

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) 032480

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2019.06.28

(51) Int. Cl. C12N 5/00 (2006.01)

(21) Номер заявки

201491666

(22) Дата подачи заявки

2013.04.11

(54) СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ К УТОМЛЕНИЮ

(31) 61/623,003; 61/646,842; 61/693,061;
61/735,809

(74) Представитель:

Липатова И.И., Рыбаков В.М., Хмара
М.В., Новоселова С.В., Дощечкина
В.В. (RU)

(32) 2012.04.11; 2012.05.14; 2012.08.24;
2012.12.11

(56) US-A1-20090029345

HIATT, W.R. et al. "Efficacy and
Tolerability of the Novel Fast Skeletal Muscle
Troponin Activator, CK-2017357, in Patients
with Claudication", 22nd Annual Sessions of
the Society for Vascular Medicine, Boston,
MA, June 2011 [poster presentation]; [Retrieved
on 2013-08-20]. Retrieved from the Internet
at URL:www.cytokinetics.com/pdf/4022-20110531-
rev004.pdf; introduction, paragraphs 1-2, figure 1;
methods, lines 1-7, 18-28; clinical results, figures 4A-
C, paragraph 1

WO-A1-2011133888

(33) US

(43) 2015.03.31

(86) PCT/US2013/036114

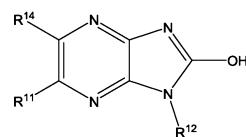
(87) WO 2013/155262 2013.10.17

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
САЙТОКИНЕТИКС, ИНК. (US)

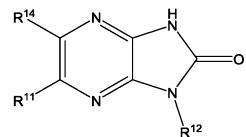
(72) Изобретатель:

Малик Фейди, Джаспер Джейфри Р.,
Кеннеди Адам, Хвее Даррен (US)

(57) Предложен способ повышения устойчивости скелетных мышц к утомлению у субъекта, страдающего от состояния, выбранного из группы, состоящей из ишемии мышц, инфаркта миокарда и анемии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В:



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль, где R¹¹ представляет собой C₂-C₂₀-алкенил или C₂-C₂₀-алкин; R¹⁴ представляет собой водород и R¹² выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила; при условии, что R¹¹ не является гекс-1-енилом. Также предложены способ лечения непереносимости физической нагрузки у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, и способ повышения физической выносливости у пациента, страдающего сердечной недостаточностью.

B1

032480

032480
B1

В заявке на данное изобретение испрашивается приоритет заявок на патент США 61/623003, поданной 4.11.2012, 61/646842, поданной 5.14.2012, 61/693061, поданной 8.24.2012, и 61/735809, поданной 12/11/2012, включенных во всей полноте путем ссылки.

Мышечное утомление часто описывают как обратимое снижение генерируемой силы в ходе мышечной деятельности. Развитие мышечного утомления характеризуется взаимодействием центрального и периферического компонентов. Степень мышечного утомления периферического происхождения зависит от нескольких факторов, в том числе от типа мышечных волокон и частоты стимуляции. Титаническое сокращение зачастую незначительно ослабевает вскоре после начала мышечной стимуляции, затем сила сокращения постепенно уменьшается и, наконец, быстро падает до исходного уровня. В различных исследованиях с участием людей в качестве субъектов было обнаружено, что утомление только частично зависело от уменьшения величины потенциалов действия или недостаточной активации "сенсора напряжения" саркоплазматического ретикулума (СР), но находилось в большей степени метаболическими изменениями в мышечных волокнах, нарушающими контракtilную функцию. Так, при усиленной мышечной работе мышцы нагреваются, значение pH внутри клеток снижается, концентрация неорганического фосфата (Фн) и АДФ поднимается вследствие распада АТФ и креатин-фосфата, а концентрация активных форм кислорода (АФК) повышается. Каждый из этих факторов вызывает снижение мышечного напряжения, скорости и мощности сокращения быстросокращающихся скелетных мышц в ответ на стимул.

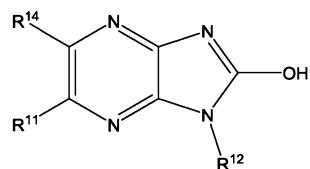
Внутриклеточный Фн и протоны (H^+) непосредственно подавляют генерирование силы поперечными мостиками и, что важно, сдвигают вправо отношение сила-рСа. Снижение отношения сила-рСа означает, что, для того чтобы вызвать заданное напряжение, требуются более высокие концентрации внутриклеточного Ca^{2+} . Повышение уровня АФК также снижает чувствительность быстрых волокон скелетных мышц к Ca^{2+} и играет роль в возникновении феномена утомления. При инициации мышечного сокращения концентрация Ca^{2+} остается высокой и снижение чувствительности к кальцию не влияет на максимальную силу. При длительном мышечном сокращении уменьшается ток ионов Ca^{2+} и вследствие пониженной чувствительности к Ca^{2+} , вызванной Фн и H^+ (и, возможно, АФК) сила падает. Это лежит в основе феномена утомления периферического происхождения (Allen D.G. et al. *Physiol. Rev.* 88: 287-332, 2008; Fitts, J. *Appl. Physiol.* 104:551-558, 2008; Allen, *Appl. Physiol.* 2011 Aug; 111(2):358-66).

Помимо утомления периферического происхождения, при котором изменения происходят как в нервно-мышечных синапсах, так и удаленно от них, как описано выше, также существует утомление центрального происхождения (S.C. Gandevia, *Physiol. Rev.*, 81:1726-1788, 2001). Утомление центрального происхождения можно описать как прогрессивное снижение произвольной активации мышц при физической нагрузке, при которой человек испытывает чувство утомления и ощущает напряженность. Это ощущение напряженности связано с различными соматосенсорными сигналами, эмоциональным состоянием, дискомфортом, болью, температурным стрессом и жаждой (Noakes et al. *Br. J. Sports Med.* August; 38(4):511-514, 2004, J.W. Williamson, *Exp. Physiol.* 95:1043-1048, 2010). Этот сложный механизм предохраняет систему от разрушения, запуская мышечное утомление за счет меньшего вовлечения мышц в активность, вследствие чего максимальная произвольная сила может оказаться ниже истинной максимальной силы мышцы. Изменение ощущаемой напряженности, происходящее в присутствии активатора тропонина скелетных мышц, может уменьшить степень утомления.

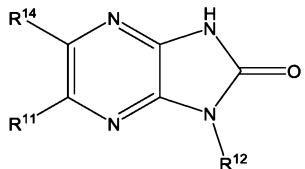
Средства, позволяющие снизить утомление, в определенных ситуациях могут обладать терапевтическим потенциалом, особенно при некоторых заболеваниях, в том числе при сердечной недостаточности. Механизм нарушения мышечной функции при заболеваниях может быть различным. Следовательно, существует необходимость в разработке новых соединений, модулирующих сократимость скелетных мышц и новых способов, повышающих устойчивость скелетных мышц к утомлению.

Сущность изобретения

В первом аспекте настоящего изобретения предложен способ повышения устойчивости скелетных мышц к утомлению у субъекта, страдающего от состояния, выбранного из группы, состоящей из ишемии мышц, инфаркта миокарда и анемии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В:



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,
где R^{11} представляет собой C_2-C_{20} -алкенил или C_2-C_{20} -алкинил;
 R^{14} представляет собой водород;

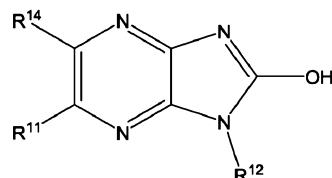
R^{12} выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила, при условии, что R^{11} не является гекс-1-енилом.

В одном воплощении изобретения субъект страдает инфарктом миокарда или анемией.

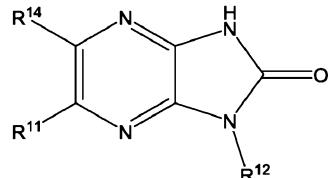
В другом воплощении изобретения активатор тропонина скелетных мышц повышает субмаксимальное напряжение в скелетной мышце у субъекта.

В другом воплощении изобретения активатор тропонина скелетных мышц снижает уровень внутривеночного кальция, необходимый скелетной мышце у субъекта для генерирования силы.

Во втором аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения непереносимости физической нагрузки у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В:



Формула А



Формула В

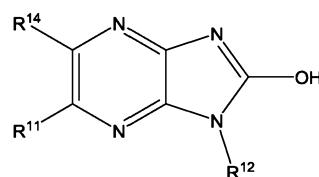
или их фармацевтически приемлемую соль,

где R^{11} представляет собой C_2 - C_{20} -алкенил или C_2 - C_{20} -алкинил;

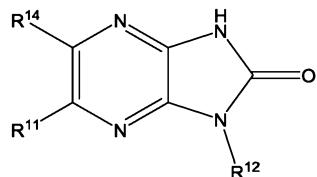
R^{14} представляет собой водород;

R^{12} выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила, при условии, что R^{11} не является гекс-1-енилом.

В третьем аспекте настоящего изобретения предложен способ повышения физической выносливости у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В:



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,

где R^{11} представляет собой C_2 - C_{20} -алкенил или C_2 - C_{20} -алкинил;

R^{14} представляет собой водород;

R^{12} выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила, при условии, что R^{11} не является гекс-1-енилом.

В одном воплощении второго и третьего аспектов настоящего изобретения способ включает проведение субъекту второго вида лечения. При этом второй вид лечения может включать введение субъекту терапевтического агента, выбранного из антиагрегантного препарата, диуретика, блокатора кальциевых каналов, бета-блокатора, ингибитора АПФ, статина, антагониста рецептора ангиотензина II и антагониста альдостерона. Более конкретно, второй вид лечения может включать введение субъекту терапевтического агента, выбранного из дигоксина, аспирина, тиклопидина, клопидогреля, метопролола, карведиола, эплеренона и спиронолактона.

В другом воплощении второй вид лечения выбирают из ангиопластики, стентирования и хирургической операции.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц и второй вид лечения применяют у субъекта одновременно. В ином воплощении активатор тропонина скелетных мышц и второй вид лечения применяют у субъекта последовательно.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц представляет собой активатор тропонина быстрых скелетных мышц.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц представляет собой 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ол или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц представляет собой 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-он или его фармацевтически приемлемую соль.

Специалистам в данной области техники будут очевидны другие аспекты и воплощения, следующие из данного описания.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 показывает влияние активатора тропонина скелетных мышц, представляющего собой соединение А, на развитие субмаксимальной силы коротким сгибателем пальцев крысы *in vitro*.

Фиг. 2 показывает влияние соединения А на утомление короткого сгибателя пальцев крысы *in vitro*.

Фиг. 3 показывает влияние соединения А на время релаксации короткого сгибателя пальцев крысы *in vitro*. Верхний график демонстрирует время релаксации, а нижний график - силу.

Фиг. 4 показывает влияние соединения А на утомление длинного разгибателя пальцев крысы *in situ*. Верхняя линия соответствует соединению А, а нижняя линия соответствует носителю.

Фиг. 5 показывает влияние соединения А на время до возникновения утомления короткого сгибателя пальцев крысы *in vitro* после лигирования бедренной артерии. Нижний график соответствует крысам с лигированием бедренной артерии; средний график соответствует крысам с лигированием бедренной артерии, получавшим $\leq 0,5$ мг/кг соединения А; нижний график соответствует крысам с лигированием бедренной артерии, получавшим 1 мг/кг соединения А.

Фиг. 6А показывает влияние соединения А на зависимость между силой и частотой при изометрическом сокращении сгибателя подошвы крысы *in situ*.

Фиг. 6В показывает влияние соединения А на зависимость между силой и частотой при изокинетическом сокращении сгибателя подошвы крысы *in situ*.

Фиг. 6С показывает влияние соединения А на зависимость между силой и скоростью сокращения сгибателя подошвы крысы *in situ*.

Фиг. 6Д показывает влияние соединение А на мощность, развиваемую сгибателем подошвы крысы *in situ*.

Фиг. 6Е показывает влияние соединение А на силу, генерируемую сгибателем подошвы крысы *in situ* при выполнении протокола изокинетических упражнений до наступления утомления. Верхний график соответствует носителю; нижний график соответствует соединению А (3 мг/кг).

Фиг. 7А показывает влияние активатора тропонина скелетных мышц, представляющего собой Соединение В, на зависимость между силой и частотой при изометрическом сокращении сгибателя подошвы крысы *in situ*. При каждой частоте левый столбец соответствует носителю, а правый столбец соответствует соединению В.

Фиг. 7В показывает влияние соединения В на зависимость между силой и частотой при изокинетическом сокращении сгибателя подошвы крысы *in situ*. При каждой частоте левый столбец соответствует носителю, а правый столбец соответствует соединению В.

Фиг. 7С показывает влияние соединения В на зависимость между силой и скоростью сокращения сгибателя подошвы крысы *in situ*.

Фиг. 7Д показывает влияние соединение В на мощность, развиваемую сгибателем подошвы крысы *in situ*.

Фиг. 7Е показывает влияние соединения В на генерируемую силу при выполнении протокола изокинетических упражнений до наступления утомления сгибателя подошвы крысы *in situ*. Верхний график соответствует соединению В; нижний график соответствует носителю.

Фиг. 7F показывает влияние соединения В на силу, генерируемую сгибателем подошвы крысы *in situ* при выполнении протокола изокинетических упражнений до наступления утомления при частоте стимуляции, обеспечивающей 50% от максимального динамического напряжения.

Фиг. 8 показывает влияние соединения А на время нахождения в висячем положении на решетке у здоровых крыс.

Фиг. 9 показывает влияние соединения А на время бега на врачающемся барабане у здоровых крыс.

Фиг. 10А показывает влияние соединения А на время бега на тредмиле (беговой дорожке) у здоровых крыс.

Фиг. 10В показывает влияние соединения А на дистанцию бега на тредмиле (беговой дорожке) у здоровых крыс.

Фиг. 11 показывает вид сбоку голеностопа ведущей ноги, на котором размещен электромеханический гониометр, измеряющий угол сгибания в голеностопном суставе и амплитуду движения в teste с подъемом на носки на обеих ногах.

Фиг. 12 показывает концентрацию соединения А в человеческой плазме с течением времени. Средние концентрации соединения А в плазме увеличиваются довольно пропорционально дозе. Верхний график соответствует 750 мг; средний график соответствует 500 мг; нижний график соответствует 375 мг. График, соответствующий 0 мг, занимает промежуточное положение между средним и нижним графи-

ками.

Фиг. 13А показывает результаты теста с подъемом на носки у испытуемых людей, выраженные как время до наступления события, отнесенное к конечной точке.

Фиг. 13В показывает результаты теста с подъемом на носки у испытуемых людей, выраженные как количество повторов до наступления события, отнесенное к конечной точке.

Фиг. 13С показывает результаты теста с подъемом на носки у испытуемых людей, выраженные как работа до наступления события, отнесенное к конечной точке.

Фиг. 14 показывает зависимость фармакодинамических параметров от концентрации соединения А в плазме в teste с подъемом на носки у испытуемых людей. Анализ фармакокинетических/фармакодинамических данных демонстрирует выраженную зависимость между концентрацией соединения А в плазме и исходом.

Фиг. 15А показывает результаты теста 6-минутной ходьбы, выраженные в виде изменения относительно исходных значений, после коррекции на плацебо, для различных доз соединения А.

Фиг. 15В показывает результаты теста 6-минутной ходьбы выраженные в виде изменения относительно исходных значений после коррекции на плацебо, для различных концентраций соединения А в плазме.

Фиг. 16 показывает влияние соединения С на продолжительность бега на вращающемся барабане до развития утомления у здоровых крыс.

Фиг. 17 показывает фракцию укорочения (%), измеренную с помощью эхокардиографии, в модели сердечной недостаточности у крыс (лигирование левой передней нисходящей артерии (ЛПН)).

Фиг. 18 показывает влияние соединения С на продолжительность бега на вращающемся барабане до развития утомления у крыс с лигированием ЛПН (модель сердечной недостаточности).

Фиг. 19 показывает влияние соединения С на зависимость между силой и частотой стимуляции демембранизированных волокон камбаловидной мышцы должно оперированных крыс (верхняя панель) и крыс с лигированием ЛПН (нижняя панель).

Фиг. 20 показывает влияние соединения С или носителя на зависимость между силой и частотой стимуляции демембранизированных волокон камбаловидной мышцы у должно оперированных крыс (левые панели) и крыс с лигированием ЛПН (правые панели) по сравнению с исходным уровнем.

Фиг. 21 показывает изменение зависимости между силой и частотой стимуляции у должно оперированных крыс (верхняя панель) и крыс с лигированием ЛПН (нижняя панель), получавших соединение С, по сравнению с исходным уровнем.

Фиг. 22 показывает влияние соединения С на зависимость между силой и концентрацией Ca^{2+} в демембранизированных волокнах длинного разгибателя пальцев (EDL, от лат. extensor digitorum longus) должно оперированных крыс и крыс с лигированием ЛПН. Графики слева соответствуют должно оперированным крысам, получавшим 3 мкМ соединения С, и крысам с лигированием ЛПН, получавшим 3 мкМ соединения С. Графики справа соответствуют должно оперированным крысам и крысам с лигированием ЛПН.

Фиг. 23 показывает влияние соединения С на зависимость между силой и концентрацией Ca^{2+} в демембранизированных волокнах диафрагмы должно оперированных крыс и крыс с лигированием ЛПН. Графики слева соответствуют должно оперированным крысам, получавшим 3 мкМ соединения С, и крысам с лигированием ЛПН, получавшим 3 мкМ соединения С. Графики справа соответствуют должно оперированным крысам и крысам с лигированием ЛПН.

Фиг. 24 показывает зависимость между исходной силой и частотой стимуляции мышечных волокон диафрагмы у должно оперированных крыс и крыс с лигированием ЛПН.

Фиг. 25 показывает влияние соединения С на зависимость между исходной силой и частотой стимуляции мышечных волокон диафрагмы у должно оперированных крыс (верхняя панель) и крыс с лигированием ЛПН (нижняя панель).

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

В данном описании, если контекст не указывает обратное, упоминание соединения определенной формулы включает в себя все подгруппы формул, описанных в данном документе, включая все подструктуры, подроды, предпочтительные воплощения, воплощения, примеры и конкретные соединения, описанные в данном документе.

Упоминание соединения определенной формулы и его подгрупп включает в себя ионные формы, полиморфы, псевдополиморфы, аморфные формы, сольваты, сокристаллы, хелаты, изомеры, таутомеры, оксиды (например, N-оксиды, S-оксиды), сложные эфиры, пролекарства, изотопы и/или их защищенные формы.

Термины "кристаллическая форма", "полиморф" и "новая форма" могут использоваться взаимозаменяющими и включают в себя все кристаллические и аморфные формы соединения, включая, например, полиморфы, псевдополиморфы, сольваты (включая гидраты), сокристаллы, несольватированные полиморфы (включая ангидриды), конформационные полиморфы и аморфные формы, а также их смеси, если речь не идет о конкретной кристаллической или аморфной форме. В некоторых воплощениях упоминание соединения определенной формулы и его подгрупп включает в себя его полиморфные формы, соль-

ваты, сокристаллы, изомеры, таутомеры и/или оксиды. В некоторых воплощениях упоминание соединения включает в себя его полиморфы, сольваты и/или сокристаллы. В некоторых воплощениях упоминание соединения определенной формулы и его подгрупп включает в себя его изомеры, таутомеры и/или оксиды. В некоторых воплощениях упоминание соединения определенной формулы и его подгрупп включает в себя его сольваты. Аналогично, термин "соли" включает в себя сольваты солей соединений.

Термины "возможный" или "возможно" означают, что описываемое ниже событие или обстоятельство могут иметь место или могут не иметь места и что описание включает случаи, когда событие или обстоятельство имеет место, и случаи, когда оно не имеет места. Например, согласно данному описанию "возможно замещенный алкил" относится как к "алкилу", так и к "замещенному алкилу". Для специалиста в данной области очевидно, что любая группа, включающая один или несколько заместителей, не предназначена для введения каких-либо заместителей или схем замещения, которые являются стерически невыгодными, которые невозможны синтезировать и/или которым присуща нестабильность.

В случаях, когда указан диапазон значений (например, C_{1-6} алкил), диапазон включает в себя каждое значение внутри данного диапазона, а также все промежуточные значения. Например, " C_{1-6} алкил" включает в себя C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , C_{1-6} , C_{2-6} , C_{3-6} , C_{4-6} , C_{5-6} , C_{1-5} , C_{2-5} , C_{3-5} , C_{4-5} , C_{1-4} , C_{2-4} , C_{3-4} , C_{1-3} , C_{2-3} и C_{1-2} алкил.

Если указано, что компонент возможно является замещенным, он может быть замещен как сам по себе, так и в составе другого компонента. Например, если R^X описан как " C_{1-6} алкил или OC_{1-6} алкил", где C_{1-6} алкил возможно замещен галогеном", то и C_{1-6} алкильная группа в отдельности и C_{1-6} алкил, являющийся частью OC_{1-6} алкильной группы, могут быть замещены галогеном.

"Алкил" охватывает линейные и разветвленные цепи, состоящие из указанного числа атомов углерода, обычно от 1 до 20 атомов углерода, например от 1 до 8 атомов углерода, например от 1 до 6 атомов углерода. Например, C_{1-6} алкил охватывает алкилы как с линейной, так и с разветвленной цепью, включающей от 1 до 6 атомов углерода. Если указан алкильный остаток, включающий определенное число атомов углерода, он охватывает все варианты с линейной и разветвленной цепью, включающие указанное число атомов углерода; так, например, "бутил" включает в себя н-бутил, втор-бутил, изобутил и трет-бутил; "пропил" включает в себя н-пропил и изопропил. "Низший алкил" обозначает алкильные группы, имеющие от 1 до 7 атомов углерода. В некоторых воплощениях "низший алкил" обозначает алкильные группы, имеющие от 1 до 6 атомов углерода. Примеры алкильных групп включают метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, 2-пентил, изопентил, неопентил, гексил, 2-гексил, 3-гексил, 3-метилпентил и т.п. Алкилен относится к алкилам, обозначает те же остатки, что и алкил, но имеет две точки присоединения.

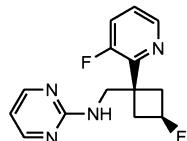
Алкиленовые группы обычно содержат от 2 до 20 атомов углерода, например от 2 до 8 атомов углерода, например от 2 до 6 атомов углерода. Например, C_0 -алкилен обозначает ковалентную связь, а C_1 -алкилен представляет собой метиленовую группу.

"Алкенил" обозначает ненасыщенную алкильную группу с разветвленной или линейной цепью, содержащую по меньшей мере одну двойную связь углерод-углерод, образованную в результате отщепления одной молекулы водорода от соседних атомов углерода родительского алкила. Группа может находиться как в цис-, так и в трансконфигурации по отношению к двойной(ым) связи(ям). Типичные алкенильные группы включают этенил; пропенилы, такие как проп-1-ен-1-ил, проп-1-ен-2-ил, проп-2-ен-1-ил (аллил), проп-2-ен-2-ил; бутенилы, такие как бут-1-ен-1-ил, бут-1-ен-2-ил, 2-метилпроп-1-ен-1-ил, бут-2-ен-1-ил, бут-2-ен-1-ил, бут-2-ен-2-ил, бута-1,3-диен-1-ил, бута-1,3-диен-2-ил и т.п., но не ограничиваются ими. В некоторых воплощениях алкенильная группа содержит от 2 до 20 атомов углерода, а в других воплощениях от 2 до 6 атомов углерода. "Низший алкенил" обозначает алкенильные группы, содержащие от 2 до 6 атомов углерода.

"Алкинил" обозначает ненасыщенную алкильную группу с разветвленной или линейной цепью, содержащую по меньшей мере одну тройную связь углерод-углерод, образованную в результате отщепления двух молекул водорода от соседних атомов углерода родительского алкила. Типичные алкинильные группы включают этинил; пропинилы, такие как проп-1-ин-1-ил, проп-2-ин-1-ил; бутинилы, такие как бут-1-ин-1-ил, бут-1-ин-3-ил, бут-3-ин-1-ил; и т.п., но не ограничиваются ими. В некоторых воплощениях алкинильная группа содержит от 2 до 20 атомов углерода, а в других воплощениях от 3 до 6 атомов углерода. "Низший алкинил" обозначает алкинильные группы, содержащие от 2 до 6 атомов углерода.

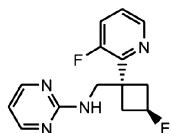
Конфигурация, отображающая структуру циклических мезосоединений, не является абсолютной; скорее конфигурация показывает расположение заместителей по отношению друг к другу, например цис или транс.

Например,



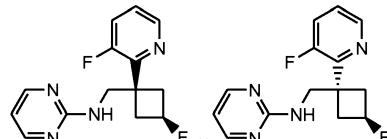
обозначает соединение, в котором заместители фтор и пиридинил на циклобутильном кольце находятся в

цис конфигурации по отношению друг к другу,
тогда как



обозначает соединение, в котором заместители фтор и пиридин на циклобутильном кольце находятся в трансконфигурации по отношению друг к другу.

Если соединение может существовать в виде одного или нескольких мезоизомеров, все возможные мезоизомеры находятся в рамках изобретения. Например, соединение {[3-фтор-1-(3-фтор(2-пиридинил))циклобутил]метил}пиридин-2-иламин включает в себя как цис-, так и транс-мезоизомеры:



и их смеси.

Если не указано противоположное, соединения, описанные в данном документе, включают в себя все возможные мезоизомеры и их смеси.

"Таутомеры" представляют собой структурно различные изомеры, которые могут взаимно превращаться друг в друга при таутомерии. "Таутомерия" представляет собой форму изомеризации и включает прототропную или обусловленную переносом протонов таутомерию, которая считается разновидностью кислотно-основных превращений. "Прототропная таутомерия" или "таутомерия, обусловленная переносом протона", включает миграцию протона, сопровождающуюся изменениями порядка связи, зачастую происходит перераспределение соседних одинарных и двойных связей. В случаях, когда возможна таутомерия (например, в растворе), может быть достигнуто химическое равновесие между таутомерами. Примером таутомерии является кетоенольная таутомерия. Конкретным примером кетоенольной таутомерии является взаимопревращение таутомеров пентан-2,4-диона и 4-гидроксипент-3-ен-2-она. Другим примером таутомерии является фенолкетотаутомерия. Конкретным примером фенолкетотаутомерии является взаимопревращение таутомеров пиридин-4-ола и пиридин-4(1Н)-она. Соединения некоторых изложенных формул являются таутомерными.

Замещаемая группа или атом представляют собой любую группу или атом, которые в условиях реакции отщепляются от исходного материала, таким образом способствуя протеканию реакции в определенном сайте. Подходящими примерами таких групп, если не указано иное, являются атомы галогенов, мезилокси-, р-нитробензольсульфонилокси- и тозилокси-группы.

Защитная группа имеет значение, обычно ассоциируемое с этим понятием в органическом синтезе, т.е. группа избирательно блокирует один или несколько реакционноспособных сайтов в мультифункциональном соединении таким образом, что химическая реакция может быть избирательно проведена на другом незащищенным реакционноспособном сайте, и группа может легко отщепляться после окончания избирательной реакции. Разнообразные защитные группы описаны, например, в публикации Т.Н. Greene and P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, John Wiley & Sons, New York (1999). Например, гидроксизащенная форма представляет собой форму, где по меньшей мере одна из гидроксигрупп, присутствующих в составе соединения, защищена гидроксизащитной группой. Аналогично, таким же образом можно защищать аминогруппы и другие реакционноспособные группы.

Термин "фармацевтически приемлемый носитель" или "фармацевтически приемлемый эксципиент" включает в себя все возможные растворители, диспергирующие среды, покрытия (оболочки), антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и замедляющие абсорбцию агенты и т.п. Применение таких сред и агентов вместе с фармацевтически активными веществами хорошо известно в области техники. За исключением случаев, когда стандартная среда или агент несовместимы с активным ингредиентом, предполагается, что его можно применять в составе терапевтической композиции. В состав композиций можно также вводить дополнительные активные ингредиенты.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" обозначает соли, сохраняющие биологическую эффективность и свойства соединений, описанных в данном документе, которые не являются нежелательными в биологическом или ином плане. Во многих случаях соединения, описанные в данном документе, способны образовывать кислые и/или основные соли благодаря наличию амино- и/или карбоксильных групп или подобных им групп. Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты могут образовываться с участием неорганических кислот и органических кислот. Неорганические кислоты, которые можно использовать для получения солей, включают, например, соляную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту и т.п. Органические кислоты, которые можно использовать для получения солей, включают, например, уксусную кислоту, пропионовую кисло-

ту, гликолевую кислоту, пировиноградную кислоту, щавелевую кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, фумаровую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, бензойную кислоту, коричную кислоту, миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, *p*-толуолсульфоновую кислоту, салициловую кислоту и т.п. Фармацевтически приемлемые соли при соединения основания могут образовываться с участием неорганических и органических оснований. Неорганические основания, которые можно использовать для получения солей, включают, например, натрий, калий, литий, аммоний, кальций, магний, железо, цинк, медь, марганец, алюминий и т.п. Органические основания, которые можно использовать для получения солей, включают, например, первичные, вторичные и третичные амины, замещенные амины, включая замещенные амины естественного происхождения, циклические амины, основные ионообменные смолы и т.п., в частности, такие как изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин и этаноламин. В некоторых воплощениях фармацевтически приемлемая соль присоединения основания выбрана из соли аммония, калия, натрия, кальция и магния.

Термин "сольват" обозначает соединение, физически связанное с одной или несколькими молекулами фармацевтически приемлемого растворителя. Термин "соединение" охватывает соединение и сольваты этого соединения, а также их смеси.

"Хелат" образуется путем формирования координационной связи с ионом металла в двух (или более) точках. Термин "соединение" включает в себя хелаты соединений. Аналогично, "соли" включают в себя хелаты солей, а "сольваты" включают в себя хелаты сольватов.

"Нековалентный комплекс" образуется в результате взаимодействия соединения с другой молекулой, при этом между соединением и молекулой не образуется ковалентная связь. Например, образование комплекса может быть обусловлено Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями, водородными связями и электростатическим взаимодействием (также обозначаемыми ионными связями). Термин "соединение" включает в себя такие нековалентные комплексы.

Термин "пролекарство" обозначает вещество, вводимое в неактивной или менее активной форме по сравнению с его трансформированной формой (например, в процессе метаболизма пролекарства в организме в активное соединение). Введение пролекарства обосновано возможностью оптимизировать абсорбцию, распределение, метаболизм и/или выведение лекарства. Пролекарства можно получать путем создания производного активного соединения, которое будет претерпевать трансформацию в условиях применения (например, в организме) с формированием активного соединения. Трансформация пролекарства в активное соединение может происходить спонтанно (например, в результате реакции гидролиза) или ее может катализировать или индуцировать другой агент (например, фермент, свет, кислота или основание и/или температура). Агент может быть эндогенным по отношению к условиям применения (например, фермент, находящийся в клетках, в которые поступает пролекарство, или кислотная среда желудка) или агент может поступать экзогенно. Пролекарства можно получать путем превращения одной или нескольких функциональных групп, входящих в состав активного соединения, в другие функциональные группы, которые при введении в организм обратно превращаются в исходные функциональные группы. Например, гидроксильную функциональную группу можно конвертировать в сульфонатную, фосфатную, сложноэфирную или карбонатную группу, которые, в свою очередь, *in vivo* можно гидролизовать обратно в гидроксильную группу. Аналогично, функциональную аминогруппу можно конвертировать, например, в амидную, карбаматную, иминную, карбамидную, фосфенильную, фосфорильную или сульфенильную группу, которую *in vivo* можно гидролизовать обратно в аминогруппу. Карбоксильную функциональную группу можно конвертировать, например, в сложноэфирную (включая силиловые эфиры и тиоэфиры), амидную или гидразидную группу, которые *in vivo* можно гидролизовать обратно в карбоксильную группу. Примеры пролекарств включают фосфатные, ацетатные, формиатные и бензойные производные функциональных групп (такие как спиртовые группы или аминогруппы), присутствующие в составе соединений, описанных в данном документе, но не ограничиваются ими.

Соединения, описанные в данном документе, можно обогатить изотопными формами, например обогатить ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C и/или ^{14}C . В некоторых воплощениях соединение содержит по меньшей мере один атом дейтерия. Такие дейтерированные формы можно получить, например, согласно процедуре, описанной в патентах US 5846514 и 6334997. Такие дейтерированные соединения могут повысить эффективность и увеличить продолжительность действия соединений, описанных в данном документе. Замещенные дейтерием соединения можно синтезировать с помощью различных способов, например, таких, которые описаны Dean, D., Recent Advances in the Synthesis and Applications of Radiolabeled Compounds for Drug Discovery and Development, *Curr. Pharm. Des.*, 2000; 6(10); Kabalka, G. et al., The Synthesis of Radiolabeled Compounds via Organometallic Intermediates, *Tetrahedron*, 1989, 45(21), 6601-21 и Evans, E., Synthesis of radiolabeled compounds, *J. Radioanal. Chem.*, 1981, 64(1-2), 9-32.

Термин "активный агент" обозначает соединение, обладающее биологической активностью. В некоторых воплощениях "активный агент" представляет собой соединение, пригодное для терапевтического применения. В некоторых воплощениях соединение улучшает по меньшей мере один аспект функции или активности скелетных мышц, например развивающую мощность, силу скелетных мышц, выносливость скелетных мышц, потребление кислорода, эффективность и/или чувствительность к кальцию.

Соединения также включают в себя кристаллические и аморфные формы соединений, включая, например, полиморфы, псевдополиморфы, сольваты, гидраты, несольватированные полиморфы (включая ангидриды), конформационные полиморфы и аморфные формы соединений, а также их смеси. "Кристаллическая форма", "полиморф" и "новая форма" в данном документе могут использоваться взаимозаменяющими и включают в себя все кристаллические и аморфные формы соединения, включая, например, полиморфы, псевдополиморфы, сольваты, гидраты, несольватированные полиморфы (включая ангидриды), конформационные полиморфы и аморфные формы, а также их смеси, за исключением случаев, когда упоминается конкретная кристаллическая или аморфная форма.

Химические соединения включают в себя соединения изложенных формул и все их фармацевтически приемлемые формы, но не ограничиваются ими. Фармацевтически приемлемые формы соединений, перечисленных в данном документе, включают фармацевтически приемлемые соли, хелаты, нековалентные комплексы, пролекарства и их смеси. В некоторых воплощениях соединения, описанные в данном документе, находятся в форме фармацевтически приемлемых солей. Таким образом, термины "химическое соединение" и "химические соединения" также охватывают фармацевтически приемлемые соли, хелаты, нековалентные комплексы, пролекарства и смеси.

Термины "пациент" и "субъект" означают животного, такого как млекопитающее, птица или рыба. В некоторых воплощениях пациент или субъект являются млекопитающим. Млекопитающие включают, например, мышей, крыс, собак, кошек, свиней, овец, лошадей, коров и людей. В некоторых воплощениях пациент или субъект является человеком, например человеком, который был или будет объектом лечения, наблюдения или эксперимента. Соединения, композиции и способы, описанные в данном документе, могут найти применение как в лечении человека, так и в ветеринарии.

В данном описании термин "скелетная мышца" включает в себя ткань скелетных мышц, а также ее компоненты, например волокна скелетных мышц, миофибриллы, содержащие волокна скелетных мышц, саркомер скелетной мышцы, содержащий миофибриллы и различные компоненты саркомера скелетной мышцы, описанные в данном документе, включая миозин, актин, тропомиозин, тропонин С, тропонин I, тропонин Т скелетных мышц и их фрагменты и изоформы. В некоторых воплощениях "скелетная мышца" включает в себя ткань быстрых скелетных мышц, а также ее компоненты, например волокна быстрых скелетных мышц, миофибриллы, содержащие волокна быстрых скелетных мышц, саркомер быстрых скелетных мышц, содержащий миофибриллы, а также различные компоненты саркомера быстрых скелетных мышц, описанные в данном документе, включая миозин, актин, тропомиозин, тропонин С, тропонин I, тропонин Т быстрых скелетных мышц и их фрагменты и изоформы. Скелетные мышцы не включают в себя сердечную мышцу или комбинацию компонентов саркомера, присущую сердечной мышце.

В данном описании термин "терапевтический" обозначает способность модулировать сократимость быстрых скелетных мышц. В данном описании "модуляция" (и родственные термины, такие как "модулировать", "модулированный", "модулирующий") обозначает изменение функции или эффективности одного или нескольких компонентов саркомера, включая миозин, актин, тропомиозин, тропонин С, тропонин I, тропонин Т быстрых скелетных мышц быстрых скелетных мышц, включая их фрагменты и изоформы, в качестве прямого или опосредованного ответа на присутствие соединения, описанного в данном документе, по сравнению с активностью саркомера быстрых скелетных мышц в отсутствие соединения. Изменение может представлять собой повышение активности (потенцирование) или снижение активности (ингибиование) и может быть обусловлено прямым взаимодействием соединения с саркомером, или взаимодействием соединения с одним или несколькими другими факторами, которые, в свою очередь, влияют на саркомер или один или несколько его компонентов. В некоторых воплощениях модуляция представляет собой потенцирование функции или эффективности одного или нескольких компонентов саркомера быстрых скелетных мышц, включая миозин, актин, тропомиозин, тропонин С, тропонин I, тропонин Т быстрых скелетных мышц, включая их фрагменты и изоформы. Модуляция может быть опосредована любым механизмом и на любом физиологическом уровне, например, вследствие повышения чувствительности к Ca^{2+} , обеспечивающей сокращение саркомера быстрых скелетных мышц при более низких концентрациях Ca^{2+} . В данном описании термины "эффективность" или "мышечная эффективность" означают отношение совершающей механической работы к общим энергетическим затратам.

Термин "мышечное утомление" или "утомление скелетных мышц" обозначает снижение сократительной способности вследствие повторяющегося использования одних и тех же мышц и представляет комбинацию утомления центрального генеза (предел возможности центральной и периферической нервной системы поддерживать активность) и утомления периферического генеза (существенно потеря мышечной функции, например, понижение эффективности процесса, называемого сопряжением возбуждения и сокращения). Вместе это приводит к понижению мышечной работоспособности при утомлении. Пониженная устойчивость к утомлению является распространенным симптомом при множестве заболеваний, вызванных различными причинами. В данном контексте утомление является основным фактором, определяющим качество жизни при таких патологических состояниях, как боковой (латеральный амиотрофический склероз) (БАС), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), рассеянный склероз,

инфаркт миокарда, перемежающаяся хромота, миастения гравис, анемия и синдром хронической усталости.

Термин "значение" обозначает численный результат.

Термин "параметр" обозначает измеряемый показатель. Измерения, полученные при оценке параметра, представляют собой значения параметра. Параметры могут включать, например, время до появления боли, количество подъемов на носки до появления боли, работу до появления боли, время до развития максимального утомления, сопровождающегося болью, количество подъемов на носки до развития максимального утомления, сопровождающегося болью и работу до развития максимального утомления, сопровождающегося болью.

Термин "работа до появления боли" или "работа до развития максимального утомления, сопровождающегося болью" обозначает работу, совершенную до появления боли или развития максимального утомления, сопровождающегося болью. Работу можно определить как значение, рассчитанное по формуле: $\sin\theta \times \text{длина ступни} \times \text{масса тела}$, где θ равно углу подошвенного сгибания. Угол подошвенного сгибания можно измерить при помощи прибора, например гoniометра.

Термин "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" обозначает такое количество соединения, выбранного из изложенных формул, которое достаточно для эффективного лечения согласно описанию ниже, при введении млекопитающему, нуждающемуся в таком лечении. Терапевтически эффективное количество будет варьировать в зависимости от субъекта и патологического состояния, подлежащего лечению, веса и возраста субъекта, тяжести патологического состояния, конкретного соединения, выбранного из изложенных формул, режима дозирования, времени введения, способа введения и т.п., все эти параметры может легко установить специалист в данной области техники.

"Лечение" или "лечить" означает любое лечение заболевания у пациента, включая:

(а) предупреждение заболевания, что означает отсутствие развития клинических симптомов заболевания;

(б) подавление заболевания;

(с) замедление или задержка развития клинических симптомов и/или

(д) облегчение заболевания, что означает регрессию клинических симптомов.

В данном описании "развиваемая мощность" мышцы определяется как отношение работы к продолжительности цикла и может быть рассчитана, исходя из свойств мышцы, по формуле PoLo/продолжительность цикла. Развиваемую мощность можно модулировать при изменении, например, параметров активации при циклическом изменении длины мышцы, включая длительность стимуляции (фаза активации) и интервал стимуляции (рабочий цикл).

"АТФаза" обозначает фермент, гидролизующий АТФ. АТФазы включают в себя белки, содержащие молекулярные моторы, такие как миозины.

В данном описании "селективное связывание" или "селективно связываться" обозначает предпочтительное связывание с белком-мишенью в мышцах или мышечных волокнах одного типа по сравнению с другими типами. Например, соединение селективно связывается с тропонином С быстрых скелетных мышц, если соединение предпочтительно связывается с тропонином С в составе тропонинового комплекса волокон или саркомера быстрых скелетных мышц по сравнению с тропонином С в составе тропонинового комплекса волокон или саркомера медленных мышц или с тропонином С в составе тропонинового комплекса саркомера сердечной мышцы.

Соединения, описанные в данном документе, избирательно повышают чувствительность быстрых скелетных мышц к кальцию за счет связывания с тропониновым комплексом. За счет повышения чувствительности к кальцию тропонин-тропомиозинового регуляторного комплекса, который является кальциевым сенсором в составе саркомера, способным регулировать взаимодействие актина и миозина, приводящее к генерированию силы, соединения повышают силу, создаваемую мышцами. Благодаря такому влиянию на тропонин-тропомиозиновый комплекс соединения усиливают мышечный ответ на приходящий нервный импульс, а также понижают утомляемость мышцы. Таким образом, соединения будут повышать мышечную силу, несмотря на утомление, как у здоровых субъектов, так и у субъектов, имеющих нейромышечную патологию или другие состояния, характеризующиеся мышечной слабостью.

Утомление скелетных мышц представляет собой сложный феномен, в котором, выражаясь общими терминами, могут быть задействованы центральная нервная система, возбуждение двигательных нейронов, деполяризация мышечных клеток/распространение потенциала действия, высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулума (СР), активация тропонина тонких филаментов и циклическое движение поперечных мостиков миозина, взаимодействующего с актином при генерировании силы. Как правило, считают, что развитие утомления у людей обусловлено вовлечением центральной нервной системы или нервно-мышечных синусов, т.е. "утомлением центрального генеза" в минимальной степени, а скорее обусловлено в первую очередь самими миоцитами. Утомление часто классифицируют либо как низкочастотное (low frequency fatigue), вызванное повторяющейся тетанической стимуляцией, либо как высокочастотное (high frequency fatigue), вызванное продолжительной стимуляцией с высокой частотой. При продолжительном максимальном произвольном сокращении напряжение медленно падает (низкочастотное утомление).

При продолжительном сокращении скелетных мышц концентрации Фн и АДФ повышаются вследствие расщепления АТФ и креатин-fosфата. В различных исследованиях было продемонстрировано, что Фн является важным фактором, вызывающим снижение мышечной функции (N.C. Millar and E. Homsher. J. Biol. Chem. Vol. 265, No. 33, Issue of November 25, p. 20234-20240, 1990; Allen D.G. et al. Physiol. Rev.; 88:287-332. 2008). Поскольку Фн высвобождается из актин-миозиновых поперечных мостиков в точке цикла поперечного мостика, ассоциированной с генерированием силы, предполагают, что повышенный уровень Фн увеличивает скорость обратной реакции и таким образом снижает мышечную силу (Takagi Y. et al. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2004 December 29; 359(1452):1913-1920; Fitts et al. J Appl Physiol 104:551-558, 2008). Кроме снижения силы, Фн снижает чувствительность тропонина к Ca^{2+} (H. Westerblad et al. Cellular mechanisms of fatigue in skeletal muscle. Am. J. Physiol. 261 (Cell Physiol. 30): C195-C209, 1991). Например, в демембранизированных поясничных мышцах кролика при повышении концентрации Фн в инкубаторе от 0,2 до 13,8 мМ, чувствительность к Ca^{2+} при развитии напряжения снижалась от pCa 6,81 до pCa 6,42, а коэффициент Хилла увеличивался от 2,5 до 4,74 (Millar 1990). Если работа демембранизированного мышечного волокна проводилась при температурах, близких к физиологическим ($\sim 30^{\circ}C$), негативное влияние на чувствительность быстрых волокон скелетных мышц к Ca^{2+} было более выраженным, чем при низкой температуре ($10-20^{\circ}C$). Так, низкие концентрации Ca^{2+} ($pCa > 5,8$), высокий уровень Фн уменьшают силу, созданную каждым поперечным мостиком, и существенно повышают уровень свободного Ca^{2+} , необходимый для достижения силы, равной половине максимальной силы (низкий pCa_{50}) (E.P. Debolt et al. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 290:C1041-C1050, 2006.). Кроме того, Allen и сотр. исследовали роль Фн в снижении чувствительности к Ca^{2+} при сокращении интактных мышц (Allen, D.G. et al. J. Appl. Physiol. 111:358-366, 2011). В этих исследованиях было обнаружено, что снижение мышечной силы сопровождается повышением концентрации Фн (определение с помощью ^{31}P -ЯМР), а также снижением концентрации кальция в цитоплазме мышечных клеток (миоплазме) и саркоплазматическом ретикулуме (СР) при тетанусе в ходе протоколов, стимулирующих развитие утомления. Таким образом, при утомлении Фн также препятствует высвобождению Ca^{2+} из СР (Allen 2008) и вызывает снижение концентрации кальция в СР, возможно за счет преципитации Ca^{2+} в СР (D.G. Allen and H. Westerblad Journal of Physiology (2001), 536.3, p. 657-665). Вместе, пониженное высвобождение Ca^{2+} из СР, Фн-индуцированный сдвиг вправо отношения pCa -сила и прямое негативное влияние Фн на циклическое движение поперечных мостиков возможно оказывают синергическое влияние и снижают мышечную силу и развиваемую мощность. Debolt и соавт. (2006) приводят пример, в котором при снижении внутриклеточного Ca^{2+} от pCa 5,0 до 6,0 (что является типичным падением свободного внутриклеточного Ca^{2+} , наблюдающимся после продолжительной стимуляции интактных мышечных волокон) при физиологической температуре в присутствии 30 мМ Фн (типичным для волокон в состоянии утомления), сила, генерируемая волокнами II типа, снижается приблизительно на 90%. Падение мышечной работоспособности вследствие снижения уровня свободного внутриклеточного Ca^{2+} и снижения чувствительности к кальцию быстрых мышечных волокон позволяет предположить возможность применения активаторов тропонина быстрых скелетных мышц для уменьшения утомления.

Различные исследования показали, что нарушенное высвобождения Ca^{2+} из СР в миоплазму играет важную роль в развитии утомления (D.G. Allen et al. Journal of Physiology (1989), 415, p. 433-458; Allen et al. 1995, Exp. Physiol. 80, 497-527; Favero, 1999, J. Appl. Physiol. 87:471-483). Использование модуляторов высвобождения Ca^{2+} сыграло большую роль в понимании роли высвобождения Ca^{2+} из СР. Введение 20 мКМ дантролена (миорелаксанта, ингибирующего высвобождение Ca^{2+} из СР за счет блокады рианодиновых рецепторов (RyR)) в длинный разгибатель пальцев мышц понижало исходный уровень напряжения, при котором формируется тетаническое сокращение, и при этом предотвращало развитие общего утомления (E. Germinario et al. J. Appl. Physiol. 96:645-649, 2004). Напротив, кофеин (стимулирующий высвобождение Ca^{2+} из СР и повышающий концентрации свободного внутриклеточного Ca^{2+}) повышал исходный уровень напряжения, при котором формируется тетаническое сокращение длинного разгибателя пальцев, но ускорял и усугублял мышечное утомление при повторной стимуляции с частотой 60 Гц в течение 6 мин (Germinario 2004). В отличие от влияния на утомление дантролена и кофеина, когда исходный уровень тетанического напряжения на фоне введения соединений находился в обратной зависимости с последующей утомляемостью мышц, активаторы тропонина быстрых скелетных мышц, описанные в данном документе, повышают исходное (субмаксимальное) напряжение и также повышают устойчивость к утомлению.

Другим важным аспектом высвобождения Ca^{2+} из СР является активация Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой киназы легкой цепи миозина скелетных мышц (skMLCK), которая затем фосфорилирует регуляторную легкую цепь (РЛЦ) миозина саркомера (H.L. Sweeney et al. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 264:C1085-C1095, 1993; J.T. Stull et al. Arch. Biochem. Biophys. 2011 June 15; 510(2):120-128). Фосфорилирование головок миозина поперечных мостиков приводит к изменению положения головок миозина толстых филаментов (Sweeney 1993) и повышает активность АТФазы, регулируемой тонкими филаментами, повышая чувствительность к Ca^{2+} при генерировании силы, а также скорость развития силы (D.T. Szczesna et al. J. Appl. Physiol. 92:1661-1670, 2002). Повторная стимуляция интактной мышцы и, следовательно, фосфорилирование РЛЦ увеличивают мышечную работу и мощность. Поскольку усилие,

развиваемое поперечнополосатой мышцей, зависит от того, выполняла ли она недавно работу, это позволяет говорить о мышечной "памяти". Наряду с метаболизм-индуцированными изменениями функции поперечных мостиков, фосфорилирование РЛЦ механистически повышает чувствительность саркомера к Ca^{2+} с увеличением мышечной силы, работы и мощности, в частности, при утомлении. Исследования функции саркомера показывают, что фосфорилирование РЛЦ вызывает сдвиг отношения сила-рСа влево за счет увеличения создаваемой силы при субмаксимальной, но не при максимальной активации Ca^{2+} (H.L. Sweeney et al. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 250:C657-C660, 1986; Stull 2011). Полагают, что фосфорилирование РЛЦ скорее приводит к увеличению количества поперечных мостиков, способных смещающиеся относительно тонких филаментов, а не увеличивает силу, созданную каждым поперечным мостиком во время цикла. В этом отношении эффект фосфорилирования регуляторных легких цепей аналогичен эффекту активаторов тропонина быстрых скелетных мышц, описанных в данном документе. Таким образом, и фосфорилирование РЛЦ, и активаторы тропонина быстрых скелетных мышц увеличивают количество поперечных мостиков, совершающих циклическое движение, обеспечивают сдвиг влево отношения сила-рСа, повышают скорость развития силы и замедляют скорость релаксации демембранизированных волокон скелетных мышц. Фосфорилирование РЛЦ может увеличивать силу, работу и мощность, генерируемые при субмаксимальном сокращении *in vivo* (Stull 2011), этот эффект был также продемонстрирован для активаторов тропонина быстрых скелетных мышц в данной работе и предыдущих исследованиях (Russell A.J. et al., Nature Medicine, 2011;378:667-75). Как фосфорилирование РЛЦ, так и активаторы тропонина быстрых скелетных мышц могут повышать силу/мощность мыши при низкочастотной стимуляции, что способствует сохранению мышечной функции при утомлении.

Большая часть энергии, потребляемой миоцитами, обеспечивает два АТФ-зависимых процесса, циклическое движение поперечных мостиков и циклическое поступление Ca^{2+} через клеточные мембранны. В состоянии покоя SERCA1 отвечает за поддержание низкой ($<100 \text{ нМ}$) концентрации свободного Ca^{2+} в цитозоле. В длинном разгибателе пальцев мышц потребление АТФ SERCA отвечает приблизительно за 50% энергозатрат в покое (S.M. Norris et al. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 298:C521-C529, 2010). Активаторы тропонина быстрых скелетных мышц снижают потребность мышц в Ca^{2+} , необходимом для генерирования напряжения, т.е. то же самое напряжение может быть генерировано при более низком уровне Ca^{2+} (Russell 2011). Снижение потребности в свободном цитоплазматическом Ca^{2+} , необходимом для генерирования силы, под действием активаторов тропонина быстрых скелетных мышц предполагает значительное снижение потребления АТФ SERCA в миоцитах, что в результате приведет к существенной экономии энергии и повышению устойчивости мышц к утомлению. Такое снижение потребности в Ca^{2+} , необходимом для генерирования силы, может играть определенную роль в повышении устойчивости мышц к утомлению под действием активаторов тропонина быстрых скелетных мышц.

При утомлении запускается сложная последовательность молекулярных событий, которые, действуя в синергизме, подавляют Ca^{2+} -активированное сокращение саркомера (Debold 2006). Так, повторная стимуляция мышечных волокон нарушает передачу сигнала при деполяризации Т-трубочек и высвобождение Ca^{2+} из СР, снижает содержание Ca^{2+} в СР (возможно вследствие преципитации, обусловленной Фн), снижает высвобождение Ca^{2+} из СР опосредовано через отрицательные метаболические эффекторы, такие как АДФ, Фн, Mg^{2+} и H^+ , понижает чувствительность тропонина к Ca^{2+} вследствие повышения уровней Фн, H^+ и АДФ (Westerblad 1991; Allen 2008) и фосфорилирования RyR1 (S. Gehlert et al. PLoS One. 2012; 7(11):e49326) и снижает способность сократительных элементов генерировать напряжение (Debold 2006). Высвобождение ионов кальция из изолированных везикул СР может быть снижено у человека практически на 40% при продолжительной или интенсивной физической нагрузке (Allen 2008). Повышение чувствительности саркомера к Ca^{2+} , вызванное активаторами тропонина быстрых скелетных мышц, разрешает эти важные проблемы регулирования Ca^{2+} при мышечном утомлении, в частности, связанные с пониженной чувствительностью к Ca^{2+} вследствие повторных сокращений (Westerblad 1991). За счет нормализации чувствительности к Ca^{2+} в сокращающейся мышце активаторы тропонина быстрых скелетных мышц понижают утомляемость мышцы *in vitro*, *in situ* и *in vivo*. Таким образом, активаторы тропонина быстрых скелетных мышц представляют собой важный терапевтический подход, позволяющий усилить мышечную функцию при нервно-мышечной слабости и уменьшить утомляемость.

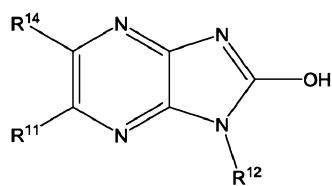
При мышечном сокращении отношение сила-скорость описывается гиперболой, где при больших нагрузках уменьшается скорость сокращения, но развивается большее напряжение. Влияние силовой тренировки заключается в увеличении максимального изометрического напряжения (P_o) мышцы. Хотя тренировка не увеличивает максимальную скорость сокращения без нагрузки (V_o), более сильная тренированная мышца может перемещать груз в изотонических условиях при большей скорости. Другим аспектом действия активаторов тропонина быстрых скелетных мышц является сходство с физическими упражнениями. Так, силовые упражнения у пожилых мужчин приводили к 45% повышению V_o в волокнах I типа латеральной широкой мышцы бедра и увеличению мощности от 25,5 до 41,1 $\text{мкН} \times \text{длину волокна/с}$ (Trappe et al. J. Appl. Physiol. 89:143-152, 2000). В волокнах I типа латеральной широкой мышцы бедра отношение сила-скорость повышалось после выполнения упражнений, аналогичное изменение кривых сила-скорость наблюдалось в данном исследовании на мышах после применения активаторов тропонина быстрых скелетных мышц. Аналогично, физические упражнения постепенно увеличивали

развиваемую мощность у этих субъектов (Trappe 2000), что напоминало увеличение мощности, описанное для терапии активаторами тропонина быстрых скелетных мышц. Физические упражнения были связаны с улучшением транспорта Ca^{2+} в скелетных мышцах (Ferreira, Exp. Biol. Med. 235:497-505, 2010) и физической работоспособности (G.C. Bogdanis. Frontiers in Physiol. May 2012, Vol. 3, Article 142, p. 1-15).

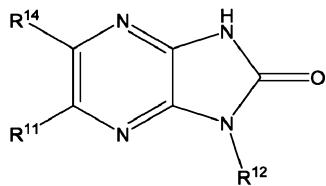
Следует отметить, что все воздействия, при которых кривая сила-рСа сдвигается влево, такие как фосфорилирование РЛЦ миозина скелетных мышц, физические упражнения или связывание активатора тропонина быстрых скелетных мышц с тропониновым комплексом снижают утомляемость мышц. Схожие изменения в мышечной работоспособности при этих воздействиях подчеркивают, что чувствительность саркомера к Ca^{2+} имеет важное значение для мышечной работоспособности и устойчивости к утомлению. В отличие от попыток усилить мышечную работоспособность за счет активации протеинкиназы, активируемой АМФ, (например, физических упражнений или применения низкомолекулярного соединения AICAR (5-аминоимидазол-4-карбоксамид рибонуклеотид), требующей длительного изменения экспрессии различных генов-мишеней, активаторы тропонина быстрых скелетных мышц, например, описанные в данном документе, быстро (т.е. за несколько минут или часов) увеличивают генерируемую субмаксимальную мышечную силу и снижают утомляемость и являются специфичными в отношении тропонинового комплекса быстрых скелетных мышц. Это позволяет проводить избирательную фармакотерапию, направленную на улучшение функции скелетных мышц при различных возможных патологических состояниях, особенно таких, при которых утомление является ведущим симптомом.

Развитие мышечного утомления зачастую описывают как снижение способности мышцы развивать максимальную силу или мощность, это означает, что при возникновении мышечного утомления могут поддерживаться субмаксимальные сокращения. Мышечное утомление можно охарактеризовать как неспособность генерировать требуемую мышечную силу, прекращение активности, которая успешно поддерживалась до этого, истощение сократительной функции или, возможно, ослабление мозговой деятельности (R.M. Enoka and J. Duchateau. J. Physiol. 586.1 (2008), p. 11-23). Механизм(ы), задействованный(ы) в утомлении, зависит(ят) от выполняемой задачи и объединяет(ют) как ощущение утомления, так и механизмы, определяющие мышечную утомляемость (Enoka et al. J. Biomech. 45:427-433, 2012). Помимо того, что существуют различия в механизмах развития утомления при изометрическом и изотоническом мышечном сокращении, профиль утомления при использовании различных протоколов изометрического сокращения может также различаться. Так, у добровольцев, которым предлагалось либо оказывать давление рукой на преобразователь силы в направлении снизу вверх с постоянной субмаксимальной силой, либо удерживать груз в одном положении при помощи мышц-сгибателей плеча руки, характер утомления кардинально различался, несмотря на то, что величина результирующего момента силы была одинаковой в обоих заданиях (S.K. Hunter et al. J. Neurophysiol. 88:3087-3096, 2002). В этих исследованиях время выполнения задания на приложение силы (1402 с) в два раза превышало время выполнения задания на удержание положения (702 с) и характеризовалось более низким уровнем возбуждающих и тормозящих импульсов, поступающих к двигательным нейронам, по сравнению с заданием на удержание положения. Полагают, что изменения в мобилизации двигательных единиц, происходящие при утомлении, также влияют на восприятия, ассоциированные с утомительными сокращениями, например существует сильная взаимосвязь между утомляемостью и ощущением перегрузки (Enoka and Duchateau, 2008). Таким образом, важно не только определять возможное влияние активаторов тропонина быстрых скелетных мышц на мышечную функцию *in vitro* или в моделях на животных, находящихся без сознания, но также исследовать их влияние на способность переносить физическую нагрузку и утомление в моделях на животных, находящихся в сознании, при выполнении статических и динамичных упражнений. Влияние активаторов тропонина быстрых скелетных мышц можно оценивать в моделях на лабораторных животных при выполнении динамичных упражнений, например, в тесте с ускоряющимся вращающимся барабаном (O. Fanellie. Pharmacology. 1976;14(1):52-7; N. Voayadjiev et al. Journal of Sports Science and Medicine (2007), 6, 423-428), в тесте на выносливость с использованием беговой дорожки или в тесте с висением на решетках клетки, описанных в данном документе. Влияние активаторов тропонина быстрых скелетных мышц можно также оценивать в исследованиях на людях с использованием динамичных упражнений, например в тесте с подъемом на носки на обеих ногах, описанном в данном документе.

В первом аспекте настоящего изобретения предложен способ повышения устойчивости скелетных мышц к утомлению у субъекта, страдающего от состояния, выбранного из группы, состоящей из ишемии мышц, инфаркта миокарда и анемии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В:



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,

где R¹¹ представляет собой C₂-C₂₀-алкенил или C₂-C₂₀-алкинил;

R¹⁴ представляет собой водород;

R¹² выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила,

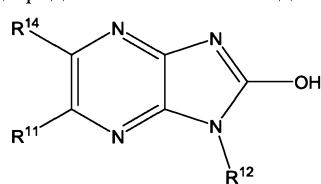
при условии, что R¹¹ не является гекс-1-енилом.

В одном воплощении изобретения субъект страдает инфарктом миокарда или анемией.

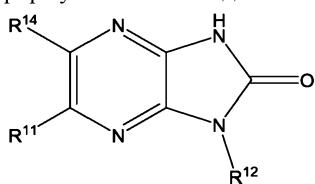
В другом воплощении изобретения активатор тропонина скелетных мышц повышает субмаксимальное напряжение в скелетной мышце у субъекта.

В другом воплощении изобретения активатор тропонина скелетных мышц снижает уровень внутривеночного кальция, необходимый скелетной мышце у субъекта для генерирования силы.

Во втором аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения непереносимости физической нагрузки у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В:



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,

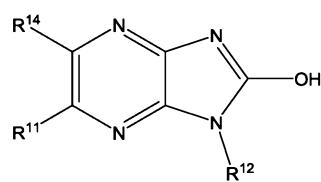
где R¹¹ представляет собой C₂-C₂₀-алкенил или C₂-C₂₀-алкинил;

R¹⁴ представляет собой водород;

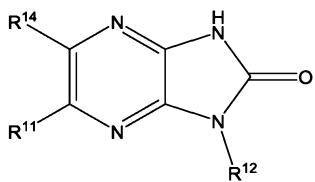
R¹² выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила,

при условии, что R¹¹ не является гекс-1-енилом.

В третьем аспекте настоящего изобретения предложен способ повышения физической выносливости у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В:



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,

где R¹¹ представляет собой C₂-C₂₀-алкенил или C₂-C₂₀-алкинил;

R¹⁴ представляет собой водород;

R¹² выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила,

при условии, что R¹¹ не является гекс-1-енилом.

В одном воплощении второго и третьего аспектов настоящего изобретения способ включает проведение субъекту второго вида лечения. При этом второй вид лечения может включать введение субъекту терапевтического агента, выбранного из антиагрегантного препарата, диуретика, блокатора кальциевых каналов, бета-блокатора, ингибитора АПФ, статина, антагониста рецептора ангиотензина II и антагониста альдостерона. Более конкретно, второй вид лечения может включать введение субъекту терапевтиче-

ского агента, выбранного из дигоксина, аспирина, тиклопидина, клопидогrelя, метопролола, карведиола, эплеренона и спиронолактона.

В другом воплощении второй вид лечения выбирают из ангиопластики, стентирования и хирургической операции.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц и второй вид лечения применяют у субъекта одновременно. В ином воплощении активатор тропонина скелетных мышц и второй вид лечения применяют у субъекта последовательно.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц представляет собой активатор тропонина быстрых скелетных мышц.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц представляет собой 6-этенил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ол или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом воплощении активатор тропонина скелетных мышц представляет собой 6-этенил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2(3Н)-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых воплощениях повышение устойчивости скелетных мышц к утомлению у субъекта определяют в teste с подъемом на носки на обеих ногах, описанном в данном документе (см. примеры 10 и 11). В некоторых воплощениях тест с подъемом на носки на обеих ногах включает сообщение субъекту руководящих указаний по выполнению теста с подъемом на носки через равные интервалы и измерение одного или нескольких параметров, выбранных из (а) времени до появления боли, (б) количества подъемов на носки до появления боли, (в) работы до появления боли, (г) времени до развития максимального утомления, сопровождающегося болью, (д) количества подъемов на носки до развития максимального утомления, сопровождающегося болью, и (е) работы до развития максимального утомления, сопровождающегося болью, где повышение одного или нескольких параметров указывает на повышение у субъекта устойчивости к утомлению.

В некоторых воплощениях соединение формулы А выбрано из следующих соединений:

1-((1R)-1-метил-2-морфолин-4-илэтил)-6-бромуимидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 1-(этилпропил)-6-этенилимидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 1-(этилпропил)-6-метоксиимидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 1-(1,1-диметил-2-морфолин-4-илэтил)-6-бромуимидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 6-(1Н-1,2,3-триазол-4-ил)-1-(этилпропил)имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 1-(этилпропил)-6-(трифторметил)имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 1-[(1R)-1-(морфолин-4-илметил)пропил]-6-этенилимидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 1-(этилпропил)-6-{2-[1-(этилпропил)-2-гидроксиимидаzo[4,5-e]пиразин-6-ил]этенил}имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 6-(диметиламино)-1-(этилпропил)имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 6-этил-1-(этилпропил)имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (E)-1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (E)-1-циклогексил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (E)-1-циклогексил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (E)-1-изопропил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (E)-6-(проп-1-енил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (R)-6-(метилтио)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (R)-6-брому-1-(1-гидроксибутан-2-ил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (R)-6-брому-1-(1-морфолинобутан-2-ил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (R)-6-брому-1-(1-морфолинопропан-2-ил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (R)-6-брому-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;
 (R)-6-брому-1-втор-бутил-1Н-имидаzo[4,5-b]пиразин-2-ола;

(S)-(2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-ил)(4-метилпiperазин-1-ил)метанона;

(S)-(2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-ил)(морфолино)метанона;

(S)-(2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-ил)(пиперидин-1-ил)метанона;

(S)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]хиноксалин-2-ола;

(S)-1-(1-фенилэтил)-6-(пиперидин-1-илметил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-1-(1-фенилэтил)-6-пропил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-1-(1-фенилэтил)-6-винил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-1-(2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-ил)этанона;

(S)-2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразине-6-карбонитрила;

(S)-2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразине-6-карбоксамида;

(S)-2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразине-6-карбоксиловой кислоты;

(S)-2-гидрокси-N,N-диметил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразине-6-карбоксамида;

(S)-2-гидрокси-N-метил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-карбоксамида;

(S)-6-((4-метилпiperазин-1-ил)метил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-((диметиламино)метил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-(2-гидроксипропан-2-ил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-(2-метилпроп-1-енил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-(метилсульфонил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-(метилтио)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-(морфолинометил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-бромо-1-(1-гидроксибутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-бромо-1-(1-морфолинобутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-бромо-1-(1-морфолинопропан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-бромо-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-бромо-1-втор-бутил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-циклогексенил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-циклогексипил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-этокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-этил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-гексил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-изобутил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-6-метокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S)-метил 2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-карбоксилата;

(S)-N,N-диэтил-2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-карбоксамида;

(S)-N-бензил-2-гидрокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-карбоксамида;

(S,E)-1-(1-фенилэтил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S,Z)-1-(1-фенилэтил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(S,Z)-6-(гекс-2-енил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(Z)-1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(Z)-1-циклогексипил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(Z)-1-изопропил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

(Z)-6-(проп-1-енил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

1-(1-аминобутан-2-ил)-6-бромо-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

1-(1-морфолинобутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

1-(2-гидрокси-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-ил)этанона;

1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;

1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2,6-диола;

1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]хиноксалин-2-ола;

1-(пентан-3-ил)-5-винил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-инил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-(пентан-3-ил)-6-(трифторметил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-бензил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-бензил-6-бromo-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-циклогексил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-циклогексил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-изопропил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
2-(6-бromo-2-гидрокси-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-1-ил)-1-
морфолинобутан-1-она;
2-(6-бromo-2-гидрокси-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-1-ил)бутановой кислоты;
2-(6-бromo-2-гидрокси-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-1-ил)пропан-1,3-диола;
2-гидрокси-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоновой
кислоты;
2-гидрокси-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-6-карбонитрила;
2-гидрокси-N,N-диметил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-
карбоксамида;
2-гидрокси-N-метил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-
карбоксамида;
5-(метилтио)-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
5-бromo-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
5-этил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-(метилсульфинил)-1-((S)-1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-
ола;
6-(метилтио)-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-(метилтио)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-
ола;
6-бromo-1-(1-(4-(метилсульфонил)пиперазин-1-ил)бутан-2-ил)-1Н-
имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(1-(4-метилпиперазин-1-ил)бутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]-
пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(1-(диметиламино)бутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(1-(метиламино)бутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(1-метоксибутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(2-метил-1-морфолинопропан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-
2-ола;

6-бromo-1-(2-морфолиноэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-циклогексил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-цикlopропил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-изопропил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-трет-бутил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-цикlopропил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-метокси-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-метил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
метил 2-гидрокси-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксилата;
метил 4-(2-(6-бromo-2-гидрокси-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-1-ил)бутил)пиперазине-1-карбоксилата;
1-(этилпропил)-6-(1-метилпиразол-4-ил)имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-бromo-1-(пропилбутил)имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-[(1*R*)-3-метил-1-(морфолин-4-илметил)бутил]-6-бromoимидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-(этилпропил)-6-винилимидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-(этилпропил)-6-(1-метилвинил)имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
1-(этилпропил)-6-(метилэтил)имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола;
6-хлор-1-(этилпропил)имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола; и
6-(диметиламино)-1-(этилпропил)имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ола

или их фармацевтически приемлемой соли.

Любой пример, не подпадающий под объем формулы изобретения, приведен исключительно в качестве справочной информации.

В некоторых воплощениях соединение формулы В выбрано из следующих таутомеров соединений формулы А:

(R)-6-бromo-1-(1-морфолинопропан-2-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 6-метокси-1-(пентан-3-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 6-бromo-1-(2-метил-1-морфолинопропан-2-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 1-(пентан-3-ил)-6-(1H-1,2,3-триазол-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 1-(пентан-3-ил)-6-(трифторметил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (R)-6-этинил-1-(1-морфолинобутан-2-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 6-((2-гидрокси-1-(пентан-3-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-6-ил)этинил)-1-(пентан-3-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 6-(диметиламино)-1-(пентан-3-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 6-этил-1-(пентан-3-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (E)-1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-енил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (E)-1-циклогексил-6-(проп-1-енил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (E)-1-циклогексил-6-(проп-1-енил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (E)-1-изопропил-6-(проп-1-енил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (E)-6-(проп-1-енил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (R)-6-(метилтио)-1-(1-фенилэтил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (R)-6-бromo-1-(1-гидроксибутан-2-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (R)-6-бromo-1-(1-морфолинобутан-2-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (R)-6-бromo-1-(1-морфолинопропан-2-ил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (R)-6-бromo-1-(1-фенилэтил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (R)-6-бromo-1-втор-бутил-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (S)-1-(1-фенилэтил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (S)-1-(1-фенилэтил)-1H-имидазо[4,5-b]хиноксалин-2(3H)-она;
 (S)-1-(1-фенилэтил)-6-(пиперидин-1-илметил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (S)-1-(1-фенилэтил)-6-(пиперидин-1-карбонил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (S)-1-(1-фенилэтил)-6-пропил-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (S)-1-(1-фенилэтил)-6-винил-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-она;
 (S)-2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-5-карбонитрила;
 (S)-2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-5-карбоксамида;

(S)-2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоновой кислоты;

(S)-6-((4-метилпиперазин-1-ил)метил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-((диметиламино)метил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-(2-гидроксипропан-2-ил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-(2-метилпроп-1-енил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-(4-метилпиперазин-1-карбонил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-(метилсульфонил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-(метилтио)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-(морфолин-4-карбонил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-(морфолинометил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-ацетил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-брому-1-(1-гидроксибутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-брому-1-(1-морфолинобутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-брому-1-(1-морфолинопропан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-брому-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-брому-1-втор-бутил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-циклогексенил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-циклогексил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-этокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-этил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-гексил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-изобутил-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-6-метокси-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S)-метил 2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксилата;

(S)-N,N-диэтил-2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксамида;

(S)-N,N-диметил-2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксамида;

(S)-N-бензил-2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксамида;

(S)-N-метил-2-оксо-3-(1-фенилэтил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксамида;

(S,E)-1-(1-фенилэтил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S,Z)-1-(1-фенилэтил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(S,Z)-6-(гекс-2-енил)-1-(1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(Z)-1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(Z)-1-циклогексил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(Z)-1-циклогексил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(Z)-1-изопропил-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

(Z)-6-(проп-1-енил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-(1-аминобутан-2-ил)-6-бromo-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-(1-морфолинобутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]хиноксалин-2(3Н)-она;

1-(пентан-3-ил)-5-винил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-инил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-(пентан-3-ил)-6-(трифторметил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-бензил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-бензил-6-бromo-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-циклогексил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-циклогексил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

1-изопропил-6-(метилтио)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

2-(6-бromo-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-1-ил)бутановой кислоты;

2-оксо-1-(пентан-3-ил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоновой кислоты;
2-оксо-3-(пентан-3-ил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбонитрила;
5-(метилтио)-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
5-ацетил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
5-бромо-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
5-этил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-(метилсульфинил)-1-((S)-1-фенилэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-(метилтио)-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-(метилтио)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(1-(4-(метилсульфонил)пiperазин-1-ил)бутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(1-(4-метилпiperазин-1-ил)бутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(1-(диметиламино)бутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(1-(метиламино)бутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(1,3-дигидроксипропан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(1-метоксибутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(1-морфолино-1-охобутан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(2-метил-1-морфолинопропан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(2-морфолиноэтил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-циклогексил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-циклогексил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-изопропил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
6-бромо-1-трет-бутил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;

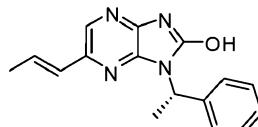
6-циклогексил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 6-гидрокси-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 6-метокси-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 6-метил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 метил 2-оксо-1-(пентан-3-ил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксилата;
 метил 4-(2-(6-бromo-2-оксо-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-1-ил)бутил)пiperазине-1-карбоксилата;
 N,N-диметил-2-оксо-1-(пентан-3-ил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксамида;
 N-метил-2-оксо-1-(пентан-3-ил)-2,3-дигидро-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-5-карбоксамида;
 6-(1-метил-1Н-пиразол-4-ил)-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 6-бromo-1-(гептан-4-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 (R)-6-бromo-1-(4-метил-1-морфолинопентан-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 1-(пентан-3-ил)-6-винил-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-ен-2-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 6-изопропил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она;
 6-хлор-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она; и
 6-(диметиламино)-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-она,

или их фармацевтически приемлемой соли.

Любой пример, не подпадающий под объем формулы изобретения, приведен исключительно в качестве справочной информации.

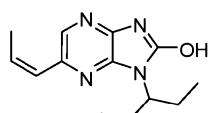
В некоторых воплощениях соединение формулы А представляет собой 6-бromo-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ол или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых воплощениях соединение формулы А представляет собой 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ол (соединение А) или его фармацевтически приемлемую соль.

Соединения формулы А могут быть названы и пронумерованы (например, с помощью программы NamExpert™, разработанной ChemInnovation, или функции автоматического создания названий в программе ChemDraw Ultra версии 10.0, разработанной Cambridge Soft Corporation) согласно описанию ниже. Например, соединение



т.е. соединение согласно формуле А, где R¹¹ представляет собой (E)-пропен-1-ил, R¹² представляет собой (S)-втор-фенэтил и R¹⁴ представляет собой Н, может быть названо (S,E)-1-(1-фенилэтил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ол.

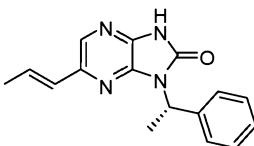
Аналогично, соединение



т.е. соединение согласно формуле А, где R¹¹ представляет собой (Z)-пропен-1-ил, R¹² представляет собой 3-пентил и R¹⁴ представляет собой Н, может быть названо (Z)-1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-енил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ол.

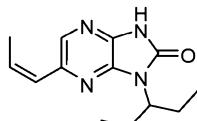
Аналогично, соединения формулы В могут быть названы и пронумерованы (например, с помощью программы NamExpert™, разработанной ChemInnovation, или функции автоматического создания названий в программе ChemDraw Ultra версии 10.0, разработанной Cambridge Soft Corporation) согласно описанию ниже.

Например, соединение



т.е. соединение согласно формуле В, где R¹¹ представляет собой (E)-пропен-1-ил, R¹² представляет собой (S)-втор-фенэтил и R¹⁴ представляет собой H, может быть названо (S,E)-1-(1-фенилэтил)-6-(проп-1-енил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-он.

Аналогично, соединение



т.е. соединение согласно формуле В, где R¹¹ представляет собой (Z)-пропен-1-ил, R¹² представляет собой 3-пентил и R¹⁴ представляет собой H, может быть названо (Z)-1-(пентан-3-ил)-6-(проп-1-енил)-1H-имидазо[4,5-b]пиразин-2(3H)-он.

Способы получения соединений, раскрытых в данном описании, известны в области техники. В WO 2011/133888 предложены способы синтеза соединений формул I-XIII. Например, в патенте США 7956056 изложены способы получения соединений формулы А и формулы В.

Понятно, что активатор тропонина скелетных мышц, подходящий для способов, описанных в данном документе, может представлять собой соединение, описанное в патентах США 8227603, 8063082, 7989469, 7956056, 7851484 и 7598248 и публикациях WO 2013/010015, WO 2011/0133922, WO 2011/0133920, WO 2011/133888, WO 2011/133882, WO 2009/099594 и WO 2008/016648. Содержание данных патентов и патентных заявок включено в данное описание во всей полноте путем ссылки.

Описанные в данном документе химические соединения могут найти применение в повышении устойчивости к мышечному утомлению у нуждающегося в этом субъекта. Повышение устойчивости скелетных мышц к утомлению у субъекта можно определить при помощи теста с подъемом на носки на обеих ногах, где тест с подъемом на носки на обеих ногах включает выполнение подъемов на носки с равными интервалами; регистрации болевых симптомов; определения значений одного или нескольких параметров, выбранных из времени до появления боли, количества подъемов на носки до появления боли, работы до появления боли, времени до развития максимального утомления, сопровождающегося болью, количества подъемов на носки до развития максимального утомления, сопровождающегося болью и работы до развития максимального утомления, сопровождающегося болью, где повышение одного или нескольких параметров указывает на повышение у субъекта устойчивости к утомлению. Тест с подъемом на носки на обеих ногах можно выполнять в любое время после введения активатора тропонина скелетных мышц, например, приблизительно через 1, 3, 6, 12, 24 или 48 ч или более после введения химического соединения.

В некоторых воплощениях параметром является время до появления боли. В некоторых воплощениях параметром является количество подъемов на носки до появления боли, работы до появления боли, времени до развития максимального утомления, сопровождающегося болью, количества подъемов на носки до развития максимального утомления, сопровождающегося болью или работы до развития максимального утомления, сопровождающегося болью.

Описанные здесь химические соединения могут найти применение в лечении субъектов, имеющих заболевания, при которых повышается мышечное утомление. Такие заболевания могут включать, например, заболевание периферических артерий, перемежающуюся хромоту и ишемию мышц.

При заболевании периферических артерий сосудистая недостаточность приводит к тому, что уменьшается приток крови к тканям, находящимся ниже участка обструкции, что вызывает перемежающуюся хромоту (мышечную боль при выполнении таких действий, как ходьба или подъем по лестнице). Поскольку перемежающаяся хромота является следствием недостаточного поступления артериальной крови к работающим мышцам для удовлетворения их энергетических потребностей, приводящего к ишемии и утомлению мышц, активаторы тропонина быстрых скелетных мышц можно применять для снижения утомления, вызванного такой сосудистой недостаточностью. Так, в некоторых воплощениях способ включает введение субъекту, страдающему заболеванием периферических сосудов или перемежающейся хромотой, эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц. В некоторых воплощениях активатор тропонина скелетных мышц повышает устойчивость скелетных мышц к утомлению у субъекта, страдающего заболеванием периферических сосудов или перемежающейся хромотой.

Также предложены способы повышения эффективности быстрых скелетных мышц у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающие введение указанному пациенту эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц согласно данному описанию, избирательно связывающегося с тропониновым комплексом волокна или саркомера быстрых скелетных мышц. В некоторых воплощениях активатор тропонина скелетных мышц согласно данному описанию активирует волокна

или саркомеры быстрых скелетных мышц. В некоторых воплощениях введение активатора тропонина скелетных мышц согласно данному описанию приводит к повышению развивающейся мощности быстрых скелетных мышц. В некоторых воплощениях введение активатора тропонина скелетных мышц согласно данному описанию приводит к повышению чувствительности волокон или саркомеров быстрых скелетных мышц к ионам кальция по сравнению с волокнами или саркомерами быстрых скелетных мышц, не обработанных соединением. В некоторых воплощениях введение активатора тропонина скелетных мышц согласно данному описанию приводит к тому, что связывание миозина быстрых скелетных мышц с актином происходит при более низкой концентрации ионов кальция. В некоторых воплощениях введение активатора тропонина скелетных мышц согласно данному описанию приводит к тому, что волокна быстрых скелетных мышц генерируют большую силу при субмаксимальных уровнях мышечной активации. В любом из указанных воплощений активатор тропонина скелетных мышц может представлять собой активатор тропонина быстрых скелетных мышц.

Также предложен способ увеличения времени до возникновения утомления быстрых скелетных мышц у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающий приведение в контакт волокон быстрых скелетных мышц с активатором тропонина скелетных мышц, избирательно связывающимся с тропониновым комплексом волокон быстрых скелетных мышц. В некоторых воплощениях активатор тропонина скелетных мышц связывается с образованием комплексов лиганд-тропонин-ион кальция, активирующих волокна быстрых скелетных мышц. В некоторых воплощениях образование комплексов и/или активация волокон быстрых скелетных мышц приводят к увеличению силы и/или увеличению времени до возникновения утомления по сравнению с необработанными волокнами быстрых скелетных мышц, приведенными в контакт с ионами кальция в такой же концентрации. В любом из указанных воплощений активатор тропонина скелетных мышц может представлять собой активатор тропонина быстрых скелетных мышц.

Описанные здесь химические соединения вводят в терапевтически эффективной дозе, например, в дозе, достаточной для того, чтобы обеспечить лечение патологических состояний, описанных ранее. Хотя дозировки описанных здесь соединений необходимо оптимизировать для человека, как правило, суточная доза варьируется приблизительно от 0,05 до 100 мг/кг массы тела; в некоторых воплощениях приблизительно от 0,10 до 10,0 мг/кг массы тела, а в некоторых воплощениях приблизительно от 0,15 до 1,0 мг/кг массы тела. Так, для введения индивиду весом 70 кг в некоторых воплощениях доза может варьироваться приблизительно от 3,5 до 7000 мг/сутки; в некоторых воплощениях приблизительно от 7,0 до 750,0 мг/сутки, а в некоторых воплощениях приблизительно от 10,0 до 100,0 мг/сутки. Количество вводимого химического соединения будет подбираться индивидуально для субъекта, получающего лечение, в зависимости от патологического состояния, тяжести недуга, способа и режима введения и решения лечащего врача; например, возможный диапазон доз при пероральном введении может составлять приблизительно от 70 до 700 мг/сутки, тогда как при внутривенном введении возможный диапазон доз может составлять приблизительно от 70 до 750 мг/сутки, в зависимости от фармакокинетики соединения. В некоторых воплощениях диапазон доз составляет приблизительно 200-750 мг/сутки или приблизительно 300-600 мг/сутки. Конкретные значения дозировок включают 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600 и 750 мг/сутки. В других воплощениях химическое соединение вводят в количестве, достаточном для поддержания в плазме средней концентрации, составляющей по меньшей мере приблизительно 5 мкг/мл в течение 24 ч или, в альтернативном случае, 10, 12, 14, 16 или 20 мкг/мл в течение 24 ч.

Введение химических соединений, описанных в данном документе, можно осуществлять любым принятым способом введения агентов, имеющих аналогичное назначение, включая пероральный, сублингвальный, подкожный, внутривенный, интраназальный, местный, трансдермальный, внутрибрюшинный, внутримышечный, внутрилегочный, вагинальный, ректальный или внутриглазной способ введения, но не ограничиваясь перечисленными способами. В некоторых воплощениях применяют пероральное или парентеральное введение.

Фармацевтически приемлемые композиции включают твердые, мягкие, жидкые и аэрозольные лекарственные формы, например, такие как таблетки, капсулы, порошки, жидкости, суспензии, суппозитории, аэрозоли и т.п. Химические соединения можно также вводить в составе лекарственных форм с замедленным или контролируемым высвобождением, включая инъекции веществ с замедленным всасыванием, осмотические насосы, пилюли, трансдермальные (включая электроперенос) накладки и т.п., для непрерывного и/или периодического, пульсового введения с определенной скоростью. В некоторых воплощениях предложены композиции в виде дозированной лекарственной формы, подходящие для однократного введения точной дозы.

Описанные здесь химические соединения можно вводить либо в отдельности, либо чаще в комбинации со стандартным фармацевтическим носителем, эксципиентом и т.п. (например, маннитолом, лактозой, крахмалом, стеаратом магния, сахаринатом натрия, тальком, целлюлозой, кросскармелозой натрия, глюкозой, желатином, сахарозой, карбонатом магния и т.п.). При желании, фармацевтическая композиция может также содержать минорное количество нетоксичного дополнительного вещества, например смачивающего агента, эмульгирующего агента, солюбилизирующего агента, буферного агента и т.п. (например, ацетата натрия, цитрата натрия, производных циклодекстринов, сорбитанмонолаура, три-

этаноламинацетата, триэтаноламинолеата и т.п.). Как правило, в зависимости от предполагаемого способа введения фармацевтическая композиция будет содержать химическое вещество в количестве приблизительно от 0,005 до 95 вес.%; в некоторых воплощениях приблизительно от 0,5 до 50 вес.%. Существующие способы приготовления таких лекарственных форм известны или будут очевидны специалистам в данной области; например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.

В некоторых воплощениях композиции могут находиться в форме пилюль или таблеток и, следовательно, композиции будут содержать, наряду с активным ингредиентом, дилюент, такой как лактоза, сахара, фосфат кальция и т.п.; любрикант, такой как стеарат магния и т.п., и связующее, такое как крахмал, гуммиарабик, поливинилпирролидин, желатин, целлюлоза, производные целлюлозы и т.п. Другие твердые лекарственные формы содержат порошок, пеллеты, раствор или супензию (например, в пропиленкарбонате, растительном масле или триглицеридах), заключенные в желатиновую капсулу.

Жидкие фармацевтические композиции можно изготавливать, например, путем растворения, диспергирования и т.д. по меньшей мере одного химического соединения и возможно фармацевтического адьюванта в носителе (например, воде, солевом растворе, водном растворе декстрозы, глицерине, гликозе, этаноле и т.п.) с получением раствора или супензии. Инъекционные растворы можно приготавливать в стандартной форме, либо в виде жидких растворов или супензий, таких как эмульсии, либо в виде твердых форм, пригодных для растворения или супензирования в жидкости перед введением. Процентное содержание химических соединений, содержащихся в таких композициях для парентерального введения, существенно зависит от их природы, а также от активности химических соединений и потребностей субъекта. Однако в действительности процентное содержание активного ингредиента в растворе составляет от 0,01 до 10% и будет выше, если композиция находится в твердой форме и подлежит растворению до достижения указанного процентного содержания. В некоторых воплощениях композиция содержит приблизительно от 0,2 до 2% активного агента в растворе.

Фармацевтические композиции описанных здесь химических соединений также можно вводить в респираторный тракт в виде аэрозоля или раствора для небулайзера, или в виде сверхтонкого (микронизированного) порошка для инсуффляции, в отдельном виде или в комбинации с инертным носителем, таким как лактоза. В этом случае частицы фармацевтической композиции имеют диаметр, не превышающий 50 мкм, в некоторых воплощениях не превышающий 10 мкм.

Соединения и композиции, описанные и/или изложенные в данном документе, можно вводить в отдельном виде или в комбинации с другими видами лечения и/или терапевтическими агентами, подходящими для лечения заболевания или нарушения.

Соединения и композиции, описанные и/или изложенные в данном документе, можно комбинировать с одним или несколькими другими видами лечения сердечной недостаточности. Подходящие дополнительные терапевтические средства включают дигоксин, омекамтив мекарбиль, антиагрегантные препараты, такие как аспирин, тиклопидин и клопидогрель; бета-блокаторы, такие как метопролол или карведилол; ингибиторы АПФ (т.е. ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента), такие как периндоприл, каптоприл, эналаприл, лизиноприл и рамиприл; диуретики, такие как этакриновая кислота, торасемид, бутетанид, гидрохлортиазид, ацетазоламид, метазоламид, спиронолактон, канrenoат калия, амилорид и триамтерен; блокаторы кальциевых каналов, такие как амлодипин, аранидипин, азелнидипин, барнидипин, бенидипин, килнидипин, клевидипин, исрадипин, эфонидипин, фелодипин, лацидипин, лерканидипин, манидипин, никардипин, нифедипин, нилвадипин, нимодипин, нисолдипин, нитрендипин, пранидипин, верапамил, дилтиазем, мибефрадил, бепридил, флуспирilen и фендилин; статины, такие как аторвастатин, церивастатин, флувастиatin, ловастатин, мевастатин, питавастатин, правастатин, розувастатин и симвастатин; антагонисты альдостерона, такие как эplerенон, канренон, проренон (ргогенон) и мексренон (техгенон) и антагонисты рецептора ангиотензина II, такие как лозартан, кандесартан, валсартан, ирбесартан, телмисартан, перосартан, олмесартан и азилсартан. Другие подходящие дополнительные виды лечения включают ангиопластику, стентирование или оперативное вмешательство (например, шунтирование или операции по удалению атеросклеротических бляшек).

Перечисленные выше терапевтические агенты, при применении в комбинации с соединениями и композициями, описанными и/или изложенными в данном документе, можно применять, например, в количестве, указанном в настольном справочнике врача или выбранном специалистом в данной области.

Перечисленные выше терапевтические агенты, при применении в комбинации с соединениями и композициями, описанными и/или изложенными в данном документе, можно вводить последовательно, одновременно или в различных комбинациях. Например, если введение композиции согласно описанию обозначить "A", а дополнительного средства - "B", примеры комбинаций включают A/B/A, B/A/B, B/B/A, A/A/B, A/B/B, B/A/A, A/B/B/B, B/A/B/B, B/B/B/A, B/B/A/B, A/A/B/B, A/B/A/B, A/B/B/A, B/B/A/A, B/A/B/A, B/A/A/B, A/A/A/B, B/A/A/A, A/B/A/A, A/A/B/A и т.п.

Приведенные ниже примеры позволяют лучше описать соединения и способы, раскрытие в данном документе. Очевидно, что эти примеры никоим образом не ограничивают объема изобретения, а приведены для наглядности.

Пример 1. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на изометрическое напряжение в волокнах короткого сгибателя пальцев крысы.

Активатор тропонина быстрых скелетных мышц 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидаzo[4,5-*b*]пиразин-2-ол (соединение А) избирательно повышает чувствительность быстрых скелетных мышц к ионам кальция путем связывания с тропониновым комплексом саркомера и уменьшения скорости высвобождения Ca^{2+} из комплекса с тропонином С. На биохимическом уровне добавление соединения А к миофибриллам быстрых скелетных мышц приводит к сдвигу влево отношения активности АТФазы миозина к концентрации кальция. Соединение А не оказывало влияния или оказывало незначительное влияние на миофибриллы медленных скелетных мышц или сердечной мышцы, демонстрируя свою избирательность в отношении быстрых скелетных мышц. Изометрическая титрационная калориметрия также подтвердила прямое взаимодействие соединения А с тропонином быстрых скелетных мышц ($K_D=40$ нМ). В химически "демембранизированных" волокнах латеральной широкой мышцы бедра человека, полученных при биопсии мышцы (при свободной проницаемости плазматических мембран для Ca^{2+}), обработка быстрых волокон соединением А приводила к резкому сдвигу влево графика отношения сила-кальций без увеличения максимальной силы или изменения формы кривой. Демембранизированные волокна быстрых скелетных мышц из поясничной мышцы кролика демонстрировали аналогичную избирательность в отношении типа волокон и сдвиг влево отношения сила-кальций. Сдвиг влево отношения сила-кальций в мышечных волокнах и соответствующий сдвиг отношения сила-частота стимуляции в нервно-мышечной паре *in situ* свидетельствуют, что соединение А увеличивает мышечную силу при субмаксимальной частоте стимуляции нерва и повышает чувствительность быстрой скелетной мышцы к Ca^{2+} (A.J. Russell et al. *Nature Medicine*, 2011; 378:667-75).

Взрослых самцов крыс линии Спраг-Доули (Sprague-Dawley) (получены из питомника Charles River) весом от 250 до 300 г погружали в наркоз с помощью смеси изофлурана и кислорода и быстро подвергали эвтаназии путем иссечения сердца. Задние конечности быстро перерезали в районе голеностопа и помещали в оксигенированный раствор Кребса с температурой 4°C (состав: 1 мМ NaH_2PO_4 , 5 мМ KCl , 2 мМ $CaCl_2$, 1 мМ $MgSO_4$, 137 мМ $NaCl$, 11 мМ глюкозы и 1 мМ $NaHCO_3$). Затем конечности промывали свежим оксигенированным буфером Кребса комнатной температуры и удаляли кожу с подошвы при помощи ножниц. У крыс малая ветвь главной мышцы, короткого сгибателя пальцев (FDB, от лат. *flexor digitorum brevis*) располагается от пятки до пятого пальца. Ее препарировали маленькими ножницами и отрезали сухожилия на каждом конце мышцы. Мышцу промывали раствором Кребса и удаляли окружающие фасции. На шелковой нити делали маленькую петлю и затем связывали узлом с каждым концом сухожилия, таким образом, на каждом конце мышцы получалась петля из шелковой нити. Затем ее прикрепляли к фиксированной рукоятке и преобразователю силы установки 801 А для исследований *in vitro* (Aurora Scientific, Ontario, Canada) и производили перфузию раствором Кребса при 30°C.

Исследовали влияние 10 мкМ соединения А на отношение сила/частота. Как показано на фиг. 1, соединение А повышает субмаксимальную силу, развиваемую коротким сгибателем пальцев крысы *in vitro* (средние значения удельной силы \pm станд. откл.; * $p<0,05$ по сравнению с исходным уровнем; $n=6$).

Пример 2. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на утомление живых волокон короткого сгибателя пальцев крысы при изометрическом напряжении.

Протокол стимуляции в изометрическом режиме до наступления утомления разработали на основе опубликованных исследований (Germinario et al., 2004). Изолированные мышцы-сгибатели пальцев крысы инкубировали при 4°C либо в буфере Кребса с добавлением 0,1% ДМСО, либо в буфере, содержащем 5 мкМ соединения А в течение 30 мин. Затем ткани переносили в преобразователь изометрической силы при 30°C с той же концентрацией ДМСО или соединения А. Мышцы стимулировали до развития тетануса, подавая на электроды супрамаксимальное напряжение (стимуляция при 120 Гц, импульсы 1 мс, длительность нанесения импульсов 350 мс) каждую минуту, подбирали длину, при которой развивалось максимальное напряжение (L_0), и регистрировали ее значение. Частоту стимуляции подбирали таким образом, чтобы в каждой ткани развиваемая сила составляла 50% от максимальной силы: средняя частота стимуляции, необходимая для достижения F_{max} 50% (среднее арифм. \pm станд. откл.) для 0,1% ДМСО составляла $32,4 \pm 3,3$ Гц, а для 5 мкМ соединения А она составляла $20,5 \pm 4,9$ Гц. Затем мышцы стимулировали каждые 6 с в течение 15 мин с помощью конденсаторных электродов (стимул 1 мс, пачки 350 мс), что приводило к быстрому падению силы, генерируемой контрольными волокнами и волокнами, обработанными соединением А, на протяжении 900 с, при этом в контрольной группе наблюдалось более выраженное и быстрое падение напряжения по сравнению с группой, получавшей соединение А.

На фиг. 2 показано, что средние показатели максимальной силы (F_{max}) в контрольных волокнах через 900 с падали до $24,38 \pm 4,3\%$ от исходного напряжения ($11,8 \pm 1,9\%$ от F_{max}) (нижний график), тогда как в присутствии соединения А только до $53,9 \pm 2,1\%$ от исходного напряжения ($28,4 \pm 1,2\%$ F_{max}) (верхний график).

Пример 3. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на продолжительность релаксации при изометрическом напряжении длинного разгибателя пальцев крысы *in situ*.

Как и в исследованиях короткого сгибателя пальцев *in vitro*, вызывали сокращение другой мышцы, преимущественно состоящей из волокон быстрого типа, длинного разгибателя пальцев (EDL, от лат. *extensor digitorum longus*) в ответ на стимуляцию *in situ* у крыс, находящихся без сознания. В этих исследованиях изометрических мышечных сокращений (измерение силы, развиваемой при фиксированной длине) определяли силу, время до достижения пикового сокращения, время до достижения полурелаксации после прекращения стимуляции ($RT_{1/2}$) и исходное напряжение. Преимуществом этих исследований является интактность нервно-мышечной пары и нормальный приток крови к исследуемой мышце.

Крыс погружали в наркоз с помощью изофлурана и удаляли кожу вокруг исследуемой конечности. Затем изолировали дистальный конец длинного разгибателя пальцев и связанное с ним сухожилие. Затем крыс помещали на платформу установки Aurora (806C) для исследования мышц *in situ*, в которой поддерживали температуру тела благодаря системе циркуляции воды. Колено иммобилизовали, зажав его между двумя заостренными винтами, а дистальное сухожилие отрезали и привязывали к рукоятке преобразователя силы (Aurora Scientific, Ontario, Canada) с помощью шелкового шовного материала. Мышцу стимулировали раздражением малоберцового нерва. Для выделения нерва делали 1 см надрез в верхней части бедра и лежащую выше икроножную мышцу подрезали так, чтобы обнажить приблизительно 5 мм участок малоберцового нерва. Затем отсекали окружающую соединительную ткань и в обнаженный нерв вкалывали пару игольчатых электродов (0,10 мм). Сократительные свойства мышцы оценивали путем раздражения нерва электрическим током и регистрации силы, генерируемой мышцей, с использованием серводвигателя. Длину мышцы фиксировали таким образом, чтобы изометрическая сила (L_0), развивающаяся в ответ на субмаксимальную стимуляцию (30 Гц, импульсы 1 мс, длительность пачки 350 мс), была максимальной. После определения L_0 нерв стимулировали каждые 2 мин пачками импульсов с частотой 30 Гц (импульс 1 мс, длительность пачки 350 мс) на протяжении всего эксперимента. Препарат был стабилен в течение 4-6 ч.

После того как длина мышцы была подобрана и достигнуто стабильное исходное значение силы, вводили растворы соединения А (50% ПЭГ300/10% этанол/40% циклодекстрин Cavitron) через катетер, установленный в бедренной артерии, путем однократного медленного болюсного введения в течение 2 мин. Дозу обычно наращивали до 10 мг/кг при максимальном вводимом объеме 5 мл/кг. Введение соединения А приводило к повышению субмаксимальной силы без увеличения максимальной силы, т.е. при развитии силы наблюдались такие же изменения, как и в эксперименте с короткими сгибателями пальцев *in vitro*. Время релаксации *in situ* после внутриартериальной инфузии препарата тираземтив (ti-rasemtiv) изменялось пропорционально силе при дозах до 10 мг/кг (фиг. 3). Эти исследования подтвердили, что активатор тропонина скелетных мышц, представляющий собой соединение А, усиливает субмаксимальную силу скелетных мышц *in situ*, причем паттерн его активности был таким же, как и в исследованиях мышечных волокон коротких сгибателей пальцев *in vitro*, а также продемонстрировали соответствующее увеличение времени релаксации приблизительно в 3,5 раза при дозе 10 мг/кг.

Пример 4. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на утомление длинного разгибателя пальцев *in situ*.

Препарат длинного разгибателя пальцев *in situ*, описанный в примере 3, использовали в протоколе, в котором для наступления утомления мышцу стимулировали в течение 600 с. У крыс, получавших носитель, осуществляли электрическую стимуляцию длинного разгибателя пальцев через малоберцовый нерв с частотой 30 Гц. Поскольку соединение А позволяет снизить частоту стимуляции, необходимую для достижения аналогичного изометрического напряжения, частоту стимуляции малоберцового нерва у крыс, получавших соединение А (1 мг/кг), снижали, чтобы развивающая сила находилась на том же уровне, что и до приема препарата (средняя частота стимуляции у крыс, получавших соединение А, составляла приблизительно 26 Гц). Соединение А или носитель вводили через дуоденальный зонд. Для развития мышечного утомления выполняли электрическую стимуляцию длинного разгибателя пальцев каждые 3 с пачками электрических импульсов по 350 мс в течение 10 мин с частотой, при которой развивающая исходная сила составляла 50% от максимальной (F_{max50}), что у каждого животного определяли по отношению сила-частота. Результаты, приведенные на фиг. 4, показывают, что соединение А снижало мышечное утомление длинного разгибателя пальцев крыс *in situ*.

Пример 5. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на утомление длинного разгибателя пальцев крыс при лigation бедренной артерии.

Препарат длинного разгибателя пальцев *in situ*, описанный в примере 3, использовали в протоколе, в котором для наступления утомления мышцу стимулировали в течение 600 с. У крыс, получавших носитель, осуществляли электрическую стимуляцию мышцы с частотой 30 Гц, тогда как частота стимуляции у крыс, получавших соединение А, была снижена, так чтобы развивающееся усилие находилось на том же уровне, что и без приема препарата, перед перевязкой бедренной артерии (средняя частота стимуляции составляла 29 и 26 Гц при концентрации соединения А 0,5 и 1 мг/кг соответственно). Данный протокол приводил к развитию воспроизведенного и стойкого утомления длинного разгибателя пальцев после лigation бедренной артерии, с транзиторным увеличением силы до $136,0 \pm 6,8\%$ от исходного уровня

в течение первых 90-100 с, за которым следовало быстрое падение силы и затем ее стабилизация на уровне приблизительно 40% от исходного уровня. Полагают, что первоначальное увеличение напряжения обусловлено Фн-индуцированным повышением концентрации свободного внутриклеточного Ca^{2+} вследствие ингибирования Ca^{2+} -АТФаз сарко(эндо)плазматического ретикулума (SERCA), транспортирующих его в СР (Allen, *Physiol. Rev.* 88:287-332, 2008). После лигирования бедренной артерии (R.A. Challiss et al. *Biochem. J.* 1986 Dec 1; 240(2):395-401) раствор соединения А (50% ПЭГ300/10% этанол/40% кавитрон (Cavitron)) вводили через катетер, установленный в яремной вене путем однократного медленного болясного введения в течение 2 мин.

Как показано на фиг. 5, у крыс с лигированием бедренной артерии, получавших соединение А, наблюдалось дозозависимое увеличение времени до развития утомления и способности генерировать напряжение по сравнению с животными, получавшими носитель. Таким образом, в протоколе, вызывающем развитие утомления, у крыс, получавших соединение А, наблюдалось более медленное (за 160-170 с) и более выраженное первоначальное увеличение силы, достигавшей $156,3 \pm 10,4\%$ от исходного уровня, по сравнению с животными, получавшими носитель. Время, за которое сила снижалась до 50% от исходного уровня, увеличивалось от 259 ± 30 до 752 ± 64 с ($P < 0,0001$, Т-критерий).

Пример 6. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на силу и мощность сгибателя подошвы крысы *in situ*.

Крыс погружали в наркоз с помощью изофлурана и обнажали седалищный нерв подопытной конечности. Затем крысу помещали на платформу установки Aurora (806C) для исследования мышц *in situ*, в которой поддерживали температуру тела благодаря системе циркуляции воды. Колено иммобилизовали, зажав его между двумя заостренными винтами, а ступню прочно фиксировали на педали преобразователя силы (Aurora Scientific, Ontario, Canada) с помощью лабораторной клейкой ленты. Мыщцу стимулировали раздражением седалищного нерва. Для выделения нерва выполняли 1 см надрез в верхней части бедра и лежащую выше икроножную мышцу рассекали так, чтобы обнажить приблизительно 5 мм участок седалищного нерва. Затем отсекали окружающую соединительную ткань и в обнаженный нерв вкалывали пару игольчатых электрородов (0,10 мм). Малоберцовую ветвь удаляли, чтобы прервать иннервацию группы мышц разгибателей стопы. Сократительные свойства мышцы оценивали, путем раздражения нерва электрическим током и регистрации силы, генерируемой мышцами, с использованием серводвигателя. Изокинетическое сокращение оценивали по силе, генерируемой при заданном смещении педали. Смещение педали составляло 0,7 рад (40°C).

Растворы соединения А (50% ПЭГ300/10% этанол/40% кавитрон (cavitron)) вводили через катетер, установленный в бедренной вене, посредством однократного медленного болясного введения в течение 2 мин, максимальный вводимый объем составлял 5 мл/кг. В ходе эксперимента из хвостовой вены брали кровь для определения концентрации соединения. В конце каждого исследования регистрировали длину и вес мышцы и измеренную величину силы нормализовали по отношению к массе мышцы (Н/г).

Результаты приведены на фиг. 6A-6D. Как показано на фиг. 6A, при введении соединения А отношение изометрической силы к частоте стимуляции мышц сгибателей подошвы увеличивалось в диапазоне субмаксимальных значений дозозависимым образом. Как показано на фиг. 6B, при введении соединения А отношение изокинетической силы к частоте (при 3,1 радиан/с) повышалось в диапазоне субмаксимальных значений дозозависимым образом. Как показано на фиг. 6C, при 30 Гц отношение сила-скорость возрастало во всем диапазоне значений скорости при увеличении дозы и скорости. Как показано на фиг. 6D, развивающаяся мощность, соответствующая значениям силы и скорости, приведенным на фиг. 6C, увеличивалась дозозависимым образом, при этом максимальные значения мощности сохранялись на том же уровне. Фиг. 6E демонстрирует силу, генерируемую в ходе выполнения протокола стимуляции в изокинетическом режиме до наступления утомления при 1 сгибании/с со скоростью 3,1 рад/с и смещением 0,7 рад при частоте стимуляции 30 Гц. Соединение А позволяло увеличить генерируемую силу на всем протяжении кривой, в результате суммарная работа, производимая за период времени 300 с, составила на 55% больше, но общий профиль кривой сохранялся таким же, как и при введении носителя.

Тот же протокол повторяли с применением другого активатора тропонина скелетных мышц, 1-((1R)-1-метилпропил)-6-хлор-7-пиразолилимидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ола (соединение В). Соединение В и аналогичный активатор тропонина скелетных мышц раскрыты в патенте US 7989469. Результаты приведены на фиг. 7A-7F. Как показано на фиг. 7A, при введении соединения В отношение изометрической силы мышц сгибателей подошвы крыс к частоте увеличивалось в диапазоне субмаксимальных значений дозозависимым образом. Как показано на фиг. 7B, при введении соединения В отношение изокинетической силы к частоте (при 3,1 рад/с) увеличивалось в диапазоне субмаксимальных значений дозозависимым образом. Как показано на фиг. 7C, отношение сила-скорость при 30 Гц возрастало во всем диапазоне значений скорости при увеличении дозы и скорости. Как показано на фиг. 7D, развивающаяся мощность, соответствующая значениям силы и скорости, приведенным на фиг. 7C, демонстрировала дозозависимое увеличение, при этом максимальные значения мощности сохранялись на том же уровне. Фиг. 7E демонстрирует силу, генерируемую в ходе выполнения протокола стимуляции в изокинетическом режиме до наступления утомления при 1 сгибании/с со скоростью 3,1 рад/с и смещением 0,7 рад при частоте стимуляции

ляции 30 Гц. Соединение В позволяло увеличить генерируемую силу на всем протяжении кривой, в результате суммарная работа, производимая за период времени 300 с, составила на 105% больше, но общий профиль кривой сохранялся таким же, как и при введении носителя. Фиг. 7F демонстрирует силу, генерируемую в ходе выполнения протокола стимуляции в изокинетическом режиме до наступления утомления при 1 сгибании/с со скоростью 3,1 рад/с. Смещение 0,7 рад и частоту стимуляции рассчитывали таким образом, чтобы изокинетическое напряжение составило 50% от максимального. На фоне соединения В генерируемая сила сохранялась на том же уровне на всем протяжении кривой при частоте стимуляции, равной 50% от частоты стимуляции при введении носителя, а суммарная работа, производимая за период времени 300 с, оставалась на прежнем уровне, и профиль сохранялся таким же, как и при введении носителя.

Пример 7. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на время повисания на решетке клетки у здоровых крыс.

Статическое утомление у крыс, находящихся в сознании, оценивали, измеряя время, в течение которого здоровые самки крыс проводили, повиснув вниз головой на прутьях клетки. Крыс приучали висеть вниз головой на прутьях клетки и регистрировали время до падения на мягкую подстилку. Для каждого животного регистрировали исходное время нахождения в висячем положении ($n=24$) в течение двух недель. Затем крысам давали соединение А (200 млн^{-1}) с кормом в течение двух недель и ежедневно мониторировали время нахождения в висячем положении. Затем крысы переставали получать соединение А с кормом в течение пяти дней, при этом у них продолжали ежедневно мониторировать время нахождения в висячем положении.

Среднее время нахождения крыс в висячем положении в течение исходного периода свидетельствовало о значительном улучшении их способности висеть вниз головой. Так, при сравнении индивидуальных результатов время нахождения в висячем положении в конце исходного периода было значительно больше, чем в начале исходного периода (в последние три дня начального этапа тестирования наблюдалось повышение исходных показателей у контрольных крыс до $116 \pm 4\%$ (среднее арифм. \pm станд. ош.ср.); 618 ± 65 с. Как показано на фиг. 8, у крыс, получавших корм, содержащий соединение А (200 млн^{-1}) в течение двух недель, время нахождения в висячем положении увеличивалось от 116 до $160 \pm 18\%$ в среднем на протяжении последних трех дней приема соединения А по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,02$, парный Т-критерий; 899 ± 157 с). Прекращение приема соединения А на протяжении пяти дней приводило к уменьшению времени нахождения в висячем положении у большинства животных, как показали нормализованные результаты (среднее значение для трех последних дней из пяти = $124 \pm 12\%$, $p < 0,001$, парный Т-критерий; 698 ± 122 с).

Пример 8. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на результаты теста с применением вращающегося барабана у здоровых крыс.

Самки крыс линии Sprague Dawley (весом 210-260 г) были получены из компании Charles River Laboratories и прошли акклиматизацию в лаборатории как минимум на протяжении шести дней до начала исследования. За день до введения соединения всех крыс дрессировали. Дрессировка состояла в том, что крыс помещали на вращающийся барабан, который вначале вращался с низкой постоянной скоростью (10 об/мин). Крысы приучались ходить по барабану в течение 5 мин и затем отдыхали. После того как все крысы экспериментальной группы прошли первую серию тренировок, начинали вторую серию тренировок, где скорость повышали от 14-16 об/мин. Крыс, которые оказались не способны бегать во время тренировки, исключали из эксперимента. В день проведения эксперимента животные получали дозу вещества за 30 мин до начала теста. Тест начинали с 5-минутной инициирующей сессии, во время которой животных принуждали бежать с возрастающей скоростью начиная от 14-16 об/мин в течение 5 мин. Затем крыс принуждали бежать с постоянно нарастающей скоростью, увеличивающейся от 12 до 25 об/мин в течение 10 мин. При достижении скорости 25 об/мин постоянную скорость, равную 25 об/мин, поддерживали еще в течение 5 мин. Регистрировали время до падения, тест заканчивали через 900 с.

Соединение А вводили перорально через зонд за 30 мин до исследования. Каждая доза представляла собой суспензию, содержащую 0,2% Tween 80, 0,5% ГПМЦ и воду. Вводимый объем составлял 5 мл/кг. Носитель (0,2% Tween 80, 0,5% ГПМЦ, H_2O) вводили аналогичным образом. Контрольные препараты были выбраны в связи с их способностью облегчать утомление центрального происхождения (кофеин, Davis 2003), мышечное утомление (креатин, Boyadjiev, 2007) и утомление двойного центрального/мышечного происхождения (фосфосерин, Fanelli 1976). Креатинин (300 мг/кг), кофеин (10 мг/кг) и фосфосерин (1000 мг/кг) вводили в виде водного раствора перорально через зонд за 60 мин, 30 мин и 24 ч до исследования, соответственно.

Как показано на фиг. 9 и в табл. 1, у крыс, получавших соединение А, наблюдалось дозозависимое увеличение продолжительности бега на медленно ускоряющемся барабане, при этом максимальная исследуемая доза 3 мг/кг приводила к более чем двукратному увеличению продолжительности бега. У крыс, получавших креатин, кофеин и фосфосерин (соединения, у которых ранее была показана способность улучшать результаты в других нагрузочных тестах), достоверных различий не обнаружили.

Таблица 1

Доза (мг/кг)	Время бега (с) среднее арифм. \pm станд.ош.ср.	Значение Р
Носитель	169 \pm 28	N/A
0,3	301 \pm 36	NS
1	334 \pm 29 ()	p<0,05
3	389 \pm 65 ()	p<0,01

Пример 9. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на результаты тредмил теста у здоровых крыс.

Исследование проводили на самцах крыс линии Sprague Dawley (Charles River) в возрасте 10-12 недель весом 250-400 г. Крысы проходили акклиматизацию в течение как минимум 2 дней при еженедельном взвешивании. Выносливость у крыс оценивали с помощью теста с нарастающей физической нагрузкой, как описано ранее (A. Aaker et al. J. Cardiovasc. Pharmacol. 28:353-362, 1996; B. Helwig et al. J. Appl. Physiol. 2003 Jun; 94(6):2225-36). После ознакомления с беговой дорожкой крыс принуждали бежать по дорожке с уклоном 5% со скоростью 30 м/мин. Каждые 15 мин скорость беговой дорожки увеличивали на 5 м/мин и крысы продолжали выполнять упражнение до полного утомления, когда они были не способны продолжать упражнение (фиг. 1А). Продолжительность выполнения упражнения регистрировали в минутах, а дистанцию, преодолеваемую за время упражнения, регистрировали в метрах. Соединение А вводили перорально через зонд за 2 ч до исследования. Каждая доза представляла собой супензию, содержащую 1% гидроксипропилметилцеллULOЗы (ГПМЦ), 0,2% Tween 80 и микронизированное (тонкоизмельченное) соединение А, вводимый объем составлял 5 мл/кг. Носитель (0,2% Tween 80, 1% ГПМЦ, H₂O) вводили аналогичным образом.

Соединение А в дозах 10 и 20 мг/кг приводило к увеличению продолжительности бега на тредмиле на 20% по сравнению с исходным и на 50% по сравнению с контролем, роль которого выполнял носитель (фиг. 10А). Аналогично увеличивалась и преодолеваемая дистанция (фиг. 10В). Эти результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

	Дистанция (м) Среднее арифм. \pm станд.ош.ср.			Время (мин) Среднее арифм. \pm станд.ош.ср.		
	Соединение А	Носитель	Значение Р	Соединение А	Носитель	Значение Р
До приема	1527 \pm 127	1330 \pm 134	NS	49,3 \pm 3,2	44,2 \pm 3,6	NS
10 мг/кг	1972 \pm 176	1140 \pm 129	<0,01	60,7 \pm 4,2	38,9 \pm 3,6	<0,01
20 мг/кг	1943 \pm 205	1281 \pm 101	<0,05	59,4 \pm 4,7	42,9 \pm 2,8	<0,05

Пример 10. Тест с концентрической нагрузкой при подъеме на носки на обеих ногах.

Пациенты с заболеванием периферических артерий (ЗПА) и перемежающейся хромотой испытывают повторяющиеся болевые симптомы в ногах при ходьбе. Болевые симптомы обусловлены ишемией мышц ног вследствие их недостаточной перфузии при физической нагрузке. Боль при ходьбе чаще всего возникает в икроножных мышцах, ограничивая как дистанцию ходьбы, так и способность переносить функциональную нагрузку. Максимальная физическая работоспособность, которую определяют как максимальную продолжительность ходьбы при проведении стандартного тредмил теста, оцениваемого в баллах, является золотым стандартом для оценки способности переносить функциональную нагрузку при ЗПА и часто является первичной конечной точкой в клинических исследованиях. Поскольку у пациентов с перемежающейся хромотой имеются локальные метаболические и гемодинамические нарушения, тест с подъемом на носки на обеих ногах позволит 1) выявить болевой симптом при ходьбе и 2) провести функциональную оценку мышечной силы, ограниченной появлением симптомов, и мышечного утомления. Данный эксперимент показывает практическую ценность и воспроизводимость нового теста с подъемом на носки для оценки мышечной функции и выявления ограниченной физической работоспособности у пациентов с ЗПА и перемежающейся хромотой.

В задачи исследования входило 1) определение исходных характеристик и вариации результатов теста с подъемом на носки на обеих ногах у пациентов с ЗПА и 2) определение коэффициентов вариации и внутригрупповой корреляции параметров теста с подъемом на носки в трех повторных базовых замерах.

Тест с подъемом на носки на обеих ногах использовали в многоцентровом исследовании для оценки мышечной силы, ограниченной появлением симптомов, и утомления на протяжении трех визитов с интервалом в 1 неделю. Аппаратура, используемая в исследовании, включала электромеханический гoniометр, портативное устройство для обработки данных, персональный компьютер и программное обеспечение для автоматизированного сбора данных. На боковой поверхности голеностопа доминантной ноги крепился электромеханический гoniометр, позволяющий оценивать угол сгибания голеностопного сустава и амплитуду движений (Noraxon U.S.A., Inc., Scottsdale, AZ) (фиг. 11). Подошвенное сгибание в голеностопном суставе мониторировали и регистрировали с применением гoniометра, связанного с портативным процессором и системой для сбора данных на базе ПК. Пациенты занимали положение стоя в

дверном проеме клиники и получали указание выполнять подъем на носки с частотой, задаваемой метрономом, подающим регулярные звуковые сигналы (один подъем каждые 2 с ~0,5 Гц). Субъекты сообщали о возникновении болевого симптома, и тестирование проводили до наступления невыносимой/максимальной боли и утомления. Общее количество подъемов на носки, время и произведенную работу (расчетный индекс) оценивали от начала тестирования до возникновения боли и до прекращения теста. Индекс, характеризующий совершенную работу, рассчитывали по формуле: индекс работы при подъеме на носки (ИРПН) = $(\sin\theta \times \text{длина стопы}) \times \text{масса тела}$. Количество подъемов на носки определяли как количество подъемов, при которых подошвенное сгибание в голеностопе достигало или превосходило 20 градусов. Для определения коэффициентов внутригрупповой корреляции и возможного расхождения между результатами измерений при повторном выполнении теста с подъемом на носки без воздействия использовали модель со смешанными эффектами (фиксированный эффект - визит, случайные эффекты - пациенты).

Демографические характеристики и внутригрупповые коэффициенты корреляции в данном исследовании приведены в табл. 3, 4.

Таблица 3

Демографические характеристики	
$N = 61$	
*среднее арифм. \pm станд. откл., если не указано иное	
Возраст (лет)	$67,3 \pm 9,2$
Вес (кг)	$76,96 \pm 17,30$
Курение в настоящее время (%)	39,3%
Мужчины (%)	85,2%

Таблица 4

Внутригрупповые коэффициенты корреляции	
Время до возникновения хромоты	79,2%
Количество повторов до возникновения хромоты	78,4%
Работа, совершенная до возникновения хромоты	72,2%
Время до возникновения невыносимой боли или утомления икроножной мышцы	78,7%
Количество повторов до возникновения невыносимой боли или утомления икроножной мышцы	76,3%
Работа, совершенная до возникновения невыносимой боли или утомления икроножной мышцы	75,2%

Результаты теста с подъемом на носки приведены в табл. 5

Таблица 5

Параметры теста с подъемом на носки по визитам				
Пределы среднего \pm станд. откл.	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Значение Р*
Время до возникновения хромоты (с)	$44,2 \pm 2,3$	$41,3 \pm 2,3$	$44,2 \pm 2,3$	0,0972
Количество повторов до возникновения хромоты (#)	$20,8 \pm 1,1$	$20,7 \pm 1,1$	$22,5 \pm 1,1$	0,0527
Работа, совершенная до возникновения хромоты (кг-м)	$86,7 \pm 5,0$	$85,9 \pm 5,0$	$96,8 \pm 5,2$	0,0155
Время до возникновения невыносимой боли или утомления икроножной мышцы (с)	$78,4 \pm 6,0$	$70,9 \pm 6,1$	$75,3 \pm 6,2$	0,1806
Количество повторов до возникновения невыносимой боли или утомления икроножной мышцы (#)	$36,0 \pm 2,9$	$34,5 \pm 2,9$	$36,9 \pm 3,0$	0,3361
Работа, совершенная до возникновения невыносимой боли или утомления икроножной мышцы (кг-м)	$146,01 \pm 9,68$	$142,39 \pm 9,74$	$153,09 \pm 9,95$	0,5261

*Для выявления различий между визитами сравнивали пределы среднего, используя модель со смешанными эффектами.

Данное исследование показывало, что тест с подъемом на носки на обеих ногах, выполняемый согласно указанному протоколу, выявлял боль при ходьбе у испытуемых субъектов, являлся простым и экономически выгодным способом функциональной оценки выносливости и утомления икроножной мышцы у пациентов с ЗПА. Результаты исходных измерений в течение 3-недельного периода у пациентов с ЗПА и перемежающейся хромотой продемонстрировали надежность показателей, оцениваемых в ходе единственного теста с концентрической нагрузкой при подъеме на носки на обеих ногах. Таким образом, тест с концентрической нагрузкой при подъеме на носки на обеих ногах можно использовать в качестве средства диагностики для пациентов, страдающих сосудистыми заболеваниями (такими как ЗПА и/или перемежающаяся хромота), и для оценки эффективности лекарственных средств (например, активатора тропонина скелетных мышц) для устранения симптомов заболевания, включая утомление скелетных мышц.

Пример 11. Применение теста с подъемом на носки на обеих ногах для оценки влияния активатора тропонина скелетных мышц у пациентов с перемежающейся хромотой.

Данное исследование представляло собой двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое гипотезогенерирующее перекрестное исследование II фазы с тремя периодами, в котором участвовали пациенты с периферическим заболеванием артерий и перемежающейся хромотой. Основная задача исследования состояла в том, чтобы продемонстрировать влияние однократной дозы активатора тропонина скелетных мышц (соединение A) на показатели функции и утомляемости скелетных мышц. Второстепенные задачи включали (а) оценку и характеристизацию зависимости, если таковая существует, между дозой и концентрацией в плазме соединения A и его фармакодинамическими эффектами, а также (б) оценку безопасности и переносимости однократной дозы соединения A.

Основные критерии включения в исследования включали 1) боль при ходьбе (перемежающаяся хромота) по меньшей мере в одной икроножной мышце на протяжении последних 6 месяцев (II стадия по классификации Fontaine); 2) заболевание периферических артерий: лодыжечно-плечевой индекс в покое <0,90 по меньшей мере в одной ноге, в которой пациент испытывает боль при ходьбе; 3) способность выполнять тест с подъемом на носки на обеих ногах с частотой одно сокращение в 2 с, при этом максимальная работоспособность мышц ограничена возникновением боли; 4) способность выполнить тест 6-минутной ходьбы.

Основные критерии исключения из исследования включали 1) ишемию нижних конечностей III-IV стадии по классификации Fontaine (боль в состоянии покоя, некроз ткани или гангрена); 2) хирургическое вмешательство на ноге, тазобедренном или коленном суставе за последние 6 месяцев до рандомизации; 3) за 3 месяца до рандомизации а) любую процедуру реваскуляризации (коронарной или периферической); б) угрожающие жизни желудочковые аритмии, нестабильную стенокардию, инсульт и/или инфаркт миокарда и с) сердечную недостаточность III или IV класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA); и 4) выполнение теста с подъемом на носки и теста 6-минутной ходьбы, не ограниченных возникновением боли.

Однократное введение соединения A в дозе 375 мг, 750 мг и плацебо осуществляли в случайном порядке, период вымывания после введения каждой дозы составлял от 6 до 10 дней. После введения препарата 33 пациентам протокол изменили, поскольку у двух пациентов, получивших дозу 750 мг, развились побочные эффекты; остальные пациенты получали по 500 мг соединения A вместо 750 мг. Обследование включало 1) тест с подъемом на носки на обеих ногах (как описано ниже) с применением электротониометрии через 3 и 6 ч после приема препарата, 2) тест 6-минутной ходьбы через 4 ч после приема препарата. Для анализа результатов проводили ковариационный анализ с учетом повторных измерений, где в модель включали такие переменные, как воздействие, последовательность воздействия, период, исходные показатели и пациент. В случае нарушения предположений модели использовали непараметрические методы.

При проведении теста с подъемом на носки на обеих ногах на боковой поверхности голеностопа доминантной ноги крепили электромеханический гониометр, связанный с системой сбора данных на базе ПК для мониторирования и регистрации угла сгибания голеностопа и амплитуды движения (Noraxon U.S.A., Inc., Scottsdale, AZ). Пациенты получали указание выполнять подъем на носки с частотой, задаваемой метрономом, подающим регулярные звуковые сигналы (один подъем на носки каждые 2 с ~0,5 Гц). Пациенты сообщали о возникновении болевых симптомов, и тестирование проводили до наступления невыносимой/максимальной боли и утомления. Общее количество подъемов на носки, время и совершенную работу (расчетный индекс) оценивали от начала тестирования до возникновения боли и до прекращения теста. Индекс, характеризующий совершенную работу, рассчитывали по формуле: индекс работы при подъеме на носки (ИРПН) = $(\sin\theta \times \text{длина стопы}) \times \text{масса тела}$.

Характеристики популяции пациентов, принявших участие в исследовании, приведены в табл. 6.

Таблица 6
Демографические характеристики

	Среднее (станд.откл.) или N (процент от общего числа)
Общее количество	61 (100%)
Возраст (лет)	67,3 (9,2)
Пол: женщины мужчины	9 (14,8%) 52 (85,2%)
ИМТ (кг/м ²)	26,4 (3,6)
Курение	
в настоящем	24 (39,3%)
в прошлом	35 (57,4%)
никогда	2 (3,3%)
Употребление табака (единиц/сут)	14,7 (11,0)
Расовая принадлежность:	
азиаты	1 (1,6%)
черные	7 (11,5%)
белые	52 (85,2%)
другие	1 (1,6%)
Этническая принадлежность:	
латиноамериканцы	7 (11,5%)
другие	54 (88,5%)

Таблица 7

Исходная работоспособность при оценке
фармакодинамического эффекта

	Среднее (станд.откл.)
Время до возникновения боли (секунды)	43,7 (17,9)
Время до окончания теста (секунды)	78,4 (48,1)
Количество полных повторов до возникновения боли	20,6 (8,6)
Количество полных повторов до окончания теста	36 (23,1)
Совершенная работа (индекс) до возникновения боли (кг-м)	87,0 (39,1)
Совершенная работа (индекс) до окончания теста (кг-м)	145,8 (74,3)
Дистанция, пройденная в тесте 6- минутной ходьбы	1078,8 (204,0)

Результаты исследования фармакокинетики представлены на фиг. 12, где показано изменение концентрации соединения A в плазме (среднее ± станд. откл.) с течением времени. Средние концентрации соединения A в плазме увеличивались достаточно пропорционально введенной дозе. Средние концентрации в плазме оставались в диапазоне фармакологически активных значений на протяжении всего периода наблюдения в течение 24 ч, даже когда введенная доза составляла 375 мг.

Результаты теста с подъемом на носки на обеих ногах показаны на фиг. 13А-13С. Фиг. 13А демонстрирует время до появления боли или время окончания теста (т.е. остановку или невыносимую боль при ходьбе) для каждой из трех доз соединения A через 3 и 6 ч после приема препарата. Фиг. 13В демонстрирует количество повторов с полным подъемом на носки до появления боли или до окончания теста для каждой из трех доз соединения A через 3 и 6 ч после приема препарата. Фиг. 13С демонстрирует работу, совершенную до появления боли и до окончания теста для каждой из трех доз соединения A через 3 и 6 ч после приема препарата. Все значения представлены как медиана ± интерквартильный размах (символами обозначены: @ p<0,10; # p<0,05; * p<0,01; + p<0,002).

Анализ фармакокинетических/фармакодинамических параметров выявил выраженную зависимость между концентрацией соединения A в плазме и исходом (фиг. 14). Образцы для исследования фармакокинетики брали во время каждого тестирования с подъемом на носки. Все измеренные концентрации соединения A в плазме разделили на квартили. Изменения пределов среднего от исходных значений после коррекции на плацебо ± станд. ош. средн. для всех показателей эффективности лечения, полученных в одно время, показаны для каждого диапазона концентраций. Между концентрациями соединения A в плазме и всеми исходами в тесте с подъемом на носки наблюдалась выраженная положительная зависимость. Уровни значимости для индивидуальных сравнений с плацебо указаны в таблице, приведенной на фиг. 14. Символы над горизонтальными отрезками на каждом графике для соединения A указывают значения p для угла наклона графика зависимости концентрация/ответ.

При введении соединения A дистанция, проходимая пациентами в тесте 6-минутной ходьбы, сокращалась при увеличении его дозы и концентрации (фиг. 15А, 15В). Значения, приведенные на

фиг. 15А, представляют собой изменения пределов среднего по сравнению с исходными значениями с поправкой на плацебо \pm станд. ош. средн.; ** $p<0,0001$ - различия в ответе на препарат независимо от дозы (на графике обозначено горизонтальной линией) и в дозе 750 мг по сравнению с плацебо. На фиг. 15В все измеренные концентрации соединения А в плазме поделены на квартили. Изменения пределов среднего по сравнению с исходными значениями с поправкой на плацебо \pm станд. ош. средн. для всех показателей эффективности лечения, полученных в одно время, показаны для каждого диапазона концентраций. ** $p<0,0001$ - различия в ответе на препарат независимо от концентрации (на графике обозначено горизонтальной линией) и для концентраций в пределах первого квартиля при сравнении с плацебо; # $p<0,05$ - при сравнении концентраций в пределах второго квартиля с плацебо. Следует отметить, что показанные изменения с поправкой на плацебо невелики по отношению к средней дистанции, проходимой при скрининговом визите, равной 1079 футов.

Данные результаты указывают, что активатор тропонина быстрых скелетных мышц, которым является соединение А, улучшает работоспособность икроножных мышц у пациентов, испытывающих боль в икроножной мышце при ходьбе, что было выявлено при помощи теста с подъемом на носки. Повидимому, и улучшение мышечной работоспособности, и побочные эффекты связаны с увеличением как дозы, так и концентрации соединения А в плазме. Результаты, полученные в тесте 6-минутной ходьбы, находились в обратной зависимости с дозой и концентрацией соединения А в плазме. Это негативное влияние на результаты теста 6-минутной ходьбы можно объяснить дозозависимыми побочными эффектами, в частности головокружением и другими явлениями, связанными с ходьбой.

Пример 12. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на мышечное утомление у здоровых крыс.

Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц 1-(2-((транс)-3-фтор-1-(3-фторпиридин-2-ил)цикlobутил)метиламино)пиридин-5-ил)-1Н-пиррол-3-карбоксамида (соединение С) на мышечное утомление у здоровых крыс оценивали по продолжительности бега на врачающемся барабане. Соединение С вводили испытуемым крысам в дозах от 0,3 до 100 мг/кг (~70 нМ-28 мкМ). В день исследования животные начинали бег с нарастающей скоростью, начиная от 14-16 об/мин, в течение 5 мин. Затем крыс принуждали к бегу с постоянно нарастающей скоростью, начиная от 12 до 25 об/мин в течение 10 мин. Регистрировали время до падения, при этом тест заканчивали через 600 с. Концентрацию соединения в плазме определяли в конце эксперимента (не при C_{max}). Концентрации в плазме для указанных доз были следующими:

Доза (мг/кг)	Концентрация в плазме (мкМ)
0,01	0,003
0,03	0,007
0,1	0,024
0,3	0,083
1	0,204
3	0,478
10	1,95
30	3,64
100	28,0

Как показано на фиг. 16, в этой модели утомления наблюдалось значимое увеличение продолжительности бега у крыс, получавших соединение А в дозе от 0,3 до 100 мг/кг, по сравнению с контрольными животными, получавшими носитель. Таким образом, соединение А увеличивает продолжительность бега в модели утомления с использованием врачающегося барабана у здоровых крыс.

Пример 13. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на модели сердечной недостаточности у крыс.

Для определения влияния соединения С на функцию скелетных мышц у пациентов с сердечной недостаточностью использовали модель сердечной недостаточности у мышей. Самки мышей линии Sprague Dawley (весом <250 г) были приобретены в компании Charles River Laboratories, перед отправкой им была проведена операция по лигированию левой передней нисходящей артерии (крысы ЛПН-СН). Контрольные можно оперированные животные проходили аналогичную предоперационную подготовку (ложно оперированные контроли). После трехдневной акклиматизации у всех крыс исследовали сердечную функцию и данные показатели принимали за исходные. Животных исследовали на 4, 7 и 10 неделю для выявления прогрессирования непереносимости физической нагрузки по меньшей мере через 3 дня после проведенной эхокардиографии. Физическую работоспособность оценивали с применением протокола, в котором для развития утомления использовали врачающийся барабан, как описано в примере 11 (5-минутный бег с ускорением от 14 до 16 об/мин с последующей оценкой продолжительности бега в течение 10 мин с ускорением от 12 до 25 об/мин). У крыс ЛПН-СН значения фракции укорочения левого желудочка составляли <25% и продолжительность бега сокращалась по сравнению с ложно оперирован-

ными контролями. Как показано на фиг. 17, фенотип сердечной недостаточности у крыс ЛПН-СН развивался через несколько недель после операции. Снижение фракции укорочения (по результатам эхокардиографии) было очевидным.

Животных распределяли по группам случайным образом, при этом половина животных получала соединение С (10 мг/кг перорально) и половина получала носитель (19,3% ПЭГ:80% (15%) каптизол, pH 3, 0,2% Tween, 0,5% ГПМЦ) перорально через зонд за 30 мин до тестирования на вращающемся барабане в день 1 и альтернативное воздействие в день 2.

Как показано на фиг. 18, продолжительность бега у должно оперированных животных, получавших носитель, была больше, чем у крыс ЛПН-СН, получавших носитель (198 ± 26 с по сравнению с 111 ± 32 с, $p=0,042$, среднее арифм. \pm станд. откл.). На фиг. 18 также показано, что у крыс ЛПН-СН, получавших соединение С, продолжительность бега на вращающемся барабане возрастила приблизительно в 2,5 раза по сравнению с крысами, получавшими носитель (277 ± 32 с по сравнению с 111 ± 32 с, $p=0,0004$, модель ковариационного анализа, включавшая переменные: исходное состояние, когорта крыс, день лечения и последовательность). Таким образом, введение соединения С повышало устойчивость к утомлению в данной модели сердечной недостаточности у крыс.

Пример 14. Влияние активатора быстрых скелетных мышц *in vivo* в модели сердечной недостаточности у крыс.

В конце исследования проводили исследование *in situ* на отдельных животных из примера 12 для оценки функциональных характеристик длинного разгибателя пальцев (EDL) у должно оперированных животных и животных с лигированием ЛПН. Оценивали результаты на фоне введения соединения С (3 мг/кг внутривенно) и в его отсутствие.

Крыс погружали в наркоз и удаляли кожу вокруг исследуемой лапы. Затем изолировали дистальный конец длинного разгибателя пальцев (EDL) и связанное с ним сухожилие. Затем крыс помещали на платформу аппарата Aurora для исследования мышц *in situ*, при этом колено иммобилизовали, а дистальный конец сухожилия отрезали и привязывали к рукожатке преобразователя силы. Мышицу стимулировали электродами из нержавеющей стали через малоберцовый нерв. Сократительные свойства мышцы оценивали при раздражении нерва электрическим током и регистрации силы, генерируемой мышцей, с использованием серводвигателя. Длину мышцы фиксировали таким образом, чтобы в ответ на субмаксимальную стимуляцию (30 Гц, импульсы 1 мс, длительность пачки 350 мс) развивалась максимальная изометрическая сила (L_0). После определения L_0 нерв стимулировали каждые 2 мин пачками импульсов с частотой 30 Гц (стимул 1 мс, длительность 350 мс) на протяжении всего эксперимента.

Когда препарат был стабилен, оценивали отношение силы к частоте, затем делали инъекцию соединения С (3 мг/кг IV) или носителя и повторно оценивали отношение силы к частоте. Частоту стимуляции подбирали таким образом, чтобы генерируемая сила составляла 50% от максимальной, и применяли протокол стимуляции утомления с подачей 1 пачки импульсов/с на протяжении 5 мин.

Результаты данного эксперимента в целом выявили небольшие различия между ЛПН-СН и должно оперированными животными. Соединение С увеличивало ответ на низкочастотную стимуляцию в обеих группах, хотя увеличение было несколько заметнее в группе ЛПН-СН (фиг. 19 и 20). Когда из показателей второго измерения напряжения в присутствии носителя вычитали исходные значения напряжения, было очевидно, что второе отношение сила-частота было существенно ниже, возможно, вследствие утомления мышцы (фиг. 21). Однако в присутствии соединения С кривая отношения силы мышцы EDL к частоте располагалась выше как у должно оперированных животных, так и у животных ЛПН-СН (фиг. 21). Ответ на соединение С был выше в мышцах крыс ЛПН-СН по сравнению с должно оперированными животными.

Пример 15. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц *in vitro* на демембранизированные мышечные волокна на модели сердечной недостаточности у крысы.

Общая процедура исследований демембранизированных волокон.

Ткань мышцы для исследования демембранизированных волокон *in vitro* получали с использованием модифицированного протокола, основанного на публикации Lynch и Faulkner (Am. J. Physiol. 275:C1548-54 (1998)). Вкратце, мышцы должно оперированных крыс и крыс с СН быстро препарировали, промывали в физиологическом растворе и инкубировали в демембранизирующем растворе (125 мМ К-пропионат, 20 мМ имидазол, 5 мМ EGTA, 2 мМ MgCl₂, 2 мМ АТФ, pH 7,0) с добавлением 0,5% TritonX-100 (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) в течение 30 мин при 4°C. Затем буфер заменяли на исходный раствор (125 мМ К-пропионат, 20 мМ имидазол, 5 мМ EGTA, 2 мМ MgCl₂, 2 мМ АТФ, глицерол 50%, pH 7,0) и хранили при -20°C для дальнейшего использования.

Для анализа демембранизированные волокна препарировали от более крупных сегментов ткани в ригорном буфере при 4°C (20 мкМ MOPS, 5 мкМ MgCl₂, 120 мкМ ацетата калия, 1 мкМ EGTA, pH 7,0). Затем их подвешивали между преобразователем силы 400A (Aurora Scientific, Ontario, Canada) и неподвижным фиксатором и закрепляли 2-4 мкл 5% раствора метилцеллюлозы в ацетоне. Затем волокна инкубировали при 10°C в расслабляющем буфере (20 мкМ MOPS, 5,5 мкМ MgCl₂, 132 мкМ ацетата калия, 4,4 мкМ АТФ, 22 мкМ креатинфосфата, 1 мг/мл креатинкиназы, 1 мМ DTT, 44 млн⁻¹ пеногасителя, pH 7,0) и подбирали исходное напряжение. Напряжение генерировали в каждом волокне путем замены буфера, в

котором находились волокна, на расслабляющий буфер с добавлением 1 мМ EGTA и 15 мМ раствора хлорида кальция, расчеты проводили с использованием он-лайн ресурса (www.stanford.edu/~cpratton/webmaxc/webmaxcS.htm). Соединение А добавляли в эти буферы в виде раствора в ДМСО (конечная концентрация ДМСО 1%).

Мышцы EDL изолировали у ложно оперированных животных и животных с СН, как описано выше. Как показано на фиг. 22, между отношением сила-рСА в волокнах EDL ложно оперированных животных и животных с СН различий не наблюдалось. Однако под воздействием 3 мкМ соединения С кривая, характеризующая отношение сила-Са²⁺ в мышцах EDL, значительно сдвигалась влево как у ложно оперированных, так и имеющих СН животных.

Пример 16. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на демембранизированные мышечные волокна диафрагмы *in vitro* на модели сердечной недостаточности у крыс.

Диафрагмальные мышцы выделяли у ложно оперированных крыс и крыс ЛПН-СН, как описано в примере 14. По сравнению с диафрагмами ложно оперированных животных волокна диафрагм животных ЛПН-СН обладали значительно более низкой чувствительностью к Са²⁺. Соединение С (3 мкМ) значительно повышало чувствительность к Са²⁺ в волокнах диафрагмы ложно оперированных животных и животных ЛПН-СН (фиг. 23).

Пример 17. Влияние активатора тропонина быстрых скелетных мышц на отношение сила диафрагмы-частота *in vitro* на модели сердечной недостаточности у крыс.

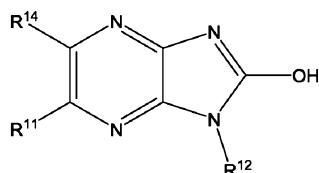
Силу сокращения диафрагмы измеряли при помощи стимуляции электрическим полем в инкубаторе органов согласно стандартному рабочему протоколу, взятыму с сайта Treat NMD (<http://www.treat-nmd.eu/downloads/file/sops/dmd/MDX/DMDM.1.2.002.pdf>) и адаптированному. У ложно оперированных и имеющих СН животных выполняли иссечение диафрагмы и последнего подвижного ребра, прополаскивали в физиологическом растворе и помещали в термостатируемую (26-27°C) камеру с водяной рубашкой, содержащую буфер Кребса-Хензелейта (118 мМ NaCl, 10 мМ глюкозы, 4,6 мМ KCl, 1,2 мМ K₂PO₄, 1,2 мМ MgSO₄·7H₂O, 24,8 мМ NaHCO₃, 2,5 мМ CaCl₂, 50 мг/л тубокурина, 50 Ед./л инсулина, pH 7,4), которую постоянно аэрировали смесью 95% O₂/5% O₂. После уравновешивания в течение 10 мин вертикальные полоски, крепящие подвижное ребро к сухожильному центру, отрезали от диафрагмы. К сухожильному центру и подвижному ребру привязывали плетеный шелковый шовный материал и прикрепляли к преобразователю силы между двумя платиновыми электродами. Длину полосок диафрагмы подбирали таким образом, чтобы напряжение, генерируемое при сокращении, было максимальным (L₀). Профиль сила мышцы-частота получали при стимуляции мышцы с частотой в диапазоне 10-150 Гц (Grass Stimulator, продолжительность серии 800 мс, ширина импульса 0,6 мс). Соединение С растворяли в ДМСО и добавляли непосредственно в инкубатор.

Как показано на фиг. 24, сила, создаваемая диафрагмальными мышцами ЛПН-СН, была значительно меньше, чем у ложно оперированных животных. 30 мкМ соединения С значительно увеличивало силу диафрагмы как у ложно оперированных (фиг. 25, верхняя панель), так и у ЛПН-СН (фиг. 25, нижняя панель) животных при субмаксимальной частоте электрической стимуляции. Таким образом, данные исследования указывают, что повышение мышечной чувствительности к Са²⁺ при введении активатора тропонина, такого как соединение С, повышает напряжение, развиваемое ослабленной диафрагмой.

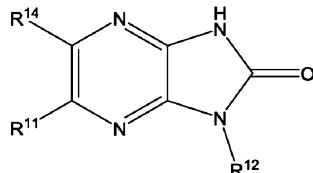
Несмотря на то что некоторые воплощения были показаны и описаны, могут быть сделаны различные модификации и замены, которые будут оставаться в духе и в рамках изобретения. Например, что касается целей истолкования пунктов формулы изобретения, изложенные ниже пункты формулы изобретения не предназначены для более узкого истолкования, чем их буквальная формулировка, и, таким образом, из пунктов формулы изобретения не должны выводиться типовые воплощения. Соответственно, следует понимать, что данное изобретение описано для наглядности, а не для ограничения объема изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ повышения устойчивости скелетных мышц к утомлению у субъекта, страдающего от состояния, выбранного из группы, состоящей из ишемии мышц, инфаркта миокарда и анемии, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,

где R¹¹ представляет собой C₂-C₂₀-алкенил или C₂-C₂₀-алкинил;

R¹⁴ представляет собой водород;

R¹² выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила,

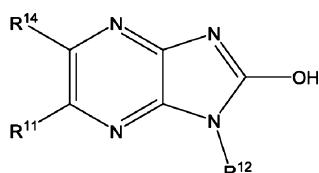
при условии, что R¹¹ не является гекс-1-енилом.

2. Способ по п.1, где субъект страдает инфарктом миокарда или анемией.

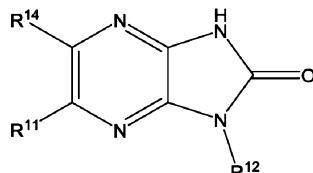
3. Способ по п.1 или 2, где активатор тропонина скелетных мышц повышает субмаксимальное напряжение в скелетной мышце у субъекта.

4. Способ по любому из пп.1-3, где активатор тропонина скелетных мышц снижает уровень внутриклеточного кальция, необходимый скелетной мышце у субъекта для генерирования силы.

5. Способ лечения непереносимости физической нагрузки у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,

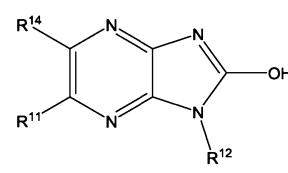
где R¹¹ представляет собой C₂-C₂₀-алкенил или C₂-C₂₀-алкинил;

R¹⁴ представляет собой водород;

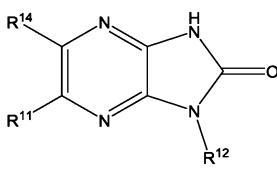
R¹² выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила,

при условии, что R¹¹ не является гекс-1-енилом.

6. Способ повышения физической выносливости у пациента, страдающего сердечной недостаточностью, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества активатора тропонина скелетных мышц, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой соединение формулы А или соединение формулы В



Формула А



Формула В

или их фармацевтически приемлемую соль,

где R¹¹ представляет собой C₂-C₂₀-алкенил или C₂-C₂₀-алкинил;

R¹⁴ представляет собой водород;

R¹² выбран из 3-пентила, 4-гептила, 4-метил-1-морфолинопентан-2-ила, изобутила, циклогексила, циклопропила, втор-бутила, трет-бутила, изопропила, 1-гидроксибутан-2-ила, тетрагидро-2Н-пиран-4-

ила, 1-метоксибутан-2-ила, 1-аминобутан-2-ила и 1-морфолинобутан-2-ила, при условии, что R^{11} не является гекс-1-енилом.

7. Способ по п.5 или 6, дополнительно включающий проведение субъекту второго вида лечения.

8. Способ по п.7, где второй вид лечения включает введение субъекту терапевтического агента, выбранного из антиагрегантного препарата, диуретика, блокатора кальциевых каналов, бета-блокатора, ингибитора АПФ, статина, антагониста рецептора ангиотензина II и антагониста альдостерона.

9. Способ по п.8, где второй вид лечения включает введение субъекту терапевтического агента, выбранного из дигоксина, аспирина, тиклопидина, клопидогреля, метопролола, карведилола, эplerенона и спиронолактона.

10. Способ по п.7, где второй вид лечения выбирают из ангиопластики, стентирования и хирургической операции.

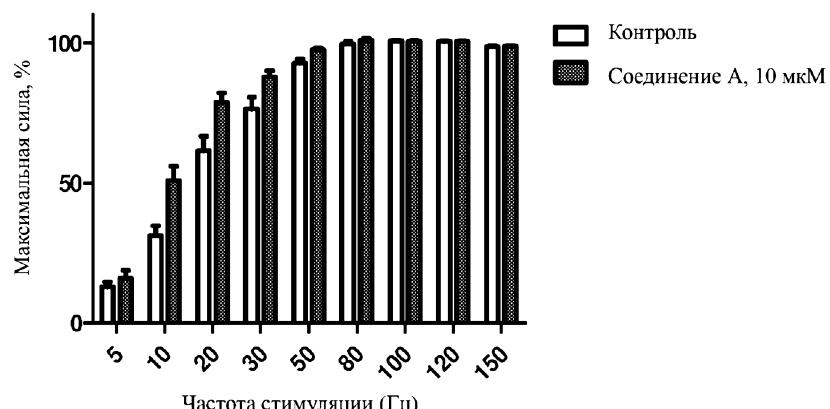
11. Способ по любому из пп.7-10, где активатор тропонина скелетных мышц и второй вид лечения применяют у субъекта одновременно.

12. Способ по любому из пп.7-10, где активатор тропонина скелетных мышц и второй вид лечения применяют у субъекта последовательно.

13. Способ по любому из пп.1-12, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой активатор тропонина быстрых скелетных мышц.

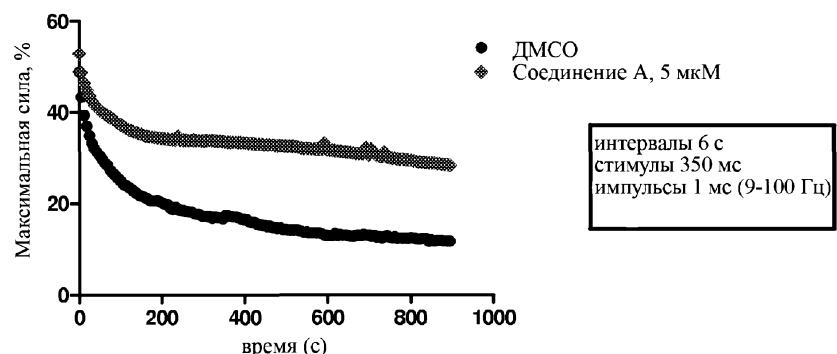
14. Способ по любому из пп.1-13, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2-ол или его фармацевтически приемлемую соль.

15. Способ по любому из пп.1-13, где активатор тропонина скелетных мышц представляет собой 6-этинил-1-(пентан-3-ил)-1Н-имидазо[4,5-*b*]пиразин-2(3Н)-он или его фармацевтически приемлемую соль.

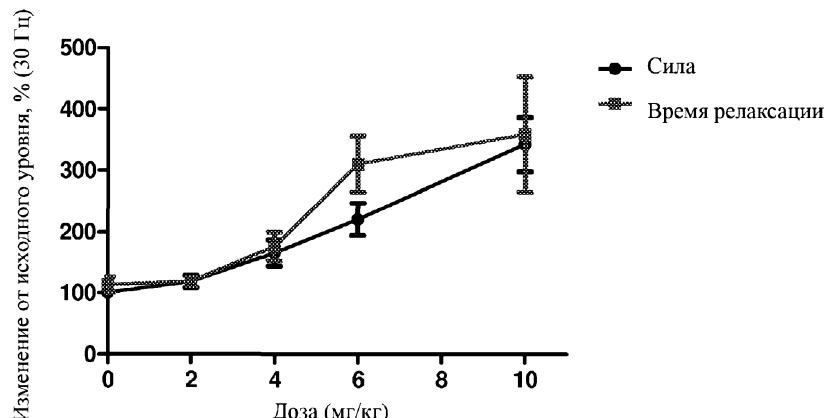


Фиг. 1

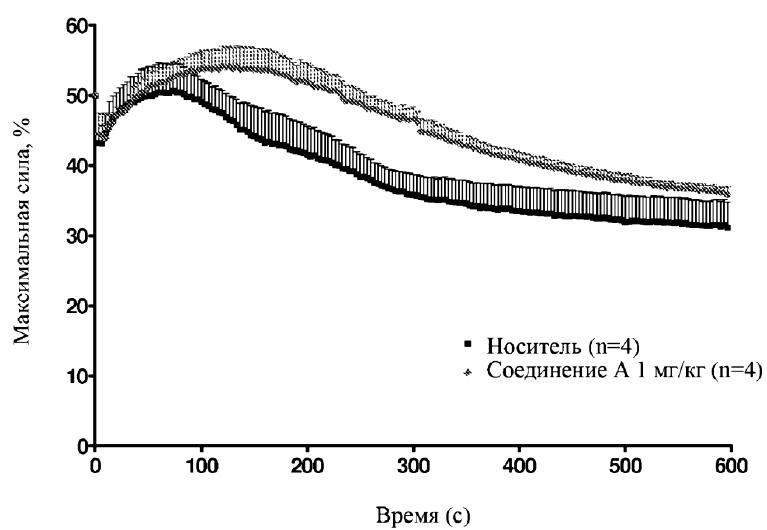
Волокна короткого сгибателя пальцев крысы



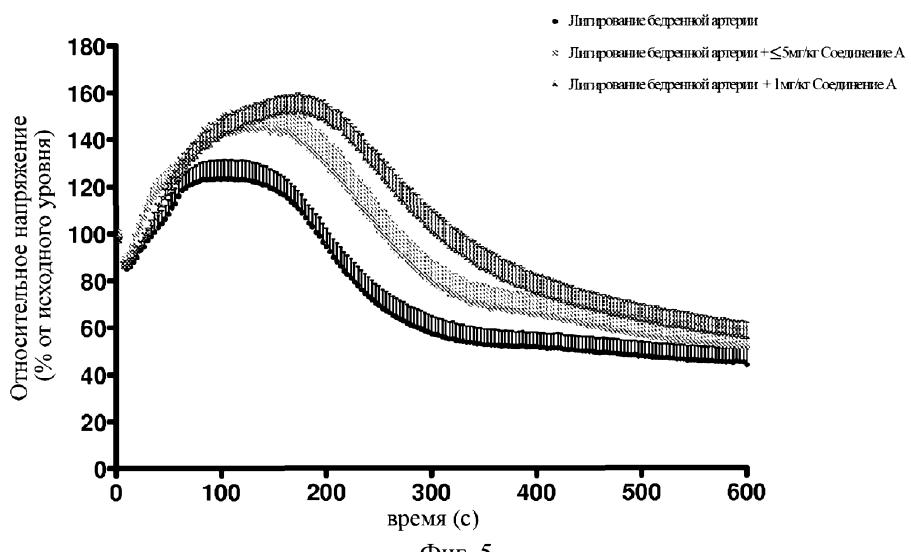
Фиг. 2



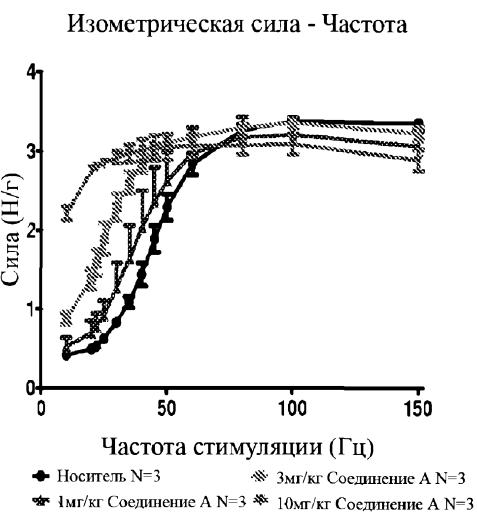
Фиг. 3



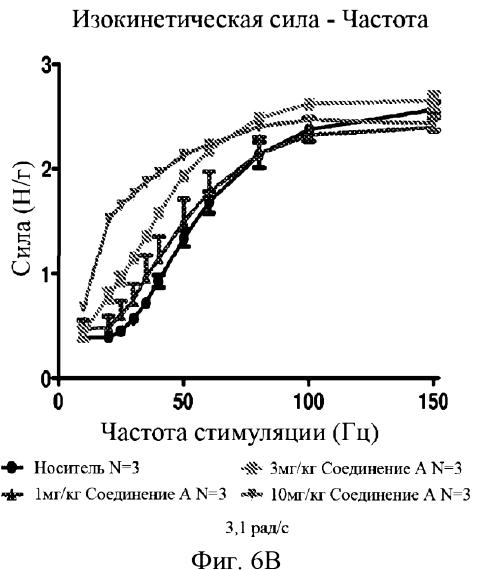
Фиг. 4



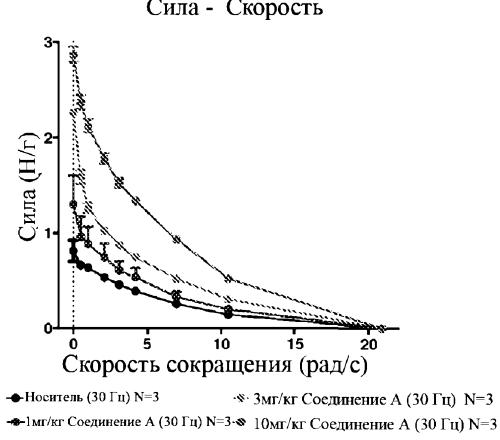
Фиг. 5



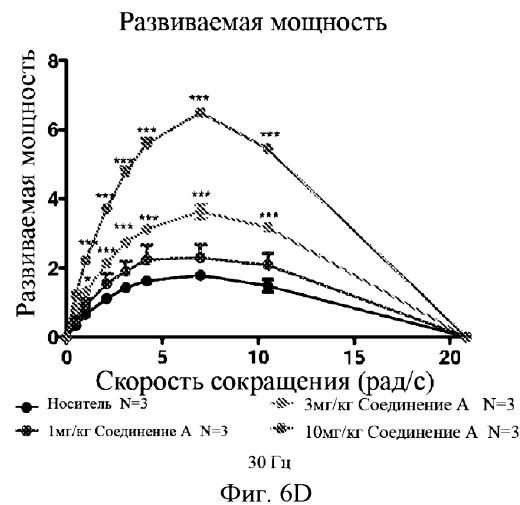
Фиг. 6А



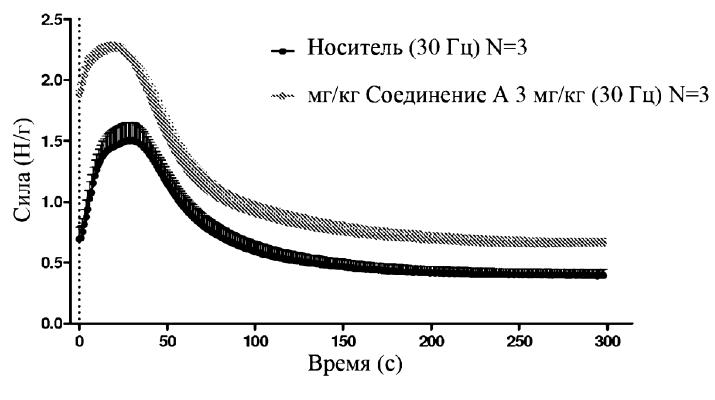
Фиг. 6В



Фиг. 6С



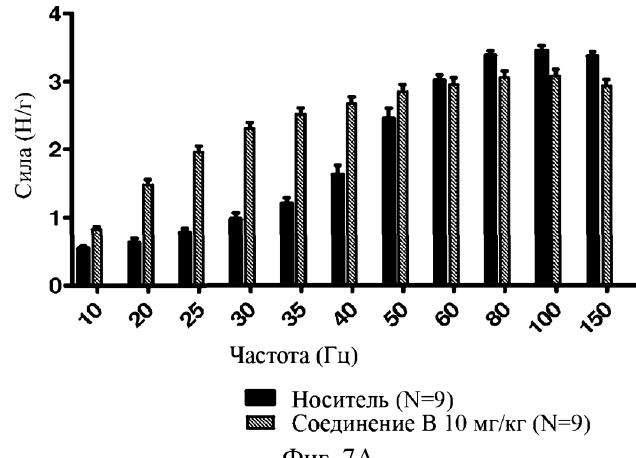
Фиг. 6Д



3,1 рад/с

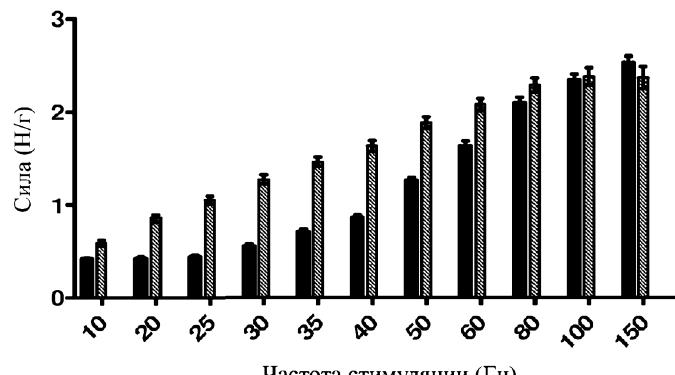
Фиг. 6Е

Изометрическая сила - Частота



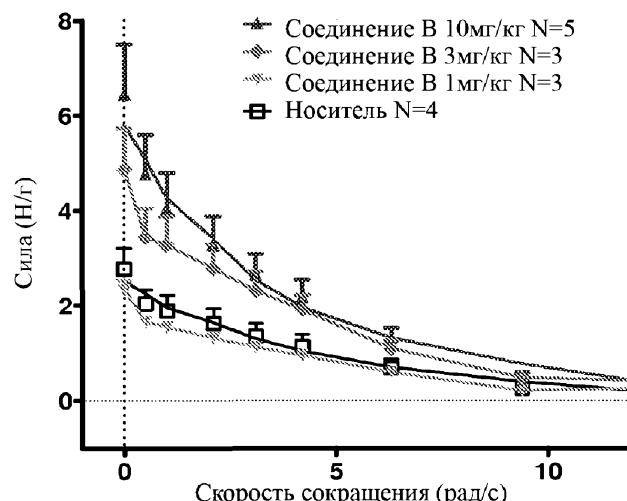
Фиг. 7А

Изокинетическая сила - Частота

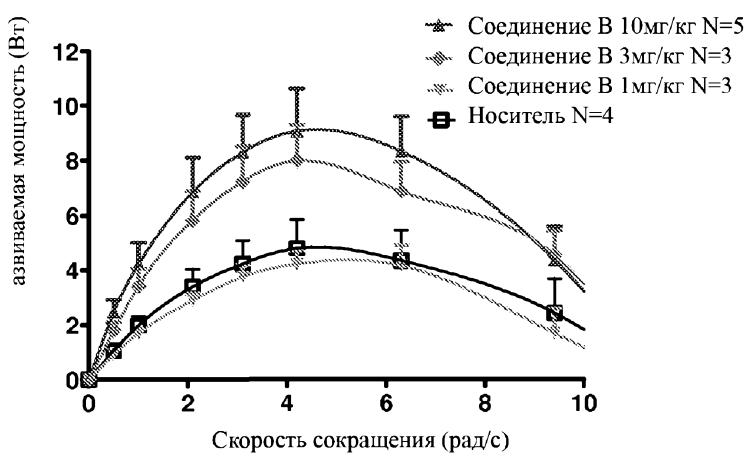


3,1 рад/с

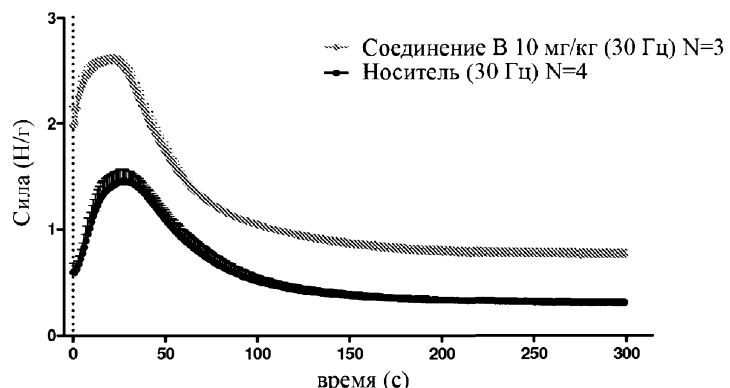
Фиг. 7В



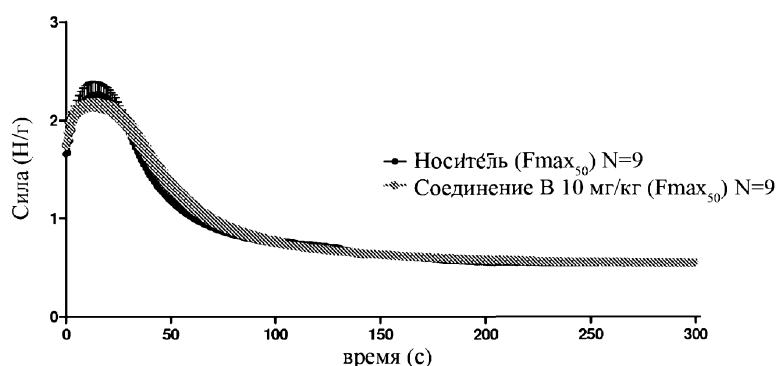
Фиг. 7С



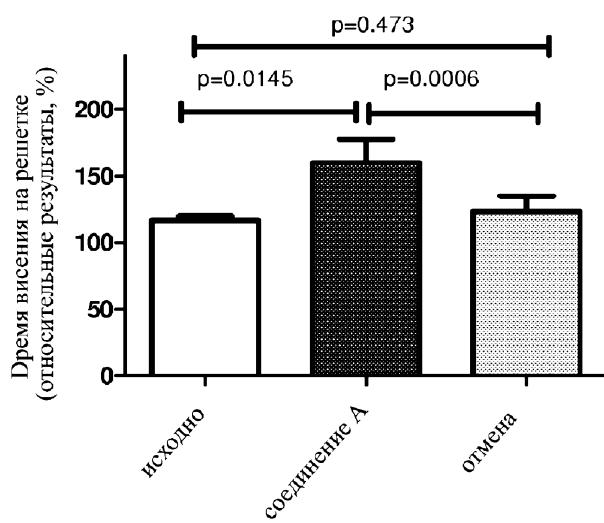
Фиг. 7Д



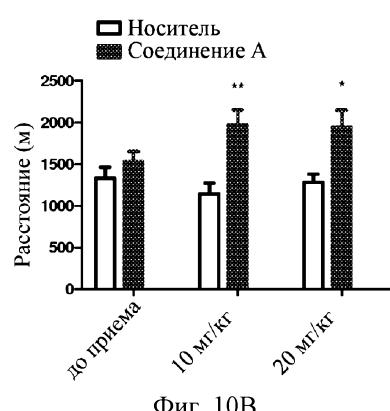
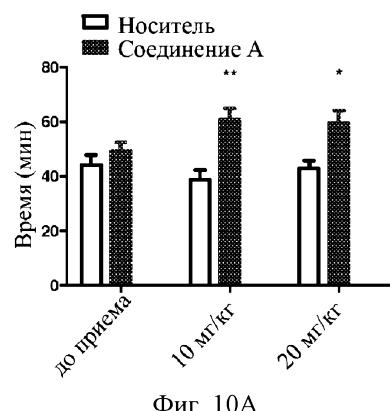
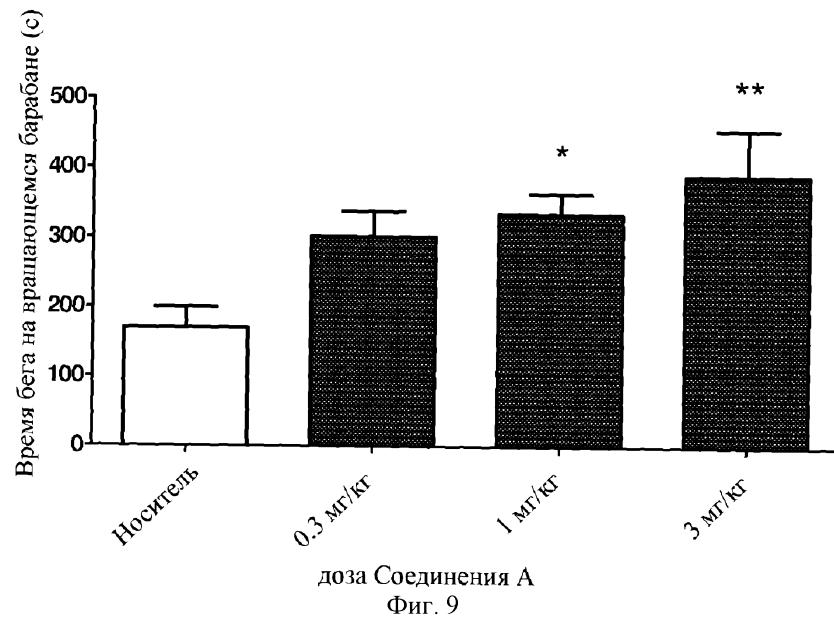
Фиг. 7Е

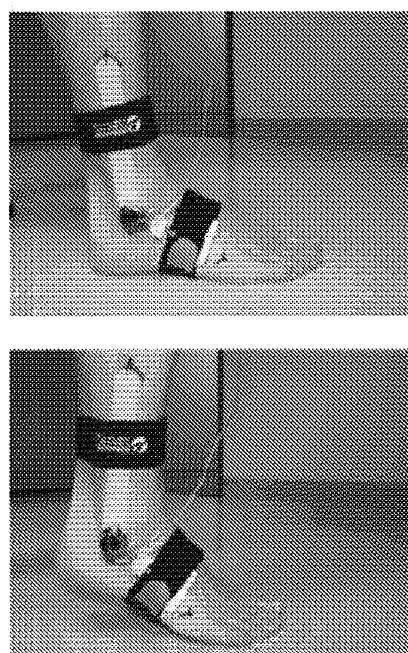
Утомление ($F_{max_{50}}$)

Фиг. 7F

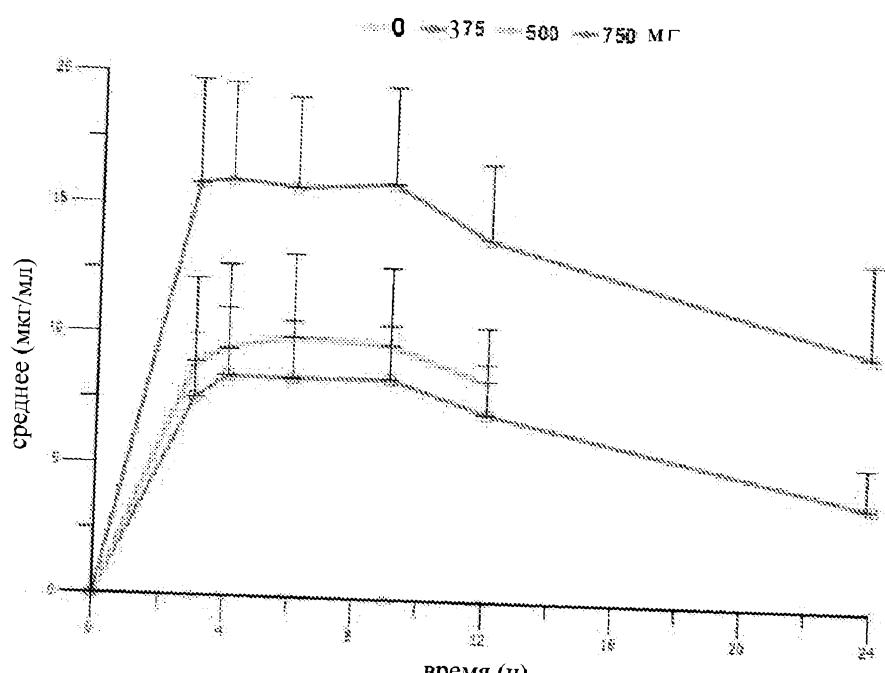


Фиг. 8

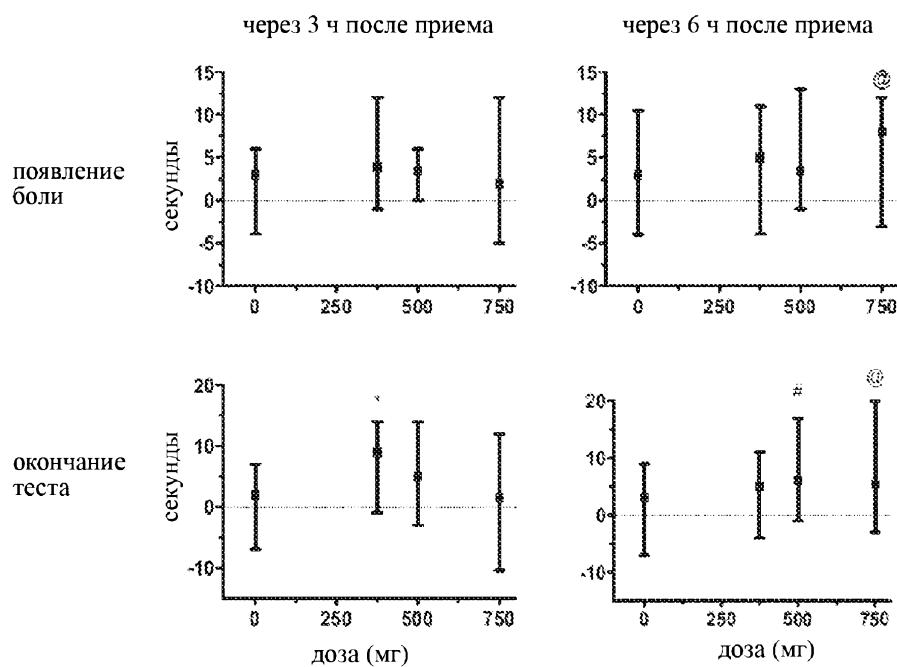




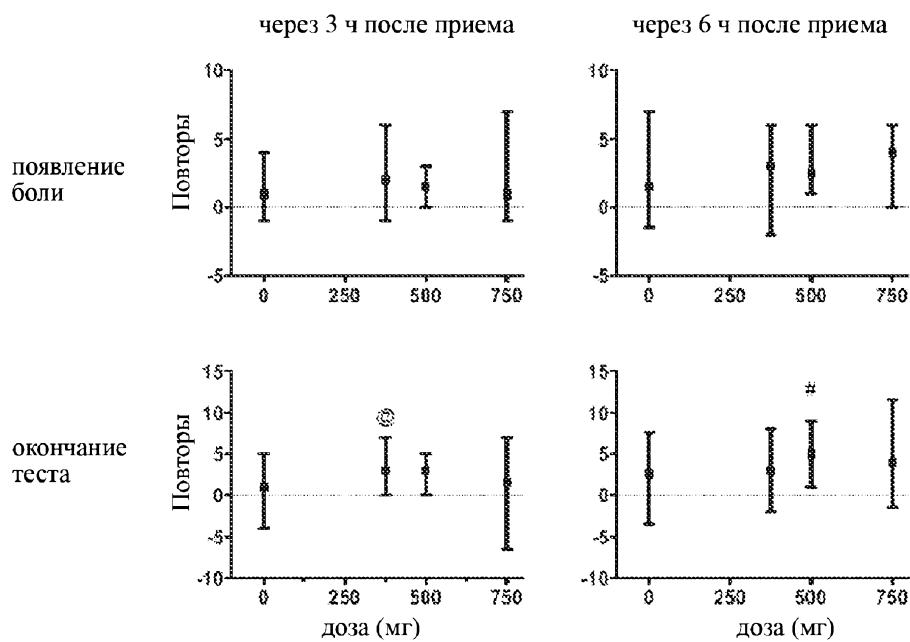
Фиг. 11



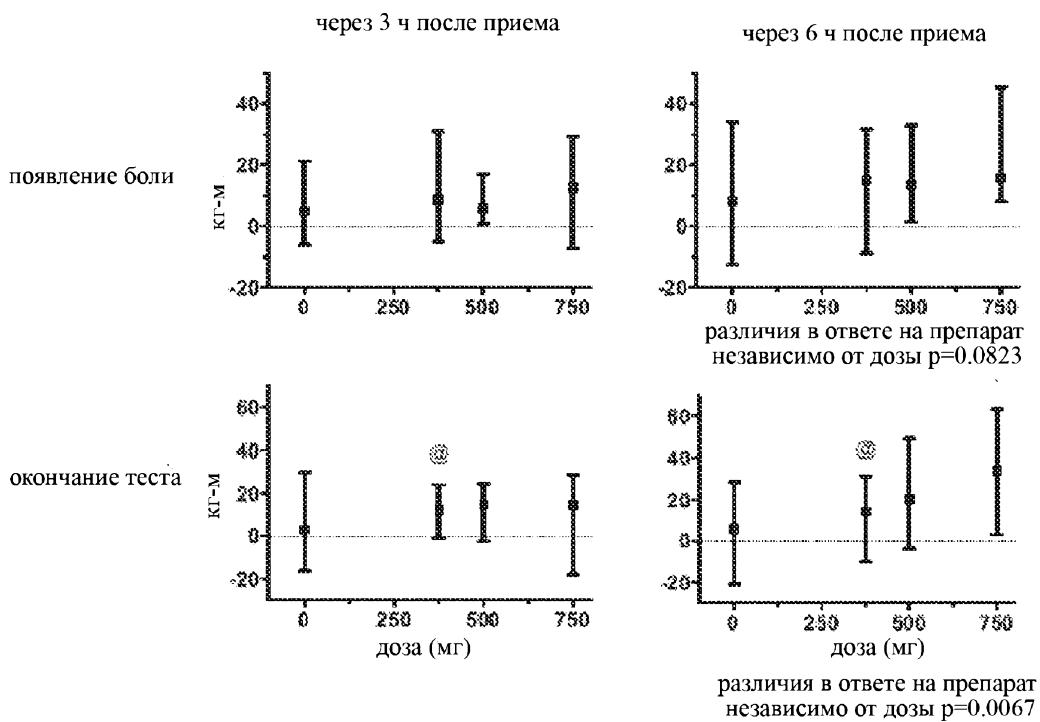
Фиг. 12



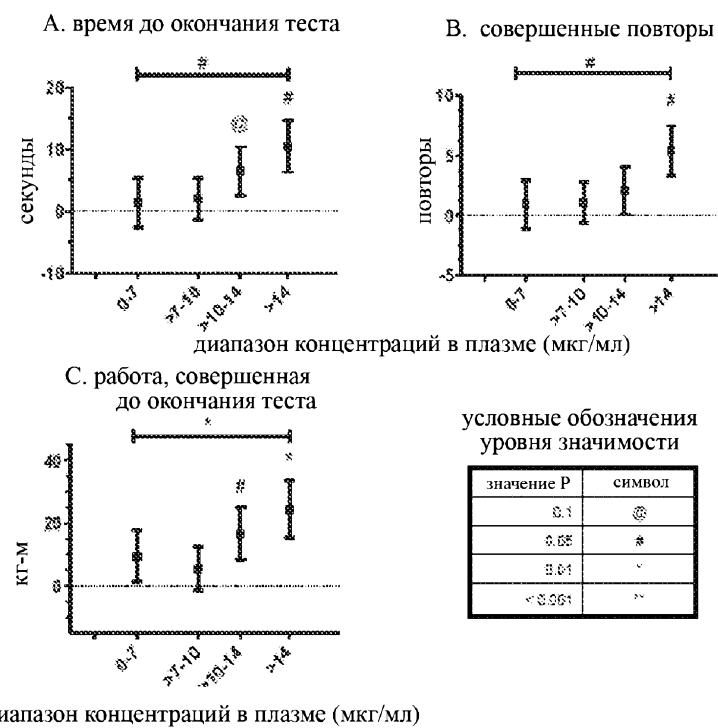
Фиг. 13А



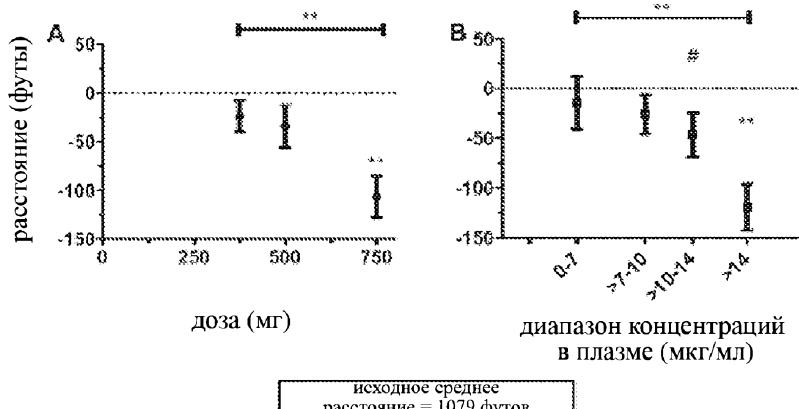
Фиг. 13Б



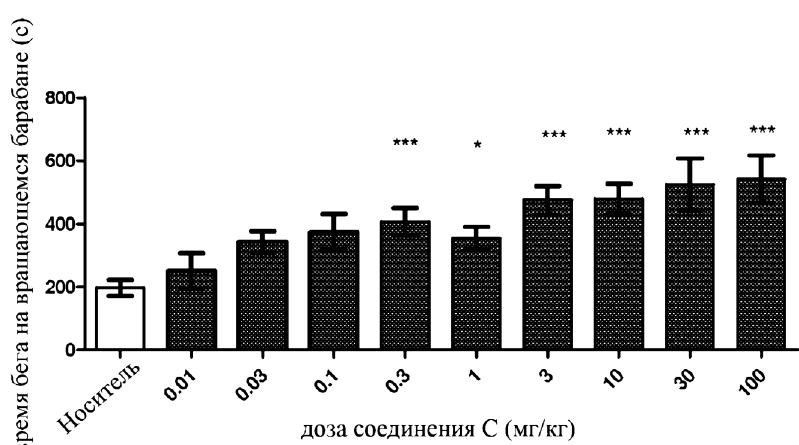
Фиг. 13С



Фиг. 14

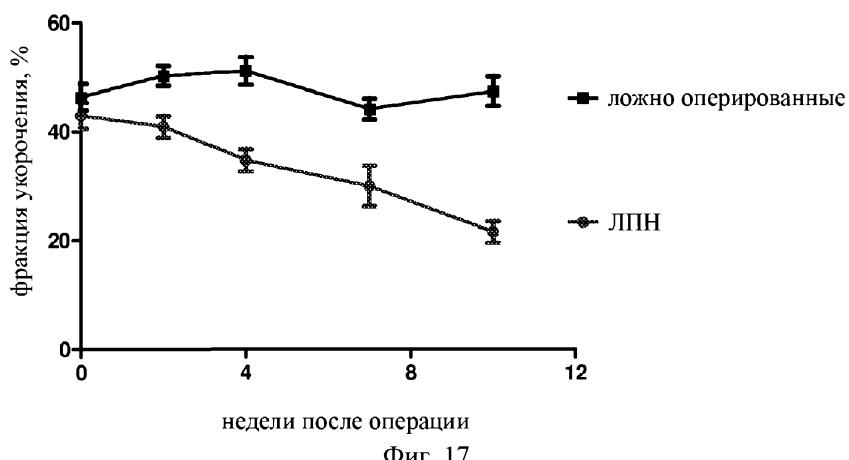


Фиг. 15А, 15В

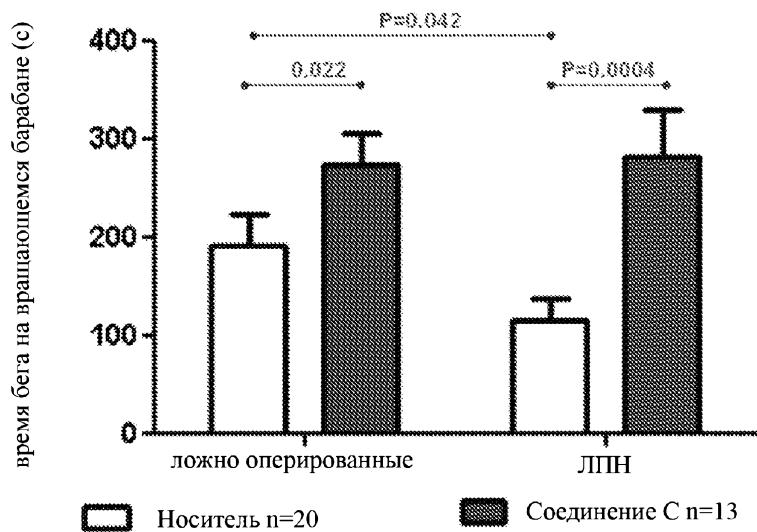


$^{*}=P<0.05$, $^{***}=P<0.001$ одноФакторный
дисперсионный анализ и апостериорный тест Даннетта

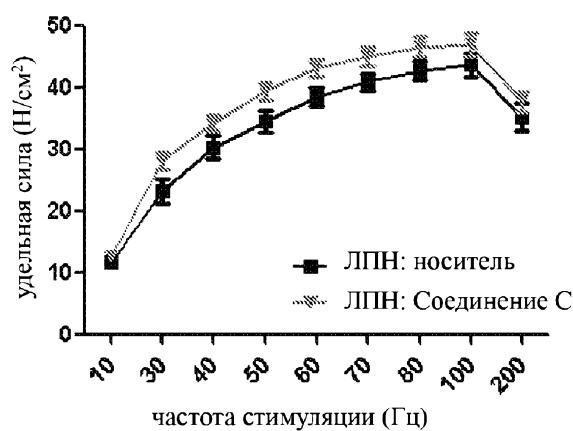
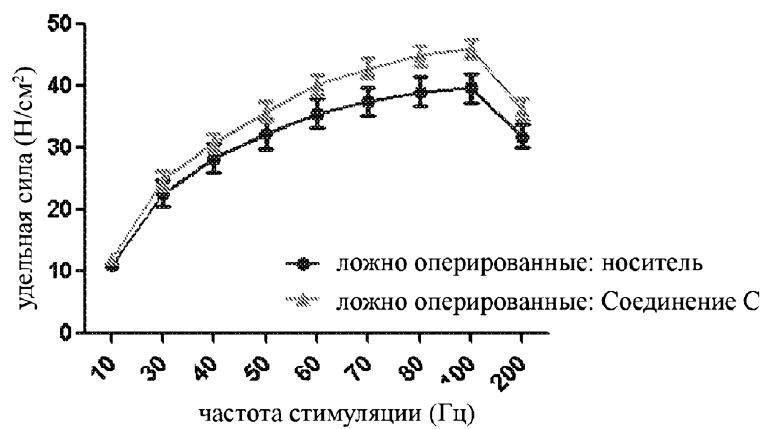
Фиг. 16



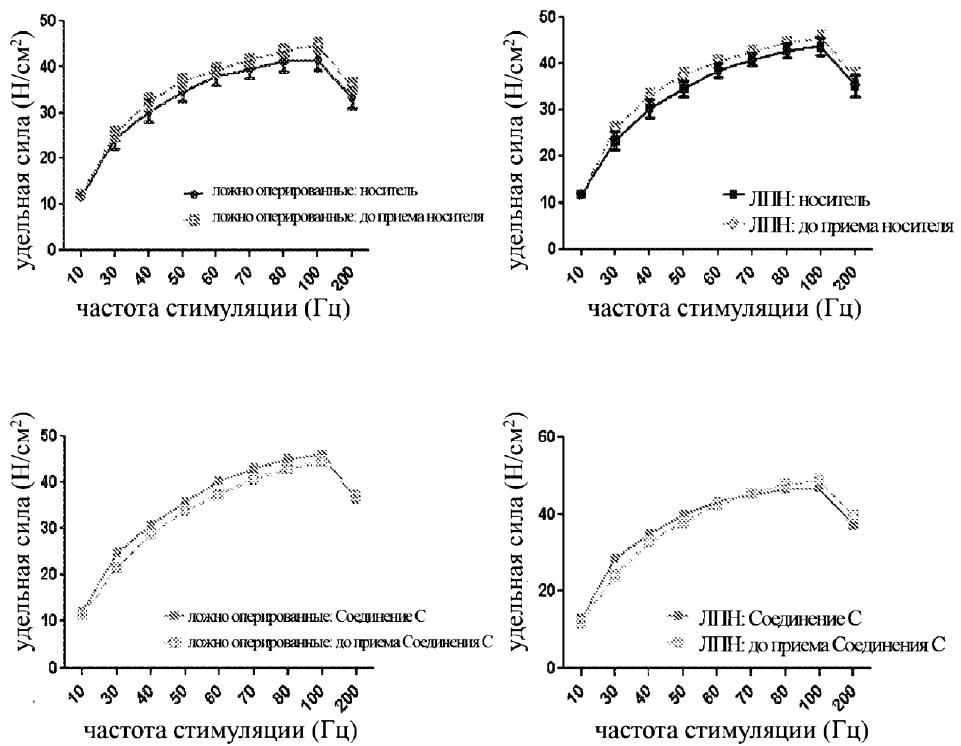
Фиг. 17



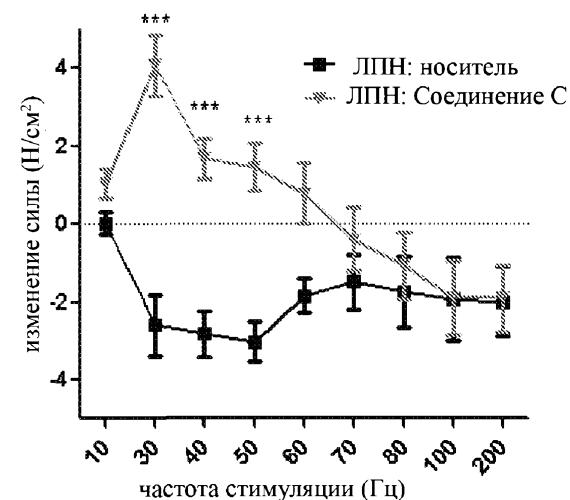
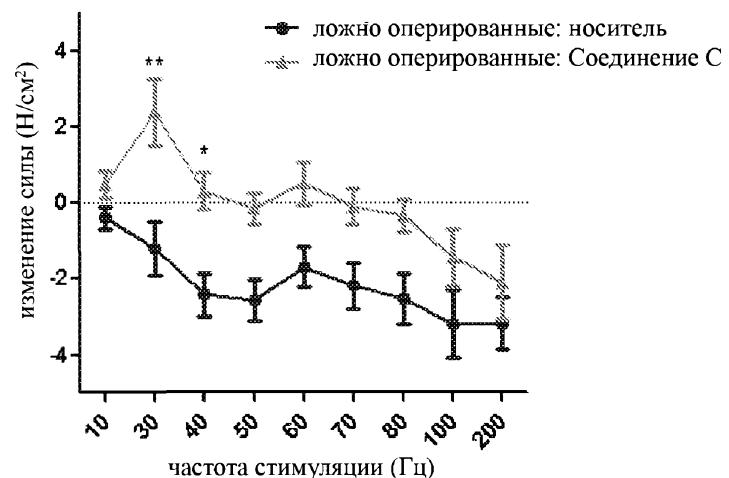
Фиг. 18



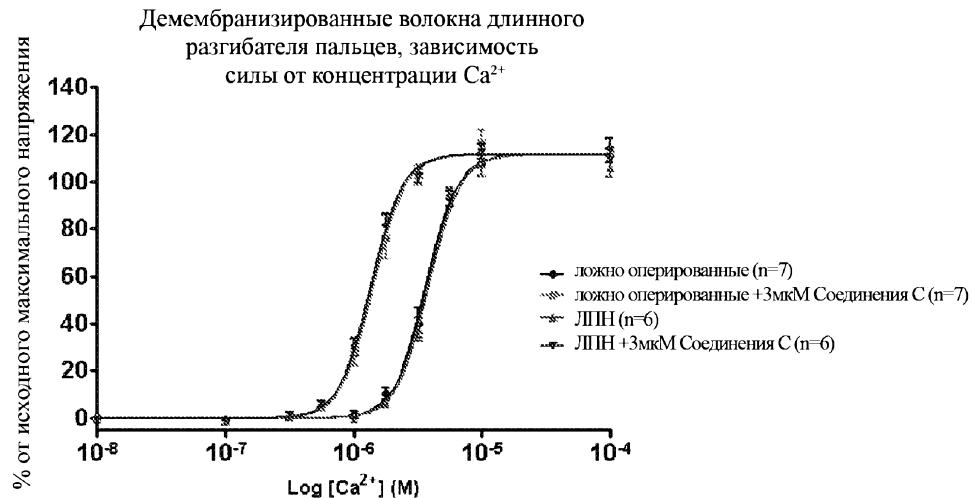
Фиг. 19



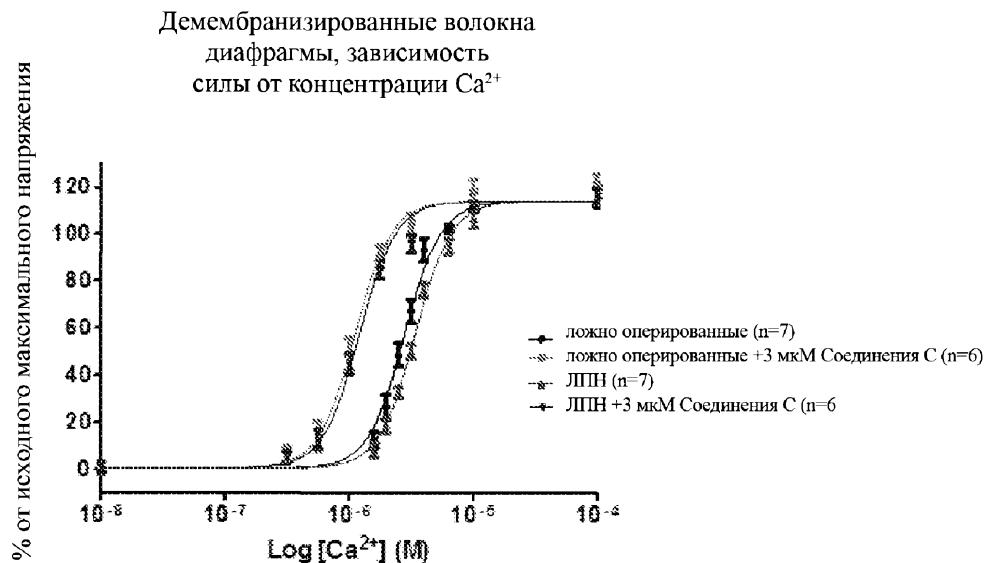
Фиг. 20



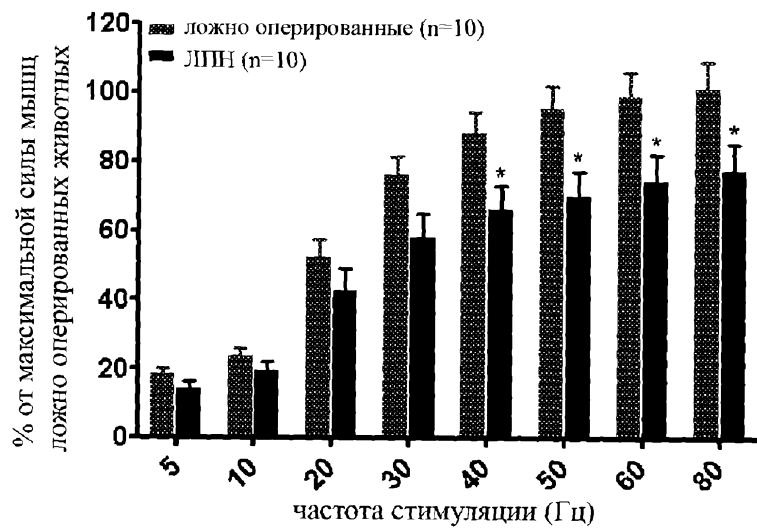
Фиг. 21



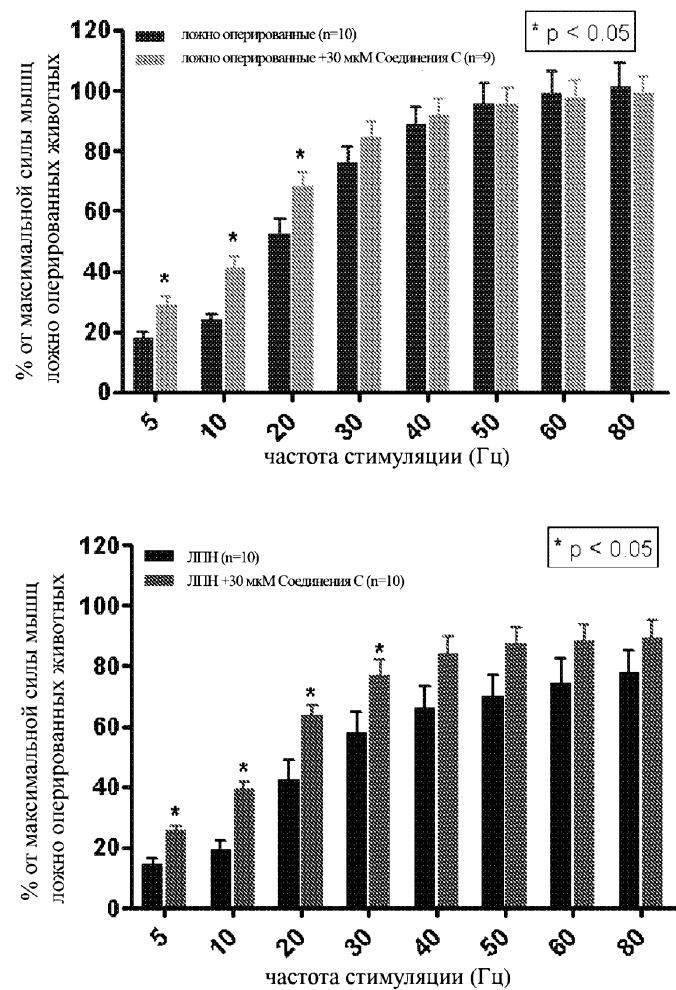
Фиг. 22



Фиг. 23



Фиг. 24



Фиг. 25

