



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **335084**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

C07C 307/02 (2006.01)
C07C 309/13 (2006.01)
C07C 309/14 (2006.01)
C07C 309/15 (2006.01)
C07C 309/46 (2006.01)
C07C 309/69 (2006.01)
C07C 311/32 (2006.01)
C07C 311/46 (2006.01)
C07C 335/32 (2006.01)
C07D 295/084 (2006.01)
C07D 295/088 (2006.01)
C07F 9/165 (2006.01)
C07F 9/24 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20055894	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2004.06.21 PCT/IB2004/02375
(22)	Inng.dag	2005.12.12	(85)	Videreføringsdag	2005.12.12
(24)	Løpedag	2004.06.21	(30)	Prioritet	2003.06.23, US, 60/480,906 2003.10.17, US, 60/512,047 2004.06.18, US, 10/871,365 2004.06.18, US, 10/871,514
(41)	Alm.tilgj	2006.03.21			
(45)	Meddelt	2014.09.08			
(73)	Innehaver	BHI Limited Partnership, 275 Armand-Frappier Boulevard, CA-QCH7V4A7 LAVAL, Canada Xianqi Kong, 12 Papillon Street, CA-QCH9B3J7 DOLLARD-DES-ORMEAUX, Canada Francine Gervais, 1003 Bellevue, CA-QCH9C2X5 ILE BIZARD, Canada Xinfu Wu, 442 rue de Saint-Servan, CA-QCH7X4B4 LAVAL, Canada David Migneault, 4545 Hurtubise, CA-QCH7T2T6 LAVAL, Canada Isabelle Valada, 2679 du Manoir, CA-QCJ7V8T4 VAUDREUIL-DORION, Canada			
(72)	Oppfinner				
(74)	Fullmektig				Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge
(54)	Benevnelse	Forbindelser og preparater og deres anvendelse for behandling av amyloidrelaterte sykdommer			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 9628187 A1			
(57)	Sammendrag				

Metoder, forbindelser, farmasøytiske preparater og sett er beskrevet for behandling eller forhindring av amyloid-relatert sykdom.

Bakgrunn

Amyloidose angir en patologisk lidelse karakterisert ved tilstedeværelse av amyloide fibriller. Amyloid er en generisk betegnelse som refererer til en gruppe ulike men spesifikke proteinavsetninger (intracellulære eller ekstracellulære) som sees ved flere forskjellige sykdommer. Selv om ulike i forekomst har alle amyloide avsetninger felles morfologiske egenskaper, farger med spesifikke fargemidler (f.eks. Congo-rød) og har et karakteristisk rød-grønt dobbeltbrytende utseende i polarisert lys etter merking. De har også felles ultrastrukturelle trekk og felles røntgendiffraksjon- og infrarøde spektra.

- 10 Amyloid-relaterte sykdommer kan enten være begrenset til ett organ eller spredd til mange organer. Det første tilfelle er referert til som "lokalisert amyloidose" mens den andre er referert til som "systemisk amyloidose."

- 15 Noen amyloide sykdommer kan være idiopatiske, men mesteparten av disse sykdommer fremkommer som en komplikasjon av en tidligere eksisterende lidelse. For eksempel kan primær amyloidose (AL amyloid) fremkomme uten noen annen patologi eller kan følge plasmacelle-dyskrasi eller multippelt myelom.

- 20 Sekundær amyloidose er vanligvis sett forbundet med kronisk infeksjon (så som tuberkulose) eller kronisk inflammasjon (så som revmatoid artritt). En familiær form av sekundær amyloidose er også sett ved andre typer av familiær amyloidose, f.eks. familiær middelhavsfeber (FMF). Denne familiære type av amyloidose er genetisk nedarvet og er funnet i spesifikke populasjonsgrupper. Ved både primær og sekundær amyloidose er avsetninger funnet i mange organer og er således betraktet som systemiske amyloide sykdommer.

- 25 "Lokaliserte amyloidoser" er de som tenderer til å involvere et enkelt organsystem. Forskjellige amyloider er også karakterisert ved typen protein til stede i avleiringen. For eksempel er neurodegenerative sykdommer så som skrapesyke, bovin spongiform encefalitt, Creutzfeldt-Jakob sykdom og lignende karakterisert ved utseende og akkumulering av en protease-resistent form av et prionprotein (referert til som A β Sc eller PrP-27) i sentralnervesystemet.
- 30 Tilsvarende er Alzheimer's sykdom, en annen neurodegenerativ lidelse, karakterisert ved neurittisk plaque og neurofibrillære floker. I dette tilfellet er

amyloid plaque funnet i parenkymet og blodkaret blir dannet ved avsetning av fibrillært A β amyloid-protein. Andre sykdommer så som voksen-begynt diabetes (type II diabetes) er karakterisert ved lokalisert akkumulering av amyloide fibriller i bukspyttkjertelen.

- 5 Når disse amyloider er dannet er det ingen kjent, bredt akseptert terapi eller behandling som betydelig oppløser amyloid-avsetninger *in situ*, forhindrer ytterligere amyloid-avsetning eller forhindrer initiering av amyloid-avsetning.

- Hvert amyloidogene protein har evnen til å gjennomgå en konformasjonell forandring og organiseres til β -sheet og danne uoppløselige fibriller som kan være deponert ekstracellulært eller intracellulært. Hvert amyloidogent protein, selv om forskjellige i aminosyresekvens, har samme egenskap til å danne fibriller og binde til andre elementer så som proteoglykan, amyloid P og komplement-komponent. Videre har hvert amyloidogent protein aminosyresekvenser som, selv om forskjellige, viser similariteter så som
- 10 regioner med evne til å binde til glykosaminoglykan- (GAG) delen av proteoglykan (referert til som GAG-bindingssete) så vel som andre regioner som fremmer β -sheet-dannelse. Proteoglykaner er makromolekyler med forskjellige størrelser og strukturer som er spredd omkring nesten overalt i kroppen. De kan finnes i det intracellulære kammer, på overflaten av celler og som del av
- 15 ekstracellulær matriks. Den basiske struktur av alle proteoglykaner består av et kjerneprotein og minst én, men ofte flere, polysakkarid-kjeder (GAG) bundet til kjerneproteinet. Mange forskjellige GAG er oppdaget, omfattende kondroitin-sulfat, dermatansulfat, keratansulfat, heparin og hyaluronan.
- 20

- I spesifikke tilfeller kan amyloide fibriller, etter avsetning, bli toksiske for de omgivende celler. For eksempel er A β -fibriller organisert som senilt plaque vist å være forbundet med døde neuronale celler, dystrofiske neuritter, astrocytose og mikrogliose hos pasienter med Alzheimer's sykdom. Når testet *in vitro* ble oligomert (oppløselig) så vel som fibrillært A β -peptid vist å være i stand til å trigge en aktiveringsprosess av mikrogliia (hjernemakrofager), hvilket
- 25 ville forklare nærvær av mikrogliose og hjerneinflammasjon funnet i hjernen til pasienter med Alzheimer's sykdom. Både oligomert og fibrillært A β -peptid kan
- 30

også fremkalle neuronal celledød *in vitro*. Se f.eks. M. P. Lambert, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 6448-53 (1998).

Ved en annen type av amyloidose sett hos pasienter med type II diabetes, er amyloidogent protein IAPP, når organisert i oligomere former eller i
5 fibriller, vist å fremkalle β -øy celledødsitet *in vitro*. Således bidrar fremkomst av IAPP-fibriller i bukspyttkjertelen til type II diabetiske pasienter til tap av β -øy celler (Langerhans) og organ-dysfunksjon som kan føre til insulinisme.

En annen type av amyloidose er relatert til β_2 mikroglobulin og er funnet hos langtids hemodialyse-pasienter. Pasienter som gjennomgår langvarig
10 hemodialyse vil utvikle β_2 -mikroglobulin-fibriller i karpaltunnelen og i kollagenrikt vev i mange ledd. Dette forårsaker alvorlige smerter, leddstivhet og opphovning.

Amyloidose er også karakteristisk for Alzheimer's sykdom. Alzheimer's sykdom er en ødeleggende sykdom i hjernen som resulterer i progressivt
15 hukommelsestap som fører til demens, fysisk uferhet og død over en relativt lang tidsperiode. Med de aldrende populasjoner i industriland, når antallet Alzheimer's pasienter epidemiske proporsjoner.

Mennesker som lider av Alzheimer's sykdom utvikler en progressiv demens i voksen alder, ledsaget av tre vesentlige strukturelle endringer i
20 hjernen: diffust tap av neuroner i flere deler av hjernen; akkumulering av intracellulære proteinavsetninger betegnet neurofibrillære floker; og akkumulering av ekstracellulære proteinavsetninger betegnet amyloid eller senilt plaque, omgitt av misformede nerveterminaler (dystrofiske neuritter) og aktivert mikrogliia (mikrogliese og astrocytose). En hovedbestanddel i disse amyloide
25 plaque er amyloid- β peptid ($A\beta$), et 39-43 aminosyre-protein som blir produsert gjennom spaltning av β -amyloid forløperprotein (APP). Omfattende forskning er utført på relevansen av $A\beta$ -avsetninger ved Alzheimer's sykdom, se f.eks. Selkoe, *Trends in Cell Biology* 8, 447-453 (1998). $A\beta$ oppstår naturlig fra metabolsk prosessering av amyloid forløperprotein ("APP") i endoplasmatiske
30 reticulum ("ER"), Golgi-apparatet eller den endosomale-lysosomale bane og mesteparten blir normalt utskilt som et 40 (" $A\beta$ 1-40") eller 42 (" $A\beta$ 1-42") aminosyrepeptid (Selkoe, *Annu. Rev. Cell Biol.* 10, 373-403 (1994)). En rolle for

A β som en primær årsak til Alzheimer's sykdom er støttet av tilstedeværelse av ekstracellulære A β -avsetninger i senilt plaque ved Alzheimer's sykdom, øket produksjon av A β i celler som inneholder mutante Alzheimer's sykdom assosierte gener, f.eks. amyloid forløperprotein, presenilin I og presenilin II; og toksisiteten til ekstracellulær oppløselig (oligomer) eller fibrillær A β til celler i kultur. Se, f.eks. Gervais, *Eur. Biopharm. Review*, 40-42 (Autumn 2001); May, *DDT* 6, 459-62 (2001). Selv om symptomatisk behandling eksisterer for Alzheimer's sykdom kan denne sykdom ennå ikke forhindres eller kureres.

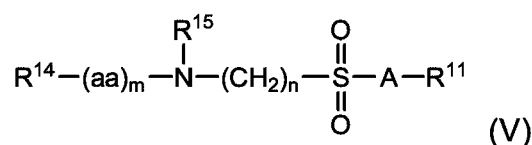
Alzheimer's sykdom er karakterisert ved diffus og neurittisk plaque, cerebral angiopati og nevrofibrillære floker. Plaque- og blodkar-amyloid er antatt å bli dannet ved avsetning av uoppløselig A β amyloid protein, som kan beskrives som diffust eller fibrillært. Både oppløselig oligomer A β og fibrillær A β er også antatt å være nevrotoksisk og inflammatorisk.

En annen type av amyloidose er cerebral amyloid angiopati (CAA). CAA er den spesifikke avsetning av amyloid- β fibriller i veggene til leptomeningeale og kortikale arterier, arterioler og vener. Det er vanlig forbundet med Alzheimer's sykdom, Downs syndrom og normal aldring, så vel som med en rekke familiære lidelser relatert til slag eller demens (se Frangione *et al.*, *Amyloid: J. Protein Folding Disord.* 8, Suppl. 1, 36-42 (2001)).

For tiden tilgjengelige terapier for behandling av β -amyloide sykdommer er nesten fullstendig symptomatiske, og gir bare temporær eller partiell klinisk fordel. Selv om noen farmasøytiske midler er beskrevet som gir partiell symptomatisk lindring, er for tiden ingen omfattende farmakologisk terapi tilgjengelig for forebygging eller behandling av for eksempel Alzheimer's sykdom.

Oppsummering av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelse med formel V:



hvor:

A er oksygen og R¹¹ er hydrogen;

n er 3;

aa er en L-fenylalanin- eller L-tyrosinrest;

5 m er 1 eller 2;

R¹⁴ er hydrogen eller en tert-butyloksykarbonyl beskyttelsesgruppe;

R¹⁵ er hydrogen;

eller farmasøytisk akseptable salter og forgrenede eller uforgrenede C₁₋₆alkylestere derav.

10 Videre omfatter oppfinnelsen farmasøytiske preparater omfattende forbindelsene over samt slike forbindelser og preparater for behandling av sykdom.

Forbindelsene beskrevet her forhindrer eller hemmer amyloid protein-samling til uoppløselige fibriller som *in vivo* blir avsatt i forskjellige organer eller
 15 de favoriserer utskilling av tidligere dannede avsetninger eller sinker avsetning hos pasienter som allerede har avsetninger. Forbindelsene kan også forhindre amyloid protein, i dets oppløselige, oligomere form eller i dets fibrillære form, fra å binde eller adhere til en celleoverflate og forårsake celleskade eller -toksisitet. Forbindelsen kan blokkere amyloid-fremkalt cellulær toksisitet eller makrofag-
 20 aktivering. Forbindelsen kan blokkere amyloid-fremkalt neurotoksisitet eller mikroglial aktivering. Forbindelsen beskytter celler fra amyloid fremkalt cytotoksisitet av B-øyceller. Forbindelsen kan forbedre utskilling fra et spesifikt organ, f.eks. hjernen eller redusere konsentrasjon av det amyloide protein på en slik måte at amyloid fibrilldannelse blir forhindret i et målsøkt organ.

25 Forbindelsene over kan administreres terapeutisk eller profylaktisk for å behandle sykdommer forbundet med amyloid fibrill-dannelse, aggregering eller avsetning. Forbindelsene over kan virke til å forbedre forløpet av en amyloidrelatert sykdom ved anvendelse av hvilken som helst av de følgende mekanismer (denne listen menes å være illustrativ): sinking av hastigheten av
 30 amyloid fibrilldannelse eller avsetning; minsking av graden av amyloid avsetning; hemning, reduksjon eller forhindring av amyloid fibrilldannelse; hemning av nevrodegenerasjon eller cellulær toksisitet fremkalt av amyloid;

hemning av amyloidfremkalt inflammasjon; forbedring av utskilling av amyloid; eller favorisering av nedbrytning av amyloid protein før dets organisering i fibriller.

Forbindelsene over kan administreres terapeutisk eller profylaktisk for å

5 behandle sykdommer forbundet med amyloid- β fibrill-dannelse, aggregering eller avsetning. Forbindelsene over kan virke til å forbedre forløpet av en amyloid- β relatert sykdom ved anvendelse av hvilken som helst av de følgende mekanismer (denne listen menes å være illustrativ): sinking av hastigheten av amyloid- β fibrill-dannelse eller avsetning; minsking av graden av amyloid- β

10 avsetning; hemning, reduksjon eller forhindring av amyloid- β fibrill-dannelse; hemning av nevrodegenerasjon eller cellulær toksisitet fremkalt av amyloid- β ; hemning av amyloid- β fremkalt inflammasjon; forbedring av utskilling av amyloid- β fra hjernen; eller favorisering av nedbrytning av amyloid- β -protein før dets organisering i fibriller.

15 Terapeutiske forbindelser over kan være effektive for å kontrollere amyloid- β avsetning enten etter deres inntrenging i hjernen (etter penetrering av blod-hjerne-barrieren) eller perifert. Når den virker perifert, kan en forbindelse endre likevekten av A β mellom hjernen og plasmaet for å favorisere utskilling av A β fra hjernen. Den kan også øke katabolisme av neuronal A β og forandre

20 hastigheten av utskilling fra hjernen. En økning i utskilling av A β fra hjernen ville resultere i en reduksjon i A β -hjerne- og cerebral spinalvæske- (CSF) konsentrasjon og derfor favoriserer en reduksjon i A β avsetning. Alternativt kan forbindelser som trenger inn i hjernen kontrollere avsetning ved å virke direkte på hjerne-A β f.eks. ved å opprettholde det i en ikke-fibrillær form, favorisere

25 utskilling fra hjernen eller ved å sinke APP- prosessering. Disse forbindelser kan også forhindre A β i hjernen fra å interagere med celleoverflaten og derfor forhindre neurotoksisitet, neurodegenerasjon eller inflammasjon. De kan også redusere A β -produksjon av aktivert mikrogliia. Forbindelsene kan også øke nedbrytning av makrofager eller neuronale celler.

30 I én utførelsesform blir forbindelsene eller preparatene anvendt for å behandle Alzheimer's sykdom (f.eks. sporadisk, familiær eller tidlig AD). Forbindelsene eller preparatene kan også anvendes profylaktisk eller

terapeutisk for å behandle andre kliniske forekomster av amyloid- β avsetning, så som hos individer med Downs syndrom og hos pasienter med cerebral amyloid angiopati ("CAA") eller arvelig hjerneblødning.

I én annen utførelsesform blir forbindelsene eller preparatene anvendt for
5 å behandle mild kognitiv svekkelse. Mild kognitiv svekkelse ("MCI") er en lidelse karakterisert ved en tilstand med mild men målbar svekkelse i tankevirksomhet, som ikke nødvendigvis er forbundet med tilstedeværelse av demens. MCI forekommer ofte, men ikke nødvendigvis, før Alzheimer's sykdom.

I tillegg er unormal akkumulering av APP og av amyloid- β protein i
10 muskelfibere implisert i patologien av sporadisk inklusjonslegeme myositt (IBM) (Askanas, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 1314-1319 (1996); Askanas, et al., Current Opinion in Rheumatology 7, 486-496 (1995)). Følgelig kan forbindelsene over anvendes profylaktisk eller terapeutisk ved behandling av lidelser hvor amyloid-beta-protein er abnormt avsatt ved ikke-nevrologiske
15 lokasjoner, så som behandling av IBM ved levering av forbindelsene til muskelfibere.

I tillegg er det vist at A β er forbundet med unormale ekstracellulære avsetninger, kjent som drusen, som akkumulerer langs den basale overflate av retinalt pigmentert epitel hos individer med aldersrelatert makuladegenerasjon
20 (AMD). AMD er årsak til irreversibelt synstap hos eldre individer. Det er antatt at A β -avsetning kan være en viktig komponent ved lokale inflammatoriske hendelser som bidrar til atrofi av retinalt pigmentert epitel, drusen-biogenese og patogenese av AMD (Johnson, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99(18), 11830-5 (2002)).

25 Foreliggende oppfinnelse angår derfor anvendelse av forbindelser med formelen V for fremstilling av medikamenter ved forebygging eller behandling av amyloid-relaterte sykdommer, omfattende, bl.a. Alzheimer's sykdom, cerebral amyloid angiopati, mild kognitiv svekkelse, inklusjonslegeme myositt, Downs syndrom, makuladegenerasjon, så vel som andre typer av amyloidose, så som
30 IAPP- relatert amyloidose (f.eks. diabetes), primær (AL) amyloidose, sekundær (AA) amyloidose og β_2 mikroglobulin-relatert (dialyse-relatert) amyloidose.

Ved Type II diabetes-relatert amyloidose (IAPP), fremkaller amyloidogent protein IAPP β -øycelletoksisitet når organisert i oligomere former eller i fibriller. Således bidrar fremkomst av IAPP-fibriller i bukspyttkjertelen hos type II diabetiske pasienter til tap av β -øyceller (Langerhans) og organ-dysfunksjon som fører til insulinisme.

Primær amyloidose (AL amyloid) er vanligvis funnet forbundet med plasmacelle-dyskrasi og multippelt myelom. Den kan også finnes som en idiopatisk sykdom.

Sekundær (AA) amyloidose er vanligvis sett forbundet med kronisk infeksjon (så som tuberkulose) eller kronisk inflammasjon (så som revmatoid artritt). En familiær form av sekundær amyloidose er også sett ved familiær middelhavsfeber (FMF).

β_2 mikroglobulin-relatert (dialyse-relatert) amyloidose er funnet hos langtids hemodialyse-pasienter. Pasienter som gjennomgår langvarig hemodialyse vil utvikle β_2 -mikroglobulin-fibriller i karpal-tunnelen og i kollagenrikt vev i mange ledd. Dette forårsaker alvorlige smerter, leddstivhet og opphovning. Disse avleiringer skyldes manglende evne til å opprettholde lave nivåer av β_2 M i plasma hos dialyserte pasienter. Økede plasmakonsentrasjoner av β_2 M protein vil fremkalle strukturelle endringer og kan føre til avsetning av modifisert β_2 M som uoppløselige fibriller i leddene.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse angår anvendelse av forbindelser med V ved behandling av amyloid-relaterte sykdommer. Av praktiske grunner er noen definisjoner av betegnelser referert til her angitt nedenfor.

Amyloid-relaterte sykdommer

AA (Reaktiv) Amyloidose

Generelt er AA amyloidose en manifestasjon av flere sykdommer som utløser en forlenget akutt fase respons. Slike sykdommer omfatter kroniske

inflammatoriske lidelser, kroniske lokale eller systemiske mikrobielle infeksjoner og ondartede neoplasmer. Den mest vanlige form av reaktiv eller sekundær (AA) amyloidose er sett som resultat av langvarige inflammatoriske tilstander. For eksempel kan pasienter med revmatoid artritt eller familiær middelhavsfeber

5 (som er en genetisk sykdom) utvikle AA amyloidose. Betegnelsene "AA amyloidose" og "sekundær (AA) amyloidose" blir anvendt om hverandre.

AA fibriller er generelt sammensatt av 8.000 Dalton fragmenter (AA peptid eller protein) dannet ved proteolytisk spaltning av serum amyloid A protein (ApoSAA), et sirkulerende apolipoprotein som hovedsakelig blir

10 syntetisert i hepatocytter som respons på slike cytokiner som IL-1, IL-6 og TNF. Når utskilt blir ApoSAA kompleksert med HDL. Avsetning av AA fibriller kan være utbredt i kroppen, med en preferanse for parenkymale organer. Nyrene er vanligvis et avsetningssted og leveren og milten kan også være påvirket. Avsetning er også sett i hjertet, mage-tarm-kanalen og huden.

15 Underliggende sykdommer som kan føre til utvikling av AA amyloidose omfatter inflammatoriske sykdommer, så som revmatoid artritt, kronisk artritt hos ungdom, ankyloserende spondylitt, psoriasis, psoriatisk artropati, Reiter's syndrom, voksen Still's sykdom, Behcet's syndrom og Crohn's sykdom. AA-avsetninger blir også produsert som et resultat av kroniske mikrobielle

20 infeksjoner, så som spedalskhet, tuberkulose, bronkiektasi, decubitus ulcere, kronisk pyelonefritt, osteomyelitt og Whipple's sykdom. Visse ondartede neoplasmer kan også resultere i AA fibrill amyloide avsetninger. Disse omfatter slike lidelser som Hodgkin's lymfom, nyrekarsinom, karsinomer i tarm, lunge og urogenital-kanalen, basalcelle-karsinom og hårcelle-leukemi. Andre

25 underliggende lidelser som kan være forbundet med AA amyloidose er Castleman's sykdom og Schnitzler's syndrom.

AL amyloidoser (primær amyloidose)

AL amyloid-avsetning er generelt forbundet med nesten hvilken som helst dyskrasi av B-lymfocyt-linje, fra ondartet sykdom i plasmaceller (multippelt

30 myelom) til godartet monoklonal gammopati. Til tider kan tilstedeværelse av amyloide avsetninger være en primær indikator for underliggende dyskrasi. AL amyloidose er også beskrevet i detalj i *Current Drug Targets*, 2004, 5 159-171.

Fibriller av AL amyloide avsetninger er sammensatt av monoklonale immunoglobulin-lettkjeder eller fragmenter derav. Mer spesifikt er fragmentene avledet fra den N-terminale region av lettkjeden (kappa eller lambda) og inneholder alle eller del av variabel- (V_L) domenet derav. Avsetninger

- 5 forekommer generelt i det mesenkymale vev, som forårsaker perifer og autonom nevropati, karpaltunnel-syndrom, makroglossi, restriktiv kardiomyopati, artropati i store ledd, immun-dyskrasier, myelomer, så vel som okkulte dyskrasier.

Imidlertid skal det bemerkes at nesten hvilket som helst vev, spesielt viscerale organer så som nyre, lever, milt og hjerte, kan være involvert.

10 *Arvelige systemiske amyloidoser*

Det er mange former for arvelige systemiske amyloidoser. Selv om de er relativt sjeldne lidelser, fører voksen begynnelse av symptomer og deres arvelighetsmønstre (vanligvis autosomale dominante) til persistens av slike lidelser i den generelle populasjon. Generelt kan syndromene tilskrives

- 15 punktmutasjoner i forløperprotein som fører til produksjon av variante amyloidogene peptider eller proteiner. Tabell 1 oppsummerer fibrill-sammensetningen av eksempler på former av disse lidelser.

TABELL 1 - Fibrillsammensetning i eksempler på amyloid-relaterte sykdommer

Fibrill peptid/protein	Genetisk variant	Klinisk syndrom
ATTR protein fra Transthyretin og fragmenter	Met30, mange andre	Familiær amyloid polyneuropati (FAP), (hovedsakelig perifere nerver)
ATTR protein fra Transthyretin og fragmenter	Thr45, Ala60, Ser84, Met111, Ile122	Hjerte-involvering dominerende uten neuropati, familiær amyloid polyneuropati, senil systemisk amyloidose, Tenosynovium
N-terminalt fragment av Apolipoprotein A1 (apoA1)	Arg26	Familiær amyloid polyneuropati (FAP), (hovedsakelig perifere nerver)
N-terminalt fragment av Apolipoprotein A1 (ApoA1)	Arg26, Arg50, Arg 60, andre	Ostertag-type, ikke-neuropatisk (overveiende visceral involvering)
ApoAII fra Apolipoprotein AII		Familiær amyloidose
Lysozym (Alys)	Thr56, His67	Ostertag-type, ikke-neuropatisk (overveiende visceral involvering)
Fibrogen alfakjede fragment	Leu554, Val 526	Kraniell neuropati med nettverk korneal dystrofi
Gelsolin-fragment (Agel)	Asn187, Tyr187	Kraniell neuropati med nettverk korneal dystrofi

Fibrill peptid/protein	Genetisk variant	Klinisk syndrom
Cystatin C fragment (ACys)	Glu68	Arvelig hjerneblødning (cerebral amyloid angiopati) - Islandsk type
β -amyloid protein ($A\beta$) avledet fra amyloid forløperprotein (APP)	Gln693	Arvelig hjerneblødning (cerebral amyloid angiopati) - hollandsk type
β -amyloid protein ($A\beta$) avledet fra amyloid forløperprotein (APP)	Ile717, Phe717, Gly717	Familiær Alzheimer's sykdom
β -amyloid protein ($A\beta$) avledet fra amyloid forløperprotein (APP), f.eks. bPP 695	Gln 618	Alzheimer's sykdom, Downs syndrom, arvelig hjerneblødning med amyloidose, hollandsk type
β -amyloid protein ($A\beta$) avledet fra amyloid forløperprotein (APP)	Asn670, Leu671	Familiær demens - sannsynligvis Alzheimer's sykdom
Prionprotein (PrP, APrP ^{SC}) avledet fra Prp forløperprotein (51-91 insersjon)	Leu102, Val167, Asn178, Lys200	Familiær Creutzfeldt-Jakob sykdom; Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrom (arvelige spongiforme encefalopati, prionsykdommer)
AA avledet fra serum amyloid A protein (ApoSAA)		Familiær middelhavsfeber, dominerende nyre-involvering (autosomal recessiv)

Fibrill peptid/protein	Genetisk variant	Klinisk syndrom
AA avledet fra serum amyloid A protein (ApoSAA)		Muckle-Well's syndrom, nefropati, døvhed, urtikaria, lemsmerte
Ukjent		Kardiomyopati med vedvarende atrial stillstand
Ukjent		Kutane avsetninger (bulløs, papulær, pustulodermal)
AH amyloid protein, avledet fra immunoglobulin tungkjede (gamma I)	Ay I	Myelom-assosiert amyloidose
ACal amyloid protein fra (pro)kalsitonin	(Pro) kalsitonin	Marg-karsinomer i skjoldbruskkjertelen
AANF amyloid protein fra atrial natriuretisk faktor		Isolert atrial amyloid
Apro fra prolaktin		Prolaktinomer
Abri/ADan fra ABri peptid		Britisk og dansk familiær demens

Data avledet fra Tan SY, Pepys MB. Amyloidosis. *Histopathology*, 25(5), 403-414 (Nov 1994), WHO/IUIS Nomenclature Subcommittee, Nomenclature of Amyloid and Amyloidosis. Bulletin of the World Health Organization 1993; 71: 10508; og Merlini *et al.*, Clin Chem Lab Med 2001; 39(11): 1065-75.

Dataene gitt i Tabell 1 er eksempler. For eksempel er mer enn 40 separate punktmutasjoner i transthyretin-gen beskrevet, som alle gir opphav til klinisk lignende former av familiær amyloid polyneuropati.

Generelt kan hvilken som helst arvelig amyloid lidelse også forekomme sporadisk og både arvelige og sporadiske former av en sykdom presenterer samme karakteristika med hensyn til amyloid. For eksempel forekommer den mest utbredte form av sekundær AA amyloidose sporadisk, f.eks. som et resultat av pågående inflammasjon og er ikke forbundet med familiær middelhavsfeber. Således kan den generelle omtale som gjelder arvelige amyloide lidelser nedenfor også gjelde for sporadiske amyloidoser.

Transthyretin (TTR) er et 14 kiloDalton protein som også noen ganger er referert til som prealbumin. Det er produsert av leveren og choroid plexus og det fungerer ved transportering av thyroide hormoner og vitamin A. Minst 50 variant-former av proteinet, hver karakterisert ved en enkel aminosyre-forandring, er ansvarlig for forskjellige former for familiær amyloid polyneuropati. For eksempel resulterer substitusjon av prolin for leucin i stilling 55 i en spesielt progressiv form av nevropati; substitusjon av metionin for leucin i stilling 111 resulterer i en alvorlig kardiopati hos danske pasienter.

Amyloide avsetninger isolert fra hjertevev til pasienter med systemisk amyloidose har vist at avsetningene er sammensatt av en heterogen blanding av TTR og fragmenter derav, kollektivt referert til som ATTR, hvorav full-lengde sekvensene er karakterisert. ATTR fibrill-komponenter kan ekstraheres fra slikt plaque og deres struktur og sekvens bestemmes i henhold til metodene kjent på området (f.eks. Gustavsson, A., *et al.*, Laboratory Invest. 73: 703-708, 1995; Kametani, F., *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 125: 622-628, 1984; Pras, M., *et al.*, PNAS 80: 539-42, 1983).

Personer som har punktmutasjoner i molekylet apolipoprotein AI (f.eks. Gly→Arg26; Trp→Arg50; Leu→Arg60) viser en form av amyloidose ("Östertag type") karakterisert ved avsetninger av proteinet apolipoprotein AI eller fragmenter derav (AApoAI). Disse pasienter har lave nivåer av høydensitet lipoprotein (HDL) og presenterer perifer nevropati eller nyresvikt.

En mutasjon i alfakjeden av enzymet lysozym (f.eks. Ile→Thr56 eller Asp→His57) er basis for en annen form av Östertag-type ikke-nevropatisk arvelig amyloid er rapportert i engelske familier. Her er fibriller av mutant lysozym-protein (Alys) avleiret og pasienter viser generelt svekket nyrefunksjon. Dette protein, i motsetning til mesteparten av de fibrill-dannende proteiner beskrevet her, er vanligvis til stede i hel (ufragmentert) form (Benson, M.D., *et al.* CIBA Fdn. Symp. 199: 104-131, 1996).

Immunoglobulin lett kjeder tenderer til å danne aggregater i forskjellige morfologier, omfattende fibrillær (f.eks. AL amyloidose og AH amyloidose), granulær (f.eks. lett kjede avsetnings-sykdom (LCDD), tungkjede avsetnings-sykdom (HCDD) og lett-tungkjede avsetningssykdom (LHCDD)), krystallinsk (f.eks. ervervet Farconi's syndrom) og mikrotubulær (f.eks. Cryoglobulinemi). AL og AH amyloidose er indikert ved dannelse av uoppløselige fibriller av henholdsvis immunoglobulin lett kjede og tungkjede, og/eller deres fragmenter. I AL fibriller er lambda- (λ) kjeder så som λ VI-kjeder (λ6 kjeder), funnet i større konsentrasjoner enn kappa- (κ) kjeder. λIII-kjeder er også litt forhøyet. Merlini *et al.*, CLIN CHEM LAB MED 39(11):1065-75 (2001). Tungkjede amyloidose (AH) er generelt karakterisert ved aggregater av gammakjede amyloid-proteiner av IgG1 underklasse. Eulitz *et al.*, PROC NATL ACAD SCI USA 87:6542-46 (1990).

Sammenligning av amyloidogene og ikke-amyloidogene lett kjeder har vist at førstnevnte kan omfatte erstatninger eller substitusjoner som synes å destabilisere foldingen av proteinet og fremme aggregering. AL og LCDD skiller seg fra andre amyloide sykdommer på grunn av deres relativt lille populasjon av monoklonale lett kjeder, som er produsert ved neoplastisk ekspansjon av en antistoff-produserende B-celle. AL-aggregater er typisk velordnede fibriller av lambda-kjeder. LCDD-aggregater er relativt amorfe aggregeringer av både kappa- og lambda-kjeder, idet hoveddelen er kappa, i noen tilfeller κIV. Bellotti *et al.*, JOURNAL OF STRUCTURAL BIOLOGY 13:280-89 (2000). Sammenligning av amyloidogene og ikke-amyloidogene tungkjeder hos pasienter som har AH amyloidose har avslørt manglende og/eller endrede komponenter. Eulitz *et al.*, PROC NATL ACAD SCI USA 87:6542-46 (1990) (patogene tungkjeder karakterisert ved betydelig lavere molekylær masse enn ikke-amyloidogene tung kjeder); og Solomon *et al.* AM J HEMAT 45(2) 171-6 (1994) (amyloidogen tungkjede

karakterisert som bestående utelukkende av VH-D-delen av ikke-amyloidogen tungkjede).

- Følgelig omfatter potensielle metoder for detektering og overvåkning av behandling av individer som har eller har risiko for å få AL, LCDD, AH og
- 5 lignende, men er ikke begrenset til, immunundersøkelse av plasma eller urin for tilstedeværelse eller senket avsetning av amyloidogene lett- eller tung-kjeder, f.eks. amyloid λ , amyloid κ , amyloid κIV , amyloid γ eller amyloid γ1 .

Hjerne-amyloidose

- 10 Den hyppigste type av amyloid i hjernen er sammensatt primært av $A\beta$ -peptid fibriller, hvilket resulterer i demens forbundet med sporadisk (ikke-arvelig) Alzheimer's sykdom. Faktisk overstiger forekomsten av sporadisk Alzheimer's sykdom sterkt former vist å være arvelige. Allikevel er fibrill-peptider som danner plaque meget lignende i begge typer. Hjerne-amyloidose omfatter de
- 15 sykdommer, lidelser, patologier og andre abnormaliteter med struktur eller funksjon i hjernen, omfattende komponenter derav, hvor det forårsakende agens er amyloid. Området av hjernen påvirket i en amyloid-relatert sykdom kan være stroma omfattende vaskulaturen eller parenkymet omfattende funksjonelle eller anatomiske regioner eller neuroner selv. Et individ trenger ikke ha fått en
- 20 definitiv diagnose av en spesifikt gjenkjent amyloid-relatert sykdom. Betegnelsen "amyloid-relatert sykdom" omfatter hjerne-amyloidose.

- Amyloid- β peptid (" $A\beta$ ") er et 39-43 aminosyre-peptid avledet ved proteolyse fra et stort protein kjent som Beta Amyloid Forløperprotein (" β APP"). Mutasjoner i β APP resulterer i familiære former av Alzheimer's sykdom, Downs
- 25 syndrom, cerebral amyloid angiopati og senil demens, karakterisert ved cerebral avsetning av plaque sammensatt av $A\beta$ -fibriller og andre komponenter, som er beskrevet mer detaljert nedenfor. Kjente mutasjoner i APP forbundet med Alzheimer's sykdom forekommer nær spaltningssteder av β - eller γ -sekretase eller innen $A\beta$. For eksempel er stilling 717 nær setet for gamma-sekretase-spaltning av APP i dens prosessering til $A\beta$ og stillinger 670/671 er nær setet for
- 30 β -sekretase-spaltning. Mutasjoner ved hvilken som helst av disse rester kan resultere i Alzheimer's sykdom, antagelig ved å forårsake en økning i en

mengde av 42/43 aminosyre-form av A β dannet fra APP. Den familiære form av Alzheimer's sykdom representerer bare 10% av den aktuelle populasjon. De fleste forekomster av Alzheimer's sykdom er sporadiske tilfeller hvor APP og A β ikke har noen mutasjon. Struktur og sekvens av A β -peptider med forskjellige lengder er velkjent på området. Slike peptider kan fremstilles i henhold til metoder kjent på området eller ekstraheres fra hjernen i henhold til kjente metoder (f.eks. Glenner og Wong, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 129, 885-90 (1984); Glenner og Wong, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 122, 1131-35 (1984)). I tillegg er forskjellige former for peptidene kommersielt tilgjengelige.

APP er uttrykt og konstitutivt katabolisert i de fleste celler. Den dominante katabolske bane synes å være spaltning av APP innen A β -sekvensen av et enzym provisorisk betegnet α -sekretase, hvilket fører til frigjøring av et oppløselig ektodomene-fragment kjent som APPs α . Denne spaltning utelukker dannelse av A β -peptid. I motsetning til denne ikke-amyloidogene bane, kan APP også spaltes av enzymer kjent som β - og γ -sekretase ved henholdsvis N- og C-termini av A β , fulgt av frigjøring av A β i det ekstracellulære rom. Hittil er BACE identifisert som β -sekretase (Vasser, *et al.*, *Science* 286:735-741, 1999) og preseniliner er implisert i γ -sekretase-aktivitet (De Strooper, *et al.*, *Nature* 391, 387-90 (1998)). 39-43 aminosyre A β -peptid er produsert ved sekvensiell proteolytisk spaltning av det amyloide forløperprotein (APP) av β - og γ -sekretase-enzym. Selv om A β 40 er den dominerende form produsert eksisterer 5-7% av total A β som A β 42 (Cappai *et al.*, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31, 885-89 (1999)).

Lengden av A β -peptidet synes dramatisk å endre dets biokjemiske/biofysiske egenskaper. Spesifikt er de ytterligere to aminosyrer ved C-terminus av A β 42 meget hydrofobe, som antagelig øker tilbøyeligheten til A β 42 til å aggregere. For eksempel har Jarrett, *et al.* demonstrert at A β 42 aggregerer meget raskt *in vitro* sammenlignet med A β 40, hvilket indikerer at de lenger former av A β kan være viktige patologiske proteiner som er involvert i den innledende dannelse av neurittisk plaque ved Alzheimer's sykdom (Jarrett, *et al.*, *Biochemistry* 32, 4693-97 (1993); Jarrett, *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 695, 144-48 (1993)). Denne hypotesen er ytterligere underbygget av nyere analyse

av bidragene av spesifikke former av A β i tilfeller av genetiske familiære former av Alzheimer's sykdom ("FAD"). For eksempel øker den "London" mutante form av APP (APPV717I) knyttet til FAD selektivt produksjon av A β 42/43 former versus A β 40 (Suzuki, *et al.*, *Science* 264, 1336-40 (1994)) mens den "svenske" mutante form av APP (APPK670N/M671L) øker nivåer av både A β 40 og A β 42/43 (Citron, *et al.*, *Nature* 360, 672-674 (1992); Cai, *et al.*, *Science* 259, 514-16, (1993)). Det har også vært observert at FAD-tilknyttede mutasjoner i Presenilin-1 ("PS1") eller Presenilin-2 ("PS2") gener vil føre til en selektiv økning i A β 42/43-produksjon men ikke A β 40 (Borchelt, *et al.*, *Neuron* 17, 1005-13 (1996)). Dette funn ble bekreftet i transgene musemodeller som uttrykker PS mutanter som demonstrerer en selektiv økning i hjerne A β 42 (Borchelt, *op cit.*; Duff, *et al.*, *Neurodegeneration* 5(4), 293-98 (1996)). Således er den ledende hypotese når det gjelder etiologi ved Alzheimer's sykdom at en økning i A β 42 hjerne-konsentrasjon på grunn av øket produksjon og frigjøring av A β 42 eller en reduksjon i utskilling (nedbrytning eller hjerneutskilling) er en forårsakende hendelse i sykdomspatologien.

Multiple mutasjonssteder i enten A β - eller APP-gen er identifisert og er klinisk forbundet med enten demens eller hjerneblødning. Eksempler på CAA-lidelser omfatter, men er ikke begrenset til, arvelig hjerneblødning med amyloidose av islandsk type (HCHWA-I); den hollandske variant av HCHWA (HCHWA-D; en mutasjon i A β); flamsk mutasjon av A β ; arktisk mutasjon av A β ; italiensk mutasjon av A β ; iowa-mutasjon av A β ; familiær britisk demens; og famiær dansk demens. CAA kan også være sporadisk.

Som anvendt her refererer betegnelsene " β -amyloid," "amyloid- β ," og lignende til amyloide β -proteiner eller peptider, amyloid β -forløperproteiner eller peptider, mellomprodukter og modifikasjoner og fragmenter derav, hvis ikke annet spesielt er angitt. Spesielt angir "A β " hvilket som helst peptid produsert ved proteolytisk prosessering av APP-genproduktet, spesielt peptider som er forbundet med amyloide patologier, omfattende A β 1-39, A β 1-40, A β 1-41, A β 1-42 og A β 1-43. Av praktiske grunner for nomenklatur kan "A β 1-42" refereres til her som "A β (1-42)" eller enkelt som "A β 42" eller "A β ₄₂" (og tilsvarende for

hvilke som helst andre amyloide peptider beskrevet her). Som anvendt her er betegnelsene “ β -amyloid,” “amyloid- β ,” og “A β ” synonyme.

Hvis ikke på annen måte spesifisert angir betegnelsen “amyloid” amyloidogene proteiner, peptider eller fragmenter derav som kan være

5 oppløselige (f.eks. monomere eller oligomere) eller uoppløselige (har f.eks. fibrillær struktur eller i amyloid plaque). Se f.eks. M.P. Lambert, *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95, 6448-53 (1998). “Amyloidose” eller “amyloid sykdom” eller “amyloid-relatert sykdom” angir en patologisk lidelse karakterisert ved tilstedeværelse av amyloide fibre. “Amyloid” er en generisk betegnelse med

10 henvisning til en gruppe ulike men spesifikke proteinavsetninger (intracellulære eller ekstracellulære) som sees ved flere forskjellige sykdommer. Selv om ulike i deres forekomst, har alle amyloide avsetninger felles morfologiske egenskaper, merker med spesifikke fargemidler (f.eks. Congo-rød) og har et karakteristisk rød-grønt dobbeltbrytende utseende i polarisert lys etter merking. De har også

15 felles ultrastrukturelle trekk og felles røntgendiffraksjon- og infrarøde spektra.

Gelsolin er et kalsium-bindingsprotein som binder til fragmenter og aktin-filamenter. Mutasjoner i stilling 187 (f.eks. Asp→Asn; Asp→Tyr) av proteinet resulterer i en form for arvelig systemisk amyloidose, vanligvis funnet hos pasienter fra Finland, så vel som personer av hollandsk eller japansk

20 opprinnelse. Hos rammede individer består fibriller dannet fra gelsolin-fragmenter (Agel), vanligvis av aminosyrer 173-243 (68 kDa karboksyterminalt fragment) og er avleiret i blodkar og basalmembraner, hvilket resulterer i korneal dystrofi og kraniell nevropati som utvikler seg til perifer nevropati, dystrofiske hudendringer og avsetning i andre organer. (Kangas, H., *et al.* *Human Mol. Genet.* 5(9): 1237-1243, 1996).

25

Andre muterte proteiner, så som mutant alfakjede av fibrinogen (AfibA) og mutant cystatin C (Acys) danner også fibriller og produserer karakteristiske arvelige lidelser. AfibA-fibriller danner avsetninger karakteristiske for ikke-nevropatisk arvelig amyloid med nyre-sykdom; Acys avsetninger er

30 karakteristiske for arvelig cerebral amyloid angiopati rapportert på Island (Isselbacher, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, McGraw-Hill, San Francisco, 1995; Benson, *et al.*). I minst noen tilfeller er pasienter med cerebral

amyloid angiopati (CAA) vist å ha amyloide fibriller inneholdende en ikke-mutant form av cystatin C sammen med amyloid beta-protein (Nagai, A., *et al.* Molec. Chem. Neuropatol. 33: 63-78, 1998).

5 Visse former for prionsykdom er nå betraktet å være arvelige, hvilket forklarer opptil 15% av tilfeller som tidligere ble antatt å være overveiende infeksjøs av natur (Baldwin, *et al.*, i *Research Advances in Alzheimer's Disease and Related Disorders*, John Wiley and Sons, New York, 1995). Ved arvelige og sporadiske prionlidelser utvikler pasienter plaque sammensatt av unormale isoformer av det normale prionprotein (PrP^{Sc}).

10 En dominerende mutant isoform, PrP^{Sc} også referert til som AScr, skiller seg fra det normale cellulære protein i dens resistens mot protease-nedbrytning, uoppløselighet etter detergent-ekstraksjon, avsetning av sekundære lysosomer, post-translasjonell syntese og høyt β -foldet sheet innhold. Genetisk forbindelse er etablert for minst fem mutasjoner som resulterer i Creutzfeldt-Jacob sykdom
15 (CJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrom (GSS) og fatal familiær søvnløshet (FFI). (Baldwin, *supra*). Metoder for ekstraksjon av fibrillpeptider fra skrapesyke-fibriller, bestemmelse av sekvenser og fremstilling av slike peptider er kjent på området (f.eks. Beekes, M., *et al.* J. Gen. Virol. 76: 2567-76, 1995).

For eksempel er én form av GSS bundet til en PrP-mutasjon ved kodon
20 102, mens telencefalisk GSS segregerer med en mutasjon ved kodon 117. Mutasjoner ved kodoner 198 og 217 resulterer i en form av GSS hvor neurittisk plaque karakteristisk for Alzheimer's sykdom inneholder PrP istedenfor A β peptid. Visse former av familiær CJD er forbundet med mutasjoner ved kodoner 200 og 210; mutasjoner ved kodoner 129 og 178 er funnet ved både familiær
25 CJD og FFI. (Baldwin, *supra*).

Cerebral amyloidose

Lokal avsetning av amyloid er vanlig i hjernen, spesielt hos eldre individer. Den hyppigste type av amyloid i hjernen er sammensatt primært av A β peptid fibriller, hvilket resulterer i demens eller sporadisk (ikke-arvelig)
30 Alzheimer's sykdom. De mest vanlige forekomster av cerebral amyloidose er sporadiske og ikke familiære. For eksempel overstiger forekomsten av sporadisk Alzheimer's sykdom og sporadisk CAA sterkt forekomsten av familiær

AD og CAA. Videre kan sporadiske og familiære former av sykdommen ikke skilles fra hverandre (de avviker bare ved tilstedeværelse eller fravær av en nedarvet genetisk mutasjon); for eksempel er de kliniske symptomene og amyloid plaque dannet ved både sporadisk og familiær AD meget lignende, om
5 ikke identiske.

Cerebral amyloid angiopati (CAA) angir den spesifikke avsetning av amyloide fibriller i veggene av leptomeningeale og kortikale arterier, arterioler og vener. Det er vanlig forbundet med Alzheimer's sykdom, Downs syndrom og normal aldring, så vel som med en rekke familiære lidelser relatert til slag eller
10 demens (se Frangione *et al.*, Amyloid: J. Protein Folding Disord. 8, Suppl. 1, 36-42 (2001)). CAA kan forekomme sporadisk eller være arvelig.

Senil systemisk amyloidose

Amyloid avsetning, enten systemisk eller fokal, øker med alder. For eksempel er fibriller av villtype transthyretin (TTR) vanlig funnet i hjertevev til
15 eldre individer. Disse kan være asymptomatiske, klinisk rolige eller kan resultere i hjertesvikt. Asymptomatiske fibrillære fokale avsetninger kan også forekomme i hjernen ($A\beta$), corpora amylacea av prostata (β_2 mikroglobulin), ledd og sædvesikler.

Dialyse-relatert amyloidose (DRA)

Plaques sammensatt av β_2 mikroglobulin- (β_2M) fibriller utvikles vanligvis hos pasienter som mottar langvarig hemodialyse eller peritoneal dialyse. β_2 mikroglobulin er et 11,8 kiloDalton polypeptid og er lettkjeden av Klasse I MHC antigenene, som er til stede på celler med kjerner. Under normale omstendigheter er β_2M vanligvis fordelt i det ekstracellulære rom hvis det ikke er
20 en svekket nyre-funksjon, i hvilket tilfelle β_2M blir transportert inn i vev hvor det polymeriserer for å danne amyloide fibriller. Svikt i utskilling så som i tilfellet av svekket nyrefunksjon, fører til avsetning i karpaltunnelen og andre steder (primært i kollagen-rikt vev i leddene). I motsetning til andre fibrill-proteiner, blir β_2M -molekyler ikke produsert ved spaltning av et lenger forløperprotein og er
25 generelt til stede i ufragmentert form i fibrillene (Benson, *supra*). Retensjon og akkumulering av denne amyloid-forløper er vist å være den viktigste patogene prosess som ligger under for DRA. DRA er karakterisert ved perifer ledd-
30

osteopati (f.eks. ledd-stivhet, -smerte, -oppheving etc.). Isoformer av β_2M , glykerte β_2M eller polymerer av β_2M i vev er den mest amyloidogene form (i motsetning til nativ β_2M). I motsetning til andre typer av amyloidose, er β_2M i det vesentlige begrenset til osteoartikulære steder. Viscerale avsetninger er sjelden. Av og til kan disse avsetninger involvere blodkar og andre viktige anatomiske steder.

Til tross for forbedrede dialysemetoder for fjerning av β_2M har majoriteten av pasienter plasma β_2M konsentrasjoner som forblir dramatisk høyere enn normalt. Disse forhøyede β_2M -konsentrasjoner fører generelt til diabetes-relatert amyloidose (DRA) og komorbiditeter som bidrar til dødelighet.

Øy amyloid polypeptid og diabetes

Øy-hyalinose (amyloid avsetning) ble først beskrevet for over hundre år siden som tilstedeværelse av fibrøse proteinaggregater i bukspyttkjertelen til pasienter med alvorlig hyperglykemi (Opie, EL., *J Exp. Med.* 5: 397-428, 1901). Idag er øy-amyloid, sammensatt overveiende av øy-amyloid polypeptid (IAPP) eller amylin, en karakteristisk histopatologisk markør i over 90% av alle tilfeller av Type II diabetes (også kjent som ikke-insulinavhengig diabetes eller NIDDM). Disse fibrillære akkumuleringer er et resultat av aggregering av øy-amyloid polypeptid (IAPP) eller amylin, som er et 37 aminosyre peptid, avledet fra et større forløperpeptid, betegnet pro-IAPP.

IAPP blir samutskilt med insulin som respons på β -celle sekretagoger. Dette patologiske trekk er ikke forbundet med insulin-avhengig (Type I) diabetes og er en samlende karakteristikk for de heterogene kliniske fenotyper diagnostisert som NIDDM (Type II diabetes).

Undersøkelser i katter og immunocytokjemiske undersøkelser i aper har vist at en progressiv økning i øy-amyloid er forbundet med en dramatisk reduksjon i populasjonen av insulin-utskillende β -celler og øket alvorlighetsgrad av sykdommen. Senere har transgene undersøkelser styrket relasjonen mellom IAPP plaque-dannelse og β -celle-apoptose og dysfunksjon, hvilket indikerer at amyloid-avsetning er en hovedfaktor for å øke alvorlighetsgraden av Type II diabetes.

IAPP er også vist å fremkalle β -øycelletoksisitet *in vitro*, hvilket indikerer at fremkomst av IAPP-fibriller i bukspyttkjertelen hos type II eller Type I diabetiske pasienter (post-øy transplantasjon) kunne bidra til tap av β -celle øyer (Langerhans) og organdysfunksjon. Hos pasienter med Type II diabetes, fører 5 akkumulering av pankreatisk IAPP til dannelse av oligomere IAPP, hvilket fører til en opphopning av IAPP-amyloid som uoppløselige fibrøse avsetninger som til slutt ødelegger insulin-produserende β -celler i øyene, hvilket resulterer i β -celle utarming og svikt (Westermarck, P., Grimelius, L., *Acta Path. Microbiol. Scand., sect. A. 81*: 291-300, 1973; de Koning, EJP., *et al.*, *Diabetologia* 36: 378-384, 10 1993; og Lorenzo, A., *et al.*, *Nature* 368: 756-760, 1994). Akkumulering av IAPP som fibrøse avsetninger kan også ha en innvirkning på forholdet av pro-IAPP til IAPP normalt funnet i plasma ved å øke dette forhold på grunn av oppfangning av IAPP i avsetninger. Reduksjon av β -celle-masse kan manifesteres ved hyperglykemi og insulinisme. Dette β -cellemasse-tap kan føre til et behov for 15 insulinterapi.

Sykdommer forårsaket av død eller dysfunksjon av en spesiell type eller typer av celler kan behandles ved å transplantere til pasienten friske celler av den relevante type celle. Denne metode har vært anvendt for Type I diabetes pasienter. Ofte blir pankreatiske øyceller fra en donor dyrket *in vitro* før 20 transplantasjon, for å la dem komme seg etter isoleringsprosedyren eller å redusere deres immunogenisitet. Imidlertid er i mange tilfeller øycelle-transplantasjon mislykket på grunn av død av de transplanterte celler. Én grunn til denne dårlige suksessgrad er IAPP, som organiseres til toksiske oligomerer. Toksiske effekter kan resultere fra intracellulær og ekstracellulær akkumulering 25 av fibrill-oligomerer. IAPP-oligomerene kan danne fibriller og bli toksiske for cellene *in vitro*. I tillegg er IAPP-fibriller sannsynlige å fortsette å vokse etter at cellene er transplantert og forårsake død eller dysfunksjon av cellene. Dette kan skje selv når cellene er fra en frisk donor og pasienten som mottar transplantatet ikke har en sykdom som er karakterisert ved tilstedeværelse av fibriller. For 30 eksempel kan forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse også anvendes for preparering av vev eller celler for transplantasjon i henhold til metodene beskrevet i internasjonal patentsøknad (PCT) nummer WO 01/003680.

Forbindelsene over kan også stabilisere forholdet av konsentrasjonene av Pro-IAPP/IAPP, pro-insulin/insulin og C-peptid-nivåer. I tillegg, som biologiske markører av effektivitet, kan resultatene av de forskjellige tester, så som arginin-insulin sekresjonstest, glukosetoleranse-test, insulin- toleranse og sensitivitetstester, alle anvendes som markører for redusert β -celle-masse og/eller akkumulering av amyloid-avsetninger. En slik klasse av medikamenter kan anvendes sammen med andre medikamenter som målsøker insulinresistens, hepatisk glukoseproduksjon og insulinsekresjon. Slike forbindelser kan forhindre insulinterapi ved konservering av β -celle-funksjon og være anvendbare for konservering av øy-transplantater.

Hormon-avledede amyloidoser

Endokrine organer kan ha amyloide avsetninger, spesielt hos eldre individer. Hormon-utskillende tumorer kan også inneholde hormon-avledet amyloid plaque, idet fibriller i dette består av polypeptid-hormoner så som kalsitonin (marg-karsinom i skjoldbruskkjertelen) og atrial natriuretisk peptid (isolert atrial amyloidose). Sekvenser og strukturer av disse proteiner er velkjent på området.

Forskjellige amyloidoser

Det er en rekke andre former for amyloid sykdom som normalt manifesteres som lokaliserte avsetninger av amyloid. Generelt er disse sykdommer sannsynligvis resultat av lokalisert produksjon eller mangel på katabolisme av spesifikke fibrill-forløpere eller predisponering av et spesielt vev (så som ledd) for fibrill-avsetning. Eksempler på slik idiopatisk avsetning omfatter nodulært AL amyloid, hud-amyloid, endokrint amyloid og tumor-relatert amyloid. Andre amyloid-relaterte sykdommer omfatter de beskrevet i Tabell 1, så som familiær amyloid polyneuropati (FAP), senil systemisk amyloidose, tenosynovium, familiær amyloidose, Ostertag-type, ikke-nevropatisk amyloidose, kraniell nevropati, arvelig hjerneblødning, familiær demens, kronisk dialyse, familiær Creutzfeldt-Jakob sykdom; Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrom, arvelige spongiforme encefalopater, prionsykdommer, familiær middelhavsfeber, Muckle-Well's syndrom, nefropati, døvhet, urtikaria, lemsmerte, kardiomyopati, hud-avsetninger, multippelt myelom, godartet

monoklonal gammopati, maccoglobulinemi, myelom-assosiert amyloidose, marg-karsinomer i skjoldbruskkjertelen, isolert atrial amyloid og diabetes.

Forbindelsene over kan administreres terapeutisk eller profylaktisk for å behandle sykdommer forbundet med amyloid fibrill-dannelse, aggregering eller avsetning, uansett klinisk oppsett. Forbindelsene over kan virke til å forbedre forløpet av en amyloid-relatert sykdom ved anvendelse av hvilken som helst av de følgende mekanismer, så som for eksempel: sinking av hastigheten av amyloid fibrill- dannelse eller -avsetning; minsking av graden av amyloid avsetning; hemning, reduksjon eller forhindring av amyloid fibrilldannelse; hemning av amyloid-fremkalt inflammasjon; forbedring av utskilling av amyloid fra for eksempel hjernen; eller beskyttelse av celler fra amyloidfremkalt (oligomer eller fibrillær) toksisitet.

I en utførelsesform kan forbindelsene over administreres terapeutisk eller profylaktisk for å behandle sykdommer forbundet med amyloid- β fibrill-dannelse, aggregering eller avsetning. Forbindelsene over kan virke til å forbedre forløpet av en amyloid- β -relatert sykdom ved anvendelse av hvilken som helst av de følgende mekanismer (denne listen menes å være illustrativ): sinking av hastigheten av amyloid- β fibrill-dannelse eller avsetning; minsking av graden av amyloid- β avsetning; hemning, reduksjon eller forhindring av amyloid- β fibrill-dannelse; hemning av nevrodegenerasjon eller cellulær toksisitet fremkalt av amyloid- β ; hemning av amyloid- β -fremkalt inflammasjon; forbedring av utskilling av amyloid- β fra hjernen; eller favorisering av større katabolisme av A β .

Forbindelser over kan være effektive til å kontrollere amyloid- β -avsetning enten etter deres inntrenging i hjernen (etter penetrering av blod-hjerne-barrieren) eller perifert. Når den virker perifert kan en forbindelse endre likevekten av A β mellom hjerne og plasma for å favorisere utskilling av A β fra hjernen. En økning i utskilling av A β fra hjernen ville resultere i en reduksjon i A β hjerne-konsentrasjon og derfor favorisere en reduksjon i A β -avsetning. I tillegg kan forbindelser som penetrerer hjernen kontrollere avsetning ved å virke direkte på hjerne-A β , f.eks. ved å holde det i en ikke-fibrillær form eller favorisere dets utskilling fra hjernen. Forbindelsene kan sinke APP-prosessering; kan øke nedbrytning av A β -fibriller av makrofager eller av

neuronale celler; eller kan redusere A β -produksjon ved aktivert mikroglia. Disse forbindelser kan også forhindre A β i hjernen fra å interagere med celleoverflaten og derfor forhindre neurotoksisitet, nevrodegenerasjon eller inflammasjon.

5 I en foretrukket utførelsesform blir forbindelsene eller preparatene anvendt for å behandle Alzheimer's sykdom (f.eks. sporadisk eller familiær AD). Forbindelsene eller preparatene kan også anvendes profylaktisk eller terapeutisk for å behandle andre kliniske forekomster av amyloid- β -avsetning, så som hos pasienter med Downs syndrom og hos pasienter med cerebral
10 amyloid angiopati ("CAA"), arvelig hjerneblødning eller tidlig Alzheimer's sykdom.

I en annen utførelsesform blir forbindelsene eller preparatene anvendt for å behandle mild kognitiv svekkelse. Mild kognitiv svekkelse ("MCI") er en lidelse karakterisert ved en tilstand av mild men målbar svekkelse av tankevirksomhet,
15 som ikke nødvendigvis er forbundet med tilstedeværelse av demens. MCI kommer ofte, men ikke nødvendigvis, før Alzheimer's sykdom.

I tillegg er unormal akkumulering av APP og av amyloid- β -protein i muskelfibere implisert i patologien av sporadisk inklusjonslegeme myositt (IBM) (Askanas, V., *et al.* (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 1314-1319; Askanas,
20 V. *et al.* (1995) *Current Opinion in Rheumatology* 7: 486-496). Følgelig kan forbindelsene over anvendes profylaktisk eller terapeutisk ved behandling av lidelser hvor amyloid-beta-protein er abnormt avleiret ved ikke-nevrologiske lokasjoner, så som behandling av IBM ved levering av forbindelsene til muskelfibere.

25 I tillegg er det vist at A β er forbundet med unormale ekstracellulære avsetninger, kjent som drusen, som akkumulerer langs basaloverflaten av retinalt pigmentert epitel hos individer med aldersrelatert makuladegenerasjon (ARMD). ARMD er en årsak til irreversibelt synstap hos eldre individer. Det er antatt at A β -avsetning kan være en viktig komponent av lokale inflammatoriske
30 hendelser som bidrar til atrofi av retinalt pigmentert epitel, drusen-biogenese og patogenese ved ARMD (Johnson, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(18), 11830-5 (2002)).

I en annen utførelsesform angår også oppfinnelsen forbindelsene eller preparatene for behandling eller forhindring av en amyloid-relatert sykdom hos et individ (fortrinnsvis et menneske) som omfatter administrering til individet av en terapeutisk mengde av en forbindelse i henhold til de følgende Formlene eller

5 på annen måte beskrevet her, slik at amyloid fibrill-dannelse eller avsetning, nevrodegenerasjon eller cellulær toksisitet blir redusert eller hemmet. I en annen utførelsesform angår oppfinnelsen forbindelsene eller preparatene for behandling eller forhindring av en amyloid-relatert sykdom hos et individ (fortrinnsvis et menneske) som omfatter administrering til individet av en

10 terapeutisk mengde av en forbindelse i henhold til de følgende Formlene eller på annen måte beskrevet her, slik at kognitiv funksjon er forbedret eller stabilisert eller ytterligere forverring i kognitiv funksjon blir forhindre, sinket eller stanset hos pasienter med hjerne-amyloidose, f.eks. Alzheimer's sykdom, Downs syndrom eller cerebral amyloid angiopati. Disse forbindelser kan også forbedre

15 kvaliteten av dagliglivet hos disse individer.

De terapeutiske forbindelser over kan behandle amyloidose relatert til type II diabetes ved for eksempel å stabilisere glykemi, forhindre eller redusere tap av β -cellemasse, redusere eller forhinde hyperglykemi på grunn av tap av β -cellemasse og modulere (f.eks. øke eller stabilisere) insulin-produksjon.

20 Forbindelsene over kan også stabilisere forholdet av konsentrasjonene av pro-IAPP/IAPP.

De terapeutiske forbindelser over kan behandle AA (sekundær) amyloidose og/eller AL (primær) amyloidose, ved å stabilisere nyre-funksjon, redusere proteinuri, øke kreatininutskilling (f.eks. med minst 50% eller mer eller

25 med minst 100% eller mer), ved å føre til remisjon av kronisk diaré eller vektøkning (f.eks. 10% eller mer) eller ved å redusere serum-kreatinin. Visceralt amyloid-innhold som bestemt ved f.eks. SAP scintigrafi kan også reduseres.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen

30 Foreliggende oppfinnelse angår, i det minste delvis, anvendelse av visse kjemiske forbindelser (og farmasøytiske formuleringer derav) for fremstilling av medikamenter forebygging eller behandling av amyloid-relaterte sykdommer,

omfattende, *bl.a.* Alzheimer's sykdom, cerebral amyloid angiopati, inklusjonslegeme myositt, Downs syndrom, diabetes-relatert amyloidose, hemodialyse-relatert amyloidose (β_2M), primær amyloidose (f.eks. λ - eller κ -kjede-relatert), familiær amyloid polyneuropati (FAP), senil systemisk amyloidose, familiær amyloidose, Ostertag-type ikke-nevropatisk amyloidose, kranieell neuropati, arvelig hjerneblødning, familiær demens, kronisk dialyse, familiær Creutzfeldt-Jakob sykdom, Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrom, arvelige spongiforme encefalopater, prionsykdommer, familiær middelhavsfeber, Muckle-Well's syndrom, nefropati, døvhhet, urtikaria, lemsmerte, kardiomyopati, hud-avsetninger, multippelt myelom, godartet monoklonal gammopati, maccoglobulinemi, myelom-assosiert amyloidose, marg-karsinomer i skjoldbruskkjertelen og isolert atrial amyloid.

De kjemiske strukturene her er tegnet i henhold til de konvensjonelle standarder kjent på området. Således, når et atom, så som et karbonatom, som tegnet synes å ha en utilfredsstillende valens, da er den valens antatt å være oppfylt med et hydrogenatom selv om det hydrogenatom ikke nødvendigvis er tegnet. Strukturene av noen av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse omfatter stereogene karbonatomer. Det skal forstås at isomerer som oppstår fra slik asymmetri (f.eks. alle enantiomerer og diastereomerer) omfattes av omfanget av foreliggende oppfinnelse hvis ikke angitt på annen måte. Dvs. hvis ikke på annen måte angitt kan hvilket som helst chiralt karbonsenter ha enten (*R*)- eller (*S*)-stereokjemi. Slike isomerer kan oppnås i hovedsakelig ren form ved klassiske separeringsteknikker og ved stereokjemisk kontrollert syntese. Videre kan alkener omfatte enten *E*- eller *Z*-geometri, hvor det passer. I tillegg kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse eksistere i usolvaterte så vel som solvaterte former med akseptable løsningsmidler så som vann, THF, etanol og lignende. Generelt er de solvaterte former betraktet ekvivalente med de usolvaterte former for formålene ifølge foreliggende oppfinnelse.

Om ikke på annen måte definert i kravene gjelder følgende definisjoner:

Et "lite molekyl" angir en forbindelse som ikke selv er produkt av gentranskripsjon eller translasjon (f.eks. protein, RNA eller DNA) og har fortrinnsvis lav molekylvekt, f.eks. mindre enn ca. 2500 amu.

- Generelt er betegnelsen "nukleofil" kjent på området å bety en kjemisk gruppe som har et reaktivt par av elektroner som reagerer med en forbindelse ved fortrenkning av en utgående gruppe (vanligvis en annen nukleofil), som vanlig forekommer i alifatisk kjemi som unimolekylære (kjent som " S_N1 ") eller
- 5 bimolekylære (" S_N2 ") reaksjoner. Eksempler på nukleofiler omfatter uladete forbindelser så som aminer, merkaptaner og alkoholer og ladete grupper så som alkoksyder, tiolater, karbanioner og en rekke organiske og uorganiske anioner. Illustrative anioniske nukleofiler omfatter, bl.a. enkle anioner så som azid, cyanid, tiocyanat, acetat, formiat eller klorformiat og bisulfitt.
- 10 Organometalliske reagenser så som organokuprater, organosinkforbindelser, organolitiumforbindelser, Grignard reagenser, enolater og acetyliden, vil under passende reaksjonsbetingelser, være egnede nukleofiler.

- Tilsvarende betyr en "elektrofil" et atom, molekyl eller ion i stand til å akseptere et elektronpar, spesielt et par av elektroner fra en nukleofil, så som
- 15 typisk forekommer under en elektrofil substitusjonsreaksjon. I en elektrofil substitusjonsreaksjon binder en elektrofil til et substrat med utstøting av en annen elektrofil, f.eks. substitusjon av et proton med en annen elektrofil så som et nitroniumion på et aromatisk substrat (f.eks. benzen). Elektrofiler omfatter
- 20 cykliske forbindelser så som epoksyder, aziridiner, episulfider, cykliske sulfater, karbonater, laktoner og laktamer; og ikke-cykliske elektrofiler omfatter sulfater, sulfonater (f.eks. tosylater), klorider, bromider og jodider. Generelt kan en elektrofil være et mettet karbonatom (f.eks. en metylengruppe) bundet til en utgående gruppe; imidlertid kan en elektrofil også være en umettet gruppe, så som et aldehyd, keton, ester eller konjugert (α,β -umettet) analog derav, som ved
- 25 omsetning med en nukleofil danner et addukt.

- Betegnelsen "utgående gruppe" angir generelt en gruppe som lett blir fortrenkt og substituert med en nukleofil (f.eks. et amin, en tiol, en alkohol eller cyanid). Slike utgående grupper er velkjente og omfatter karboksylater, *N*-hydroksysuccinimid ("NHS"), *N*-hydroksybenzotriazol, halogen (fluor, klor,
- 30 brom eller jod), alkoksyder og tioalkoksyder. En rekke svovel-baserte utgående grupper er rutinemessig anvendt i syntesekjemi, omfattende alkan-sulfonyloksygrupper (f.eks. C_1 - C_4 alkan så som metansulfonyloksy, etansulfonyloksy, propansulfonyloksy og butansulfonyloksy) og halogenerte

analoger (f.eks. halogen(C₁-C₄ alkan)sulfonyloksygrupper, så som trifluormetansulfonyloksy (dvs. triflat), 2,2,2-trikloretansulfonyloksy, 3,3,3-tribrompropansulfonyloksy og 4,4,4-trifluorbutan-sulfonyloksy), så vel som arylsulfonyloksygrupper (f.eks. C₆-C₁₀ aryl eventuelt substituert med 1 til 3

- 5 C₁-C₄ alkylgrupper, så som benzensulfonyloksy, α -naftylsulfonyloksy, β -naftylsulfonyloksy, *p*-toluensulfonyloksy (dvs. tosylater), 4-*tert*-butylbensensulfonyloksy, mesitylsulfonyloksy og 6-etyl- α -naftylsulfonyloksy).

- “Aktiverte estere” kan representeres ved formelen -COL, hvor L er en
- 10 utgående gruppe, typiske eksempler på slike omfatter *N*-hydroksysulfosuccinimidyl- og *N*-hydroksysuccinimidylgrupper; aryloksygrupper substituert med elektron-tiltrekkende grupper (f.eks. *p*-nitro, pentafluor, pentaklor, *p*-cyano eller *p*-trifluormetyl); og karboksylsyrer aktivert av et karbodiimid for å danne et anhydrid eller blandet anhydrid, f.eks. -OCOR^a
- 15 eller -OCNR^aNHR^b, hvor R^a og R^b uavhengig er C₁-C₆ alkyl-, C₅-C₈ alkyl- (f.eks. cykloheksyl), C₁-C₆ perfluoralkyl- eller C₁-C₆ alkoksy-grupper. En aktivert ester kan dannes *in situ* eller kan være et isolert reagens. Sulfosuccinimidylestere, pentafluortiofenolestere og sulfotetrafluorfenol er foretrukne aktiverte estere. Imidlertid kan den utgående estergruppe for eksempel være substituert eller
- 20 usubstituert C₁-C₆ alkyl (så som metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, *sek*-butyl, *tert*-butyl, pentyl eller heksyl) eller substituert eller usubstituert C₆-C₁₄ aryl eller heterocykliske grupper, så som 2-fluoretyl, 2-kloretyl, 2-brometyl, 2,2-dibrometyl, 2,2,2-trikloretyl, 3-fluorpropyl, 4-klorbutyl, metoksymetyl, 1,1-dimetyl-1-metoksymetyl, etoksymetyl, *N*-propoksymetyl,
- 25 isopropoksymetyl, *N*-butoksymetyl, *tert*-butoksymetyl, 1-etoksyetyl, 1-metyl-1-metoksyetyl, 1-(isopropoksy)etyl, 3-metoksypropyl-4-metoksybutyl, fluormetoksymetyl, 2,2,2-trikloretoksymetyl, bis(2-kloretoksy)metyl, 3-fluorpropoksymetyl, 4-klorbutoksyetyl, dibrommetoksyetyl, 2-kloretoksypropyl, fluormetoksybutyl, 2-metoksyetoksymetyl, etoksymetoksyetyl,
- 30 metoksyetoksypropyl, metoksyetoksybutyl, benzyl, fenetyl, 3-fenylpropyl, 4-fenylbutyl, α -naftylmetyl, β -naftylmetyl, difenylmetyl, trifenylmetyl, α -naftyldipheylmetyl, 9-antrylmetyl, 4-metylbenzyl, 2,4,6-trimetylbenzyl, 3,4,5-trimetylbenzyl, 4-metoksybenzyl, 4-metoksyfenyldifenylmetyl,

2-nitrobenzyl, 4-nitrobenzyl, 4-klorbenzyl, 4-brombenzyl, 4-cyanobenzyl, 4-cyanobenzylidifenylmetyl eller bis(2-nitrofenyl)metylgrupper.

Betegnelsen "elektron-tiltrekkende gruppe" er kjent på området og beskriver evnen til en substituent til å tiltrekke valenselektroner (f.eks. pi-elektroner) fra naboatomer, f.eks. substituenten er mer elektronegativ enn naboatomer eller den tiltrekker elektroner til seg mer enn et hydrogenatom ville i samme stilling. Hammett sigma-verdi (σ) er et akseptert mål for en gruppes elektron-donerende og -tiltrekkende evne, spesielt sigma paraverdi (σ_p). Se f.eks. "Advanced Organic Chemistry" av J. March, 5. Ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, s. 368-75 (2001). Hammett konstantverdier er generelt negative for elektron-donerende grupper ($\sigma_p = -0,66$ for NH_2) og positive for elektron-tiltrekkende grupper ($\sigma_p = 0,78$ for en nitrogruppe), σ_p som indikerer para-substitusjon. Eksempler på elektron-tiltrekkende grupper omfatter nitro, acyl (keton), formyl (aldehyd), sulfonyl, trifluormetyl, halogen (f.eks. klor og fluor) og cyanogrunder, blant andre. Omvendt angir en "elektron-donerende gruppe" en substituent som bidrar med elektroner mer enn hydrogen ville, hvis det okkuperte samme stilling i molekylet. Eksempler omfatter bl.a. amino- (omfattende alkylamino og dialkylamino), aryl-, alkoksy- (omfattende aralkoksy), aryloksy-, merkpto- og alkyltio- og hydroksyl-grupper.

Som anvendt her omfatter "alkyl"-grupper mettede hydrokarboner som har ett eller flere karbonatomer, omfattende rettkjedede alkylgrupper (f.eks. metyl, etyl, propyl, butyl, pentyl, heksyl, heptyl, oktyl, nonyl, decyl, etc.), cykliske alkylgrupper (eller "cykloalkyl" eller "alicykliske" eller "karbocykliske" grupper) (f.eks. syklopropyl, syklopentyl, sykloheksyl, sykloheptyl, syklooktyl, etc.), forgrenede alkylgrupper (isopropyl, *tert*-butyl, *sek*-butyl, isobutyl, etc.) og alkyl-substituerte alkylgrupper (f.eks. alkyl-substituerte sykloalkylgrupper og sykloalkyl-substituerte alkylgrupper). Betegnelsen "alifatisk gruppe" omfatter organiske grupper karakterisert ved lineære eller forgrenede kjeder, som typisk har mellom 1 og 22 karbonatomer. I komplekse strukturer kan kjedene være forgrenet, brodannet eller kryssbundet. Alifatiske grupper omfatter alkylgrupper, alkenylgrupper og alkynylgrupper.

I visse utførelsesformer kan en rettkjedet eller forgrenet alkylgruppe ha 30 eller færre karbonatomer i dens ryggrad, f.eks. $\text{C}_1\text{-C}_{30}$ for rettkjedede eller

C₃-C₃₀ for forgrenede. I visse utførelsesformer kan en rettkjedet eller forgrenet alkylgruppe ha 20 eller færre karbonatomer i dens ryggrad, f.eks. C₁-C₂₀ for rettkjedede eller C₃-C₂₀ for forgrenede og mer foretrukket 18 eller færre.

Likeledes har foretrukne cykloalkylgrupper fra 4-10 karbonatomer i deres
 5 ringstruktur og har mer foretrukket 4-7 karbonatomer i ringstrukturen.
 Betegnelsen "lavere alkyl" angir alkylgrupper som har fra 1 til 6 karbonatomer i kjeden og cykloalkylgrupper som har fra 3 til 6 karbonatomer i ringstrukturen.

Hvis ikke antallet karbonatomer er på annen måte spesifisert, betyr "lavere" som i "lavere alifatisk," "lavere alkyl," "lavere alkenyl," etc. som anvendt
 10 her, at gruppen har minst ett og mindre enn ca. 8 karbonatomer. I visse utførelsesformer har en rettkjedet eller forgrenet lavere alkylgruppe 6 eller færre karbonatomer i dens ryggrad (f.eks. C₁-C₆ for rettkjedede, C₃-C₆ for forgrenede) og mer foretrukket 4 eller færre. Likeledes har foretrukne cykloalkylgrupper fra 3-8 karbonatomer i deres ringstruktur og mer foretrukket 5 eller 6 karbonatomer i
 15 ringstrukturen. Betegnelsen "C₁-C₆" som i "C₁-C₆ alkyl" betyr alkylgrupper inneholdende 1 til 6 karbonatomer.

Videre, hvis ikke på annen måte spesifisert, omfatter betegnelsen alkyl både "usubstituerte alkylgrupper" og "substituerte alkylgrupper," idet sistnevnte angir alkylgrupper som har substituenten som erstatter ett eller flere
 20 hydrogenatomer på ett eller flere karbonatomer i hydrokarbonryggraden. Slike substituenten kan for eksempel omfatte alkenyl, alkynyl, halogen, hydroksyl, alkylkarbonyloksy, arylkarbonyloksy, alkoksykarbonyloksy, aryloksy, aryloksykarbonyloksy, karboksylat, alkylkarbonyl, arylkarbonyl, alkoksykarbonyl, aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl, dialkylaminokarbonyl, alkyltiokarbonyl,
 25 alkoksyl, fosfat, fosfonato, fosfinato, cyano, amino (omfattende alkylamino, dialkylamino, arylamino, diarylamino og alkylarylamino), acylamino (omfattende alkylkarbonylamino, arylkarbonylamino, karbamoyl og ureido), imino, sulfhydryl, alkyltio, aryltio, tiokarboksylat, sulfater, alkylsulfinyl, sulfonato, sulfamoyl, sulfonamido, nitro, trifluormetyl, cyano, azido, heterocyklyl, alkylaryl eller
 30 aromatiske (omfattende heteroaromatiske) grupper.

En "arylalkyl" gruppe er en alkylgruppe substituert med en arylgruppe (f.eks. fenylmetyl (dvs. benzyl)). En "alkylaryl" gruppe er en arylgruppe substituert med en alkylgruppe (f.eks. *p*-metylphenyl (dvs. *p*-tolyl)). Betegnelsen

“*n*-alkyl” betyr en rettkjedet (dvs. uforgrenet) usubstituert alkylgruppe. En “alkylen” gruppe er en divalent analog av den tilsvarende alkylgruppe.

Betegnelsene “alkenyl” og “alkynyl” refererer til umettede alifatiske grupper analoge med alkylgrupper, men som inneholder henholdsvis minst én dobbel

- 5 eller trippel karbon-karbon-binding. Egnede alkenyl- og alkynylgrupper omfatter grupper som har 2 til ca. 12 karbonatomer, fortrinnsvis fra 2 til ca. 6 karbonatomer.

Betegnelsen “aromatisk gruppe” eller “arylgruppe” omfatter umettede og aromatiske cykliske hydrokarboner så vel som umettede og aromatiske

- 10 heterocykliske grupper inneholdende én eller flere ringer. Arylgrupper kan også være kondensert eller brodannet med alicykliske eller heterocykliske ringer som ikke er aromatiske for å danne en polycyklisk gruppe (f.eks. tetralin). En “arylen” gruppe er en divalent analog av en arylgruppe. Arylgrupper kan også være kondensert eller brodannet med alicykliske eller heterocykliske ringer som ikke
- 15 er aromatiske for å danne en polycyklisk gruppe (f.eks. tetralin).

Betegnelsen “heterocyklisk gruppe” omfatter lukkede ringstrukturer analoge med karbocykliske grupper hvor ett eller flere av karbonatomene i ringen er et element forskjellig fra karbon, for eksempel nitrogen, svovel eller oksygen. Heterocykliske grupper kan være mettede eller umettede. I tillegg kan

20 heterocykliske grupper (så som pyrrolyl, pyridyl, isokinolyl, kinolyl, purinyl og furyl) ha aromatisk karakter, i hvilket tilfelle de kan refereres til som “heteroaryl” eller “heteroaromatiske” grupper.

Hvis ikke på annen måte angitt kan aryl- og heterocykliske (omfattende heteroaryl) grupper også være substituert på ett eller flere konstituent-atomer.

- 25 Eksempler på heteroaromatiske og heteroalicykliske grupper kan ha 1 til 3 separate eller kondenserte ringer med 3 til ca. 8 elementer pr. ring og ett eller flere N-, O- eller S-heteroatomer. Generelt omfatter betegnelsen “heteroatom” atomer av hvilket som helst element forskjellig fra karbon eller hydrogen, idet foretrukne eksempler på slike omfatter nitrogen, oksygen, svovel og fosfor.
- 30 Heterocykliske grupper kan være mettede eller umettede eller aromatiske.

Eksempler på heterocykliske grupper omfatter akridinyl; azocinyl; benzimidazolyl; benzofuranyl; benzotiofuranyl; benzotiofenyl; benzoksazolyl;

benztiazolyl; benztriazolyl; benztetrazolyl; benzisoksazolyl; benzisotiazolyl;
 benzimidazolinyll; karbazolyl; 4aH-karbazolyl; karbolinyll; kromanyll; kromenyl;
 cinnolinyll; dekahydrokinolinyll; 2H,6H-1,5,2-ditiazinyll;
 dihydrofuro[2,3-b]tetrahydrofuran; furanyll; furazanyll; imidazolidinyll; imidazolinyll;
 5 imidazolyl; 1H-indazolyl; indolnyll; indolinyll; indolizinyll; indolyl; 3H-indolyl;
 isobenzofuranyll; isokromanyll; isoindazolyl; isoindolinyll; isoindolyl; isokinolinyll;
 isotiazolyl; isoksazolyl; metylendioksyfenyl; morfolinyll; naftyridinyll;
 oktahydroisokinolinyll; oksadiazolyl; 1,2,3-oksadiazolyl; 1,2,4-oksadiazolyl;
 1,2,5-oksadiazolyl; 1,3,4-oksadiazolyl; oksazolidinyll; oksazolyl; oksazolidinyll;
 10 pyrimidinyll; fenantridinyll; fenantrolinyll; fenazinyll; fenotiazinyll; fenoksatiinyll;
 fenoksazinyll; ftalazinyll; piperazinyll; piperidinyll; piperidonyll; 4-piperidonyll;
 piperonyll; pteridinyll; purinyll; pyranyll; pyrazinyll; pyrazolidinyll; pyrazolinyll;
 pyrazolyl; pyridazinyll; pyridooksazol; pyridoimidazol; pyridotiazol; pyridinyll;
 pyridyl; pyrimidinyll; pyrrolidinyll; pyrrolinyll; 2H-pyrrolyll; pyrrolyll; kinazolinyll;
 15 kinolinyll; 4H-kinolizinyll; kinoksalinyll; kinuklidinyll; tetrahydrofuranyll;
 tetrahydroisokinolinyll; tetrahydrokinolinyll; tetrazolyl; 6H-1,2,5-tiadiazinyll;
 1,2,3-tiadiazolyl; 1,2,4-tiadiazolyl; 1,2,5-tiadiazolyl; 1,3,4-tiadiazolyl; tiantrenyl;
 tiazolyl; tienyl; tienotiazolyl; tienooksazolyl; tienoimidazolyl; tiofenyl; triazinyll;
 1,2,3-triazolyl; 1,2,4-triazolyl; 1,2,5-triazolyl; 1,3,4-triazolyl; og xantenyl.
 20 Foretrukne heterocykliske grupper omfatter pyridinyll; furanyll; tienyl; pyrrolyll;
 pyrazolyl; pyrrolidinyll; imidazolyl; indolyl; benzimidazolyl; 1H-indazolyl;
 oksazolidinyll; benzotriazolyl; benzisoksazolyl; oksindolyl; benzoksazolinyll; og
 isatinoyll. Også omfattet er kondenserte ring- og spiro-forbindelser inneholdende
 for eksempel de heterocykliske grupper ovenfor.

25 En vanlig hydrokarbon-arylgruppe er en fenylgruppe som har én ring. To-
 ring hydrokarbon-arylgrupper omfatter naftyl, indenyl, benzocyklooktenyl,
 benzocykloheptenyl, pentalenyl og azulenyl, så vel som de delvis hydrogenerte
 analoger derav så som indanyl og tetrahydronaftyl. Eksempler på tre-ring
 hydrokarbon-arylgrupper omfatter aceptylenyl, fluorenyll, fenalenyl, fenantrenyl
 30 og antracenyllgrupper.

Arylgrupper omfatter også heteromonocykliske arylgrupper, dvs. enkel-
 ring heteroarylgrupper, så som tienyl, furyll, pyranyll, pyrrolyll, imidazolyl,
 pyrazolyl, pyridinyll, pyrazinyll, pyrimidinyll og pyridazinyll; og oksyderte analoger

derav så som pyridonyl, oksazolonyl, pyrazolonyl, isoksazolonyl og tiazolonyl. De tilsvarende hydrogenerte (dvs. ikke-aromatiske) heteromonocykliske grupper omfatter pyrrolidinyll, pyrrolinyll, imidazolidinyll, imidazolinyll, pyrazolidinyll, pyrazolinyll, piperidyl og piperidino, piperazinyll og morfolino og morfolinyll.

- 5 Arylgrupper omfatter også kondenserte to-ring heteroarylgrupper så som indolyll, isoindolyll, indolizinyll, indazolyl, kinolinyll, isokinolinyll, ftalazinyll, kinoksalinyll, kinazolinyll, cinnolinyll, kromenyl, isokromenyl, benzotienyl, benzimidazolyl, benzotiazolyl, purinyll, kinolizinyll, isokinolonyll, kinolonyll, naftyridinyll og pteridinyll, så vel som de delvis hydrogenerte analoger så som
- 10 kromanyll, isokromanyll, indolinyll, isoindolinyll og tetrahydroindolyll. Arylgrupper omfatter også kondenserte tre-ring grupper så som fenoksatiinyll, karbazolyl, fenantridinyll, acridinyll, perimidinyll, fenantrolinyll, fenazinyll, fenotiazinyll, fenoksazinyll og dibenzofuranyll.

- Noen typiske arylgrupper omfatter substituerte eller usubstituerte 5- og 6-
- 15 leddede enkel-ring grupper. I et annet aspekt kan hver Ar-gruppe velges fra gruppen bestående av substituert eller usubstituert fenyl, pyrrolyll, furyll, tienyl, tiazolyl, isotiazolyl, imidazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyrazolyl, oksazolyl, isooksazolyl, pyridinyll, pyrazinyll, pyridazinyll og pyrimidinyll. Ytterligere eksempler omfatter substituert eller usubstituert fenyl, 1-naftyl, 2-naftyl, bifenyl,
- 20 1-pyrrolyll, 2-pyrrolyll, 3-pyrrolyll, 3-pyrazolyl, 2-imidazolyl, 4-imidazolyl, pyrazinyll, 2-oksazolyl, 4-oksazolyl, 5-oksazolyl, 3-isooksazolyl, 4-isooksazolyl, 5-isooksazolyl, 2-tiazolyl, 4-tiazolyl, 5-tiazolyl, 2-furyll, 3-furyll, 2-tienyl, 3-tienyl, 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 2-pyrimidyl, 4-pyrimidyl, 5-benzotiazolyl, purinyll, 2-benzimidazolyl, 5-indolyll, 1-isokinolyl, 5-isokinolyl, 2-kinoksalinyll, 5-kinoksalinyll,
- 25 3-kinolyl og 6-kinolyl.

- Betegnelsen "amin" eller "amino," som anvendt her, angir en usubstituert eller substituert gruppe med formelen $-NR^aR^b$, hvor R^a og R^b hver uavhengig er hydrogen, alkyl, aryl eller heterocyklyll eller R^a og R^b , sammen med nitrogenatomet som de er bundet til, danner en cyklisk gruppe som har fra 3 til 8
- 30 atomer i ringen. Således omfatter betegnelsen amino, cykliske aminogrupper så som piperidinyll- eller pyrrolidinyllgrupper, hvis ikke annet er angitt. Således betyr betegnelsen "alkylamino" som anvendt her en alkylgruppe som har en aminogruppe tilknyttet dertil. Egnede alkylaminogrupper omfatter grupper som

har 1 til ca. 12 karbonatomer, fortrinnsvis fra 1 til ca. 6 karbonatomer.

Betegnelsen amino omfatter forbindelser eller grupper hvor et nitrogenatom er kovalent bundet til minst ett karbon- eller heteroatom. Betegnelsen

“dialkylamino” omfatter grupper hvor nitrogenatomet er bundet til minst to

- 5 alkylgrupper. Betegnelsen “arylamino” og “diarylamino” omfatter grupper hvor nitrogenet er bundet til henholdsvis minst én eller to arylgrupper. Betegnelsen “alkylarylamino” angir en aminogruppe som er bundet til minst én alkylgruppe og minst én arylgruppe. Betegnelsen “alkaminoalkyl” angir en alkyl-, alkenyl- eller alkynylgruppe substituert med en alkylaminogruppe. Betegnelsen “amid” eller
- 10 “aminokarbonyl” omfatter forbindelser eller grupper som inneholder et nitrogenatom som er bundet til karbonet i en karbonyl- eller tiokarbonylgruppe.

Betegnelsen “alkyltio” angir en alkylgruppe, som har en sulfhydrylgruppe tilknyttet dertil. Egnede alkyltiogrupper omfatter grupper som har 1 til ca. 12 karbonatomer, fortrinnsvis fra 1 til ca. 6 karbonatomer.

- 15 Betegnelsen “alkylkarboksyl” som anvendt her betyr en alkylgruppe som har en karboksylgruppe tilknyttet dertil.

Betegnelsen “alkoksy” som anvendt her betyr en alkylgruppe som har et oksygenatom tilknyttet dertil. Representative alkoksygrupper omfatter grupper som har 1 til ca. 12 karbonatomer, fortrinnsvis 1 til ca. 6 karbonatomer, f.eks.

- 20 metoksy, etoksy, propoksy, *tert*-butoksy og lignende. Eksempler på alkoksygrupper omfatter metoksy, etoksy, isopropyloksy, propoksy, butoksy og pentoksygrupper. Alkoksy-gruppene kan være substituert med grupper så som alkenyl, alkynyl, halogen, hydroksyl, alkylkarbonyloksy, arylkarbonyloksy, alkoksykarbonyloksy, aryloksykarbonyloksy, karboksylat, alkylkarbonyl,
- 25 arylkarbonyl, alkoksykarbonyl, aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl, dialkylaminokarbonyl, alkyltiokarbonyl, alkoksyl, fosfat, fosfonato, fosfinato, cyano, amino (omfattende alkylamino, dialkylamino, arylamino, diarylamino og alkylarylamino), acylamino (omfattende alkylkarbonylamino, arylkarbonylamino, karbamoyl og ureido), imino, sulfhydryl, alkyltio, aryltio, tiokarboksylat, sulfater,
- 30 alkylsulfinyl, sulfonato, sulfamoyl, sulfonamido, nitro, trifluormetyl, cyano, azido, heterocyklyl, alkylaryl eller en aromatisk eller heteroaromatisk gruppe.

Eksempler på halogen-substituerte alkoksygrupper omfatter fluormetoksy,

difluormetoksy, trifluormetoksy, klormetoksy, diklormetoksy, triklormetoksy, etc., så vel som perhalogenerte alkyloksi grupper.

- Betegnelsen "acylamino" omfatter grupper hvor en aminogruppe er bundet til en acylgruppe. For eksempel omfatter acylaminogruppen
- 5 alkylkarbonylamino, arylkarbonylamino, karbamoyl og ureidogrupper.

Betegnelsene "alkoksyalkyl", "alkylaminoalkyl" og "tioalkoksyalkyl" omfatter alkylgrupper, som beskrevet ovenfor, som videre omfatter oksygen, nitrogen- eller svovelatomer som erstatter ett eller flere karbonatomer i hydrokarbon-ryggraden.

- 10 Betegnelsen "karbonyl" eller "karboksy" omfatter forbindelser og grupper som inneholder et karbon forbundet med en dobbeltbinding til et oksygenatom. Eksempler på grupper som inneholder karbonyl omfatter aldehyder, ketoner, karboksylsyrer, amider, estere, anhydrider, etc.

- Betegnelsen "eter" eller "eterisk" omfatter forbindelser eller grupper som
- 15 inneholder et oksygen bundet til to karbonatomer. For eksempel omfatter en eter eller eterisk gruppe "alkoksyalkyl" som angir en alkyl-, alkenyl- eller alkynyl-gruppe substituert med en alkoksygruppe.

- En "sulfonat"-gruppe er en $\text{-SO}_3\text{H}$ eller $\text{-SO}_3^-\text{X}^+$ gruppe bundet til et karbonatom, hvor X^+ er et kationisk motion. Tilsvarende har en "sulfonsyre"-
- 20 forbindelse en $\text{-SO}_3\text{H}$ eller $\text{-SO}_3^-\text{X}^+$ gruppe bundet til et karbonatom, hvor X^+ er en kationisk gruppe. Et "sulfat" som anvendt her er en $\text{-OSO}_3\text{H}$ eller $\text{-OSO}_3^-\text{X}^+$ gruppe bundet til et karbonatom og en "svovelsyre"-forbindelse har en $\text{-SO}_3\text{H}$ eller $\text{-OSO}_3^-\text{X}^+$ gruppe bundet til et karbonatom, hvor X^+ er en kationisk gruppe. Ifølge oppfinnelsen kan en egnet kationisk gruppe være et hydrogenatom. I
- 25 visse tilfeller kan den kationiske gruppe faktisk være en annen gruppe i den terapeutiske forbindelse som er positivt ladet ved fysiologisk pH, for eksempel en aminogruppe.

- Et "motion" er nødvendig for å opprettholde elektronøytralitet. Eksempler på anioniske motioner omfatter halogenid, triflat, sulfat, nitrat, hydroksyd,
- 30 karbonat, bikarbonat, acetat, fosfat, oksalat, cyanid, alkylkarboksylat, *N*-hydroksysuccinimid, *N*-hydroksybenzotriazol, alkoksyd, tioalkoksyd, alkan-sulfonyloksy, halogenert alkan-sulfonyloksy, arylsulfonyloksy, bisulfat, oksalat,

valerat, oleat, palmitat, stearat, laurat, borat, benzoat, laktat, citrat, maleat, fumarat, succinat, tartrat, naftylat mesylat, glukohexonat eller laktobionat. Forbindelser inneholdende en kationisk gruppe kovalent bundet til en anionisk gruppe kan refereres til som et "indre salt."

- 5 Betegnelsen "nitro" betyr -NO_2 ; betegnelsen "halogen" angir -F , -Cl , -Br eller -I ; betegnelsen "tiol," "tio," eller "merkapt" betyr SH ; og betegnelsen "hydroksyl" eller "hydroksey" betyr -OH .

- Betegnelsen "acyl" angir en karbonylgruppe som er tilknyttet gjennom dens karbonatom til et hydrogen (dvs. formyl), en alifatisk gruppe (f.eks. acetyl),
 10 en aromatisk gruppe (f.eks. benzoyl) og lignende. Betegnelsen "substituert acyl" omfatter acylgrupper hvor ett eller flere av hydrogenatomene på ett eller flere karbonatomer er erstattet med for eksempel en alkylgruppe, alkynylgruppe, halogen, hydroksyl, alkylkarbonyloksy, arylkarbonyloksy, alkoksykarbonyloksy, aryloksykarbonyloksy, karboksylat, alkylkarbonyl, arylkarbonyl, alkoksykarbonyl,
 15 aminokarbonyl, alkylaminokarbonyl, dialkylaminokarbonyl, alkyltiokarbonyl, alkoksyl, fosfat, fosfonato, fosfinato, cyano, amino (omfattende alkylamino, dialkylamino, arylamino, diarylamino og alkylarylamino), acylamino (omfattende alkylkarbonylamino, arylkarbonylamino, karbamoyl og ureido), imino, sulfhydryl, alkyltio, aryltio, tiokarboksylat, sulfater, alkylsulfinyl, sulfonato, sulfamoyl,
 20 sulfonamido, nitro, trifluormetyl, cyano, azido, heterocyklyl, alkylaryl eller en aromatisk eller heteroaromatisk gruppe.

- Hvis ikke på annen måte spesifisert kan de kjemiske grupper i forbindelsene ifølge oppfinnelsen, omfattende gruppene beskrevet ovenfor, være "substituerte eller usubstituerte." I noen utførelsesformer betyr
 25 betegnelsen "substituert" at gruppen har substituent plassert på gruppen forskjellig fra hydrogen (dvs. i de fleste tilfeller erstatter hydrogen), som lar molekylet utføre dets tilsiktede funksjon. Eksempler på substituent omfatter grupper valgt fra lineær eller forgrenet alkyl (fortrinnsvis $\text{C}_1\text{-C}_5$), cykloalkyl (fortrinnsvis $\text{C}_3\text{-C}_8$), alkoksy (fortrinnsvis $\text{C}_1\text{-C}_6$), tioalkyl (fortrinnsvis $\text{C}_1\text{-C}_6$),
 30 alkenyl (fortrinnsvis $\text{C}_2\text{-C}_6$), alkynyl (fortrinnsvis $\text{C}_2\text{-C}_6$), heterocyklyl, karbocyklyl, aryl (f.eks. fenyl), aryloksy (f.eks. fenoksy), aralkyl (f.eks. benzyl), aryloksyalkyl (f.eks. fenylalkyl), arylacetamidoyl, alkylaryl, heteroaralkyl, alkylkarbonyl og arylkarbonyl eller annen slik acylgruppe, heteroarylkarbonyl- og

- heteroarylgrupper, så vel som $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{NR}'\text{R}''$ (f.eks. $-\text{NH}_2$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CN}$ (f.eks. $-\text{CN}$), $-\text{NO}_2$, halogen (f.eks. $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ eller $-\text{I}$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{C}(\text{halogen})_3$ (f.eks. $-\text{CF}_3$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CH}(\text{halogen})_2$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CH}_2(\text{halogen})$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CONR}'\text{R}''$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}(\text{CNH})\text{NR}'\text{R}''$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{S}(\text{O})_{1-2}\text{NR}'\text{R}''$,
 5 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CHO}$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{O}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{H}$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{S}(\text{O})_{0-3}\text{R}'$ (f.eks. $-\text{SO}_3\text{H}$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{O}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{H}$ (f.eks. $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ og $-\text{OCH}_3$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{S}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{H}$ (f.eks. $-\text{SH}$ og $-\text{SCH}_3$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{OH}$ (f.eks. $-\text{OH}$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{COR}'$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}(\text{substituert eller usubstituert fenyl})$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}(\text{C}_3\text{-C}_8 \text{ cykloalkyl})$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{CO}_2\text{R}'$ (f.eks. $-\text{CO}_2\text{H}$) og $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{OR}'$ grupper, hvor R' og R'' hver
 10 uavhengig er hydrogen, en $\text{C}_1\text{-C}_5$ alkyl-, $\text{C}_2\text{-C}_5$ alkenyl-, $\text{C}_2\text{-C}_5$ alkynyl- eller aryl-gruppe; eller sidekjeden av hvilken som helst naturlig forekommende aminosyre.

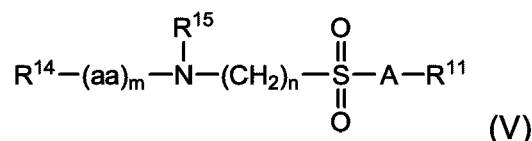
- I en annen utførelsesform kan en substituent velges fra lineær eller forgrenet alkyl (fortrinnsvis $\text{C}_1\text{-C}_5$), cykloalkyl (fortrinnsvis $\text{C}_3\text{-C}_8$), alkoksy (fortrinnsvis $\text{C}_1\text{-C}_6$), tioalkyl (fortrinnsvis $\text{C}_1\text{-C}_6$), alkenyl (fortrinnsvis $\text{C}_2\text{-C}_6$),
 15 alkynyl (fortrinnsvis $\text{C}_2\text{-C}_6$), heterocyklyl, karbocyklyl, aryl (f.eks. fenyl), aryloksy (f.eks. fenoksy), aralkyl (f.eks. benzyl), aryloksyalkyl (f.eks. fenyloksyalkyl), arylacetamidoyl, alkylaryl, heteroaralkyl, alkylkarbonyl og arylkarbonyl eller annen slik acylgruppe, heteroarylkarbonyl eller heteroaryl, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{NR}'\text{R}''$ (f.eks. $-\text{NH}_2$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{CN}$ (f.eks. $-\text{CN}$), NO_2 , halogen (f.eks. F , Cl , Br eller I),
 20 $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{C}(\text{halogen})_3$ (f.eks. $-\text{CF}_3$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{CH}(\text{halogen})_2$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{CH}_2(\text{halogen})$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{CONR}'\text{R}''$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}(\text{CNH})\text{NR}'\text{R}''$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{S}(\text{O})_{1-2}\text{NR}'\text{R}''$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{CHO}$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{O}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{H}$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{S}(\text{O})_{0-3}\text{R}'$ (f.eks. $-\text{SO}_3\text{H}$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{O}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{H}$ (f.eks. $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ og $-\text{OCH}_3$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{S}(\text{CR}'\text{R}'')_{0-3}\text{H}$ (f.eks. $-\text{SH}$ og $-\text{SCH}_3$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{OH}$ (f.eks.
 25 $-\text{OH}$), $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{COR}'$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}(\text{substituert eller usubstituert fenyl})$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}(\text{C}_3\text{-C}_8 \text{ cykloalkyl})$, $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{CO}_2\text{R}'$ (f.eks. $-\text{CO}_2\text{H}$) eller $(\text{CR}'\text{R}'')_{0-10}\text{OR}'$ eller sidekjeden av hvilken som helst naturlig forekommende aminosyre; hvor R' og R'' hver uavhengig er hydrogen, en $\text{C}_1\text{-C}_5$ alkyl-, $\text{C}_2\text{-C}_5$ alkenyl-, $\text{C}_2\text{-C}_5$ alkynyl- eller aryl-gruppe eller R' og R'' tatt sammen er en
 30 benzylidengruppe eller en $-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2$ -gruppe.

Det vil forstås at "substitusjon" eller "substituert med" omfatter det underforståtte forbehold at slik substitusjon er i henhold til den tillatte valens av det substituerte atom og substituenten og at substitusjonen resulterer i en stabil

forbindelse, f.eks. som ikke spontant gjennomgår omdannelse så som ved omleiring, cyclisering, eliminering, etc. Som anvendt her skal betegnelsen "substituert" omfatte alle tillatte substituenten for organiske forbindelser. I et bredt aspekt omfatter de tillatte substituenten acykliske og cycliske, forgrenede og uforgrenede, karbocykliske og heterocykliske, aromatiske og ikke-aromatiske substituenten av organiske forbindelser. De tillatte substituenten kan være én eller flere.

I noen utførelsesformer kan en "substituent" velges fra gruppen bestående av for eksempel halogen, trifluormetyl, nitro, cyano, C₁-C₆ alkyl, C₂-C₆ alkenyl, C₂-C₆ alkynyl, C₁-C₆ alkylkarbonyloksy, arylkarbonyloksy, C₁-C₆ alkoksykarbonyloksy, aryloksykarbonyloksy, C₁-C₆ alkylkarbonyl, C₁-C₆ alkoksykarbonyl, C₁-C₆ alkoksy, C₁-C₆ alkyltio, aryltio, heterocyklisk, aralkyl og aryl (omfattende heteroaryl).

Oppfinnelsen angår forbindelse med formel V:



hvor:

A er oksygen og R¹¹ er hydrogen;

n er 3;

aa er en L-fenylalanin- eller L-tyrosinrest;

m er 1 eller 2;

R¹⁴ er hydrogen eller en tert-butyloksykarbonyl beskyttelsesgruppe;

R¹⁵ er hydrogen;

eller farmasøytisk akseptable salter og forgrenede eller uforgrenede C₁-

alkylestere derav.

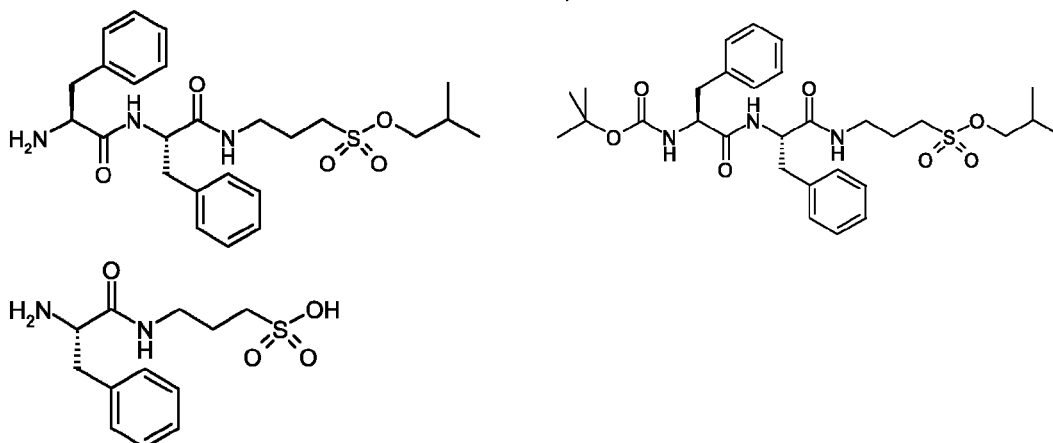
Foretrukket er forbindelsen over, hvor m er 1.

Også foretrukket er forbindelsen over, hvor m er 2.

Ytterligere foretrukket er forbindelsen over, hvor (aa)_m er en rest av L-fenylalanin eller L-fenylalanin-L-fenylalanin.

Ytterligere foretrukket er forbindelsen over, hvor R^{14} er hydrogen.

- Også fortrukket er forbindelsen over, hvor nevnte forbindelse er valgt fra
- 5 gruppen bestående av:



og farmasøytisk akseptable salter derav.

- Oppfinnelsen angår også farmasøytisk preparat omfattende forbindelsen
- 10 over og en farmasøytisk akseptabel bærer.

- Oppfinnelsen angår også farmasøytisk preparat over, for behandling eller forebygging av en sykdom eller lidelse valgt fra Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt
- 15 forfall, senil demens, vaskulær demens, cerebral amyloid angiopati, inklusjonslegeme myositt, aldersrelatert makuladegenerasjon eller Downs syndrom, hvor nevnte Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt forfall, senil demens, vaskulær demens, cerebral amyloid angiopati, inklusjonslegeme myositt,
- 20 aldersrelatert makuladegenerasjon eller Downs syndrom er forbundet med amyloid- β amyloidogene proteiner eller peptider.

- Oppfinnelsen angår også forbindelsen over for behandling eller forebygging av en sykdom eller lidelse valgt fra Alzheimers sykdom, mild
- 25 kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt

forfall, senil demens, vaskulær demens, cerebral amyloid angiopati, inklusjonslegeme myositt, aldersrelatert makuladegenerasjon eller Downs syndrom, hvor nevnte Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt forfall, senil demens, 5 vaskulær demens, cerebral amyloid angiopati, inklusjonslegeme myositt, aldersrelatert makuladegenerasjon eller Downs syndrom er forbundet med amyloid- β amyloidogente proteiner eller peptider.

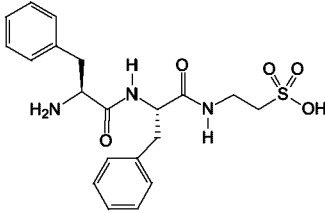
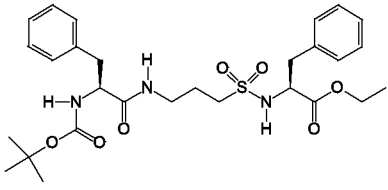
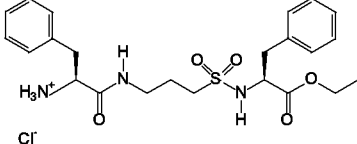
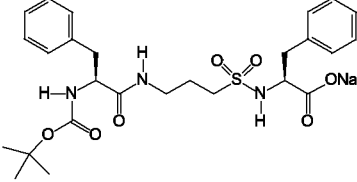
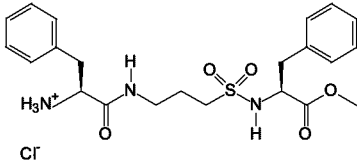
Foretrukket er forbindelsen over, hvor nevnte sykdom eller lidelse er valgt 10 fra Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt forfall og senil demens.

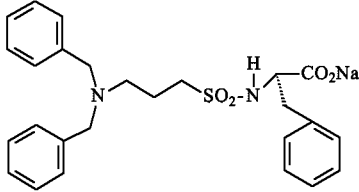
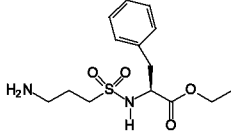
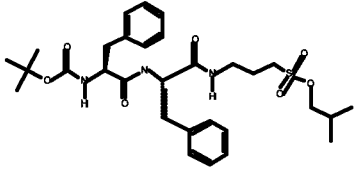
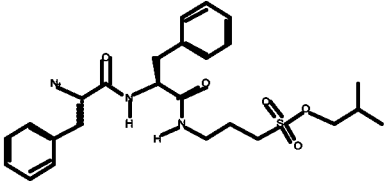
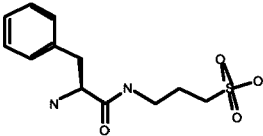
Oppfinnelsen angår spesielt forbindelsen over for behandling eller forebygging av Alzheimers sykdom. 15

Oppfinnelsen angår både saltformer og syre/baseformer av forbindelsene ifølge oppfinnelsen. For eksempel angår oppfinnelsen ikke bare 25 de spesielle saltformer av forbindelser vist her som salter, men oppfinnelsen omfatter også andre farmasøytisk akseptable salter og syre- og/eller baseform av forbindelsen. Oppfinnelsen angår også saltformer av forbindelser vist her.

Forbindelser ifølge oppfinnelsen er også vist i Tabell 2 nedenfor.

TABELL 2

ID	Struktur / Navn til forbindelse
X (ref)	L-Phe-L-Phe-Taurin 
Y (ref)	N-Boc-L-Phe-homoTau-L-Phe-Oet 
Z (ref)	L-Phe-homotau-L-Phe-OEt-hydroklorid 
AA (ref)	L-(N-Boc)-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-natriumsalt 
AB (ref)	L-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-metylester 

ID	Struktur / Navn til forbindelse
AU (ref)	N-(3-dibenzylamino-1-propansulfonyl)-L-fenylalanin-natriumsalt 
CL (ref)	N-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-fenylalanin-etylester 
IC	
ID	
KN	

(ref = referanseforbindelser)

5 Individer og pasientpopulasjoner

Betegnelsen "individ" omfatter levende organismer hvor amyloidose kan forekomme eller som er mottagelige for amyloide sykdommer, f.eks. Alzheimer's sykdom, Downs syndrom, CAA, dialyse-relatert (β_2 M) amyloidose, sekundær

(AA) amyloidose, primær (AL) amyloidose, arvelig amyloidose, diabetes, etc. Eksempler på individer omfatter mennesker, kyllinger, ender, peking-ender, gjess, aper, hjort, kuer, kaniner, sauer, geiter, hunder, katter, mus, rotter og transgene arter derav. Administrering av preparatene ifølge foreliggende

5 oppfinnelse til et individ som skal behandles kan utføres ved anvendelse av kjente prosedyrer, i doser og i tidsrom effektive til å modulere amyloid aggregering eller amyloid-fremkalt toksisitet hos individet som ytterligere beskrevet her. En effektiv mengde av den terapeutiske forbindelse nødvendig for å oppnå en terapeutisk effekt kan variere i henhold til faktorer så som

10 mengden av amyloid allerede deponert på det kliniske sted hos individet, alder, kjønn og vekt til individet og evnen til den terapeutiske forbindelse til å modulere amyloid aggregering hos individet. Doseregimer kan reguleres for å gi den optimale terapeutiske respons. For eksempel kan mange oppdelte doser administreres daglig eller dosen kan reduseres proporsjonalt som indikert av

15 kravene ved den terapeutiske situasjon.

I visse utførelsesformer har individet behov for behandling ved metodene over og er valgt for behandling basert på dette behov. Et individ med behov for behandling er kjent på området og omfatter individer som er identifisert å ha en sykdom eller lidelse relatert til amyloid-avsetning eller amyloidose, har et

20 symptom på en slik sykdom eller lidelse eller har risiko for en slik sykdom eller lidelse og ville være forventet, basert på diagnose, f.eks. medisinsk diagnose, å ha fordel av behandling (f.eks. kurering, heling, forhindring, mildning, lindring, endring, helbredning, bedring, forbedring eller påvirkning av sykdommen eller lidelsen, symptomet på sykdommen eller lidelsen eller risiko for sykdommen

25 eller lidelsen).

I et eksempel på et aspekt ifølge oppfinnelsen er individet et menneske. For eksempel kan individet være et menneske over 30 år, et menneske over 40 år, et menneske over 50 år, et menneske over 60 år, et menneske over 70 år, et menneske over 80 år, et menneske over 85 år, et menneske over 90 år eller et

30 menneske over 95 år. Individet kan være en kvinne, omfattende en postmenopausal kvinne, som kan være på hormon- (østrogen) erstatningsterapi. Individet kan også være en mann. I en annen utførelsesform er individet under 40 år.

Et individ kan være et menneske med risiko for Alzheimer's sykdom, f.eks. som er over 40 år eller som er predisponert for Alzheimer's sykdom. Alzheimer's sykdom predisponeringsfaktorer identifisert eller foreslått i vitenskapelig litteratur omfatter blant annet en genotype predisponering hos et

5 individ for Alzheimer's sykdom; miljøfaktorer som predisponerer et individ for Alzheimer's sykdom; tidligere historie av infeksjon med virale og bakterielle agenser som predisponerer et individ for Alzheimer's sykdom; og vaskulære faktorer som predisponerer et individ for Alzheimer's sykdom. Et individ kan også ha én eller flere risikofaktorer for kardiovaskulær sykdom (f.eks.

10 aterosklerose i koronararterier, angina pectoris og myokardialt infarkt) eller cerebrovaskulær sykdom (f.eks. aterosklerose i de intrakranielle eller ekstrakranielle arterier, slag, synkope og transient ischemisk anfall), så som hyperkolesterolemi, hypertensjon, diabetes, sigaretttrøking, familiær eller tidligere historie av koronararterie-sykdom, cerebrovaskulær sykdom og

15 kardiovaskulær sykdom. Hyperkolesterolemi er typisk definert som serum total kolesterol-konsentrasjon større enn ca. 5,2 mmol/L (ca. 200 mg/dL).

Mange genotyper er antatt å predisponere et individ for Alzheimer's sykdom. Disse omfatter genotyper så som presenilin-1, presenilin-2 og amyloid forløperprotein (APP) missense mutasjoner forbundet med familiær Alzheimer's

20 sykdom og α -2-makroglobulin og LRP-1 genotyper, som er antatt å øke risiko for å erverve sporadisk (sent begynnende) Alzheimer's sykdom. E.van Uden, *et al.*, *J. Neurosci.* 22(21), 9298-304 (2002); J.J.Goto, *et al.*, *J. Mol. Neurosci.* 19(1-2), 37-41 (2002). En annen genetisk risikofaktor for utvikling av Alzheimer's sykdom er varianter av ApoE, genet som koder for apolipoprotein E (spesielt apoE4

25 genotype), en bestanddel av lav-densitet lipoprotein-partikkel. WJ Strittmatter, *et al.*, *Annu. Rev. Neurosci.* 19, 53-77 (1996). De molekylære mekanismer ved hvilke de forskjellige ApoE-alleler endrer sannsynlighet for utvikling av Alzheimer's sykdom er ukjent, imidlertid er rollen til ApoE i kolesterol-metabolisme i overensstemmelse med den voksende bevismengde som

30 forbinder kolesterol-metabolisme med Alzheimer's sykdom. For eksempel er kronisk anvendelse av kolesterol-nedsettende medikamenter så som statiner nylig forbundet med en lavere forekomst av Alzheimer's sykdom og kolesterol-nedsettende medikamenter er vist å redusere patologi i APP transgene mus.

- Disse og andre undersøkelser indikerer at kolesterol kan påvirke APP-prosessering. ApoE4 er foreslått å endre A β -traffikering (inn og ut av hjernen) og favorisere bibehold av A β i hjernen. ApoE4 har også vært foreslått å favorisere APP-prosessering mot A β -dannelse. Miljøfaktorer er foreslått å
- 5 predisponere et individ for Alzheimer's sykdom, omfattende eksponering for aluminium, selv om de epidemiologiske bevis er tvetydige. I tillegg kan tidligere infeksjon av visse virale eller bakterielle midler predisponere et individ for Alzheimer's sykdom, omfattende herpes simplex virus og chlamydia pneumoniae. Endelig kan andre predisponerende faktorer for Alzheimer's
- 10 sykdom omfatte risikofaktorer for kardiovaskulær eller cerebrovaskulær sykdom, omfattende sigaretttrøking, hypertensjon og diabetes. "Med risiko for Alzheimer's sykdom" omfatter også hvilke som helst andre predisponerende faktorer ikke listet opp ovenfor eller hittil identifisert og omfatter en øket risiko for Alzheimer's sykdom forårsaket av hodeskade, medikamenter, diett eller livsstil.
- 15 Forbindelsene eller preparatene kan anvendes for én eller flere av de følgende: for å forhindre Alzheimer's sykdom, for å behandle Alzheimer's sykdom eller forbedre symptomer på Alzheimer's sykdom eller for å regulere produksjon eller nivåer av amyloid β (A β) peptider. I en utførelsesform bærer mennesket én eller flere mutasjoner i genene som koder for β -amyloid
- 20 forløperprotein, presenilin-1 eller presenilin-2. I en annen utførelsesform bærer mennesket Apolipoprotein ϵ 4 gen. I en annen utførelsesform har mennesket en familiehistorie av Alzheimer's sykdom eller en demens-sykdom. I en annen utførelsesform har mennesket trisomy 21 (Downs syndrom). I en annen utførelsesform har individet et normalt eller lavt totalt serum blod-kolesterol-nivå.
- 25 I en annen utførelsesform er det totale serum blod-kolesterol-nivå mindre enn ca. 200 mg/dL eller mindre enn ca. 180 og kan være i området fra ca. 150 til ca. 200 mg/dL. I en annen utførelsesform er det totale LDL kolesterolnivå mindre enn ca. 100 mg/dL eller mindre enn ca. 90 mg/dL og kan være i området fra ca. 30 til ca. 100 mg/dL. Metoder for måling av serum total blodkolesterol og total
- 30 LDL kolesterol er velkjent for fagfolk på området og omfatter for eksempel de beskrevet i WO 99/38498 på s.11, inntatt her ved referanse. Metoder for bestemmelse av nivåer av andre steroler i serum er beskrevet i H. Gylling, *et al.*,

“Serum Sterols During Stanol Ester Feeding in a Mildly Hypercholesterolemic Population”, *J. Lipid Res.* 40: 593-600 (1999).

I en annen utførelsesform har individet et forhøyet serum totalt blod-kolesterolnivå. I en annen utførelsesform er serum totalt kolesterolnivå minst ca. 200 mg/dL eller minst ca. 220 mg/dL og kan være i området fra ca. 200 til ca. 1000 mg/dL. I en annen utførelsesform har individet et forhøyet totalt LDL kolesterolnivå. I en annen utførelsesform er det totale LDL kolesterolnivå større enn ca. 100 mg/dL eller til og med større enn ca. 110 mg/dL og kan være i området fra ca. 100 til ca. 1000 mg/dL.

I en annen utførelsesform er mennesket minst ca. 40 år. I en annen utførelsesform er mennesket minst ca. 60 år. I en annen utførelsesform er mennesket minst ca. 70 år. I en annen utførelsesform er mennesket minst ca. 80 år. I en annen utførelsesform er mennesket minst ca. 85 år. I én utførelsesform er mennesket mellom ca. 60 og ca. 100 år.

I enda en ytterligere utførelsesform er individet vist å ha risiko ved en diagnostisk hjerneavbildning-teknikk, for eksempel én som måler hjerneaktivitet, plaque-avsetning eller hjerneatrofi.

I enda en ytterligere utførelsesform er individet vist å ha risiko ved en kognitiv test så som Klinisk Demens Vurdering (“CDR”), Alzheimer’s Sykdom bedømmelsesskala-kognisjon (“ADAS-Cog”) eller Mini-Mental Tilstand Undersøkelse (“MMSE”). Individet kan vise en score under gjennomsnittet ved en kognitiv test, sammenlignet med en historisk kontroll med lignende alder og utdannelsesbakgrunn. Individet kan også vise en reduksjon i score sammenlignet med tidligere score for individet ved samme eller lignende kognisjonstester.

For bestemmelse av CDR, blir et individ typisk bedømt og vurdert i hver av seks kognitive og adferdsmessige kategorier: hukommelse, orientering, bedømmelse og problemløsning, samfunnsforhold, hjem og hobbyer og personlig stell. Bedømmelsen kan omfatte historisk informasjon gitt av individet eller fortrinnsvis en medhjelper som kjenner individet godt. Individet blir bedømt og vurdert på hvert av disse områder og den totale vurdering, (0, 0,5, 1,0, 2,0 eller 3,0) bestemt. En vurdering på 0 er betraktet normal. En vurdering på 1,0

er antatt å svare til mild demens. Et individ med en CDR på 0,5 er karakterisert ved mild konsistent glemsomhet, delvis erindring av hendelser og "godartet" glemsomhet. I én utførelsesform blir individet bedømt med en vurdering ved CDR over 0, på over ca. 0,5, på over ca. 1,0, på over ca. 1,5, på over ca. 2,0, på
5 over ca. 2,5 eller ved ca. 3,0.

En annen test er Mini-Mental Tilstand Undersøkelse (MMSE), som beskrevet av Folstein "Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician." J. Psychiatr. Res. 12:189-198, 1975. MMSE evaluerer tilstedeværelse av global intellektuell forverring. Se også
10 Folstein "Differentiall diagnosis of dementia. The clinical process." Psychiatr Clin North Am. 20:45-57, 1997. MMSE er en metode for å bedømme begynnelse av demens og tilstedeværelse av global intellektuell svekkelse, som sett ved Alzheimer's sykdom og multi-infarkt demens. MMSE er vurdert fra 1 til 30. MMSE evaluerer ikke basisk kognitivt potensiale, som for eksempel såkalt
15 IQ-test. Istedet tester den intellektuelle evner. En person med "normal" intellektuell kapabilitet vil score "30" i MMSE objektiv test (imidlertid kan en person med en MMSE-score på 30 også score godt under "normalt" i en IQ test). Se, f.eks. Kaufer, J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. 10:55-63, 1998; Becke, Alzheimer Dis Assoc Disord. 12:54-57, 1998; Ellis, Arch. Neurol. 55:360-
20 365, 1998; Magni, Int. Psychogeriatr. 8:127-134, 1996; Monsch, Acta Neurol. Scand. 92:145-150, 1995. I én utførelsesform scorer individet under 30 minst én gang i MMSE. I en annen utførelsesform scorer individet under ca. 28, under ca. 26, under ca. 24, under ca. 22, under ca. 20, under ca. 18, under ca. 16, under ca. 14, under ca. 12, under ca. 10, under ca. 8, under ca. 6, under ca. 4,
25 under ca. 2 eller under ca. 1.

En annen metode for å bedømme kognisjon, spesielt Alzheimer's sykdom, er Alzheimer's Sykdom Bedømmelsesskala (ADAS-Cog) eller en variasjon betegnet Standardisert Alzheimer's Sykdom Bedømmelsesskala (SADAS). Den er vanlig anvendt som et effektivitetsmål i kliniske medikament-
30 forsøk ved Alzheimer's sykdom og relaterte lidelser karakterisert ved kognitivt forfall. SADAS og ADAS-Cog ble ikke utformet for å diagnostisere Alzheimer's sykdom; de er anvendelige for karakterisering av symptomer på demens og er en relativt sensitiv indikator for demens-progresjon (se f.eks. Doraiswamy,

Neurology 48:1511-1517, 1997; og Standish, J. Am. Geriatr. Soc. 44:712-716, 1996.) Årlig forverring hos ubehandlede Alzheimer's sykdom pasienter er omtrent 8 poeng pr. år (se f.eks. Raskind, M Prim. Care Companion J Clin Psychiatry 2000 Aug; 2(4):134-138).

5 ADAS-cog er utformet for å måle, ved anvendelse av spørreskjemaer, progresjonen og alvorlighetsgraden av kognitivt forfall som sett ved AD på en 70-poeng skala. ADAS-cog skala kvantifiserer antallet gale svar. Følgelig indikerer høy score på skalae et mer alvorlig tilfelle av kognitivt forfall. I én utførelsesform oppviser et individ en score større enn 0, større enn ca. 5, større
10 enn ca. 10, større enn ca. 15, større enn ca. 20, større enn ca. 25, større enn ca. 30, større enn ca. 35, større enn ca. 40, større enn ca. 45, større enn ca. 50, større enn ca. 55, større enn ca. 60, større enn ca. 65, større enn ca. 68 eller ca. 70.

I en annen utførelsesform oppviser individet ingen symptomer på
15 Alzheimer's Sykdom. I en annen utførelsesform er individet et menneske som er minst 40 år og ikke oppviser noen symptomer på Alzheimer's Sykdom. I en annen utførelsesform er individet et menneske som er minst 40 år og oppviser ett eller flere symptomer på Alzheimer's Sykdom.

I en annen utførelsesform har individet mild kognitiv svekkelse. I en
20 ytterligere utførelsesform, har individet et CDR-resultat på ca. 0,5. I en annen utførelsesform har individet tidlig Alzheimer's sykdom. I en annen utførelsesform har individet cerebral amyloid angiopati.

Ved anvendelse av metodene ifølge foreliggende oppfinnelse kan nivåene av amyloid β -peptider i et individs plasma eller cerebrospinalvæske
25 (CSF) reduseres fra nivåer før behandling fra ca. 10 til ca. 100 prosent eller til og med ca. 50 til ca. 100 prosent.

I en alternativ utførelsesform kan individet ha et forhøyet nivå av amyloid $A\beta_{40}$ og $A\beta_{42}$ peptid i blodet og CSF før behandling, i henhold til foreliggende metoder, på større enn ca. 10 pg/ml eller større enn ca. 20 pg/ml eller større enn
30 ca. 35 pg/ml eller til og med større enn ca. 40 pg/ml. I en annen utførelsesform kan forhøyet nivå av amyloid $A\beta_{42}$ peptid være i området fra ca. 30 pg/ml til ca. 200 pg/ml eller til og med ca. 500 pg/ml. Fagfolk på området vil forstå at

ettersom Alzheimer's sykdom utvikler seg, kan de målbare nivåer av amyloid β peptid i CSF reduseres fra forhøyede nivåer til stede før begynnelse av sykdommen. Denne effekten blir tilskrevet øket avsetning, dvs. oppfangning av $A\beta$ -peptid i hjernen istedenfor normal utskilling fra hjernen til CSF.

5 I en alternativ utførelsesform kan individet ha et forhøyet nivå av amyloid $A\beta_{40}$ peptid i blod og CSF før behandling, i henhold til foreliggende metoder, på større enn ca. 5 pg $A\beta_{42}$ /ml eller større enn ca. 50 pg $A\beta_{40}$ /ml eller større enn ca. 400 pg/ml. I en annen utførelsesform kan det forhøyede nivå av amyloid $A\beta_{40}$ peptid være i området fra ca. 200 pg/ml til ca. 800 pg/ml, til til og med ca. 1000
10 pg/ml.

I en annen utførelsesform kan individet ha et forhøyet nivå av amyloid $A\beta_{42}$ peptid i CSF før behandling, i henhold til foreliggende metoder, på større enn ca. 5 pg/ml eller større enn ca. 10 pg/ml eller større enn ca. 200 pg/ml eller større enn ca. 500 pg/ml. I en annen utførelsesform kan nivået av amyloid β
15 peptid være i området fra ca. 10 pg/ml til ca. 1000 pg/ml eller til og med ca. 100 pg/ml til ca. 1000 pg/ml.

I en annen utførelsesform kan individet ha et forhøyet nivå av amyloid $A\beta_{40}$ peptid i CSF før behandling i henhold til foreliggende metoder på større enn ca. 10 pg/ml eller større enn ca. 50 pg/ml eller til og med større enn ca. 100
20 pg/ml. I en annen utførelsesform kan nivået av amyloid β peptid være i området fra ca. 10 pg/ml til ca. 1000 pg/ml.

Mengden av amyloid β -peptid i hjerne, CSF, blod eller plasma til et individ kan evalueres ved enzym-bundet immunosorbent-forsøk ("ELISA") eller kvantitative immunoblotting-testmetoder eller ved kvantitativt SELDI-TOF som er
25 velkjent for fagfolk på området, så som beskrevet av Zhang, *et al.*, *J. Biol. Chem.* 274, 8966-72 (1999) og Zhang, *et al.*, *Biochemistry* 40, 5049-55 (2001). Se også, A.K.Vehmas, *et al.*, *DNA Cell Biol.* 20(11), 713-21 (2001), P.Lewczuk, *et al.*, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 17(12), 1291-96 (2003); B.M.Austen, *et al.*, *J. Peptide Sci.* 6, 459-69 (2000); og H.Davies, *et al.*, *BioTechniques* 27,
30 1258-62 (1999). Disse tester blir utført på prøver av hjerne eller blod som er preparert på en måte velkjent for fagfolk på området. Et annet eksempel på en

anvendelig metode for å måle nivåer av amyloid β -peptider er ved Europium-immunoassay (EIA). Se f.eks. WO 99/38498 på s.11.

Forbindelsene eller preparatene over kan anvendes som terapi for et individ som har Alzheimer's sykdom eller demens eller kan anvendes for forebygging mot Alzheimer's sykdom eller demens for et individ med en slik predisponering, som hos et individ med f.eks. en genomisk mutasjon i APP-gen, ApoE-gen eller et presenilin-gen. Individet kan ha (eller kan være predisponert for utvikling av eller kan være mistenkt for å ha) vaskulær demens eller senil demens, mild kognitiv svekkelse eller tidlig Alzheimer's sykdom. I tillegg til Alzheimer's sykdom kan individet ha en annen amyloid-relatert sykdom så som cerebral amyloid angiopati eller individet kan ha amyloid-avsetninger, spesielt amyloid- β amyloid-avsetninger i hjernen.

Behandling av amyloid-relaterte sykdommer

Forbindelsene og farmasøytiske preparater kan anvendes i behandling og forebygging av amyloid-relaterte sykdommer. De farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen kan administreres terapeutisk eller profylaktisk for å behandle sykdommer forbundet med amyloid (f.eks. AL amyloid protein (λ - eller κ -kjede relatert, f.eks. amyloid λ , amyloid κ , amyloid κ IV, amyloid λ VI, amyloid γ , amyloid γ 1), A β , IAPP, β ₂M, AA eller AH amyloid protein) fibrill-dannelse, aggregering eller avsetning.

De farmasøytiske preparater over kan virke til å forbedre forløpet av en amyloid-relatert sykdom ved anvendelse av hvilken som helst av de følgende mekanismer (denne listen menes å være illustrativ): sinking av hastigheten av amyloid fibrill-dannelse eller avsetning; minking av graden av amyloid avsetning; hemning, reduksjon eller forhindring av amyloid fibrilldannelse; hemning av nevrodegenerasjon eller cellulær toksisitet fremkalt av amyloid; hemning av amyloid-fremkalt inflammasjon; forbedring av utskilling av amyloid fra hjernen; forbedring av nedbrytning av A β i hjernen; eller favorisering av utskilling av amyloid protein før dets organisering i fibriller.

“Modulering” av amyloid avsetning omfatter både hemning, som definert ovenfor og forbedring av amyloid avsetning eller fibrill-dannelse. Betegnelsen

“modulering” er derfor ment å omfatte forebygging eller stansing av amyloid-dannelse eller akkumulering, hemning eller sinking av ytterligere amyloid-dannelse eller akkumulering hos et individ med pågående amyloidose, f.eks. som allerede har amyloid avsetning og reduksjon eller reversering av amyloid-

5 dannelse eller akkumulering hos et individ med pågående amyloidose; og forbedring av amyloid-avsetning, f.eks. økning av hastigheten eller mengden av amyloid avsetning *in vivo* eller *in vitro*. Amyloid-forbedrende forbindelser kan være anvendelige i dyremodeller av amyloidose for eksempel å muliggjøre utvikling av amyloid-avsetninger i dyr i en kortere tidsperiode eller for å øke

10 amyloid-avsetninger over en valgt tidsperiode. Amyloid-forbedrende forbindelser kan være anvendelige i screeningsforsøk for forbindelser som hemmer amyloidose *in vivo*, for eksempel i dyremodeller, cellulære forsøk og *in vitro* forsøk for amyloidose. Slike forbindelser kan anvendes, for eksempel for å gi raskere eller mer sensitive forsøk for forbindelser. Modulering av amyloid

15 avsetning blir bestemt i forhold til et ubehandlet individ eller i forhold til et behandlet individ før behandling.

“Hemning” av amyloid avsetning omfatter forhindring eller stansing av amyloid-dannelse, f.eks. fibrillogenese, utskilling av amyloid, f.eks. oppløselig A β fra hjerne, hemning eller sinking av ytterligere amyloid-avsetning hos et

20 individ med amyloidose, f.eks. som allerede har amyloid-avsetninger og reduksjon eller reversering av amyloid fibrillogenese eller avsetninger hos et individ med pågående amyloidose. Hemning av amyloid-avsetning blir bestemt i forhold til et ubehandlet individ eller i forhold til det behandlede individ før behandling, eller f.eks. bestemt ved klinisk målbar forbedring, f.eks. eller i tilfellet

25 av et individ med hjerne-amyloidose, f.eks. et individ med Alzheimer’s eller cerebral amyloid angiopati, stabilisering av kognitiv funksjon eller forebygging av en ytterligere reduksjon i kognitiv funksjon (dvs. forhindring, sinking eller stansing av sykdomsprogresjon) eller forbedring av parametere så som konsentrasjonen av A β eller tau i CSF.

30 Som anvendt her omfatter “behandling” av et individ anvendelse eller administrering av et preparat ifølge oppfinnelsen til et individ eller anvendelse eller administrering av et preparat ifølge oppfinnelsen til en celle eller vev fra et individ, som har en amyloid-relatert sykdom eller lidelse, har et symptom på en

slik sykdom eller lidelse eller har risiko for (eller er mottagelig for) en slik sykdom eller lidelse, med formålet å kurere, lege, mildne, lindre, endre, helbrede, bedre, forbedre eller påvirke sykdommen eller lidelsen, symptom på sykdommen eller lidelsen eller risiko for (eller mottagelighet for) sykdommen eller lidelsen.

- 5 Betegnelsen "behandling av" angir hvilke som helst indisier på suksess ved behandling eller forbedring av en skade, patologi eller tilstand, omfattende hvilken som helst objektiv eller subjektiv parameter så som demping; remisjon; minskning av symptomer eller som gjør skaden, patologien eller tilstanden mer tolererbar for individet; sinking av hastigheten av degenerasjon eller svekkelse;
- 10 som gjør det endelige punkt av degenerasjon mindre svekkende; forbedrer et individs fysiske eller mentale velvære; eller, i noen situasjoner, forhindrer begynnelse av demens. Behandling eller forbedring av symptomer kan være basert på objektive eller subjektive parametere; omfattende resultatene av en fysisk undersøkelse, en psykiatrisk evaluering eller en kognisjonstest så som
- 15 CDR, MMSE, ADAS-Cog eller en annen test kjent på området. For eksempel behandler metodene ifølge oppfinnelsen med hell et individs demens ved sinking av hastigheten eller minskning av graden av kognitivt forfall.

- I én utførelsesform omfatter betegnelsen "behandling" å opprettholde et individs CDR-vurdering ved baselinje-vurdering eller ved 0. I en annen
- 20 utførelsesform omfatter betegnelsen behandling reduksjon av et individs CDR-vurdering med ca. 0,25 eller mer, ca. 0,5 eller mer, ca. 1,0 eller mer, ca. 1,5 eller mer, ca. 2,0 eller mer, ca. 2,5 eller mer eller ca. 3,0 eller mer. I en annen utførelsesform omfatter betegnelsen "behandling" også reduksjon av hastigheten av økningen av et individs CDR-vurdering sammenlignet med
 - 25 historiske kontroller. I en annen utførelsesform omfatter betegnelsen reduksjon av graden av økning av et individs CDR-vurdering med ca. 5% eller mer, ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 50% eller mer, ca. 60% eller mer, ca. 70% eller mer, ca. 80% eller mer, ca. 90% eller mer eller ca. 100%, av økningen av historiske eller
 - 30 ubehandlede kontroller.

I en annen utførelsesform omfatter betegnelsen "behandling" også å opprettholde et individs score ved MMSE. Betegnelsen "behandling" omfatter økning av et individs MMSE-score med ca. 1, ca. 2, ca. 3, ca. 4, ca. 5, ca. 7,5,

- ca. 10, ca. 12,5, ca. 15, ca. 17,5, ca. 20 eller ca. 25 poeng. Betegnelsen omfatter også reduksjon av hastigheten av reduksjon av et individs MMSE-score sammenlignet med historiske kontroller. I en annen utførelsesform omfatter betegnelsen reduksjon av graden av reduksjon av et individs MMSE-score med
- 5 ca. 5% eller mindre, ca. 10% eller mindre, ca. 20% eller mindre, ca. 25% eller mindre, ca. 30% eller mindre, ca. 40% eller mindre, ca. 50% eller mindre, ca. 60% eller mindre, ca. 70% eller mindre, ca. 80% eller mindre, ca. 90% eller mindre eller ca. 100% eller mindre, av reduksjon av historiske eller ubehandlede kontroller.
- 10 I enda en annen utførelsesform omfatter betegnelsen "behandling" å opprettholde et individs score ved ADAS-Cog. Betegnelsen "behandling" omfatter reduksjon av et individs ADAS-Cog-score med ca. 1 poeng eller mer, med ca. 2 poeng eller mer, med ca. 3 poeng eller mer, med ca. 4 poeng eller mer, med ca. 5 poeng eller mer, med ca. 7,5 poeng eller mer, med ca. 10 poeng
- 15 eller mer, med ca. 12,5 poeng eller mer, med ca. 15 poeng eller mer, med ca. 17,5 poeng eller mer, med ca. 20 poeng eller mer eller med ca. 25 poeng eller mer. Betegnelsen omfatter også reduksjon av hastigheten av økningen av et individs ADAS-Cog-score sammenlignet med historiske kontroller. I en annen utførelsesform omfatter betegnelsen reduksjon av hastigheten av økning av et
- 20 individs ADAS-Cog score med ca. 5% eller mer, ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 50% eller mer, ca. 60% eller mer, ca. 70% eller mer, ca. 80% eller mer, ca. 90% eller mer eller ca. 100% av økningen av historiske eller ubehandlede kontroller.
- I en annen utførelsesform omfatter betegnelsen "behandling" f.eks. for AA
- 25 eller AL amyloidose, en økning i serum-kreatinin, f.eks. en økning av kreatinin-utskilling på 10% eller mer, 20% eller mer, 50% eller mer, 80% eller mer, 90% eller mer, 100% eller mer, 150% eller mer, 200% eller mer. Betegnelsen "behandling" kan også omfatte remisjon av nefrotisk syndrom (NS). Den kan også omfatte remisjon av kronisk diaré og/eller økning av kroppsvekt, f.eks. med
- 30 10% eller mer, 15% eller mer eller 20% eller mer.

Uten å ønske å være bundet av teorien, inneholder i noen aspekter de farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen en forbindelse som forhindrer eller hemmer amyloid fibrill-dannelse, enten i hjernen eller andre organer av

interesse (som virker lokalt) eller gjennom hele kroppen (som virker systemisk). Farmasøytiske preparater over kan være effektive for å kontrollere amyloid-avsetning enten etter deres inntrenging i hjernen (etter penetrering av blod-hjerne-barrieren) eller perifert. Når den virker perifert kan en forbindelse i

5 et farmasøytisk preparat endre likevekten av amyloidogent peptid mellom hjernen og plasmaet for å favorisere utskilling av amyloidogent peptid fra hjernen. Den kan også favorisere utskilling (eller katabolisme) av amyloid protein (oppløselig) og deretter forhindre amyloid fibrill-dannelse og -avsetning på grunn av en reduksjon av amyloid protein-samling i et spesifikt organ, f.eks.

10 lever, milt, bukspyttkjertel, nyre, ledd, hjerne, etc. En økning i utskilling av amyloidogent peptid fra hjernen ville resultere i en reduksjon av konsentrasjonen av amyloidogent peptid i hjernen og derfor favorisere en reduksjon i amyloidogent peptid-avsetning. Spesielt kan et middel nedsette nivåene av amyloid β peptider, f.eks. både $A\beta_{40}$ og $A\beta_{42}$ i CSF og plasma eller midlet kan

15 nedsette nivåene av amyloid β peptider, f.eks. $A\beta_{40}$ og $A\beta_{42}$ i CSF og øke det i plasmaet. Alternativt kan forbindelser som penetrerer hjernen kontrollere avsetning ved å virke direkte på hjerne amyloidogent peptid f.eks. ved å opprettholde det i en ikke-fibrillær form eller favorisere dets utskilling fra hjernen, ved å øke dets nedbrytning i hjernen eller beskytte hjerneceller fra den

20 skadelige effekt av amyloidogent peptid. Et middel kan også forårsake en reduksjon av konsentrasjonen av amyloid protein (dvs. i et spesifikt organ slik at den kritiske konsentrasjon som er nødvendig for å utløse amyloid fibrill-dannelse eller -avsetning ikke blir nådd). Videre kan forbindelsene beskrevet her hemme eller redusere en interaksjon mellom amyloid og en celleoverflate-bestanddel,

25 for eksempel en glykosaminoglykan- eller proteoglykan-bestanddel av en basalmembran, hvorved hemning eller reduksjon av denne interaksjonen gir de observerte nevrobeskyttende og cellebeskyttende effekter. For eksempel kan forbindelsen også forhindre et amyloid peptid fra å binde eller adhere til en celleoverflate, en prosess som er kjent å forårsake celledskade eller toksisitet.

30 Tilsvarende kan forbindelsen blokkere amyloid-fremkalt cellulær toksisitet eller mikroglial aktivering eller amyloidfremkalt neurotoksisitet eller hemme amyloid-fremkalt inflammasjon. Forbindelsen kan også redusere hastigheten eller mengden av amyloid aggregering, fibrill-dannelse eller -avsetning eller

forbindelsen kan minske graden av amyloidavsetning. Foregående virkningsmekanismer skal ikke betraktes som en begrensning av omfanget av oppfinnelsen ettersom oppfinnelsen kan utføres uten slik informasjon.

Betegnelsen "amyloid- β sykdom" (eller "amyloid- β relatert sykdom," hvilke
 5 betegnelser som anvendt her er synonyme) kan anvendes for mild kognitiv svekkelse; vaskulær demens; tidlig Alzheimer's sykdom; Alzheimer's sykdom, omfattende sporadisk (ikke-arvelig) Alzheimer's sykdom og familiær (arvelig) Alzheimer's sykdom; aldersrelatert kognitivt forfall; cerebral amyloid angiopati ("CAA"); arvelig hjerneblødning; senil demens; Downs syndrom;
 10 inklusjonslegeme myositt ("IBM"); eller aldersrelatert makuladegenerasjon ("ARMD"). I henhold til visse aspekter ifølge oppfinnelsen er amyloid- β et peptid som har 39-43 aminosyrer eller amyloid- β er et amyloidogent peptid produsert fra β APP.

Mild kognitiv svekkelse ("MCI") er en lidelse karakterisert ved en tilstand
 15 med mild men målbar svekkelse i tankevirksomhet, som ikke nødvendigvis er forbundet med tilstedeværelse av demens. MCI kommer ofte, men ikke nødvendigvis, foran Alzheimer's sykdom. Det er en diagnose som oftest har vært forbundet med milde hukommelsesproblemer, men den kan også være karakterisert ved mild svekkelse i annen tankevirksomhet, så som språk eller
 20 planleggingsevne. Imidlertid vil generelt et individ med MCI ha mer betydelig hukommelsessvikt enn det ville være forventet for én med samme alder eller utdannelsesbakgrunn. Ettersom lidelsen utvikles kan en lege forandre diagnosen til "mild-til-moderat kognitiv svekkelse," som er velkjent på dette området.

Cerebral amyloid angiopati ("CAA") angir den spesifikke avsetning av amyloide fibriller i veggene av leptomingeale og kortikale arterier, arterioler og i kapillarer og vener. Det er vanlig forbundet med Alzheimer's sykdom, Downs syndrom og normal aldring, så vel som med en rekke familiære lidelser relatert til slag eller demens (se Frangione, *et al.*, *Amyloid: J. Protein Folding Disord.* 8, Suppl. 1, 36-42 (2001)). CAA kan forekomme sporadisk eller være arvelig.
 30 Multiple mutasjonssteder i enten A β eller APP-gen er identifisert og er klinisk forbundet med enten demens eller hjerneblødning. Eksempler på CAA-lidelser

omfatter arvelig hjerneblødning med amyloidose av islandsk type (HCHWA-I); hollandsk variant av HCHWA (HCHWA-D; en mutasjon i A β); flamsk mutasjon av A β ; arktisk mutasjon av A β ; italiensk mutasjon av A β ; Iowa-mutasjon av A β ; familiær britisk demens; og familiær dansk demens. Cerebral amyloid angiopati er kjent å være forbundet med hjerneblødning (eller hemorragisk slag).

I tillegg er unormal akkumulering av APP og av amyloid- β protein i muskelfibere implisert i patologien ved sporadisk inklusjonslegeme myositt ("IBM") (Askanas, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 1314-19 (1996); Askanas, *et al.*, *Current Opinion in Rheumatology* 7, 486-96 (1995)). Følgelig kan forbindelsene over anvendes profylaktisk eller terapeutisk ved behandling av lidelser hvor amyloid- β protein er abnormt deponert ved ikke-nevrologiske lokasjoner, så som behandling av IBM ved levering av forbindelsene til muskelfibere.

I tillegg er det vist at A β er forbundet med unormale ekstracellulære avsetninger, kjent som drusen, som akkumulerer langs den basale overflate av retinalt pigmentert epitel hos individer med aldersrelatert makuladegenerasjon (ARMD). ARMD er årsak til irreversibelt synstap hos eldre individer. Det er antatt at A β -avsetning kan være en viktig komponent av lokale inflammatoriske hendelser som bidrar til atrofi av retinalt pigmentert epitel, drusen biogenese og patogenese av ARMD (Johnson, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(18), 11830-5 (2002)). Derfor angår oppfinnelsen også behandling eller forebygging av aldersrelatert makuladegenerasjon.

Forbindelsene over kan anvendes for forhindring eller hemning av amyloid avsetning hos et individ. For eksempel omfatter en slik avendelse administrering til et individ av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse som er i stand til å redusere konsentrasjonen av amyloid (f.eks. AL amyloid protein (λ - eller κ -kjede relatert, f.eks. amyloid λ , amyloid κ , amyloid κ IV, amyloid λ VI, amyloid γ , amyloid γ 1), A β , IAPP, β ₂M, AA, AH amyloid protein eller andre amyloider), slik at amyloid-akkumulering eller -avsetning blir forhindret eller hemmet.

Forbindelsene over kan anvendes for forhindring, reduksjon eller hemning av amyloid-avsetning hos et individ. For eksempel omfatter en slik

anvendelse administrering til et individ av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse som er i stand til å hemme amyloid (f.eks. AL amyloid protein (λ - eller κ -kjede-relatert, f.eks. amyloid λ , amyloid κ , amyloid κ IV, amyloid λ VI, amyloid γ , amyloid γ 1), A β , IAPP, β ₂M, AA, AH amyloid protein eller andre amyloider), slik at amyloid-avsetning blir forhindret, redusert eller hemmet.

Forbindelsene over kan anvendes for å modulere, f.eks. minimere, amyloid-assosiert skade på celler, omfattende trinnet å administrere en forbindelse som er i stand til å redusere konsentrasjonen av amyloid (f.eks. AL amyloid-protein (λ - eller κ -kjede-relatert, f.eks. amyloid λ , amyloid κ , amyloid κ IV, amyloid λ VI, amyloid γ , amyloid γ 1), A β , IAPP, β ₂M, AA, AH amyloid protein eller et annet amyloid), slik at nevnte amyloid-assosierte skade på celler blir modulert. I visse aspekter ifølge oppfinnelsen omfatter metodene for å modulere amyloid-assosiert skade på celler et trinn med administrering av en forbindelse som er i stand til å redusere konsentrasjonen av amyloid eller redusere interaksjonen av et amyloid med en celleoverflate.

Forbindelsene over kan anvendes for direkte eller indirekte å forhindre celledød hos et individ, idet metoden omfatter administrering til et individ av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse som er i stand til å forhindre amyloid- (f.eks. AL amyloid protein (λ - eller κ -kjede-relatert, f.eks. amyloid λ , amyloid κ , amyloid κ IV, amyloid λ VI, amyloid γ , amyloid γ 1), A β , IAPP, β ₂M, AA, AH amyloid protein eller annet amyloid) medierte hendelser som, direkte eller indirekte, fører til celledød.

I en utførelsesform anvendes forbindelsene for å behandle Alzheimer's sykdom (f.eks. sporadisk eller familiær AD). Forbindelsene kan også anvendes profylaktisk eller terapeutisk for å behandle andre kliniske forekomster av amyloid- β -avsetning, så som hos individer med Downs syndrom og hos pasienter med cerebral amyloid angiopati ("CAA") eller arvelig hjerneblødning.

Forbindelsene over kan anvendes profylaktisk eller terapeutisk ved behandling av lidelser hvor amyloid-beta peptid er abnormt deponert ved ikke-nevrologiske lokasjoner, så som behandling av IBM ved levering av forbindelsene til muskelfibere eller behandling av makuladegenerasjon ved

levering av forbindelsen(e) ifølge oppfinnelsen til basaloverflaten av retinalt pigmentert epitel.

Forbindelsene over kan anvendes for å modulere amyloid-assosiert skade på celler, omfattende trinnet å administrere en forbindelse som er i stand
5 til å redusere konsentrasjonen av A β eller som er i stand til å minimalisere interaksjonen av A β (oppløselig oligomer eller fibrillær) med celleoverflaten, slik at nevnte amyloid-assosierte skade på celler blir modulert. I visse aspekter ifølge oppfinnelsen omfatter metodene for å modulere amyloid-assosiert skade på celler et trinn med administrering av en forbindelse som er i stand til å
10 redusere konsentrasjonen av A β eller redusere interaksjonen av A β med en celleoverflate.

Forbindelsene over kan også anvendes for forhindring av celledød hos et individ, idet nevnte anvendelse omfatter administrering til et individ av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse som er i stand til å forhindre A β -
15 medierte hendelser som, direkte eller indirekte, fører til celledød.

Forbindelsene over kan også anvendes for å modulere amyloid-assosiert skade på celler, omfattende trinnet å administrere en forbindelse som er i stand til å redusere konsentrasjonen av IAPP eller som er i stand til å minimalisere interaksjonen av IAPP (oppløselig oligomer eller fibrillær) med celleoverflaten,
20 slik at nevnte amyloid-assosierte skade på celler blir modulert. I visse aspekter ifølge oppfinnelsen omfatter metodene for å modulere amyloid-assosiert skade på celler et trinn med administrering av en forbindelse som er i stand til å redusere konsentrasjonen av IAPP eller redusere interaksjonen av IAPP med en celleoverflate.

25 Forbindelsene over kan også anvendes for forhindring av celledød hos et individ, idet nevnte anvendelse omfatter administrering til et individ av en terapeutisk effektiv mengde av en forbindelse som er i stand til å forhindre IAPP-medierte hendelser som, direkte eller indirekte, fører til celledød.

Forbindelsene og preparatenene over kan også anvendes ved
30 behandling av amyloidose. Anvendelsene over involverer administrering til et individ av en terapeutisk forbindelse som hemmer amyloid-avsetning. Følgelig er preparatene ifølge oppfinnelsen anvendelige for å hemme amyloidose ved

lidelser hvor amyloid-avsetning forekommer. Preparatene ifølge oppfinnelsen kan anvendes terapeutisk for å behandle amyloidose eller kan anvendes profylaktisk for et individ mottagelig for (arvelig) amyloidose eller identifisert som å ha risiko for å utvikle amyloidose, f.eks. arvelig eller identifisert som å ha risiko for å utvikle amyloidose. Forbindelsene over kan anvendes for å hemme en interaksjon mellom et amyloidogent protein og en bestanddel av basalmembran for å hemme amyloid-avsetning. Bestanddelen av basalmembranen er et glykoprotein eller proteoglykan, fortrinnsvis heparansulfat-proteoglykan. En terapeutisk forbindelse anvendt ved denne metoden kan gripe inn i binding av en basalmembran-bestanddel til et mål-bindingssete på et amyloidogent protein, for derved å hemme amyloid-avsetning.

I noen aspekter involverer anvendelsene over administrering til et individ av en terapeutisk forbindelse som hemmer amyloid-avsetning. "Hemning av amyloid-avsetning," omfatter forhindring av amyloid-dannelse, hemning av ytterligere amyloid-avsetning hos et individ med pågående amyloidose og reduksjon av amyloid-avsetninger hos et individ med pågående amyloidose. Hemning av amyloid-avsetning blir bestemt i forhold til et ubehandlet individ eller i forhold til det behandlede individ før behandling. I en utførelsesform blir amyloid-avsetning hemmet ved å hemme en interaksjon mellom et amyloidogent protein og en bestanddel av basalmembranen. "Basalmembran" angir en ekstracellulær matriks omfattende glykoproteiner og proteoglykaner, omfattende laminin, kollagen type IV, fibronektin, perlecan, agrin, dermatansulfat og heparansulfat-proteoglykan (HSPG). I én utførelsesform blir amyloid-avsetning hemmet ved påvirkning av en interaksjon mellom et amyloidogent protein og et sulfatert glykosaminoglykan så som HSPG, dermatansulfat, perlecan eller agrinsulfat. Sulfaterte glykosaminoglykaner er kjent å være til stede i alle typer av amyloider (se Snow, *et al.* Lab. Invest. 56, 120-23 (1987)) og amyloid-avsetning og HSPG-avsetning forekommer tilsvarende i dyremodeller av amyloidose (se Snow, *et al.* Lab. Invest. 56, 665-75 (1987) og Gervais, F. *et al.* Curr. Med. Chem., 3, 361-370 (2003)). Konsensus-bindingssetemotiver for HSPG i amyloidogene proteiner er beskrevet (se f.eks. Cardin og Weintraub Arteriosclerosis 9, 21-32 (1989)).

Evnen til en forbindelse til å forhindre eller blokkere dannelse eller avsetning av amyloid kan ligge i dens evne til å binde til ikke-fibrillær, oppløselig amyloid protein og opprettholde dets oppløselighet.

- Evnen til en terapeutisk forbindelse ifølge oppfinnelsen til å hemme en interaksjon mellom et amyloidogent protein og en glykoprotein- eller proteoglykan-bestanddel av en basalmembran kan bedømmes ved et in vitro bindingsforsøk, så som det beskrevet i US 5,164,295, idet innholdet av dette herved inntas ved referanse. Alternativt kan evnen til en forbindelse til å binde til et amyloidogent protein eller til å hemme binding av en basalmembran-bestanddel (f.eks. HSPG) til et amyloidogent protein (f.eks. A β), måles ved anvendelse av et massespektrometriforsøk hvor oppløselig protein, f.eks. A β , IAPP, β_2 M blir inkubert med forbindelsen. En forbindelse som binder til, f.eks. A β , vil fremkalle en forandring i massespektrumet til proteinet. Eksempler på protokoller for massespektrometriforsøk ved anvendelse av A β og IAPP kan finnes i eksemplene, hvor resultatene er gitt i Tabell 3. Protokollen kan lett modifiseres for å regulere sensitiviteten av dataene, f.eks. ved å regulere mengden av protein og/eller forbindelse anvendt. Således kan f.eks. binding detekteres for testforbindelser registrert som ikke å ha detekterbar binding ved anvendelse av mindre sensitive testprotokoller.
- Alternative metoder for screening av forbindelser eksisterer og kan lett anvendes av en fagmann for å gi en indikasjon på evnen til testforbindelser til å binde til, f.eks. fibrillær A β . Ett slikt screeningsforsøk er et ultrafiolett absorpsjonsforsøk. I et eksempel på en protokoll blir en testforbindelse (20 μ M) inkubert med 50 μ M A β (1-40) fibre i 1 time ved 37°C i Tris-bufret saltløsning (20 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7,4 inneholdende 0,01 natriumazid). Etter inkubering blir løsningen sentrifugert i 20 minutter ved 21.000 g for å felle ut A β (1-40) fibre sammen med hvilken som helst bundet testforbindelse. Mengden av testforbindelse som er igjen i supernatanten kan deretter bestemmes ved å lese absorbansen. Fraksjonen av testforbindelse bundet kan deretter beregnes ved å sammenligne mengden som er igjen i supernatantene etter inkuberinger med A β med mengden som er igjen i kontroll-inkuberinger som ikke inneholder A β -fibre. Tioflavin T og Congo Rød, som begge er kjent

for å binde til A β -fibere, kan omfattes i hvert forsøk kjørt som positive kontroller. Før forsøk kan testforbindelser fortynnes til 40 μ M, som ville være to ganger konsentrasjonen i den endelige test og deretter scannes ved anvendelse av Hewlett Packard 8453 UV/VIS spektrofotometer for å bestemme om

5 absorbanse er tilstrekkelig for deteksjon.

Forbindelsene over kan anvendes for å forbedre kognisjon hos et individ som lider av en amyloid-relatert sykdom. Anvendelsen omfatter administrering av en effektiv mengde av en terapeutisk forbindelse ifølge oppfinnelsen, slik at individets kognisjon blir forbedret. Individets kognisjon kan testes ved

10 anvendelse av metoder kjent på området så som Klinisk Demens Vurdering ("CDR"), Mini-Mental Tilstand Undersøkelse ("MMSE") og Alzheimer's Sykdom Bedømmelsesskala-Kognisjon ("ADAS-Cog").

Forbindelsene over kan anvendes for behandling av et individ for en amyloid-relatert sykdom. Anvendelsen omfatter administrering av en kognitiv

15 test til et individ før administrering av en forbindelse ifølge oppfinnelsen, administrering av en effektiv mengde av en forbindelse ifølge oppfinnelsen til individet og administrering av en kognitiv test til individet etter administrering av forbindelsen, slik at individet blir behandlet for den amyloid-relaterte sykdom, hvor individets score ved nevnte kognitive test er forbedret.

20 "Forbedring," "forbedret" eller "forbedring av" kognisjon forekommer i sammenheng med foreliggende oppfinnelse hvis det er en statistisk signifikant forskjell i retning av normalitet mellom ytelsen til individer behandlet ved anvendelse av metodene ifølge oppfinnelsen sammenlignet med medlemmer av en placebo-gruppe, historisk kontroll eller mellom påfølgende tester gitt til

25 samme individ.

I én utførelsesform blir et individs CDR holdt ved 0. I en annen utførelsesform blir et individs CDR redusert (f.eks. forbedret) med ca. 0,25 eller mer, ca. 0,5 eller mer, ca. 1,0 eller mer, ca. 1,5 eller mer, ca. 2,0 eller mer, ca. 2,5 eller mer eller ca. 3,0 eller mer. I en annen utførelsesform blir hastigheten

30 av økning av et individs CDR-vurdering redusert med ca. 5% eller mer, ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 50% eller mer, ca. 60% eller mer, ca. 70% eller mer, ca. 80% eller mer,

ca. 90% eller mer eller ca. 100% eller mer av økningen av historiske eller ubehandlede kontroller.

I én utførelsesform blir et individs score ved MMSE opprettholdt.

Alternativt kan individets score ved MMSE økes med ca. 1, ca. 2, ca. 3, ca. 4, 5 ca. 5, ca. 7,5, ca. 10, ca. 12,5, ca. 15, ca. 17,5, ca. 20 eller ca. 25 poeng. I et annet alternativ blir hastigheten av reduksjon av et individs MMSE score sammenlignet med historiske kontroller redusert. For eksempel kan hastigheten av reduksjon av et individs MMSE score reduseres med ca. 5% eller mer, ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% 10 eller mer, ca. 50% eller mer, ca. 60% eller mer, ca. 70% eller mer, ca. 80% eller mer, ca. 90% eller mer eller ca. 100% eller mer av reduksjonen av historiske eller ubehandlede kontroller.

Forbindelsene over kan anvendes for behandling, sinking eller stansing av en amyloid-relatert sykdom forbundet med kognitiv svekkelse, ved 15 administrering til et individ av en effektiv mengde av en terapeutisk forbindelse ifølge oppfinnelsen, hvor den årlige forverring av individets kognisjon som målt ved ADAS-Cog er mindre enn 8 poeng pr. år, mindre enn 6 poeng pr. år, mindre enn 5 poeng pr. år, mindre enn 4 poeng pr. år eller mindre enn 3 poeng pr. år. I en ytterligere utførelsesform kan forbindelsene over anvendes for behandling 20 av, sinking eller stansing av en amyloid-relatert sykdom forbundet med kognisjon ved administrering av en effektiv mengde av en terapeutisk forbindelse ifølge oppfinnelsen slik at individets kognisjon som målt ved ADAS-Cog forblir konstant over et år. "Konstant" omfatter svingning på ikke mer enn 2 poeng. Å forbli konstant omfatter svingninger på to poeng eller mindre i hver 25 retning. I en ytterligere utførelsesform forbedres individets kognisjon med 2 poeng eller mer pr. år, 3 poeng eller mer pr. år, 4 poeng eller mer pr. år, 5 poeng eller mer pr. år, 6 poeng eller mer pr. år, 7 poeng eller mer pr. år, 8 poeng eller mer pr. år, etc. som målt ved ADAS-Cog. I et annet alternativ blir hastigheten av økningen av et individ's ADAS-Cog score sammenlignet med historiske 30 kontroller redusert. For eksempel kan hastigheten av økningen av et individs ADAS-Cog score reduseres med ca. 5% eller mer, ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 50% eller

mer, ca. 60% eller mer, ca. 70% eller mer, ca. 80% eller mer, ca. 90% eller mer eller ca. 100% av økningen av historiske eller ubehandlede kontroller.

I en annen utførelsesform blir forholdet av A β 42:A β 40 i CSF eller plasma til et individ redusert med ca. 15% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller
 5 mer, ca. 30% eller mer, ca. 35% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 45% eller mer eller ca. 50% eller mer. I en annen utførelsesform blir nivåene av A β i individets cerebrospinalvæske redusert med ca. 15% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 35% eller mer, ca. 45% eller mer, ca. 55% eller mer, ca. 75% eller mer eller ca. 90% eller mer.

10 Det skal forstås at når verdier og områder er gitt her, f.eks. i alderen til populasjoner, doser og blodnivåer, er alle verdier og områder omfattet av disse verdier og områder, ment å omfattes innenfor omfanget av foreliggende oppfinnelse. Videre kan alle verdier av disse verdier og områder også være de øvre eller nedre grenser av et område.

15 Videre angår oppfinnelsen hvilken som helst ny kjemisk forbindelse beskrevet her. Dvs. oppfinnelsen angår nye forbindelser og nye metoder anvendelige av dem som beskrevet her, som er innenfor omfanget av formlene beskrevet her og som ikke er beskrevet i de siterte patenter og patentsøknader.

20 Syntese av forbindelser ifølge oppfinnelsen

Generelt kan forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse fremstilles ved metodene illustrert i de generelle reaksjonsskjemaer som for eksempel beskrevet nedenfor eller ved modifikasjoner derav, ved anvendelse av lett tilgjengelige utgangsmaterialer, reagenser og konvensjonelle syntese-
 25 prosedyrer. I disse reaksjoner er det også mulig å anvende varianter som i seg selv er kjente, men ikke nevnt her. Funksjonelle og strukturelle ekvivalenter av forbindelsene beskrevet her og som har samme generelle egenskaper, hvor én eller flere enkle variasjoner av substituenten er gjort som ikke negativt påvirker den essensielle natur eller nytte av forbindelsen er også omfattet.

30 Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan lett fremstilles i henhold til synteseskjemaene og protokoller beskrevet her, som illustrert i de spesifikke prosedyrer. Imidlertid vil fagfolk på området forstå at andre

syntesebaner for å danne forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan anvendes og at de følgende er gitt bare som eksempler. Se f.eks.

“Comprehensive Organic Transformations” av R. Larock, VCH Publishers (1989). Det vil videre være kjent at forskjellige beskyttelse- og avbeskyttelse-

- 5 strategier kan anvendes som er standard på området (se f.eks. “Protective Groups in Organic Synthesis” av Greene og Wuts). Fagfolk på området vil forstå at valg av hvilken som helst spesiell beskyttelsesgruppe (f.eks. amin- og karboksyl-beskyttelsesgrupper) vil avhenge av stabiliteten til den beskyttede gruppen når det gjelder de påfølgende reaksjonsbetingelser og vil kjenne de
- 10 passende valg.

- Som ytterligere illustrasjon av kunnskap til fagfolk på området er de følgende eksempler på den omfattende kjemiske litteratur: “Chemistry of the Amino Acids” av J.P. Greenstein og M. Winitz, John Wiley & Sons, Inc., New York (1961); “Comprehensive Organic Transformations” av R. Larock, VCH
- 15 Publishers (1989); T.D. Ocain, *et al.*, J. Med. Chem. 31, 2193-99 (1988); E.M. Gordon, *et al.*, J. Med. Chem. 31, 2199-10 (1988); “Practice of Peptide Synthesis” av M. Bodansky og A. Bodanszky, Springer-Verlag, New York (1984); “Protective Groups in Organic Synthesis” av T. Greene og P. Wuts (1991); “Asymmetric Synthesis: Construction of Chiral Molecules Using Amino
- 20 Acids” av G.M. Coppola og H.F. Schuster, John Wiley & Sons, Inc., New York (1987); “The Chemical Synthesis of Peptides” av J. Jones, Oxford University Press, New York (1991); og “Introduction of Peptide Chemistry” av P.D. Bailey, John Wiley & Sons, Inc., New York (1992).

- Syntese av forbindelser ifølge oppfinnelsen blir utført i et løsningsmiddel.
- 25 Egnede løsningsmidler er væsker ved omgivelsestemperatur og trykk eller forblir i flytende tilstand under temperatur- og trykk-betingelsene anvendt i reaksjonen. Anvendelige løsningsmidler er ikke spesielt begrenset forutsatt at de ikke griper inn i reaksjonen selv (dvs. de er fortrinnsvis inerte løsningsmidler) og de oppløser en viss mengde av reaktantene. Avhengig av omstendighetene kan
- 30 løsningsmidlene være destillert eller avgasset. Løsningsmidler kan for eksempel være alifatiske hydrokarboner (f.eks. heksaner, heptaner, ligroin, petroleter, cykloheksan eller metylcykloheksan) og halogenerte hydrokarboner (f.eks. metylenklorid, kloroform, karbontetraklorid, dikloretan, klorbenzen eller

diklorbenzen); aromatiske hydrokarboner (f.eks. benzen, toluen, tetrahydronaftalen, etylbenzen eller xylene); etere (f.eks. diglym, metyl-*tert*-butyleter, metyl-*tert*-amyleter, etyl-*tert*-butyleter, dietyleter, diisopropyleter, tetrahydrofuran eller metyltetrahydrofuraner, dioksan, dimetoksyetan eller
5 dietylenglykol-dimetyleter); nitriler (f.eks. acetonitril); ketoner (f.eks. aceton); estere (f.eks. metylacetat eller etylacetat); og blandinger derav.

Generelt blir etter fullføring av reaksjonen, produktet isolert fra reaksjonsblandingen i henhold til standard teknikker. For eksempel blir løsningsmidlet fjernet ved inndampning eller filtrering hvis produktet er fast stoff,
10 eventuelt under redusert trykk. Etter fullføring av reaksjonen kan vann tilsettes til residuet for å gjøre det vandige laget surt eller basisk og den utfelte forbindelse filtrert, selv om forsiktighet må utvises ved håndtering av vann-sensitive forbindelser. Tilsvarende kan vann settes til reaksjonsblandingen med et hydrofobt løsningsmiddel for å ekstrahere målforbindelsen. Det organiske
15 laget kan vaskes med vann, tørkes over vannfritt magnesiumsulfat eller natriumsulfat og løsningsmidlet avdampes for å oppnå målforbindelsen. Målforbindelsen således oppnådd kan renses, hvis nødvendig, f.eks. ved omkrystallisering, gjenutfelling, kromatografi eller ved omdannelse av det til et salt ved tilsetning av en syre eller base.

20 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan leveres i en løsning med et passende løsningsmiddel eller i en løsningsmiddel-fri form (f.eks. lyofilisert). I et annet aspekt ved oppfinnelsen kan forbindelsene og buffere nødvendige for å utføre metodene ifølge oppfinnelsen pakkes som et sett, eventuelt omfattende en beholder. Settet kan anvendes kommersielt for behandling eller forhindring
25 av amyloid-relatert sykdom i henhold til metodene beskrevet her og kan omfatte instruksjoner for anvendelse ved en metode ifølge oppfinnelsen. Ytterligere sett-komponenter kan omfatte syrer, baser, buffermidler, uorganiske salter, løsningsmidler, antioksydasjonsmidler, konserveringsmidler eller metall-chelatorer. De ytterligere sett-komponenter er til stede som rene preparater
30 eller som vandige eller organiske løsninger som omfatter én eller flere ytterligere sett-komponenter. Hvilken som helst eller alle sett-komponentene omfatter eventuelt ytterligere buffere.

Betegnelsen "beholder" omfatter hvilken som helst samlebeholder for å inneholde den terapeutiske forbindelse. For eksempel er i én utførelsesform beholderen en pakning som inneholder forbindelsen. I andre utførelsesformer er beholderen ikke en pakning som inneholder forbindelsen, dvs. beholderen er en samlebeholder, så som en boks eller medisinglass som inneholder den pakke-
5 forbindelse eller upakkede forbindelse og instruksjoner for anvendelse av forbindelsen. Videre er pakningsteknikker velkjent på området. Det skal forstås at instruksjoner for anvendelse av den terapeutiske forbindelse kan være inneholdt i pakningen inneholdende den terapeutiske forbindelse og som
10 sådanne utgjør instruksjonene en øket funksjonell relasjon til det pakke-
produkt.

Farmasøytiske preparater

I en annen utførelsesform angår foreliggende oppfinnelse farmasøytiske preparater omfattende midler i henhold til hvilken som helst av formlene her for
15 behandling av en amyloid-relatert sykdom, så vel som metoder for fremstilling av slike farmasøytiske preparater.

Generelt kan midlene ifølge foreliggende oppfinnelse fremstilles ved metodene illustrert i de generelle reaksjonsskjemaer som for eksempel i
20 patenter og patentsøknader referert til her eller ved modifikasjoner derav, ved anvendelse av lett tilgjengelige utgangsmaterialer, reagenser og konvensjonelle synteseprosedyrer. I disse reaksjoner er det også mulig å anvende varianter som i seg selv er kjent, men ikke nevnt her. Funksjonelle og strukturelle ekvivalenter av midlene beskrevet her og som har samme generelle
25 egenskaper, hvor én eller flere enkle variasjoner av substituenten er gjort som ikke negativt påvirker den essensielle natur eller nytte av midlet er også omfattet.

Midlene ifølge oppfinnelsen kan leveres i en løsning med et passende løsningsmiddel eller i en løsningsmiddel-fri form (f.eks. lyofilisert). I et annet
30 aspekt ved oppfinnelsen kan midler og buffere nødvendige for å utføre metodene ifølge oppfinnelsen pakkes som et sett. Settet kan anvendes kommersielt i henhold til metodene beskrevet her og kan omfatte instruksjoner

for anvendelse ved en metode ifølge oppfinnelsen. Ytterligere sett-komponenter kan omfatte syrer, baser, buffermidler, uorganiske salter, løsningsmidler, antioksydasjonsmidler, konserveringsmidler eller metallchelatorer. De ytterligere sett-komponenter er til stede som rene preparater eller som vandige eller

5 organiske løsninger som omfatter én eller flere ytterligere sett-komponenter. Hvilken som helst eller alle sett-komponentene omfatter eventuelt ytterligere buffere.

Det terapeutiske midlet kan også administreres parenteralt, intraperitonealt, intraspinalt eller intracerebralt. Dispersjoner kan fremstilles i

10 glycerol, flytende polyetylenglykoler og blandinger derav og i oljer. Under vanlige lagringsbetingelser og anvendelse kan disse preparatene inneholde et konserveringsmiddel for å forhindre vekst av mikroorganismer.

For å administrere det terapeutiske midlet ved annet enn parenteral administrering, kan det være nødvendig å belegge midlet eller samadministrere

15 midlet med et materiale for å forhindre dets inaktivering. For eksempel kan det terapeutiske midlet administreres til et individ i en passende bærer, for eksempel liposomer eller et fortynningsmiddel. Farmasøytisk akseptable fortynningsmidler omfatter saltløsning og vandige bufferløsninger. Liposomer omfatter vann-i-olje-i-vann CGF-emulsjoner så vel som konvensjonelle liposomer (Strejan *et al.*, *J. Neuroimmunol.* 7, 27 (1984)).

20

Farmasøytiske preparater egnet for injiserbar anvendelse omfatter sterile vandige løsninger (når vannoppløselige) eller dispersjoner og sterile pulvere for ektemporan fremstilling av sterile injiserbare løsninger eller dispersjoner. I alle tilfeller må preparatet være sterilt og må være flytende i den grad at lett

25 sprøytbarhet eksisterer. Det må være stabilt under betingelsene ved fremstilling og lagring og må konserveres mot den forurensende virkning av mikroorganismer så som bakterier og sopper.

Egnede farmasøytisk akseptable konstituenten omfatter hvilke som helst ikke-immunogene farmasøytiske adjuvantia egnet for orale, parenterale, nasale,

30 mukosale, transdermale, intravaskulære (IV), intraarterielle (IA), intramuskulære (IM) og subkutane (SC) administreringsmetoder, så som fosfatbuffer-saltløsning (PBS).

Konstituenten kan være et løsningsmiddel eller dispersjonsmedium inneholdende for eksempel vann, etanol, polyol (for eksempel glycerol, propylenglykol og flytende polyetylenglykol og lignende), egnede blandinger derav og vegetabiliske oljer. Riktig fluiditet kan holdes, for eksempel ved

5 anvendelse av et belegg så som lecitin, ved opprettholdelse av den nødvendige partikkelstørrelse i tilfellet av dispersjon og ved anvendelse av overflateaktive midler. Forebygging av virkningen av mikroorganismer kan oppnås med forskjellige antibakterielle og antifungale midler, for eksempel parabener, klorbutanol, fenol, askorbinsyre, thimerosal og lignende. I mange tilfeller blir

10 isotoniske midler, for eksempel sukkere, natriumklorid eller polyalkoholer så som mannitol og sorbitol, inkludert i preparatet. Forlenget absorpsjon av de injiserbare preparater kan oppnås ved å inkludere i preparatet et middel som forsinker absorpsjon, for eksempel aluminium-monostearat eller gelatin.

Sterile injiserbare løsninger kan fremstilles ved å inkludere det

15 terapeutiske midlet i den nødvendige mengden i et passende løsningsmiddel med én eller en kombinasjon av bestanddelene listet opp ovenfor, som nødvendig, fulgt av filter-sterilisering. Generelt blir dispersjoner fremstilt ved å inkludere det terapeutiske midlet i en steril bærer som inneholder et basisk dispersjonsmedium og de nødvendige andre bestanddeler fra de listet opp

20 ovenfor. I tilfellet av sterile pulvere for fremstilling av sterile injiserbare løsninger, er fremstillingsmetodene vakuumtørking og frysetørking som gir et pulver av den aktive bestanddel (dvs. det terapeutiske midlet) pluss hvilken som helst ytterligere ønsket bestanddel fra en tidligere steril-filtrert løsning derav.

Det terapeutiske midlet kan administreres oralt, for eksempel med et inert

25 fortynningsmiddel eller en assimilerbar spiselig bærer. Det terapeutiske midlet og andre bestanddeler kan også være innelukket i en gelatinkapsel med hardt eller mykt skall, presset til tabletter eller innført direkte i individets diett. For oral terapeutisk administrering kan det terapeutiske midlet innføres med tilsetningsmidler og anvendes i form av svelgbare tabletter, buckale tabletter,

30 trocher, kapsler, eliksirer, suspensjoner, siruper, kjeks og lignende. Prosentdelen av det terapeutiske midlet i formuleringene og preparatene kan selvfølgelig varieres. Mengden av det terapeutiske midlet i slike terapeutisk anvendelige preparater er slik at en egnet dose vil oppnås.

Det er spesielt fordelaktig å formulere parenterale preparater i doseenhetsform for letthet av administrering og jevnhet av dose.

Doseenhetsform som anvendt her angir fysisk adskilte enheter egnet som enhetsdoser for individene som skal behandles; idet hver enhet inneholder en
5 forutbestemt mengde av terapeutisk middel beregnet for å produsere den ønskede terapeutiske effekt sammen med den nødvendige farmasøytiske konstituent. Spesifikasjonen for doseenhetsformer ifølge oppfinnelsen er diktert av og direkte avhengig av (a) de unike karakteristika av det terapeutiske midlet og den spesielle terapeutiske effekt som skal oppnås og (b) begrensningene
10 naturlige på området formulering av et slikt terapeutisk middel for behandling av amyloid avsetning hos individer.

Foreliggende oppfinnelse omfatter derfor farmasøytiske formuleringer omfattende midlene med Formlene beskrevet her, omfattende farmasøytisk akseptable salter derav, i farmasøytisk akseptable konstituenten for aerosol, oral
15 og parenteral administrering. Foreliggende oppfinnelse omfatter også slike midler eller salter derav, som er lyofilisert og som kan rekonstitueres for å danne farmasøytisk akseptable formuleringer for administrering, som ved intravenøs, intramuskulær eller subkutan injeksjon. Administrering kan også være intradermal eller transdermal.

20 I henhold til foreliggende oppfinnelse kan et middel med Formlene beskrevet her og farmasøytisk akseptable salter derav, administreres oralt eller gjennom inhalering som et fast stoff eller kan administreres intramuskulært eller intravenøst som en løsning, suspensjon eller emulsjon. Alternativt kan midlene eller saltene også administreres ved inhalering, intravenøst eller intramuskulært
25 som en liposomal suspensjon.

Farmasøytiske formuleringer er også tilveiebragt som er egnet for administrering som en aerosol, ved inhalering. Disse formuleringer omfatter en løsning eller suspensjon av det ønskede middel med hvilken som helst Formel her eller et salt derav eller en rekke faste partikler av midlet eller saltet. Den
30 ønskede formulering kan være plassert i et lite kammer og forstøves. Forstøvning kan oppnås ved sammenpresset luft eller ved ultralyd-energi for å danne en rekke flytende små dråper eller faste partikler omfattende midlene eller saltene. De flytende små dråper eller faste partikler bør ha en

partikkelstørrelse i området ca. 0,5 til ca. 5 mikron. De faste partikler kan oppnås ved prosessering av det faste midlet med hvilken som helst Formel beskrevet her eller et salt derav, på hvilken som helst passende måte kjent på området, så som ved mikronisering. Størrelsen av de faste partikler eller små dråper vil for eksempel være fra ca. 1 til ca. 2 mikron. I denne henseende er kommersielle forstøvere tilgjengelige for å oppnå dette formål.

En farmasøytisk formulering egnet for administrering som en aerosol kan være i form av en væske, formuleringen vil omfatte et vann-oppløselig middel med hvilken som helst Formel beskrevet her eller et salt derav, i en bærer som omfatter vann. Et overflateaktivt middel kan være til stede som senker overflatespenningen av formuleringen tilstrekkelig til å resultere i dannelse av små dråper i det ønskede størrelsesområde når underkastet forstøvning.

Perorale preparater omfatter også flytende løsninger, emulsjoner, suspensjoner og lignende. De farmasøytisk akseptable konstituenten er egnet for fremstilling av slike preparater er velkjent på området. Typiske komponenter av bærere for siruper, eliksirer, emulsjoner og suspensjoner omfatter etanol, glycerol, propylenglykol, polyetylglykol, flytende sukrose, sorbitol og vann. For en suspensjon omfatter typiske suspenderingsmidler metylcellulose, natriumkarboksymetylcellulose, tragant og natriumalginat; typiske fuktemidler omfatter lecitin og polysorbat 80; og typiske konserveringsmidler omfatter metylparaben og natriumbenzoat. Perorale flytende preparater kan også inneholde én eller flere komponenter så som søtningsmidler, smaksgivende midler og fargemidler beskrevet ovenfor.

Farmasøytiske preparater kan også belegges ved konvensjonelle metoder, typisk med pH- eller tidsavhengig belegg, slik at det individuelle midlet blir frigjort i mage-tarm-kanalen i nærheten av den ønskede topiske anvendelse eller til forskjellige tider for å forlenge den ønskede virkning. Slike doseformer omfatter typisk, men er ikke begrenset til, én eller flere av cellulose-acetatftalat, polyvinylacetatftalat, hydroksypropyl-metylcelluloseftalat, etylcellulose, vokser og skjellakk.

Andre preparater anvendelige for å oppnå systemisk levering av individuelle midler omfatter sublinguale, buccale og nasale doseformer. Slike

preparater omfatter typisk én eller flere av oppløselige fyllsubstanser så som sukrose, sorbitol og mannitol; og bindemidler så som akasie, mikrokrystallinsk cellulose, karboksymetylcellulose og hydroksypropyl-metylcellulose.

Flytfremmende midler, glattemidler, søtningsmidler, fargemidler,

- 5 antioksydasjonsmidler og smaksgivende midler beskrevet ovenfor kan også inkluderes.

- Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse kan også administreres topisk til et individ, f.eks. ved direkte plassering eller spredning av preparatet på epidermalt eller epitel-vev til individet eller transdermalt via et "plaster". Slike
- 10 preparater omfatter for eksempel losjoner, kremer, løsninger, geler og faste stoffer. Disse topiske preparater kan omfatte en effektiv mengde, vanligvis minst ca. 0,1% eller til og med fra ca. 1% til ca. 5%, av et middel ifølge oppfinnelsen. Egnede bærere for topisk administrering forblir typisk på plass på huden som en kontinuerlig film og motstår fjerning ved svette eller neddypping i vann. Generelt
- 15 er bæreren organisk av natur og kan ha dispergert eller oppløst deri det terapeutiske midlet. Bæreren kan omfatte farmasøytisk akseptable bløtgjørende midler, emulgeringsmidler, fortykningsmidler, løsningsmidler og lignende.

- I én utførelsesform blir aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å hemme amyloid avsetning hos et individ. En "terapeutisk
- 20 effektiv" dose hemmer amyloid-avsetning med for eksempel minst ca. 20% eller med minst ca. 40% eller til og med med minst ca. 60% eller med minst ca. 80% i forhold til ubehandlede individer. I tilfellet av et individ med Alzheimer, stabiliserer en "terapeutisk effektiv" dose kognitiv funksjon eller forhindrer en ytterligere reduksjon i kognitiv funksjon (dvs. forhindrer, sinker eller stanser
- 25 sykdomsprogresjon). Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer følgende terapeutiske medikamenter. Med "terapeutisk middel" eller "medikament" menes et middel som har en fordelaktig forbedrende eller profylaktisk effekt på en spesifikk sykdom eller lidelse hos et levende humant eller ikke-humant dyr.

- I tilfellet av AA eller AL amyloidose, kan midlet forbedre eller stabilisere
- 30 spesifikk organfunksjon. Som et eksempel kan nyrefunksjon stabiliseres eller forbedres med 10% eller mer, 20% eller mer, 30% eller mer, 40% eller mer, 50% eller mer, 60% eller mer, 70% eller mer, 80% eller mer, eller med mer enn 90%.

I tilfellet av IAPP kan midlet opprettholde eller øke β -øycelle-funksjon, som bestemt ved insulin-konsentrasjon eller Pro-IAPP/IAPP-forhold. I en ytterligere utførelsesform blir Pro-IAPP/IAPP-forhold øket med ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% eller mer eller med ca. 50%.

- 5 I en ytterligere utførelsesform blir forholdet øket opptil 50%. I tillegg kan en terapeutisk effektiv mengde av midlet være effektiv til å forbedre glykemi eller insulinnivåer.

- 10 I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å behandle AA (sekundær) amyloidose og/eller AL (primær) amyloidose, ved å stabilisere nyrefunksjon, redusere proteinuri, øke kreatinin-utskilling (f.eks. med minst 50% eller mer eller med minst 100% eller mer), remittere kronisk diaré eller å øke vekten (f.eks. 10% eller mer). I tillegg kan midlene administreres i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å forbedre nefrotisk syndrom.

- 15 Videre kan de aktive midler administreres i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å redusere avsetning av amyloid protein hos et individ, f.eks. A β 40 eller A β 42. En terapeutisk effektiv dose reduserer amyloid-avsetning med for eksempel minst ca. 15% eller med minst ca. 40% eller til og med med minst 60% eller med minst ca. 80% i forhold til ubehandlede individer.

- 20 I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å øke eller forbedre amyloid protein, f.eks. A β 40 eller A β 42, i blodet, CSF eller plasma til et individ. En terapeutisk effektiv dose øker konsentrasjonen med for eksempel minst ca. 15% eller med minst ca. 40% eller til og med med minst 60% eller med minst ca. 80% i forhold
25 til ubehandlede individer.

- I enda en annen utførelsesform blir aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å opprettholde et individs CDR-vurdering på dens baselinje-vurdering eller ved 0. I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å redusere et
30 individs CDR-vurdering med ca. 0,25 eller mer, ca. 0,5 eller mer, ca. 1,0 eller mer, ca. 1,5 eller mer, ca. 2,0 eller mer, ca. 2,5 eller mer eller ca. 3,0 eller mer. I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk

effektiv dose tilstrekkelig til å redusere hastigheten av økningen av et individs CDR-vurdering sammenlignet med historiske eller ubehandlede kontroller. I en annen utførelsesform er den terapeutisk effektive dose tilstrekkelig til å redusere hastigheten av økning av et individs CDR-vurdering (i forhold til ubehandlede individer) med ca. 5% eller mer, ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 50% eller mer, ca. 60% eller mer, ca. 70% eller mer, ca. 80% eller mer, ca. 90% eller mer eller ca. 100% eller mer.

I enda en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å opprettholde et individs score ved MMSE. I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å øke et individs MMSE score med ca. 1, ca. 2, ca. 3, ca. 4, ca. 5, ca. 7,5, ca. 10, ca. 12,5, ca. 15, ca. 17,5, ca. 20 eller ca. 25 poeng. I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å redusere hastigheten av reduksjon av et individ's MMSE score sammenlignet med historiske kontroller. I en annen utførelsesform kan den terapeutisk effektive dose tilstrekkelig til å redusere hastigheten av reduksjon av et individs MMSE score være ca. 5% eller mindre, ca. 10% eller mindre, ca. 20% eller mindre, ca. 25% eller mindre, ca. 30% eller mindre, ca. 40% eller mindre, ca. 50% eller mindre, ca. 60% eller mindre, ca. 70% eller mindre, ca. 80% eller mindre, ca. 90% eller mindre eller ca. 100% eller mindre, av reduksjonen av historiske eller ubehandlede kontroller.

I enda en annen utførelsesform blir aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å opprettholde et individs score ved ADAS-Cog. I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å redusere et individs ADAS-Cog score med ca. 2 poeng eller mer, med ca. 3 poeng eller mer, med ca. 4 poeng eller mer, med ca. 5 poeng eller mer, med ca. 7,5 poeng eller mer, med ca. 10 poeng eller mer, med ca. 12,5 poeng eller mer, med ca. 15 poeng eller mer, med ca. 17,5 poeng eller mer, med ca. 20 poeng eller mer eller med ca. 25 poeng eller mer. I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å redusere hastigheten av økningen av et individs ADAS-Cog score sammenlignet med historiske eller ubehandlede kontroller. I

en annen utførelsesform er den terapeutisk effektive dose tilstrekkelig til å redusere hastigheten av økning av et individs ADAS-Cog score (i forhold til ubehandlede individer) med ca. 5% eller mer, ca. 10% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 50% eller mer, ca. 60% eller mer, ca. 70% eller mer, ca. 80% eller mer, ca. 90% eller mer eller ca. 100% eller mer.

I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å redusere forholdet av A β 42:A β 40 i CSF eller plasma til et individ med ca. 15% eller mer, ca. 20% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 30% eller mer, ca. 35% eller mer, ca. 40% eller mer, ca. 45% eller mer eller ca. 50% eller mer.

I en annen utførelsesform blir de aktive midler administrert i en terapeutisk effektiv dose tilstrekkelig til å nedsette nivåer av A β i CSF eller plasma til et individ med ca. 15% eller mer, ca. 25% eller mer, ca. 35% eller mer, ca. 45% eller mer, ca. 55% eller mer, ca. 75% eller mer eller ca. 95% eller mer.

Toksisitet og terapeutisk effektivitet av slike midler kan bestemmes ved standard farmasøytiske prosedyrer i cellekulturer eller forsøksdyr, f.eks. for å bestemme LD50 (dosen dødelig for 50% av populasjonen) og ED50 (dosen terapeutisk effektiv for 50% av populasjonen). Doseforholdet mellom toksiske og terapeutiske effekter er den terapeutiske indeksen og kan uttrykkes som forholdet LD50/ED50 og vanligvis er en større terapeutisk indeks mer effektiv. Mens midler som viser toksiske bivirkninger kan anvendes, må omhu utvises for å utforme et leveringssystem som målretter slike midler til stedet med påvirket vev for å minimalisere potensiell skade på uberørte celler og derved redusere bivirkninger.

Det vil forstås at passende doser avhenger av flere faktorer innen kunnskapen til en vanlig dyktig lege, veterinær eller forsker. Dosen(e) av de små molekyler vil variere, for eksempel avhengig av identitet, størrelse og lidelsen til individet eller prøven som behandles, videre avhengig av ruten ved hvilken preparatet skal administreres, hvis aktuelt og effekten som fagmannen ønsker at de små molekyler skal ha på individet. Eksempler på doser omfatter milligram

eller mikrogram mengder av de små molekyler pr. kg. av individet eller prøvevekt (f.eks. ca. 1 mikrogram pr. kg. til ca. 500 milligram pr. kg., ca. 100 mikrogram pr. kg. til ca. 5 milligram pr. kg. eller ca. 1 mikrogram pr. kg. til ca. 50 mikrogram pr. kg.). Det vil videre forstås at passende doser avhenger av styrken. Slike passende doser kan bestemmes ved anvendelse av forsøkene beskrevet her. Når én eller flere av disse forbindelser skal administreres til et dyr (f.eks. et menneske), kan en lege, veterinær eller forsker for eksempel ordinere en relativt lav dose først, og deretter øke dosen inntil en passende respons blir oppnådd. I tillegg vil det forstås at det spesifikke dosenivå for hvilket som helst spesielt dyr vil avhenge av en rekke faktorer omfattende aktiviteten til det spesifikke middel anvendt, alderen, kroppsvekten, generell helse, kjønn og diett til individet, tid for administrering, administreringsveien, utskillingshastigheten og eventuell medikament-kombinasjon.

Evnen til et middel til å hemme amyloid avsetning kan evalueres i et dyremodellsystem som kan være forutsigende for effektivitet ved hemning av amyloid avsetning ved humane sykdommer, så som transgene mus som uttrykker human APP eller andre relevante dyremodeller hvor A β -avsetning er sett eller for eksempel i en dyremodell av AA amyloidose. Likeledes kan evnen til et middel til å forhindre eller redusere kognitiv svekkelse i et modellsystem være indikativ for effektivitet hos mennesker. Alternativt kan evnen til et middel evalueres ved undersøkelse av evnen til midlet til å hemme amyloid fibrilldannelse *in vitro*, f.eks. ved anvendelse av et fibrillogenese-forsøk så som det beskrevet her, omfattende ThT, CD eller EM forsøk. Binding av et middel til amyloide fibriller kan også måles ved anvendelse av et MS-forsøk som beskrevet her. Evnen til midlet til å beskytte celler fra amyloid-fremkalt toksisitet blir bestemt *in vitro* ved anvendelse av biokjemiske forsøk for å bestemme prosent celledød fremkalt av amyloid protein. Evnen til et middel til å modulere nyrefunksjon kan også evalueres i et passende dyremodellsystem.

Det terapeutiske midlet ifølge oppfinnelsen kan også administreres *ex vivo* for å hemme amyloid avsetning eller behandle visse amyloid-beslektede sykdommer, så som β_2 M amyloidose og andre amyloidoser relatert til dialyse. *Ex vivo* administrering av de terapeutiske midler ifølge oppfinnelsen kan oppnås ved å bringe kroppsvæske (f.eks. blod, plasma, etc.) i kontakt med en

terapeutisk forbindelse ifølge oppfinnelsen slik at den terapeutiske forbindelsen kan utføre dens tilsktede funksjon og administrere kroppsvæsken til individet. Den terapeutiske forbindelse ifølge oppfinnelsen kan utføre dens funksjon *ex vivo* (f.eks. dialysefilter), *in vivo* (f.eks. administrert med kroppsvæsken) eller

5 begge. For eksempel kan en terapeutisk forbindelse ifølge oppfinnelsen anvendes for å redusere plasma β_2 M-nivåer og/eller opprettholde β_2 M i dens oppløselige form *ex vivo*, *in vivo* eller begge.

Blod-hjerne-barriere

10 Uansett den spesielle mekanisme ved hvilken forbindelsen utøver dens biologiske effekter, forhindrer eller behandler forbindelsen amyloid-relaterte sykdommer, så som for eksempel Alzheimer's sykdom, CAA, diabetes-relatert amyloidose, AL amyloidose, Downs syndrom eller β_2 M amyloidose. Forbindelsen kan reversere eller favorisere avsetning av amyloid eller

15 forbindelsen kan favorisere plaque-utskilling eller sinke avsetning. For eksempel kan forbindelsen redusere amyloid-konsentrasjon i hjernen til et individ i forhold til et ubehandlet individ. Forbindelsen kan penetrere inn i hjernen ved å krysse blod-hjerne-barrieren ("BBB") for å utøve dens biologiske effekt. Forbindelsen kan opprettholde oppløselig amyloid i en ikke-fibrillær form eller alternativt, kan

20 forbindelsen øke hastigheten av utskilling av oppløselig amyloid fra hjernen til et individ i forhold til et ubehandlet individ. Forbindelsen kan også øke nedbrytningshastigheten av A β i hjernen før organisering til fibriller. En forbindelse kan også virke perifert, ved å forårsake en forandring i likevekten av amyloid protein-konsentrasjon i de to kammere (dvs. systemisk vs. sentral), i

25 hvilket tilfelle en forbindelse ikke trenger å penetrere hjernen for å redusere konsentrasjonen av A β i hjernen (en "avløp" effekt).

Midler ifølge oppfinnelsen som utøver deres fysiologiske effekt *in vivo* i hjernen kan være mer anvendelige hvis de får tilgang til målceller i hjernen. Ikke-begrensede eksempler på hjerneceller er neuroner, glialceller (astrocytter,

30 oligodendrocytter, mikroglia), cerebrovaskulære celler (muskelceller, endotelceller) og celler som omfatter meningen. Blod-hjerne-barrieren ("BBB") begrenser typisk tilgang til hjerneceller ved å virke som en fysisk og funksjonell

blokkade for å skille hjerne-parenkym fra systemisk sirkulasjon (se f.eks. Pardridge, *et al.*, *J. Neurovirol.* 5(6), 556-69 (1999); Rubin, *et al.*, *Rev. Neurosci.* 22, 11-28 (1999)). Sirkulerende molekyler er normalt i stand til å få tilgang til hjerneceller via én av to prosesser: lipid-mediert transport gjennom BBB ved fri
 5 diffusjon eller aktiv (eller katalysert) transport.

Midlene ifølge oppfinnelsen kan formuleres for å forbedre distribusjon *in vivo*, for eksempel som pulverisert eller flytende tablett eller løsning for oral administrering eller som en nesespray, nesedråper, en gel eller salve, gjennom et rør eller kateter, med sprøyte, med "packtail", med kompress eller ved
 10 submukosal infusjon. For eksempel ekskluderer blod-hjerne-barrieren (BBB) mange meget hydrofile midler. For å sikre at de mer hydrofile terapeutiske midler ifølge oppfinnelsen krysser BBB, kan de for eksempel formuleres i liposomer. For metoder for fremstilling av liposomer, se f.eks. U.S. Pat. Nr. 4,522,811; 5,374,548; og 5,399,331. Liposomene kan omfatte én eller flere
 15 grupper som blir selektivt transportert til spesifikke celler eller organer ("målrettende grupper" eller "målrettingsgrupper" eller "transporteringsvektorer"), for således å gi målrettet medikamentlevering (se f.eks. V.V. Ranade *J. Clin. Pharmacol.* 29, 685 (1989)). Likeledes kan midlene være bundet til målrettende grupper som letter penetrering av blod-hjerne-barrieren. I én utførelsesform
 20 anvender metoden ifølge foreliggende oppfinnelse et naturlig forekommende polyamin bundet til et middel som er et lite molekyl og er anvendelig for å hemme f.eks. A β -avsetning.

For å lette transport av midler ifølge oppfinnelsen gjennom BBB, kan de kobles til en BBB transportvektor (for oversikt over BBB transportvektorer og
 25 mekanismer, se Bickel, *et al.*, *Adv. Drug Delivery Reviews* 46, 247-79 (2001)). Eksempler på transportvektorer omfatter kationisert albumin eller OX26 monoklonalt antistoff til transferrin-reseptor; disse proteiner gjennomgår henholdsvis absorptiv-mediert og reseptor-mediert transcytose gjennom BBB. Naturlige cellemetabolitter som kan anvendes som målrettende grupper
 30 omfatter, bl.a. putrescin, spermidin, spermin eller DHA. Andre eksempler på målrettende grupper omfatter folat eller biotin (se f.eks. U.S. Pat. nr. 5,416,016); mannosider (Umezawa, *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153, 1038 (1988)); antistoffer (P.G. Bloeman, *et al.*, *FEBS Lett.* 357, 140 (1995); M. Owais,

et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 180 (1995)); overflateaktivt protein A reseptor (Briscoe, *et al.*, *Am. J. Physiol.* 1233, 134 (1995)); gp120 (Schreier, *et al.*, *J. Biol. Chem.* 269, 9090 (1994)); se også K. Keinänen og M.L.

Laukkanen, *FEBS Lett.* 346, 123 (1994); J.J. Killion og I.J. Fidler,

5 *Immunomethods* 4, 273 (1994).

Eksempler på andre BBB transportvektorer som målretter reseptor-medierte transportsystemer inn hjernen omfatter faktorer så som insulin, insulin-lignende vekstfaktorer ("IGF-I," og "IGF-II"), angiotensin II, atrial og hjerne natriuretisk peptid ("ANP," og "BNP"), interleukin I ("IL-1") og
10 transferrin. Monoklonale antistoffer til reseptorene som binder disse faktorer kan også anvendes som BBB transportvektorer. BBB transportvektorer målrettende mekanismer for absorptiv-mediert transcytose omfatter kationiske grupper så som kationisert LDL, albumin eller pepperrot peroksydase koblet med polylysin, kationisert albumin eller kationiserte immunoglobuliner. Små basiske
15 oligopeptider så som dynorphin-analog E-2078 og ACTH-analog ebiratid kan også krysse hjernen via absorptiv-mediert transcytose og er potensielle transportvektorer.

Andre BBB transportvektorer målsøker systemer for transportering av næringsstoffer inn hjernen. Eksempler på slike BBB transportvektorer omfatter
20 heksose-grupper, f.eks. glukose og monokarboksylier, f.eks. melkesyre og nøytrale aminosyrer, f.eks. fenylalanin og aminer, f.eks. cholin og basiske aminosyrer, f.eks. arginin, nukleosider, f.eks. adenosin og purinbaser, f.eks. adenin og thyroide hormon, f.eks. trijodthyridin. Antistoffer til det ekstracellulære domenet av næringsmiddel-transportører kan også anvendes som transport-
25 vektorer. Andre mulige vektorer omfatter angiotensin II og ANP, som kan medvirke i å regulere BBB permeabilitet.

I noen tilfeller kan bindingen som binder det terapeutiske midlet til transportvektoren spaltes etter transport inn i hjernen for å frigjøre det biologisk aktive middel. Eksempler på linkere omfatter disulfidbindinger, ester-baserte
30 bindinger, tioeter-bindinger, amidbindinger, syrelabile bindinger og Schiff base bindinger. Avidin/biotin-linkere, hvor avidin blir kovalent koblet til BBB medikament-transportvektor kan også anvendes. Avidin selv kan være en medikament-transportvektor.

Transcytose, omfattende reseptor-mediert transport av preparater gjennom blod-hjerne-barrieren, kan også være egnet for midlene ifølge oppfinnelsen. Transferrin reseptor-mediert levering er beskrevet i U.S. Pat. nr. 5,672,683; 5,383,988; 5,527,527; 5,977,307; og 6,015,555. Transferrin-mediert transport er også kjent. P.M. Friden, *et al.*, *Pharmacol. Exp. Ther.* 278, 1491-98 (1996); H.J. Lee, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 292, 1048-52 (2000). EGF-reseptor-mediert levering er beskrevet i Y. Deguchi, *et al.*, *Bioconjug. Chem.* 10, 32-37 (1999) og transcytose er beskrevet i A. Cerletti, *et al.*, *J. Drug Target.* 8, 435-46 (2000). Insulin-fragmenter har også vært anvendt som bærere for levering gjennom blod-hjerne-barrieren. M. Fukuta, *et al.*, *Pharm. Res.* 11, 1681-88 (1994). Levering av midler via et konjugat av nøytral avidin og kationisert humant albumin er også beskrevet. Y.S. Kang, *et al.*, *Pharm. Res.* 1, 1257-64 (1994).

Andre modifikasjoner for å forbedre penetrering av midlene ifølge oppfinnelsen gjennom blod-hjerne-barrieren kan gjennomføres ved anvendelse av metoder og derivater kjent på området. For eksempel beskriver U.S. Pat. nr. 6,024,977 kovalente polare lipidkonjugater for målretting til hjerne og sentralnervesystem. U.S. Pat. nr. 5,017,566 beskriver cyclodekstrin-derivater omfattende inklusjonskomplekser av lipoider former av dihydropyridin redox målrettende grupper. U.S. Pat. nr. 5,023,252 beskriver anvendelse av farmasøytiske preparater omfattende et neurologisk aktivt medikament og en forbindelse for å lette transport av medikamentet gjennom blod-hjerne-barrieren omfattende en makrocyklisk ester, diester, amid, diamid, amidin, diamidin, tioester, ditioester, tioamid, keton eller lakton. U.S. Pat. nr. 5,024,998 beskriver parenterale løsninger av vandig-uoppløselige medikamenter med cyclodekstrin-derivater. U.S. Pat. nr. 5,039,794 beskriver anvendelse av en metastasisk tumor-avledet egress-faktor for å lette transporten av forbindelser gjennom blod-hjerne-barrieren. U.S. Pat. nr. 5,112,863 beskriver anvendelse av *N*-acyl-aminosyrederivater som antipsykotiske medikamenter for levering gjennom blod-hjerne-barrieren. U.S. Pat. nr. 5,124,146 beskriver en metode for levering av terapeutiske midler gjennom blod-hjerne-barrieren på steder med øket permeabilitet forbundet med hjernelesjoner. U.S. Pat. nr. 5,153,179 beskriver acylert glycerol og derivater for anvendelse i et medikament for forbedret

- penetrering av cellemembraner. U.S. Pat. nr. 5,177,064 beskriver anvendelse av lipoide fosfonatderivater av nukleoside antivirale midler for levering gjennom blod-hjerne-barrieren. U.S. Pat. nr. 5,254,342 beskriver reseptor-mediert transcytose av blod-hjerne-barrieren ved anvendelse av transferrin-reseptor i
- 5 kombinasjon med farmasøytiske forbindelser som forbedrer eller akselererer denne prosessen. U.S. Pat. nr. 5,258,402 beskriver behandling av epilepsi med imidat-derivater av antikonvulsivt sulfamat. U.S. Pat. nr. 5,270,312 beskriver substituerte piperaziner som sentralnervesystem-midler. U.S. Pat. nr. 5,284,876 beskriver fettsyrekonjugater av dopamin-medikamenter. U.S. Pat. nr. 5,389,623
- 10 beskriver anvendelse av lipide dihydropyridinderivater av anti-inflammatoriske steroider eller steroide kjønns hormoner for levering gjennom blod-hjerne-barrieren. U.S. Pat. nr. 5,405,834 beskriver prodrug-derivater av thyrotropin-frigjørende hormon. U.S. Pat. nr. 5,413,996 beskriver acyloksyalkylfosfonat-konjugater av neurologisk aktive medikamenter for anionisk sekvestrering av
- 15 slike medikamenter i hjernevev. U.S. Pat. nr. 5,434,137 beskriver metoder for selektiv åpning av unormale hjernevev-kapillarer ved anvendelse av bradykinin infusert i carotid-arterien. U.S. Pat. nr. 5,442,043 beskriver et peptid-konjugat mellom et peptid som har en biologisk aktivitet og som ikke er i stand til å krysse blod-hjerne-barrieren og et peptid som ikke oppviser noen biologisk aktivitet og
- 20 kan passere blod-hjerne-barrieren ved reseptor-mediert endocytose. U.S. Pat. nr. 5,466,683 beskriver vannoppløselige analoger av et antikonvulsivt middel for behandling av epilepsi. U.S. Pat. nr. 5,525,727 beskriver preparater for differensielt opptak og retensjon i hjernevev omfattende et konjugat av et narkotisk analgetisk middel og agonister og antagonist derav med en lipid
- 25 form av dihydropyridin som danner et redox-salt etter opptak gjennom blod-hjerne-barrieren som forhindrer fordeling tilbake til systemisk sirkulasjon.

Nitrogenoksyd er en vasodilator av perifer vaskulatur i normalt vev i kroppen. Økende dannelse av nitrogenoksyd ved nitrogenoksyd-syntase forårsaker vasodilatasjon uten tap av blodtrykk. Blodtrykk-uavhengig økning i

30 blodstrøm gjennom hjernevev øker cerebral biotilgjengelighet av blod-bårede preparater. Denne økning i nitrogenoksyd kan stimuleres ved administrering av L-arginin. Ettersom nitrogenoksyd blir øket blir cerebral blodstrøm følgelig øket og medikamenter i blodstrømmen blir båret sammen med den økede strøm inn i

hjernevev. Derfor kan L-arginin anvendes i de farmasøytiske preparater ifølge oppfinnelsen for å forbedre levering av midler til hjernevev etter innføring av et farmasøytisk preparat inn i blodstrømmen til individet hovedsakelig samtidig med en blodstrøm-økende mengde av L-arginin, som beskrevet i WO 00/56328.

- 5 Enda ytterligere eksempler på modifikasjoner som forbedrer penetrering av blod-hjerne-barrieren er beskrevet i Internasjonal (PCT) søknad publikasjonsnummer WO 85/02342, som beskriver et medikament-preparat omfattende et glycerolipid eller derivat derav. PCT Publikasjonsnummer WO 089/11299 beskriver et kjemisk konjugat av et antistoff med et enzym som
- 10 blir levert spesifikt til et hjernelesjon-sted for å aktivere et separat administrert neurologisk aktivt prodrug. PCT Publikasjonsnummer WO 91/04014 beskriver metoder for levering av terapeutiske og diagnostiske midler gjennom blod-hjerne-barrieren ved innkapsling av medikamentene i liposomer målrettet til hjernevev ved anvendelse av transport-spesifikke reseptorligander eller
- 15 antistoffer. PCT Publikasjonsnummer WO 91/04745 beskriver transport gjennom blod-hjerne-barrieren ved anvendelse av celleadhesjonsmolekyler og fragmenter derav for å øke permeabiliteten av stramme sammenføyninger i vaskulært endotel. PCT Publikasjonsnummer WO 91/14438 beskriver anvendelse av et modifisert, kimært monoklonalt antistoff for å lette transport av substanser
- 20 gjennom blod-hjerne-barrieren. PCT Publikasjonsnummer WO 94/01131 beskriver lipidiserte proteiner, omfattende antistoffer. PCT Publikasjonsnummer WO 94/03424 beskriver anvendelse av aminosyrederivater som medikament-konjugater for å lette transport gjennom blod-hjerne-barrieren. PCT Publikasjonsnummer WO 94/06450 beskriver konjugater av neurologisk aktive
- 25 medikamenter med en dihydropyridin-type redox målrettingsgruppe og omfattende en aminosyrebinding og en alifatisk rest. PCT Publikasjonsnummer WO 94/02178 beskriver antistoff-målrettede liposomer for levering gjennom blod-hjerne-barrieren. PCT Publikasjonsnummer WO 95/07092 beskriver anvendelse av medikament-vekstfaktor-konjugater for levering av medikamenter
- 30 gjennom blod-hjerne-barrieren. PCT Publikasjonsnummer WO 96/00537 beskriver polymere mikrokuler som injiserbare medikament-leverings-konstituenten for levering av bioaktive midler til steder innen sentralnervesystemet. PCT Publikasjonsnummer WO 96/04001 beskriver

omega-3-fettsyre-konjugater av neurologisk aktive medikamenter for hjernevev-levering. PCT WO 96/22303 beskriver fettsyre og glycerolipid konjugater av neurologisk aktive medikamenter for hjernevev-levering.

- Generelt er det godt innenfor fagkunnskap på området å fremstille et
- 5 ester-, amid- eller hydrazid-derivat av et middel ifølge oppfinnelsen, for eksempel fra den tilsvarende karboksylsyre og et egnet reagens. For eksempel kan en karboksylsyre-inneholdende forbindelse eller en reaktiv ekvivalent derav, omsettes med en hydroksyl-inneholdende forbindelse eller en reaktiv ekvivalent derav, for å gi den tilsvarende ester. Se f.eks. "Comprehensive Organic
- 10 Transformations," 2. Ed., av R.C. Larock, VCH Publishers John Wiley & Sons, Ltd. (199989); "March's Advanced Organic Chemistry," 5. Ed., av M.B. Smith og J. March, John Wiley & Sons, Ltd. (2000).

Prodrug

- 15 Prodrug kan anvendes for å endre biodistribusjonen (f.eks. for å tillate midler som typisk ikke ville trenge inn i det reaktive sete av proteasen) eller farmakokinetikken til et spesielt middel. For eksempel kan en karboksylsyregruppe forestres, f.eks. med en metylgruppe eller en etylgruppe, hvilket gir en ester. Når esteren blir administrert til et individ, blir esteren spaltet,
- 20 enzymatisk eller ikke-enzymatisk, reduktivt, oksydativt eller hydrolytisk, for å frembringe den anioniske gruppen. En anionisk gruppe kan forestres med grupper (f.eks. acyloksymetylestere) som blir spaltet for å gi et mellomprodukt som deretter dekomponerer for å gi det aktive midlet. Prodrug- grupper kan metaboliseres *in vivo* av esteraser eller ved andre mekanismer til
- 25 karboksylsyrer.

- Eksempler på prodrug og anvendelse av dem er velkjent på området (se f.eks. Berge, *et al.*, "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66, 1-19 (1977)). Prodrug kan fremstilles *in situ* under den endelige isolering og rensning av midlene eller ved separat omsetning av det rensede middel i dets frie syreform
- 30 med et egnet derivatiserende middel. Karboksylsyrer kan omdannes til estere ved behandling med en alkohol i nærvær av en katalysator.

Eksempler på spaltbare karboksylsyre-prodrug-grupper omfatter substituerte og usubstituerte, forgrenede eller uforgrenede lavere alkylestergrupper (f.eks. etylestere, propylestere, butylestere, pentylestere, cyklopentylestere, heksylestere, cykloheksylestere), lavere alkenylestere, di-
 5 lavere alkylamino-lavere-alkylestere (f.eks. dimetylaminoetylester), acylamino-lavere alkylestere, acyloksy-lavere alkylestere (f.eks. pivaloyloksymetylester), arylestere (fenylester), aryl-lavere alkylestere (f.eks. benzylester), substituerte (f.eks. med metyl-, halogen- eller metoksy-substituenten) aryl- og aryl-lavere alkylestere, amider, lavere-alkylamider, di-lavere alkylamider og
 10 hydroksyamider.

Farmasøytisk akseptable salter

Visse utførelsesformer av foreliggende midler kan inneholde en basisk funksjonell gruppe, så som amino eller alkylamino og er således i stand til å
 15 danne farmasøytisk akseptable salter med farmasøytisk akseptable syrer. Betegnelsen "farmasøytisk akseptable salter" i denne henseende, angir relativt ikke-toksiske, uorganiske og organiske syreaddisjonssalter av midler ifølge foreliggende oppfinnelse. Disse salter kan fremstilles *in situ* under den endelige isolering og rensning av midlene ifølge oppfinnelsen eller ved separat omsetning
 20 av et rensset middel ifølge oppfinnelsen i dens frie baseform med en egnet organisk eller uorganisk syre og isolering av det således dannede saltet.

Representative salter omfatter hydrohalogenid (omfattende hydrobromid og hydroklorid), sulfat, bisulfat, fosfat, nitrat, acetat, valerat, oleat, palmitat, stearat, laurat, benzoat, laktat, fosfat, tosylat, citrat, maleat, fumarat, succinat,
 25 tartrat, naftylat, mesylat, glukohexonat, laktobionat, 2-hydroksyetansulfonat og laurylsulfonat og lignende. Se f.eks. Berge *et al.*, "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66, 1-19 (1977).

I andre tilfeller kan midlene ifølge foreliggende oppfinnelse inneholde én eller flere sure funksjonelle grupper og kan således danne farmasøytisk
 30 akseptable salter med farmasøytisk akseptable baser. Betegnelsen "farmasøytisk akseptable salter" i disse tilfeller angir de relativt ikke-toksiske,

uorganiske og organiske baseaddisjonssalter av midler ifølge foreliggende oppfinnelse.

Disse salter kan likeledes fremstilles *in situ* under den endelige isolering og rensning av midlene eller ved separat omsetning av det rensede middel i

5 dets frie syreform med en egnet base, så som hydroksyd, karbonat eller bikarbonat av et farmasøytisk akseptabelt metallkation, med ammoniakk eller med et farmasøytisk akseptabelt organisk primært, sekundært eller tertiært amin. Representative alkali- eller jordalkalisalter omfatter litium-, natrium-, kalium-, kalsium-, magnesium- og aluminium-salter og lignende. Representative

10 organiske aminer anvendelige for dannelsen av baseaddisjonssalter omfatter etylamin, dietylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin og lignende.

“Farmasøytisk akseptable salter” omfatter også for eksempel derivater av midler modifisert ved fremstilling av syre- eller basesalter derav, som

15 beskrevet ytterligere nedenfor og andre steder i foreliggende søknad. Eksempler på farmasøytisk akseptable salter omfatter mineral eller organiske syresalter av basiske rester så som aminer; og alkali- eller organiske salter av sure rester så som karboksylsyrer. Farmasøytisk akseptable salter omfatter konvensjonelle ikke-toksiske salter eller de kvaternære ammoniumsalter av det parentale

20 middel dannet, for eksempel fra ikke-toksiske uorganiske eller organiske syrer. Slike konvensjonelle ikke-toksiske salter omfatter de avledet fra uorganiske syrer så som saltsyre, bromhydrogensyre, svovelsyre, sulfaminsyre, fosforsyre og salpetersyre; og saltene fremstilt fra organiske syrer så som eddiksyre, propionsyre, ravsyre, glykolsyre, stearinsyre, melkesyre, eplesyre, vinsyre,

25 sitronsyre, askorbinsyre, palmoinsyre, maleinsyre, hydroksymaleinsyre, fenyleddiksyre, glutaminsyre, benzosyre, salicylsyre, sulfanilsyre, 2-acetoksybenzosyre, fumarsyre, toluensulfonsyre, metansulfonsyre, etan-disulfonsyre, oksalsyre og isetionsyre. Farmasøytisk akseptable salter kan syntetiseres fra et stam-middel som inneholder en basisk eller sur gruppe ved

30 konvensjonelle kjemiske metoder. Generelt kan slike salter fremstilles ved omsetning av de frie syre- eller baseformer av disse midler med en støkiometrisk mengde av den passende base eller syre i vann eller i et organisk løsningsmiddel eller i en blanding av de to.

Alle syre-, salt-, base- og andre ioniske og ikke-ioniske former av forbindelsene beskrevet er omfattet som forbindelser ifølge oppfinnelsen. Hvis for eksempel en forbindelse er vist som en syre her, er saltformene av forbindelsen også omfattet. Likeledes, hvis en forbindelse er vist som et salt, er

5 sure og/eller basiske former også omfattet.

Eksempler

Binding og antifibrillogene forsøk

Testforbindelsene ble syntetisert og screenet ved massespektrometri-
5 ("MS") forsøk, bortsett fra utvalgte forbindelser som ble anskaffet fra en
kommersiell kilde. MS-forsøk gir data for evnen til forbindelser til å binde til
proteiner, i dette eksemplet til β -amyloid og IAPP.

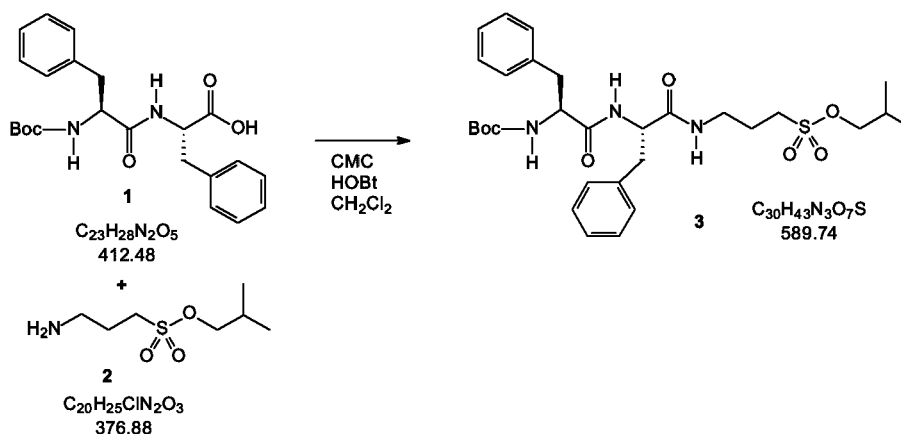
I MS-forsøk for A β 40 ble prøver fremstilt som vandige løsninger
(tilsetning av 20% etanol hvis nødvendig for å solubilisere i vann), 200 μ M av en
10 testforbindelse og 20 μ M av solubilisert A β 40 eller 400 μ M av en testforbindelse
og 40 μ M av solubilisert A β 40. pH-verdi av hver prøve ble regulert til 7,4 ($\pm$ 0,2)
ved tilsetning av 0,1% vandig natriumhydroksyd. Løsningene ble deretter
analysert ved elektrospray-ionisasjon massespektrometri ved anvendelse av et
Waters ZQ 4000 massespektrometer. Prøver ble innført ved direkte infusjon
15 med en strømningshastighet på 25 μ L/min innen 2 timer etter prøvepreparering.
Kildetemperaturen ble holdt ved 70°C og "cone" spenning var 20 V for alle
analysene. Data ble prosessert ved anvendelse av Masslynx 3.5 programvare.
MS-forsøk gir data for evnen til forbindelser til å binde til oppløselig A β , mens
ThT, EM og CD forsøk gir data for hemning av fibrillogenese. Resultatene fra
20 forsøket for binding til A β er oppsummert i Tabell 3. I Tabell 3 betyr en blank
boks at en verdi ikke ble bestemt for den forbindelsen i det forsøket.

Forsøket for IAPP ble utført under samme betingelser bortsett fra at 200
 μ M av testforbindelse og 20 μ M av solubilisert IAPP ble anvendt. Nøkkelen
nedenfor beskriver kodene anvendt i Tabell 3 for å kvantifisere bindingen basert
25 på intensiteten av absorpsjonen.

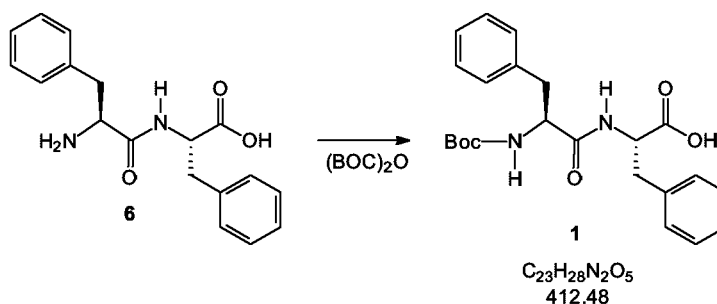
40 Foreliggende oppfinnelse angår også nye forbindelser og syntese derav.
Følgelig er de følgende eksempler presentert for å illustrere hvorledes noen av
forbindelsene kan fremstilles.

Syntese av forbindelser ifølge oppfinnelsen

Fremstilling av L-(N-Boc)-Phe-L-Phe-homotaurin-isobutylester

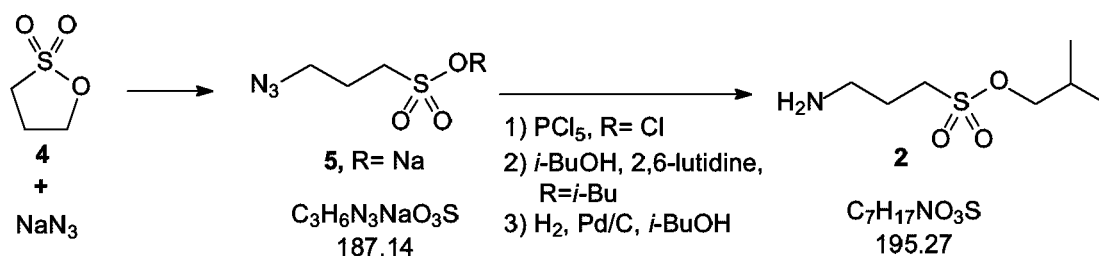


Komponent 1: L-(N-Boc)-Phe-L-Phe



- En løsning av $(\text{Boc})_2\text{O}$ (800 mg, 3,5 mmol) i 1,4-dioksan (5 ml) ble satt til
- 5 en kald (0°C) løsning av di-L-Phe-Phe (1 g, 3,20 mmol) i 1,4-dioksan (6 ml) og 1N NaOH (3,3 ml). Blandingen ble omrørt ved $0-5^\circ\text{C}$ i 2 timer. En annen porsjon av $(\text{BOC})_2\text{O}$ (100 mg) ble tilsatt og blandingen ble omrørt i ytterligere 60 minutter ved $0-5^\circ\text{C}$ og deretter ved romtemperatur i 30 minutter. Blandingen ble deretter inndampet til tørrhet. Det faste stoffet ble tatt i en blanding av vann /
- 10 EtOAc og pH ble regulert til 2 med 2N HCl. Det vandige laget ble ekstrahert 3 ganger med EtOAc. De samlede organiske lag ble tørket med saltvann og løsningsmidlet ble avdampet. Noe fast stoff var uoppløselig i en blanding av EtOAc / CHCl_3 : det ble fjernet ved filtrering. Den ønskede N-Boc-L-Phe-L-Phe 1 ble oppnådd som et hvitt skumaktig fast stoff (913,7 mg, 2,215 mmol, 71%
- 15 utbytte).

Komponent 2: 3-amino-1-propansulfonsyre-isobutylester



Trinn 1: 3-azido-1-propansulfonsyre-natriumsalt (5)

En løsning av 1,3-propan-sulton **4** (6,12 g, 49,1 mmol) i aceton (30 ml) ble satt til en blanding av natriumazid (3,22 g, 49,1 mmol) i vann / aceton (70 ml, 20 til 50). Den klare løsningen ble omrørt ved romtemperatur. Reaksjonen ble fullført innen 1 time. Løsningsmidlet ble fjernet ved inndampning under redusert trykk. Det oppnådde faste stoffet ble skyllet med varm eter (50 ml) og deretter med eter ved romtemperatur (150 ml). Det faste stoffet ble deretter tørket i vakuumovn ved 40°C natten over. Tittelforbindelsen **5** ble oppnådd som et hvitt, fast stoff (8,69 g, 46,4 mmol, 95% utbytte).

Trinn 2: 3-azido-1-propansulfonylchlorid

3-azidopropansulfonsyre-natriumsalt **5** (1,87 g, 10,0 mmol) ble suspendert i tørr benzen (20 ml) og PCl₅ (2,3 g, 10,5 mmol) ble satt til suspensjonen. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter, deretter ved svakt tilbakeløp i ca. 1 time. Benzen og P(O)Cl₃ ble fjernet ved inndampning under redusert trykk. Benzen ble satt til den urensede blandingen og løsningsmidlet ble fjernet igjen under redusert trykk. Residuet ble tørket i vakuum. Det tørkede residuet ble oppløst i diklormetan (vannfri, 15 ml) og avkjølt ved -10°C ved anvendelse av et is / aceton bad.

Trinn 3: 3-azido-1-propansulfonsyre-isobutylester

En løsning av isobutanol (1,00 ml, 10,8 mmol) og 2,6-lutidin (1,3 ml, 11,2 mmol) i diklormetan (10 ml) ble langsomt satt til den kalde sulfonylchlorid-løsning. Blandingen ble omrørt ved -10°C i 5 minutter deretter ved romtemperatur i 2 timer. Reaksjonen ble stanset med vann og diklormetan ble tilsatt for å

ekstrahere produktet. Det organiske laget ble vasket én gang med vann, vandig mettet NaHCO_3 , saltvann og deretter tørket over magnesiumsulfat.

Løsningsmidlet ble fjernet ved inndampning under redusert trykk og residuet ble tørket i vakuum. Det gjenværende 2,6-lutidin-hydroklorid ble fjernet ved vasking

- 5 av residuet med eter. Den resulterende olje (1,78 g) ble deretter påført på en "flash" kolonne (silikagel, EtOAc i heksaner fra 15% til 20%), hvilket ga den ønskede ester som en olje (790 mg, 35%).

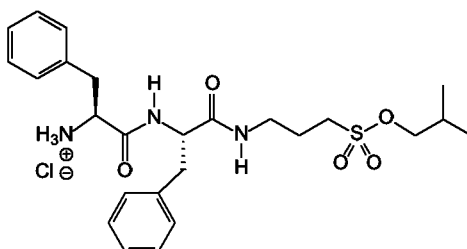
Trinn 4: 3-amino-1-propansulfonsyre-isobutylester

- 10 En løsning av isobutyl-3-azidopropansulfonat (1,13 g, 5,11 mmol) i isobutanol (10 ml) ble tilsatt under H_2 , via en kanyle, til en suspensjon av Pd/C (10%, 200 mg) i isobutanol (4 ml) som var mettet med H_2 . Blandingen ble deretter omrørt under H_2 ($2,8 \text{ kg/cm}^2$) ved romtemperatur natten over. Det faste stoffet ble deretter fjernet ved filtrering. Filtratet ble inndampet til tørrhet og
- 15 residuet ble tørket i vakuum. Tittelforbindelsen **2**, homotaurin-isobutylester, ble oppnådd som brun olje (808,7 mg, 81%).

Omsetning av komponent 1 med komponent 2

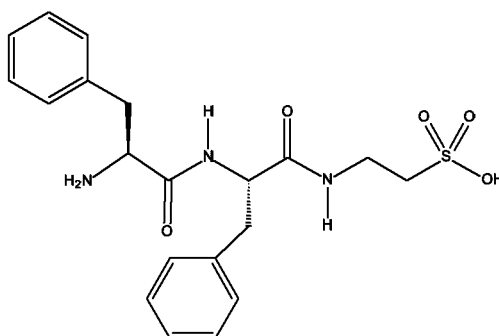
- HOBt (340 mg, 2,215 mmol) ble satt til en kald ($0-5^\circ\text{C}$) løsning av *N*-
- 20 Boc-L-Phe-L-Phe **1** (913,7 mg, 2,215 mmol) og homotaurin-isobutylester **2** (423 mg, 2,21 mmol) i diklormetan (vannfri, 30 ml). Etter 5 minutter ble en løsning av 1-cykloheksyl-3-(2-morfolinoetyl)karbodiimid meto-*p*-toluensulfonat (982 mg, 2,215 mmol) i diklormetan (10 ml) tilsatt dråpevis. Løsningen ble omrørt natten over ved romtemperatur. Blandingen ble fortynnet med diklormetan (50 ml) og
- 25 det organiske laget ble vasket sekvensielt med 1N NaHSO_4 , vandig mettet NaHCO_3 og saltvann og tørket over natriumsulfat. Løsningsmidlet ble fjernet ved inndampning under redusert trykk. Tre forbindelser i blandingen ble vist ved TLC. Siden urenheterne var mindre oppløselige i metanol fjernet gjentatt behandling med metanol fulgt av filtrering mesteparten av urenheterne.
- 30 Kolonnekromatografi på silikagel (2% MeOH i CHCl_3) ga tripeptidet **3** som ravgult glassaktig fast stoff (156,1 mg, 12%).

Fremstilling av L-Phe-L-Phe-homotaurin-isobutylester



- Konsentrert HCl (0,7 ml) ble satt til en kald (0°C) løsning av *N*-Boc-L-Phe-L-Phe-homotaurin-isobutylester (202 mg, 0,343 mmol) i metanol. Blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 2 timer og fikk deretter stå i kjøleskap natten over. Løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk og det gjenværende faste stoff ble tørket i vakuum, hvilket ga L-Phe-L-Phe-homotaurin-isobutylester som et hvitt, fast stoff (171,8 mg, 95%).

Fremstilling av L-Phe-L-Phe-homotaurin (Referanseforbindelse X)



- En løsning av *N*-BOC-L-fenylalanin-*N*-hydroksysuccinimidester (400 mg, 1,1 mmol) i en blanding av etanol (6 ml) og 1,4-dioksan (4 ml) ble satt til en løsning av L-Phe-homotaurin (273 mg, 1,0 mmol) i 1N NaOH (1,05 ml), vann (3 ml) og etanol (4 ml). Blandingen ble omrørt ved romtemperatur natten over. Løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk og det faste stoffet (601,9 mg) ble suspendert i en blanding av aceton (8 ml) og isopropanol (0,2 ml) og omrørt natten over ved romtemperatur. Blandingen ble oppvarmet under tilbakesløp i 30 minutter og ble deretter avkjølt til romtemperatur. Det hvite, faste stoffet ble oppsamlet ved filtrering, vasket med eter, deretter tørket i vakuumovn i 45 minutter. Det resulterende faste stoffet (423,1 mg) ble oppløst i en blanding av

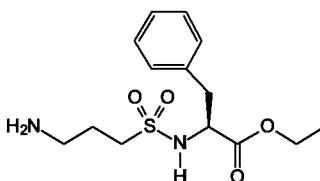
vann/*tert*-butanol (7:3, 5 ml) og behandlet med Amberlite IR-120 plus (vasket, 15 g tørr vekt) i 2 minutter ved romtemperatur. Harpiksen ble fjernet ved filtrering og vasket 3 ganger med blandede løsningsmidler av vann og *tert*-butanol (10 ml). Konsentrert HCl (4 ml) ble tilsatt. Løsningsmidlene ble fjernet under

5 redusert trykk og det resulterende faste stoffet ble tørket i vakuum.

Forbindelsen ble rensset ved omkrystallisering fra et blandet løsningsmiddel av THF og MeOH. Det resulterende faste stoffet ble oppvarmet under tilbakesløp i metanol (ca. 3 ml) for å fjerne den gulaktige fargen. Det faste stoffet ble tørket i vakuum. Forbindelse X ble oppnådd som et hvitt fast stoff (84,4 mg, 20%). ¹H

10 og ¹³C NMR var i samsvar med strukturen.

Fremstilling av *N*-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-fenylalanin-etylever (Referanseforbindelse CL)



3-klorpropan-1-sulfonylklorid (10 mmol, 1,21 ml) ble satt dråpevis til en

15 kald (-10°C) løsning av L-fenylalanin-etylever (10 mmol, 2,3 g) og 4-metylmorfolin (20 mmol, 2,2 ml) i diklormetan (30 ml). Blandingen ble omrørt i 30 minutter ved -10°C og i 2 timer ved romtemperatur. Blandingen ble fortynnet med diklormetan (40 ml) og vasket to ganger med vann, én gang med saltvann, tørket over natriumsulfat. Avdampning av løsningsmidlet under redusert trykk

20 ga opphav til nesten ren 3-klorpropylsulfonamid som en gul olje i kvantitativt utbytte. ¹H og ¹³C NMR var i samsvar med strukturen.

En blanding av 3-klorpropylsulfonamid (10 mmol), natriumazid (20 mmol) og en katalytisk mengde av Bu₄NI i DMF (40 ml) ble oppvarmet ved 60°C i 24 timer. Blandingen ble fortynnet med etylacetat, vasket med vann tre ganger og

25 én gang med saltvann, tørket over natriumsulfat. Avdampning av løsningsmidlet ga azidet som en brun olje (3,0489 g, 8,96 mmol, 90%). ¹H og ¹³C NMR var i samsvar med strukturen.

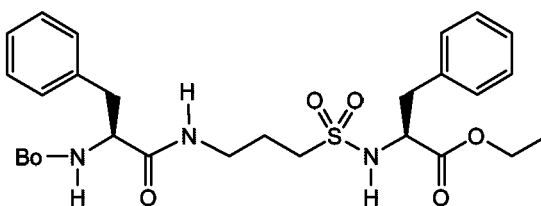
Azidet (2,70 g, 7,94 mmol) ble omrørt under H₂ (2,8 kg/cm²) med 10% Pd/C (348 mg) i etanol (16 ml) ved romtemperatur natten over. Det faste stoffet

ble fjernet ved filtrering over Celite. Filtratet ble behandlet med TMSCl/EtOH i et forsøk på å oppnå et krystallinsk hydrokloridsalt av produktet. Løsningsmidlet ble avdampet, hvilket ga et tykt residuum (2,2 g, 6,27 mmol, 79%) som ikke krystalliserte under noen av betingelsene forsøkt. Det rå saltsyresalt ble

5 oppløst i diklormetan og vasket én gang med mettet natriumbikarbonat. Det organiske laget ble gjenvunnet og tørket over natriumsulfat. Løsningsmidlet ble fjernet ved inndampning under redusert trykk. Residuet ble oppløst i metanol og behandlet med aktivert trekull. Det faste stoffet ble fjernet ved filtrering over Celite og filtratet ble inndampet til tørrhet. Residuet ble tørket i vakuum, hvilket

10 ga en gulbrun olje (1,3969 g, 56% fra azidet). ^1H og ^{13}C NMR var i samsvar med strukturen av forbindelse CL.

Fremstilling av *N*-Boc-L-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-etylever
(Referanseforbindelse Y)



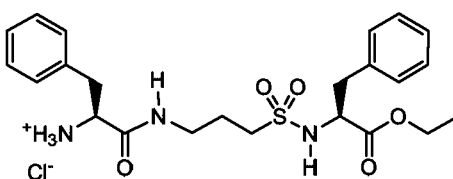
15 En løsning av *N*-t-BOC-L-Phe N-hydroksysuccinimid-ester (2,80 mmol, 1,01 g) i diklormetan (12 ml) ble satt til en kald (0°C) løsning av 3-aminopropan-1-sulfonyl-L-Phe-OEt (2,66 mmol, 839 mg) i diklormetan (10 ml). Blandingen ble omrørt natten over ved romtemperatur. Blandingen ble fortynnet med diklormetan og vasket med 2N HCl, vandig mettet NaHCO_3 og saltvann. Det

20 organiske laget ble tørket over magnesiumsulfat og løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk. Residuet ble anvendt ved "flash" kolonnekromatografi på silikagel (2% MeOH i CHCl_3). En porsjon av det rene ønskede materiale (600 mg) ble isolert. Det gjenværende produkt ble blandet med 40% av succinimidet. Noe 3-aminopropanol (70 μL) ble satt til blandingen som ble oppløst i

25 diklormetan (8 ml) og avkjølt til 0°C. Blandingen ble omrørt i 1 time ved romtemperatur. Blandingen ble fortynnet med diklormetan og vasket med 2N HCl, vandig mettet NaHCO_3 , saltvann. Det organiske laget ble tørket over magnesiumsulfat og løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk. Produktet

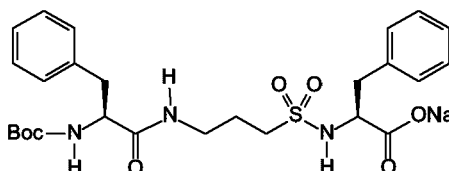
ble rensed ved "flash" kolonnekromatografi på silikagel (2% MeOH i CHCl₃). En annen porsjon av det rene ønskede materiale (432,4 mg) ble isolert sammen med adduktet av succinimid og 3-aminopropanol (220,6 mg, 0,684 mmol). Forbindelse Y ble oppnådd som et hvitt krystallinsk skumaktig fast stoff (1030 mg, 1,83 mmol, 65%). ¹H og ¹³C NMR var i samsvar med strukturen.

Fremstilling av L-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-etyler (Referanseforbindelse Z)



Konsentrert HCl (0,8 ml) ble satt til en kald (0°C) løsning av *N*-Boc-L-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-etyler (197 mg, 0,350 mmol) i etanol (8 ml). Blandingen ble avkjølt ved anvendelse av et is/vannbad og omrørt i 45 min og i 3 timer ved romtemperatur, og blandingen ble holdt i fryser (-20°C) over weekenden. Løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk. Den gjenværende etanol ble fjernet ved saminnampning 3 ganger med kloroform under redusert trykk. Residuet ble tørket i vakuum, hvilket ga et gråhvitt krystallinsk fast stoff (175,3 mg) i kvantitativt utbytte. ¹H og ¹³C NMR var i samsvar med strukturen av forbindelse Z.

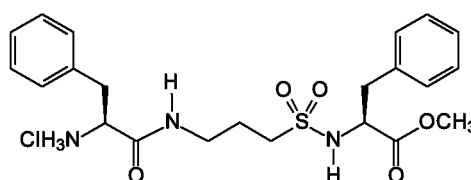
Fremstilling av L-(*N*-Boc)-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-natriumsalt (Referanseforbindelse AA)



En ekvivalent av 1N NaOH (202 µL) ble satt til en løsning av L-(*N*-Boc)-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-etyler (110 mg, 0,197 mmol) i metanol

(2 ml). Blandingen ble omrørt natten over ved romtemperatur. En hvit suspensjon ble observert etter omrøring natten over. MeOH (1 ml), vann (1 ml) og 1N NaOH (10 μ L) ble tilsatt. Blandingen ble omrørt i et varmt vannbad i ca. 2 timer. Løsningsmidlet metanol ble fjernet under redusert trykk. Det våte
 5 residuet ble deretter frysetørket, hvilket ga forbindelse AA som et hvitt pulver i kvantitativt utbytte (110,2 mg). ^1H og ^{13}C NMR var i samsvar med strukturen.

**Fremstilling av L-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-metylester
 (Referanseforbindelse AB)**



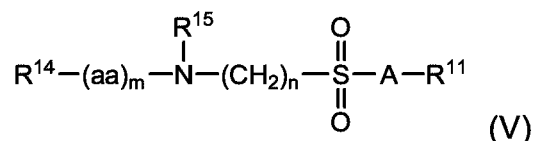
10 Hydrolyse ble utført ved den konvensjonelle LiOH/MeOH-metode.

Produktet ble rensset ved omkrystallisering fra EtOAc og heksaner.

L-(N-Boc)-Phe-(3-aminopropan-1-sulfonyl)-L-Phe-OH (203 mg, 0,382 mmol) ble oppløst i metanol (4 ml) og løsningen ble avkjølt til 0°C. Konsentrert HCl (0,35 ml) ble tilsatt og blandingen ble omrørt i 2 timer ved 0°C og i 2,5 timer
 15 ved romtemperatur. De flyktige løsningsmidler ble fjernet under redusert trykk. Det vandige residuet ble frysetørket, hvilket ga produktet som et hvitt, fast stoff (171,4 mg). NMR og MS viste at produktet var en blanding av den frie syren og metylesteren. MS viste også en sterk assosiering av peptidet. Dimeren var den største typen ved MS. Det faste stoffet ble oppløst i metanol og behandlet
 20 med HCl natten over ved romtemperatur. Løsningsmidlet ble avdampet og residuet ble tørket i vakuum. Produktet ble oppnådd som et hvitt skumaktig fast stoff (180,4 mg, 97%). ^1H og ^{13}C NMR var i samsvar med strukturen av forbindelse AB.

Patentkrav

1. Forbindelse med formel V:



hvor:

5 A er oxygen og R¹¹ er hydrogen;

n er 3;

aa er en L-fenylalanin- eller L-tyrosinrest;

m er 1 eller 2;

R¹⁴ er hydrogen eller en tert-butyloksykarbonyl beskyttelsesgruppe;

10 R¹⁵ er hydrogen;

eller farmasøytisk akseptable salter og forgrenede eller uforgrenede C₁₋₆alkylestere derav.

2. Forbindelse ifølge krav 1, hvor m er 1.

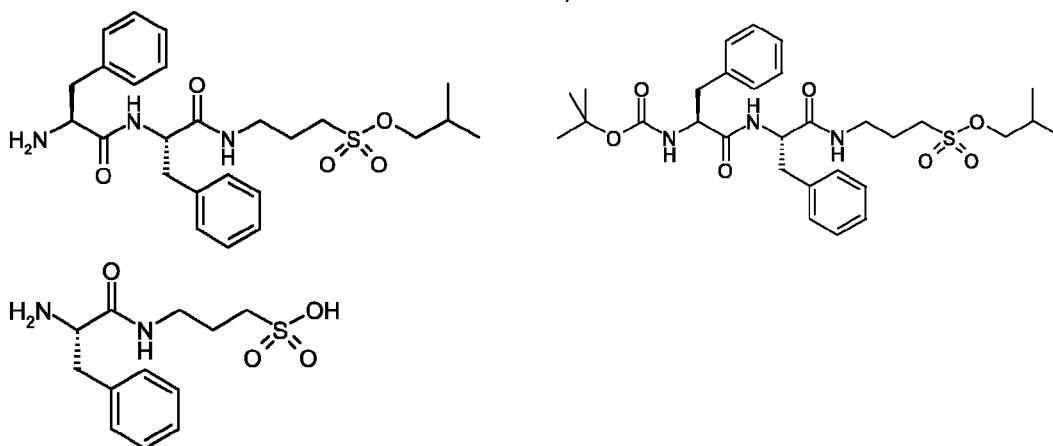
3. Forbindelse ifølge krav 1, hvor m er 2.

15 4. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-3, hvor (aa)_m er en rest av L-fenylalanin eller L-fenylalanin -L-fenylalanin.

5. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-4, hvor R¹⁴ er hydrogen.

20

10. Forbindelse ifølge krav 1, hvor nevnte forbindelse er valgt fra gruppen bestående av:



og farmasøytisk akseptable salter derav.

7. Farmasøytisk preparat omfattende forbindelse ifølge hvilket som helst av
5 kravene 1-6 og en farmasøytisk akseptabel bærer.

8. Farmasøytisk preparat ifølge krav 7, for behandling eller forebygging av
en sykdom eller lidelse valgt fra Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse,
mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt forfall, senil demens,
10 vaskulær demens, cerebral amyloid angiopati, inklusjonslegeme myositt,
aldersrelatert makuladegenerasjon eller Downs syndrom, hvor nevnte
Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse,
aldersrelatert kognitivt forfall, senil demens, vaskulær demens, cerebral amyloid
angiopati, inklusjonslegeme myositt, aldersrelatert makuladegenerasjon eller
15 Downs syndrom er forbundet med amyloid- β amyloidogente proteiner eller
peptider.

9. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-6 for behandling eller
forebygging av en sykdom eller lidelse valgt fra Alzheimers sykdom, mild
20 kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitiv
forfall, senil demens, vaskulær demens, cerebral amyloid angiopati,
inklusjonslegeme myositt, aldersrelatert makuladegenerasjon eller Downs
syndrom, hvor nevnte Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse, mild-til-
moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt forfall, senil demens,
25 vaskulær demens, cerebral amyloid angiopati, inklusjonslegeme myositt,

aldersrelatert makuladegenerasjon eller Downs syndrom er forbundet med amyloid- β amyloidogente proteiner eller peptider.

10. Forbindelse ifølge krav 9, hvor nevnte sykdom eller lidelse er valgt fra
- 5 Alzheimers sykdom, mild kognitiv svekkelse, mild-til-moderat kognitiv svekkelse, aldersrelatert kognitivt forfall og senil demens.

11. Forbindelse ifølge hvilket som helst av kravene 1-6 for behandling eller forebygging av Alzheimers sykdom.