійснення А, В, С, D, E і F показано, що функція каналу RyR1 підвищується і нормалізується в mdx мишей, оброблених JTV-519. Варіанти здійснення А і В являють собою, відповідно, відстеження струму одиничного каналу й амплітудну гістограму RyR1 для камбаловидного м'яза контрольної миші (дикого типу) в умовах спокою. Варіанти здійснення С і D являють собою, відповідно, відстеження струму одиничного каналу й амплітудну гістограму RyR1 для камбаловидного м'яза mdx миші. Варіанти здійснення E і F являють собою, відповідно, відстеження струму одиничного каналу й амплітудну гістограму RyR1 для камбаловидного м'яза mdx миші, обробленої JTV-519.

На Фіг. 12, варіанти здійснення А і В являють собою, відповідно, імуноблоти RyR1, RyR1-pSer<sup>2843</sup> і RyR1-пов'язаного кальстабину1 для mdx мишей і мишей дикого типу, і гістограми відносних кількостей RyR1-pSer<sup>2843</sup> і кальстабину1 у мишах mdx і дикого типу.

На Фіг. 13, у варіантах здійснення А, В і С показано, що SR витік  $Ca^{2+}$  можна визначити в скелетних м'язах тварин із серцевою недостатністю. Варіанти здійснення А і В являють собою скановані відображення ліній флуоресценції  $Ca^{2+}$  спалахів

у м'язових волокнах, узятих, відповідно, у щурів після симулятивної операції і після інфаркту міокарда (PMI). У варіанті здійснення С приведені гістограми, у яких підсумована амплітуда, час збільшення, FDHM і FWHM  $\text{Ca}^{2+}$  іскор для щурів у випадку симулятивної операції (відкриті символи) і PMI (закриті символи).

На Фіг. 14, у варіантах здійснення А і В показано, що обробка мишей дикого типу JTV-519 приводить до поліпшення часу стомлюваності камбаловидного м'яза. У варіанті здійснення А приведений максимальний час стомлюваності при тетанічному навантаженні для мишей дикого типу й оброблених кальстабином $2^{+/}$  мишей, яким давали JTV-519 або плацебо, як зазначено. Варіант здійснення В являє собою гістограми, у яких підсумований середній час стомлюваності для мишей дикого типу й оброблених кальстабином $2^{+/}$  мишей, яким давали JTV-519 або плацебо, як зазначено.

На Фіг. 15, у варіантах здійснення А і В показано, що сприятливий вплив обробки JTV-519 на діяльність скелетного м'яза визначається зв'язуванням кальстабину $1$ , а не кальстабину $2$ , з RyR1. У варіанті здійснення А приведені гістограми PKA фосфорилування RyR1 по Ser-2844 у мишей, що відповідає Ser-2843 для людей. Варіант здійснення В являє собою гістограми кількості кальстабину $1$ , пов'язаного з RyR1, для мишей дикого типу й оброблених кальстабином $2^{+/}$  мишей, яким давали JTV-519 або плацебо.

На Фіг. 16, у варіантах здійснення А, В, С і D показано, що JTV-519 нормалізує функціонування аномальних або які мають виток RyR1 каналів *in vivo*. Варіанти здійснення А і С являють собою відстеження струмів одиничних каналів для мишей дикого типу із серцевою недостатністю, оброблених плацебо (А) і JTV-519 (В). Варіанти здійснення В і D являють собою амплітудні гістограми для мишей дикого типу із серцевою недостатністю, оброблених плацебо (В) і JTV-519 (D).

На Фіг. 17, у варіантах здійснення А і В показано, що JTV-519 підвищує зв'язування кальстабину з PKA фосфорильованим RyR. Варіант здійснення А являє собою імуноблоти кальстабину $1$ , інкубованого і пов'язаного з RyR1, і кальстабину $2$ , інкубованого і пов'язаного з RyR2 при підвищених концентраціях JTV-519. У варіанті здійснення В приведені графіки, на яких підсумована частка кальстабину $1$  і кальстабину $2$ , пов'язаного з RyR1 і RyR2, як зазначено.

На Фіг. 18, у варіантах здійснення А, В, С і D показано, що PKA фосфорилування Ser-2843 підвищує імовірність відкриття і кінетику пропускання RyR1 каналів. Варіант здійснення А являє собою відстеження струмів одиничних каналів і відповідну гістограму RyR1 дикого типу. Варіант здійснення В являє собою відстеження струмів одиничних каналів і відповідну гістограму RyR1 дикого типу, який PKA фосфорильований. Варіант здійснення С являє собою відстеження струмів одиничних каналів і відповідну гістограму RyR1-Ser-2843A. Варіант здійснення D являє собою відстеження струмів одиничних каналів і відповідну гістограму RyR1-Ser-2843D.

На Фіг. 19, у варіантах здійснення А і В показана гіперфосфорилування PKA і недостатність кальстабину $1$  RyR1 каналів після тривалого фізичного навантаження. Варіант здійснення А являє собою імуноблоти RyR1, RyR1-pSer $^{2843}$ , RyR1-pSer $^{2}$  і кальстабину $1$  для контрольних і мишей, що плавають, після режиму фізичних вправ. Варіант здійснення В являє собою гістограму, у якій підсумовані відносні кількості зазначених сполук після режиму фізичних вправ.

На Фіг. 20, у варіантах здійснення А і В показано, що PKA фосфорилування RyR1 підвищується після піддання фізичним навантаженням протягом більш тривалих проміжків часу. Варіант здійснення А являє собою імуноблоти RyR1 і RyR1-pSer $^{2843}$  після збільшення тривалості безупинних фізичних навантажень. Варіант здійснення В являє собою графік, на якому представлене відносне PKA фосфорилування RyR1 у випадку фізичних навантажень різної тривалості.

На Фіг. 21, у варіантах здійснення А, В і С показано, що PKA фосфорилування RyR1 зростає з утомою м'язів. Варіанти здійснення А і В являють собою, відповідно, відстеження часу стомлюваності і гістограму, на якій показані середні часи стомлюваності для камбаловидного м'яза щура із серцевою недостатністю і контрольними суб'єктами. Варіант здійснення С являє собою графік PKA фосфорилування в порівнянні з часом стомлюваності.

На Фіг. 22 представлені пофарбовані трихромом і гематоксилін-еозином поперечні зрізи M. extensor digitorum longus, і показане виродження м'язового волокна, що узгоджується з дистрофічною корекцією після безупинних фізичних навантажень.

На Фіг. 23 показаний зразок відстеження hERG струму до (контроль) і після застосування ARM036 при 100 мкМ. Крім того, приведений протокол імпульсів напруги, використаних для викликання hERG струмів.

На Фіг. 24 показаний типовий хід часу впливу ARM036 на амплітуду hERG струму. Застосування 10 мкМ ARM036 показане за допомогою горизонтального прямокутника.

Фіг. 25 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM036 у різних концентраціях.

Фіг. 26 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM036-На у різних концентраціях.

Фіг. 27 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM047 у різних концентраціях.

Фіг. 28 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM048 у різних концентраціях.

Фіг. 29 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM050 у різних концентраціях.

Фіг. 30 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM057 у різних концентраціях.

Фіг. 31 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM064 у різних концентраціях.

Фіг. 32 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM074 у різних концентраціях.

Фіг. 33 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM075 у різних концентраціях.

Фіг. 34 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM076 у різних концентраціях.

Фіг. 35 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM077 у різних концентраціях.

Фіг. 36 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM101 у різних концентраціях.

Фіг. 37 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM 102 у різних концентраціях.

Фіг. 38 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM 103 у різних концентраціях.

Фіг. 39 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM 104 у різних концентраціях.

Фіг. 40 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM 106 у різних концентраціях.

Фіг. 41 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування ARM 107 у різних концентраціях.

Фіг. 42 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування S26 у різних концентраціях.

Фіг. 43 являє собою графік концентрація-відгук, на якому показане процентне інгібування hERG струму після застосування JTV-519 ("ARMOXX") у різних концентраціях.

Докладний опис сутності винаходу

Використані тут і в прикладеній формулі винаходу форми однини включають також посилання на множину, якщо зміст ясно не вказує на інше. Так, наприклад, посилання на «агент» включає велику кількість подібних агентів і їхніх еквівалентів, відомих фахівцям у даній галузі техніки, а посилання на «FKBP12.6 поліпептид» являє собою посилання на один або більше FKBP12.6 поліпеп-

тидів (відомих також як кальстабин2) і їхніх еквівалентів, відомих фахівцям у даній галузі техніки, і так далі. Усі публікації, патентні заявки й інші, згадані тут посилання включені за допомогою посилання у всій своїй повноті.

Далі впливають визначення термінів, використаних у даному описі. Початкове визначення, приведене тут для групи або терміна, застосовують до цієї групи або терміна у всьому даному описі або індивідуально як частина іншої групи, якщо не зазначено інакше.

Використаний тут термін «Rycal сполуки» належить до сполук загальної формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l, I-m або II, що запропоновані у винаході, і називаються тут «сполука(и) винаходу».

На сполуки винаходу посилаються за допомогою числової системи найменування, при цьому тут запропоновані сполуки з номерами від 1 до 123. На дані пронумеровані сполуки посилаються з використанням або префікса «S», або префікса «ARM». Так, на першу пронумеровану сполуку посилаються або як на «S1», або як на «ARM001», на другу пронумеровану сполуку посилаються або як на «S2», або як на «ARM002», на третю пронумеровану сполуку посилаються або як на «S3», або як на «ARM003», і так далі. Номенклатурні системи «S» і «ARM» використовуються по черзі по всьому описі, у кресленнях і формулі винаходу.

Використаний тут термін «алкіл» належить до лінійного або розгалуженого насиченого вуглеводню, що містить від 1 до 6 атомів вуглецю. Представницькі алкільні групи включають, але не обмежені, метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, ізопентил, неопентил, гексил, ізогексил і неогексил. Термін «C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкіл» належить до алкану (вуглеводню) з лінійним або розгалуженим ланцюгом, що містить від 1 до 4 атомів вуглецю, такого як метил, етил, пропіл, ізопропіл, н-бутил, трет-бутил і ізобутил.

Використаний тут термін «алкеніл» належить до лінійного або розгалуженого вуглеводню, що містить від 2 до 6 атомів вуглецю і щонайменше один подвійний вуглець-вуглецевий зв'язок. В одному з варіантів здійснення алкеніл містить одну або два подвійних зв'язки. Алкенільна ланка може існувати в E або Z конформації, і сполуки даного винаходу включають обидві конформації.

Використаний тут термін «алкініл» належить до лінійного або розгалуженого вуглеводню, що містить від 2 до 6 атомів вуглецю і щонайменше один потрійний вуглець-вуглецевий зв'язок.

Використаний тут термін «арил» належить до ароматичної групи, що містить від 1 до 3 ароматичних кілець, або конденсованих, або зв'язаних.

Використаний тут термін «циклічна група» включає циклоалкільну групу і гетероциклічну групу.

Використаний тут термін «циклоалкільна група» належить до три-семичленного насиченого або частково ненасиченого вуглецевого кільця. Будь-яке придатне положення кільця даної циклоалкільної групи може бути ковалентно зв'язане з визначеною хімічною структурою. Приклади цик-

лоалкільних груп включають циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил і циклогептил.

Використаний тут термін «галоген» належить до фтору, хлору, бромю і йоду.

Використаний тут термін «гетероциклічна група» або «гетероциклічний», або «гетероцикліл», або «гетероцикло» належить до повністю насичених або частково або повністю ненасичених, включаючи ароматичні (тобто «гетероарильні»), циклічних груп (наприклад, 4-7-членних моноциклічних, 7-11-членних біциклічних або 10-16-членних трициклічних кільцевих систем), що містять щонайменше один гетероатом щонайменше в одному вуглецьвмісному циклі. Кожне кільце гетероциклічної групи, що містить гетероатом, може включати 1, 2, 3 або 4 гетероатомів, вибраних з атомів азоту, атомів кисню і/або атомів сірки, де гетероатоми азоту і сірки необов'язково можуть бути окиснені, а гетероатоми азоту необов'язково можуть бути кватернізовані. Гетероциклічна група може бути зв'язана з залишком молекули по будь-якому гетероатому або атому вуглецю кільця, або циклічної системи. Представницькі гетероциклічні групи включають, але не обмежені, азепаніл, азе-тидиніл, азиридиніл, діоксоланіл, фураніл, фуразаніл, гомопіперазиніл, імідазолідиніл, імідазолініл, ізотіазоліл, ізоксазоліл, морфолініл, оксадіазоліл, оксазолідиніл, оксазоліл, оксазолідиніл, піримідиніл, фенантридиніл, фенантролініл, піперазиніл, піперидиніл, піраніл, піразиніл, піразолідиніл, піразолініл, піразоліл, піридазиніл, піридооксазоліл, піридоімідазоліл, піридотіазоліл, піридиніл, піримідиніл, піролідиніл, піролініл, хінуклідиніл, тетрагідрофураніл, тіадіазиніл, тіадіазоліл, тієніл, тієнотіазоліл, тієнооксазоліл, тієноімідазоліл, тіоморфолініл, тіофеніл, триазиніл і триазоліл. Представницькі біциклічні групи включають індоліл, ізоіндоліл, бензотіазоліл, бензоксазоліл, бензоксадіазоліл, бензотієніл, хінуклідиніл, хінолініл, тетрагідроізохінолініл, ізохінолініл, бензімідазоліл, бензопіраніл, індолізиніл, бензофурил, бензофуразаніл, хромоніл, кумариніл, бензопіраніл, цинолініл, хіноксалініл, індазоліл, піролопіридиніл, фуropyridinil (такий як фуро[2,3-c]піридиніл, фуро[3,2-b]піридиніл або фуро[2,3-b]піридиніл), дигідроізоіндоліл, дигідрохіназолініл (такий як 3,4-дигідро-4-оксохіназолініл), триазинілазепініл, тетрагідрохінолініл і так далі. Приклади трициклічних гетероциклічних груп включають карбазоліл, бензіндоліл, фенантролініл, акридиніл, фенантридиніл, ксанте-ніл і так далі.

Використаний тут термін «феніл» належить до замкнутої або незамкнутої фенільної групи.

Згадані вище терміни «алкіл», «алкеніл», «алкініл», «арил», «феніл», «циклічна група», «циклоалкіл», «гетероцикліл», «гетероцикло» і «гетероцикл» надалі можуть бути необов'язково заміщені одним або більше замісниками. Приклади замісників включають, але не обмежені, одну або більше з числа наступних груп: водень, галоген,  $\text{CF}_3$ ,  $\text{OCF}_3$ , ціано, нітро,  $\text{N}_3$ , оксо, циклоалкіл, алкеніл, алкініл, гетероцикл, арил, алкіларил, гетероарил,  $\text{OR}_a$ ,  $\text{SR}_a$ ,  $\text{S(=O)R}_e$ ,  $\text{S(=O)}_2\text{R}_e$ ,  $\text{P(=O)}_2\text{R}_e$ ,  $\text{S(O)}_2\text{OR}_a$ ,  $\text{P(=O)}_2\text{OR}_a$ ,  $\text{NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{NRb(=O)}_2\text{R}_e$ ,  $\text{NRb(=O)}_2\text{R}_e$ ,  $\text{S(=O)}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{P(=O)}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{C(=O)OR}_a$ ,  $\text{C(=O)R}_a$ ,

$\text{C(=O)NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{OC(=O)R}_a$ ,  $\text{OC(=O)NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{NR}_b\text{(=O)OR}_a$ ,  $\text{NR}_d\text{(=O)NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{NR}_d\text{(=O)}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{NR}_d\text{(=O)}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ ,  $\text{NRb(=O)R}_a$  або  $\text{NR}_b\text{(=O)}_2\text{R}_e$ , де  $\text{R}_a$  являє собою водень, алкіл, циклоалкіл, алкеніл, алкініл, алкіларил, гетероарил, гетероцикл або арил;  $\text{R}_b$ ,  $\text{R}_c$  і  $\text{R}_d$  незалежно являють собою водень, алкіл, циклоалкіл, алкіларил, гетероарил, гетероцикл, арил, або зазначені  $\text{R}_b$  і  $\text{R}_c$  разом з  $\text{N}$ , з яким вони зв'язані, необов'язково утворюють гетероцикл; а  $\text{R}_e$  являє собою алкіл, циклоалкіл, алкеніл, циклоалкеніл, алкініл, алкіларил, гетероарил, гетероцикл або арил. Серед згаданих вище представницьких замісників такі групи, як алкіл, циклоалкіл, алкеніл, алкініл, алкіларил, циклоалкеніл, алкіларил, гетероарил, гетероцикл і арил, самі можуть бути необов'язково заміщені.

Представницькі замісники можуть, крім того, включати щонайменше одну мічену групу, таку як флуоресцентна, біолюмінесцентна, хемілюмінесцентна, колориметрична і радіоактивна мічені групи. Флуоресцентну мічену групу можна вибрати з bodipy, дансилу, флуоресцеїну, родаміну, Texas red, ціанінових барвників, пірену, кумаринів, Cascade Blue™, Pacific Blue, Marina Blue, Oregon Green, 4',6-діамідино-2-феніліндол (DAPI), індопірових барвників, люциферину жовтого, пропідіум-йодиду, порфіринів, аргініну і їхніх варіантів і похідних. Наприклад, ARM118 даного винаходу містить мічену групу BODIPY, що являє собою сімейство флуорофорів на основі 4,4-дифтор-4-бору-3а,4а-діаза-s-індаценового фрагменту. За додатковою інформацією щодо флуоресцентних мічених груп і методів флуоресценції дивіться, наприклад, Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Richard P. Haugland, Sixth Edition, Molecular Probes, (1996), що включений тут за допомогою посилання у всій повноті. Фахівець у даній галузі техніки може легко вибрати придатну мічену групу і приєднати подібну мічену групу до будь-якої зі сполук винаходу без надмірних експериментальних складностей.

Термін «четвертинний атом азоту» належить до чотиривалентного позитивно зарядженого атома азоту, включаючи, наприклад, позитивно заряджений атом азоту в тетраалкіламонієвій групі (наприклад, тетраметиламоній, N-метилпіридиній), позитивно заряджений атом азоту в протонованих амонієвих сполуках (наприклад, триметилгідроамоній, N-гідропіридиній), позитивно заряджений атом азоту в N-оксидах амінів (наприклад, N-метилморфолін-N-оксид, піридин-N-оксид) і позитивно заряджений атом азоту в N-аміноамонієвій групі (наприклад, N-амінопіридиній).

У даному описі, якщо не зазначено інакше, атом азоту в бензотіазепіновому циклі в сполуках даного винаходу може необов'язково бути четвертинним атомом азоту. Необмежуючі приклади включають ARM-113 і ARM-119.

Сполуки даного винаходу можуть існувати у формі таутомерів (наприклад, у вигляді амиду або іміноєфіру). Усі подібні таутомерні форми розглядаються тут як частина даного винаходу.

Використовуваний тут термін «проліки» означає сполуку, що при введенні суб'єкту піддається хімічному перетворенню за рахунок метаболічних

або хімічних процесів, утворюючи сполуки даного винаходу.

Усі стереоізомери сполук даного винаходу (наприклад, стереоізомери, що здатні існувати завдяки асиметричним атомам вуглецю при різних замісниках), включаючи енантіомерні форми і діастереомерні форми, розглядаються в рамках даного винаходу. Індивідуальні стереоізомери сполук винаходу можуть, наприклад, власне кажучи не містити інших ізомерів (наприклад, у вигляді чистого або власне кажучи чистого оптичного ізомеру, що володіє визначеною активністю) або можуть бути змішаними, наприклад, у вигляді рацематів або із всіма іншими або іншими вибраними стереоізомерами. Хіральні центри в даному винаході можуть мати S або R конфігурацію, визначену правилами IUPAC 1974. Рацемічні форми можна розділити за допомогою фізичних методів, наприклад, таких як дробова кристалізація, поділ або кристалізація діастереомерних похідних або поділ колонковою хроматографією. Індивідуальні оптичні ізомери можна одержати з рацематів будь-яким придатним способом, включаючи, без обмеження, стандартні методи, наприклад, такі як одержання солей з оптично активною кислотою з наступною кристалізацією.

Після одержання сполуки даного винаходу переважно виділяють і очищають, щоб одержати композицію, що містить кількість по масі, яка дорівнює або більша 99% даної сполуки («власне кажучи чисту сполуку»), що потім використовують або готують з неї препарат, як описано тут. Подібні «власне кажучи чисті» сполуки даного винаходу також розглядаються тут як частина даного винаходу.

Розглядаються всі конфігураційні ізомери сполук даного винаходу або у вигляді сумішей, або в чистій або власне кажучи чистій формі. Визначення сполук даного винаходу включає як цис (Z), так і транс (E) ізомери алкенів, а також цис- і транс-ізомери циклічних вуглеводневих або гетероциклічних кілець.

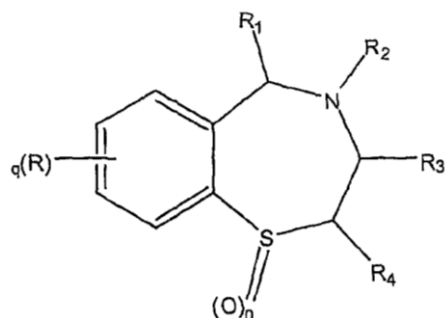
В описі можна вибрати групи і їхні замісники для одержання стійких груп і сполук.

У даному винаході запропоновані сполуки, що володіють здатністю виліковувати і попереджати порушення і захворювання, пов'язані з RyR рецепторами, що регулюють функціонування кальцієвих каналів у клітинах. Більш конкретно, у даному винаході запропоновані сполуки, що володіють здатністю виліковувати і попереджати витік в RyR каналах. «Порушення і захворювання, пов'язані з RyR рецепторами» означають порушення і захворювання, які можна вилікувати і/або попередити за рахунок модулювання RyR рецепторів, що регулюють функціонування кальцієвих каналів у клітинах. «Порушення і захворювання, пов'язані з RyR рецепторами» включають, без обмеження, порушення серцевої діяльності і хвороби серця, порушення і захворювання скелетних м'язів, порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, злов'язку гіпертермію, діабет і синдром раптової смерті дитини в сні. Порушення серцевої діяльності і хвороби серця включають, але не обмежуються, порушення і захворювання, пов'язані з

нерівномірними серцевими скороченнями, викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, раптову кардіогенну смерть, викликану фізичними навантаженнями раптову кардіогенну смерть, застійну серцеву недостатність, хронічне обструктивне захворювання легень і високий кров'яний тиск. Порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають і викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають, але не обмежуються, передсердну і шлуночкову аритмію, передсердну і шлуночкову фібриляцію, передсердну і шлуночкову тахіаритмію, передсердну і шлуночкову тахікардію, катехоламінергічну поліморфну шлуночкову тахікардію (CPVT) і їхні варіанти, викликані фізичними навантаженнями. Порушення і захворювання скелетних м'язів, включають, але не обмежуються, утому скелетних м'язів, викликану фізичними навантаженнями утому скелетних м'язів, м'язову дистрофію, порушення діяльності сечового міхура і нетримання. Порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, включають, але не обмежуються, хворобу Альцгеймера, форми втрати пам'яті і викликану віком втрату пам'яті.

Сполуки

В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I:



у якій

n дорівнює 0, 1 або 2;

q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, -O-ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілариламіно, алкілтіо, циклоалкіл, алкіларил, арил, гетероарил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, -O-ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілариламіно, алкілтіо, циклоалкіл, алкіларил, арил, гетероарил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути необов'язково заміщений;

R<sub>1</sub> вибирають із групи, яка включає H, оксо, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен алкіл, алкеніл,

арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_5$  вибирають із групи, яка включає Н,  $-C(=O)R_5$ ,  $-C(S)R_6$ ,  $-SO_2R_7$ ,  $-P(=O)R_8R_9$ ,  $-(CH_2)_m-R_{10}$ , алкіл, арил, алкіларил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероцикліл; де кожен алкіл, арил, алкіларил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_3$  вибирають із групи, яка включає Н,  $-CO_2Y$ ,  $-C(=O)NHY$ , ацил,  $-O$ -ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений; і де  $Y$  вибирають із групи, яка включає Н, алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_4$  вибирають із групи, яка включає Н, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл; де кожен алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, гетероарил і гетероцикліл може бути необов'язково заміщений;

$R_5$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-(CH_2)_qNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-C(=O)NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-CH_2X$ , ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути необов'язково заміщений; і де  $q$  дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

$R_6$  вибирають із групи, яка включає  $-OR_{15}$ ,  $-NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-CH_2X$ , ацил, алкеніл, алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкіл, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути необов'язково заміщений;

$R_7$  вибирають із групи, яка включає  $-OR_{15}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNHNR_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-CH_2X$ , алкіл, алкеніл, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен алкіл, алкеніл, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути необов'язково заміщений;

$R_8$  і  $R_9$  незалежно вибирають із групи, яка включає ОН, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути необов'язково заміщений;

$R_{10}$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ , ОН,  $-SO_2R_{11}$ ,  $-NHSO_2R_{11}$ ,  $C(=O)R_{12}$ ,  $NHOO(R_{12})$ ,  $-OC(=O)(R_{12})$  і  $-P(=O)R_{13}R_{14}$ ;

$R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$  і  $R_{14}$  незалежно вибирають із групи, яка включає Н, ОН,  $NH_2$ ,  $-NHNH_2$ ,  $-NHOH$ , ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, ге-

тероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути необов'язково заміщений;

$X$  вибирають із групи, яка включає галоген,  $-CN$ ,  $-CO_2R_{15}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-SO_2R_7$  і  $-P(=O)R_8R_9$ ; і

$R_{15}$  і  $R_{16}$  незалежно вибирають із групи, яка включає Н, ацил, алкеніл, алкоксил, ОН,  $NH_2$ , алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, алкіларил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероарил, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути необов'язково заміщений; і необов'язково  $R_{15}$  і  $R_{16}$  разом з атомом азоту, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщений; атом азоту в бензотіазепіновому кільці може необов'язково бути четвертинним атомом азоту; і

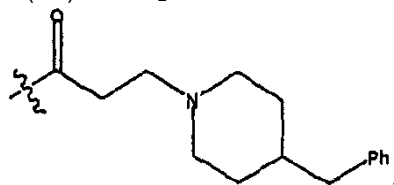
їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки;

за умови, що коли  $q$  дорівнює 0 і  $n$  дорівнює 0, то  $R_5$  не є Н, Et,  $-C(=O)NH_2$ ,  $(=O)NHPh$ ,  $-C(=S)NH$ -нБутил,  $-C(=O)NHC(=O)CH_2Cl$ ,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(=O)CH=CH_2$ ,  $-S(O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ;

крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 0, а  $n$  дорівнює 1 або 2, то  $R_5$  не є  $-C(=O)_{me}$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-S(=O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ;

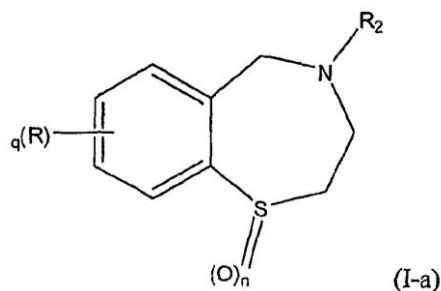
крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 1, а  $R$  є Me, Cl або F у 6 положенні бензотіазепінового кільця, то  $R_5$  не є Н, Me,  $-C(=O)H$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-C(=O)Et$ ,  $-C(=O)Ph$ ,  $-S(=O)_2Me$  або  $-S(=O)_2Et$ ; і,

крім того, за умови, що коли  $q$  дорівнює 1,  $n$  дорівнює 0, а  $R$  є  $OCT_3$ , ОН,  $C_1-C_3$  алкоксил у 7 положенні бензотіазепінового кільця, то  $R_5$  не є Н,  $-C(=O)CH=CH_2$  або



В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I, описані вище, за умови, що дана сполука не є S24 або S68.

Крім того, у даному винаході запропоновані сполуки формули I-a:





у якій

n дорівнює 0, 1 або 2;

q дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщеною або незаміщеною;

R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає H, -C(=O)(R<sub>5</sub>), -C(=S)(R<sub>6</sub>), -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, -P(=O)R<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>, алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероциклі; де кожен алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероциклі; може бути заміщеною або незаміщеною;

R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNH<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -C(=O)NHNH<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sub>15</sub>, -C(=O)NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -CH<sub>2</sub>X, ацил, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>6</sub> вибирають із групи, яка включає -OR<sub>15</sub>, -NHNH<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -CH<sub>2</sub>X, ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>7</sub> вибирають із групи, яка включає H, -OR<sub>15</sub>, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNH<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -CH<sub>2</sub>X, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>8</sub> і R<sub>9</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає -OH, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; може бути заміщеною або незаміщеною;

R<sub>10</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, OH, -SO<sub>2</sub>R<sub>11</sub>, -NHSO<sub>2</sub>R<sub>11</sub>, -C(=O)(R<sub>12</sub>), -NH(C(=O)R<sub>12</sub>), -O(C(=O)R<sub>12</sub>) і -P(=O)R<sub>13</sub>R<sub>14</sub>;

m дорівнює 0, 1, 2, 3 або 4;

R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> і R<sub>14</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, OH, NH<sub>2</sub>, -NHNH<sub>2</sub>, -NHOH, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

X вибирають із групи, яка включає галоген, -CN, -CO<sub>2</sub>R<sub>15</sub>, -C(=O)NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -OR<sub>15</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub> і -P(=O)R<sub>8</sub>R<sub>9</sub>; і

R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, ацил, алкеніл, алкоксил, OH, NH<sub>2</sub>, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, алкоксил, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним; і необов'язково R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> разом з N, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщений або незаміщений;

атом азоту в бензотіазепіновому кільці може необов'язково бути четвертинним атомом азоту; і

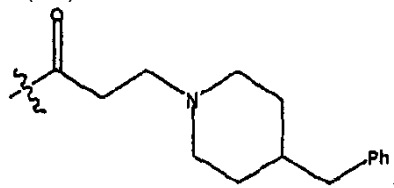
їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки;

за умови, що коли q дорівнює 0 і n дорівнює 0, то R<sub>5</sub> не є H, Et, -C(=O)NH<sub>2</sub>, (=O)NHPh, -C(=S)NH-nBuтил, -C(=O)NHC(=O)CH<sub>2</sub>Cl, -C(=O)H, -C(=O)Me, -C(=O)Et, -C(=O)CH=CH<sub>2</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>Me або -S(=O)<sub>2</sub>Et;

крім того, за умови, що коли q дорівнює 0 і n дорівнює 1 або 2, то R<sub>5</sub> не є -C(=O)Me, -C(=O)Et, -S(=O)<sub>2</sub>Me або -S(=O)<sub>2</sub>Et;

крім того, за умови, що коли q дорівнює 1, а R є Me, Cl або F у 6 положенні бензотіазепінового кільця, то R<sub>5</sub> не є H, Me, -C(=O)H, -C(=O)Me, -C(=O)Et, -C(=O)Ph, -S(=O)<sub>2</sub>Me або -S(=O)<sub>2</sub>Et; і,

крім того, за умови, що коли q дорівнює 1, n дорівнює 0, а R є OCH<sub>3</sub>, OH, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкоксил у 7 положенні бензотіазепінового кільця, то R<sub>5</sub> не є H, -C(=O)CH=CH<sub>2</sub> або

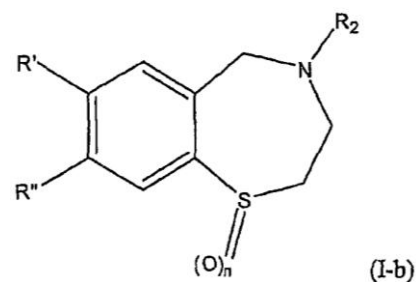


У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-a, у яких кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -SC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл;

а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-a, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -C(=O)(R<sub>5</sub>), -C(=S)(R<sub>6</sub>), -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, -P(=O)R<sub>8</sub>R<sub>9</sub> і -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-b:



у якій R' і R" незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

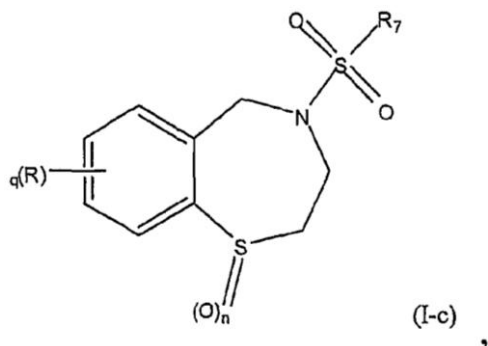
R<sub>5</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a;

і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У наступному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-b, у яких R' і R" незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R" є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-b, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -C(=O)(R<sub>5</sub>), -C=S(R<sub>6</sub>), -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, -P(=O)R<sub>8</sub>R<sub>9</sub> і -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-c:



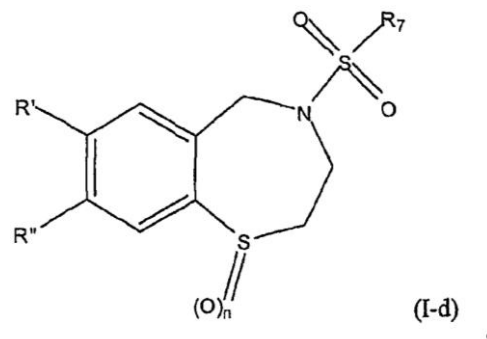
у якій кожен R, R<sub>7</sub>, q і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-c, у якій кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-c, у якій R<sub>7</sub> вибирають із групи, яка включає -OH, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гете-

роцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-d:



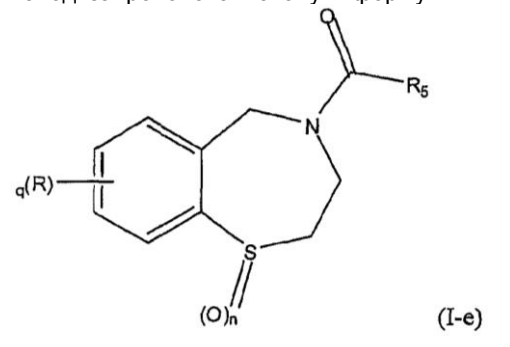
у якій R' і R" незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>7</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-d, у яких R' і R" незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R" є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-d, у яких R<sub>7</sub> вибирають із групи, яка включає -OH, -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл, де кожен алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i:



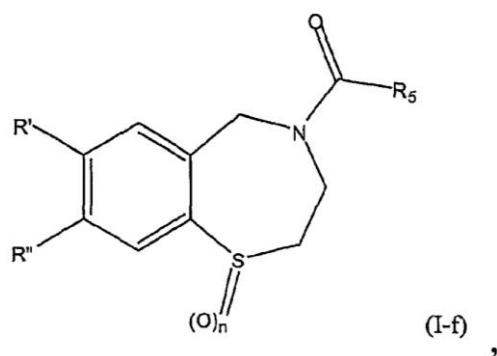
у якій кожен R, R<sub>5</sub> q і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або незаміщеним.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких R<sub>5</sub> являє собою алкіл, заміщений щонайменше однією міченою групою, такий як флуоресцентна, біолюмінесцентна, хемілюмінесцентна, колориметрична і радіоактивна мічена група. Флуоресцентну мічену групу можна вибрати з bodipy, данзили, флуоресцеїну, родаміну, Texas red, ціанінових барвників, пірену, кумаринів, Cascade Blue™, Pacific Blue, Marina Blue, Oregon Green, 4',6'-діамідино-2-феніліндолу (DAPI), індопірових барвників, люциферину жовтого, пропідіумйодиду, порфіринів, аргініну і їхніх варіантів і похідних.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-f:



у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

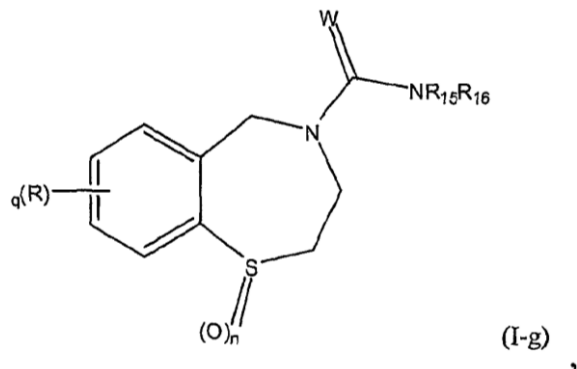
R<sub>5</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a;

і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-f, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-f, у яких R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або незаміщеним.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g:



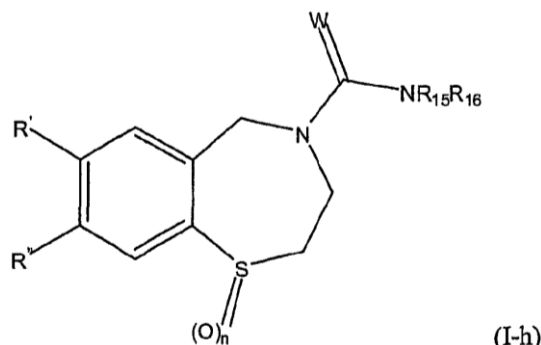
у якій W є S або O; кожен R, R<sub>15</sub>, R<sub>16</sub>, q і n має значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g, у якій кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g, у яких R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, OH, NH<sub>2</sub>, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл; де кожен алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним; і необов'язково R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> разом з N, з яким вони зв'язані, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщеним.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-g, у яких W є O або S.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h:



у якій W є S або O;

у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>15</sub>, R<sub>16</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a;

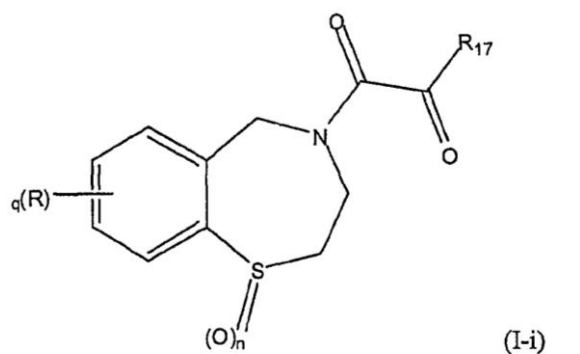
і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h, у яких R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R'' є H.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h, у яких R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, OH, NH<sub>2</sub>, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл; і де кожен алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним; і необов'язково R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> разом з N, з яким вони зв'язано, можуть утворювати гетероцикл, що може бути заміщеним.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-h, у яких W є O або S.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i:



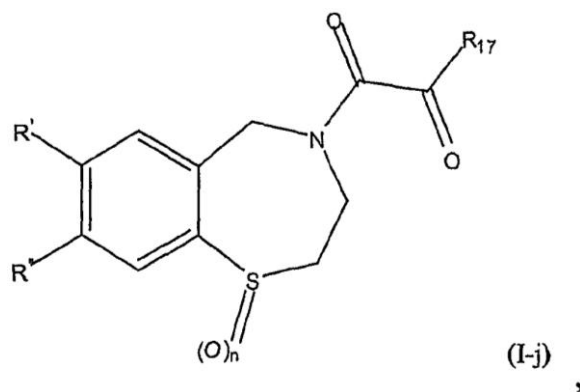
у якій R<sub>17</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHOH, -OR<sub>15</sub>, -CH<sub>2</sub>X, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл, де кожен алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним;

кожен R, q і n має значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 2.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-i, у яких R<sub>17</sub> є -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub> і -OR<sub>15</sub>. У деяких інших варіантах здійснення R<sub>17</sub> є -OH, -OMe, -NEt, -NH<sub>2</sub>, -NHPh, -NH<sub>2</sub> або -NHCH<sub>2</sub>піридил.

В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-j:



у якій R' і R'' незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (ге-

теро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або не заміщеним;

$R_{17}$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-NHNH_{15}R_{16}$ ,  $-NHOH$ ,  $-OR_{15}$ ,  $-CH_2X$ , алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл, де кожен алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероциклілалкіл може бути заміщеним або не заміщеним;

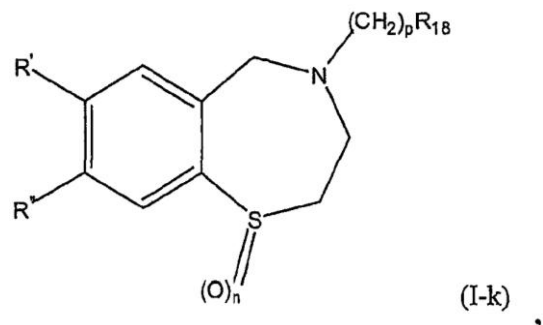
$n$  має значення, визначені для сполук формули I-a; і

їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-j, у яких  $R'$  і  $R''$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген,  $-OH$ ,  $OMe$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-N_3$ ,  $-S(=O)_2C_1-C_4$ алкіл,  $-S(=O)C_1-C_4$ алкіл,  $-S-C_1-C_4$ алкіл,  $-OS(=O)_2CF_3$ ,  $Ph$ ,  $-NHCH_2Ph$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-OC(=O)Me$ , морфолініл і пропеніл; а  $n$  дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках  $R'$  є H або  $OMe$ , а  $R''$  є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-j, у яких  $R_{17}$  є  $-NR_{15}R_{16}$  і  $-OR_{15}$ . У деяких інших варіантах здійснення  $R_{17}$  є  $-OH$ ,  $-OMe$ ,  $-NEt$ ,  $-NHEt$ ,  $-NHPh$ ,  $-NH_2$  або  $-NHCH_2$ піридил.

В одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-k:



у якій  $R'$  і  $R''$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-N_3$ ,  $-SO_3H$ ,  $-S(=O)_2$ алкіл,  $-S(=O)$ алкіл,  $-OS(=O)_2CF_3$ , ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або не заміщеним;

$R_{18}$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)OR_{15}$ ,  $-OR_{15}$ , алкіл, арил, циклоалкіл, гетероцикліл і щонайменше одну мічену групу; де кожен алкіл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл може бути заміщеною або не заміщеною;

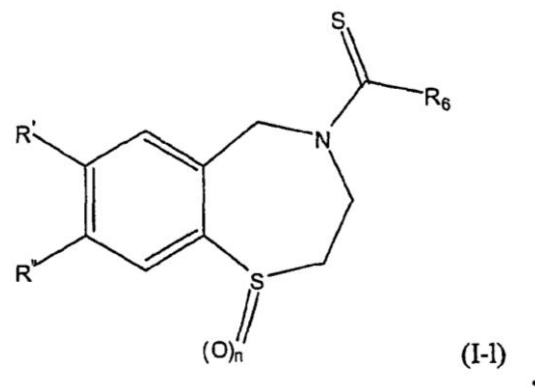
у якій  $p$  дорівнює 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10; і  $n$  дорівнює 0, 1 або 2;

і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-k, у яких  $R'$  і  $R''$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген,  $-OH$ ,  $OMe$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-N_3$ ,  $-S(=O)_2C_1-C_4$ алкіл,  $-S(=O)C_1-C_4$ алкіл,  $-S-C_1-C_4$ алкіл,  $-OS(=O)_2CF_3$ ,  $Ph$ ,  $-NHCH_2Ph$ ,  $-C(=O)Me$ ,  $-OC(=O)Me$ , морфолініл і пропеніл; а  $n$  дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках  $R'$  є H або  $OMe$ , а  $R''$  є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-k, у яких  $R_{18}$  вибирають із групи, яка включає  $-NR_{15}R_{16}$ ,  $-C(=O)OR_{15}$ ,  $-OR_{15}$ , алкіл, арил і щонайменше одну мічену групу; де кожен алкіл і арил може бути заміщеним або не заміщеним. У деяких випадках  $n$  дорівнює 1, а  $R_{18}$  є  $Ph$ ,  $C(=O)OMe$ ,  $C(=O)OH$ , аміноалкілом,  $NH_2$ ,  $NHOH$  або  $NHCbz$ . В інших випадках  $n$  дорівнює 0, а  $R_{18}$  є  $C_1-C_4$ алкілом, таким як  $Me$ ,  $Et$ , пропіл і бутіл. В інших випадках  $n$  дорівнює 2, а  $R_{18}$  являє собою піролідін, піперидін, піперазин або морфолін. У деяких варіантах здійснення  $n$  дорівнює 3, 4, 5, 6, 7 або 8, а  $R_{18}$  є флуоресцентною міченою групою, вибраною з bodipy, дансилу, флуоресцеїну, родаміну, Texas red, ціанінових барвників, пірену, кумаринів, Cascade Blue™, Pacific Blue, Marina Blue, Oregon Green, 4',6'-діамідино-2-феніліндолу (DAPI), індопірових барвників, люциферину жовтого, пропідіумйодиду, порфіринів, аргініну і їх варіантів і похідних.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-l:



у якій  $R'$  і  $R''$  незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген,  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NO_2$ ,  $-CN$ ,  $-CF_3$ ,  $-OCF_3$ ,  $-N_3$ ,  $-SO_3H$ ,  $-S(=O)_2$ алкіл,  $-S(=O)$ алкіл,  $-OS(=O)_2CF_3$ , ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероцикліл, гетероциклілалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або не заміщеним;

$R_6$  і  $n$  мають значення, визначені для сполук формули I-a;

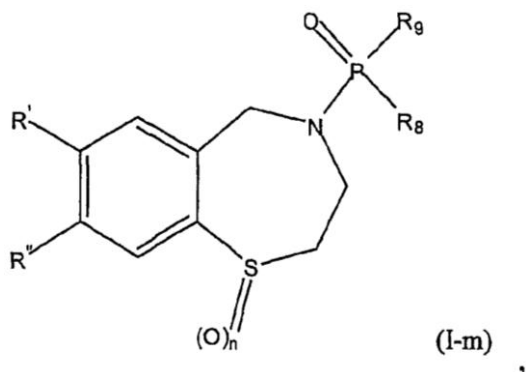
і їх енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-l, у яких  $R'$  і

R" незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R" є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-l, у яких R<sub>6</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -NHNR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, -OR<sub>15</sub>, -NHOH, -CH<sub>2</sub>X, ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл, де кожен ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероциклі і гетероцикліалкіл може бути заміщеним або незаміщеним. У деяких варіантах здійснення R<sub>6</sub> є -NR<sub>15</sub>R<sub>16</sub>, таким як -NHPh, піролідін, піперидин, піперазин, морфолін і так далі. У деяких інших випадках R<sub>6</sub> є алкоксил, таким як -O-tBu.

У ще одному варіанті здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-m:



у якій R' і R" незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -S(=O)<sub>2</sub>алкіл, -S(=O)алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкілтіо, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; і де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, арил, гетероциклі, гетероцикліалкіл, алкеніл, алкініл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо може бути заміщеним або незаміщеним;

R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> і n мають значення, визначені вище для сполук формули I-a; і їхні енантіомери, діастереомери, таутомери, фармацевтично прийнятні солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

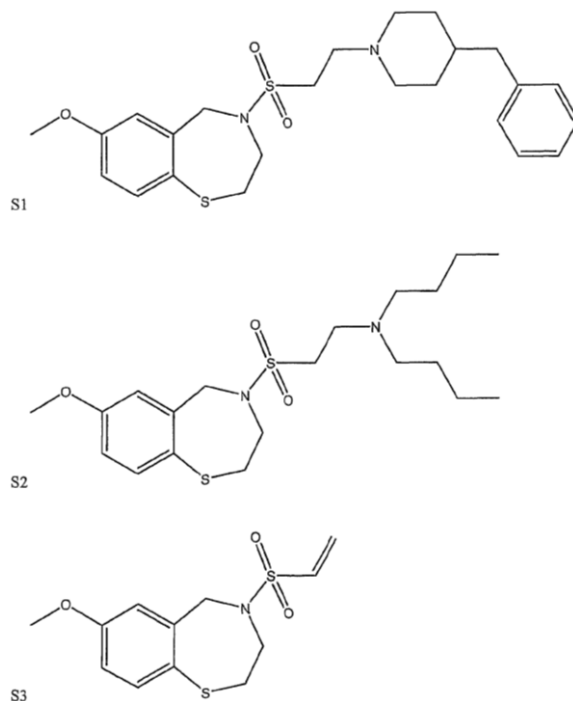
У деяких варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-m, у яких R' і R" незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, OMe, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -N<sub>3</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S(=O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>алкіл, -OS(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Ph, -NHCH<sub>2</sub>Ph, -C(=O)Me, -OC(=O)Me, морфолініл і пропеніл; а n дорівнює 0, 1 або 3. У деяких випадках R' є H або OMe, а R" є H.

В інших варіантах здійснення в даному винаході запропоновані сполуки формули I-m, у яких R<sub>8</sub> і R<sub>9</sub> незалежно являють собою алкіл, арил, -OH, алкоксил або алкіламіно. У деяких випадках R<sub>8</sub>

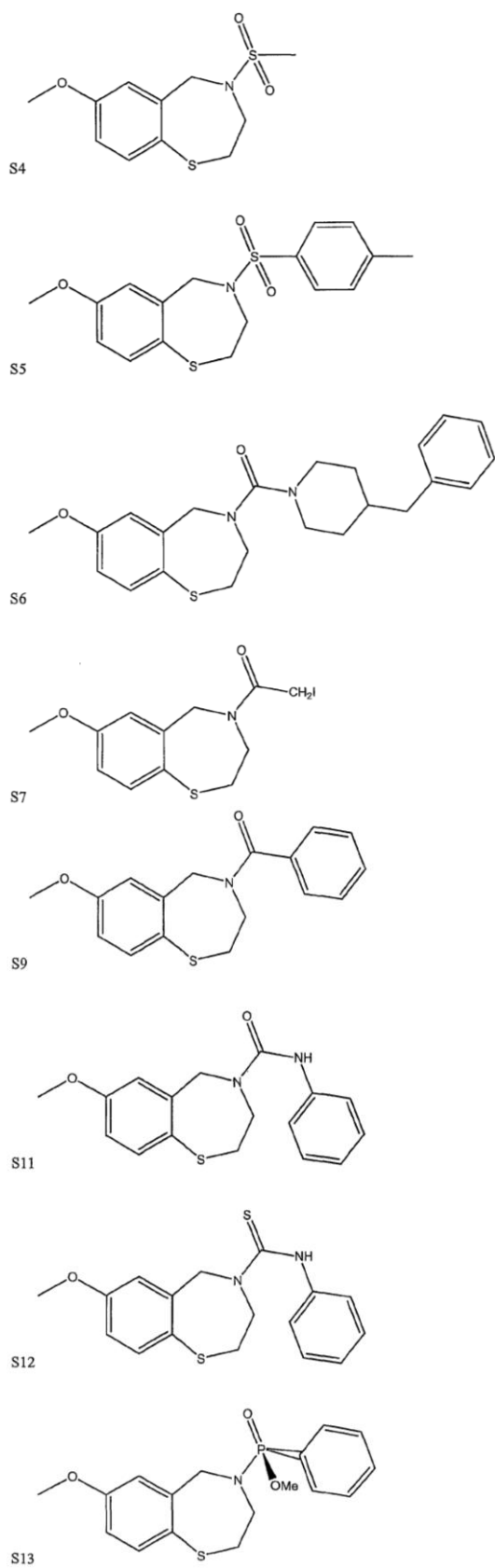
являє собою C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкіл, такий як Me, Et, пропіл і бутіл; а R<sub>9</sub> являє собою арил, такий, як феніл.

Сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l і I-m лікують і попереджають порушення і захворювання, пов'язані з RyR рецепторами.

Приклади подібних сполук включають, без обмеження, S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S9, S11, S12, S13, S14, S19, S20, S22, S23, S25, S26, S36, S37, S38, S40, S43, S44, S45, S46, S47, S48, S49, S50, S51, S52, S53, S54, S55, S56, S57, S58, S59, S60, S61, S62, S63, S64, S66, S67, S68, S69, S70, S71, S72, S73, S74, S75, S76, S77, S78, S79, S80, S81, S82, S83, S84, S85, S86, S87, S88, S89, S90, S91, S92, S93, S94, S95, S96, S97, S98, S99, S100, S101, S102, S103, S104, S105, S107, S108, S109, S110, S111, S112, S113, S114, S115, S116, S117, S118, S119, S120, S121, S122 і S123. Ці сполуки мають наступні структури:

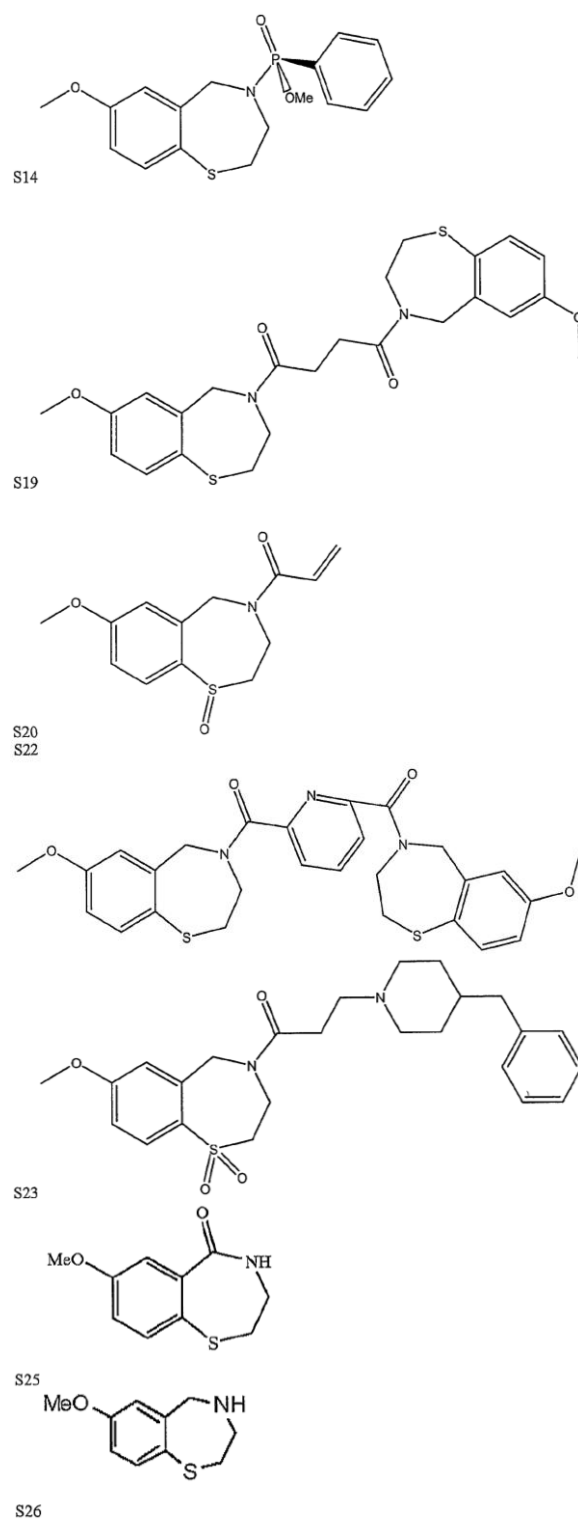


101

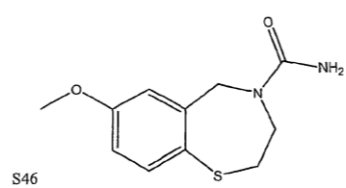
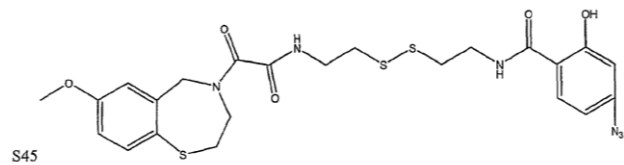
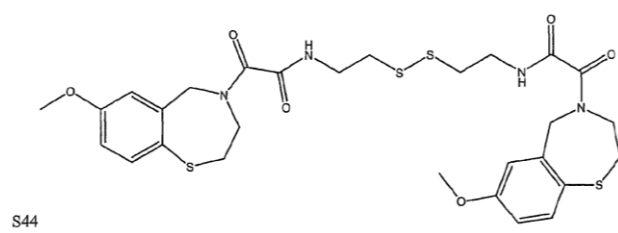
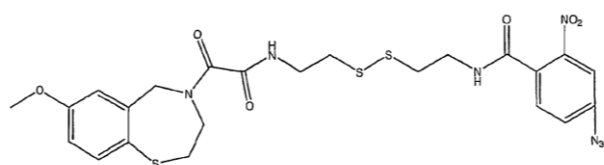
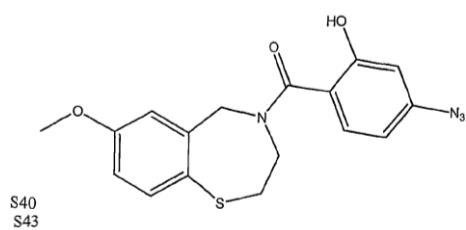
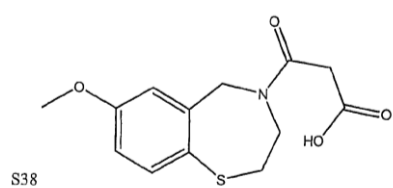
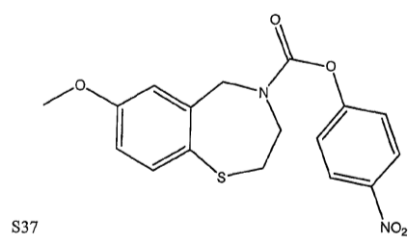
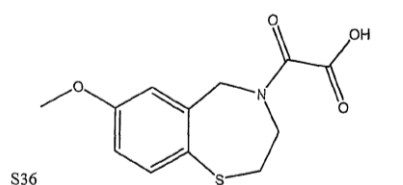


93388

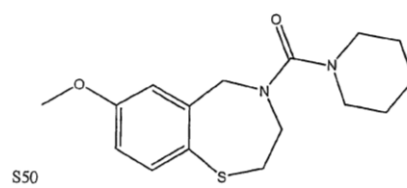
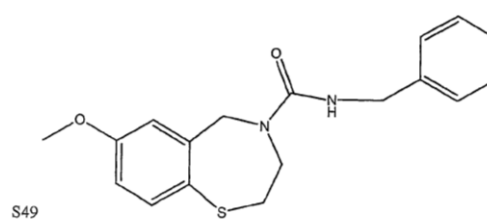
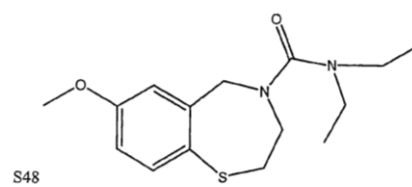
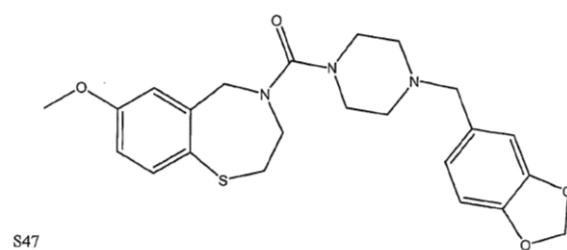
102



103



93388

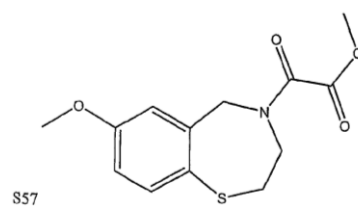
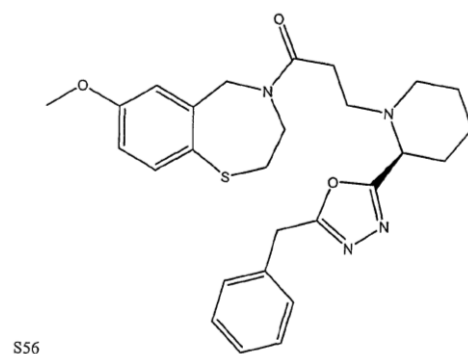
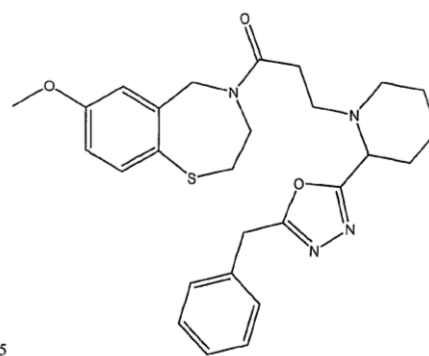
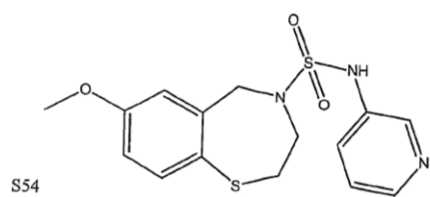
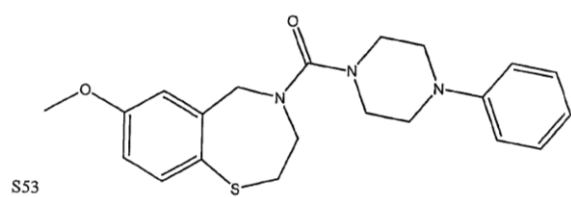
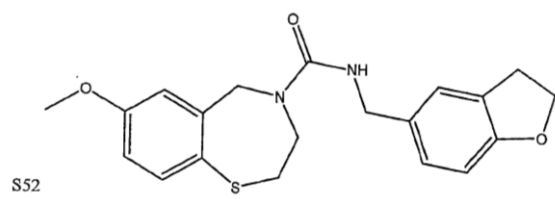
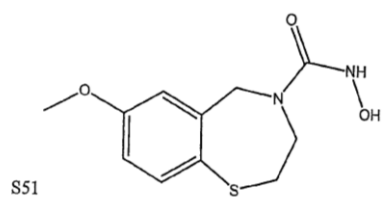




105

93388

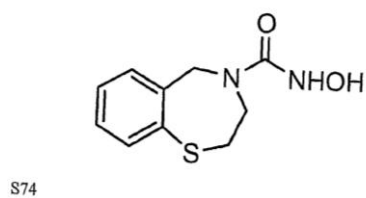
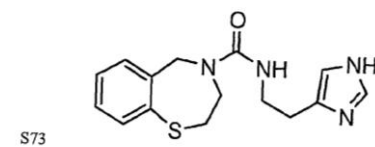
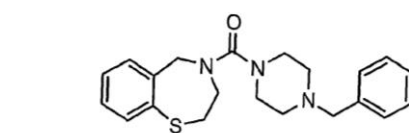
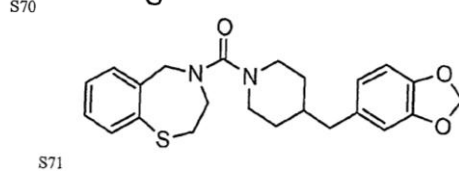
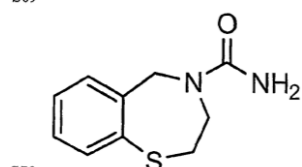
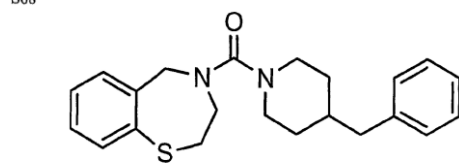
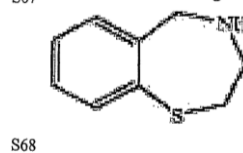
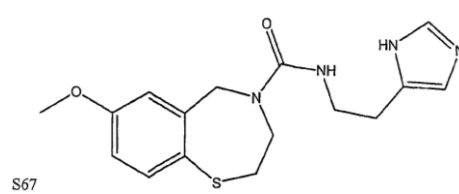
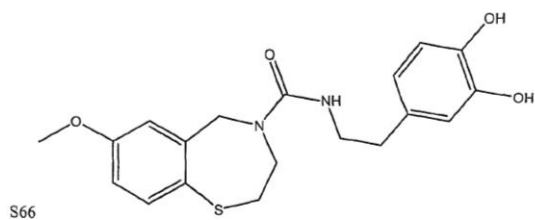
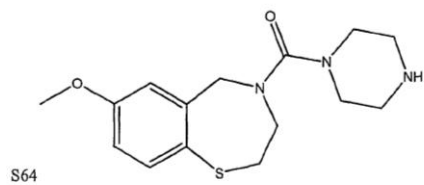
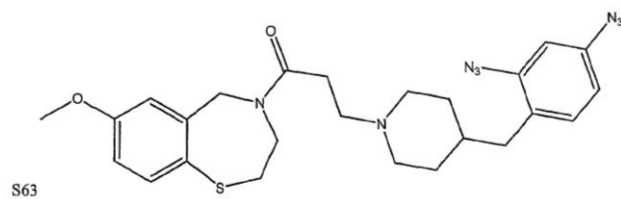
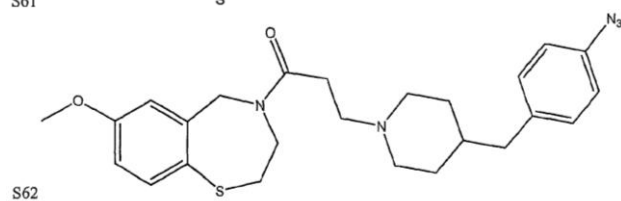
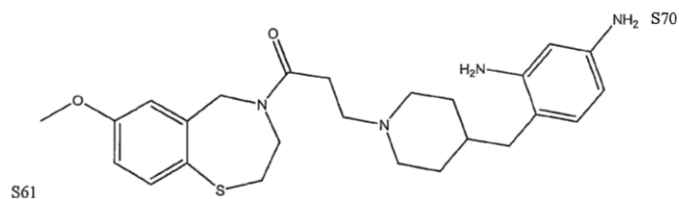
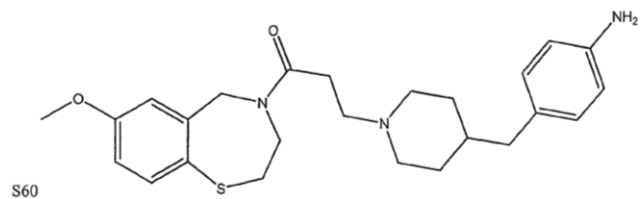
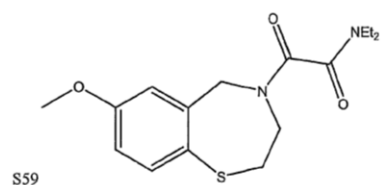
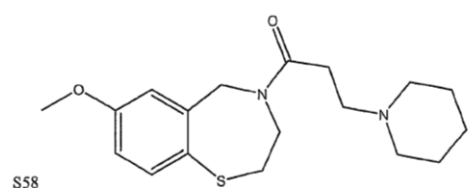
106



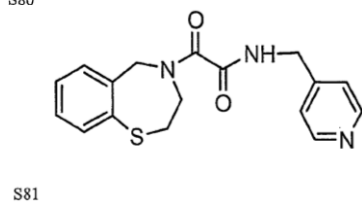
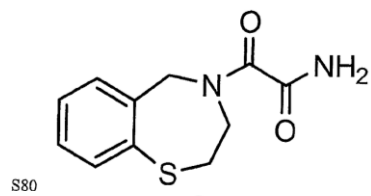
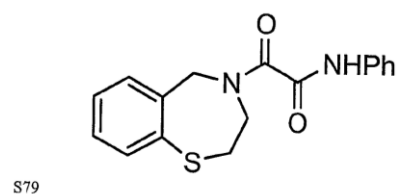
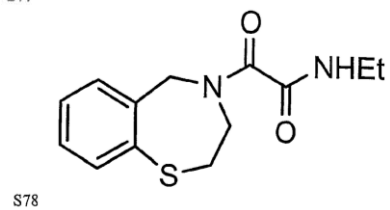
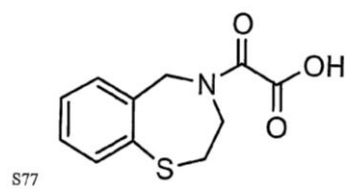
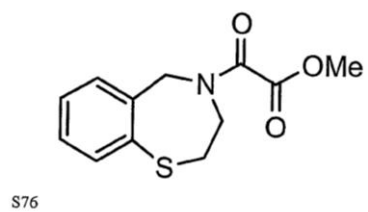
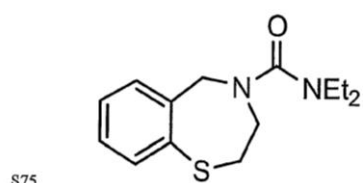
107

93388

108

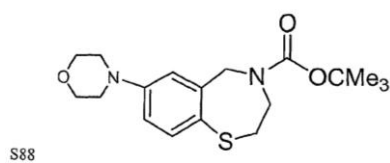
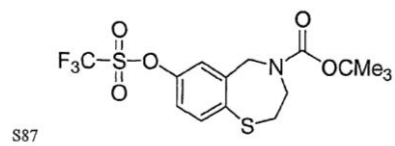
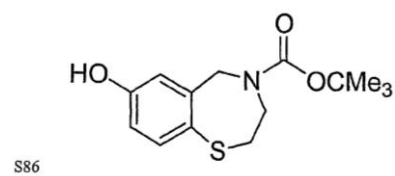
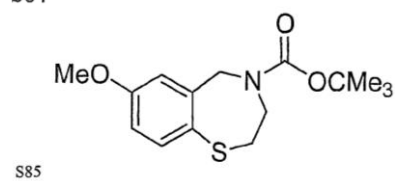
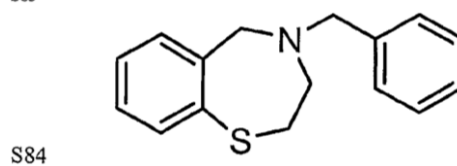
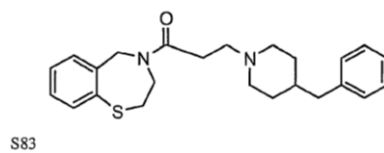
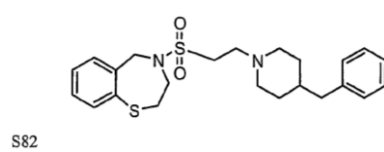


109

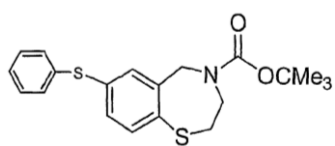


93388

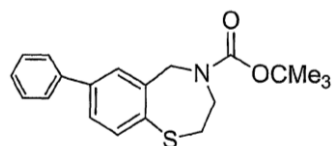
110



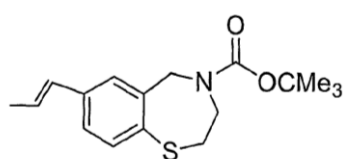
111



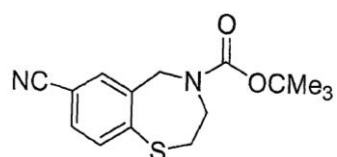
S89



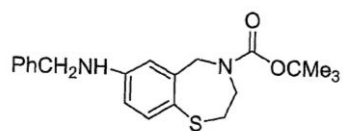
S90



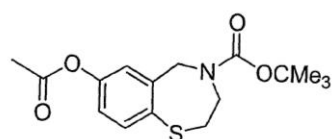
S91



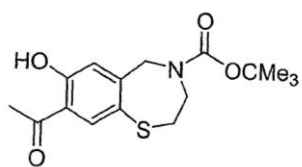
S92



S93



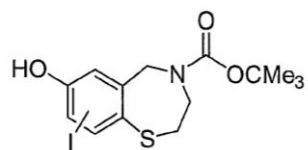
S94



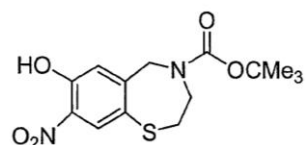
S95

93388

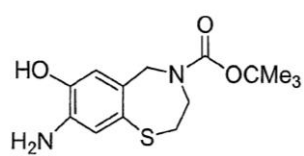
112



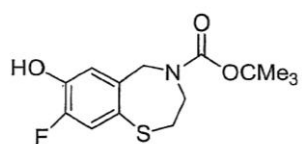
S96



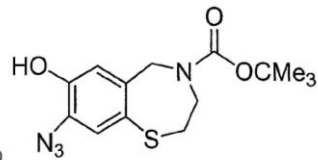
S97



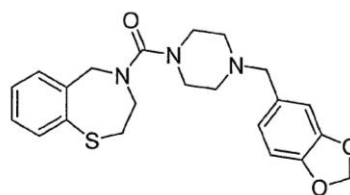
S98



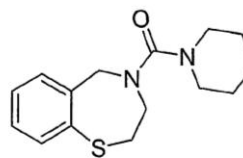
S99



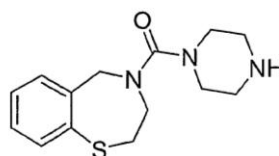
S100



S101

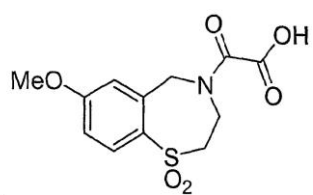


S102

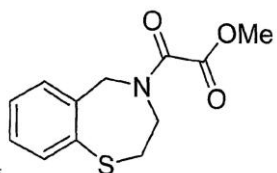


S103

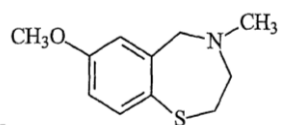
113



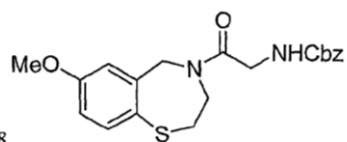
S104



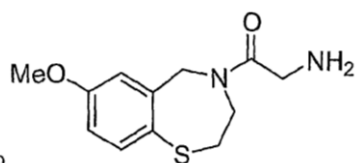
S105



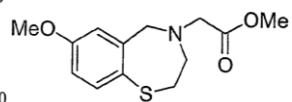
S107



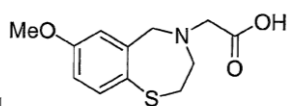
S108



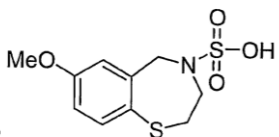
S109



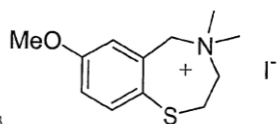
S110



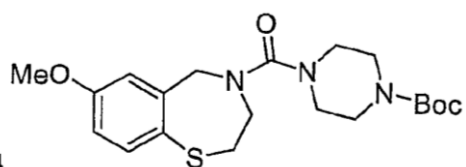
S111



S112



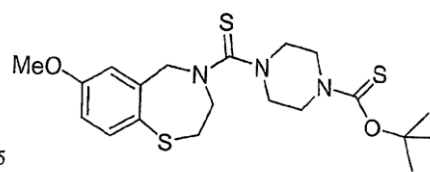
S113



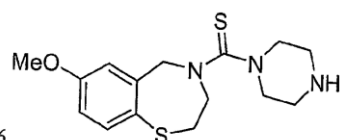
S114

93388

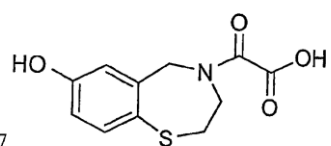
114



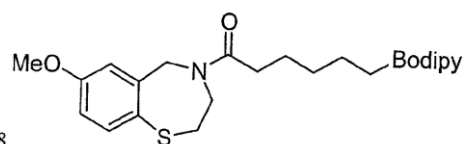
S115



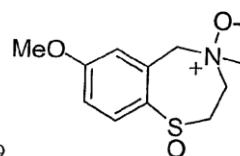
S116



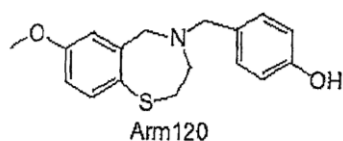
S117



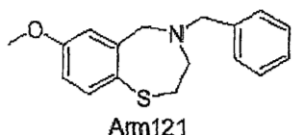
S118



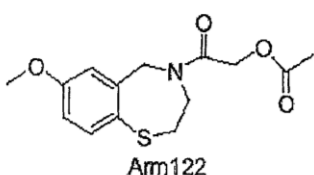
S119



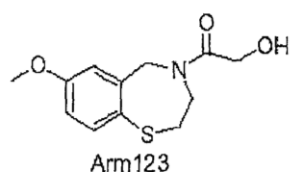
S120



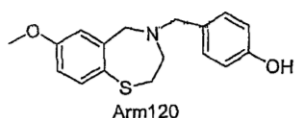
S121



S122



S123



В одному з варіантів здійснення даного винаходу у випадку сполук формули I, якщо  $R_5 \in C=O(R_5)$  або  $SO_2R_7$ , то R знаходиться в положеннях 2, 3 або 5 бензольного кільця.

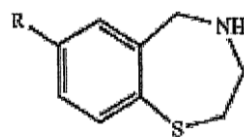
В іншому варіанті здійснення даного винаходу у випадку сполук формули I, якщо  $R_5 \in C=O(R_5)$  або  $SO_2R_7$ , то кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, ацил, алкіл, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу у випадку сполук формули I, якщо  $R_5 \in C=O(R_5)$  або  $SO_2R_7$ , то існує щонайменше дві R групи, пов'язані з бензольним кільцем. Крім того, існує що-

найменше дві R групи, пов'язані з бензольним кільцем, і обидві R групи знаходяться в положеннях 2, 3 або 5 бензольного кільця. I, крім того, кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, ацил, алкіл, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу у випадку сполук формули I, якщо  $R_5 \in C=O(R_5)$ , то  $R_5$  вибирають із групи, яка включає -NR<sub>16</sub>, NHR<sub>16</sub>, -OR<sub>15</sub>, CONH<sub>2</sub>NHR<sub>16</sub>, COR<sub>16</sub>, CH<sub>2</sub>X, ацил, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл.

В іншому варіанті здійснення в даному винаході надані сполуки формули II:



у якій  $R=OR'''$ ,  $SR'''$ ,  $NR'''$ , або алкіл галогенід, а  $R'''=$ алкіл, арил або H, і в якій R може знаходитися в положенні 6, 7, 8 або 9. Формула II обговорюється також у заявці 10/680988, що знаходиться одночасно на розгляді, розкриття якої включене тут за допомогою посилання у всій її повноті.

#### Шляху активності

Сполуки даного винаходу, такі як сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l і I-m, знижують імовірність відкриття RyR за рахунок підвищення афінності FKBP12 (кальстабин1) і FKBP12.6 (кальстабин2) по відношенню, відповідно, до PKA-фосфорильованого RyR1 і PKA-фосфорильованого RyR2. Більш того, сполуки винаходу нормалізують пропускання мутантних RyR каналів, включаючи CPVT-зв'язані мутантні RyR2 канали, за рахунок підвищення афінності до зв'язування FKBP12 (кальстабин1) і FKBP12.6 (кальстабин2). Таким чином, сполуки винаходу перетворюють порушення або захворювання, що включають модулювання RyR рецепторів, в особливості RyR1 і RyR2 рецепторів. Приклади подібних порушень або захворювань включають, без обмеження, порушення серцевої діяльності і хвороби серця, порушення і захворювання скелетних м'язів, порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, злосудну гіпертермію, діабет і синдром раптової смерті дитини в сні. Пору-

шення серцевої діяльності і хвороби серця включають, але не обмежуються, порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, раптову кардіогенну смерть, викликану фізичними навантаженнями раптову кардіогенну смерть, застійну серцеву недостатність, хронічне обструктивне захворювання легень і високий кров'яний тиск. Порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають і викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають, але не обмежуються, передсердну і шлуночкову аритмію, передсердну і шлуночкову фібриляцію, передсердну і шлуночкову тахікардію, катехоламінергічну поліморфну шлуночкову тахікардію (CPVT) і їхні варіанти, викликані фізичними навантаженнями. Порушення і захворювання скелетних м'язів, включають, але не обмежуються, утому скелетних м'язів, утому скелетних м'язів, викликану фізичними навантаженнями, м'язову дистрофію, порушення діяльності сечового міхура і нетримання. Порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, включають, але не обмежуються, хворобу Альцгеймера, форми втрати пам'яті і викликану віком втрату пам'яті. Сполуки винаходу лікують дані порушення і захворювання за рахунок підвищення афінності до зв'язування FKBP12 (кальстабин1) і FKBP12.6 (кальстабин2).

Відповідно до викладеного вище, у даному винаході запропонований спосіб обмеження або запобігання зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP (кальстабину) у клітинах суб'єкта. Як використано тут, «RyR» включає RyR1, RyR2 і RyR3. Крім того, FKBP включає як FKBP12 (кальстабин1), так і FKBP12.6 (кальстабин2). Таким чином, «RyR-зв'язаний FKBP» належить до RyR1-пов'язаного FKBP12 (кальстабину1), RyR2-пов'язаного FKBP12.6 (кальстабину2) і RyR3-пов'язаного FKBP12 (кальстабину1).

Як використано тут, «RyR» включає також «RyR білок» і «аналог RyR». «Аналог RyR» являє собою функціональний варіант RyR білка, що володіє біологічною активністю RyR, у якого 60% або більше гомології послідовності амінокислот з RyR білком. RyR у даному винаході нефосфорильований, фосфорильований (наприклад, PKA) або гіперфосфорильований (наприклад, PKA). Використаний тут надалі термін «біологічна активність RyR» належить до активності або білка пептиду, що виявляє здатність до фізичного зв'язування або зв'язується з FKBP12 (кальстабином1) у випадку RyR1 і RyR3 і FKBP12.6 (кальстабином2) у випадку RyR2 (тобто зв'язування приблизно в два або приблизно в п'ять разів більше фонового зв'язування негативного контролю), в умовах описаних тут аналізів.

Як використано тут, «FKBP» включає «FKBP білок» і «аналог FKBP», або йде мова про FKPB12 (кальстабин1) або FKPB12.6 (кальстабин2). Якщо тут не зазначено інакше, «білок» буде включати білок, білковий домен, поліпептид або пептид, і

будь-який їхній фрагмент. «Аналог FKBP» являє собою функціональний варіант FKBP білка, що володіє біологічною активністю FKBP, у якого 60% або більше гомології послідовності амінокислот з FKBP білком, або йде мова про FKPB12 (кальстабин1) або FKPB12.6 (кальстабин2). Використаний тут надалі термін «біологічна активність FKBP» належить до активності білка або пептиду, що виявляє здатність до фізичного зв'язування або зв'язується з нефосфорильованим або не гіперфосфорильованим RyR2 (тобто зв'язування приблизно в два або приблизно в п'ять разів більше фонового зв'язування негативного контролю), в умовах описаних тут аналізів.

FKBP зв'язується з RyR каналом, одна молекула на субодиницю RyR. Відповідно, використаний тут термін «RyR-зв'язаний FKBP» включає одну молекулу білка FKPB12 (кальстабину1), зв'язану із субодиницею RyR1 білка або тетрамером FKPB12, що асоційований з тетрамером RyR1, одну молекулу білка FKPB12.6 (кальстабину2), зв'язану із субодиницею RyR2 білка або тетрамером FKPB12.6, що асоційований з тетрамером RyR2, і одну молекулу білка FKBP12 (кальстабину1), зв'язану із субодиницею RyR3 білка або тетрамером FKPB12, що асоційований з тетрамером RyR3. Таким чином, «RyR-зв'язаний FKBP» належить до «RyR1-пов'язаного FKBP12», «RyR2-пов'язаного FKBP12.6» і «RyR3-пов'язаного FKPB12».

Відповідно до способу даного винаходу «зменшення» або «порушення» рівня RyR-пов'язаного FKBP у клітинах суб'єкта належить до зумовленого зменшення, спаду або зниженню рівня RyR-пов'язаного FKBP у клітинах суб'єкта. Подібне зменшення обмежене або запобігається в клітинах суб'єкта, коли дане зменшення будь-яким способом зупиняють, утрудняють, затримують, гальмують або знижують за рахунок введення сполук даного винаходу, так що рівень RyR-пов'язаного FKBP у клітинах суб'єкта стає вищим, ніж він був би в іншому випадку за відсутності даної введенної сполуки.

Рівень RyR-пов'язаного FKBP у клітинах суб'єкта визначають за допомогою стандартних аналізів і методів, включаючи аналізи і методи, що легко визначити з відомої галузі техніки (наприклад, імунологічні методи, гібридизаційний аналіз, імунне осадження, вестерн-блот аналіз, методи флуоресцентного відображення і/або визначення радіоактивності і так далі), а також описаних тут аналізів і способів. Наприклад, білок виділяють і очищують із клітин суб'єкта за допомогою стандартних способів, відомих у даній галузі техніки, включаючи, без обмеження, екстракцію з клітин (наприклад, за допомогою детергенту, який солюбілізує білок), у разі потреби, з наступним очищенням по афінності на колонці, хроматографією (наприклад, проточною ТШХ (FTLC) або ВЕРХ), імунним осадженням (антитілом) і осадженням (наприклад, ізопропанолом і таким реагентом, як Trizol). Після виділення й очищення білка здійснюють електрофорез (наприклад, на SDS-поліакриламідному гелі). Зменшення рівня RyR-пов'язаного FKBP у суб'єкта або його обмеження

або запобігання визначають шляхом порівняння кількості RyR-пов'язаного FKBP до введення JTV-519 або сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m, (відповідно до описаних нижче способів), з кількістю, зумовленою через відповідний проміжок часу після введення даної сполуки.

Зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у клітинах суб'єкта обмежується або запобігається, наприклад, за рахунок інгібування дисоціації FKBP і RyR у клітинах суб'єкта; за рахунок збільшення зв'язування між FKBP і RyR у клітинах суб'єкта; або за рахунок стабілізації RyR-FKBP комплексу в клітинах суб'єкта. Використаний тут термін «інгібування дисоціації» включає блокування, зниження, інгібування, обмеження або запобігання фізичної дисоціації або поділу субодиниці FKBP з молекулою RyR у клітинах суб'єкта. Використаний тут надалі термін «збільшення зв'язування» включає підвищення, збільшення або поліпшення здатності фосфорильованого RyR до фізичної асоціації з FKBP (наприклад, зв'язування приблизно в два рази або приблизно в п'ять разів більше фонового зв'язування в порівнянні з негативним контролем) у клітинах суб'єкта і підвищення, збільшення або поліпшення здатності FKBP до фізичної асоціації з фосфорильованим RyR (наприклад, зв'язування приблизно в два рази або приблизно в п'ять разів більше фонового зв'язування в порівнянні з негативним контролем) у клітинах суб'єкта. Крім того, зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у клітинах суб'єкта обмежується або запобігається за рахунок безпосереднього зниження рівня фосфорильованого RyR у клітинах або суб'єкта за рахунок непрямого зниження рівня фосфорильованого RyR у клітинах суб'єкта (наприклад, за допомогою вибору цільового ферменту (такого як PKA) або іншої ендогенної молекули, що регулює або модулює функції або рівні фосфорильованого RyR у клітинах). В одному з варіантів здійснення рівень фосфорильованого RyR у клітинах знижують щонайменше на 10% у способі даного винаходу. В іншому варіанті здійснення рівень фосфорильованого RyR у клітинах знижують щонайменше на 20%.

Суб'єктом даного винаходу є системи *in vitro* і *in vivo*, включаючи, без обмеження, виділені або культивовані клітини або тканини, не клітинні системи для аналізу *in vitro* і тварин (наприклад, земноводні, птахи, риби, ссавці, сумчасті тварини, люди, домашні тварини (такі як кішка, собака, мавпа, миша або пацюк) або комерційні тварини (такі як корова або свиня)).

Клітини суб'єкта включають поперечносмугасті м'язові клітини. Поперечносмугастий м'яз являє собою м'яз, у якому повторювані ланки (саркомери) скорочуваних міофібрил розташовані в клітині у вигляді системи, що приводить до поперечних або кососпрямованих борозенок, що спостерігаються на рівні оптичного мікроскопа. Приклади клітин поперечносмугастих м'язів включають, без обмеження, клітини довільних (скелетних) м'язів і клітини серцевого м'яза. В одному з варіантів здійснення клітина, використана в способі даного винаходу, являє собою клітину людського серцевого

м'яза. Використаний тут термін «клітина серцевого м'яза» включає волокна серцевого м'яза, такі як волокна, виявлені в серцевому міокарді. Волокна поперечних м'язів складаються з ланцюжків суміжних клітин серцевого м'яза, об'єднаних кінець до кінця на вставних дисках. Ці диски володіють двома видами сполучення клітин: збільшені десмосоми, витягнуті уздовж їхніх поперечних частин, і щілиноподібні сполуки, найбільші з яких лежать уздовж їхніх подовжніх частин.

Зменшення рівня RyR-пов'язаного FKBP обмежується або запобігається в клітинах суб'єкта за рахунок уведення даному суб'єкту сполук винаходу; крім того, це зробило б можливий контакт між клітинами суб'єкта і сполуками винаходу. Сполуки винаходу є модуляторами кальцієвих іонних каналів. Крім регулювання рівня  $\text{Ca}^{2+}$  у міокардіальних клітинах, сполуки винаходу модулюють  $\text{Na}^+$  струм і  $\text{K}^+$  струм аномального випрямлення в клітинах, таких як шлуночкові клітини морської свинки, і інгібують  $\text{K}^+$  струм уповільненого випрямлення в клітинах, таких як передсердні клітини морської свинки.

#### Фармацевтичні композиції

Зі сполук винаходу складають фармацевтичні композиції для введення суб'єкту-людині в біологічно сумісній формі, що придатна для введення *in vivo*. Відповідно до наступного аспекту, у даному винаході запропонована фармацевтична композиція, що містить сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m, у суміші з фармацевтично прийнятним розріджувачем і/або носієм. Фармацевтично прийнятний носій повинен бути «прийнятним» відносно сумісності з іншими інгредієнтами даної композиції і не бути шкідливим для його реципієнта. Використовуваний тут фармацевтично прийнятний носій вибирають з числа різних органічних або неорганічних речовин, що використовуються як речовини для фармацевтичних препаратів, і які включають до складу які аналізуючі засоби, буфери, зв'язувальні речовини, дезінтегранти, розріджувачі, емульгатори, ексципієнти, наповнювачі, гліданди, солюбілізатори, стабілізатори, супендируючі агенти, агенти для подання тоничності, носії і агенти для підвищення в'язкості. При необхідності можна також додати фармацевтичні добавки, такі як антиоксиданти, ароматополуки, забарвлюючі агенти, агенти для поліпшення смаку, консерванти і підсолоджувачі. Приклади фармацевтично прийнятних носіїв включають карбоксиметилцелюлозу, кристалічну целюлозу, гліцерин, гуміарабік, лактозу, стеарат магнію, метилцелюлозу, порошки, сольовий розчин, альгінат натрію, сахарозу, крохмаль, тальк і воду.

Фармацевтичні препарати даного винаходу одержують способами, що добре відомі в галузі фармацевції. Наприклад, сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m поєднують з носієм і/або розріджувачем, у вигляді суспензії або розчину. На вибір можна додати один або більше допоміжних інгредієнтів (наприклад, буфери, ароматизуючі речовини, поверхнево-активні речовини і так далі). Вибір носія визначається розчинністю і хімічною природою сполук, вибраним спо-



собом введення і стандартною фармацевтичною практикою.

Сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m вводять суб'єкту шляхом приведення клітин-мішеней суб'єкта (наприклад, клітин серцевого м'яза) *in vivo* у контакт із даними сполуками. Сполуки приводять у контакт (наприклад, вводять усередину) із клітинами суб'єкта за допомогою відомих методів, використовуваних для упродовження або введення білків, нуклеїнових кислот і інших лікарських препаратів. Приклади способів контактування клітин (наприклад, обробка клітин) зі сполуками даного винаходу включають, без обмеження, абсорбцію, електропорацію, імерсію, ін'єкцію, упродовження, ліпосомну доставку, трансфекцію, трансфузію, вектори та інші носії лікарських засобів і способи. У випадку, коли клітини-мішені локалізовані в конкретному місці суб'єкта, бажано вводити сполуки даного винаходу безпосередньо в ці клітини шляхом ін'єкції або якими-небудь іншими способами (наприклад, введенням сполук у або кров іншу тілесну рідину). Клітини-мішені містяться в тканині суб'єкта і виявляються за допомогою стандартних методів детектування, що легко визначити з даної галузі техніки, приклади яких включають, без обмеження, імунологічні методи (наприклад, імуногістохімічне фарбування), методи флуоресцентного відображення і методи мікроскопії.

Крім того, сполуки даного винаходу вводять людині або тваринному суб'єкту за допомогою відомих методів, що включають, без обмеження, оральне введення, сублінгвальне або букальне введення, парентеральне введення, черезшкірне введення, введення шляхом інгаляції або внутрішньоназально, вагінально, ректально і внутрішньом'язово. Сполуки винаходу вводять парентерально, шляхом епіфасціальної, інтракапсулярної, внутрішньочерепної, внутрішньошкірної, інтрастатальної, внутрішньом'язової, інтраорбітальної, внутрішньочеревинної, інтраспінальної, внутрішньогрудної, внутрішньосудинної, внутрішньовенної, паренхіматозної, підшкірної або сублінгвальної ін'єкції або за допомогою катетера. В одному з варіантів здійснення агент вводять суб'єкту шляхом доставки в м'язи суб'єкта, включаючи, але не обмежуючи, серцевими м'язами суб'єкта. В одному з варіантів здійснення агент вводять суб'єкту шляхом цільової доставки в клітини серцевого м'яза через катетер, вставлений у серце суб'єкта.

Для орального введення препарат на основі сполук винаходу може бути представлений у вигляді капсул, таблеток, порошків, гранул або у вигляді суспензії або розчину. Препарат містить стандартні допоміжні речовини, такі як лактоза, маніт, кукурудзяний крохмаль або картопляний крохмаль. До складу препарату входять також зв'язувальні речовини, такі як кристалічна целюлоза, похідні целюлози, аравійська камедь, кукурудзяний крохмаль або желатин. Крім того, до складу препарату входять дезінтегранти, такі як кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль або карбоксиметилцелюлоза натрію. До складу препарату входять також безводний двоосновний фосфат кальцію або гліколят крохмалю натрію. Нарешті,

до складу препарату входять лубриканти, такі як тальк або стеарат магнію.

Для парентерального введення (тобто введення шляхом ін'єкції по шляху, що відрізняється від травного тракту) сполуки даного винаходу об'єднують зі стерильним водяним розчином, що ізотонічний із кров'ю суб'єкта. Такий препарат готують, розчиняючи твердий активний інгредієнт у воді, що містить фізіологічно сумісні речовини, такі як хлорид натрію, гліцин і так далі, і що має буферований pH, сумісний з фізіологічними умовами, для того щоб одержати водяний розчин, потім додають зазначеному розчину стерильності. Препарат представляють у вигляді контейнерів з однією або декількома дозами, таких як запапані ампули або посудини. Препарат доставляють будь-яким ін'єкційним способом, включаючи, без обмеження, епіфасціальний, інтракапсулярний, внутрішньочерепний, внутрішньошкірний, інтратекальний, внутрішньом'язовий, внутрішньоочний, внутрішньочеревинний, інтраспінальний, внутрішньогрудний, внутрішньосудинний, внутрішньовенний, паренхіматозний, підшкірний або сублінгвальний або за допомогою катетера, введеного в серце суб'єкта.

Для черезшкірного введення сполуки винаходу об'єднують з агентами, що підсилюють проникнення через шкіру, такими як пропіленгліколь, поліетиленгліколь, ізопропанол, етанол, олеїнова кислота, N-метилпіролідон і так далі, що підвищують проникність шкіри для сполук винаходу і дозволяють даним сполукам проникати через шкіру й у кровотік. Композицію сполука/підсилювальний агент можна також об'єднати з полімерною речовиною, такою як етилцелюлоза, гідроксипропілцелюлоза, етилен/вінілацетат, полівінілпіролідон і так далі, для одержання даної композиції у формі гелю, що розчиняють у розчиннику, такому як хлористий метилен, упарюють до необхідної в'язкості, а потім наносять на матеріал підкладки для одержання пластиру.

У деяких варіантах здійснення композиція представлена у вигляді одиначної дозованої форми, такої як таблетка, капсула або пляшечка з одиначною дозою. Придатні одиначні дози, тобто терапевтично ефективні кількості, можна визначити при клінічних дослідженнях, організованих відповідним чином для кожного стану, для якого показане введення вибраної сполуки, і, безумовно, вони будуть розрізнятися в залежності від бажаної клінічної кінцевої крапки. У даному винаході запропоновані також предмети виробництва для лікування і попередження порушень у суб'єкта, таких як порушень серцевої діяльності. Предмети виробництва містять фармацевтичну композицію з однієї або більше описаних тут сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m. Предмети виробництва упаковують разом із вказівкою щодо різних порушень, що дані фармацевтичні композиції здатні вилікувати і/або попередити. Наприклад, предмети виробництва включають одиначну дозу описаної тут сполуки, здатної вилікувати або попередити м'язове порушення, і вказівку, що дана одиначна доза здатна вилікувати або попередити визначене порушення, наприклад, аритмію.

Відповідно до способу даного винаходу сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m уводять суб'єкту (або приводять у контакт із клітинами суб'єкта) у кількості, що ефективна для обмеження або попередження зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у даного суб'єкта, зокрема, у клітинах суб'єкта. Фахівець у даній галузі техніки легко визначить цю кількість на основі відомих методів, включаючи аналіз криві титрування, проведеного *in vivo*, і описаних тут способів і аналізів. В одному з варіантів здійснення придатна кількість сполук винаходу, що ефективна для обмеження або попередження зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у даного суб'єкта, змінюється в інтервалі від близько 0,01 мг/кг/день до близько 20 мг/кг/день і/або являє собою кількість, якої достатньо для досягнення рівня в плазмі, що змінюється в інтервалі від близько 300 нг/мл до близько 1000 нг/мл. В одному з варіантів здійснення кількість сполук винаходу змінюється в інтервалі від близько 10 мг/кг/день до близько 20 мг/кг/день. В іншому варіанті здійснення уводять від близько 0,01 мг/кг/день до близько 10 мг/кг/день. В іншому варіанті здійснення уводять від близько 0,01 мг/кг/день до близько 5 мг/кг/день. В іншому варіанті здійснення уводять від близько 0,05 мг/кг/день до близько 5 мг/кг/день. В іншому кращому варіанті здійснення уводять від близько 0,05 мг/кг/день до близько 1 мг/кг/день.

#### Застосування

У даному винаході запропонований новий рівень терапевтичних способів лікування пацієнтів з різними порушеннями, що включають модулювання RyR рецепторів, зокрема, з скелетними м'язовими порушеннями (RyR1), серцевими (RyR2) порушеннями і порушеннями пізнавальної здатності (RyR3).

В одному з варіантів здійснення даного винаходу в суб'єкта ще не розвилось порушення, таке як порушення серцевої діяльності (наприклад, викликана фізичними навантаженнями серцева аритмія). В іншому варіанті здійснення даного винаходу, суб'єкт має потребу в лікуванні порушення, включаючи порушення серцевої діяльності.

Різні порушення, що лікують або попереджають сполуки винаходу, включають, але не обмежуються, порушення серцевої діяльності і хвороби серця, скелетні м'язові порушення і захворювання, порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, злоякісну гіпертермію, діабет і синдром раптової смерті дитини в сні. Порушення серцевої діяльності і хвороби серця включають, але не обмежуються, порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, що викликані фізичними навантаженнями, раптову кардіогенну смерть, викликану фізичними навантаженнями раптову кардіогенну смерть, застійну серцеву недостатність, хронічне обструктивне захворювання легень і високий кров'яний тиск. Порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають і викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серце-

вими скороченнями, включають, але не обмежуються, передсердну і шлуночкову аритмію, передсердну і шлуночкову фібриляцію, передсердну і шлуночкову тахіаритмію, передсердну і шлуночкову тахікардію, катехоламінергічну поліморфну шлуночкову тахікардію (CPVT) і їхні варіанти, викликані фізичними навантаженнями. Порушення і захворювання скелетних м'язів, включають, але не обмежуються, утому скелетних м'язів, утому скелетних м'язів, викликану фізичними навантаженнями, м'язову дистрофію, порушенням діяльності сечового міхура і нетримання. Порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, включають, але не обмежуються, хворобу Альцгеймера, форми втрати пам'яті і викликану віком утрату пам'яті. Фахівець у даній галузі техніки визнає й інші захворювання, що включають, але не обмежені, м'язові і серцеві порушення, для лікування яких можуть бути в нагоді сполуки даного винаходу, відповідно до наданої тут інформації.

Кількість сполук винаходу, ефективна для обмеження або попередження зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP12.6 у суб'єкта, являє собою кількість, ефективну для попередження викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії в суб'єкта. Серцева аритмія є порушенням електричної активності серця, яка виявляється у вигляді змін частоти серцебиттів або серцевого ритму. Як використано тут, кількість сполук винаходу, «ефективна для попередження викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії» включає кількість сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l і I-m, яка ефективна для попередження розвитку клінічного погіршення або симптомів викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії (наприклад, частішання серцебиття, непритомностей, шлуночкової фібриляції, шлуночкової тахікардії і раптової кардіогенної смерті). Кількість сполук винаходу, ефективна для попередження викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії в суб'єкта, буде змінюватися в залежності від конкретних факторів у кожному випадку, включаючи тип викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії, вагу суб'єкта, тяжкість стану суб'єкта і спосіб введення сполук. Фахівець у даній галузі техніки легко визначить цю кількість, виходячи з відомих способів, включаючи клінічні дослідження й описані тут способи. В одному з варіантів здійснення кількість сполук винаходу, ефективна для попередження викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії, являє собою кількість, ефективну для попередження викликані фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті суб'єкта. В іншому варіанті здійснення сполуки винаходу попереджають викликану фізичними навантаженнями серцеву аритмію і викликану фізичними навантаженнями раптову кардіогенну смерть суб'єкта.

Завдяки своїй здатності стабілізувати RyR-зв'язаний FKBP і підтримувати і повертати баланс у контексті динамічного PKA фосфорильовання і дефосфорильовання RyR, сполуки винаходу застосовні також для лікування суб'єкта, у якого вже проявилися клінічні симптоми даних різних порушень. Наприклад, якщо симптоми порушення спо-

стерігаються в суб'єкта досить рано, сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l і I-m ефективні для обмеження або попередження подальшого зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у даного суб'єкта.

Крім того, об'єктом даного винаходу є кандидат на викликані фізичними навантаженнями серцеві порушення, такі як викликана фізичними навантаженнями серцева аритмія. Викликана фізичними навантаженнями серцева аритмія являє собою стан серця (наприклад, шлуночкову фібриляцію або шлуночкову тахікардію, включаючи будь-який стан, що приводить до раптового кардіогенної смерті), що розвивається під час/після того, як суб'єкт переніс фізичне навантаження. «Кандидатом» на викликане фізичними навантаженнями серцеве порушення є суб'єкт, про який відомо, що в нього є або вважається, що є або з підозрою на ризик розвитку серцевого порушення під час/після фізичного навантаження. Приклади кандидатів на викликану фізичними навантаженнями серцеву аритмію включають, без обмеження, тварину/людину, про яку відомо, що в неї є катехоламінергічна поліморфна шлуночкова тахікардія (CPVT), тварину/людину з підозрою на CPVT і тварину/людину, про яку відомо, що в неї є або вважається, що є або з підозрою на ризик розвитку серцевої аритмії під час/після фізичного навантаження, і яка збирається робити фізичні вправи, робить фізичні вправи в даний або момент тільки що закінчила робити фізичні вправи. Як обговорювалося вище, CPVT являє собою спадкове порушення в індивідуумів зі структурно-нормальними серцями. Вона характеризується викликанною напруженням шлуночковою тахікардією - летальною аритмією, які приводять до раптової кардіогенної смерті. У суб'єктів з CPVT фізичне зусилля і/або напруження викликають двонаправлену шлуночкову тахікардію, що приводить до раптової кардіогенної смерті (SCD) під час відсутності структурної хвороби серця, що виявляється. В індивідуумів з CPVT шлуночкова тахікардія виявляється, коли вони піддаються фізичним навантаженням, але аритмія не виявляється в стані спокою.

Відповідно, у ще одному варіанті здійснення даного винаходу, суб'єкт виконував фізичні вправи або виконує в даний момент, і в нього проявилось викликане фізичними навантаженнями порушення. У цьому випадку кількість сполук винаходу, ефективна для обмеження або попередження зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у суб'єкта, являє собою кількість, ефективну для лікування викликаного фізичними навантаженнями порушення в даного суб'єкта. Як використано тут, кількість сполук винаходу, «ефективна для лікування викликаного фізичними навантаженнями порушення», включає кількість сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m, яка ефективна для полегшення або поліпшення клінічного або погіршення симптомів викликаного фізичними навантаженнями порушення (наприклад, у випадку серцевої аритмії, частішання серцебиття, непритомностей, шлуночкової фібриляції, шлуночкової тахікардії і раптової кардіогенної смерті).

Кількість сполук винаходу, ефективна для попередження викликаного фізичними навантаженнями порушення в суб'єкта, буде змінюватися в залежності від конкретних факторів у кожному випадку, включаючи тип викликаного фізичними навантаженнями порушення, вагу суб'єкта, тяжкість стану суб'єкта і спосіб введення сполук. Фахівець у даній галузі техніки легко визначить цю кількість, виходячи з відомих способів, включаючи клінічні дослідження й описані тут способи. В одному з варіантів здійснення сполуками формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m лікують викликані фізичними навантаженнями порушення в суб'єкта.

Крім того, у даному винаході запропонований спосіб лікування викликаних фізичними навантаженнями порушень у суб'єкта. Даний спосіб включає введення сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m суб'єкту в кількості, яка ефективна для лікування викликаних фізичними навантаженнями порушень у суб'єкта. Придатна кількість сполук, ефективна для лікування, наприклад, викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії в суб'єкта, складає від близько 5 мг/кг/день до близько 20 мг/кг/день і/або являє собою кількість, ефективну для досягнення рівня в плазмі, що змінюється в інтервалі від близько 300 нг/мл до близько 1000 нг/мл. У даному винаході запропонований також спосіб попередження викликаного фізичними навантаженнями порушення в суб'єкта. Даний спосіб включає введення сполук винаходу суб'єкту в кількості, яка ефективна для попередження викликаного фізичними навантаженнями порушення в суб'єкта, складає від близько 5 мг/кг/день до близько 20 мг/кг/день і/або являє собою кількість, ефективну для досягнення рівня в плазмі, що змінюється в інтервалі від близько 300 нг/мл до близько 1000 нг/мл. Крім того, у даному винаході запропонований спосіб попередження викликаного фізичними навантаженнями порушення в суб'єкта. Даний спосіб включає введення сполук винаходу суб'єкту в кількості, яка ефективна для попередження викликаного фізичними навантаженнями порушення в суб'єкта. Придатна кількість сполук винаходу, ефективна для попередження викликаного фізичними навантаженнями порушення в суб'єкта, складає від близько 5 мг/кг/день до близько 20 мг/кг/день і/або являє собою кількість, ефективну для досягнення рівня в плазмі, що змінюється в інтервалі від близько 300 нг/мл до близько 1000 нг/мл.

Крім того, дані сполуки попереджають порушення, пов'язані з нерегулярними серцевими скороченнями в суб'єктів з гетерозиготними дефектами в гені FKBP12.6.

Сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l і I-m можна використовувати самі по собі, у поєднанні одна з одною або в поєднанні з іншими агентами, що володіють серцево-судинною активністю, що включають, але не обмежені, діуретики, антикоагулянти, антитромбоцитарні засоби, антиаритмічні засоби, інотропні агенти, хронотропні агенти,  $\alpha$  і  $\beta$  блокатори, інгібітори ангі-

отензину і судинорозширювальні засоби. Крім того, подібні комбінації сполук даного винаходу й інших серцево-судинних агентів уводять окремо або разом. Крім того, введення одного з агентів даної комбінації відбувається до, одночасно або після введення іншого агента (агентів).

У різних варіантах здійснення описаних вище способів серцева аритмія в суб'єкта, викликана фізичними навантаженнями, пов'язана з VT. В одному з варіантів здійснення VT являє собою CPVT. В інших варіантах здійснення цих способів суб'єкт є кандидатом на викликану фізичними навантаженнями серцеву аритмію, включаючи кандидатів на викликану фізичними навантаженнями раптову кардіогенну смерть.

У світлі описаних вище способів у даному винаході запропоноване також застосування сполук винаходу в способі обмеження або запобігання зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у суб'єкта, що є кандидатом на порушення. У даному винаході запропоноване також застосування сполук винаходу в способі лікування або попередження м'язового порушення в суб'єкта. Крім того, у даному винаході запропоноване застосування сполук винаходу в способі лікування або попередження викликаних фізичними навантаженнями м'язових порушень у суб'єкта.

Відповідно, у даному винаході запропонований також спосіб аналізу впливу сполук винаходу відносно попередження порушень і захворювань, пов'язаних з RyR рецепторами. Даний спосіб включає стадії: (a) одержання або вирощування клітинної культури, що містить RyR, (b) приведення даних клітин у контакт з однією або більше сполуками даного винаходу, (c) піддання даних клітин одній або більше умовам, про які відомо, що вони сприяють підвищенню фосфорилування RyR у клітинах, і (d) визначення чи обмежує або запобігає одна або більше сполук винаходу зниженню рівня RyR-пов'язаного FKBP у клітинах. Як використано тут, клітина, «яка містить RyR», являє собою клітину, у якій природним чином експресується або природним чином існує RyR, включаючи RyR1, RyR2 і RyR3. Умови, про які відомо, що вони сприяють підвищенню фосфорилування RyR у клітинах, включають, без обмеження, PKA.

У способі даного винаходу клітини контактують з однією або більше сполуками винаходу за допомогою будь-якого зі стандартних методів здійснення контакту між лікарськими засобами/агентами і клітинами, включаючи будь-які описані тут способи впровадження і введення. Рівень RyR-пов'язаного FKBP у клітині визначають або детектують за допомогою відомих методів, молекулярних процедур і аналізів, що відомі фахівцю в даній галузі або описані тут. В одному з варіантів здійснення даного винаходу, одна або більше сполук винаходу обмежує або запобігає зниженню рівня RyR-пов'язаного FKBP у клітинах.

RyR, включаючи RyR1, RyR2 і RyR3, бере участь у ряді біологічних подій у клітинах. Наприклад, було показано, що RyR2 канали відіграють важливу роль у ЕС сполученні і скорочуваності клітин серцевого м'яза. Тому ясно, що профілактичні лікарські засоби, створені для того, щоб обме-

жити або запобігти зниженню рівня RyR-пов'язаного FKBP у клітинах, зокрема, RyR2-пов'язаного FKBP12.6 у клітинах серцевого м'яза, застосовні для регулювання кількості RyR-зв'язаних біологічних подій, включаючи ЕС сполучення і скорочуваність. Таким чином, оцінюють вплив однієї або більше сполук винаходу на ЕС сполучення і скорочуваність у клітинах, зокрема, клітинах серцевого м'яза, і, отже, застосовність для попередження викликаного фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті.

Відповідно, спосіб даного винаходу включає також стадії приведення однієї або більше сполук винаходу в контакт із клітинними культурами, що містять RyR, і визначення, або впливає одна або більше сполук винаходу на RyR-зв'язану біологічну подію в даних клітинах. Як використано тут, «RyR-зв'язана біологічна подія» включає біохімічний або фізіологічний процес, у якому задіяні рівні або активність RyR. Як використано тут, приклади RyR-зв'язаних біологічних подій включають, без обмеження, сполучення і скорочуваність у клітинах серцевого м'яза. Відповідно до даного способу даного винаходу, одна або більше сполук приводять у контакт з однією або більше клітинами (такими як клітини серцевого м'яза) *in vitro*. Наприклад, клітинну культуру інкубують із препаратом, що містить одну або більш сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m. Потім оцінюють вплив сполук на RyR-зв'язану біологічну подію за допомогою будь-яких біологічних або аналізів способів, що відомі в даній галузі техніки, включаючи імуноблот-аналіз, одноканальну реєстрацію і будь-які інші описані тут способи.

Крім того, даний винахід спрямований на одну або більше сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m, ідентифікованих за допомогою описаного вище способу визначення, а також на фармацевтичну композицію, що містить дану сполуку і фармацевтично прийнятний носій і/або розріджувач. Сполуки застосовні для попередження викликаного фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті суб'єкта і для лікування або попередження інших RyR-зв'язаних станів. Як використано тут, «RyR-зв'язаний стан» являє собою стан, захворювання або порушення, у якому задіяний рівень або активність RyR, і включає будь-яку RyR-зв'язану біологічну подію. Даний RyR-зв'язаний стан лікують або попереджають у суб'єкта шляхом уведення даному суб'єкту сполуки в кількості, яка ефективна для лікування або попередження RyR-пов'язаного стану в суб'єкта. Фахівець у даній галузі техніки легко визначить таку кількість. В одному з варіантів здійснення в даному винаході запропонований спосіб попередження викликаного фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті суб'єкта за допомогою введення однієї або більше сполук винаходу даному суб'єкту в кількості, яка ефективна для лікування або попередження в суб'єкта раптової кардіогенної смерті.

У даному винаході також запропонований спосіб аналізу *in vivo* ефективності сполук винаходу для попередження порушень і захворювань, зв'язаних з RyR рецепторами. Даний спосіб включає

стадії: (a) або одержання генерування тварини, що містить RyR, (b) введення однієї або більше сполук винаходу даній тварині, (c) піддання тварини одній або більше умовам, що, як відомо, підвищують фосфорилування RyR у клітинах, і (d) визначення ступеню, у якому дана сполука обмежує або попереджає зниження рівня RyR-пов'язаного FKBP у тварини. Крім того, спосіб включає стадії: (e) введення однієї або більше сполук винаходу тварині, що містить RyR, і (f) визначення ступеня впливу даної сполуки на RyR-зв'язану біологічну подію у тварини. Крім того, запропонована фармацевтична композиція, що містить дану сполуку, і спосіб попередження викликаного фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті суб'єкта при введенні даної сполуки в кількості, яка ефективна для попередження викликаного фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті суб'єкта.

Було показано, що від сполук, які блокують активацію PKA, можна було б очікувати зниження активації каналу RyR, що приводить до меншого вивільнення кальцію в клітину. Від сполук, що зв'язуються з RyR каналом на сайті зв'язування FKBP, можна було б також очікувати зниження активності каналу відносно активації PKA або інших тригерів, що активують RyR канал. Подібні сполуки привели б також до меншого вивільнення кальцію в клітину.

Як приклад у діагностичних аналізах проведений скринінг вивільнення кальцію в клітини через RyR канал з використанням кальцій-чутливих флуоресцентних барвників (наприклад, Fluo-3, Fura-2 і так далі). У клітини вводять вибраний флуоресцентний барвник, потім стимулюють активаторами RyR для того, щоб визначити кальцій-залежний флуоресцентний сигнал (Brillantes, et al, Stabilization of calcium release channel (ryanodine receptor) function by FK506-binding protein. *Cell*, 77:513-23, 1994; Gillo, et al, Calcium entry during induced differentiation in murine erythroleukemia cells. *Blood*, 81:783-92, 1993; Jayaraman, et al, Regulation of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor by tyrosine phosphorylation. *Science*, 272:1492-94, 1996). Моніторинг кальцій-залежних флуоресцентних сигналів здійснюють за допомогою фотопоможувача й аналізують з використанням відповідного програмного забезпечення. Цей аналіз можна легко автоматизувати для проведення скринінгу сполук винаходу з використанням багатомовкових тарілок.

Щоб показати, що сполуки винаходу інгібують PKA-залежну активацію RyR-опосередкованого внутрішньоклітинного вивільнення кальцію, аналіз включає канали рекомбінантного RyR у гетерологічній системі експресування, такої як клітини Sf9, HEK293 або CHO. RyR можна було б також спільно експресувати з бета-адренорецепторами. Це дозволило б оцінити вплив сполук винаходу на активацію RyR у відповідь на додавання агоністів бета-адренорецептора.

Крім того, проводять аналіз рівня PKA фосфорилування RyR2, що корелює зі ступенем серцевої недостатності, а потім використовують для визначення ефективності однієї або більше сполук винаходу для блокування PKA фосфорилування

RyR2 каналу. Подібний аналіз оснований на використанні антитіл, специфічних до білка RyR2. Наприклад, білок RyR2 канали піддають імунному осадженню, а потім знову фосфорилують PKA і [гамма <sup>32</sup>P]-АТФ. Після цього визначають кількість радіоактивної [<sup>32</sup>P] мітки, перенесеної до білка RyR2, за допомогою апарата для візуалізації фосфору (Marx, et al., PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell*, 101:365-76, 2000).

Наступний аналіз сполук винаходу включає використання антитіла, специфічного до фосфоантигенної детермінанти, що визначає RyR1, який фосфорильований PKA по Ser 2843, або RyR2, який фосфорильований PKA по Ser 2809. Для оцінки ефективності даних сполук для терапії серцевої недостатності і серцевої аритмії можна використовувати імуноблот-аналіз за допомогою подібного антитіла. Крім того, для оцінки ефективності терапії серцевої недостатності і серцевої аритмії використовують з нокаутованими RyR2 S2809A і RyR2 S2809D мишей. За допомогою таких мишей також одержують доказ того, що PKA гіперфосфорилування RyR2 є додатковим чинником для серцевої недостатності і серцевої аритмії, показуючи, що мутація RyR2 S2809A інгібує серцеву недостатність й аритмію і що мутація RyR2 S2809D збільшує серцеву недостатність і аритмію.

Таким чином, у визначеному варіанті здійснення в даному винаході запропонований спосіб лікування серцевої недостатності, передсердної фібриляції або викликаного фізичними навантаженнями серцевої аритмії, що включає введення потребуючій цього тварині терапевтично ефективною кількості сполуки, вибраної з числа сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l і I-m.

Передбачається, що внутрішньоклітинний витік Ca<sup>2+</sup> є основним медіатором зниження м'язової діяльності і дистрофічної зміни м'язів. М'язова дистрофія являє собою гетерогенні спадкові захворювання, що характеризуються слабкістю і прогресуючою зношуваністю м'язів. З усіх видів м'язової дистрофії, що включають дистрофін-зв'язаний білковий комплекс (називаний дистрофінопатія), м'язова дистрофія Дюшенна (DMD) є одним з найбільш частих генетичних захворювань (X-зв'язанна, 1 з 3500 хлопчиків), при якому смерть звичайно відбувається у віці до 30 років через дихальну і/або серцеву недостатність у великого числа пацієнтів. М'язова дистрофія Беккера (BMD) є більш м'якою формою даного захворювання, пов'язаного зі зниженням або кількості експресії зрізаної форми білка дистрофіну, тоді як пацієнти Дюшенна характеризуються повною відсутністю або вкрай низьким рівнем дистрофіну. М'язові дистрофії Дюшенна і Беккера (DMD/BMD) викликаються мутаціями в гені, що кодує 427-kDa цитоскелетний білок дистрофія. Однак з віком у випадку BMD серцеві симптоми більш часті, ніж у DMD пацієнтів і не корелюють з скелетними м'язовими симптомами. Оскільки генетичний скринінг не усуває DMD внаслідок високого відсотка спорадичних випадків, у край бажана ефективна терапія. DMD/BMD узгоджено зв'язані з порушенням внутрі-

шньоклітинним метаболізмом кальцію. Оскільки думають, що зміни внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у DMD м'язових волокнах являє собою центральний патогенний механізм, у край бажана розробка терапевтичного впливу, що запобіжить внутрішньоклітинні  $\text{Ca}^{2+}$  аномалії як причині скелетної м'язової дегенерації.

Добре встановлено, що недолік експресії дистрофіну є первинним генетичним дефектом для DMD і BMD. Однак ключовий механізм, що приводить до прогресуючого ушкодження м'язів, практично зовсім невідомий. Передбачалося, що підвищення внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) в умовах спокою прямо сприяє ушкодженню токсичних м'язових клітин (м'язове волокно) і одночасній активації  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних протеаз. Оскільки активність кальпаїну зростає в некротичних м'язових волокнах mdx мишей і дисфункція кальпаїну сприяє дистрофії Лейдена-Мебіуса, запобігання активації калій-залежних протеаз за рахунок інгібування внутрішньоклітинного підвищення  $\text{Ca}^{2+}$  являє собою стратегію попередження зносу м'язів при DMD.

Про істотні розходження в  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  для нормальних і дистрофічних м'язів повідомляли для миотубок і тваринних моделей, включаючи дистрофін-недостатніх mdx мишей. Внутрішньоклітинному підвищенню  $\text{Ca}^{2+}$  запобігають за рахунок уведення фармацевтичної композиції, що включає сполука формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m.

Крім того, у даному винаході запропонований спосіб діагностики захворювання або порушення в суб'єкта, при цьому даний спосіб включає: одержання зразка клітин або тканини в суб'єкта, одержання ДНК із даної клітини або тканини, зіставлення ДНК із даної клітини або тканини з контрольною ДНК, що кодує RyR, для визначення того, або є мутація в ДНК із даної клітини або тканини, при цьому наявність мутації вказує на захворювання або порушення. В одному з варіантів здійснення мутація являє собою RyR2 мутацію в хромосомі Iq42-q43. В іншому варіанті здійснення мутація являє собою одну або більше мутацій CPTV. В іншому варіанті здійснення мутація може бути мутацією, що є в ДНК, що кодує RyR2 у суб'єкті з SIDS. Даний спосіб діагностики використовують для виявлення наявності захворювання або порушення в дорослого, дитини або плоду в утробі. Захворювання і порушення включають, але не обмежуються, порушення серцевої діяльності і хвороби серця, скелетні м'язові порушення і захворювання, порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною діяльністю, злоякісну гіпертермію, діабет і синдром раптової смерті дитини в сні. Порушення серцевої діяльності і хвороби серця включають, але не обмежуються, порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, раптову кардіогенну смерть, раптову кардіогенну смерть, викликану фізичними навантаженнями, застійну серцеву недостатність, хронічне обструктивне захворювання легень і високий кров'яний тиск. По-

рушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають і викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають, але не обмежуються, передсердну і шлуночкову аритмію, передсердну і шлуночкову фібриляцію, передсердну і шлуночкову тахіаритмію, передсердну і шлуночкову тахікардію, катехоламінергічну поліморфну шлуночкову тахікардію (CPVT) і їхні варіанти, викликані фізичними навантаженнями. Порушення і захворювання скелетних м'язів, включають, але не обмежуються, стомлюваність скелетних м'язів, стомлюваність скелетних м'язів, викликану фізичними навантаженнями, м'язову дистрофію, порушення діяльності сечового міхура і нетримання. Порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, включають, але не обмежуються, хворобу Альцгеймера, форми втрати пам'яті і викликану віком утрату пам'яті.

Крім того, у даному винаході запропонований спосіб діагностики порушень або захворювань у суб'єкта, при цьому даний спосіб включає: одержання зразка клітин або тканини в суб'єкта, інкубування даного зразка клітин або тканини зі сполукою винаходу в умовах, що підвищують фосфорилювання RyR у клітинах, визначення (а) чи підвищується зв'язування RyR з кальстабином (тобто RyR1 зв'язується з кальстабином1, RyR2 зв'язується з кальстабином2, або RyR3 зв'язується з кальстабином1) у даних клітинах або тканинах у порівнянні зі зв'язуванням RyR з кальстабином у контрольних клітинах або тканинах, при цьому в зазначених контрольних клітинах або тканинах відсутні кальцієві канали з мутантними RyR, або (b) чи відбувається спад вивільнення кальцію в RyR каналах у порівнянні зі спадом зниження вивільнення кальцію в контрольних клітинах; підвищення RyR-зв'язування з кальстабином в (а) вказує на порушення або захворювання в суб'єкта або спад вивільнення кальцію в RyR каналах, в (b) у порівнянні з контрольними клітинами вказує на серцеве захворювання або порушення в суб'єкта. Даний спосіб діагностики використовують для виявлення наявності захворювання або порушення в дорослого, дитини або плоду в утробі. Захворювання і порушення включають, але не обмежуються, порушення серцевої діяльності і хвороби серця, скелетні м'язові порушення і захворювання, порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною діяльністю, злоякісну гіпертермію, діабет і синдром раптової смерті дитини в сні. Порушення серцевої діяльності і хвороби серця включають, але не обмежуються, порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, викликані фізичними навантаженнями, раптову кардіогенну смерть, раптову кардіогенну смерть, викликану фізичними навантаженнями, застійну серцеву недостатність, хронічне обструктивне захворювання легень і високий кров'яний тиск. Порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають і викликані фізичними навантаженнями порушення і

захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають, але не обмежуються, передсердну і шлуночкову аритмію, передсердну і шлуночкову фібриляцію, передсердну і шлуночкову тахіаритмію, передсердну і шлуночкову тахікардію, катехоламінергічну поліморфну шлуночкову тахікардію (CPVT) і їхні варіанти, викликані фізичними навантаженнями. Порушення і захворювання скелетних м'язів, включають, але не обмежуються, утому скелетних м'язів, утому скелетних м'язів, викликану фізичними навантаженнями, м'язову дистрофію, порушення діяльності сечового міхура і нетримання. Порушення і захворювання, пов'язані з пізнавальною здатністю, включають, але не обмежуються, хворобу Альцгеймера, форми втрати пам'яті і викликану віком утрату пам'яті.

Крім того, у даному винаході запропонований спосіб діагностики порушення серцевої або діяльності хвороби серця в суб'єкта, при цьому даний спосіб включає: одержання зразка клітин або тканини серця в суб'єкта, інкубування даного зразка клітин або тканини серця зі сполукою формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m в умовах, що підвищують фосфорилування RyR у клітинах, визначення (а) чи підвищується зв'язування RyR2 з кальстабином2 у клітинах або тканинах у порівнянні зі зв'язуванням RyR2 з кальстабином2 у контрольних клітинах або тканинах, при цьому в зазначених контрольних клітинах або тканинах відсутні кальцієві канали з мутантними RyR, або (б) чи відбувається спад вивільнення кальцію в RyR2 каналах у порівнянні зі спадом зниження вивільнення кальцію в контрольних клітинах; підвищення RyR2-зв'язування кальстабином2 у (а) вказує на порушення або захворювання в суб'єкта, або спад вивільнення кальцію в RyR2R каналах у (б) у порівнянні з контрольними клітинами вказує на серцеве захворювання або порушення в суб'єкта. Запропонований спосіб використовують для діагностики CPTV. Запропонований спосіб використовують для діагностики синдрому раптової смерті дитини в сні (SIDS). Крім того, запропонований спосіб використовують для діагностики порушень і захворювань, зв'язаних з нерівномірними серцевими скороченнями, викликаних фізичними навантаженнями порушень і захворювань, зв'язаних з нерівномірними серцевими скороченнями, раптової кардіогенної смерті, раптової кардіогенної смерті, викликані фізичними навантаженнями, застійної серцевої недостатності, хронічного обструктивного легеневого захворювання і високого кров'яного тиску. Порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають і викликані фізичними навантаженнями порушення і захворювання, пов'язані з нерівномірними серцевими скороченнями, включають, але не обмежуються, передсердну і шлуночкову аритмію, передсердну і шлуночкову фібриляцію, передсердну і шлуночкову тахіаритмію, передсердну і шлуночкову тахікардію, катехоламінергічну поліморфну шлуночкову тахікардію (CPVT) і їхні варіанти.

На додаток до зазначених вище терапевтичним застосувань сполуки винаходу застосовні та-

кож у діагностичних аналізах, скринінгових аналізах і як інструменти досліджень.

#### Способи синтезу

У наступному аспекті в даному винаході запропоновані способи одержання сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m, і їхніх солей, сольватів, гідратів, комплексів і проліків, і фармацевтично прийнятних солей таких проліків. Більш конкретно, у даному винаході запропоновані способи одержання сполук, обраних із групи, яка включає S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S9, S11, S12, S13, S14, S19, S20, S22, S23, S26, S36, S37, S38, S40, S43, S44, S45, S46, S47, S48, S49, S50, S51, S52, S53, S54, S55, S56, S57, S58, S59, S60, S61, S62, S63, S64, S66, S67, S69, S70, S71, S72, S73, S74, S75, S76, S77, S78, S79, S80, S81, S82, S83, S84, S85, S86, S87, S88, S89, S90, S91, S92, S93, S94, S95, S96, S97, S98, S99, S100, S101, S102, S103, S104, S105, S107, S108, S109, S110, S111, S112, S113, S114, S115, S116, S117, S118, S119, S120, S121, S122 і S123, і їхні солі, сольвати, гідрати, комплекси і проліки, і фармацевтично прийнятні солі таких проліків. Тут описані різні синтетичні підходи до даних сполук.

У деяких з наступних синтезів використовують розчинники. В одному з варіантів здійснення розчинник є органічним розчинником. В іншому варіанті здійснення розчинник являє собою хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), хлороформ ( $\text{CHCl}_3$ ), формальдегід ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) або метанол ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ). У деяких з наступних синтезів використовують також основний каталізатор. В одному з варіантів здійснення основний каталізатор являє собою аміну сполуку. В іншому варіанті здійснення основний каталізатор являє собою алкіламін, такий як триетиламін (TEA). У ще одному варіанті здійснення основний каталізатор являє собою піридин. У деяких з наступних синтезів використовують основні розчини. В одному з варіантів здійснення основний розчин являє собою гідрокарбонат натрію або карбонат кальцію. В одному з варіантів здійснення основний розчин являє собою насичений гідрокарбонат натрію або насичений карбонат кальцію. У деяких з наступних синтезів використовують кислі розчини. В одному з варіантів здійснення кислий розчин являє собою розчин сарної кислоти, розчин хлорисодовної кислоти або розчин азотної кислоти. В одному з варіантів здійснення даний розчин являє собою 1n HCl. Фахівець у даній галузі техніки прийме до уваги й інших розчинників, органічні розчинники, основні каталізatori, основні розчини і кислі розчини, що використовують у варіантах здійснення відповідно до приведеного опису. Розчинники, органічні розчинники, реагенти, каталізatori, промивні розчини і так далі додають при відповідній температурі (наприклад, при кімнатній температурі або температурі близько 20°C-25°C, 0°C і так далі).

У деяких з наступних синтезів як вихідну сполуку використовують сполуку S68. S68 комерційно доступний від MicroChemistry Ltd. (Москва, Росія). З приводу одержання S68 дивіться також WO01/55118.

У декількох з наступних синтезів як вихідну сполуку використовують сполуку S26. S26 одер-

жують як проміжну сполуку при синтезі S3, S4, S5 і S54, як показано на схемі 1 у прикладі 4. Крім того, способи синтезу S26 описані в патентній заявці США № 10/680988.

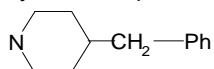
У деяких з наступних синтезів потрібно очищення реакційної суміші для одержання кінцевого продукту. Очищення реакційної суміші включає один або більше способів, таких як видалення якогось-небудь розчинника, кристалізація продукту, хроматографічний поділ продукту (включаючи ВЕРХ, хроматографію на силікагелі, колонкову хроматографію і так далі), промивання основним розчином, промивання кислим розчином, повторне розчинення продукту в іншому розчиннику і так далі. Фахівець у даній галузі техніки візьме до уваги й інших способів, що використовуються у варіантах здійснення відповідно до приведеного тут описом.

Реакції проводять протягом необхідного часу (наприклад, одна година, декілька годин, протягом ночі, 24 годин і так далі) для одержання бажаних або оптимальних виходів бажаних продуктів. Часто реакційні суміші перемішують. Реакції проводять при відповідній температурі (наприклад, при кімнатній або температурі температурі близько 20°C-25°C, 0°C, 100°C і так далі).

Синтон S26 одержують відповідно до способів, описаних у патентній заявці США №10/680988.

S3, S4, S5 і S54 одержують з S26. S26 уводять у взаємодію з  $\text{RSO}_2\text{Cl}$ , де R є  $\text{CH}_2=\text{CH}-$  (S3), Me- (S4), n-Me-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- (S5) або NH-2-Py (S54) для одержання продукту. Даний продукт очищають, наприклад, колонковою хроматографією, одержуючи S3, S4, S5 або S54. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник типу  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , так, що виходить реакційна суміш, і розчинник видаляють з реакційної суміші до або під час очищення продукту. У разі потреби в даному синтезі використовують основою каталізатор, такий як триетиламін. Крім того, при необхідності для очищення реакційної суміші і/або продукту використовують основні (наприклад, насичений розчин гідрокарбонату натрію) і кислотні промивання, і вони супроводжуються сушінням, наприклад, над сульфатом натрію, у разі потреби. Для очищення залишку з метою виділення бажаного продукту використовують, наприклад, колонкову хроматографію.

S1 і S2 одержують з S3 реакцією з  $\text{HNR}_1\text{R}_5$ , де



R являє собою (S1) або  $\text{NBu}_2$  (S2). Продукт очищають, наприклад, колонковою хроматографією, для одержання S1 або S2. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник типу  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , так, що виходить реакційна суміш, і розчинник видаляють з реакційної суміші до або під час очищення продукту. Для очищення залишку з метою виділення бажаного продукту використовують, наприклад, колонкову хроматографію.

S7, S9, S27 і S40 одержують з S26 реакцією зі спиртом формули  $\text{RCOX}$ , де X являє собою Cl або NHS, а R є  $\text{ICH}_2-$  (S7), Ph- (S9),  $\text{CH}_2=\text{CH}-$  (S27) або 4-N<sub>3</sub>-2-OH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (S40). В одному з варіантів здійс-

нення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник типу  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , так, що виходить реакційна суміш, і розчинник видаляють з реакційної суміші до або під час очищення продукту. У разі потреби в даному синтезі використовують основою каталізатор, такий як триетиламін. Крім того, при необхідності для очищення реакційної суміші і/або продукту використовують основні (наприклад, насичений розчин гідрокарбонату натрію) і кислотні промивання (наприклад, 1n HCl), і вони супроводжуються сушінням, у разі потреби. В іншому варіанті здійснення S40 одержують реакцією зі спиртом формули  $\text{RCOX}$ , де R є 4-N<sub>3</sub>-2-OH-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, а X являє собою NHS. Для очищення залишку з метою виділення бажаного продукту використовують, наприклад, колонкову хроматографію.

S11 і S12 одержують з S26 реакцією зі сполукою формули  $\text{C}_6\text{H}_4\text{-NCX}$ , де X являє собою O (S11) або S (S12). В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник типу  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , так, що виходить реакційна суміш, і розчинник видаляють з реакційної суміші до або під час очищення продукту. У разі потреби в даному синтезі використовують основний каталізатор, такий як триетиламін або піридин. В іншому варіанті здійснення основний каталізатор, такий як піридин, використовують як розчинник, у якому протікає реакція, а після протікання реакції додають додатковий розчинник, такий як етилацетат або інший придатний органічний розчинник. Крім того, при необхідності для очищення реакційної суміші і/або продукту використовують основні (наприклад, насичений розчин гідрокарбонату натрію) і кислотні промивання (наприклад, 1n HCl), і вони супроводжуються сушінням, у разі потреби. Для очищення залишку з метою виділення бажаного продукту використовують, наприклад, колонкову хроматографію.

Ізмери S13 і S14 одержують з S26 реакцією з фенілметоксифосфонілхлоридом ( $\text{Ph}(\text{MeO})\text{P}(\text{O})\text{Cl}$ ). В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як хлористий метилен. У разі потреби можна використовувати основний каталізатор, такий як триетиламін, додаючи її до реакційної суміші, отриманої при змішуванні реагентів у розчиннику. Крім того, реакційну суміш промивають основним розчином, наприклад, насиченим розчином гідрокарбонату натрію, у разі потреби. Ізмери розділяють і очищають, наприклад, хроматографією на силікагелі.

S19 і S22 одержують з S26 реакцією сполукою формули  $\text{ClOC-X-COC1}$ , де X являє собою  $\text{CH}_2-$

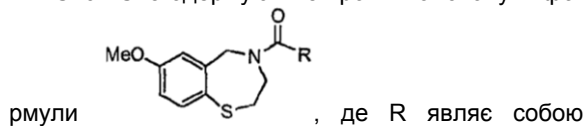


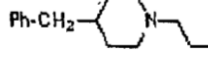
$\text{CH}_2$  (S19) або (S22). В одному з варіантів здійснення реакція протікає в присутності розчинника, такого як органічний розчинник, такий як хлористий метилен. У разі потреби можна використовувати основний каталізатор, такий як триетиламін, додаючи її до реакційної суміші, отриманої при змішуванні реагентів у розчиннику. Крім того, для видалення небажаних сполук з реакційної суміші використовують промивання основою (наприклад, насиченим розчином гідрокарбонату натрію),



кислотою (наприклад, 1н HCl) і водою, у разі потреби.

S20 і S23 одержують із проміжної сполуки фо-

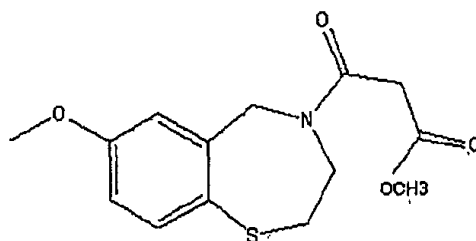


( $\text{ZH}_2=\text{CH}_2$ - (S20) або  (S23)). Як проміжну сполуку обробляють з  $\text{H}_2\text{O}_2$ . При необхідності для обробки проміжної сполуки використовують також тіосульфат натрію. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в присутності розчинника, такого як органічний розчинник, такий як метанол ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), що утворює реакційну суміш. Після протікання реакції розчинник видаляють з реакційної суміші, і, при необхідності, залишок повторно розчиняють в іншому розчиннику, такому як інший органічний розчинник, такий як етилацетат. Для видалення небажаних сполук з реакційної суміші, при бажанні, реакційну суміш промивають основним розчином (наприклад, насиченим розчином гідрокарбонату натрію). Реакційну суміш сушать (наприклад, за допомогою сульфату натрію), якщо неї промивали основним розчином. Для одержання кінцевого продукту отриманий залишок очищують, наприклад, колонковою хроматографією.

S57 одержують з S26 і метилхлороксоацетату. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в присутності розчинника, такого як органічний розчинник, такий як хлористий метилен. При необхідності сприяння або прискорення реакції використовують основний каталізатор, такий як піридин. Реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, промивають основним розчином (наприклад, насиченим розчином гідрокарбонату натрію), кислим розчином (наприклад, HCl) і водою. Реакційну суміш сушать (наприклад, за допомогою сульфату натрію), якщо неї промивали основним розчином. У результаті хроматографії на силікагелі одержують S57.

S36 одержують з S57 реакцією з гідроксидом натрію. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в присутності розчинника, такого як органічний розчинник, такий як метанол. Розчинник видаляють з реакційної суміші, отриманої при змішуванні реагентів і розчинника, одержуючи в результаті залишок. Даний залишок повторно розчиняють у воді і промивають іншим органічним розчинником, таким як ефір, щоб видалити небажані гідрофобні сполуки. Водяну фазу від основних промивань підкисляють і екстрагують з її продукт органічним розчинником, таким як хлористий метилен. При необхідності використовують подальше очищення.

S38 одержують за аналогією з S36, за винятком того, що як подібну сполуку в синтезі використовують формули



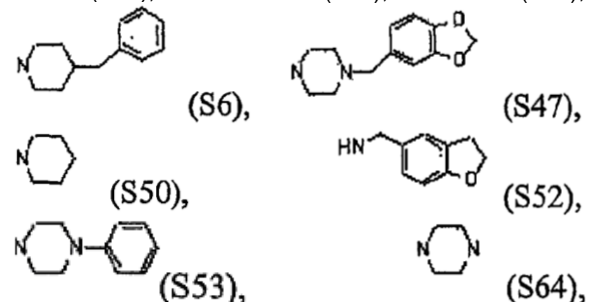
S44 одержують при обробці S36 тіонілхлоридом з утворенням сирого S36-Cl. Надлишок тіонілхлориду, при його наявності, видаляють з реакційної суміші. Після цього сирий S36-Cl розчиняють у розчиннику, такому як органічний розчинник, такий як хлористий метилен, і уводять у взаємодію з монозахисним (наприклад, моно-вос-захисним) цистаміном. При бажанні додають основний каталізатор, такий як піридин, і гасять реакційну суміш основним розчином (наприклад, насиченим розчином гідрокарбонату натрію). Реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів цистаміну і S36-Cl, очищують. Захисні групи (наприклад, Вос) знімають з використанням відповідного промивання або кислотою основою (наприклад, трифтороцтовою кислотою в органічному розчиннику у випадку захисної групи Вос). Після цього кінцевий продукт очищують, наприклад, методом хроматографії.

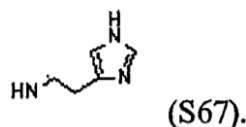
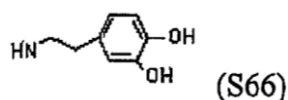
S57 і S59 одержують з S36-Cl, що уводять у взаємодію з метанолом (S57) або етиламином (S59).

S43 і S45 одержують з S36-цистаміну, що синтезують, як тут описано. S36-цистамін уводять у взаємодію з NHS активованим складним ефіром відповідної азидосполуки, одержуючи S43 і S45. Реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник.

S37 одержують з S26 реакцією з 4-нітрофенілхлорформіатом ( $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCOC}_2\text{H}_5$ ). Реакція протікає в розчиннику і, при бажанні, можна використовувати основний каталізатор, такий, як триетиламін. Для видалення небажаних гідрофільних сполук реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, промивають водою. Розчинник видаляють з реакційної суміші, одержуючи залишок, що очищують (наприклад, методом хроматографії), одержуючи S37.

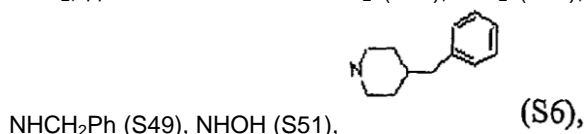
S6, S46-53, S66 і S67 одержують з S37 реакцією з аміном формули  $\text{RNH}_2$ , де NR є  $\text{NH}_2$  (S46),  $\text{NEt}_2$  (S48),  $\text{NHCH}_2\text{Ph}$  (S49),  $\text{NHOH}$  (S51),



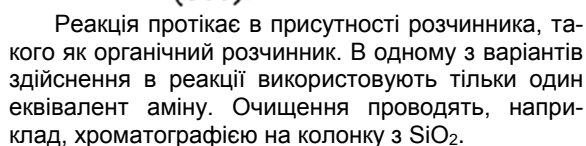
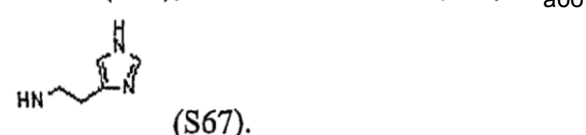
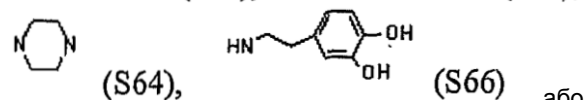
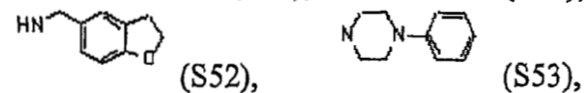
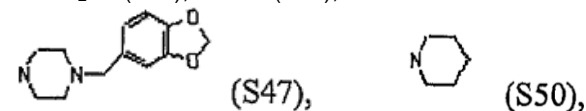


Реакція протікає в присутності розчинника, такого як органічний розчинник, такий як ДМФА. В одному з варіантів здійснення в реакції використовують тільки один еквівалент аміну. Очищення проводять, наприклад, хроматографією на колонку з  $\text{SiO}_2$ .

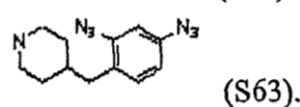
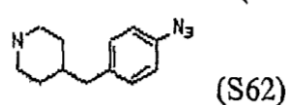
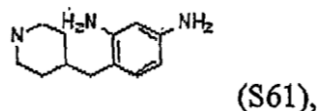
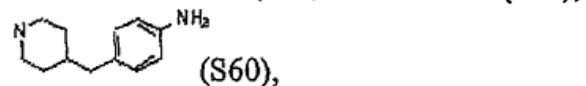
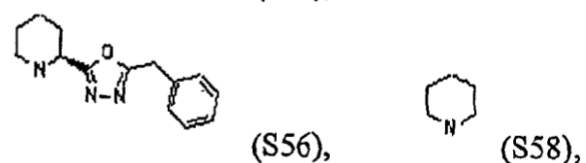
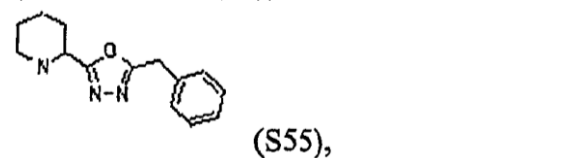
S6, S46-53, S64, S66 і S67 одержують також з S26 через S26-фосгенова проміжна сполука. S26-фосгенова проміжна сполука утвориться при взаємодії S26 із трифосгеном. Після цього S26-фосген вводять у реакцію з аміном формули  $\text{RNH}_2$ , де NR являє собою  $\text{NH}_2$  (S46),  $\text{NEt}_2$  (S48),



$\text{NHCH}_2\text{Ph}$  (S49),  $\text{NHOH}$  (S51),

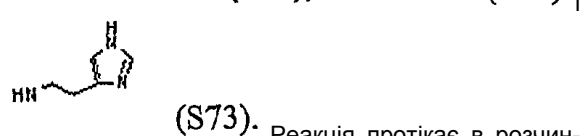
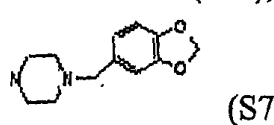
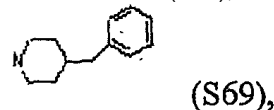


(S67).



Реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник, такий як хлороформ, утворити, таким чином, реакційну суміш. Розчинник видаляють з реакційної суміші, одержуючи залишок, що очищають, наприклад, колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи кінцевий продукт.

S69-75 одержують з S68 через S68-фосгенова проміжна сполука. S68 вводять у взаємодію з трифосгеном для одержання проміжної сполуки, що, у свою чергу, обробляють аміном  $\text{RNH}_2$ , де R являє собою  $\text{NH}_2$  (S70),  $\text{NEt}_2$  (S75),  $\text{NHOH}$  (S74),



(S73). Реакція протікає в розчиннику, такому, як органічний розчинник, такий як хлороформ, утворити, таким чином, реакційну суміш. Розчинник видаляють з реакційної суміші, одержуючи залишок, що очищають, наприклад, колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи кінцевий продукт.

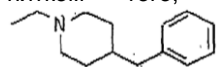
S76 одержують з S68 реакцією з метилхлорко-соацетатом. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в присутності розчинника, такого як органічний розчинник, такий як хлористий метилен. При необхідності сприяння або прискорення реакції використовують основний каталізатор, такий як піридин. Реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, промивають основним розчином (наприклад, насиченим розчином гідрокарбонату натрію), кислим розчином (наприклад,  $\text{HCl}$ ) і водою. У результаті очищення, такої як хроматографія на силікагелі, одержують S76.

S77 одержують з S76 реакцією з гідроксидом натрію. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в присутності розчинника, такого як органічний розчинник, такий, як метанол. Розчинник видаляють з реакційної суміші, отриманої при змішуванні реагентів і розчинника, одержуючи, у результаті залишок. Даний залишок повторно розчиняють у воді і промивають іншим органічним розчинником, таким як ефір, щоб видалити небажані гідрофобні сполуки. Водяну фазу від основ-

них промивань підкисляють і екстрагують з її продукт органічним розчинником, таким як хлористий метилен. При необхідності використовують подальше очищення.

S78-S81 одержують при обробці S77 тіонілхлоридом з утворенням сирого S77-Cl. Надлишок тіонілхлорида, при його наявності, видаляють з реакційної суміші. Після цього сирий S77-Cl розчиняють у розчиннику, такому як органічний розчинник, такий як хлористий метилен, і уводять у взаємодію з HX, де X являє собою NHEt (S78), NPh (S79), NH<sub>2</sub> (S80) і NHCH<sub>2</sub>-піридин (S81). Розчинник видаляють, а залишок очищають.

S82 одержують з S68. S68 уводять у взаємодію з CH<sub>2</sub>CHSO<sub>2</sub>Cl способом, аналогічним одержанню S3. Після цей продукт обробляють HNR<sub>1</sub>R<sub>5</sub> способом, аналогічним одержанню S1 і S2, за винятком того, що NR<sub>1</sub>R<sub>5</sub> являє собою



S83 одержують з S68. S68 уводять у взаємодію з RCOCl, де R являє собою

способом, аналогічним одержанню S7, S9 і S40.

S84 одержують з S68 реакцією з бензилбромідом. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник, такий, як хлористий метилен. При необхідності для каталізу реакції додають основний каталізатор, такий як триетиламін. Реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, очищають, одержуючи S84.

S85 одержують з S26. S26 уводять у взаємодію з ди-третбутилкарбонатом у розчиннику, наприклад, в органічному розчиннику типу хлористого метилена. При необхідності використовують також основний каталізатор, такий як триетиламін. Реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію, а водяний шар екстрагують органічним розчинником. Об'єднані органічні шари сушать і концентрують, одержуючи S85.

S86 одержують з S85 у розчиннику, наприклад, в органічному розчиннику. S85 обробляють BBR<sub>3</sub>, одержуючи реакційну суміш. При необхідності в реакції використовують основний каталізатор, такий як триетиламін. Реакційну суміш гасять (наприклад, у випадку триетиламіну, метанолом) і концентрують. У результаті очищення, наприклад, колонкової хроматографією, одержують S86.

S87 одержують реакцією S86 з ангідридом трифторметилсульфоніла. Реакцію проводять у розчиннику, такому як органічний розчинник. При необхідності в реакції використовують основний каталізатор, такий як триетиламін. У випадку триетиламіну реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, гасять водою, після чого водяний шар екстрагують відповідним органічним розчинником. При бажанні органічні шари сушать (наприклад, за допомогою сульфату магнію) і концентрують органічні шари. У результаті очищення органічних шарів одержують S87.

S88 одержують з S87 реакцією морфоліну, трис(добензилиденацетон)дипаладія(0), 2-

(дитретбутилфосфіно)дифенілу і фосфату калію. Реакційну суміш розбавляють розчинником, таким як хлористий або метилен іншим придатним органічним розчинником, і промивають водою. Водяний шар, отриманий при промиванні водою, екстрагують органічним розчинником, таким як хлористий метилен. Після цього органічні шари сушать (наприклад, за допомогою сульфату магнію) і концентрують. Залишок очищають, наприклад, флеш-хроматографією на силікагелі, одержуючи S88.

S89 одержують з S87 реакцією з бензолтіолом і i-PR<sub>5</sub>NEt у розчиннику, такому як CH<sub>3</sub>CN або іншому придатному органічному розчиннику. Після завершення реакції до реакційної суміші додають органічний розчинник, такий як етилацетат. При необхідності реакційну суміш промивають одним або більше кислотами (наприклад, HCl), основними (наприклад, NaOH) і водяними розчинами. Після висушування (наприклад, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) розчин концентрують. У результаті очищення, наприклад, хроматографією, одержують S89. В альтернативному способі S89 одержують у результаті кип'ятіння зі зворотним холодильником S87 з бензолтіолом у придатному органічному розчиннику, такому як діоксан, з каталізатором, таким як i-PR<sub>5</sub>NEt/Pd2(dba)<sub>3</sub>/xantphos.

S90 одержують з S87, уведеного у взаємодію з основою, фенілбороновою кислотою і каталізатором. В одному з варіантів здійснення підстава являє собою DO233, а каталізатор є (Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>). В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник, такий як діоксан. Реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, розбавляють розчинником (наприклад, хлористим метиленом) і промивають водою для видалення небажаних гідрофільних сполук. У результаті концентрування й очищення залишку одержують S90.

S92 одержують з S87 реакцією з ціанідом цинку. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник типу ДМФА. Крім того, для сприяння і прискорення реакції використовують каталізатор, такий як Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>. Реакційну суміш, отриману при змішуванні реагентів і розчинника, при необхідності, розбавляють водою і кислотним розчином і екстрагують органічним розчинником. Органічні екстракти потім промивають сольовим розчином, сушать, фільтрують і концентрують. Очищення залишку здійснюють, наприклад, колонковою хроматографією на силікагелі.

S94 одержують з S86 реакцією з оцтовим ангідридом. В одному з варіантів здійснення реакція протікає в розчиннику, такому як органічний розчинник типу хлористого метилена. При необхідності додають триетиламін або інший основний каталізатор. При бажанні використовують промивання водою з наступним сушінням (наприклад, за допомогою сульфату натрію). У результаті очищення залишку одержують S94.

S95 одержують з S94 реакцією з безводним AlCl<sub>3</sub> у розчиннику, при бажанні. Розчинник являє собою органічний розчинник типу бензолу. Реакційну суміш кип'ятять зі зворотним холодильником

і прохолоджують льодом. У результаті екстракції органічним розчинником, концентрування й очищення залишку одержують S95.

S96 одержують з S86 йодуванням. Наприклад, S86 додають до розчинника, такому як органічний розчинник типу метанолу, з надлишком Na і Chloramine-T. Реакційну суміш гасять розчином  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . У результаті концентрування й очищення залишку одержують S96 у вигляді суміші моноіодованого і диіодованого продуктів.

S97 одержують з S86 реакцією з азотною кислотою. S86 захищають (наприклад, за допомогою захисних груп Boc) і додають до концентрованої сірчаної кислоти. До реакційної суміші додають азотну кислоту. Реакційну суміш прохолоджують і нейтралізують (наприклад, за допомогою  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), щоб погасити реакційну суміш. Для виділення продукту використовують органічну екстракцію і наступне концентрування. Після очищення одержують S97.

S98 одержують гідруванням S97. Наприклад, S97 додають до розчину, такому як органічний розчинник типу метанолу. Газоподібний  $\text{H}_2$  барботують через даний розчин і додають каталізатор Pd/C або інший придатний каталізатор. Після фільтрування, щоб видалити каталізатор, і очищення одержують S97.

S100 одержують з S98. S98 розчиняють у кислому розчині, такому як водяний HCl. До цього розчину додають оаствор нітриту натрію, а потім  $\text{Na}_3$  у воді. Реакційну суміш екстрагують органічним розчинником. При необхідності даний екстракт промивають основним розчином (наприклад, насиченим розчином гідрокарбонату натрію) і водою. Органічні шари після промивання сушать, наприклад, за допомогою безводного сульфату натрію, і концентрують, одержуючи залишок. Цей залишок очищають, одержуючи S100. Для синтезу S99  $\text{Na}_3$  замінюють на  $\text{NaBF}_4$  аналогічним способом.

Кожний з S101, S102 і S10 можна одержати з S68.

S101 можна одержати з S68 у такий спосіб. Трифосген уводять у взаємодію з S68 у присутності розчинника (такого як органічний розчинник хлористий метилен,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) для одержання S68-фосгену. Крім того, для видалення кислоти, що утворюється в результаті реакції, неов'язково є присутнім або додається підстава. Можна використовувати будь-яку придатну підстава. Наприклад, можна використовувати органічні основи, такі, як органічні аміни типу триетиламіну, діізопропілетиламіну або піридину. Можна також використовувати неорганічні основи, такі як гідрокарбонат натрію. Потім, без необхідності в очищенні, реакційну суміш, що містить S68-фосген, обробляють 1-піперонілпіперазином. При необхідності реакційну суміш промивають одним або більше кислотами (наприклад, HCl), основними (NaOH) і водяними розчинами. Розчинники видаляють, наприклад, при зниженому тиску. Після цей продукт S101 можна очистити, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S102 можна одержати з S68 по тій же схемі, що і S101, за винятком того, що замість піперонілпіперазину використовують піридин.

S103 можна одержати з S68 по тій же схемі, що і S101, за винятком того, що замість піперонілпіперазину використовують N-Boc-1-піперазин. Крім того, для зняття захисної Boc-групи використовують трифтороцтову кислоту (TFA).

S104 можна одержати, уводячи S3 6 у взаємодію з перекисом водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) у присутності розчинника (такого як MeOH). Розчинники видаляють (наприклад, при зниженому тиску) і після цей продукт S104 можна очистити, наприклад, перекрис-талізацією.

S105 можна одержати з S68 у такий спосіб. S68 уводять у взаємодію з  $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{O})-\text{Cl}$  у присутності розчинника (такого як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) і, неов'язково, каталізатора (такого як піридин). Переважно,  $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{O})-\text{Cl}$  варто додавати по краплях. При необхідності реакційну суміш промивають одним або більше кислотами (наприклад, HCl), основними (NaOH) і водяними розчинами. Розчинники видаляють, а продукт можна піддати додатковому очищенню, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S107 можна одержати з S26 у такий спосіб. До розчину S26 у розчиннику (такому як MeOH) додають формальдегід ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) і ціаноборгідрид натрій ( $\text{NaBCNH}_3$ ) і залишають для взаємодії. Переважно, у реакційній суміші підтримують pH близько 4-5, наприклад, додаючи трохи краплі 1N HCl. Після цього розчинники видаляють, наприклад, при зниженому тиску. При необхідності залишок можна повторно розчинити в етилацетаті і промити одним або більше основним розчином (наприклад, NaOH) і водою. Розчинники можна видалити, а продукт можна піддати додатковому очищенню, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S108 можна одержати в такий спосіб. Суміш N-бензилоксикарбонилгліцину (Cbz-Gly), діізопропілкарбодііміду (DIC) і N-гідроксисукциніміду (NHS) уводять разом у взаємодію в розчиннику (такому як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) протягом придатного проміжку часу. Після цього до суміші додають S26 і залишають реакційну суміш для подальшої взаємодії. При необхідності реакційну суміш промивають одним або більше кислотами (наприклад, HCl), основними (NaOH) і водяними розчинами. Розчинники можна потім видалити, наприклад, випарюванням. Продукт можна піддати додатковому очищенню, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S109 можна одержати з S108 у такий спосіб. S108 у розчиннику (такому як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) уводять у взаємодію з  $\text{HBr}/\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ . Через відповідний проміжок часу реакційну суміш упарюють, наприклад, при зниженому тиску. Залишок розчиняють у придатному розчиннику, такому як MeOH, і обробляють пропіленоксидом. Розчинник можна видалити, наприклад, при зниженому тиску, одержуючи сирій S109. S100 можна піддати додатковому очищенню, наприклад, розчиняючи в кислому розчині (такому як HCl), промиваючи етилацетатом і упарюючи.

S110 можна одержати в такий спосіб. Суміш S26, метил 1-бромацетата і піридину уводять у

взаємодію в ДМФА протягом придатного проміжку часу. До даної суміші додають етилацетат і, при необхідності, реакційну суміш промивають основним розчином (наприклад,  $\text{NaHCO}_3$ ) або водою. Продукт S110, у вигляді олії, можна очистити, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S111 можна одержати в такий спосіб. До S110 у розчиннику (такому як MeOH) додають основу (таку як 1н NaOH) і залишають реакційну суміш для взаємодії протягом придатного проміжку часу. Потім розчинники видаляють, наприклад, при зниженому тиску, а залишок можна потім розчинити у водяному розчині, такому як вода. Водяну фазу можна промити етилацетатом і підкислити, наприклад, 1н HCl, до pH близько 4. Після цього розчинники видаляють, наприклад, при зниженому тиску, одержуючи сирий S111. NaCl можна видалити за допомогою спирту, такого як етанол, одержуючи S111 у вигляді твердої речовини.

S112 можна одержати в такий спосіб: до суміші S26 і піридину в розчиннику (такому як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) додають по краплях  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  при температурі порядку  $0^\circ\text{C}$  і залишають для взаємодії протягом придатного проміжку часу. Розчинники можна видалити, наприклад, при зниженому тиску. Залишок можна розчинити в придатному основному розчині, такому як NaOH. Після цього водяну фазу можна промити етилацетатом і підкислити (наприклад, 1н HCl) до pH близько 4. Водяну фазу можна знову екстрагувати етилацетатом і упарити етилацетатну фазу, наприклад, при зниженому тиску, одержуючи S112 у вигляді порошку.

S113 можна одержати в такий спосіб. S107 у етилацетате обробляють  $\text{CH}_3\text{I}$ . Суміш перемішують протягом придатного проміжку часу і виділяють продукт S113 фільтруванням у вигляді білої твердої речовини.

S114 можна одержати в такий спосіб. Сполука S26 у розчиннику, такому як органічний розчинник  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , в ідеалі проохолоджують до  $0^\circ\text{C}$ . До даного розчину додають трифосген. Необов'язково для видалення кислоти, що утвориться в ході реакції, є присутнім або додається підстава. Можна використовувати будь-як придатна підстава. Наприклад, можна використовувати органічні основи, такі як органічні аміни типу триетиламін, діізопропілетиламін або піридин. Можна також використовувати неорганічні основи, такі як гідрокарбонат натрію. Реакційну суміш залишають для взаємодії (в ідеалі при  $0^\circ\text{C}$ ) протягом придатного проміжку часу (наприклад, близько 1 години). Потім, без необхідності в очищенні, отриманий S68-фосген можна обробити N-Вос 1-піперазином, знову в ідеалі при  $0^\circ\text{C}$ , і залишають реакційну суміш для взаємодії (в ідеалі при  $0^\circ\text{C}$ ) протягом придатного проміжку часу (наприклад, близько 1 години). При необхідності реакційну суміш промивають одним або більше кислотами (наприклад, HCl), основними (NaOH) і водяними розчинами. Розчинники видаляють, а продукт можна піддати додатковому очищенню, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S115 можна одержати в такий спосіб. Суміш S114 і реагенту Лоусона в толуолі перемішують при температурі порядку  $90^\circ\text{C}$  протягом декількох

годин. Суміш проохолоджують до кімнатної температури і промивають придатним основою, таким як насичений  $\text{NaHCO}_3$ . Продукт S115 можна очистити, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S116 можна одержати в такий спосіб. Суміш S115 і трифтороцтової кислоти (TFA) у придатному розчиннику (такому як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) перемішують приблизно при кімнатній температурі протягом придатного проміжку часу (наприклад, близько 2 годин). При випарюванні розчинників, наприклад, при зниженому тиску, одержують S116.

S117 (S117) можна одержати в такий спосіб. Розчин S057 у придатному розчиннику (такому як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) проохолоджують до температури приблизно  $-78^\circ\text{C}$ . До нього додають 1М BBR<sub>3</sub> у придатному розчиннику (такому як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) і перемішують дану суміш (усе ще приблизно при  $-78^\circ\text{C}$ ) протягом придатного проміжку часу (наприклад, близько 3 годин), а потім нагрівають до кімнатної температури. При необхідності суміш промивають кислотою (такий як 1н HCl) і/або  $\text{H}_2\text{O}$ . Після видалення розчинників продукт S117 можна очистити, наприклад, колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ .

S118 можна одержати в такий спосіб. S26 у придатному розчиннику (такому як органічний розчинник хлористий метилен ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )) обробляють BODIPY TM-X, SE (Molecular Probes Inc.) протягом придатного проміжку часу (наприклад, близько 3 годин). При необхідності суміш промивають кислотою (такий як 0,01н HCl) і/або основою (таким як  $\text{NaHCO}_3$ ). Після видалення розчинників, наприклад, при зниженому тиску, одержують продукт S118.

S119 можна одержати в такий спосіб. Суміш S107,  $\text{H}_2\text{O}_2$  (наприклад, приблизно 50%-ний) і спирту (наприклад, MeOH) перемішують приблизно при кімнатній температурі протягом придатного проміжку часу (звичайно близько 2 годин). При бажанні для моніторингу зникнення S107 і утворення продукту S119 можна використовувати мас-спектрометрію. Розчинники можна видалити, наприклад, при зниженому тиску, одержуючи S119.

S120 можна одержати в такий спосіб. Суміш S26, бензилброміда і  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  у розчиннику (такому як ДМФА) вводять у взаємодію протягом придатного проміжку часу, переважно, протягом ночі. До реакційної суміші додають етилацетат, а потім, при необхідності, реакційну суміш промивають придатним розчинником, наприклад,  $\text{H}_2\text{O}$  ( $4 \times 10$  мол). Органічну фазу можна сконцентрувати, наприклад, при зниженому тиску, а залишок можна очистити, наприклад, колонковою хроматографією, одержуючи S121.

S121 можна синтезувати аналогічно S120, але при використанні 4-ОН-бензилброміда замість бензилброміда.

S122 можна одержати в такий спосіб. До холодного розчину сполуки S26 у розчиннику, такому як органічний розчинник  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , додають DIEA, а потім додають ацетоксиацетилхлорид. Реакційну суміш залишають для взаємодії протягом придат-

ного проміжку часу, а потім розбавляють (наприклад, 1,0 М водним розчином HCl) і екстрагують (наприклад,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Об'єднані органічні шари можна, при необхідності, промити (наприклад,  $\text{H}_2\text{O}$ , насиченим розчином солі), висушити (наприклад, над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), профільтрувати і висушити (наприклад, розпарюванням). Продукт можна додатково очистити, наприклад, хроматографією на колонку із силікагелем, і можна елюювати із градієнтом підвищення полярності від 0 до 50% петролейного ефіру в етилацетаті. Придатні фракції можна потім об'єднати, одержуючи бажаний продукт.

S123 можна одержати в такий спосіб. До розчину сполуки S122 у розчиннику (такому як MeOH) і ТГФ, переважно, при кімнатній температурі, додають LiOH. Реакційну суміш залишають для взаємодії протягом придатного проміжку часу при придатній температурі (в ідеалі приблизно при кімнатній температурі), а потім можна розбавити (наприклад, 1,0 М водним розчином HCl) і екстрагувати (наприклад,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Об'єднані органічні шари можна промити (наприклад,  $\text{H}_2\text{O}$ , насиченим розчином солі), висушити (наприклад, над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), профільтрувати і висушити (наприклад, розпарюванням). Сирий продукт можна очистити, наприклад, хроматографією на колонку із силікагелем, елюювати, наприклад, із градієнтом підвищення полярності від 0 до 70% петролейного ефіру в етилацетаті. Придатні фракції можна потім об'єднати, одержуючи бажаний продукт S123.

Слід зазначити, що сполуки, використовувані як вихідні або сполуки одержувані як проміжні сполуки в синтезі сполук даного винаходу, самі по собі можуть мати структури, охоплювані формулою винаходу і/або можуть бути активними агентами, застосовними в способах і композиціях даного винаходу. Такі вихідні сполуки і проміжні сполуки можуть виявитися корисними, крім іншого, для лікування або попередження різних порушень і захворювань, зв'язаних з RyR рецепторами, таких як м'язові і серцеві порушення, або лікування запобігання витоку в RyR2 рецепторі в або суб'єкта або модулюванні зв'язуванні RyR і FKBP у суб'єкта. В об'єм даного винаходу входять будь-які описані тут вихідні або сполуки проміжні сполуки, що мають структури, охоплювані формулою I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m і/або які застосовні як активних агентів у способах і композиціях даного винаходу. Наприклад, в одному з варіантів здійснення сполука S68, використовувана як вихідну сполуку в синтезі сполук S69-S75, може бути використано, крім іншого, для лікування або попередження різних порушень і захворювань, зв'язаних з RyR рецепторами, або лікування запобігання витоку в RyR2 рецепторі в або суб'єкта або модулюванні зв'язуванні RyR і FKBP у суб'єкта.

В іншому варіанті здійснення сполука S26, використовувана в синтезі багатьох описаних тут сполук (включаючи S3, S4, S5, S7, S9, S11, S12, S13, S14 і інших сполук), може бути використано, крім іншого, для лікування або попередження різних порушень і захворювань, зв'язаних з RyR рецепторами, або лікування запобігання витоку в RyR2 рецепторі в або суб'єкта або модулюванні зв'язуванні RyR і FKBP у суб'єкта.

Аналогічним чином, в іншому варіанті здійснення сполука S25 (дивитися патентну заявку США 10/809089) може бути також використано, крім іншого, для лікування або попередження різних порушень і захворювань, зв'язаних з RyR рецепторами, або лікування запобігання витоку в RyR2 рецепторі в або суб'єкта або модулюванні зв'язуванні RyR і FKBP у суб'єкта.

Сполуки даного винаходу одержують у різних формах, таких як солі, гідрати, сольвати, комплекси, проліки, і винахід включає усі варіанти форм даних сполук.

Використаний тут термін «сполука(ія) винаходу» означає сполуку формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m і їхньої солі, гідрати, проліки і сольвати.

«Фармацевтична композиція» належить до суміші одного або більш описаних тут або сполук їх фармацевтично прийнятних солей, або гідратів проліків з іншими хімічними компонентами, такими як фармацевтично прийнятні носії і ексципієнти. Призначенням фармацевтичної композиції є полегшення введення сполуки в організм.

«Проліківо» належить до агента, що перетворюється у вихідний лікарський засіб *in vivo*. Проліки часто застосовуються, оскільки їх уводити простіше, ніж вихідний лікарський засіб. Вони біодоступні, наприклад, шляхом орального введення, тоді як вихідний лікарський засіб - немає. Крім того, проліківо має більш гарну розчинність у фармацевтичних композиціях у порівнянні з вихідним лікарським засобом. Наприклад, у даній сполуці мають захищені групи, що отщепляються при гідролізі під дією рідин тіла, наприклад, у кровотоці, вивільняючи, таким чином, активну сполуку, або чи окисляються відновлюються в рідинах тіла, вивільняючи активну сполуку.

Сполука даного винаходу можна також увести до складу препарату у вигляді фармацевтично прийнятної солі, наприклад, приєднання кислоти і її комплексів. Одержання подібних солей може полегшити фармакологічне використання за рахунок зміни фізичних характеристик агента, не заважаючи її фізіологічному ефекту. Приклади прийнятних змін у фізичних властивостях включають, але не обмежуються, зниження температури плавлення для полегшення введення через слизову оболонку і підвищення розчинності для полегшення введення лікарського засобу в більш високих концентраціях.

Термін «фармацевтично прийнятна сіль» означає сіль приєднання кислоти, що застосовна або сумісна з лікуванням або пацієнта суб'єкта, такого як або пацієнт тварина, таке як собака.

Використовуваний тут термін «фармацевтично прийнятна сіль приєднання кислоти» означає будь-яку нетоксичну органічну або неорганічну сіль будь-якої основної сполуки, представленого формулою I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m або кожного з їхніх проміжних сполук. Приклади неорганічних кислот, що утворюють придатні солі приєднання кислоти, включають хлористоводородну, бромистоводородну, сірчану і фосфорну кислоти, а також солі металів, такі як моногідроортофосфат натрію і гідросульфат ка-

лію. Приклади органічних кислот, що утворюють придатні солі приєднання кислоти, включають моно-, ди- і трикарбонові кислоти, такі як гліколевая, молочна, пировиноградная, малоновая, бурштинова, глутаровая, фумаровая, яблучна, винна, лимонна, аскорбінова, малеїнова, бензойна, фенілоцтова, корична і саліцилова кислоти, а також сульфокислоти, такі як п-толуолсульфоновая і метансульфоновая кислоти. Можуть утворюватися солі або моно-, або ди-кислот, і подібні солі існують або в гідратованій, сольватованій, або власне кажучи безводній формі. У цілому, солі приєднання кислот сполук формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l, і I-m більш розчинні у воді і різних гідрофільних органічних розчинниках і, як правило, мають більш високі температури плавлення в порівнянні з формами своїх вільних основ. Вибір відповідної солі відомий фахівцю в даній галузі техніки. Інші не-фармацевтично прийнятні солі, наприклад, оксалати, використовують, приміром, для виділення сполук винаходу з метою лабораторного або використання для наступного перетворення у фармацевтично прийнятну сіль приєднання кислоти.

Сполуки даного винаходу утворюють або гідрати сольвати, що включені в обсяг формули винаходу. У випадку, коли сполуки даного винаходу існують у вигляді региоізомерів, конфігураційних ізомерів, конформерів або діастереомерних форм, усі подібні форми і їхні різні суміші включені в обсяг формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l, і I-m. При бажанні за допомогою відомих методів поділу й очищення можна виділити індивідуальні ізомери. Наприклад, якщо сполука даного винаходу є рацематом, дана рацемат можна розділити на (S)-сполука і (R)-сполука методом оптичного поділу. Індивідуальні оптичні ізомери і їхньої суміші включені в обсяг формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l, і I-m.

Використаний тут термін «сольват» означає сполука формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m або його фармацевтично прийнятну сіль, у кристалічні ґрати якого входять молекули розчинника. Придатний розчинник є фізіологічно стерпним при дозах, що вводяться. Прикладами придатних розчинників є етанол, вода і так далі. Якщо розчинником є вода, то молекула називається «гідрат».

Використовуваний тут термін «ефективна кількість», «достатня кількість» або «терапевтично ефективна кількість» агента являє собою кількість, який досить для досягнення позитивних або бажаних результатів і, у якості такого, «ефективна кількість» залежить від контексту, у якому його використовують. Реакція є превентивною і/або терапевтичною. Термін «ефективна кількість» також включає така кількість сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l або I-m, що є «терапевтично ефективним» і котре дозволяє або уникнути істотно послабляє небажані побічні дії.

Як використано тут і розуміється в даній галузі техніки, «лікування» являє собою підхід до одержання позитивних або бажаних результатів, включаючи клінічні результати. Позитивні або бажані результати можуть включати, але не обмежувати-

ся, або зм'якшення поліпшення одного або більш або симптомів станів, зниження ступеня захворювання, стабілізацію (тобто відсутність погіршення) стану захворювання, запобігання поширення захворювання, або припинення уповільнення прогресування захворювання, або поліпшення тимчасове полегшення стану захворювання і ремісію (часткову або загальну), обумовлені або не обумовлені. «Лікування» може також означати велику тривалість життя в порівнянні з очікуваною тривалістю життя під час відсутності лікування.

Використовувані тут терміни «тварина», «суб'єкт» і «пацієнт» включають усіх членів тваринного світу, включаючи, але не обмежуючи, ссавців, тварин (наприклад, кішок, собак, коней і так далі), і людей.

Крім того, у даному винаході запропонована композиція, що містить мічені радіоактивними ізотопами сполуки формули I, I-a, I-b, I-c, I-d, I-e, I-f, I-g, I-h, I-i, I-j, I-k, I-l і I-m. Уведення мітки проводять за допомогою однієї з безлічі різних радіоактивних міток, відомих у даній галузі техніки. Радіоактивна мітка в даному винаході являє собою, наприклад, радіоактивний ізотоп. Даний радіоактивний ізотоп є будь-як ізотопом, що випускає детектируемое радіовипромінювання, включаючи, без обмеження,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$  або  $^{14}\text{C}$ . Радіоактивність, випромінювану даним радіоактивним ізотопом, можна детектувати методами, що добре відомі в даній галузі техніки. Наприклад, гамма-випромінювання радіоактивного ізотопу можна детектувати за допомогою методу відображення гамма-випромінювання, зокрема, сцинтиляційного відображення.

Як приклад, мічені радіоактивними ізотопами сполуки винаходу одержують у такий спосіб. Сполука винаходу можна деметилувати по фенільному кільцю за допомогою BBR3. Потім отримана фенольна сполука метилують повторно міченим радіоактивним ізотопом метилуючим агентом (таким як  $^3\text{H}$ -диметилсульфат) у присутності основ (такого як Na), одержуючи  $^3\text{H}$ -мічені сполуки.

Крім того, у даному винаході запропоновані сполуки, який можна класифікувати як 1,4-бензотіазепіни, як приклад і без обмеження, S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S9, S11, S12, S13, S14, S19, S20, S22, S23, S25, S26, S36, S37, S38, S40, S43, S44, S45, S46, S47, S48, S49, S50, S51, S52, S53, S54, S55, S56, S57, S58, S59, S60, S61, S62, S63, S64, S66, S67, S68, S69, S70, S71, S72, S73, S74, S75, S76, S77, S78, S79, S80, S81, S82, S83, S84, S85, S86, S87, S88, S89, S90, S91, S92, S93, S94, S95, S96, S97, S98, S99, S100, S101, S102, S103, S104, S105, S107, S108, S109, S110, S111, S112, S113, S114, S115, S116, S117, S118, S119, S120, S121, S122 і S123.

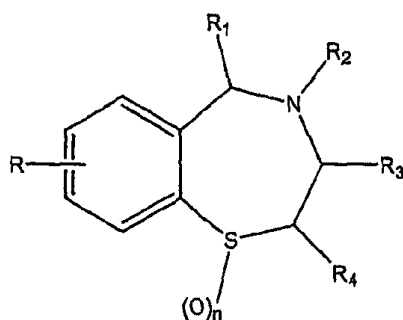
Дані і будь-які інші сполуки даного винаходу поєднують з фармацевтично прийнятним носієм, як описано вище, одержуючи фармацевтичну композицію.

Відповідно до способу даного винаходу, зниження рівня  $\text{RyR}$ -пов'язаного FKBP у суб'єкта або обмежується запобігається за рахунок зниження рівня фосфорильованого  $\text{RyR}$  у суб'єкта. В одному з варіантів здійснення кількість агента, ефективно для обмеження або запобігання зниження рівня



RyR2-пов'язаного FKBP12.6 у суб'єкта, являє собою кількість агента, яка ефективна для лікування або попередження серцевої недостатності, передсердної фібриляції і/або викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії в суб'єкта. В іншому варіанті здійснення кількість агента, ефективна для обмеження або запобігання зниження рівня RyR2 пов'язаного FKBP12.6 у суб'єкта, являє собою кількість агента, яка ефективна для попередження викликані фізичними навантаженнями раптової кардіогенної смерті суб'єкта.

У світлі викладеного вище, у даному винаході запропонований також спосіб або лікування попередження викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії в суб'єкта, що включає введення даному суб'єкту описаного тут 1,4-бензотіазепінового сполуки в кількості, яка ефективна для лікування або попередження викликані фізичними навантаженнями серцевої аритмії в суб'єкта. Аналогічним чином, у даному винаході запропонований спосіб або лікування попередження викликані фізичними навантаженнями раптової зупинки серця в суб'єкта, що включає введення даному суб'єкту описаного тут 1,4-бензотіазепінового сполуки в кількості, яка ефективна для лікування або попередження передсердної фібриляції або серцевої недостатності в суб'єкта, що включає введення даному суб'єкту описаного тут сполуки в кількості, яка ефективна для лікування або попередження передсердної фібриляції або серцевої недостатності в суб'єкта. У кожному з даних способів сполуку вибирають із групи сполук, що включає сполуку формули:



у якій

n дорівнює 0, 1 або 2;

R знаходиться в одному або більш положеннях бензольного кільця;

кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщений одним або біль-

ше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>1</sub> вибирають із групи, яка включає H, оксо, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл; де кожен алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає H, -C(=O)R<sub>5</sub>, -C(=S)R<sub>6</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, -POR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>10</sub>, алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероцикліл; де кожен алкіл, арил, гетероарил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл і гетероцикліл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>3</sub> вибирають із групи, яка включає H, CO<sub>2</sub>Y, CONY, ацил, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл; де кожен ацил, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл; і де Y вибирають із групи, яка включає H, алкіл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл;

R<sub>4</sub> вибирають із групи, яка включає H, алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл; де кожен алкіл, алкеніл, арил, циклоалкіл і гетероцикліл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>16</sub>, NHNHR<sub>16</sub>, NHOH, -OR<sub>15</sub>, CONH<sub>2</sub>NHR<sub>16</sub>, CO<sub>2</sub>R<sub>15</sub>, CONR<sub>16</sub>, CH<sub>2</sub>X, ацил, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>6</sub> вибирають із групи, яка включає -OR<sub>15</sub>, NHNHR<sub>16</sub>, NHOH, -NR<sub>16</sub>, CH<sub>2</sub>X, ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>7</sub> вибирають із групи, яка включає -OR<sub>15</sub>, -NR<sub>16</sub>, NHNHR<sub>16</sub>, NHOH, CH<sub>2</sub>X, алкіл, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен алкіл, арил, циклоалкіл, циклоал-



кілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>8</sub> і R<sub>9</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає OH, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл;

R<sub>10</sub> вибирають із групи, яка включає NH<sub>2</sub>, OH, -SO<sub>2</sub>R<sub>11</sub>, -NHSO<sub>2</sub>R<sub>11</sub>, C=O(R<sub>12</sub>), NHOO(R<sub>12</sub>), -OC=O(R<sub>12</sub>) і -POR<sub>13</sub>R<sub>14</sub>;

R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> і R<sub>14</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, OH, NH<sub>2</sub>, NHHN<sub>2</sub>, NHOH, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, -N-, -O-, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, аміно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл і гідроксил;

X вибирають із групи, яка включає галоген, -CN, CO<sub>2</sub>R<sub>15</sub>, CONR<sub>16</sub>, -NR<sub>16</sub>, -OR<sub>15</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub> і -POR<sub>8</sub>R<sub>9</sub>; і

R<sub>15</sub> і R<sub>16</sub> незалежно вибирають із групи, яка включає H, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, -N-, -O-, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, аміно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл і гідроксил, і де кожен заміщений ацильний, алкенільний, алкоксильний, алкільний, алкіламіно, арильний, циклоалкільний, циклоалкілалкільний, гетероциклільний і гетероцикліалкільний радикал сам може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, -N-, -O-, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкеніл, алкоксил, алкіл, алкіламіно, аміно, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл і гідроксид;

і його солі, гідрати, сольвати, комплекси і проліки.

Приклади таких сполук включають, без обмеження, S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S9, S11, S12, S13, S14, S19, S20, S22, S23, S25, S26, S36, S37, S38, S40, S43, S44, S45, S46, S47, S48, S49, S50, S51, S52, S53, S54, S55, S56, S57, S58, S59, S60,

S61, S62, S63, S64, S66, S67, S68, S69, S70, S71, S72, S73, S74, S75, S76, S77, S78, S79, S80, S81, S82, S83, S84, S85, S86, S87, S88, S89, S90, S91, S92, S93, S94, S95, S96, S97, S98, S99, S100, S101, S102, S103, S104, S105, S107, S108, S109, S110, S111, S112, S113, S114, S115, S116, S117, S118, S119, S120, S121, S122 і S123.

В одному з варіантів здійснення даного винаходу, якщо R<sub>5</sub> є C=O(R<sub>5</sub>) або SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, то R знаходиться в положеннях 2, 3 або 5 бензольного кільця.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу, якщо R<sub>5</sub> є C=O(R<sub>5</sub>) або SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, то кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, ацил, алкіл, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу, якщо R<sub>5</sub> є C=O(R<sub>5</sub>) або SO<sub>2</sub>R<sub>7</sub>, то маються щонайменше дві R групи, пов'язані з бензольним кільцем. Крім того, маються щонайменше дві R групи, пов'язані з бензольним кільцем, і обидві R групи знаходяться в положеннях 2, 3 або 5 бензольного кільця. І, крім того, кожен R незалежно вибирають із групи, яка включає H, галоген, -OH, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -CN, -N<sub>3</sub>, -SO<sub>3</sub>H, ацил, алкіл, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно; де кожен ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, циклоалкіл, гетероцикліл, гетероцикліалкіл, алкеніл, (гетеро-)арил, (гетеро-)арилтіо і (гетеро-)ариламіно може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, -SH, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл.

В іншому варіанті здійснення даного винаходу, якщо R<sub>5</sub> є C=O(R<sub>5</sub>), то R<sub>5</sub> вибирають із групи, яка включає -NR<sub>16</sub>, NHHNR<sub>16</sub>, NHOH, -OR<sub>15</sub>, CONH<sub>2</sub>NHR<sub>16</sub>, CONR<sub>16</sub>, CH<sub>2</sub>X, ацил, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл; де кожен ацил, арил, циклоалкіл, циклоалкілалкіл, гетероцикліл і гетероцикліалкіл може бути заміщений одним або більше радикалами, незалежно вибраними з групи, яка включає галоген, N, O, -S-, -CN, -N<sub>3</sub>, нітро, оксо, ацил, алкіл, алкоксил, алкіламіно, алкеніл, арил, (гетеро-)циклоалкіл і (гетеро-)цикліл.

Підтвердження ефективності

Як показано на Фіг. 1, у варіантах здійснення A, B, C і D, S36 більш ефективний для підвищення зв'язування FKBP12.6 і RyR2, ніж JT-519, і не блокує Ca<sup>2+</sup> канал L-типу (ICa, L) або HERG K<sup>+</sup> канал (IKr). У варіанті здійснення A PKA фосфорильований RyR2 одержують у такий спосіб: препарати мембрани серця SR (5 мкл, 50 мкг) додають до

загального обсягу 100 мкм кіназного буфера (8 mM  $MgCl_2$ , 10 mM EGTA, 50 mM Tris-PIPES, pH 6,8), що містить 100 мкм  $MgATP$  і 40 одиниць PKA, і інкубують при кімнатній температурі. Зразки центрифугують при 95000 g протягом 10 хв і тричі промивають гранули 0,2 мол імідазольного буфера. Отримані гранули поєднують і повторно суспендують у імідазольному буфері (кінцева концентрація 10 мкг/мкл). Для перевірки ефективності повторного зв'язування JTV-519 з FKBP12.6 PKA фосфорильованийну серцеву SR (50 мг) інкубують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі з тестуємими сполуками і 250 нм FKBP12.6 у 10 mM імідазольном буфері, pH 7,0. Після цього зразки центрифугують при 100000 g протягом 10 минут і тричі промивають гранули імідазольним буфером. Після промивання білки піддають гранулометричному фракціонуванню на 15% PAGE. Одержують імуноблоти з використанням анти-FKBP антитіла (розведення 1:3000). Кількість повторного зв'язування визначають денситометрією вестерн-блотів і порівнюють його з кількістю FKBP, пов'язаного з RyR у нефосфорильованій SR. EC<sub>50</sub> для сполук визначають, одержуючи дані по зв'язуванню FKBP з використанням сполук у концентраціях, що змінюються в інтервалі 0,5-1000 нМ. У варіанті здійснення В реєструють струми по  $Ca^{2+}$  каналам L-типу у виділених кардіоміоцитах миші при використанні умов реєстрації патч-кламп методу на цілій клітині з  $Ba^{2+}$  як носія заряду. Позаклітинний розчин містить (у мМ): N-метил-D-глюкзамін, 125;  $BaCl_2$ , 20; CsCl, 5;  $MgCl_2$ , 1; HEPES, 10; глюкоза, 5; pH 7,4 (HCl). Внутрішньоклітинний розчин містить (у мМ): CsCl, 60;  $CaCl_2$ , 1; EGTA, 11;  $MgCl_2$ , 1; ДО2АТФ, 5; HEPES, 10; аспарагінова кислота, 50; pH 7,4 (CsOH). У даних умовах очікують, що обмірюваний струм був перенесений  $Ba^{2+}$ , головним чином, по кальцієвих каналах L-типу, що називається  $ICa_L$ . Лікарські препарати застосовували за допомогою місцевого розчинного перетворювача, і вони досягали клітинної мембрани протягом 1 с. Вплив ніфедипіна і S36 визначали з кроком кламп-потенціала в 20 мс до +10 або +20 мВ (максимум вольтамперного співвідношення для кожної окремої клітини) від значень фіксуючого напруги від -80 мВ або -40 мВ. У варіанті здійснення С вимірюють і представляють потенціал-залежність  $Ca^{2+}$  струму L-типу, блокованого JTV-519 (1 мкМ) і S36 (1 мкМ).

На Фіг. 2 у варіантах здійснення А, В, С і D показано, що S36 попереджає викликану фізичними навантаженнями раптову кардіогенну смерть при більш низьких рівнях у плазмі в порівнянні з JTV-519. У варіанті здійснення А показані репрезентативні ECG необробленої FKBP12.6<sup>+/+</sup> миші і JTV519-оброблених FKBP12.6<sup>+/+</sup> і FKBP12.6<sup>-/-</sup> мишей. Мишей обробляли 0,5 мг JTV519/кг маси тіла в годину протягом 7 днів за допомогою імплантованого осмотичного міні-насоса. JTV-519 не впливає на серцевий ритм у стані або спокою на інші ECG параметри, такі як серцевий ритм (HR). У варіанті здійснення В показана стійка поліморфна шлуночкова тахікардія, регистрируемая за допомогою телеметрії на необробленої FKBP12.6<sup>+/+</sup> миші (верхня траєкторія), підданої фізичному тес-

туванню, відразу після якого робили ін'єкцію 0,5 мг епінефрину на кілограм маси тіла. Репрезентативні телеметричні дані ECG JTV519-обробленої FKBP12.6<sup>+/+</sup> миші по аналогічному протоколу показані на нижній траєкторії. У варіанті здійснення С показана кількість мишей із серцевою недостатністю (ліворуч), стійкою VTs (>10 скорочень, середина), і нестійкою VTs (від 3 до 10 аритмогенних скорочень, праворуч) в експериментальних групах мишей, підданих фізичному тестуванню й ін'єкції 0,5 мг/кг епінефрину. У варіанті здійснення D представлена залежність фармакологічних ефектів від дози JTV-519 і S36. При рівнях у плазмі 1 мкМ JTV519 попереджають серцеву аритмію і раптову кардіогенну смерть у FKBP12.6<sup>+/+</sup>.

Як показано на Фіг. 3, гусал попереджає розвиток гострої серцевої недостатності після інфаркту міокарда. Оброблених плацебо або оброблених гусал (концентрації в плазмі 100 нм або 200 нм) мишей піддавали тривалому лігуванню лівої передньої спадної коронарної артерії, що приводили до інфаркту міокарда. Гусал істотно поліпшує фракційне укорочення, що оцінювали за допомогою ехокардіографії в М-режимі через 2 тижні після інфаркту міокарда, у порівнянні з плацебо.

Як показано на Фіг. 4, S36 поліпшує серцеву функцію при хронічній серцевій недостатності після інфаркту міокарда. Мишей дикого типу піддавали тривалому лігуванню лівої передньої спадної коронарної артерії, що приводило до інфаркту міокарда. Через сім днів після інфаркту міокарда мишей обробляли S36 (концентрація в плазмі 200 нм) або плацебо. Співвідношення маси серця і маси тіла (HW/BW) і кількісний аналіз кривих тиско-об'єм (dP/dt, зниження максимальної похідної зміни систолічного тиску згодом) показують зворотну корекцію і поліпшення скорочуваності серця для мишей, оброблених S36 у порівнянні з плацебо.

Фіг. 5 являє собою сумарний графік значень EC<sub>50</sub> для JTV-519 і описаних тут сполук S1-67. Описаний вище аналіз на повторне зв'язування JKBP12.6 використовували для визначення кількості FKBP12.6, що зв'язується і PKA-фосфорильованим RyR2 при різних концентраціях (0,5-1000 нм) представлених сполук. Значення EC<sub>50</sub> розраховували методом апроксимації кривої по Міхаелісу-Ментену.

На Фіг. 6 у варіантах здійснення А, В і С показано, що гусал нормалізує функціонування і структуру CPVT-пов'язаного RyR2-P2328S каналу. У варіанті здійснення А представлені репрезентативні відстеження струму одиничних каналів нефосфорильованого RyR2-P2128S і PKA-фосфорильованого RyR2-WT, оброблених гусал, що не зробило впливу JTV-519 на базисне функціонування каналу. Однак, як показано у варіації здійснення В, для PKA-фосфорильованого RyR2-P2328S гусал нормалізує закритий стан одиничного каналу для рівнів, що наближаються до рівнів, що спостерігається у варіанті здійснення А, знижуючи імовірність відкриття від 14,4% до 0,3% після введення 0,1 мкмоль/л гусал. На вставках у варіанті здійснення А і В показані відкриття каналів >1 па при більш високому дозволі. У варіанті здійснення С представлений імуноблот-аналіз кальстабин3

зв'язування RyR2-P212KS у присутності або за відсутності PKA і 0,1 мкмол/л гусал, як зазначено. RyR2-P2328S піддають імунному осадженню, а *in vivo* PKA фосфорилували, як описано вище.

Як показано на Фіг. 7, у варіантах здійснення А і В, обробка JTV-519 знижує PKA фосфорилування RyR2 для мишей із серцевою недостатністю. Еквівалентні кількості RyR2 піддавали імунному осадженню антитілом до RyR2 (верхній блот). На репрезентативних імуноблотах (варіант здійснення А) і гістограмах (варіант здійснення В) показана кількість PKA фосфорильованих RyR2 по Ser-2808, зв'язаних з RyR2 для мишей дикого типу і кальстабин-2(FKBP12.6/-) мишей. Обробка JTV-519 (0,5 мг/кг/год) протягом 28 днів після інфаркту міокарда приводить до зниження PKA-фосфорилування RyR2, імовірно, унаслідок зворотної серцевої корекції, для дикого типу, але не для кальстабин-2(FKBP12.6/-) мишей.

Як показано на Фіг. 8, у варіантах здійснення А і В, миші, у яких серцеві RyR2 не можуть бути фосфорильовані PKA (з нокаутуванням RyR2-P2808A миші), мають поліпшену функцію серцевої діяльності після інфаркту міокарда. У варіанті здійснення А приведений кількісний аналіз ехокардіограм у М-режимі, на яких показана поліпшена фракція викиду з нокаутуванням RyR2-P2808A мишей у порівнянні з мишами дикого типу через 28 днів після накладення постійної лігатури на коронарну артерію. У варіантах здійснення В і С приведений кількісний аналіз кривої тиск-об'єм (варіант здійснення В), що демонструє поліпшену серцеву скорочуваність і знижене розширення серця (варіант здійснення С) з нокаутуванням RyR2-P2808A мишей у порівнянні з мишами дикою типу після інфаркту міокарда.

На Фіг. 9, у варіантах здійснення А, В, С і D показаний вплив JTV-519 на афінність кальстабину2 до RyR2 у кальстабин2 (FKBP12.6+/-) мишей з гаплонедостатністю після фізичних навантажень. Середня імовірність того, що RyR2 канали відкриваються кальстабин2 +/- мишей, підданих фізичним навантаженням, значно підвищувалися в порівнянні із середніми імовірностями для мишей дикою типу, підданих фізичним навантаженням (контроль; кальстабин2+/-), що переважно закриті в умовах, що стимулюють діастолу серця. Як показано у варіантах здійснення С і D, обробка підданих фізичним кальстабин2+/-, що переважно закриті в умовах, що стимулюють діастолу серця. Як показано у варіантах здійснення С і D, обробка підданих фізичним навантаженням кальстабин2+/- мишей JTV-519 істотно знижує імовірність відкриття каналів (Po) у порівнянні з імовірністю відкриття каналів для підданих фізичним навантаженням мишей, яких не обробляли, що погодиться з підвищеними кількостями кальстабину2 у RyR2 комплексі каналу. Таким чином, JTV-519 збільшує афінність кальстабину2 до зв'язування з RyR2. Навпроти, обробка JTV-519 підданих фізичним навантаженням кальстабин2<sup>-/-</sup>-дефіцитних мишей не привела до каналів з низькою Po, що вказує на те, що наявність кальстабину2 необхідно для впливу JTV-519, що улаштовується як зв'язування кальстабину2 з RyR2.

На Фіг. 10 у варіантах здійснення А, В, С, D, Е і F показано, відповідно, нормалізоване каналне пропускання і підвищене зв'язування кальстабину2 з RyR2 каналами після обробки JTV-519. На імуноблотах у варіантах здійснення А і В приведені кількості RyR2 і кальстабину2, пов'язані з імуносадженням RyR2 після інкубування з JTV-519 у зазначених концентраціях, відповідно, для RyR2 каналів дикого типу (RyR2-WT) і RyR2-S2809D. З кривих зв'язування у варіанті здійснення С видно, що JTV-519 істотно підвищує афінність кальстабину2 до PKA-фосфорильованим RyR2 каналам. Дані результати показують також, що зменшення кількості кальстабину2 у RyR макромолекулярному комплексі, зв'язаному з підвищеною імовірністю відкриття RyR2, шлуночковою тахікардією і раптовою кардіогенною смертю в кальстабин2<sup>+/+</sup> мишей з гаплонедостатністю, міняється на протилежне при обробці JTV-519. Отже, JTV-519 і родинні сполуки попереджають порушення і стани, пов'язані з RyR2 рецепторами.

На Фіг. 11 у варіантах здійснення А, В, С, D і Е показано, що функціонування каналу RyR1 підсилюється і нормалізується в mdx мишей (дистрофія-дефіцитних), яких обробляли JTV-519. На Фіг. 11 відкриття каналів представлені у вигляді відхилень нагору, «с» означає закритий стан, а амплітуда струму відкриття 4 па позначена рисою. Верхні траєкторії представляють 5 сек, а нижні траєкторії 500 мс, пунктирними лініями позначені стани субпровідності.

У варіанті здійснення А Фіг. 11 показане відстеження одноканального струму RyR1 у камбаловидного м'язу контрольної миші (дикого типу) в умовах спокою (цитоплазматичний  $\text{Ca}^{2+}$  150 нМ). Видно, що RyR1 переважно закрито. У варіанті здійснення С Фіг. 11 показано, що при функціонуванні каналу RyR1 у mdx мишей виявляється істотно більш висока імовірність відкриття, збільшений часовий інтервал середнього відкриття і знижений часовий інтервал середнього закриття,  $T_o$  і  $T_c$ , відповідно. Збільшена  $P_o$  в mdx мишей погодиться з внутрішньоклітинним витоком  $\text{Ca}^{2+}$ . На амплітудних гістограмах у варіантах здійснення В, D і F показані численні стани субпровідності, що погодяться з виснаженням кількості кальстабину1 (FKBP12) у RyR1 камбаловидного м'язу mdx. У варіанті здійснення Е Фіг. 11 показана mdx миша, оброблена 1,0 мкМ JTV-519. Видно, що RyR1 канали обробленої JTV-519 миші виявляють нормальну активність, що істотно не відрізняється від сліду неопрацьованого дикого типу, указуючи, таким чином, на те, що JTV-519 може нормалізувати функціонування RyR1 каналів у mdx мишей.

Дані Фіг. 11 погодяться з внутрішньоклітинною SR витоком  $\text{Ca}^{2+}$  по RyR1 каналам як причини підвищеної цитозольної витоку  $\text{Ca}^{2+}$  у скелетних м'язах у mdx (дистрофія-дефіцитних) мишей.

На Фіг. 12 у варіантах здійснення А і В показано, що в скелетних м'язах mdx маютьесь нормальні рівні PKA фосфорилування RyR1, але знижені рівні кальстабину1. З імуноблотів у варіанті здійснення А видно, що в мишей mdx типу рівні кальстабину1 знижені в порівнянні з контрольною мишею (дикого типу). На сумарних гістограмах

варіанта здійснення В показано, що в mdx миші, проте, мається еквівалентний рівень PKA-фосфорилування. Тому зроблений висновок про те, що виснаження кальстабину<sup>1</sup> являє собою дефект, що погодиться з внутрішньоклітинним витоком  $\text{Ca}^{2+}$ , що спостерігається в клітинах скелетних м'язів у mdx мишей і м'язових волоконців у людських носіїв мутації. Очевидно, внутрішньоклітинна SR витік  $\text{Ca}^{2+}$  сприяє загибелі м'язових волокон і втрати м'язової маси за рахунок перевантаження токсичним внутрішньоклітинної  $\text{Ca}^{2+}$  і активації протеаз.

На Фіг. 13 у варіантах здійснення А, В і С показано, що SR витік  $\text{Ca}^{2+}$  на внутрішньоклітинному рівні в скелетних м'язах тварин із серцевою недостатністю можна визначити. Якість життя і прогноз для пацієнтів із серцевою недостатністю (HF) сильно знижені через дисфункції скелетні м'язи (наприклад, утруднене подих унаслідок слабості діафрагми і нестерпність фізичних вправ внаслідок втоми скелетних м'язів кінцівок), на додаток до зниженої серцевої функції. Дисрегуляція внутрішньоклітинного SR вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  являє собою патогенний механізм, що лежить в основі дисфункції скелетних м'язів при HF. HF у тварин приводить до значно прискореної внутрішньої стомлюваності скелетних м'язів.

Варіанти здійснення А і В Фіг. 13 являють собою AF/F скановані відображення ліній флуоресценції репрезентативних прикладів спалахів  $\text{Ca}^{2+}$  у м'язових волоконцях щурів при симуляції і після інфаркту міокарда (PMI) і відповідний порядок часу  $\text{Ca}^{2+}$  спалаху. У варіанті здійснення С показане відносний розподіл просторово-тимчасових властивостей  $\text{Ca}^{2+}$  спалахів. На графіках зазначені 25, 50, 75 процентилей, горизонтальними лініями показаний інтервал від 1-99% розподілу. Симуляція, відкриті символи (n=137, три тварини), після інфаркту міокарда (PMI), сірі символи (n=82, дві тварини). \*, P<0,05. FDHM, повна тривалість при 50% максимальної амплітуди, FWHM, повна ширина при 50% максимальної амплітуди.

На Фіг. 14 у варіантах здійснення А і В показано, що обробка мишей дикого типу JTV-519 поліпшує часи стомлюваності камбаловидного м'яза в порівнянні з плацебо. Камбаловидні м'язи мишей дикого типу, оброблених JTV-519, або кальстабин<sup>2</sup> мишей із серцевою недостатністю від інфаркту міокарда більш стійкі до стомлюваності (P<0,05) у порівнянні з мишами, обробленими плацебо. По закінченні обробки камбаловидну м'яз препаратували і встановлювали в тихорецькій лазні для оцінки функції ізолюваного скелетного м'яза. Репрезентативні відстеження 50% максимального часу стомлюваності при тетанічному напруженні приведено для мишей дикого типу і кальстабин<sup>2</sup> мишей, яких обробляли JTV519 або плацебо, у варіанті здійснення А. У варіанті здійснення В приведена гістограма, у якій підсумоване середній час стомлюваності.

У підсумку, обробка JTV-519 поліпшує стомлюваність скелетних м'язів in vivo у тварин із серцевою недостатністю. Цікаво відзначити, що в кальстабин<sup>2</sup> нокаутних мишей час стомлюваності також істотно покращилося у випадку мишей, об-

роблених JTV-519, що припускає, що даний позитивний вплив на функцію виділеного скелетного м'яза залежить від зв'язування з RyR1 кальстабину<sup>1</sup>, а не кальстабину<sup>2</sup>. Дійсно, кальстабин<sup>1</sup> є, очевидно, єдиною ізоформой функціонального значення, експресуваною у скелетних м'язах.

На Фіг. 15 у варіантах здійснення А і В показано, що на моделі миші із серцевою недостатністю після інфаркту міокарда, RyR1 у камбаловидного м'яза також PKA-гіперфосфорильований. Як для мишей дикого типу, так і для кальстабин<sup>2</sup> мишей, JTV-519 підвищує зв'язування кальстабину<sup>1</sup> з RyR1 у камбаловидного м'яза, що припускає те, що JTV-519 поліпшує стомлюваність скелетних м'язів за рахунок нормалізації повторного зв'язування кальстабину<sup>1</sup> з каналним комплексом. Еквівалентні кількості RyR1 піддавали імунному осадженню антитілом до RyR1. У варіанті здійснення А представлені гістограми, на яких показана кількість PKA фосфорилування RyR1 по Ser-2844 у мишей (відповідає Ser-2843 у людини). Причиною істотного зниження PKA фосфорилування RyR1 у тварин дикого типу, оброблених JTV-519, імовірно, є позитивний вплив на серце і додаткове зниження симпатичної нервової активності. У варіанті здійснення В представлені гістограми, на яких показана кількість кальстабину<sup>1</sup>, пов'язаного з RyR1, для мишей дикого або типу кальстабину<sup>2</sup> мишей, оброблених JTV-519 або плацебо. Мишей обробляли JTV519 за допомогою імплантуємих осмотичних міні-насосів при дозі 0,5 мг/кг/день. У підсумку, обробка JTV-519 приводила до надзвичайно значного збільшення кальстабину<sup>1</sup> у комплексі з RyR1 у камбаловидного м'яза in vivo.

На Фіг. 16 у варіантах здійснення А, В, С і D показано, що повторне зв'язування кальстабину<sup>1</sup> з RyR1 за рахунок JTV519 нормалізує аномальне або що має текти функціонування RyR1 каналу in vivo. У варіантах здійснення А і С представлені відстеження RyR1 одиничних каналів при 150 нМ цитоплазматичного  $\text{Ca}^{2+}$ , що являє собою умови спокою скелетного м'яза для мишей дикого типу, оброблених плацебо і JTV-519. Обробка мишей із серцевою недостатністю JTV-519 і підвищеною м'язовою стомлюваністю нормалізує пропускання RyR1 каналу в скелетному м'язі in vivo. Відкриття каналів знаходяться зверху, рисою показані повні рівні відкриття каналів (4 па), пунктирною лінією показані рівні субпровідності, а «с» позначене закритий стан каналів. У випадку амплітудних гістограм у варіантах здійснення В і D амплітуда представлена по осі x, а події показують число відкриттів каналів. Po, To і Tc величини відповідають представницьким відстеженням. Обробка приведена зверху траєкторій.

У підсумку, ці дані показують, що обробка JTV519 in vivo нормалізує функцію скелетних м'язів і дисфункцію RyR1 каналу, що погодиться з запобіганням внутрішньоклітинної SR витоку  $\text{Ca}^{2+}$  як причини підвищеної стомлюваності скелетних м'язів.

На Фіг. 17 показано, що JTV-519 також підвищує афінність до зв'язування кальстабину<sup>1</sup> стосовно RyR1 у скелетному м'язі in vivo. Це, імовірно, пояснює, чому в оброблених JTV-519 мишей із

серцевою недостатністю присутні підвищені рівні кальстабину<sub>1</sub>, пов'язаного з RyR1 у камбаловидного м'язу. У варіанті здійснення А еквівалентні кількості скелетного RyR1 або серцевого RyR2 піддавали імунному осадженню, PKA фосфорилуванню і інкубували з кальстабином<sub>1</sub> або кальстабином<sub>2</sub> при зростаючих концентраціях JTV519, відповідно. Осад являв собою тільки кальстабин, зв'язаний з RyR. Дані імуноблоттинга показали, що (50 нм JTV519 підвищували афінність до зв'язування кальстабину стосовно RyR. Крім того, із графіків варіанта здійснення У видно, що в результаті PKA фосфорилування RyR1 афінність кальстабину<sub>1</sub> до RyR1 знижується (відкриті кола), тоді як обробка JTV519 (заповнені кола) відновлює афінність кальстабину<sub>1</sub> до RyR1 до значень не-р-ка фосфорильованого RyR1 (відкриті квадрати).

На Фіг. 18 у варіантах здійснення А, В, С і D показано, що Ser-2843 є єдиним сайтом фосфорилування PKA в скелетних RyR1 каналах. (А) репрезентативні відстеження елінічних каналів RyR1 дикого типу. (В) вплив екзогенного PKA фосфорилування RyR1 (wt RyR1-P), (С) PKA не впливає на RyR1-S2843A, що містить нефункціональний сайт фосфорилування PKA. Оскільки PKA не підвищує активність RyR1-S2843A, очевидно, Ser-2843 складає єдиний сайт фосфорилування PKA в RyR1 каналах у скелетному м'язі. Відповідно, (D) конститутивно фосфорильований RyR1-S2843D імітує екзогенне PKA фосфорилування, представлене в (В), підтверджуючи, що Ser-2843 являє собою єдиний сайт фосфорилування PKA в RyR1 каналах у скелетних RyR1 каналах. Реєстрація RyR1 одиничних каналів у планарних ліпідних бішарах показує активність даних каналів при 150 нМ  $[Ca^{2+}]_{cis}$  (цитозольна сторона) при імМ АТФ. Реєстрацію проводили при 0 мВ, закриті стан каналів позначений «с», а відкриття каналів являють собою відхилення догори. Усі крапкові амплітудні гістограми приведені праворуч. Імовірність відкриття ( $P_o$ ) і середній часовий інтервал закриття ( $T_c$ ) і відкриття ( $T_o$ ) зазначені над траєкторією кожного каналу.

На Фіг. 19 у варіантах А і В показане виснаження стабілізуючого кальстабину<sub>1</sub> і PKA гіперфосфорилування RyR1 каналів при тривалих фізичних вправах. Аеробні вправи можна визначити як вид фізичних вправ, при яких збільшується серцевий ритм і зростає споживання кисню для підвищення продуктивності. Прикладами аеробних вправ є біг, їзда на велосипеді і плавання. Під час дослідження у Фіг. 19 мишей провокували аеробними вправами (примусовим плаванням) протягом 90 хв двічі в день. Тварин привчали плавати під час попередніх тренувань: день-3 двічі по 30 хв, день-2 двічі по 45 хв, день-1 двічі по 60 хв, день 0 і потім двічі по 90 хв. Після цього мишей тренували протягом 1, 7 або 21 додаткових наступних днів за другим днів протягом 90 хв двічі в день. Між запливами, розділеними 4-годинним періодом відпочинку, мишей тримали в теплі і давали їм їжу і воду. Для вправи мишей у плаванні використовували басейн із водою з регульованим плинном. Використовували акриловий басейн (90 див довжини ( 45 див ширини ( 45 див глибини), заповнений водою

на глибину 25 див. Плин у басейні одержували за допомогою насоса. Швидкість плину при запливі знаходилася при постійній швидкості 1 л/хв швидкості потоку. Температуру води підтримували при 34°Із за допомогою електронагрівника. Щоб виключити розходження в плавучості через жир тіла, використовували мишей з підібраним віком і масою.

При використанні примусового плавання як ефективний протокол для збільшення аеробної здатності скелетних м'язів у мишей, досліджували сполука і статус фосфорилування комплексу скелетного RyR1 каналу. Зненацька виявилось, що через 3 тижні 90-мін плавання двічі в день у 357В16 мишей дикого типу проявилось значно збільшене RyR1 фосфорилування PKA, хоча фосфорилування  $Ca^{2+}$ -кальмодулін кинази II (CaMKII) не змінилося, що вказує на те, що специфічність шляху напруги експресії RyR1 білка була стабільною, однак, у RyR1 каналах стабілізуюча субодиниця кальстабину<sub>1</sub> (FKBP12) була виснажена. Було показано, що гіперфосфорилування RyR1 і виснаження кальстабину<sub>1</sub> погодяться з що протікають RyR1 каналами, що викликають внутрішньоклітинну SR витік  $Ca^{2+}$ .

RyR1 канали гіперфосфорильовані PKA і виснажені у відношенні стабілізуючої субодиниці кальстабину<sub>1</sub> через 3 тижні 90-мін плавання двічі в день. Як видно з варіанта здійснення А, у імуносадженому RyR1 макромолекулярному каналному комплексі виявляється підвищене PKA фосфорилування по Ser-2844 (відповідає людському RyR1-Ser-2843), тоді як CaMKII фосфорилування по Ser-2849 (відповідає людському RyR1-Ser-2848) не міняється. Супроводжуване підвищенням RyR1-Ser-2844 гіперфосфорилуванням, кількість кальстабину<sub>1</sub> у каналному комплексі зменшується. Як видно з варіанта здійснення В, при нормалізації фосфорилування і змісту кальстабину<sub>1</sub> для чотирьох субєдиниць тетрамерного каналного комплексу виявляється значне збільшення PKA фосфорилування і виснаження стабілізуючої субодиниці кальстабину<sub>1</sub>. Контроль, миші, не піддані фізичним вправам; плавання, миші, що виконували фізичні вправи по 90 хв двічі в день протягом 3 тижнів (попередні дані).  $P < 0.05$ .

На Фіг. 20, у варіантах здійснення показано, що PKA фосфорилування зростає при підвищенні тривалості тривалих фізичних вправ. Для дослідження впливу тривалості тривалих фізичних вправ на дефект RyR1 каналу вивільнення  $Ca^{2+}$ , мишей піддавали плаванню протягом 1, 7 або 21 дня з наступним негайним умертвінням. Більш тривале подвєргані тривалій фізичній вправі приводить до значного збільшення PKA гіперфосфорилування RyR1, що починається з 7 дня і досягає повноти в 21 день.

На Фіг. 20 у варіанті здійснення А в імуносадженому RyR1 каналному комплексі виявляється значне і перевищує фізіологічні рівні PKA фосфорилування по Ser-2844 (відповідає людському RyR1-Ser-2843) через 7 днів плавання. На Фіг. 20, у варіанті здійснення В аномалізація RyR1-Ser-2844 фосфорилування в тетрамерній каналному

комплексі підтверджує значне збільшення PKA фосфорилування. \*,  $P < 0,05$ , \*\*,  $P < 0,005$ .

У підсумку, з даних Фіг. 20 видно, що ці тривалі фізичні вправи приводять до значного зростання фосфорилування RyR1 протеїнкіназою A (PKA), що сприяє виснаженню стабілізуючої субодиниці кальстабін1 з каналного комплексу як причини дефекту посилення функції.

На Фіг. 21 представлені дані, з яких видно, що хронічно підвищена стимуляція скелетних м'язів приводить до RyR1-залежного внутрішньоклітинного витоку  $Ca^{2+}$  і істотно підвищеної м'язової стомлюваності. Що є функціональним наслідком хронічно підвищеного PKA гіперфосфорилування RyR1? Як показано на Фіг. 21 для мишей і щурів із серцевою недостатністю після інфаркту міокарда, хронічне PKA гіперфосфорилування RyR1 приводить до підвищеної м'язової стомлюваності.

З варіанта здійснення А можна бачити, що скелетні м'язи при серцевій недостатності стомлюються швидше, ніж у випадку контролю. Камбаловидну м'яз щура ( $n=5$  контроль,  $n=8$  HF) поміщали в тихорецьку лазню для оцінки скорочувальної функції. Репрезентативний моніторинг часу стомлюваності приведений для контрольних і скелетних м'язів при HF. На гістограмі показане середнє ( $\pm S.D.$ ) час до 40% стомлюваності. \*,  $P < 0,05$ . З варіанта здійснення В можна бачити, що для скелетних м'язів при серцевій недостатності максимальне тетаничне зусилля досягається повільніше, ніж у випадку контрольних скелетних м'язів. Тетаничне зусилля викликали стимуляцією полючи з високою частотою. На гістограмі показаний час 50%-го тетаничного скорочення. \*\*,  $P < 0,01$ . У варіанті здійснення С показана кореляція між часом стомлюваності і PKA фосфорилування RyR1 ( $r=0,88$ ) для скелетного м'яза щура від тварин із симуляцією і із серцевою недостатністю. М'язову функцію і PKA фосфорилування RyR1 оцінювали при використанні контралатеральних камбаловидних м'язів від кожної тварини.

У підсумку, на Фіг. 21 представлені дані, з яких видно, що тривалі фізичні вправи приводять до PKA гіперфосфорилуванню RyR1 і виснаження кальстабіну1, а на Фіг. 21 показано, що аналогічний дефект має місце у формах захворювань з підвищеною симпатичною активністю, що викликає внутрішньоклітинну SR витік  $Ca^{2+}$  і істотно підвищує стомлюваність скелетних м'язів.

Ще однією проблемою при тривалих фізичних вправах і стресі є переродження скелетних м'язів, що додатково сприяє зниженій діяльності скелетних м'язів. Для оцінки структурних змін під час тривалих фізичних вправ були охарактеризовані гістологічні зміни у швидко скорочуються м'язах мишей, підданих фізичним вправам у вигляді плавання протягом 3 тижнів. Результати приведені на Фіг. 22. У поперечних переріз M. extensor digitorum longus (EDL) миші видні гістологічні зміни, що погодяться з переродженням м'язових волокон через внутрішньоклітинне перевантаження  $Ca^{2+}$  з дефектних RyR1 каналів. Таким чином, тривалі фізичні вправи протягом 90 хв двічі в день ініціюють дистрофічний фенотип у EDL м'язах нормальної 357B16 миші.

У результаті трихромного фарбування виявляються ущільнені м'язові волокна з аналогічним розміром у поперечному перерізі для контрольних мишей (WT), не підданих фізичним вправам (ліворуч). Тритижневе плавання приводить до переродження м'язових волокон і внутрішньохрецькому відкладенню колагена при нерегулярних розмірах волокон. У результаті гематоксилін-еозинового (H&E) фарбування видні ядерні перетворення і загибель м'язового волокна. Дані зміни погодяться з дистрофічною корекцією.

Швидкий канал калієвого уповільненого випрямлення (I(Kr)) важливий для реполяризації серцевого біоелектричного потенціалу. HERG є порообразующей субодиницею I(Kr) каналу. Придушення функції I(Kr), наприклад, у вигляді побічного ефекту лікарського або засобу в результаті мутації в hERG, може привести до синдрому подовженого QT-інтервалу (LQT), що зв'язаний з підвищеним ризиком загрозливої життя аритмії. Сполуки даного винаходу виявляють більш низький рівень блокування hERG, ніж JTV-519, як показано на Фіг. 23-43. Таким чином, очікується, що сполуки даного винаходу будуть менш токсичними і/або виявлять менше побічних ефектів, ніж JTV-519.

На Фіг. з 23 по 26 показаний вплив сполуки ARM036 (називане також S36) і ARM036-Na (натрієва сіль ARM036) на hERG струми.

На Фіг. 23 показана типовий запис hERG струму при фіксації потенціалу до (контроль) і після застосування ARM036 при 100 мкМ. Протокол імпульсів напруги, використана для активації hERG струмів, показаної нижче траєкторії струму. Можна бачити, що після активації за рахунок обмежуючого перед-імпульсу (до +20 мВ) часткова реполяризація (-50 мВ перевірючий імпульс) мембрани викликає великий, повільно загасаючий, спрямований назовні хвостовий струм. Застосування ARM036 мінімально знижує даний спрямований назовні хвостовий струм залежним від концентрації і часу чином.

На Фіг. 24 показане типовий вплив ARM036 при 100 мМ на амплітуду hERG каналного струму з часом.

Фіг. 25 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM036 на hERG каналний струм. У таблиці 1 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 25. Оскільки найбільш високі тестовані концентрації ARM036 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення  $IC_{50}$  для ARM036 вийшло неможливо.

Таблиця 1

Концентрація мкМ	Середнє	SD	SEM	N
10	0,7%	0,3%	0,2%	3
100	0,9%	0,7%	0,4%	3

Фіг. 26 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM036-Na на hERG каналний струм. У таблиці 2 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 26. Оскільки найбільш високі тестовані концентрації

ARM036-Na приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення  $IC_{50}$  для

ARM036-Na виявилось неможливо.

Таблиця 2

Тестований продукт ID	$IC_{50}$ (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM036-Na	н.в.	0,01	0,2%	0,2%	0,2%	2	0,0%
							0,3%
		0,1	5,0%	7,1%	5,0%	2	10,0%
							0,0%
		1	5,5%	4,4%	3,1%	2	2,4%
							8,6%
		10	6,7%	2,2%	1,6%	2	5,1%
							8,2%

Фіг. 27 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM047 на hERG струм. У таблиці 3 приведені числові дані,

що ілюстровані графічно на Фіг. 27. Значення  $IC_{50}$  для блокування ARM047 hERG струму склало 2,496 мкМ.

Таблиця 3

Тестований продукт ID	$IC_{50}$ (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM047	2,496	0,01	2,7%	1,4%	1,0%	2	1,7%
							3,7%
		0,1	9,7%	4,5%	3,2%	2	6,5%
							12,9%
		1	29,6%	8,6%	5,0%	3	30,8%
							20,4%
		10	78,0%	3,6%	2,1%	3	37,5%
							82,1%
							75,9%
							75,9%

Фіг. 28 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM048 на hERG струм. У таблиці 4 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 28. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM048 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення  $IC_{50}$  для ARM048 виявилось неможливо.

Таблиця 4

Тестований продукт ID	$IC_{50}$ (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування )
ARM048	н.в.	0,01	1,3%	1,1%	0,8%	2	0,5%
							2,0%
		0,1	3,6%	0,9%	0,6%	2	4,2%
							2,9%
		1	4,1%	0,8%	0,6%	2	4,7%
							3,5%
		10	14,0%	1,7%	1,2%	2	15,2%
							12,8%

Фіг. 29 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM050 на hERG струм. У таблиці 5 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 29. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM050 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення  $IC_{50}$  для ARM050 виявилось неможливо.

Таблиця 5

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM050	н.в.	0,01	1,6%	0,9%	0,7%	2	1,1%
							2,4%
		0,1	3,7%	1,4%	1,0%	2	2,7%
							4,7%
		1	6,1%	1,4%	1,0%	2	7,1%
							5,1%
		10	24,2%	4,0%	2,9%	2	27,0%
							21,3%

Фіг. 30 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM057 на hERG струм. У таблиці 6 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 30. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM057 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM057 виявилось неможливо.

Таблиця 6

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки		Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM057*	н.в.	0,01	0,2%	0,2%	0,2%		0,3%
							0,0%
		0,1	7,3%	4,5%	3,2%		4,1%
							10,4%
			2,7%	3,7%	2,6%		5,3%
							0,1%
		0	13,6%	6,7%	4,8%		18,3%
							8,8%

Фіг. 31 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM064 на hERG струм. У таблиці 7 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 31. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM064 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM064 виявилось неможливо.

Таблиця 7

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки		Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM064	н.в.	0,01	0,2%	1,1%	0,8%		-0,6%
							1,0%
		0,1	9,0%	1,3%	0,9%		9,9%
							8,1%
			9,6%	5,1%	3,6%		13,2%
							6,0%
		0	30,3%	2,5%	1,7%		32,0%
							28,5%

Фіг. 32 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM074 на hERG струм. У таблиці 8 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 32. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM074 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM074 виявилось неможливо.



Таблиця 8

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM074	н.в.	0,01	1,9%	1,6%	1,1%	2	0,8%
							3,0%
		0,1	4,8%	1,6%	1,1%	2	5,9%
							3,7%
		1	1,3%	1,6%	1,1%	2	0,2%
							2,4%
							5,6%
		10	9,5%	0,2%	0,2%	2	9,3%
							9,6%
							14,0%

Фіг. 33 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM075 на hERG струм. У таблиці 9 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 33. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM075 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM075 виявилось неможливо.

Таблиця 9

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM075	н.в.	0,01	1,4%	0,4%	0,3%	2	1,7%
							1,1%
		0,1	3,7%	1,6%	1,1%	2	2,6%
							4,8%
		1	3,9%	0,3%	0,2%	2	3,7%
							4,1%
		10	16,0%	1,8%	1,3%	2	14,7%
							17,2%

Фіг. 34 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM076 на hERG струм. У таблиці 10 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 34. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM076 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM076 виявилось неможливо.

Таблиця 10

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM076	н.в.	0,01	0,4%	0,5%	0,4%	2	0,0%
							0,7%
		0,1	2,5%	2,2%	1,6%	2	4,0%
							0,9%
		1	3,1%	1,5%	1,1%	2	2,0%
							4,1%
		10	11,2%	1,6%	1,2%	2	10,0%
							12,3%

Фіг. 35 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM077 на hERG струм. У таблиці 11 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 35. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM077 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM077 виявилось неможливо.

Таблиця 11

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM077	н.в.	0,01	1,3%	0,2%	0,2%	2	1,4%
							1,1%
		0,1	7,5%	5,5%	3,9%	2	11,4%
							3,6%
		1	3,6%	0,6%	0,4%	2	3,1%
							4,0%
		10	4,1%	4,6%	3,2%	2	0,9%
							7,2%

Фіг. 36 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM101 на hERG струм. У таблиці 12 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 36. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM101 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM101 виявилось неможливо.

Таблиця 12

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM101	4,406	0,01	3,4%	1,3%	0,9%	2	4,3%
							2,5%
		0,1	6,4%	1,8%	1,3%	2	5,1%
							7,6%
		1	23,0%	5,7%	4,1%	2	18,9%
							27,0%
		10	65,6%	1,3%	0,9%	2	66,7%
							64,9%

Фіг. 37 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM102 на hERG струм. У таблиці 13 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 37. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM102 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM102 виявилось неможливо.

Таблиця 13

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM102*	н.в.	0,01	2,5%	2,8%	2,0%	2	0,5%
							4,4%
		0,1	4,2%	3,3%	2,4%	2	1,8%
							6,5%
		1	5,7%	6,9%	4,9%	2	0,8%
							10,5%
		10	47,3%	1,6%	1,1%	2	46,2%
							48,3%

Фіг. 38 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM103 на hERG струм. У таблиці 14 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 38. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM103 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM 103 виявилось неможливо.

Таблиця 14

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM103	н.в.	0,01	6,8%	7,5%	5,3%	2	12,1%
							1,5%
		0,1	3,3%	1,3%	0,9%	2	4,2%
							2,4%
		1	7,3%	3,3%	2,3%	2	6,0%
							9,6%
		10	29,2%	1,1%	0,8%	2	28,4%
							29,9%

Фіг. 39 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM104 на hERG струм. У таблиці 15 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 39. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM104 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM 104 виявилось неможливо.

Таблиця 15

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM104	н.в.	0,01	1,6%	0,5%	0,4%	2	1,2%
							1,9%
		0,1	2,5%	2,0%	1,4%	2	1,1%
							3,9%
		1	4,6%	2,1%	1,5%	2	3,1%
							6,0%
		10	7,4%	1,3%	0,9%	2	8,3%
							6,5%

Фіг. 40 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM106 на hERG струм. У таблиці 16 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 40. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM106 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM 106 виявилось неможливо.

Таблиця 16

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM 106	н.в.	0,01	1,3%	0,6%	0,4%	2	0,9%
							1,7%
		0,1	7,2%	3,5%	2,6%	2	9,6%
							4,7%
		1	6,1%	3,7%	2,7%	2	8,7%
							3,4%
		10	15,9%	4,0%	2,8%	2	18,7%
							13,1%

Фіг. 41 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу ARM107 на hERG струм. У таблиці 17 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 41. Оскільки най-

більш високі тестовані концентрації ARM107 приводили до менш ніж 50% інгібуванню струму, визначити значення IC<sub>50</sub> для ARM 107 виявилось неможливо.

Таблиця 17

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM107	н.в.	0,01	2,9%	1,6%	1,2%	2	1,7%
							4,0%
		0,1	4,0%	1,2%	0,9%	2	3,1%
							4,8%
		1	6,2%	5,9%	4,2%	2	2,0%
							10,4%
		10	32,1%	11,1%	7,9%	2	24,2%
							39,9%

Фіг. 42 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу S26 на hERG струм. У таблиці 18 приведені числові дані,

що ілюстровані графічно на Фіг. 42. Значення IC<sub>50</sub> для S26 склало 7,029 мкМ.

Таблиця 18

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
S26	7,029	0,01	8,9%	0,3%	0,2%	2	9,1%
							8,7%
		0,1	10,5%	2,6%	1,9%	2	12,3%
							8,6%
		1	12,3%	1,3%	1,0%	2	11,3%
							13,2%
		10	58,3%	2,6%	1,8%	2	56,4%
							60,1%

Фіг. 43 являє собою графік, на якому показана концентраційна залежність впливу JTV-519 (називаного на Фіг. "ARM0XX") на hERG струм. У

таблиці 19 приведені числові дані, що ілюстровані графічно на Фіг. 43. Значення IC<sub>50</sub> для JTV-519 склало 0,463 мкМ.

Таблиця 19

Тестований продукт ID	IC <sub>50</sub> (мкМ)	Конц. (мкМ)	Середній процент інгібування hERG	% стандартного відхилення	% стандартної помилки	n	Індивідуальні данні (% інгібування)
ARM0XX	0,463	0,01	6,0%	0,3%	0,2%	2	5,2%
							4,8%
		0,1	18,1%	11,4%	8,1%	2	10,0%
							26,1%
		1	68,4%	19,1%	13,5%	2	81,9%
							64,9%
		10	92,8%	5,8%	4,1%	2	96,9%
							88,7%

Як позитивний контроль використовували противоаритмічний лікарський засіб E-4031, відомий блокатор hERG струмів. E-4031 блокує hERG струми при IC<sub>50</sub>, що складає 0,5 мкМ (n=6).

У підсумку, сполуки даного винаходу виявляють знижену що блокує hERG активність у порівнянні з JTV-519. Таким чином, очікується, що сполуки винаходу є менш токсичними і/або виявляють менше побічних ефектів, ніж JTV-519.

У приведеній нижче таблиці 20 представлені значення EC<sub>50</sub> для сполук S1-S107. Ці дані EC<sub>50</sub> одержували з використанням трьох аналізів на повторне зв'язування FKBP12.6, описаних вище, для визначення кількості FKBP12.6, що зв'язується з PKA-фосфорильованим RyR2 при різних концен-

траціях сполук (0,5-1000 нМ), приведених у таблиці 20. Значення EC<sub>50</sub> розраховували за допомогою апроксимації кривої по Михаелісу-Ментен.

Таблиця 20

Сполука №	EC <sub>50</sub> (нМ)	Сполука №	EC <sub>50</sub> (нМ)
1	150	48	100
2	211	49	81
3		50	40
4	102	51	175
5	208	52	143
6	252	53	200
7	55	54	77

9	205	55	111
11	181	56	95
12	197	57	73
13	174	58	55
14	182	59	102
19	265	60	68
20		61	95
22	355	62	45
23	268	63	52
25	40	64	44
26	40	66	110
27	ca.50	67	89
36	15	68	ca.100
37		74	220
38	44	75	150
40	100	76	25
43	80	77	60
44	121	101	105
45	80	102	135
46	150	104	111
47	20	107	190

#### Ефективний метод скринінга

Крім описаних тут сполук можна знайти інші сполуки, здатні модулювати активність кальцієвих іонних каналів, зокрема, каналів, що належать до ряду RyR кальцієвих іонних каналів. Тут запропонований високоефективний метод аналізу для ефективного скринінга інших сполук, що здатні модулювати активність кальцієвих іонних каналів.

Як приклад, і як показано в наведеному нижче прикладі 5, розроблений високоефективний метод аналізу для ефективного скринінга малих молекул шляхом іммобілізації FKBP, або FKBP12, або FKBP12.6 (наприклад, FKBP12.6 дикого або типу гібридний білок, такий як GST-FKBP12.6) у 96-ямковому планшеті, покритому глутатионом, за допомогою стандартних методів. У планшет, покритий FKBP, поміщають PKA-фосфорильований ріанодиновий рецептор (RyR), а саме RyR1 або RyR3 у випадку FKBP12 і RyR2 у випадку FKBP12.6, і інкубують зі сполуками при різних концентраціях (10-100 нМ) протягом 30 хв. Після цей планшет промивають для видалення непов'язаного RyR, а потім інкубують з анти-RyR антитілом (наприклад, протягом 30 хв). Планшет знову промивають для видалення непов'язаного анти-RyR антитіла, а потім обробляють флуоресцентно-міченим вторинним антитілом. Планшет зчитують за допомогою автоматичного пристрою, що зчитує, для флуоресцентних планшетів на предмет активності зв'язування.

Альтернативним чином, RyR PKA-фосфорильють у присутності  $^{32}\text{P}$ -АТФ. Радіоактивний PKA-фосфорильований RyR поміщають у покритий FKBP 96-ямковий планшет у присутності аналогів JTV-519 і інших сполук у різних концентраціях (10-100 нМ) протягом 30 хв. Планшет промивають для видалення непов'язаного радіоактивного RyR, а потім зчитують за допомогою автоматичного пристрою, що зчитує, для планшетів. PKA-фосфорильований RyR також наносять на планшет і інкубують з  $^{32}\text{P}$ -міченим FKBP у присутності даних сполук.

Даний винахід описаний у наступних прикладах, що приведені для того, щоб допомогти зрозуміти даний винахід, і не повинні розглядатися як обмежуючим яким-небудь чином обсяг винаходу, визначені в наступній далі формулі винаходу.

#### Приклади

Приклад 1 - PKA Фосфорилування RyR2 і зв'язування FKBP12.6

Серцеві мембрани SR одержують, як описано раніше (Marx, et al., PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell*, 101:365-76, 2000; Kaftan, et al., Effects of rapamycin on ryanodine receptor/Ca(2+)-release channels from cardiac muscle. *Circ. Res*, 78:990-97, 1996). 358-мічений FKBP12.6 одержували за допомогою TNT™ Quick Coupled Transcription/Translation system від Promega (Madison, WI). Для кількісної оцінки рівнів RyR2 використовують зв'язування з  $[^3\text{H}]$  ріанодином. 100 мкг мікросом розчиняють у 100 мкл 10-мМ імідазольного буфера (pH 6,8), інкубованого з 250-нМ (кінцева концентрація)  $[^3\text{S}]\text{-FKBP12.6}$  при 37°C протягом 60 хв, потім гасять 500 мкл крижаного імідазольного буфера. Зразки центрифугують при 100000 g протягом 10 хв і тричі промивають імідазольним буфером. Кількість пов'язаного  $[^3\text{S}]\text{-FKBP12.6}$  визначають у гранулі за допомогою рідинного сцинтиляційного лічильника.

#### Приклад 2 - Імуноблоти

Імуноблоттинг мікросом (50 мкг) здійснюють, як описано, при використанні анти-FKBP12/12.6 (1:1000), анти-RyR-5029 (1:3000) (Jayaraman, et al., FK506 binding protein associated with the calcium release channel (ryanodine receptor), *J. Biol. Chem.*, 267:9474-77, 1992), або анти-фосфоRyR2-P2809 (1:5000) протягом 1 ч при кімнатній температурі (Reiken, et al, Beta-blockers restore calcium release channel function and improve cardiac muscle performance in human heart failure. *Circulation*, 107:2459-66, 2003). P2809-фосфоепітоп-специфічне анти-RyR антитіло являє собою очищене по афінності поліклональне антитіло кролика, виготовлене за замовленням Zymed Laboratories (San Francisco, CA) з використанням пептиду CRTTRR(p)-QTSQ, що відповідає PKA-фосфорильованому RyR2 по SeR5809. Після інкубування з HRP-міченим анти-кроличьим Ig (розведення 1:5000; Transduction Laboratories, Lexington, UK) одержували відбиток за допомогою ECL (Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ).

#### Приклад 3 - Реєстрація одиничних каналів

Реєстрацію одиничних каналів нативного RyR2 з мишачих або сердець рекомбінантного RyR2 одержували в умовах методу фіксації потенціалу, як описано вище (Marx, et al, PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell*, 101:365-76, 2000). Симетричні розчини, використані для реєстрації каналів, являють собою: транс осередок - HEPES, 250 ммоль/л; Ba(OH)<sub>2</sub>, 53 ммоль/л (у деяких експериментах Ba(OH)<sub>2</sub> заміняли на Ca(OH)<sub>2</sub>; pH 7,35; і цис осередок-HEPES, 250 ммоль/л; Заснування основ-Tris-підстава, 125 ммоль/л; EGTA, 1,0

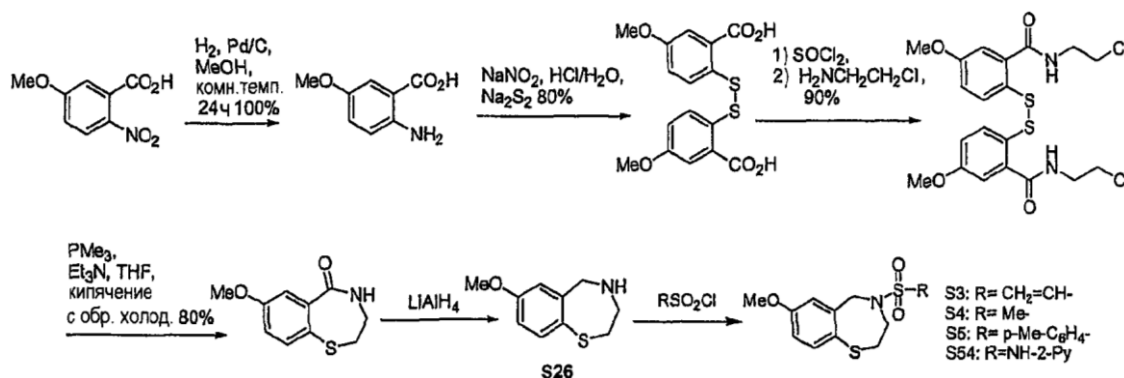
ммоль/л і  $\text{CaCl}_2$ , 0,5 ммоль/л; pH 7,35. Якщо не зазначено інакше, реєстрацію одиничного каналу проводили в присутності 150-нм  $[\text{Ca}^{2+}]$  і 1,0 mM  $[\text{Mg}^{2+}]$  у цис осередку.

У цис осередок вводили ріанодин (5 mM) для підтвердження ідентичності всіх каналів. Аналіз даних проводили по цифровій реєстрації струму за допомогою програмного забезпечення Fetchan (Axon Instruments, Union City, CA). Усі дані пред-

ставлені у вигляді середнього  $\pm$  SE. Для статистичного порівняння середніх значень між експериментами використовували непарний критерій Ст'юдента. Величину  $p < 0,05$  вважають статистично значимою.

Приклад 4 - Сполуки і способи їхнього синтезу

Схема 1: Синтез S3, S4, S5 і S54



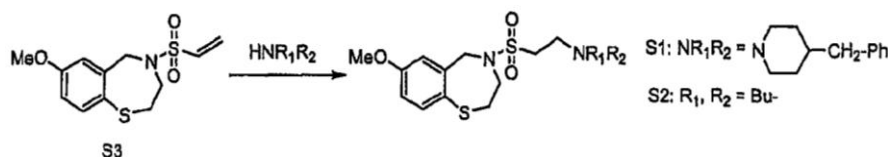
Синтон S26 одержували методами, описаними в патентній заявці США № 10/680988.

Синтез S3 (Схема 1): До розчину, що перемішується, вініл сульфокислоти (22 мг, 0,2 ммоль) у безводному  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мол) додають тіонілхлорид (2М в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0,1 мол, 0,2 ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі й упарюють у вакуумі. Залишок розчиняють у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мол). До даного розчину додають по краплях розчин S26 (20 мг, 0,1 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 мол) при 0°C. Реакційну суміш перемішують при 0°C протягом однієї години і при кімнатній температурі ще протягом однієї години і промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію і 1N HCl. Після видалення розчинника продукт S3 очи-

щують колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ , одержуючи безбарвну олію (18 мг, 65%).

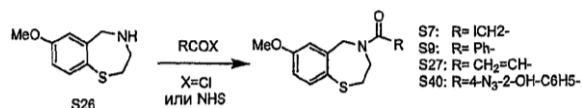
Синтез S4 (Схема 1): До розчину, що перемішується, S26 (20 мг, 0,1 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мол) додають метилсульфонілхлорид (26 мг, 0,2 ммоль) і триетиламін (30 мг, 0,3 ммоль) при 0°C. Отриману суміш перемішують при 0°C протягом однієї години і при кімнатній температурі протягом ночі. Органічну фазу промивають насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію і сушать над сульфатом натрію. Після фільтрування і розпаровування органічних розчинників продукт S4 очищують колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$  (25 мг олії, вихід: 90%). Аналогічним чином синтезують S5 і S54 з виходами 95% і 91%, відповідно.

Схема 2: Синтез S1 і S2



Синтез S1 і S2 (Схема 2): До розчину S3 (28 мг, 0,1 ммоль) у хлороформі (5 мол) додають 4-бензилпіперидин (18 мг, 0,1 ммоль). Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі протягом одного дня. Після видалення органічного розчинника залишок очищують на колонку із силікагелем. Продукт S1 одержують у вигляді безбарвної олії (34 мг, вихід 75%). S2 синтезують з S3 і дибутиламіна аналогічним чином з виходом 78%.

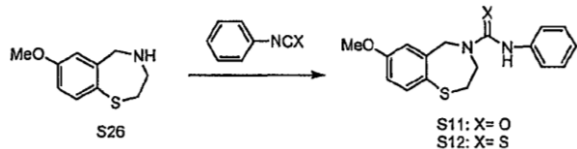
Схема 3: Синтез S7, S9 і S40



Синтез S7, S9, S27 і S40 (Схема 3): До розчину, що перемішується, йодоцтової кислоти (37 мг, 0,2 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 мол) додають тіонілхлорид (2М розчин у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0,1 мол, 0,2 ммоль). Отриману суміш перемішують при 0°C протягом однієї години і при кімнатній температурі протягом ночі. Після видалення розчинника до розчину, що перемішується, S26 (20 мг, 0,1 ммоль) і триетиламіну (30 мг, 0,3 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 мол) додають сирий хлорангідрид кислоти при 0°C. Суміш перемішують при 0°C протягом однієї години і при кімнатній температурі протягом ночі. Органічну фазу промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію і 1N HCl. Сирий продукт очищують колонковою хроматографією, одержуючи S7 у вигляді безбарвної олії (34 мг, вихід 95%). Аналогічним чином

синтезують S9 з виходом 95%; синтон S27 синтезують з виходом 96%; а S40 синтезують з виходом 91% при використанні N-гідроксисукцинімидил 4-азидосалицилової кислоти (NHS-ASA).

Схема 4: Синтез S11 і S12



Синтез S11 і S12 (Схема 4): До розчину S26 (20 мг, 0,1 ммоль) у піридині (1 мол) додають фенілізоціанат (18 мг, 0,15 ммоль). Отриману суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 24 годин. Після цього додають етилацетат (10 мол) і промивають органічну фазу 1н HCl і насиченим розчином гідрокарбонату натрію. Продукт S11 очищують колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ , одержуючи білу тверду речовину (27 мг, вихід 86%). Аналогічним чином з S26 і фенілізотіоціаната синтезують S12 з виходом 85%.

Схема 5: Синтез S13 і S14

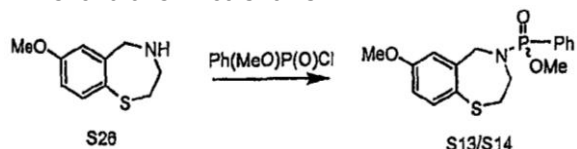
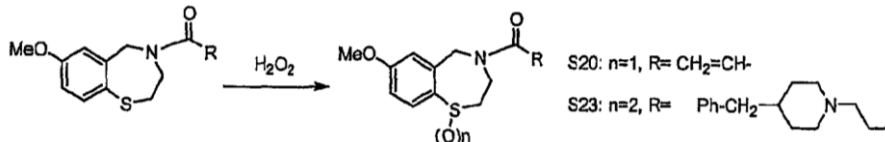


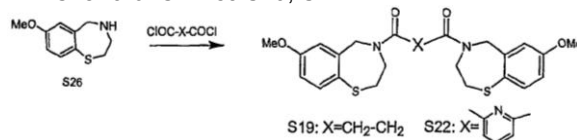
Схема 7: Синтез S20, S23



Синтез S20 і S23 (Схема 7): S27 (25 мг, 0,1 ммоль) у MeOH (5 мол) обробляють  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%, 0,5 мол) при кімнатній температурі протягом дня. Після обробки розчином тіосульфату натрію метанол видаляють випарюванням. Отриманий залишок розчиняють у етилацетаті (10 мол) і промивають насиченим розчином карбонату натрію.

Синтез S13 і S14 (Схема 5): До S26 (20 мг, 0,1 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мол) додають триетиламін (30 мг, 0,3 ммоль) і фенілметоксифосфонілхлорид (38 мг, 0,2 ммоль) при 0°C. Після перемішування протягом 2 годин при кімнатній температурі реакційну суміш промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію. Ізмери розділяють і очищують на колонку із силікагелем, одержуючи S13 (14 мг, вихід: 40%) і S14 (16 мг, вихід: 45%).

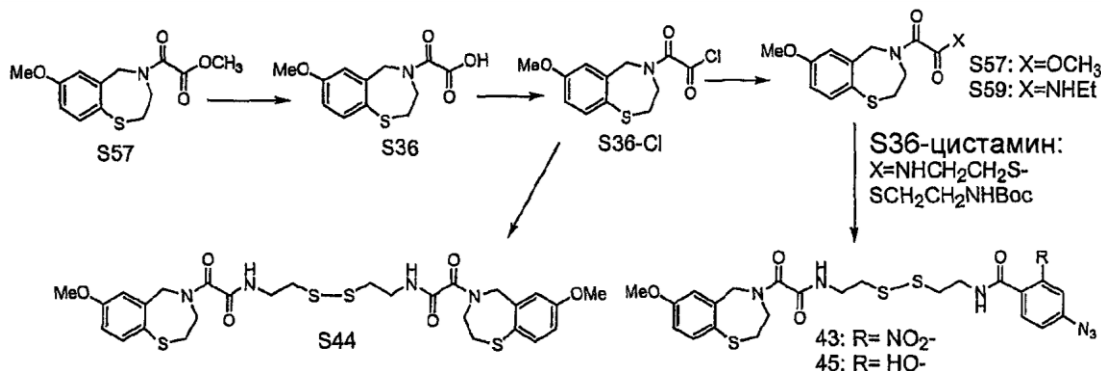
Схема 6: Синтез S19, S22



Синтез S19 (Схема 6): До перемішуваного розчину S26 (20 мг, 0,1 ммоль) і триетиламіну (30 мг, 0,3 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мол) додають хлорангідрид 1,4-бутилдікислоти (8 мг, 0,05 ммоль). Отриману суміш перемішують при 0°C протягом однієї години і при кімнатній температурі протягом ночі. Органічну фазу промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію і 1н HCl і водою. Після видалення розчинника продукт S19 очищують колонковою хроматографією (олія, 19 мг, 80% вихід). Аналогічним чином з дихлорангідрида 2,6-піридилдікарбонової кислоти одержують S22.

Після сушіння над сульфатом натрію розчинник випарюють, одержуючи сирий продукт, що очищують колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи S20 у вигляді безбарвної олії (16 мг, 60% вихід). Аналогічним чином з S10 одержують S23.

Схема 8: Синтез S36, S43, S44, S45, S57, S69



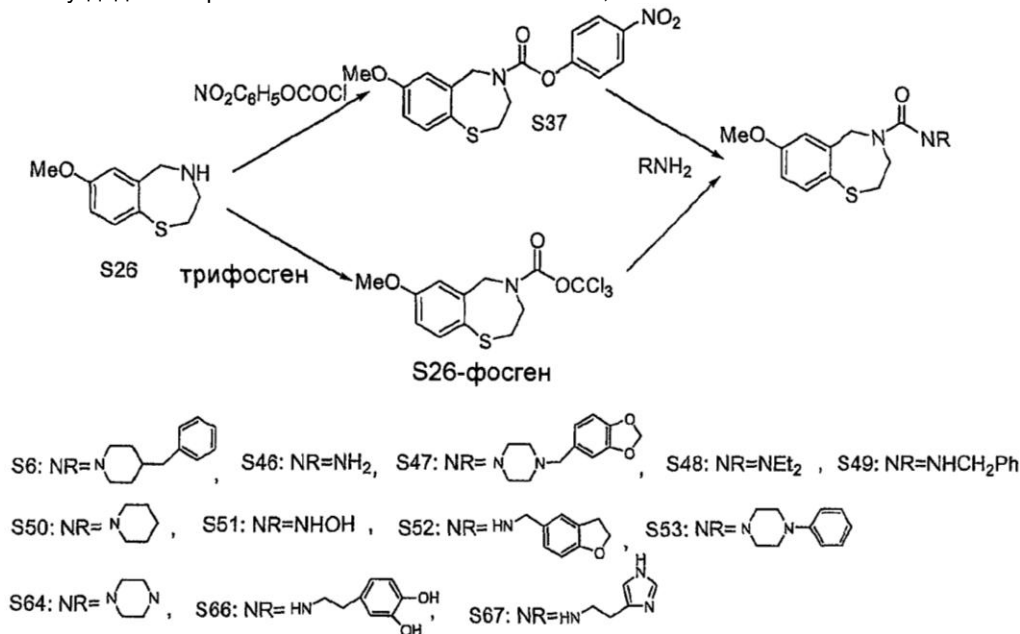
Синтез S36 і S57 (Схема 8): До розчину, що перемішується, S26 (0,85 м, 4,4 ммоль) і піридину (0,70 м, 8,8 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 мол) при  $0^\circ\text{C}$  додають по краплях метилхлороксоацетат (0,81 м, 6,6 ммоль). Реакційну суміш перемішують при  $0^\circ\text{C}$  протягом двох годин, потім промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію, 1н  $\text{HCl}$  і водою. У результаті колонкової хроматографії на силікагелі одержують S57 у вигляді білої твердої речовини (1,1 м, 90% вихід). S57 (1,1 м, 3,9 ммоль) розчиняють у метанолі (10 мол), а потім додають розчин гідроксида натрію (0,3 м, 7,5 ммоль) у воді (10 мол). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом однієї години. Після видалення розчинника залишок розчиняють у воді (10 мол) і промивають dietyловим ефіром (2x10 мол). Водяну фазу підкисляють 1н  $\text{HCl}$  до  $\text{pH}=2$ . Продукт екстрагують  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x10 мол). У результаті видалення розчинника одержують продукт S36 у вигляді білої твердої речовини (1,0 м, вихід 100%). Продукт можна додатково очистити перекристалізацією. S38 синтезують аналогічним чином (дивитися перелік структур).

Синтез S43, S44, S45 і S59 (Схема 8): S36 (150 мг, 0,56 ммоль) обробляють тіонілхлоридом (5 мол) при кімнатній температурі протягом ночі. Після видалення надлишку тіонілхлориду сирий продукт S36-Cl розчиняють у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 мол) і до даного розчину додають при  $0^\circ\text{C}$  моно-Вос захи-

щений цистамін і піридин (0,2 мол, 196 мг, 2,48 ммоль). Реакційну суміш перемішують при  $0^\circ\text{C}$  протягом однієї години і при кімнатній температурі протягом ночі і гасять насиченим розчином гідрокарбонату натрію. Органічну фазу отримують, а розчинник видаляють, одержуючи проміжну сполуку S36-цистамін, що очищають колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$  з 80% виходом. Зняття захисної Вос-групи проводять трифтороцтовою кислотою в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , а S36-цистамін зі знятим захистом використовують для синтезу S43 і S45 реакцією з NHS-активованим складним ефіром азидосоединений. Вихід складає 75% для S43 і 80% для S45.

S44 одержують як побічний продукт у наступній реакції: S36 (50 мг, 0,19 ммоль) обробляють тіонілхлоридом (2 мол) при кімнатній температурі протягом ночі. Після видалення надлишку тіонілхлориду сирий продукт розчиняють у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мол). До даного розчину додають цистамін (134 мг, 0,88 ммоль) і піридин (98 мг, 1,23 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 мол) і перемішують реакційну суміш при кімнатній температурі протягом ночі. S44 очищають на колонку, одержуючи білу тверду речовину (20 мг, 16%). Аналогічним чином одержують S57 і S59 реакцією S36-Cl з або метанолом етиламіном (схема 8).

Схема 9: Синтез аналогів S6, S46-S53, S64, S66, S67 на основі сечовини

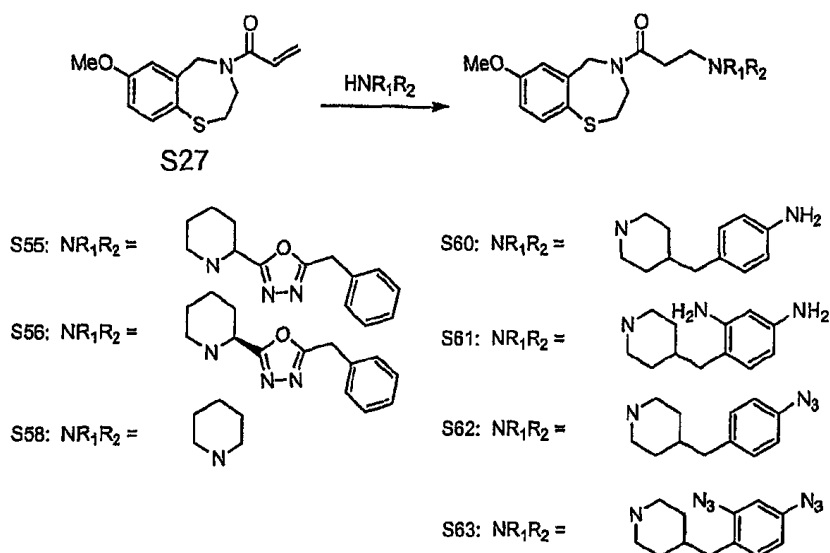


Синтез аналогів S6, S46-S53, S64, S66, S67 на основі сечовини (Схема 9): До S26 (195 мг, 1,0 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 мол) додають 4-нітрофенілхлорформіат (220 мг, 1,1 ммоль) і триетиламін (120 мг, 1,2 ммоль) при  $0^\circ\text{C}$ . Реакційну суміш перемішують протягом 2 годин при кімнатній температурі і промивають водою. У результаті видалення розчинників з наступним очищенням методом колонкової хроматографії одержують сполуку S37 (330 мг, 91%). Реакцією S37 (36 мг,

0,1 ммоль) з одним еквівалентом аміну в ДМФА (3 мол) протягом ночі одержують сполуки на основі сечовини з виходом  $>60\%$  після очищення колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ . Альтернативним чином, дані сполуки на основі сечовини можна синтезувати за допомогою універсального і більш реакціонноспособного проміжної сполуки S26-фосгену, приведенного на схемі 9.

Схема 10: Синтез S55, S56, S58, S60-S63



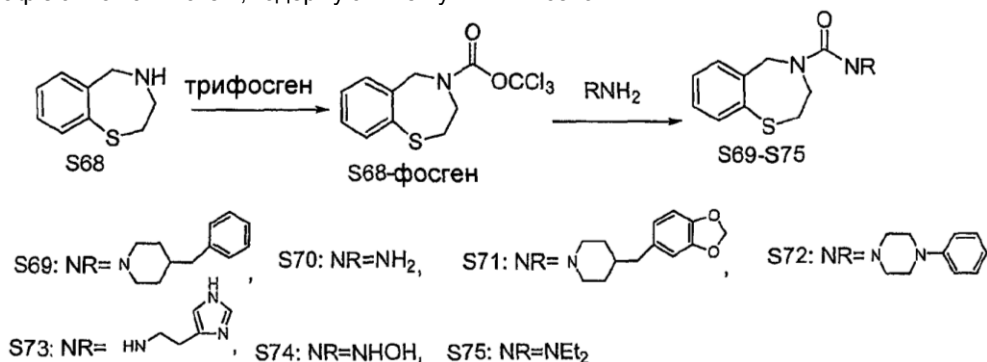


Синтез S55, S56, S58, S60-S63 (Схема 10): Реакційну суміш S27 (25 мг, 0,1 ммоль) і 4-(4-амінобензил)піперидина (19 мг, 0,1 ммоль) у хлороформі (5 мол)перемішують при кімнатній температурі протягом 2 днів. Після видалення розчинника продукт S60 очищають колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи білу

тверду речовину (36 мг, вихід 90%). S55, S56, S58 і S61-S63 одержують аналогічним чином відповідно до описаного вище способом.

Експериментальна частина для нових сполук

Схема 11: Синтез аналогів S69-S75 на основі сечовини



Аналоги S69-S75, що не мають метоксилгруп у бензольному кільці ( $R=H$  у формулі I), синтезують, як показано на схемі 11, за аналогією зі способом, що використовували для синтезу S46-S53 (дивитися схему 9). У даному синтезі виходять з

Схема 12: Синтез S76-S81

комерційно доступного S68 і використовують універсальну проміжну сполуку, S68-фосген, одержуючи S69-S75 з 60-95% виходом.

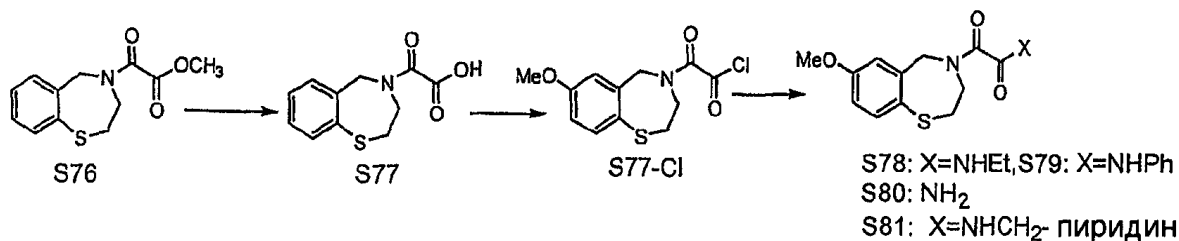
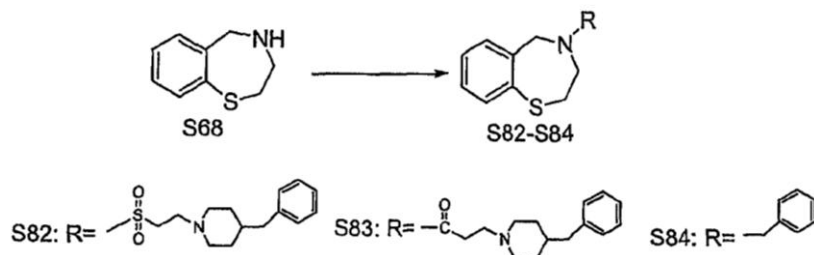


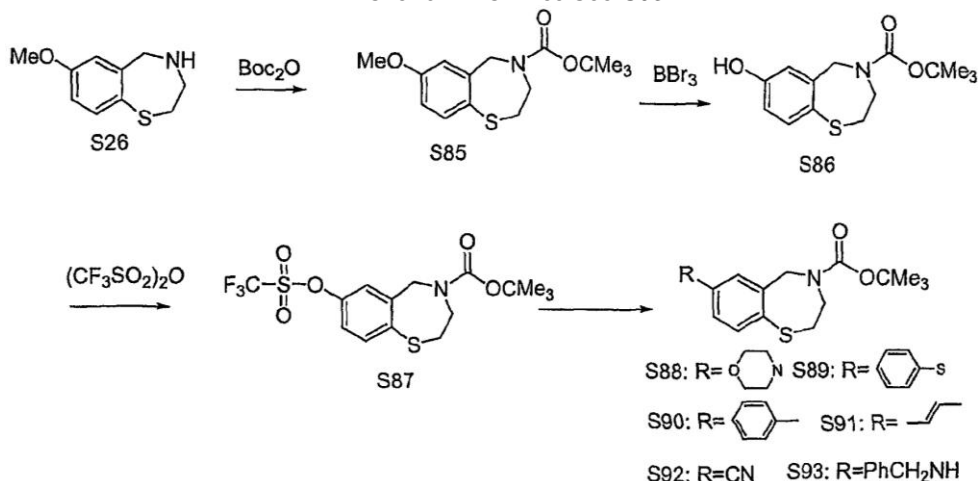
Схема 13: Синтез S82-S84



За аналогією із синтезом S36, S43-S45, S57 і S59 (схема 8), S76-S81 синтезують з комерційно доступного S68, як показано на схемі 12, з 70-95% виходом. При використанні S68 як вихідну

сполуку синтезують також сполуки S82, S83 і S84, як показано на схемі 13, за аналогією зі сполуками, що містять метоксигрупу в бензольному кільці (R=4-OCH<sub>3</sub> у формулі I).

Схема 14: Синтез S88-S93



Синтез S85-S93 проводять, як показано на схемі 14. Далі впливають приклади синтезу.

Синтез S85: Розчин S26 (19 ммоль), дитретбутидикарбоната (11 ммоль) і триетиламіну (12 ммоль) у хлористому метилени (100 мол) перемішують при кімнатній температурі протягом 5 годин. Реакційну суміш промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію (10 мол) і екстрагують водяний шар хлористим метиленом (2x15 мол). Об'єднані органічні шари сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі, одержуючи S85 у вигляді безбарвної олії (2,90 м, 98% вихід).

Синтез S86: До розчину S85 (2,36 м, 8 ммоль) у хлористому метилени (100 мол) при -78°C додають по краплях BBr<sub>3</sub> (1,0 М розчин у хлористому метилени) (18 мол, 18 ммоль). Розчин нагрівають до кімнатної температури і гасять реакційну суміш метанолом (100 мол) і концентрують у вакуумі. Продукт S86 очищують колонковою хроматографією.

Синтез S87: До розчину S86 (6 ммоль) у хлористому метилени (40 мол) при 0°C додають триетиламін (7 ммоль), потім ангідрид трифторметилсульфоніла (7 ммоль). Розчин перемішують при кімнатній температурі протягом 30 минут і гасять реакційну суміш водою (10 мол). Водяний шар екстрагують хлористим метиленом (2x15 мол), а об'єднані органічні шари сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі. Сирий продукт очищують флеш-хроматографією на силікагелі, одержуючи S87 з 75% виходом.

Синтез S88: Суміш S87 (1 ммоль), морфоліну (8 мол), трис(добензилиденацетон)дипалладія(0) (5 мол. %), 2-(дитретбутилфосфіно)бифеніла (20 мол. %) і фосфату калію (1,2 ммоль) нагрівають при 80°C в запаяній трубці протягом 12 годин. Реакційну суміш прохолоджують до кімнатної температури, розбавляють хлористим метиленом (50 мол) і

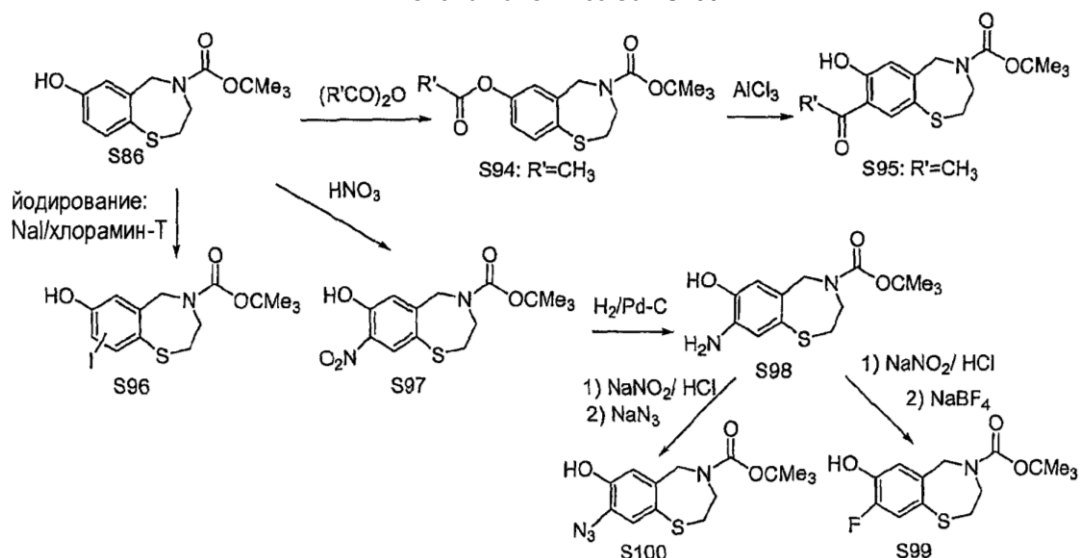
промивають водою (10 мол). Водяний шар екстрагують хлористим метиленом (2x15 мол), а об'єднані органічні шари сушать над сульфатом магнію і концентрують у вакуумі. Сирий продукт очищують флеш-хроматографією на силікагелі, одержуючи S88 з 81% виходом.

Синтез S89: Розчин S87 (1 ммоль), бензолтіола (2 ммоль) і i-PR<sub>3</sub>NEt (2 ммоль) у CH<sub>3</sub>CN (20 мол) нагрівають при 80°C протягом 18 годин. Після охолодження додають етилацетат (30 мол), а потім промивають 1н HCl, водою, а потім 1н NaOH. Після сушіння над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> розчин концентрували. Продукт S89 очищали хроматографією з виходом 59%. Альтернативним чином, S89 одержують кип'ятінням зі зворотним холодильником S87 з бензолтіолом у діоксане протягом 10 годин з використанням i-PR<sub>3</sub>NEt/Pd2(dba)<sub>3</sub>/xantphos як каталізатор.

Синтез S90: До розчину S87 (1 ммоль) у діоксані (10 мол) додають DQ233 (2 ммоль), фенілборонову кислоту (1 ммоль) і Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub> (0,11 ммоль) і перемішують дану суміш при 90°C протягом 16 годин. Реакційну суміш прохолоджують до 25°C, розбавляють CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 мол), промивають водою (10 мол) і упарюють органічну фазу досуха у вакуумі. У результаті очищення хроматографією на колонку одержують S90 з 40% виходом.

Синтез S92: До розчину S87 (1,0 ммоль) у ДМФА (5 мол) додають ціанід цинку (1 ммоль) і Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub> (0,11 ммоль). Реакційну суміш перемішують і нагрівають при 100°C протягом 1 години, потім прохолоджують, розбавляють водою (50 мол) і 2 М сарною кислотою (5 мол) і екстрагують EtOAc (3x). Об'єднані органічні екстракти промивають насиченим розчином солі (2x), сушать над сульфатом магнію, фільтрують і упарюють у вакуумі. Продукт S92 очищують колонковою хроматографією на силікагелі з 80% виходом.

Схема 15: Синтез S94-S100



Синтез S94: До розчину S86 (1,0 ммоль) у  $CH_2Cl_2$  (10 мол) додають при 0°C оцтовий ангідрид (1,2 ммоль) і триетиламін (1,3 ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі, потім промивають  $H_2O$ . Після сушіння над  $Na_2SO_4$  розчинник випарюють, а продукт S94 (вихід 98% за даними ЯМР) використовують у наступній реакції без додаткового очищення.

Синтез S95: До розчину, що перемішується, S84 (0,5 ммоль) у бензолі (20 мол) додають по краплях безводний  $AlCl_3$  (0,6 ммоль). Реакційну суміш кип'ятять зі зворотним холодильником 5 годин і виливають на здрібнений лід (10 г). Після екстрагування і концентрування продукт S95 очищують колонковою хроматографією на силікагелі з 83% виходом.

Синтез S96: До розчину S86 (0,1 ммоль) у метанолі (5 мол) додають Na (10 мг, надлишок) і хлорамін-т (0,3 ммоль). Реакційну суміш перемішують протягом 30 минут і гасять розчином  $Na_2S_2O_3$ . Розчинник випарюють. Продукт очищують колонковою хроматографією на силікагелі, одержуючи суміш моно-йодированих або ди-йодированих продуктів із загальним виходом 60%.

Синтез S97: S86 (3 ммоль) додають до концентрованого  $H_2SO_4$  (2 мол). До суміші, що перемішується, повільно додають по краплях концентровану  $HNO_3$  (2 мол). Через 10 хвилин реакційну суміш виливають на здрібнений лід (5 г) і нейтралізують  $Na_2CO_3$  до pH=7. Нітро-

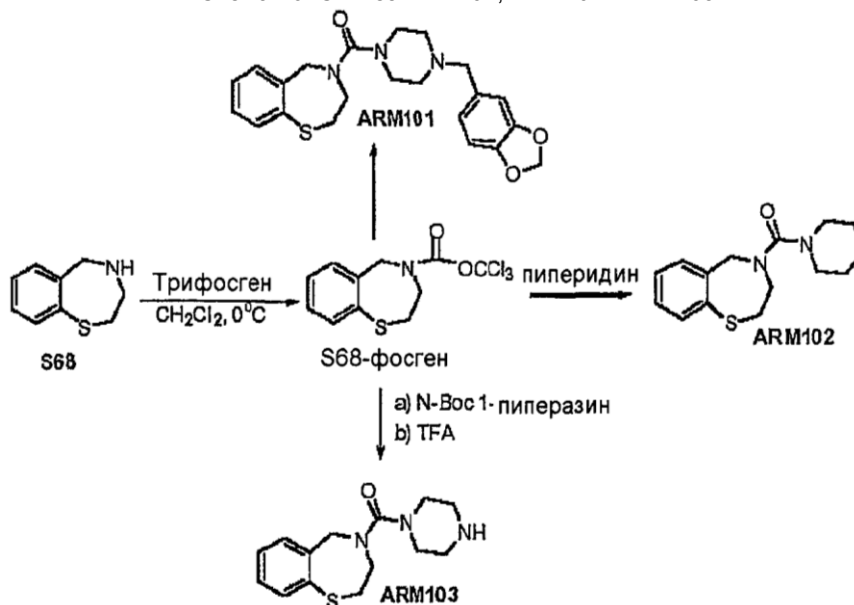
проміжну сполуку зі знятим Вос-захистом виділяють екстракцією  $EtOAc$  і переводять назад у S97 реакцією з Вос20. У результаті очищення колонковою хроматографією на силікагелі одержують S97 з 78% виходом.

Синтез S98: У суміш S97 (2 ммоль) і 10% Pd/C (0,1 г) у метанолі (20 мол) барботують газоподібний  $H_2$  протягом 2 годин. Після фільтрування і концентрування аміний продукт використовують у наступних реакціях без додаткового очищення.

Синтез S99 і S100: S98 (1 ммоль) розчиняють у водяній HCl (2 ммоль HCl, 10 мол  $H_2O$ ). До цього розчину повільно додають при 0°C розчин нітриту натрію (1 ммоль) у воді (5 мол). Реакційну суміш перемішують при 0°C протягом 1 години, потім додають по краплях Na3 (2 ммоль) у воді (2 мол) при 0°C. Отриману суміш перемішують при 0°C протягом 1 години і при кімнатній температурі протягом ночі. Продукт екстрагують етилацетатом і промивають насиченим розчином гідрокарбонату натрію і водою. Органічний шар сушать над безводним сульфатом натрію і концентрують, одержуючи сирий продукт S98. У результаті очищення колонковою хроматографією на силікагелі одержують продукт із 71% виходом. Аналогічним чином S99 одержують продукт із 60% виходом.

Синтез S101, S102 і S103 (називаних також ARM101, ARM102 і ARM103, відповідно) можна здійснити, як показано на схемі 16. Далі впливають приклади синтезу.

Схема 16: Синтез ARM101, ARM102 і ARM103

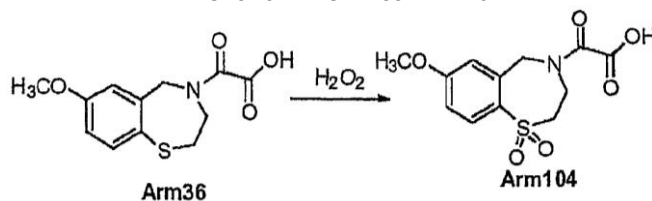


Синтез S101: Розчин S68 (165 мг, 1 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 мол) проохолоджували до  $0^\circ\text{C}$ . До даного розчину додавали трифосген (150 мг, 0,5 ммоль) і піридин (0,5 мол, надлишок) і перемішували при  $0^\circ\text{C}$  протягом 1 години. Без очищення отриманий S68-фосген у реакційній суміші обробляли 1-піперонілпиперазином (233 мг, 1,1 ммоль) при  $0^\circ\text{C}$ . Після перемішування при  $0^\circ\text{C}$  протягом 1 години реакційну суміш промивали  $\text{H}_2\text{O}$  (2x10 мол), 1н  $\text{HCl}$  (2x10 мол) і насиченим  $\text{NaHCO}_3$  (2x10 мол) і видаляли розчинники при зниженому тиску. У результаті очищення колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$  одержували ARM101 з виходом 80%. Структуру продукту підтверджували методами ядерного магнітного резонансу (ЯМР), мас-спектрометрії (МС) і/або елементним аналізом.

Синтез S102: S102 синтезували з S68 тим же способом, що використовували для синтезу S101, за винятком того, що замість 1-піперонілпиперазину використовували піперидин. Структуру продукту підтверджували методами ядерного магнітного резонансу (ЯМР), мас-спектрометрії (МС) і/або елементним аналізом.

Синтез S103: S103 синтезували з S68 тим же способом, що використовували для синтезу S101, за винятком того, що замість 1-піперонілпиперазину використовували N-Бос 1-пиперазин, а на наступній стадії Бос-групу знімали трифтороцтовою кислотою (TFA). Структуру продукту підтверджували методами ядерного магнітного резонансу (ЯМР), мас-спектрометрії (МС) і/або елементним аналізом.

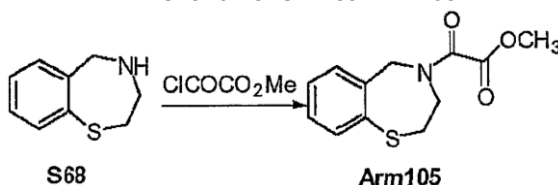
Схема 17: Синтез ARM104



Синтез S104 (ARM104) можна здійснити, як показано на схемі 17. Далі впливає приклад синтезу: Суміш ARM036 (S36) (27 мг, 0,1 ммоль), 50%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1 мол) і  $\text{MeOH}$  (3 мол) перемішували при кімнатній температурі протягом 2 днів для одержання продукту ARM104. Для моніторингу зникнення ARM036 і появи продукту ARM104 ви-

користували мас-спектрометрію (МС). Розчинники видаляли при зниженому тиску, а продукт очищали перекристалізацією. Кінцевий вихід складав 26 мг ARM104 при чистоті 85%. Структуру кінцевого продукту визначали методами ядерного магнітного резонансу (ЯМР) і/або мас-спектрометрії (МС).

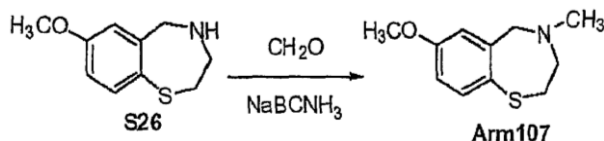
Схема 18: Синтез ARM105



Синтез S105 (ARM105) можна здійснити, як показано на схемі 18. Далі впливає приклад синтезу: До розчину, що перемішується, S68 (80 мг, 0,48 ммоль) і піридину (0,1 мол, надлишок) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 мол) при  $0^\circ\text{C}$  додавали по краплях  $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{Cl}$  (70 мг, 0,58 ммоль). Реакційну суміш перемішували при  $0^\circ\text{C}$  протягом 2 годин і

промивали 1н  $\text{HCl}$ , насиченим розчином гідрокарбонату натрію і водою. Проводили видалення розчинників і очищення колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$  для одержання продукту ARM105 у вигляді білої твердої речовини (вихід: 95 мг, 94%).

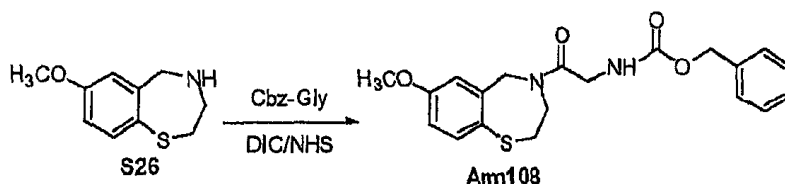
Схема 19: Синтез ARM107



Синтез S107 (ARM107) можна здійснити, як показано на схемі 19. Далі впливає приклад синтезу: До S26 (180 мг, 0,92 ммоль) у  $\text{MeOH}$  (20 мол) додавали 30% розчин  $\text{CH}_2\text{O}$  (1,5 мол, надлишок) і ціаноборгідрид натрію ( $\text{NaBCNH}_3$ ) (0,4 м, надлишок). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі і підтримували pH розчину

приблизно при pH 4-5 за рахунок додавання нескількох крапель 1н  $\text{HCl}$ . Через 3 години розчинники видаляли при зниженому тиску. Залишок розчиняли в 20 мол етилацетата і промивали  $\text{H}_2\text{O}$  і насиченим  $\text{NaHCO}_3$  (2x10 мол). Розчинники видаляли, а ARM107 очищали колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ , одержуючи вихід: 170 мг, 93%.

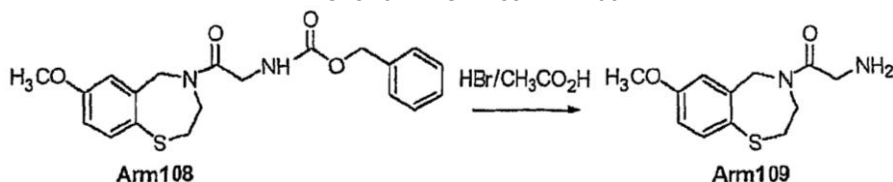
Схема 20: Синтез ARM108



Синтез S108 (ARM108) можна здійснити, як показано на схемі 20. Далі впливає приклад синтезу: Суміш N-бензилоксикарбонилгліцину ( $\text{Cbz-Gly}$ , 129 мг, 0,61 ммоль), диізопропілкарбодііміду ( $\text{DIC}$ , 90 мг, 0,71 ммоль), N-гідроксисукциніміду ( $\text{NHS}$ , 70,4 мг, 0,71 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 мол) перемішували протягом 0,5 години при кімнатній

температурі. До даної суміші додавали S26 (100 мг, 0,51 ммоль) і перемішували суміш при кімнатній температурі протягом ночі. Після промивання 1н  $\text{HCl}$  (2x10 мол) і насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  (2x10 мол) розчинники видаляли випарюванням. Продукт ARM108 очищали колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ , одержуючи вихід 120 мг, 61%.

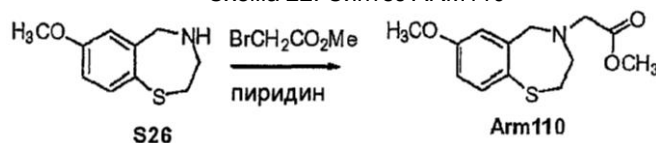
Схема 21: Синтез ARM109



Синтез S109 (ARM109) можна здійснити, як показано на схемі 21. Далі впливає приклад синтезу: ARM108 (40 мг, 0,1 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 мол) обробляли 1 мол 30%  $\text{HBr}/\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ . Після перемішування при кімнатній температурі протягом ночі реакційну суміш упарювали при зниженому тиску. Залишок розчиняли в  $\text{MeOH}$  (3 мол) і обробляли пропіленоксидом (1 мол). Розчинники

видаляли при зниженому тиску, у результаті одержували сирий ARM109, що піддавали додатковому очищенню, розчиняючи в 0,15н  $\text{HCl}$   $\text{H}_2\text{P}$  розчин (3,5 мол), з наступним промиванням етилацетатом (3 мол) і розпарюванням. Вихід ARM109 складав 28,3 мг, 95% (білий порошок,  $\text{HCl}$  сіль).

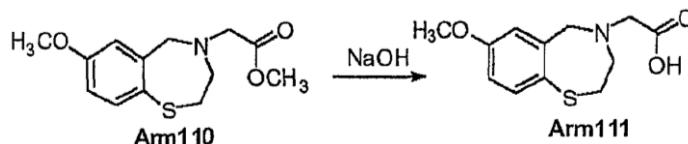
Схема 22: Синтез ARM110



Синтез S110 (ARM110) можна здійснити, як показано на схемі 22. Далі впливає приклад синтезу: Суміш S26 (100 мг, 0,51 ммоль) і метил 1-бромацетата (100 мг, 1,2 екв.) і піридину (50 мг) у ДМФА (5 мол) перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. До даної суміші додавали

етилацетат (50 мол) і промивали насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  (2x10 мол) і водою (2x10 мол). Продукт ARM110 у вигляді олії очищали колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ , одержуючи вихід 32 мг, 23%.

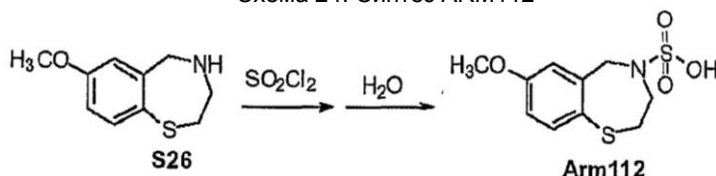
Схема 23: Синтез ARM111



Синтез S111 (ARM111) можна здійснити, як показано на схемі 23. Далі впливає приклад синтезу: До суміші ARM110 (16 мг, 0,06 ммоль) у MeOH (2 мол) додавали 1н NaOH (0,1 мол) і перемішували суміш при кімнатній температурі протягом ночі. Розчинники видаляли при зниженому тиску, а залишок розчиняли в H<sub>2</sub>O (10 мол). Во-

дяну фазу промивали етилацетатом (2x5 мол) і підкисляли 1н HCl до pH=4. У результаті виділення розчинників при зниженому тиску одержували сирий ARM111. NaCl видаляли за допомогою етанолу, одержуючи чистий ARM111 у вигляді твердої речовини з виходом 13 мг, 87%.

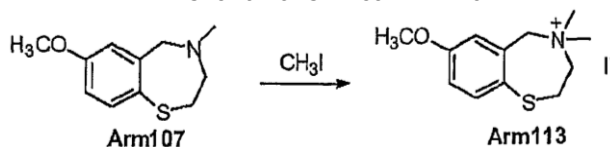
Схема 24: Синтез ARM112



Синтез S112 (ARM112) можна здійснити, як показано на схемі 24. Далі впливає приклад синтезу: До суміші S26 (100 мг, 0,51 ммоль) і піридину (100 мг) у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 мол) додавали по краплях SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (89 мг, 1,2 екв.) при 0°C і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Розчинники видаляли при зниженому

тиску, а залишок розчиняли в 5,5 мол розчину NaOH (5 мол H<sub>2</sub>O + 0,5 мол 1н NaOH). Водяний розчин промивали етилацетатом (2x5 мол) і підкисляли 1н HCl до pH 4. Водяну фазу екстрагували етилацетатом (3x5 мол) і упаривали етилацетатну фазу при зниженому тиску, одержуючи ARM112 у вигляді порошку з виходом 9 мг.

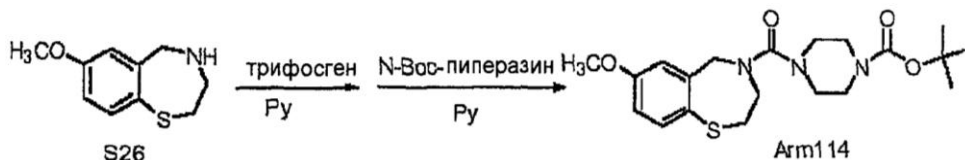
Схема 25: Синтез ARM113



Синтез S113 (ARM113) можна здійснити, як показано на схемі 25. Далі впливає приклад синтезу: ARM107 (45 мг, 0,21 ммоль) у етилацетате (2 мол) обробляли CH<sub>3</sub>I (200 мг, надлишок). Су-

міш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, а продукт ARM113 у вигляді білої твердої речовини виділяли фільтруванням, одержуючи вихід 69 мг, 97%.

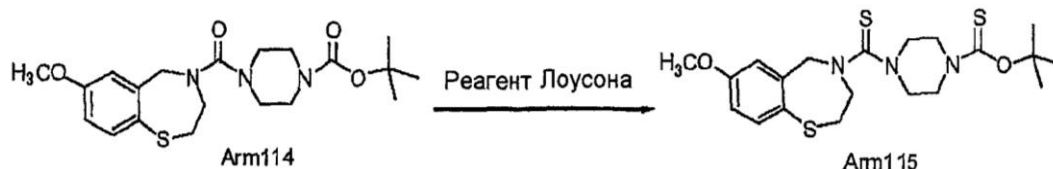
Схема 25A: Синтез ARM114



Синтез S114 (ARM114) можна здійснити, як показано на схемі 25A. Далі впливає приклад синтезу: S26 (195 мг, 1 ммоль) у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 мол) прохолоджували до 0°C. До даного розчину додавали трифосген (150 мг, 0,5 ммоль) і піридин (0,5 мол, надлишок) і перемішували при 0°C протягом 1 години. Без очищення отриманий S26-фосген у реакційній суміші обробляли N-Вос 1-

піперазином (200 мг, 1,1 ммоль) при 0°C. Після перемішування при 0°C протягом 1 години реакційну суміш промивали H<sub>2</sub>O (2x10 мол), 1н HCl (2x10 мол) і насиченим NaHCO<sub>3</sub> (2x10 мол) і видаляли розчинники при зниженому тиску. У результаті очищення колонковою хроматографією на SiO<sub>2</sub> одержували ARM114 з виходом 80%.

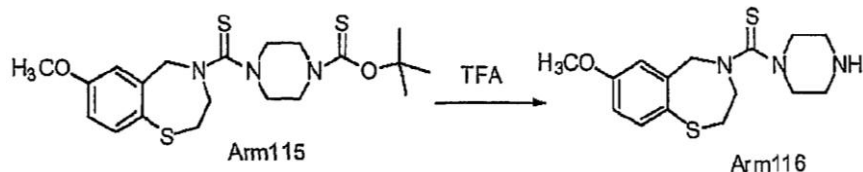
Схема 26: Синтез ARM115



Синтез S115 (ARM115) можна здійснити, як показано на схемі 26. Далі впливає приклад синтезу: Суміш ARM114 (200 мг, 0,49 ммоль) і реагенту Лоусона (400 мг) у толуолі (50 мол) перемішували при 90°C протягом 5 годин. Суміш

прохолоджували до кімнатної температури і промивали насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  (2x20 мол). Продукт ARM115 очищали колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ , одержуючи вихід 160 мг, 75%.

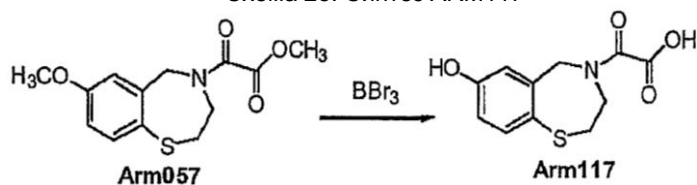
Схема 27: Синтез ARM116



Синтез S116 (ARM116) можна здійснити, як показано на схемі 27. Далі впливає приклад синтезу: Суміш ARM115 (10 мг, 0,02 ммоль) і трифтороцтової кислоти (TFA, 0,5 мол) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10

мол) перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин. У результаті випарювання розчинників при зниженому тиску одержували ARM116 з виходом 6 мг, 92%.

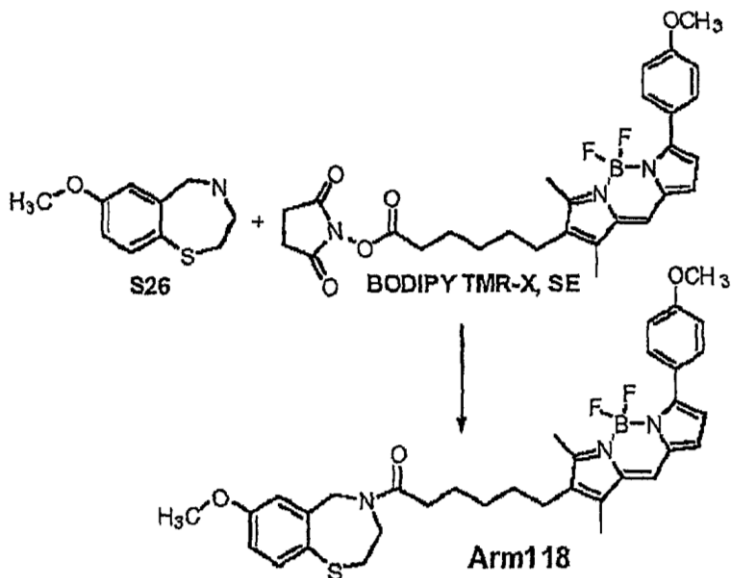
Схема 28: Синтез ARM117



Синтез S117 (ARM 117) можна здійснити, як показано на схемі 28. Далі впливає приклад синтезу: Розчин ARM057 (200 мг, 0,71 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 мол) прохолоджували до -78°C. До нього додавали 1M  $\text{BBr}_3$  у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 мол) і перемішували суміш при -78°C протягом 3 годин, а

потім нагрівали до кімнатної температури протягом ночі. Суміш промивали 1N  $\text{HCl}$  (2x10 мол) і  $\text{H}_2\text{O}$  (1x10 мол). Після видалення розчинників продукт ARM117 очищали колонковою хроматографією на  $\text{SiO}_2$ , одержуючи вихід 60 мг, 33%.

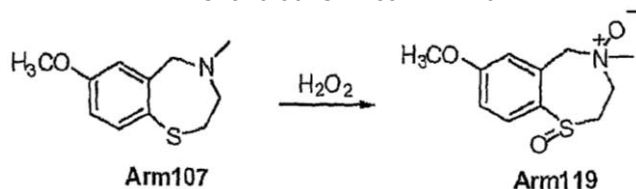
Схема 29: Синтез ARM118



Синтез S118 (ARM118) можна здійснити, як показано на схемі 29. Далі впливає приклад синтезу: S26 (3,6 мг, 0,018 ммоль) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 мол) обробляли BODIPY TMR-X, SE (Molecular Probes Inc.) (4 мг, 0,006 ммоль) протягом 3 годин. Суміш

промивали 0,01N  $\text{HCl}$  (2x1 мол) і насиченим  $\text{NaHCO}_3$  (2x1 мол). Після видалення розчинників при зниженому тиску одержували чистий ARM118 (98%).

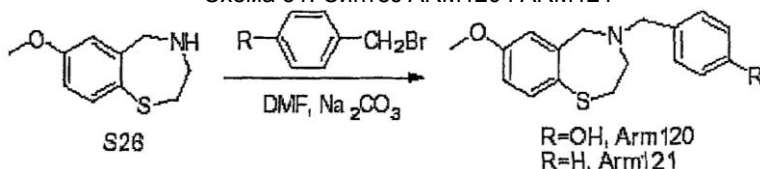
Схема 30: Синтез ARM119



Синтез S119 (ARM119) можна здійснити, як показано на схемі 30. Далі впливає приклад синтезу: Суміш ARM107 (50 мг, 0,24 ммоль), 50%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1 мол), MeOH (3 мол) перемішували при кімнатній температурі протягом 2 днів (для моні-

торингу зникнення ARM107 і утворення продукту використовували мас-спектрометрію). Розчинники видаляли при зниженому тиску, у результаті одержували ARM110 з виходом 26 мг, 45%.

Схема 31: Синтез ARM120 і ARM121



Синтез S120 (ARM120) і S121 (ARM121) можна здійснити, як показано на схемі 31. Далі впливає приклад синтезу: Суміш S26 (195 мг, 1 ммоль), бензилброміда (1,1 ммоль) і  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (10 ммоль) у ДМФА (DMF) (10 мол) перемішували протягом ночі. У реакційну суміш додавали етилацетат (30 мол), а потім реакційну суміш промивали  $\text{H}_2\text{O}$  (4x10 мол). Органічну фазу концентрували при зниженому тиску, а залишок очищали колонковою хроматографією, одержуючи S121 у вигляді білого порошку з виходом 280 мг, 98%. S120 синтезували аналогічним чином, але з використанням 4-ОН-бензилброміда замість бензилброміда.

Синтез S122 (ARM122) (LB21300-30). Далі впливає приклад синтезу: До охолодженого розчину сполуки S26 (250 мг, 1,28 ммоль, 1 еквівалент) у  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 мол) при  $0^\circ\text{C}$  додавали DIEA (0,67 мол, 3,8 ммоль, 3,0 еквіваленти), потім ацетоксиацетилхлорид (0,17 мол, 1,58 ммоль, 1,24 еквівалента). Після цього реакційну суміш перемішували при  $0^\circ\text{C}$  протягом 20 хв, розбавляли водяним розчином 1,0 М  $\text{HCl}$  (100 мол) і екстрагували  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x50 мол). Об'єднані органічні шари промивали ( $\text{H}_2\text{O}$ , сольовий розчин), сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фільтрували й упаривали досуха. Сирій продукт очищали хроматографією на колонку із силікагелем при градієнтном елююванні зі збільшенням полярності від 0 до 50% петролейним ефіром у етилацетаті. Придатні фракції поєднували, одержуючи бажану сполуку (350 мг, 93%).

Синтез S123 (ARM123) (LB21300-34). Далі впливає приклад синтезу: До розчину сполуки S122 (287 мг, 0,97 ммоль, 1 еквівалент) у MeOH (5 мол) і ТГФ (THF) (8 мол) при  $23^\circ\text{C}$  додавали  $\text{LiOH}$  (140 мг, 3,33 ммоль, 3,44 еквіваленти в еквіваленту в  $\text{H}_2\text{O}$  5 мол). Реакційну суміш перемішували при  $23^\circ\text{C}$  протягом 20 хв, розбавляли водяним розчином 1,0 М  $\text{HCl}$  (100 мол) і екстрагували  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x50 мол). Об'єднані органічні шари промивали ( $\text{H}_2\text{O}$ , сольовий розчин), сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фільтрували й упаривали досуха. Сирій продукт очищали хроматографією на колонку із силікагелем при градієнтном елююванні зі збільшенням полярності від 0 до 70% петролейним

ефіром у етилацетаті. Придатні фракції поєднували, одержуючи S123 (244 мг, 100%).

#### Приклад 5 - Ефективний спосіб скринінга

Були розроблені аналізи для скринінга біологічно активних малих молекул. Дані аналізи засновані на повторному зв'язуванні білка FKBP12 з RyR.

Високоєфективний аналіз для ефективного скринінга малих молекул розроблений на основі імібілізації FKBP12.6 (GST-гібридний білок) на 96-ямковому планшеті, покритому глутатіоном. У даний покритий FKBP12.6 планшет поміщують РКА-фосфорильований ріанодиновий рецептор 2 типу (RyR2) і інкубують з аналогами JTV-519 у різних концентраціях (10-100 нМ) протягом 30 хв. Після цей планшет промивають для видалення непов'язаного RyR2, а потім інкубують з антитілом до анти-RyR2 протягом 30 хв. Планшет знову промивають для видалення непов'язаного антитіла до анти-RyR2, а потім обробляють флуоресцентно-міченим вторинним антитілом. Дані з планшета зчитують за допомогою автоматичного флуоресцентного пристрою, що зчитує, для планшетів на предмет активності зв'язування.

В альтернативному аналізі RyR2 РКА-фосфорильований у присутності  $32\text{P}$ -АТФ. Радіоактивний РКА-фосфорильований RyR2 поміщують у покритий FKBP12.6 96-ямковий планшет у присутності аналогів JTV-519 у різних концентраціях (10-100 нМ) протягом 30 хв. Планшет промивають для видалення непов'язаного міченого радіоактивним ізотопом RyR2, а потім зчитують з нього дані за допомогою автоматичного пристрою, що зчитує, для планшетів.

#### Приклад 6 - Вплив сполук ARM036 на hERG струми

Вплив сполук даного винаходу на hERG струми досліджували при використанні культивованих людських ембріональних клітин бруньки (НЕДО 293), що стабільно трансфекували hERG кднк. Клітини НЕДО 293 не експресують ендогенний hERG. Клітини НЕДО 293 трансфекували плазмидой, що містить hERG кднк і ген резистентності до неомицину. Вибирали стабільні трансфектанти, культивуючи клітини в присутності G418. Тиск селекції підтримували за рахунок бе-



зупинної культури в присутності G418. Клітини культивували в Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient Mixture F-12 (D-MEM/F-12) з додаванням 10% фетальної телячої сироватки, 199 ед./мол пеніциліну G натрію, 10 мкг/мол сульфату стрептоміцину і 500 мкг/мол G418. Клітини для використання в електрофізіології вирощували в 35 мм чашках.

Реєстрацію електрофізіологічних даних (за допомогою патч-кламп методу на повній клітині) проводили при кімнатній температурі (18°C-24°C). Кожна лунка виступала як свій власний контроль. Вплив ARM0036 оцінювали при двох концентраціях: 10 і 100 мкМ. Кожну концентрацію тестували щонайменше на трьох лунках ( $n \geq 3$ ). Як позитивний контроль для блокування hERG використовували 90 нМ Cisapride (комерційно доступний від TOCRIS Bioscience). Для реєстрації дані лунки переносили в реєстраційну камеру і наливали зверху контрольний розчин носія. Розчин патч-пипетки для реєстрації даних на повній клітині містив 130 мМ аспартата калію, 5 мМ  $MgCl_2$ , 5 мМ EGTA, 4 мМ АТФ і 10 мМ HEPES. рН доводили до 7,2 за допомогою КН. Піпеточний розчин готували у вигляді порцій, готували аліквоти і зберігали в замороженому стані. Свіжу аліквоту розморожували і використовували щодня. Патч-пипетки робили зі скляної капілярної трубки за допомогою пуллера для мікропипеток P-97 (Sutter Instruments, Novato, CA). Для реєстрації даних на повній клітині використовували електрофізіологічний підсилювач. Перед перетворенням у цифрову форму дані реєстрації струму проходили низькочастотну фільтрацію при однієї п'ятої частоти вибірки.

Блокування початку і стійкого стану hERG струму визначали при імпульсній послідовності з фіксованими амплітудами (Обмежуючий преімпульс: +20 мВ протягом 2 секунд; тестовий імпульс: -50 мВ протягом 2 секунд) при повторенні з 10-секундними інтервалами, від підтримуючого напруги -80 мВ. Максимальний хвостовий струм визначали з інтервалом у 2 секунди до 50 мВ. Стійкий стан підтримували щонайменше протягом 30 секунд до застосування тестуемого або сполуки позитивного контролю. Моніторинг максимального хвостового струму здійснювали до досягнення нового стійкого стану. Концентрації тестуємих сполук застосовували кумулятивно в порядку зростання без промивання між застосуваннями.

Збір і аналіз даних здійснювали при використанні комплексу pCLAMP програм (Vre. 8.2) (Axon Instruments, Union City, CA). Стійкий стан визначали при обмеженні постійної швидкості зміни з часом (лінійна тимчасова залежність). Стійкий стан до і після застосування тестуємих сполук використовували для розрахунку процентної час-

тки струму, інгібованого при кожній концентрації. Дані концентрація-відгук вносили в рівняння виду:

$$\% \text{ блокування} = \{1 - 1/[\text{Тест}]IC_{50}N\} \times 100$$

де [Тест] являє собою концентрацію тестуємої сполуки,  $IC_{50}$  (інгібуюча концентрація 50) являє собою концентрацію тестуємої сполуки, що приводить до половини максимального інгібування,  $N$  є коефіцієнтом Хилла, а % блокування являє собою процентну частку hERG струму, інгібованого при кожній концентрації тестуємої сполуки. Нелінійний метод квадратів вирішували за допомогою вбудованого додаткового пристрою Solver для Excel 2000 (Microsoft, Redmond, WA). Для деяких сполук виявилось неможливим визначити  $IC_{50}$ , оскільки використане тестування сполуки в найвищих концентраціях не блокувало hERG канал на 50% або більше.

Приклад 7 - Вплив різних сполук на hERG струми

Численні сполуки винаходу були протестовані на предмет їхнього впливу на hERG струми. Тестували сполуки: ARM036-Na, ARM047, ARM048, ARM050, ARM057, ARM064, ARM074, ARM075, ARM076, ARM077, ARM101, ARM 102, ARM103, ARM104, ARM106, ARM107 і ARM26. Для порівняння тестували також вплив JTV-519 (називане у фір. ARM0XX) на hERG струми.

Реєстрацію електрофізіологічних даних проводили з використанням автоматичної патч-кламп системи PatchXpress 7000A (Molecular Devices). Кожна сполука тестували при 0,01, 0,1, 1 і 10 мМ, при цьому кожну концентрацію тестували в двох лунках ( $n > 2$ ). Тривалість витримування з кожної з тестованих концентрацій складала 5 хвилин. Інші аспекти протоколів експерименту були, власне кажучи, аналогічні аспектам, що описані в прикладі 6. Для деяких сполук виявилось неможливим визначити  $IC_{50}$ , оскільки використане тестування сполуки в найвищих концентраціях не блокувало hERG канал на 50% або більше.

Усі цитовані тут публікації, посилання, патенти і патентні заявки включені посиланням у всій повноті в тім же ступені, начебто кожна окрема заявка, або патент патентна заявка був зазначений конкретно й окремо для включення посиланням у всій повноті.

Незважаючи на те, що попередній винахід для ясності і зрозумілості був описаний у деяких деталях, з читання даного опису фахівцю в даній галузі техніки буде зрозуміло, що можна здійснити різні зміни у формі і деталях, не виходячи з обсягу винаходу в прикладеній формулі винаходу.

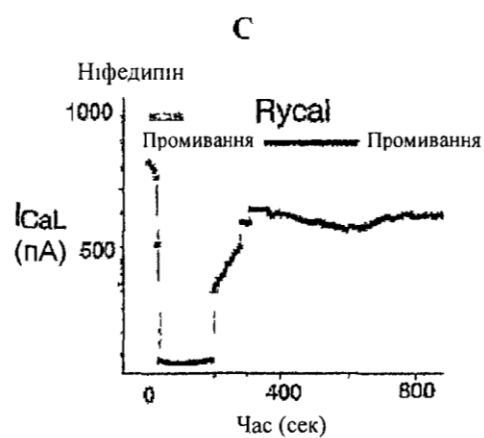
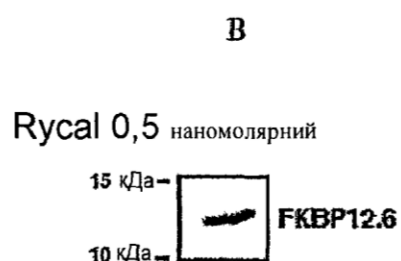
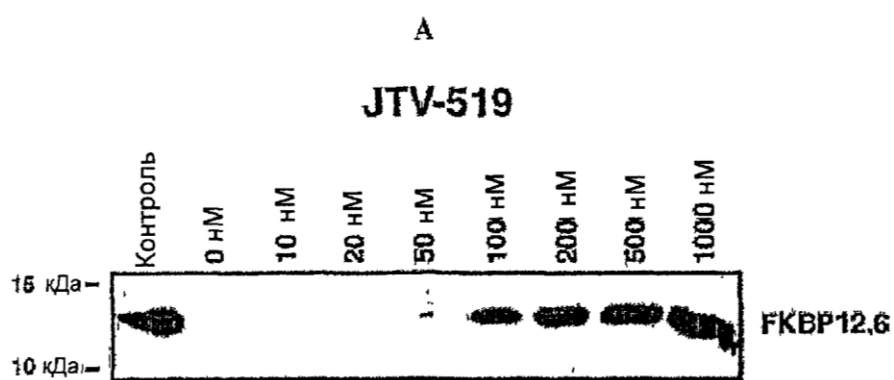


Fig. 1

D

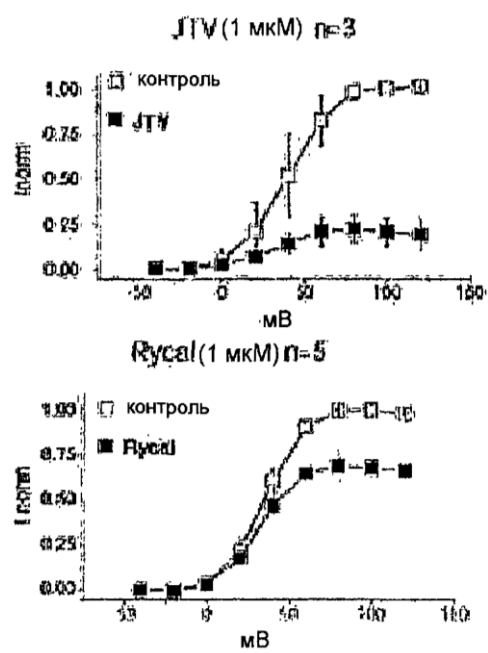


Fig. 1

ECG в спокої

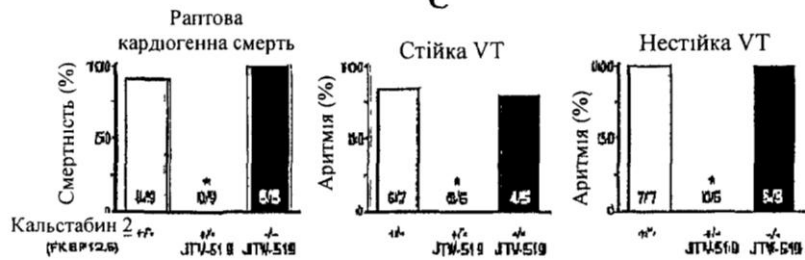


В

ECG після фізичних вправ + епінефрин

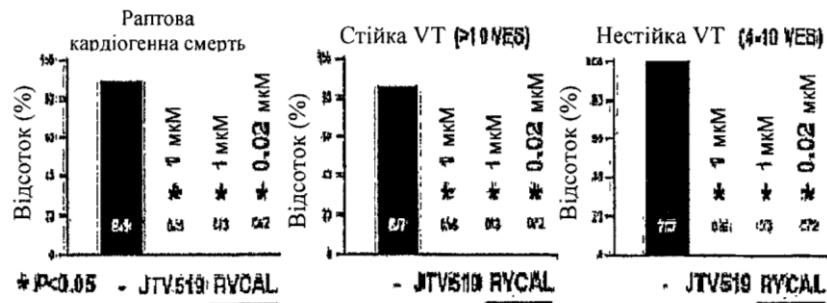


С

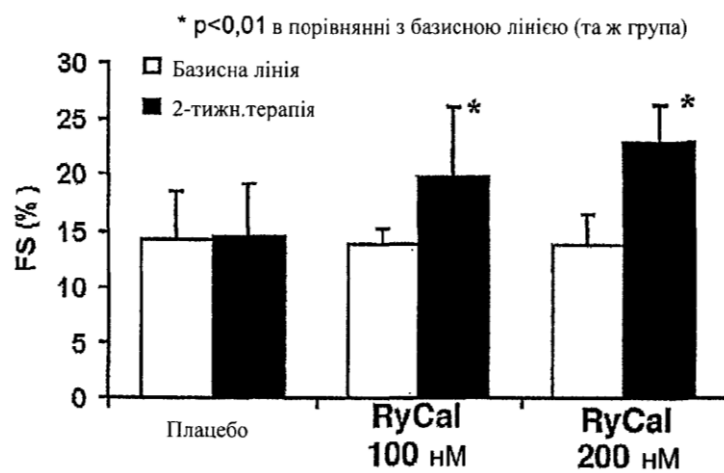


Фіг. 2

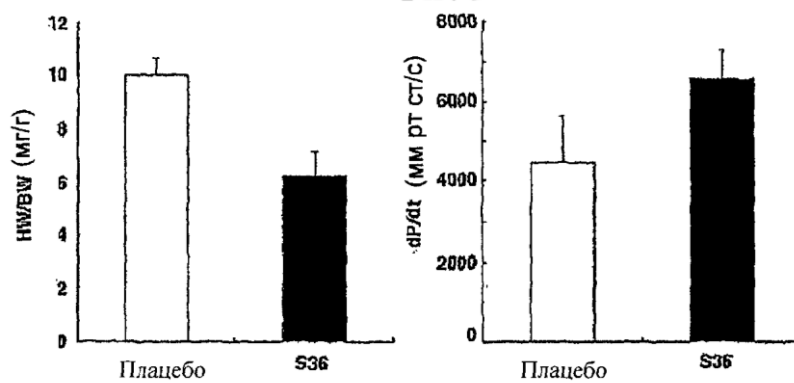
Д



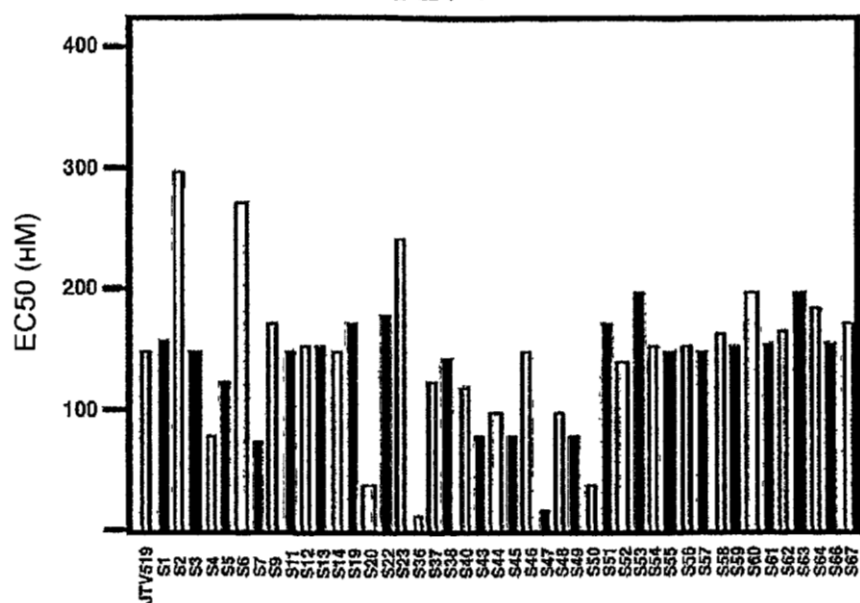
Фіг. 2



Фіг. 3



Фіг. 4



Фіг. 5

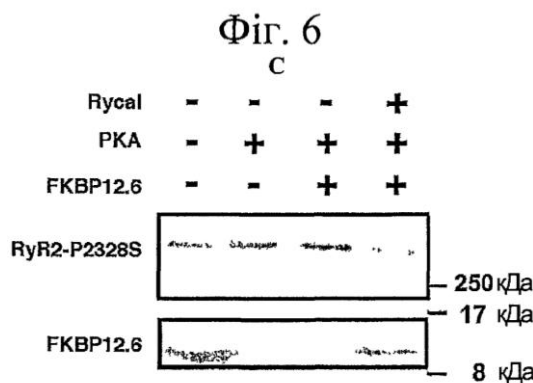
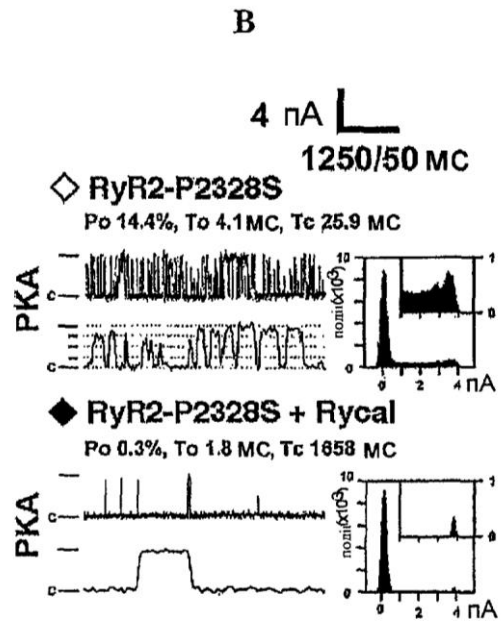
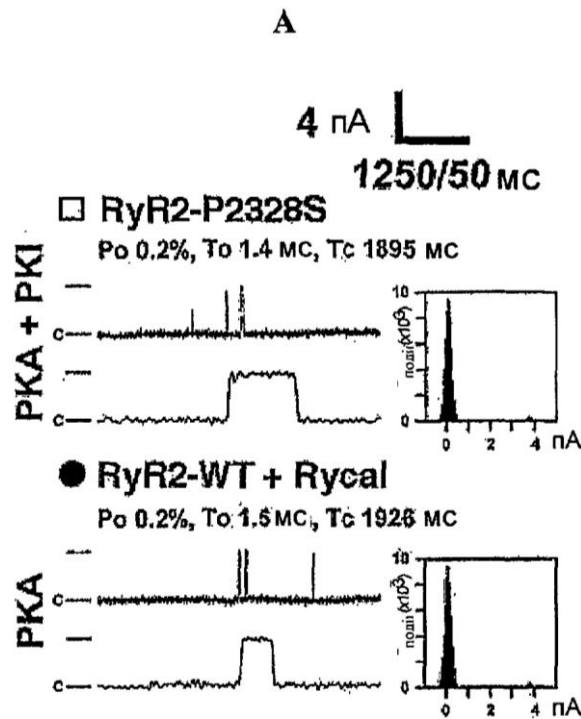
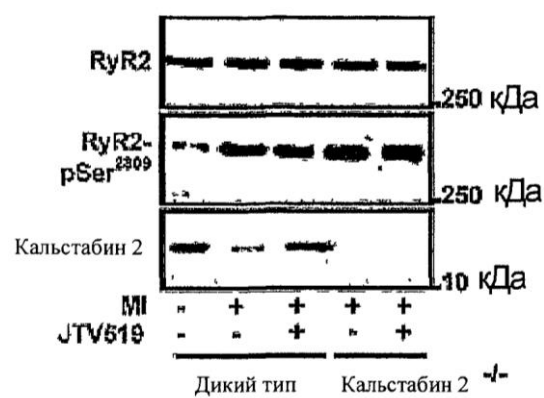
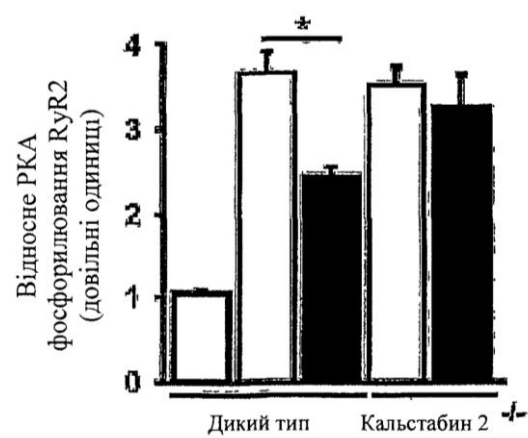


Fig. 6

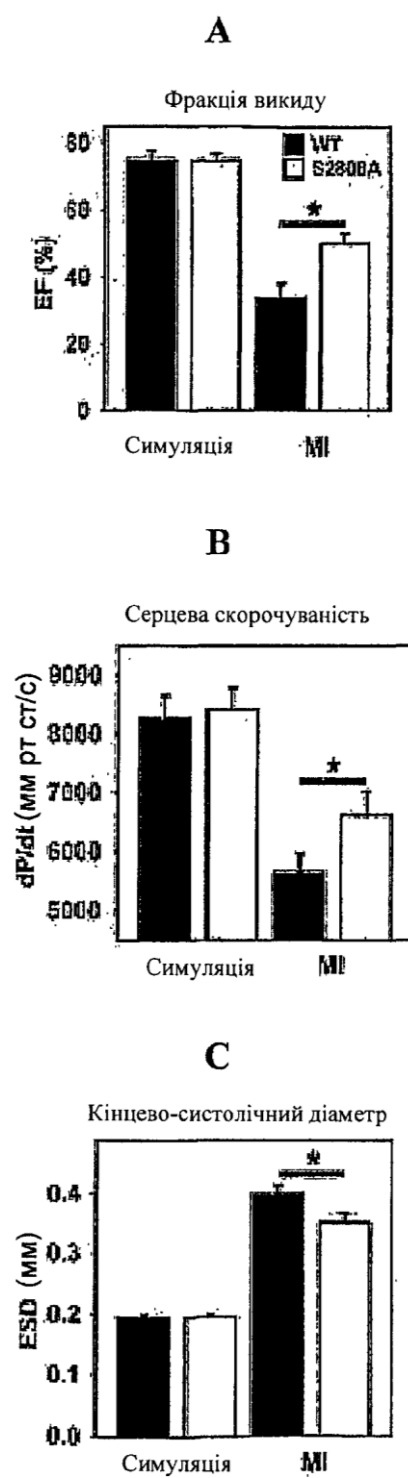
A



B

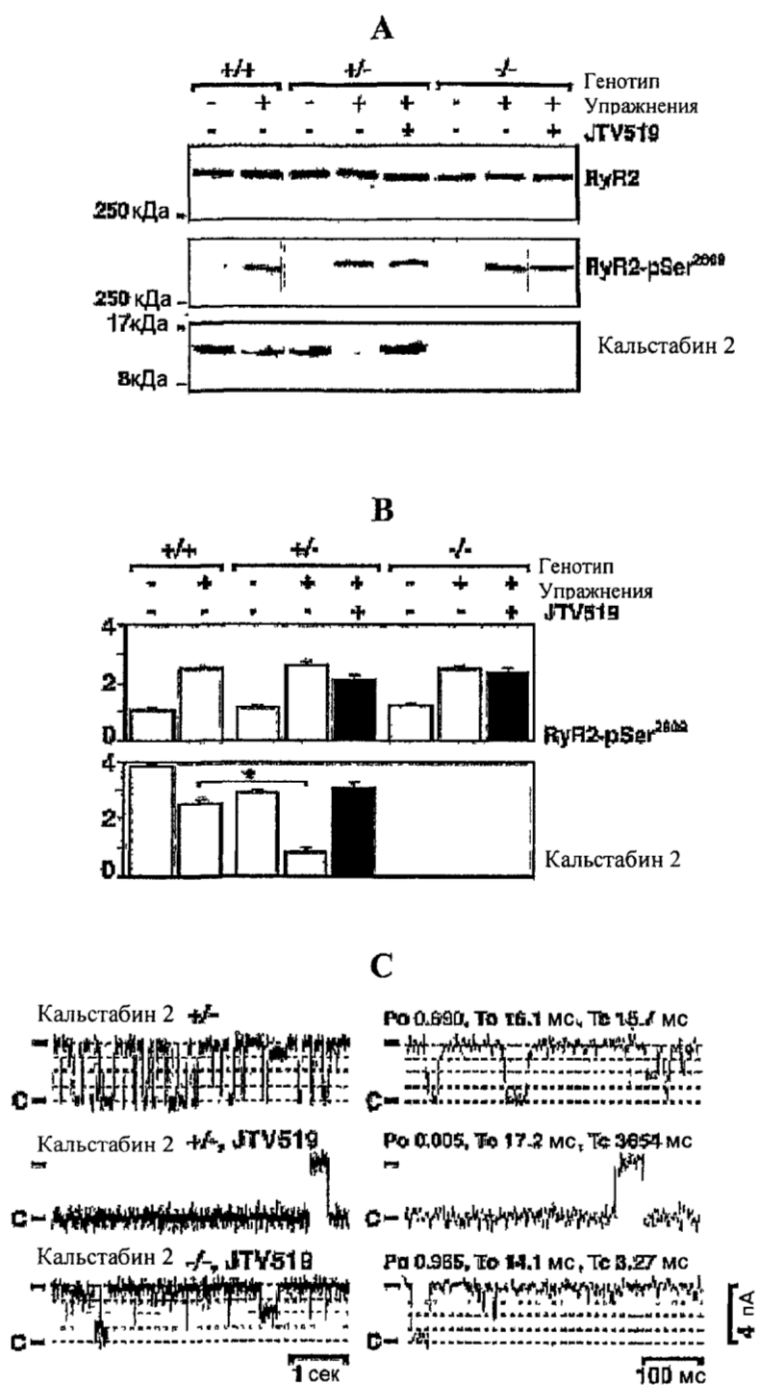


Фіг. 7

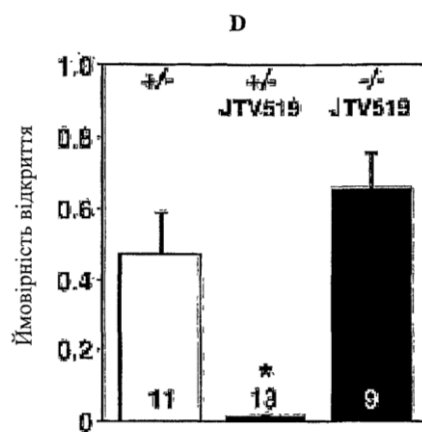


Фіг. 8

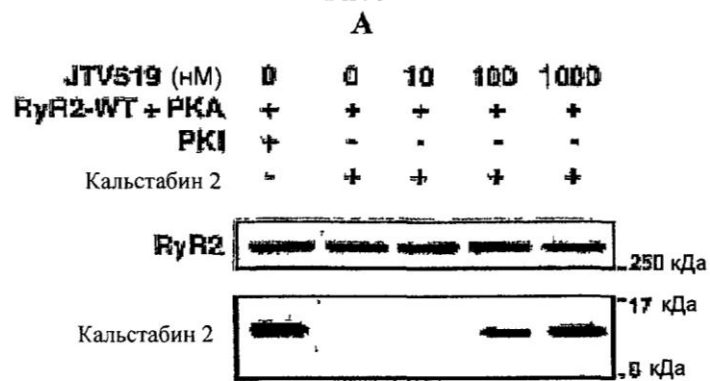
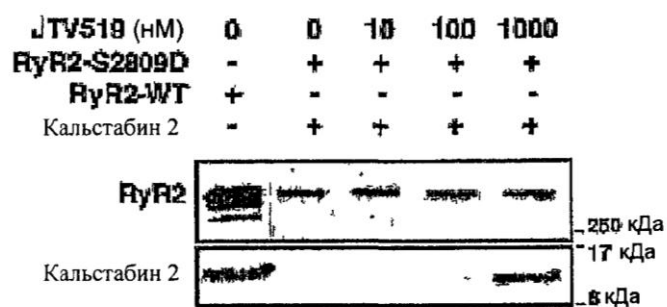
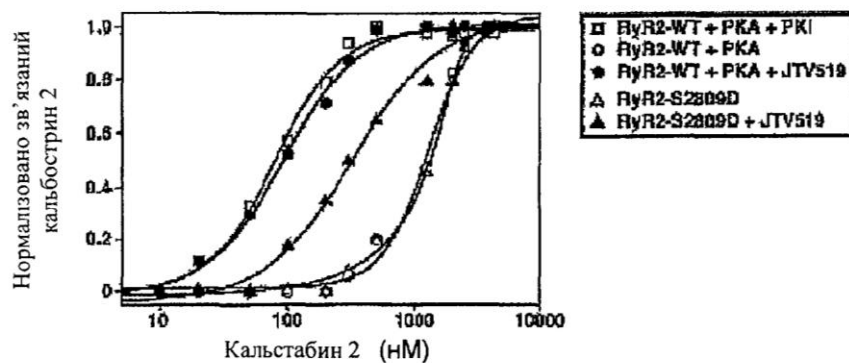




Фиг. 9

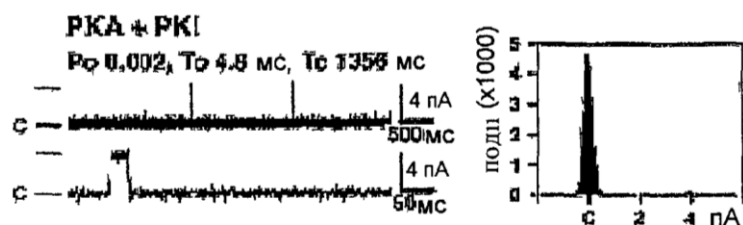


Фіг. 9

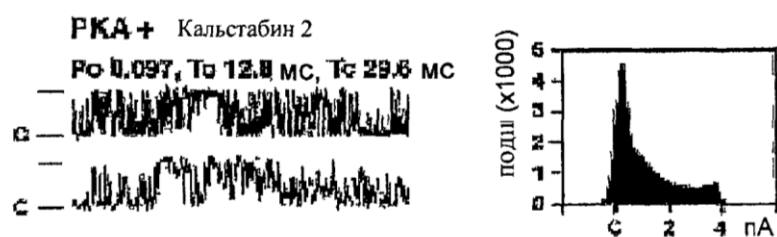
**B****C**

Фіг. 10

D



E



F

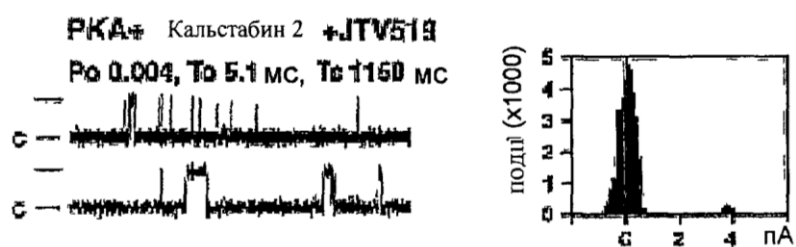
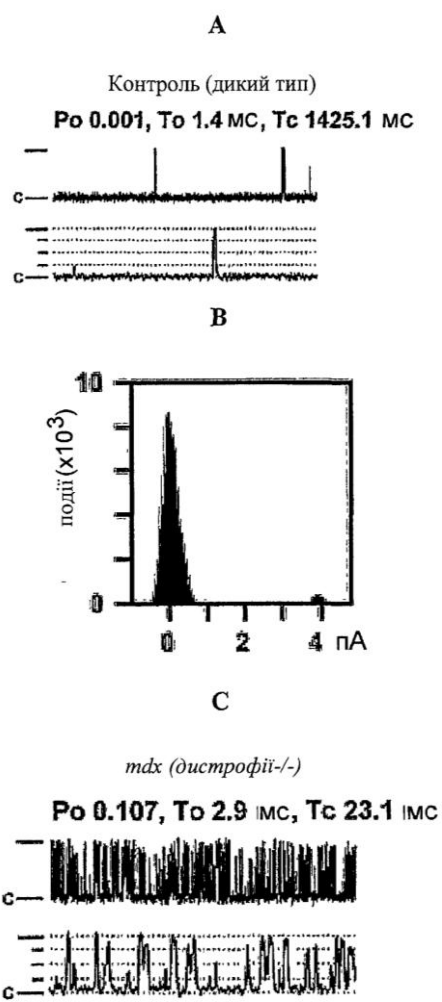
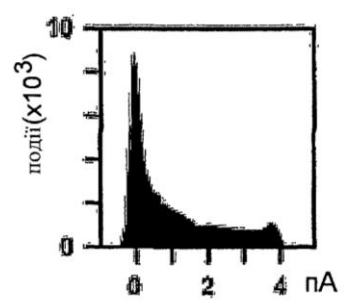


Fig. 10

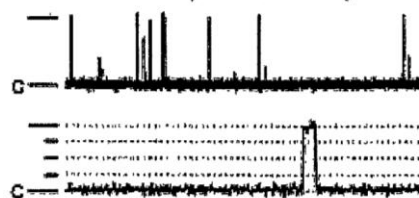


Фіг. 11

D



E

***mdx + JTV519*** **$P_o$  0.007,  $T_o$  1.6  $\mu$ s,  $T_c$  1031.6  $\mu$ s**

F

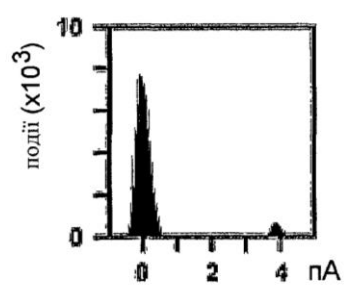
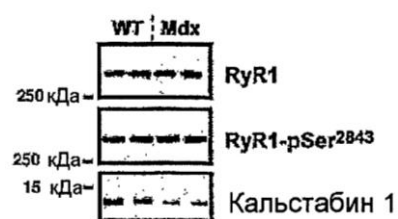


Fig. 11

A



B

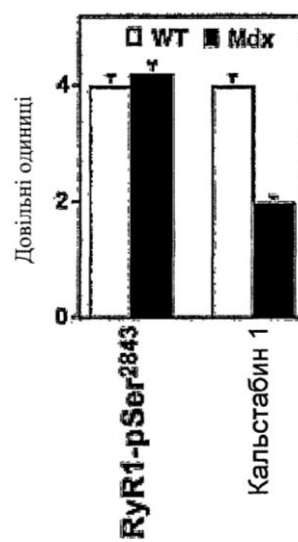
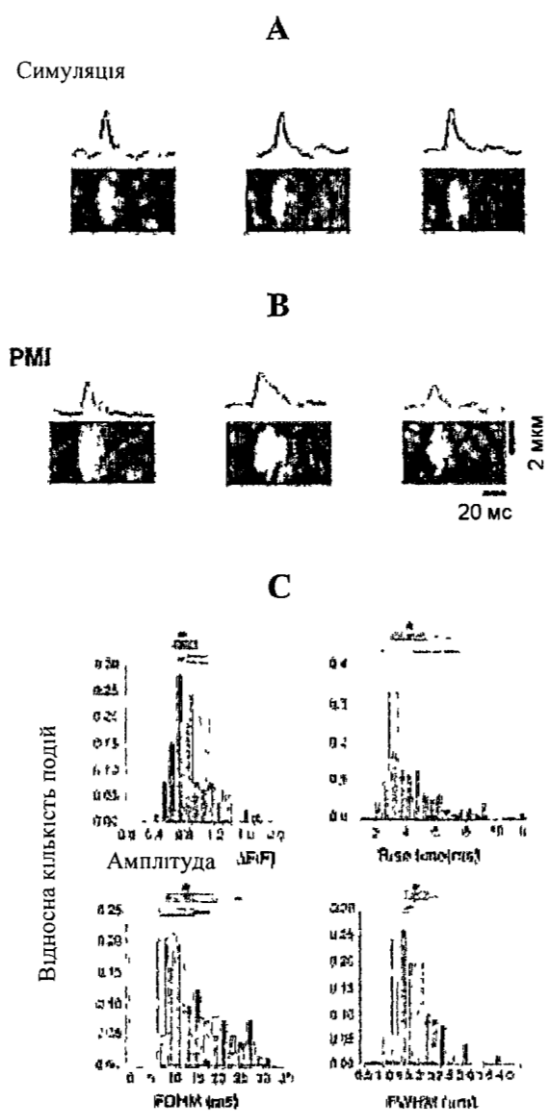
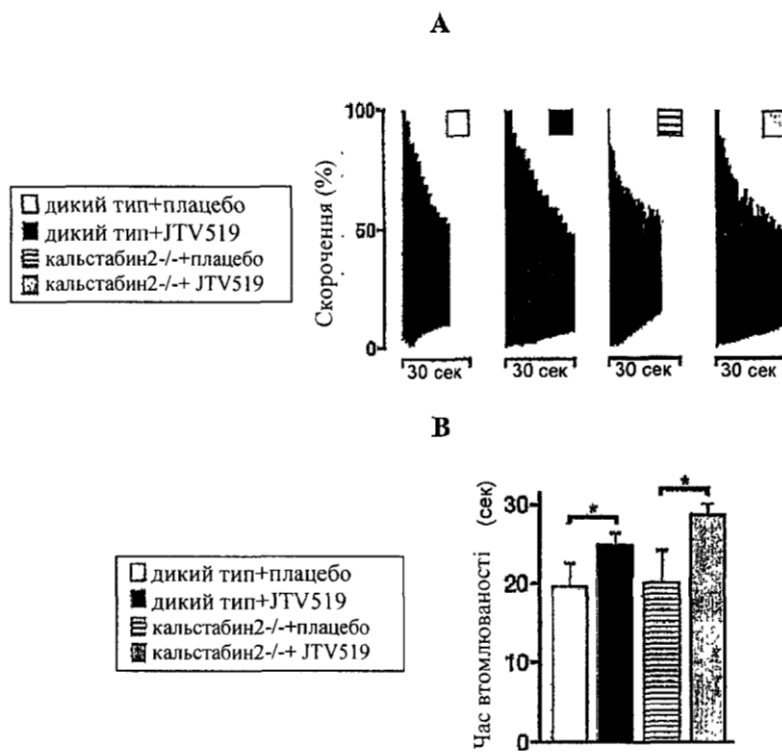


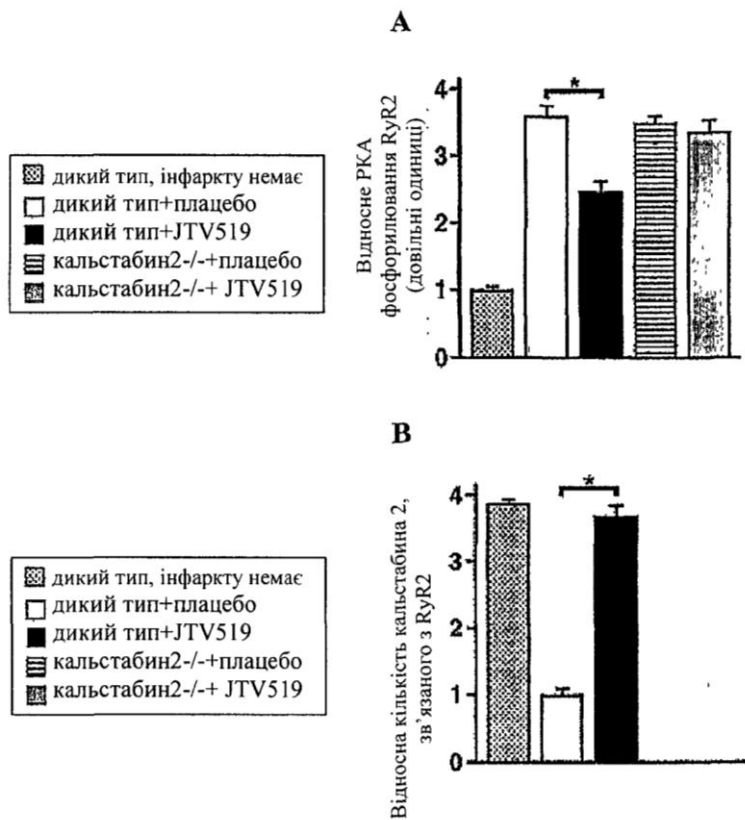
Fig. 12



Фіг. 13

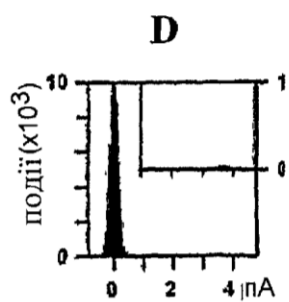
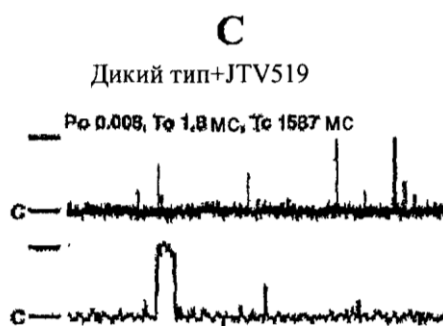
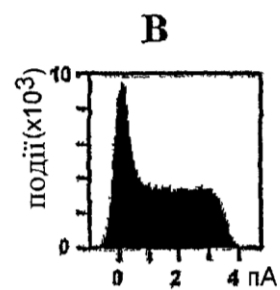
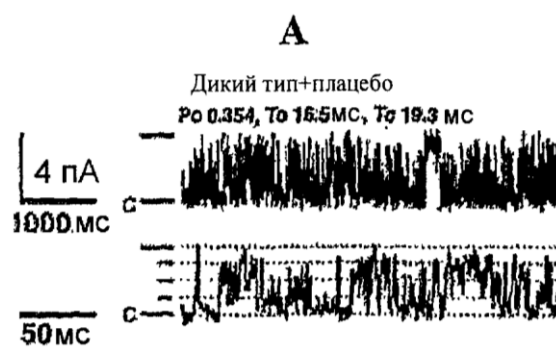


Фіг. 14



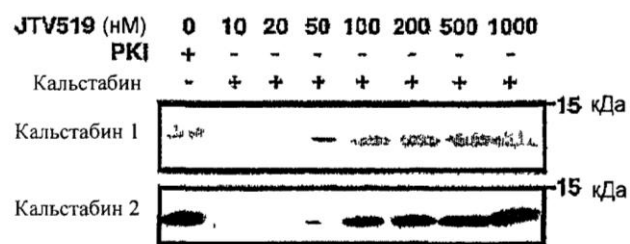
Фіг. 15



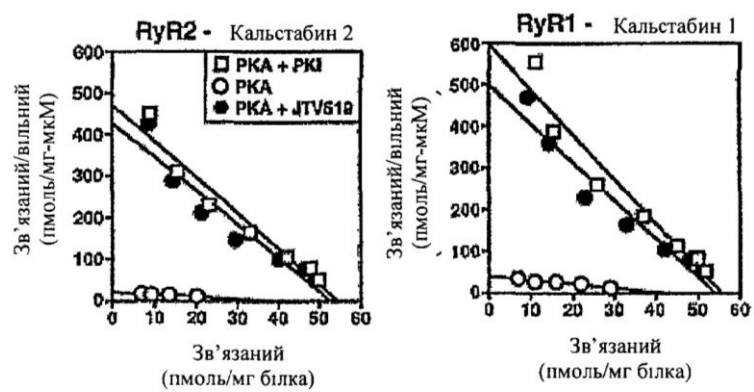


Фіг. 16

А



В



Фіг. 17

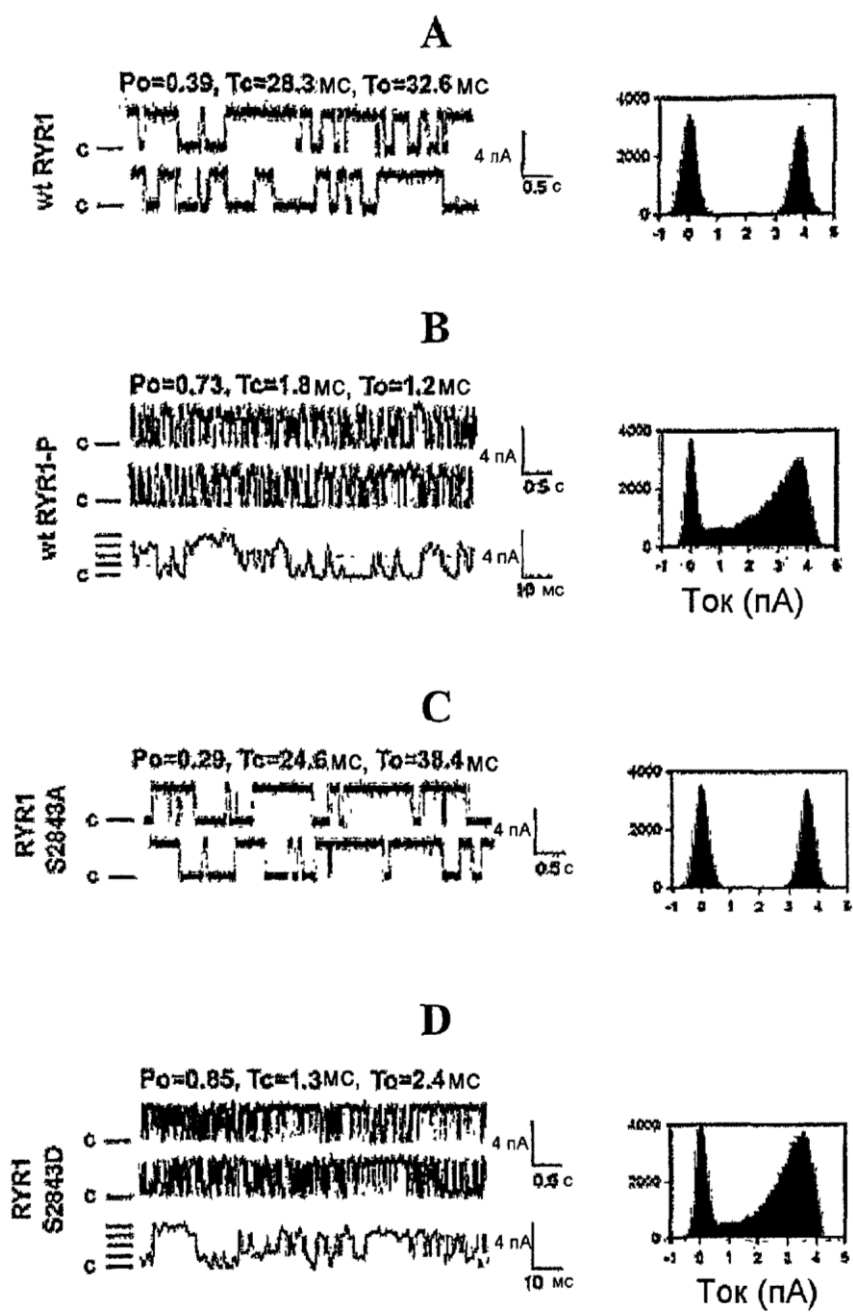
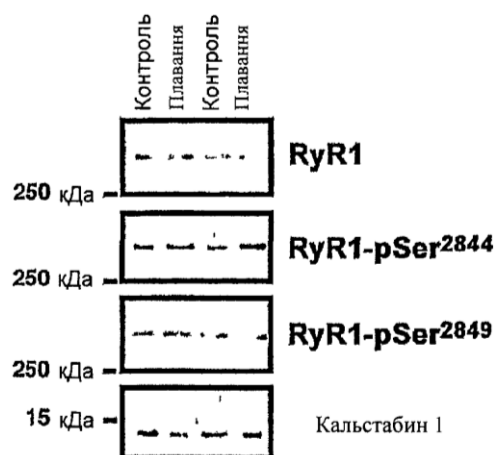


Fig. 18

A



B

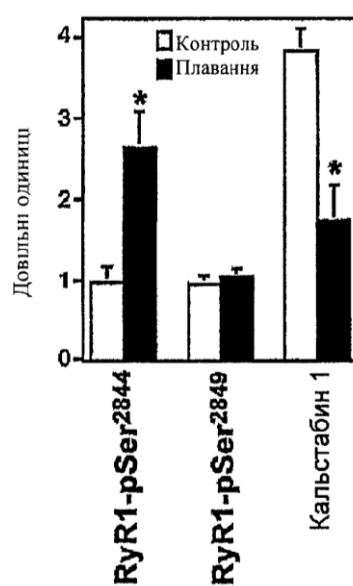
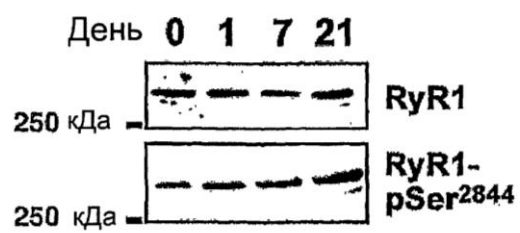
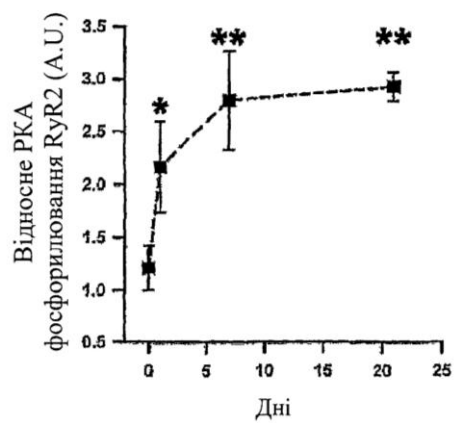


Fig. 19

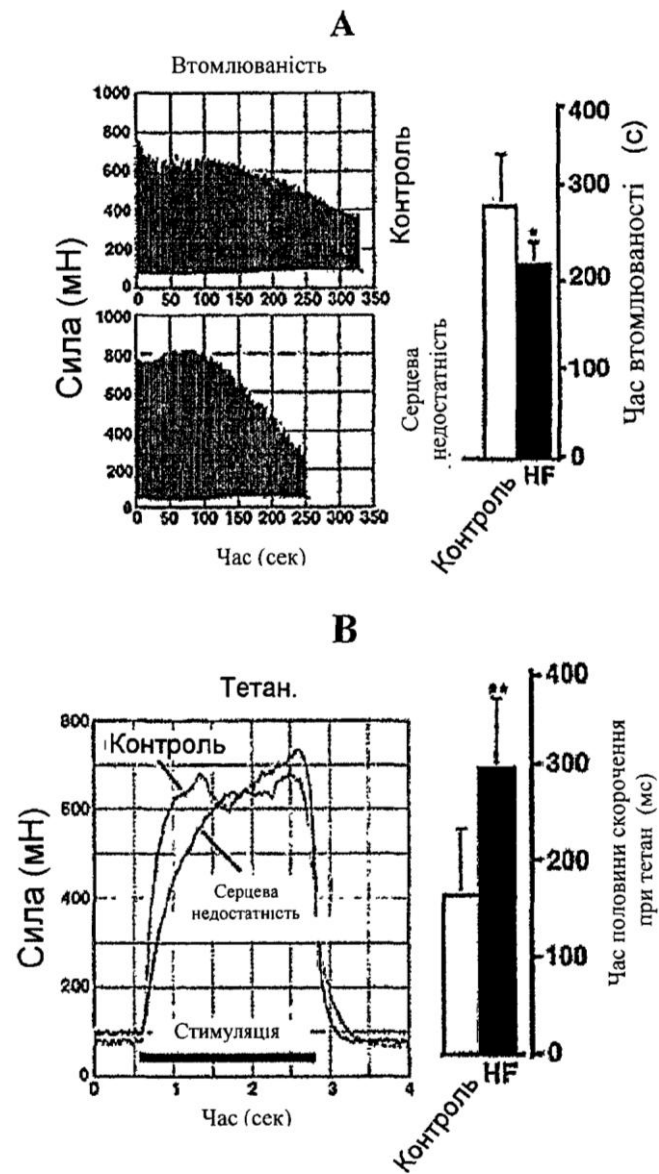
A



B

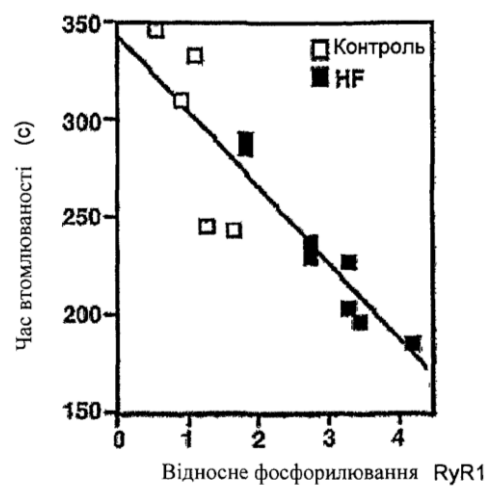


Фіг. 20

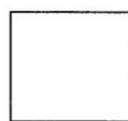
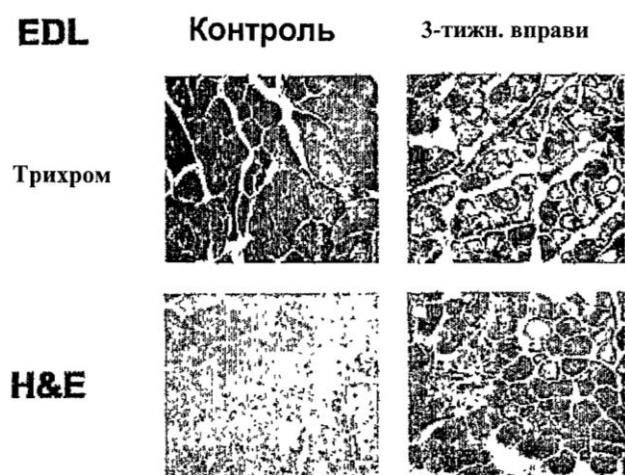


Фіг. 21

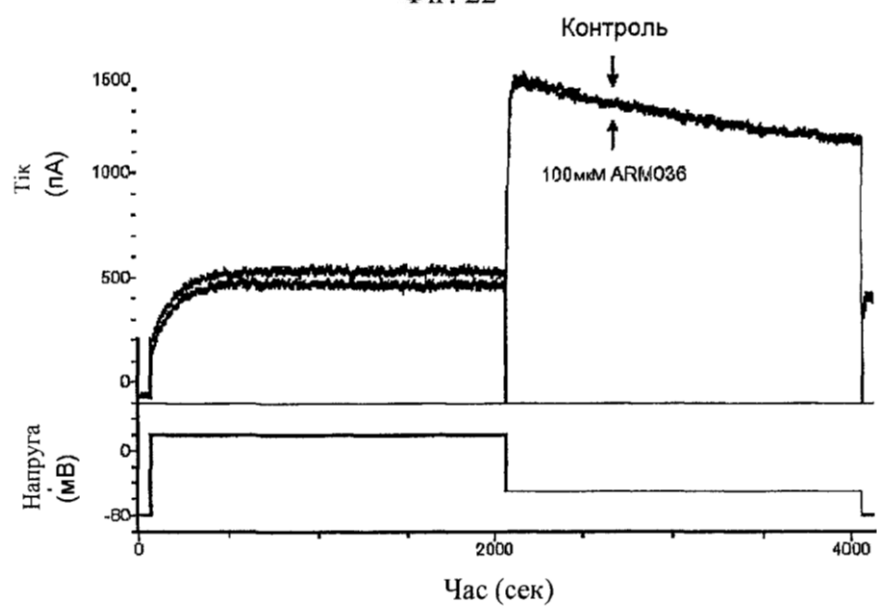
с



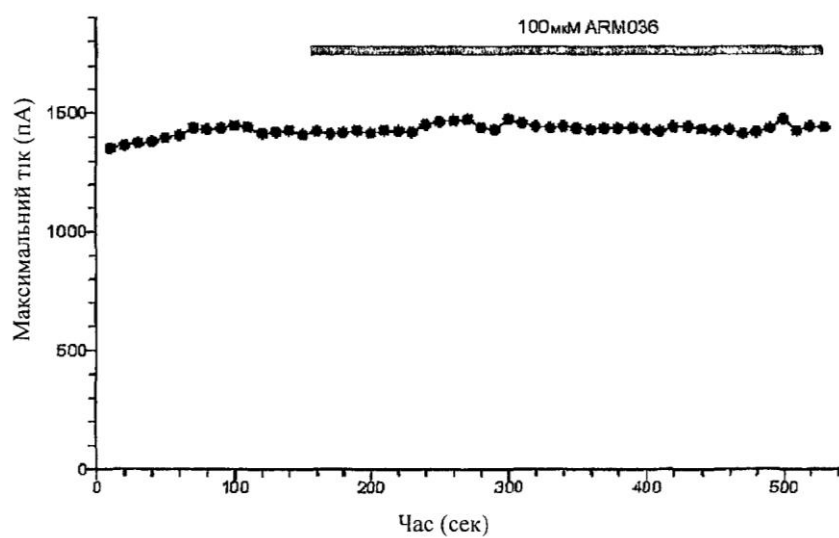
Фіг. 22



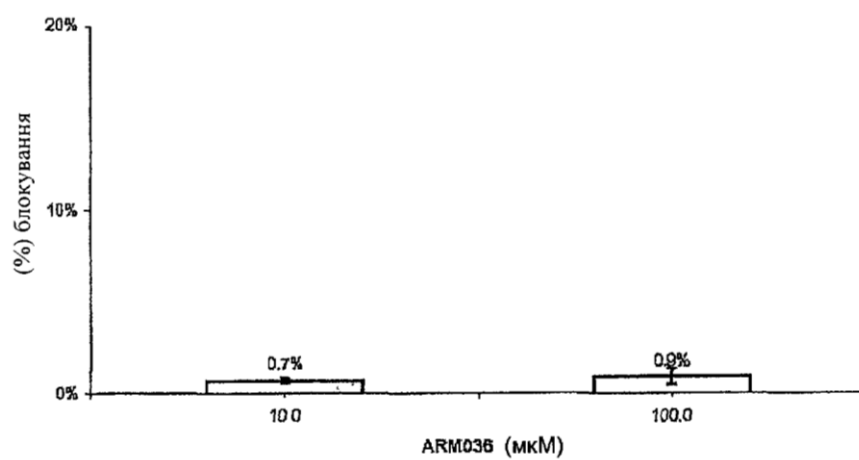
Фіг. 22



Фіг. 23

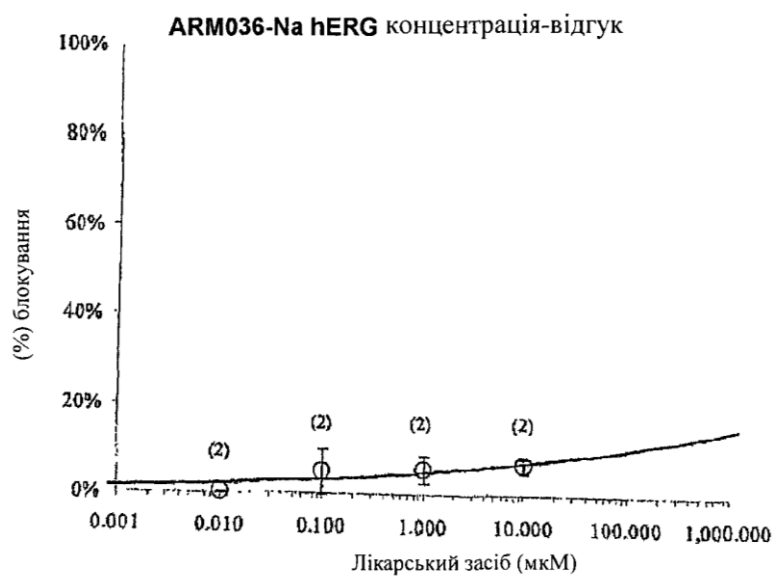


Фіг. 24  
ARM036-hERG концентрація-відгук

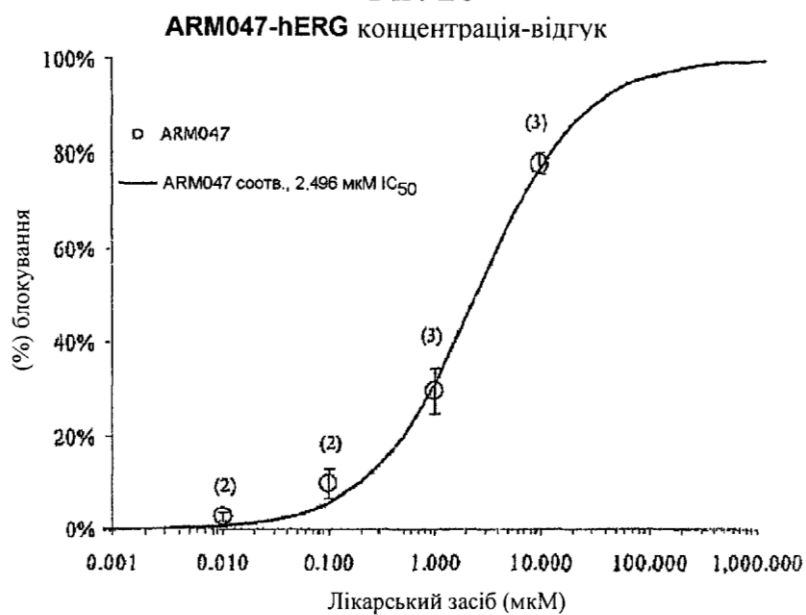


Фіг. 25

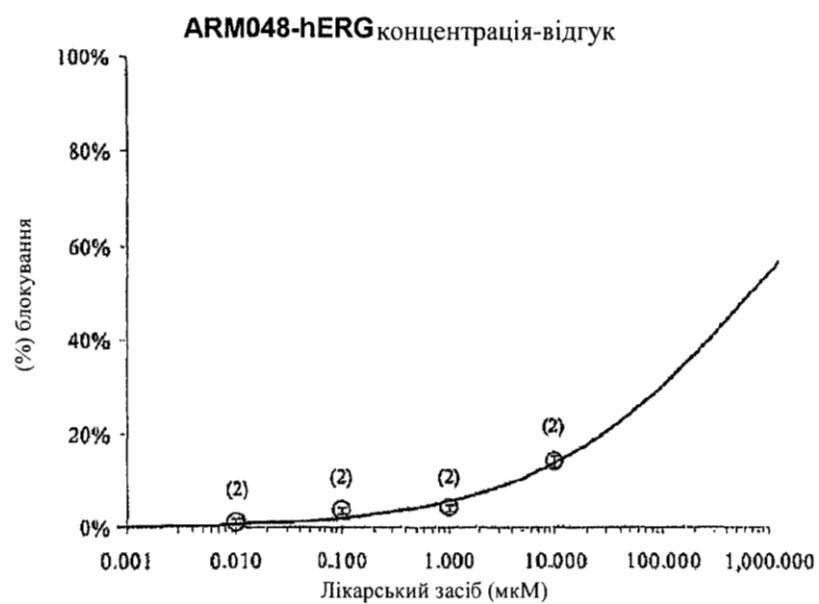




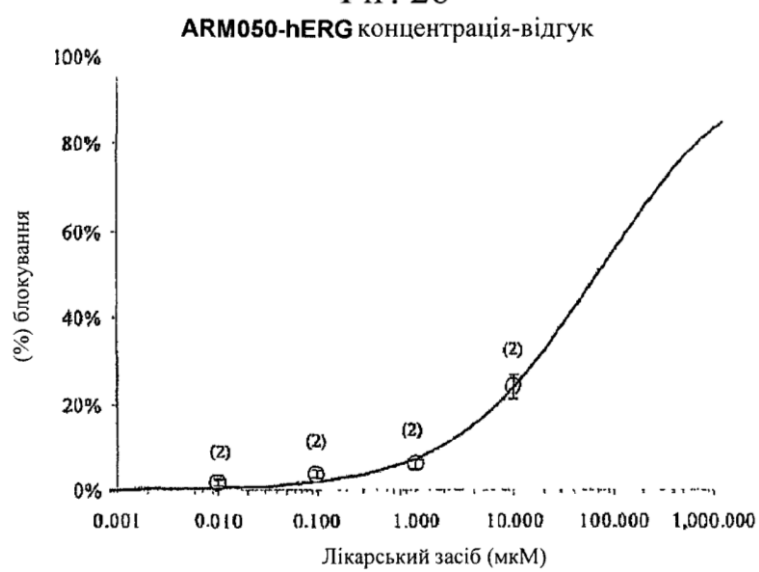
Фіг. 26



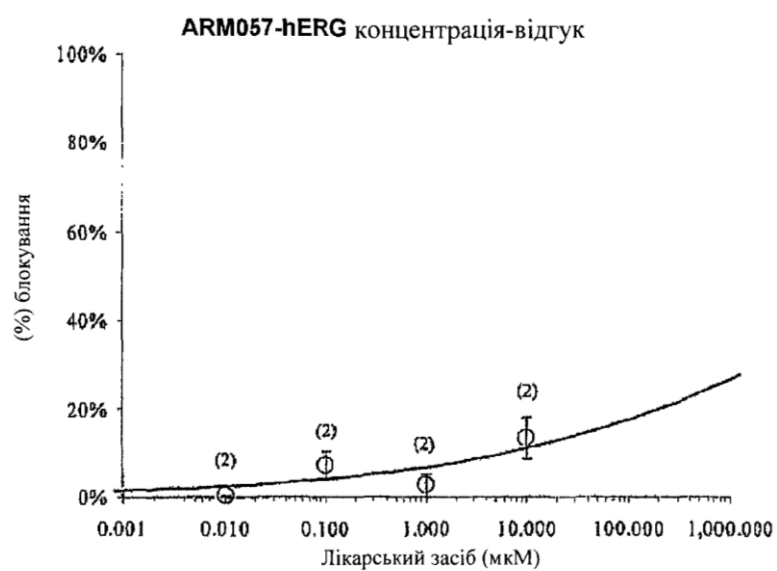
Фіг. 27



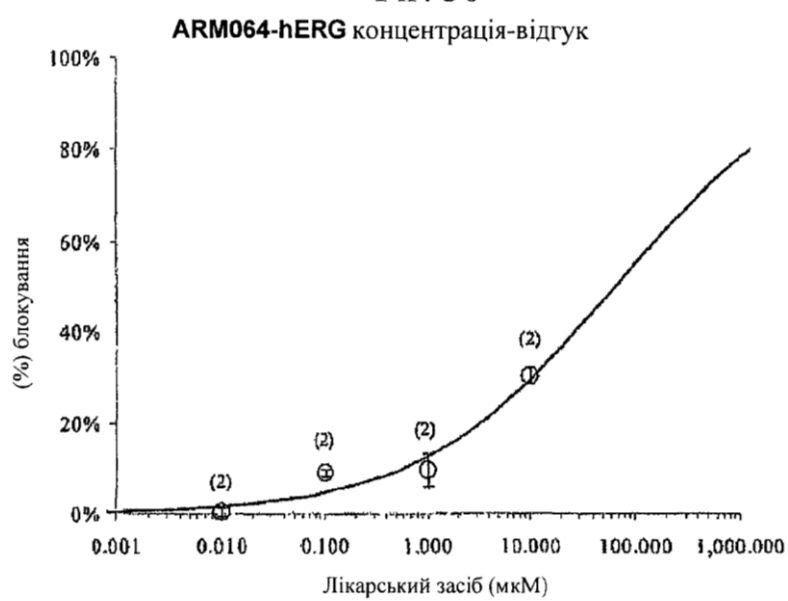
Фіг. 28



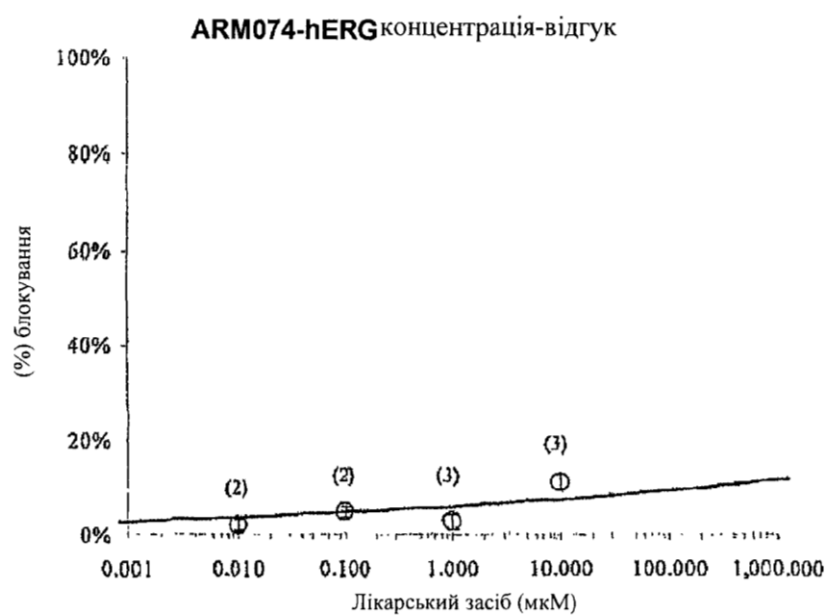
Фіг. 29



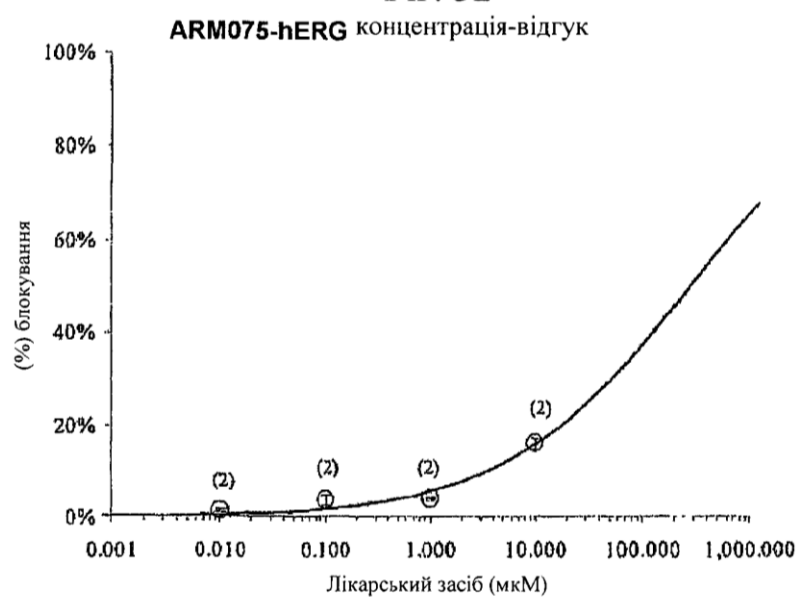
Фіг. 30



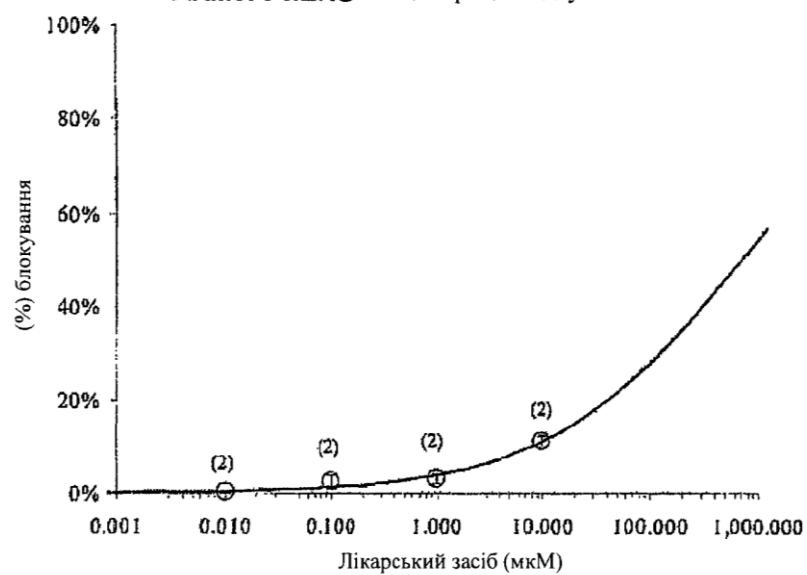
Фіг. 31



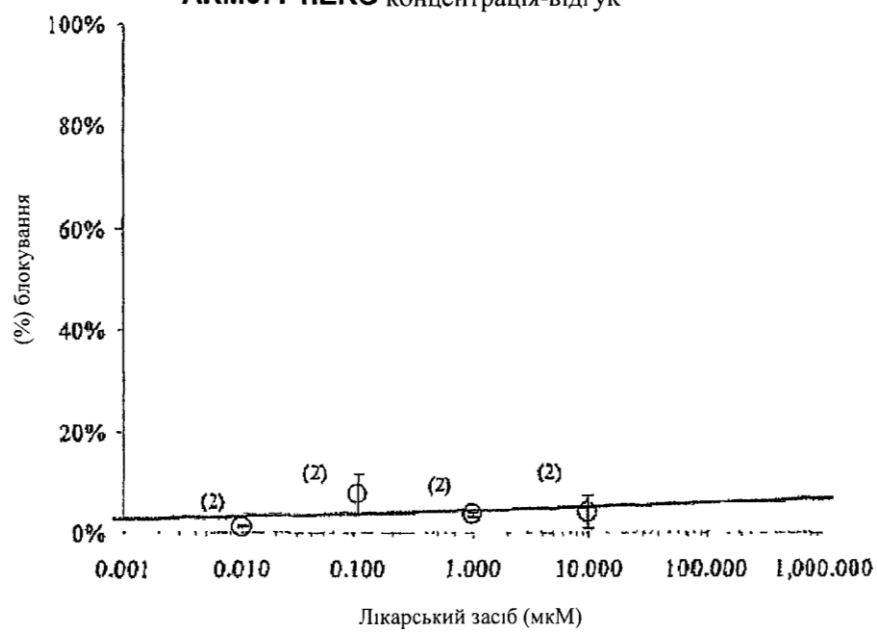
Фіг. 32



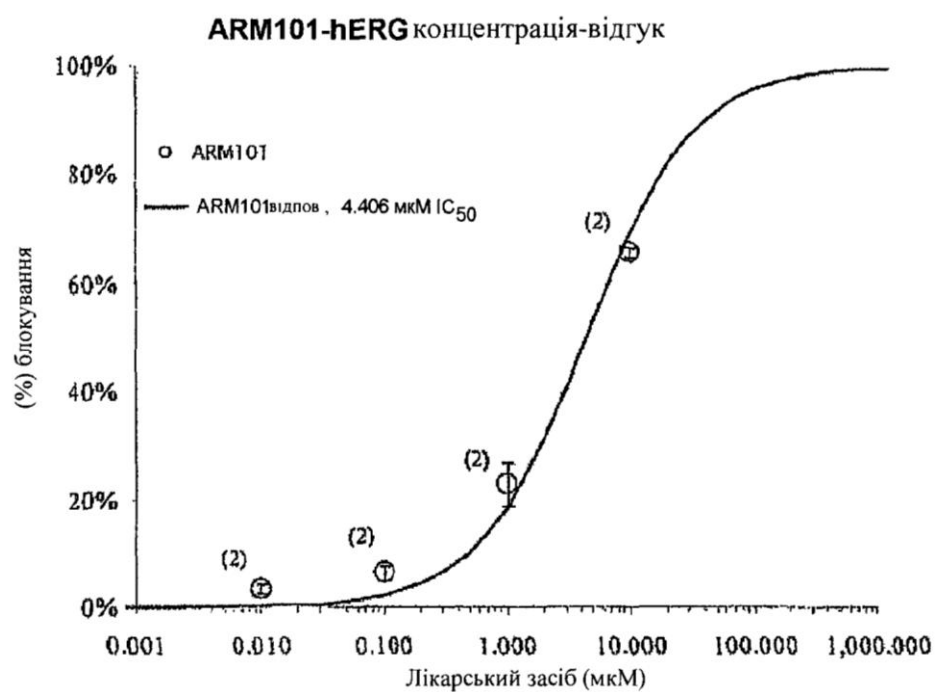
Фіг. 33

**ARM076-hERG** концентрація-відгук

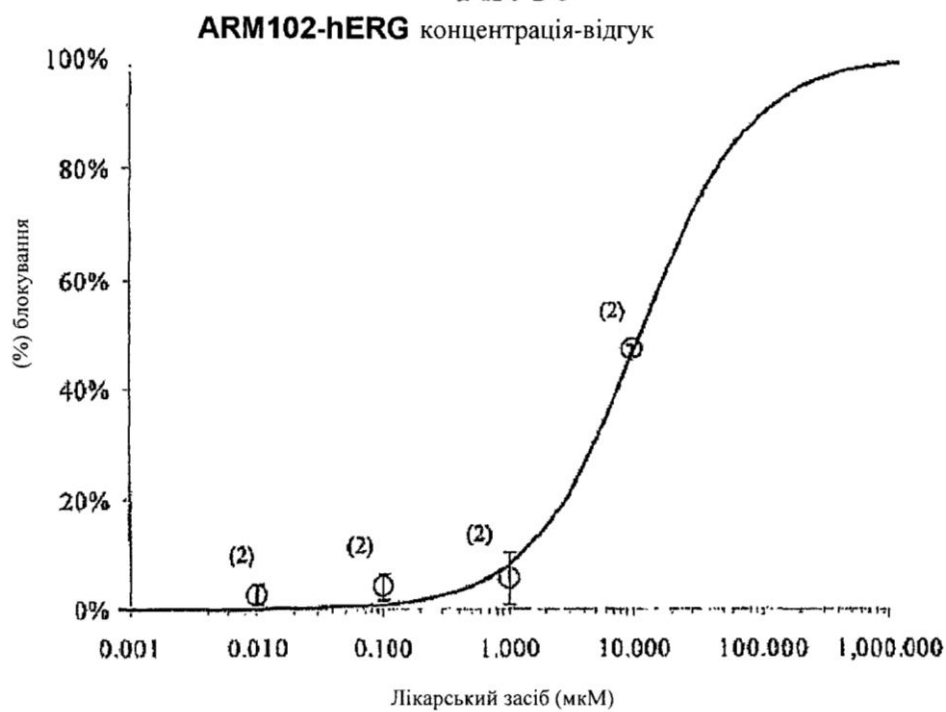
Фіг. 34

**ARM077-hERG** концентрація-відгук

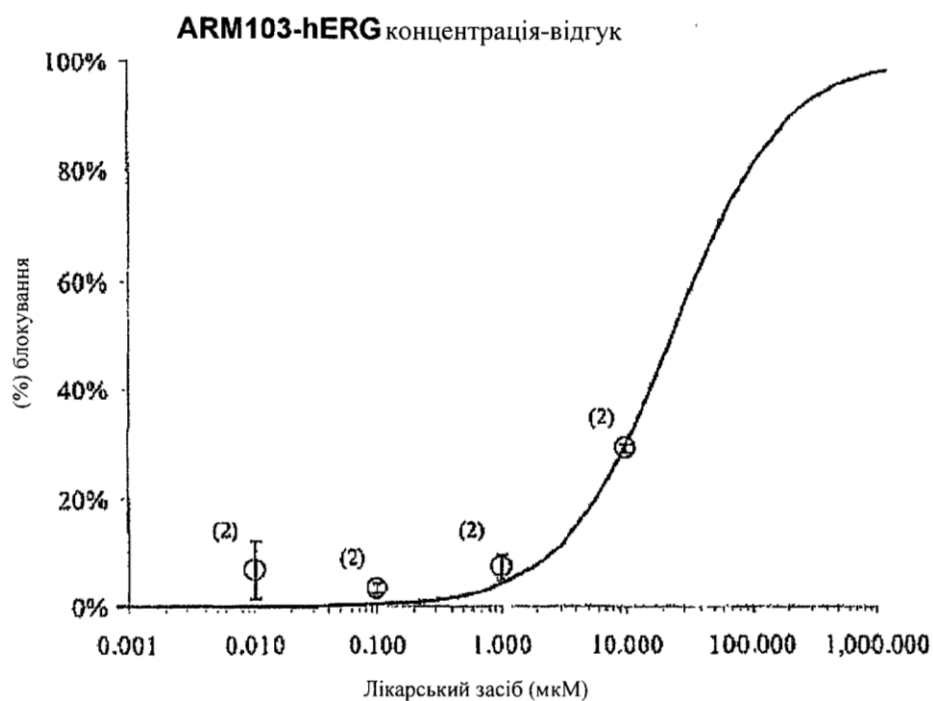
Фіг. 35



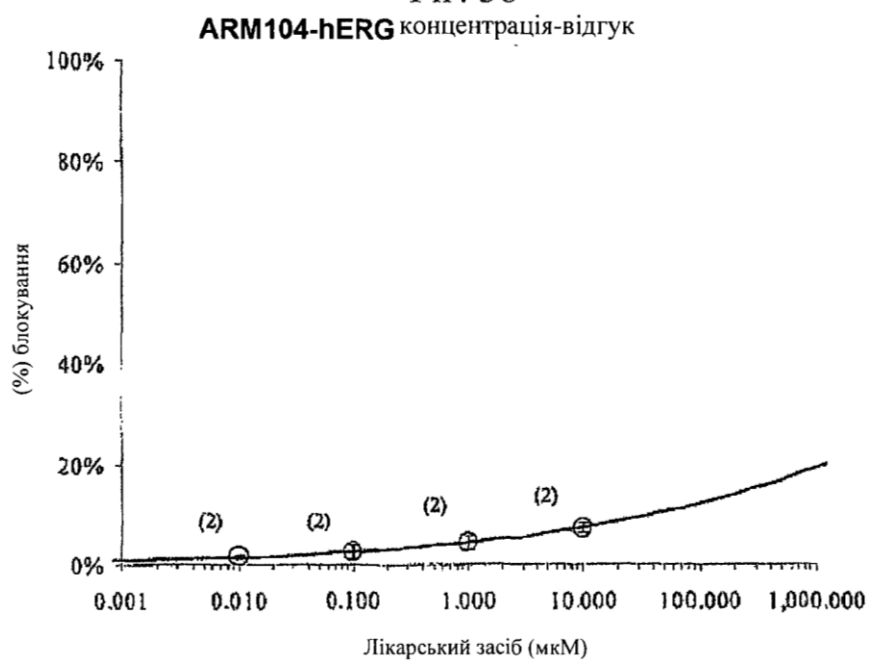
Фіг. 36



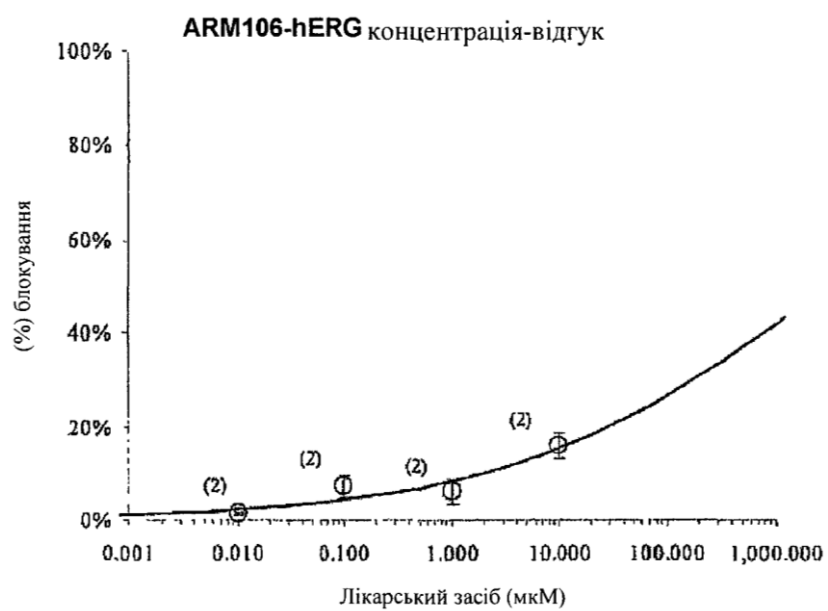
Фіг. 37



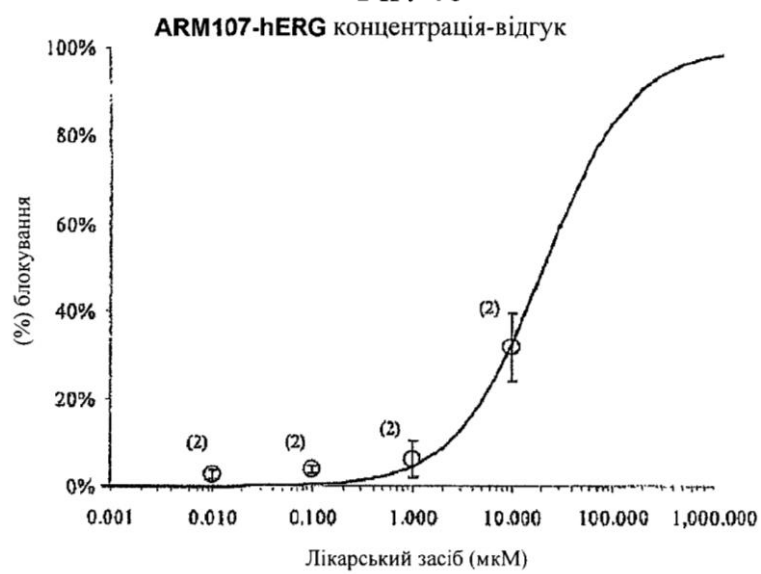
Фіг. 38



Фіг. 39

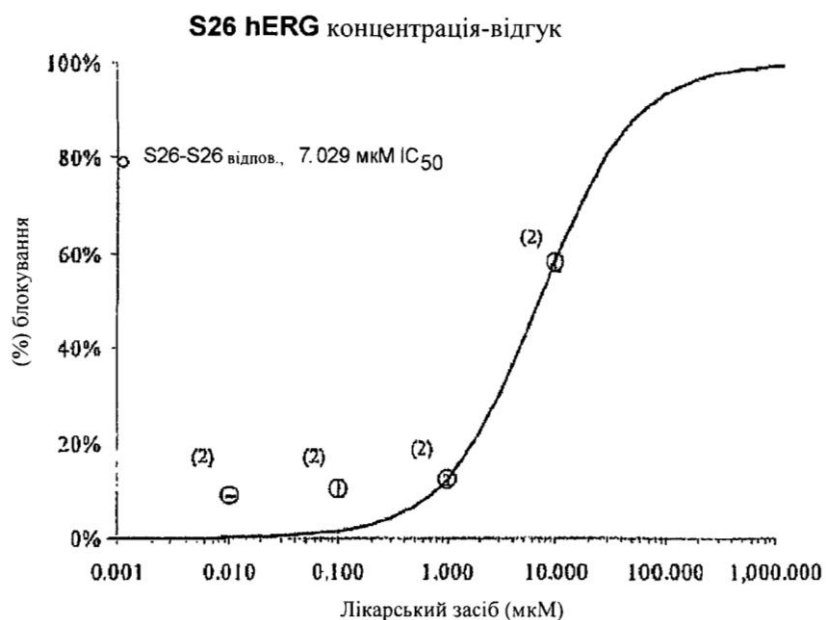


Фіг. 40

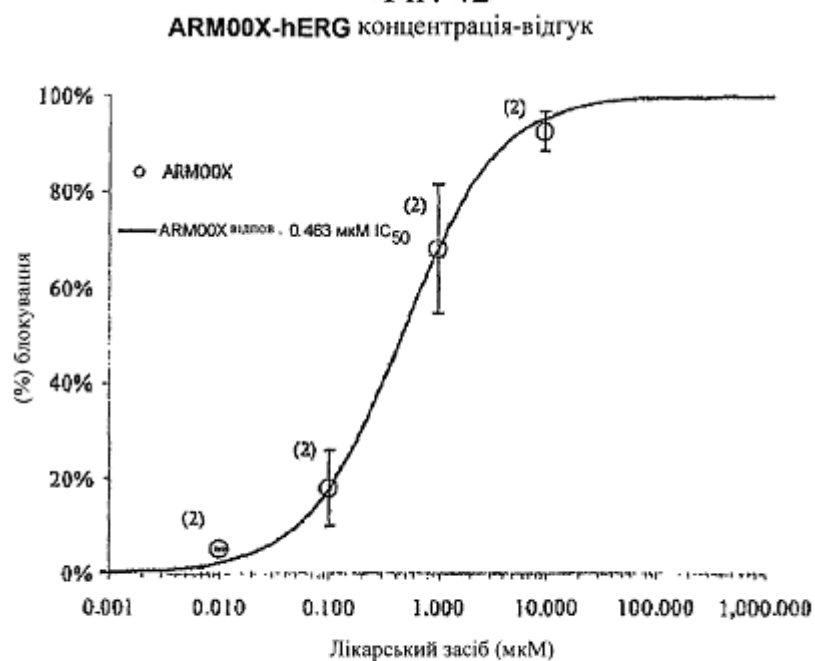


Фіг. 41





Фіг. 42



Фіг. 43

В описі до патенту на винахід графічні зображення та текст подаються в редакції заявника

Комп'ютерна верстка О. Гапоненко

Підписне

Тираж 23 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601