



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년02월05일

(11) 등록번호 10-2073578

(24) 등록일자 2020년01월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 31/35 (2006.01) A61K 31/352 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-7029321

(22) 출원일자(국제) 2013년03월15일

심사청구일자 2018년03월13일

(85) 번역문제출일자 2014년10월20일

(65) 공개번호 10-2015-0002681

(43) 공개일자 2015년01월07일

(86) 국제출원번호 PCT/US2013/032481

(87) 국제공개번호 WO 2013/142370

국제공개일자 2013년09월26일

(30) 우선권주장

61/612,848 2012년03월19일 미국(US)

61/728,688 2012년11월20일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

Ava J.Y. Guo 외. Galangin, a flavonol derived from Rhizoma Alpiniae Officinarum, inhibits acetylcholinesterase activity in vitro. Chemico-Biological Interactions. Vol. 187 (2010), pp. 246-248\*

US20070191330 A1

WO2008011538 A1

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

버크 인스티튜트 포 리서치 온 에이징

미국, 캘리포니아 94945, 노바토, 레드우드 보울  
레바드 8001

(72) 발명자

존 바게스

미국 94122 캘리포니아주 샌프란시스코 18번 애비  
뉴 1722

브레데슨 데일 이

미국 94949 캘리포니아주 노바토 라쿤 드라이브  
19

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 김미화

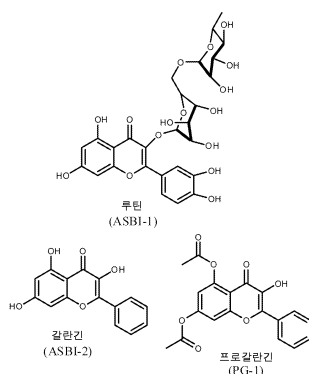
(54) 발명의 명칭 APP 특이적 BACE 억제제(ASBI) 및 이의 용도

## (57) 요약

특정 구현예에서, APP-특이적 BACE 억제제(ASBI) 및 이의 용도가 제공된다. 특정 구현예에서, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



예방하거나 지연시키는 방법이 제공되고, 여기서 상기 방법은 이를 필요로 하는 대상자에게 APP 특이적 BACE 억제제(ASBI)를 전-알츠하이머 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키기에 충분한 양으로 투여함을 포함한다. 특정 구현예에서, ASBI는 플라보노이드(예: 갈란긴) 또는 플라보노이드 전구약물(예: 갈란긴 전구약물)이다.

---

## 명세서

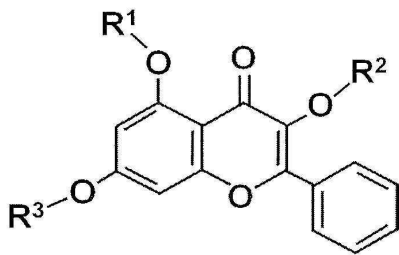
### 청구범위

#### 청구항 1

- (1) 전-알츠하이머 상태의 발병의 예방 또는 지연;
- (2) 인지 기능장애의 예방 또는 지연;
- (3) 전-알츠하이머 상태의 하나 이상의 증상을 개선;
- (4) 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선;
- (5) 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방 또는 지연;
- (6) 알츠하이머병의 하나 이상의 증상을 개선;
- (7) 알츠하이머병의 반전;
- (8) 알츠하이머병의 진행 속도 감소; 및
- (9) 노인성 황반 변성(AMD)의 진행을 늦추고, 정지시키거나 반전;

중 하나 이상을 위한, APP 특이적 BACE 억제제를 포함하는 약학적 조성물로서,

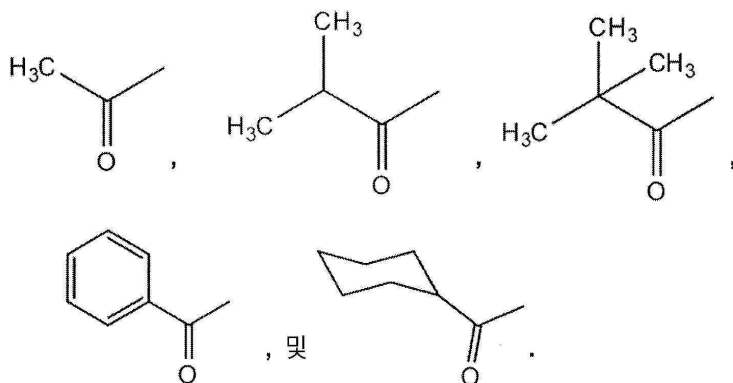
상기 APP 특이적 BACE 억제제가, 포유동물에게 투여될 경우 글란긴으로 처리되는 갈란긴 전구약물이고, 상기 갈란긴 전구약물은 다음 화학식을 특징으로 하고:



상기 화학식에서,

$R^1$ ,  $R^2$  및  $R^3$ 은 H, 또는 포유동물에서 생체내 제거되는 보호 그룹이고,  $R^1$ ,  $R^2$  및  $R^3$  중의 적어도 하나는 H가 아니고;

상기 포유동물에서 생체내 제거되는 보호 그룹은 하기로 이루어진 그룹으로부터 독립적으로 선택되고;

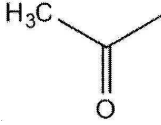


상기 전구약물이 포유동물에게 투여되는 경우 APP의 BACE 처리를 부분적으로 또는 완전하게 억제하는 약학적 조성물.

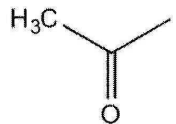
청구항 2

청구항 1에 있어서,  $R^1$  이 H인 약학적 조성물.

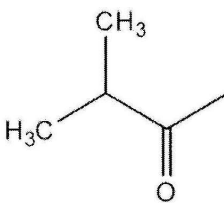
청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서,  $R^2$ ,  $R^3$ , 또는  $R^2$  및  $R^3$  둘 다  인 약학적 조성물.

청구항 4

청구항 3에 있어서,  $R^2$  및  $R^3$  둘 다  인 약학적 조성물.

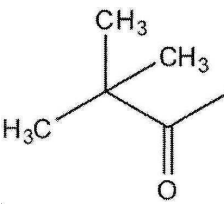
청구항 5

청구항 1 또는 2에 있어서,  $R^2$ ,  $R^3$ , 또는  $R^2$  및  $R^3$  둘 다  인 약학적 조성물.

청구항 6

청구항 5에 있어서,  $R^2$  및  $R^3$  둘 다  인 약학적 조성물.

청구항 7

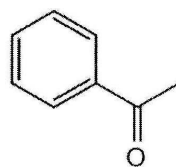
청구항 1 또는 2에 있어서,  $R^2$ ,  $R^3$ , 또는  $R^2$  및  $R^3$  둘 다  인 약학적 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서,  $R^2$  및  $R^3$  둘 다  인 약학적 조성물.

청구항 9

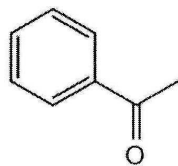
청구항 1 또는 2에 있어서,  $R^2$ ,  $R^3$ , 또는  $R^2$  및  $R^3$  둘 다



인 약학적 조성물.

청구항 10

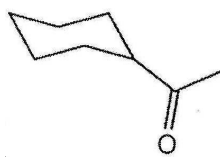
청구항 9에 있어서,  $R^2$  및  $R^3$  둘 다



인 약학적 조성물.

청구항 11

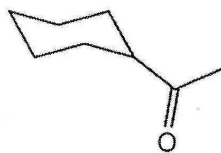
청구항 1 또는 2에 있어서,  $R^2$ ,  $R^3$ , 또는  $R^2$  및  $R^3$  둘 다



인 약학적 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서,  $R^2$  및  $R^3$  둘 다



인 약학적 조성물.

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제



청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

청구항 168

삭제

청구항 169

삭제

청구항 170

삭제

청구항 171

삭제

청구항 172

삭제

청구항 173

삭제

청구항 174

삭제

청구항 175

삭제

청구항 176

삭제

청구항 177

삭제

청구항 178

삭제

청구항 179

삭제

청구항 180

삭제

청구항 181

삭제

청구항 182

삭제

청구항 183

삭제

청구항 184

삭제

청구항 185

삭제

청구항 186

삭제

청구항 187

삭제

청구항 188

삭제

청구항 189

삭제

청구항 190

삭제

청구항 191

삭제

청구항 192

삭제

청구항 193

삭제

청구항 194

삭제

청구항 195

삭제

청구항 196

삭제



청구항 197

삭제

청구항 198

삭제

청구항 199

삭제

청구항 200

삭제

청구항 201

삭제

청구항 202

삭제

청구항 203

삭제

청구항 204

삭제

청구항 205

삭제

청구항 206

삭제

청구항 207

삭제

청구항 208

삭제

청구항 209

삭제

청구항 210

삭제

청구항 211

삭제

청구항 212

삭제

청구항 213

삭제

청구항 214

삭제

청구항 215

삭제

청구항 216

삭제

청구항 217

삭제

청구항 218

삭제

청구항 219

삭제

청구항 220

삭제

청구항 221

삭제

청구항 222

삭제

청구항 223

삭제

청구항 224

삭제

청구항 225

삭제

청구항 226

삭제

청구항 227

삭제

청구항 228

삭제

청구항 229

삭제

청구항 230

삭제

청구항 231

삭제

청구항 232

삭제

청구항 233

삭제

청구항 234

삭제

청구항 235

삭제

청구항 236

삭제

청구항 237

삭제

청구항 238

삭제

청구항 239

삭제

청구항 240

삭제

청구항 241

삭제

청구항 242

삭제

청구항 243

삭제

청구항 244

삭제

청구항 245

삭제

청구항 246

삭제

청구항 247

삭제

청구항 248

삭제

청구항 249

삭제

청구항 250

삭제

청구항 251

삭제

청구항 252

삭제

청구항 253

삭제

청구항 254

삭제

청구항 255

삭제

청구항 256

삭제

청구항 257

삭제

청구항 258

삭제

청구항 259

삭제

청구항 260

삭제

청구항 261

삭제

청구항 262

삭제

청구항 263

삭제

청구항 264

삭제

청구항 265

삭제

청구항 266

삭제

청구항 267

삭제

청구항 268

삭제

청구항 269

삭제

청구항 270

삭제

청구항 271

삭제

## 발명의 설명

## 기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본원은 2012년 11월 20일자에 출원된 USSN 제61/728,688호 및 2012년 3월 19일자에 출원된 USSN 제61/612,848호의 이익 및 우선권을 주장하고, 이들 모두는 모든 목적을 위해 이들의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 정부 지원의 진술

[0004] 본 연구는 국립 위생 연구소의 노화에 관한 국립 연구소로부터 증서 번호 R01 AG034427에 의해 부분적으로 지원되었다. 정부는 본 발명에 일정한 권리를 갖는다.

## 배경 기술

- [0005] 아밀로이드  $\beta$  펩티드( $A\beta$ )는 증가하는 수의 병리에서 역할을 하는 것으로 간주되는 베타 아밀로이드 피브릴 및 플라크의 주요 성분이다. 이러한 병리의 예는, 알츠하이머병, 다운 증후군, 파킨슨병, 기억 상실(알츠하이머병 및 파킨슨병과 관련된 기억 상실 포함), 주의력 결핍 증상(알츠하이머병, 파킨슨병 및 다운 증후군과 관련된 주의력 결핍 증상 포함), 치매(전노인성 치매, 노인성 치매, 알츠하이머병, 파킨슨병 및 다운 증후군과 관련된 치매 포함), 진행성 핵상 마비, 피질 기저 변성, 신경변성, 후각 손상(알츠하이머병, 파킨슨병 및 다운 증후군과 관련된 후각 손상 포함),  $\beta$ -아밀로이드 혈관증(뇌 아밀로이드 혈관증 포함), 유전성 뇌 출혈, 가벼운 인지 장애("MCI"), 아밀로이드증, 타입 II 당뇨병, 혈액 투석( $\beta_2$  마이크로글로불린 및 이로부터 생성되는 합병증, 신경변성 질환, 예를 들어, 스크래피, 소 스폰지형 뇌염, 크로이츠펠트-야콥병(Creutzfeldt Jakob disease), 외상성 뇌 손상 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0006]  $A\beta$  펩티드는 아밀로이드 전구체 단백질("APP")이라 명칭되는 막 관통 단백질의 단백질분해에 의해 생성되는 짧은 펩티드이다.  $A\beta$  펩티드는  $A\beta$ 의 N-말단 근처의 위치에서  $\beta$ -세크레타제 활성화에 의한, 그리고  $A\beta$ 의 C-말단 근처의 위치에서  $\gamma$ -세크레타제 활성화에 의해 APP의 절단으로부터 제조된다. (APP는 또한  $\alpha$ -세크레타제 활성화에 의해 절단되어 가용성 APP $\alpha$ 로서 공지된 분비된 비-아밀로이드형성 단편을 형성한다).  $\beta$  부위 APP 절단 효소("BACE-1")는  $\beta$ -세크레타제 활성화에 의한  $A\beta$ 의 생산의 원인인 주요한 아스파틸 프로테아제로서 간주된다. BACE-1의 억제제는  $A\beta$ 의 생산을 억제하는 것으로 나타났다.
- [0007] 알츠하이머병(AD)은 전세계에서 2,000만명 이상의 사람을 괴롭히는 것으로 추산되고, 치매의 가장 일반적인 원인인 것으로 간주된다. 세계 인구가 고령화됨에 따라, 알츠하이머병(AD, 현재 미국에서 약 540만명)을 앓고 있는 사람의 수는 계속 증가한다. 알츠하이머는 진행성 치매 및 기억 상실과 관련된 신경변성 질환이다. AD의 두 개의 중요한 특성은 특정의 뇌 영역에서 AD에서 응집된  $A\beta$  펩티드를 함유하는 세포의 침착물의 축적 및 신경 시냅스 손실이다. AD 병인이 복잡하지만, 경쟁하는 유전적 및 생화학적 증거는,  $A\beta$ 의 과잉 생산, 또는 이 펩티드의 제거 실패가 주로 아밀로이드 침착을 통해 AD를 유도하는 아밀로이드 캐스케이드에서의 최초 이벤트이고, 이는 AD-영향받은 뇌 조직을 특징화하는 신경원섬유 엉킴 형성, 신경 기능장애 및 소아교세포 활성화에 관련되는 것으로 추정됨을 제시한다.
- [0008]  $A\beta$ 의 축적은 경쟁하는 유전적 및 생화학적 증거로부터 식별되는 바와 같이 신경변성을 유도하는 복합 캐스케이드에서의 최초 이벤트로서 간주된다. 아밀로이드 캐스케이드 가설(참조: Hardy and Allsop (1991) Trends Pharmacol. Sci., 12: 383-388; Selkoe (1996) J. Biol. Chem., 271: 18295-18298; Hardy (1997) Trends Neurosci., 20: 154-159; Hardy and Selkoe (2002) Science, 297: 353-356)은  $A\beta$ 의 과잉생산 또는 이 펩티드의 제거 실패가 주로 아밀로이드 침착을 통해 AD를 유도하고, 이는 AD-영향받은 뇌 조직의 특징인 신경원섬유 엉킴 형성, 신경 기능장애 및 소아교세포 활성화에 관련되는 것으로 추정된다(참조: Busciglio et al.(1995) Neuron, 14: 879-888; Gotz et al. (1995) EMBO J., 14: 1304-1313; Lewis et al.(2001) Science, 293: 1487-1491; Hardy et al. (1985) Nat Neurosci., 1: 355-358)는 것을 나타낸다.
- [0009] AD 병인에서  $A\beta$ 의 원인이 되는 역할을 고려하면,  $A\beta$  수준을 저하시키거나 신경독성  $A\beta$  종의 형성을 예방하는 신규한 치료 전략이 상기 질환의 진행을 예방하거나 늦추는 방법으로서 제시되었다. 사실, 지난 십년간의 주요한 초점은 뇌  $A\beta$  생산 및 응집을 억제하고, 간질성  $A\beta$  클리어런스를 증가시키고,  $A\beta$ -유도 세포사를 방해하는 것이었다.
- [0010] 막 결합된 프로테아제  $\beta$ -세크레타제 및  $\gamma$ -세크레타제에 의한 APP의 순차적 절단은  $A\beta$ 의 형성을 유도한다.  $\beta$ -세크레타제 경로에 대한 경쟁하는 단백질분해 경로  $\alpha$ -세크레타제 경로는  $A\beta$  도메인 내에서 APP의 절단을 유도하고, 이에 의해  $A\beta$ 의 발생을 배제한다(참조: Selkoe (2001) Physiol. Rev., 81: 741-766; Hussain et al. (1999) Mol. Cell. Neurosci., 14: 419-427; Sinha et al. (1999) Nature, 402: 537-540; Vassar et al. (1999) Science, 286: 735-741).  $\beta$ -부위 APP 절단 효소-1(BACE1)은  $\beta$ -아밀로이드형성 경로에서 APP의 최초 절단을 매개하는 주요한  $\beta$ -세크레타제 활성으로서 확인된다(상기와 동일).
- [0011] BACE1은 특히 펩신 계열로부터 진핵생물 아스파르트산 프로테아제에 대한 상동성을 갖는 501 아미노산 단백질이다(참조: Yan et al. (1999) Nature, 402: 533-537). 기타 아스파르트산 프로테아제와 유사하게, BACE1은 성숙 단백질을 방출시키는 푸린에 의해 절단되는 프로도메인을 갖는 효소원으로서 합성된다. BACE1은 APP를 절단하여 엑토도메인(sAPP $\beta$ )을 세포외 공간으로 방출시키기 위한 관강 활성 부위를 갖는 타입-I 막 관통 단백질이다. 잔류하는 C-말단 단편(CTF)은  $\gamma$ -세크레타제에 의해 추가로 절단되어  $A\beta$  및 APP 세포내 C-말단 도메인(AICD)의 방출을 유도한다.
- [0012] 프레세닐린은 APP의 부정확한 절단이 C-말단에서 몇 개의 아미노산에 의해 길이가 변화하는  $A\beta$  펩티드의 스펙

트럼을 생성하는  $\gamma$ -세크레타제의 주요한 효소 성분인 것으로 제안되었다.  $A\beta$ 의 대부분은 통상적으로 아미노산 40( $A\beta$  40)에서 종결되지만, 42-아미노산 변이체( $A\beta$  42)는 응집에 대해 보다 민감한 것으로 나타났고, 노인성 플라크 형성의 핵을 이루는 것으로 가정되었다.  $\gamma$ -세크레타제의 조절은 또한 38-아미노산 변이체( $A\beta$  38)의 증가를 유도할 수 있다. 경쟁하는  $\alpha$ -세크레타제 경로는  $\alpha$ - 및  $\gamma$ -세크레타제에 의한 순차적 절단의 결과이다. 디스인테그린 및 메탈로프로테아제 계통의 3개의 메탈로프로테아제(ADAM 9, 10, 및 17)는  $\alpha$ -세크레타제 활성화에 대한 후보로서 제안되었고, 이는  $A\beta$  서열 내의 위치 16에서 APP를 절단한다. 과발현 실험을 사용하여, ADAM-10은 APP를 절단하기 위한 가능성 있는  $\alpha$ -세크레타제인 것으로 나타났다(참조: Vassar (2002) Adv. Drug Deliv. Rev., 54: 1589-1602; Buxbaum et al. (1998) J. Biol. Chem., 273: 27765-27767; Koike et al. (1999) Biochem. J., 343(Pt 2): 371-375). 이 절단은 또한 신경보호성 기능을 나타내는 엑토도메인(sAPP $\alpha$ )을 방출시킨다(참조: Lammich et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96: 3922-3927). 83-아미노산 CTF(C83)의 후속적 절단은 비-아밀로이드형성성인 p3, 및 AICD를 방출시킨다(참조: Furukawa et al. (1996) J. Neurochem., 67: 1882-1896). 이러한 단편의 기능은, AICD가 세포내 시그널링을 매개하는 것으로 가정되지만, 완전히 해명되지는 않는다.

[0013] 아밀로이드 전구체 단백질(APP)로부터  $A\beta$ 의 생성을 조절하는 대사 경로를 명확하게 하는 연구는  $\beta$ - 또는  $\gamma$ -세크레타제의 억제가  $A\beta$  생산을 제한하기 때문에,  $A\beta$ 를 생성하는 세크레타제가 우수한 치료 표적이라는 것을 나타낸다.  $\beta$ -세크레타제가 APP 처리를 개시하고, 따라서  $A\beta$ 의 생성에서 속도 제한 단계로서, 즉 이의 억제로서 작용한다는 사실은 많은 연구 그룹의 노력을 유인했다. 특허문헌으로부터의 예들이 증가하고 있고, 예를 들어, W02006009653, W02007005404, W02007005366, W02007038271, W02007016012, US2005/0282826, US2007072925, W02007149033, W02007145568, W02007145569, W02007145570, W02007145571, W02007114771, US20070299087, W02005/016876, W02005/014540, W02005/058311, W02006/065277, W02006/014762, W02006/014944, W02006/138195, W02006/138264, W02006/138192, W02006/138217, W02007/050721, W02007/053506, W02007/146225, W02006/138230, W02006/138265, W02006/138266, W02007/053506, W02007/146225, W02008/073365, W02008/073370, W02008/103351, US2009/041201, US2009/041202, 및 W02010/047372를 포함한다.

[0014] 프로테아제 억제 전략의 제한은 제공된 표적화 프로테아제, 예를 들어, BACE 또는  $\gamma$ -세크레타제 복합체의 모든 기질의 절단의 억제이다.  $\gamma$ -세크레타제의 경우, APP 이외의 기질, 예를 들어, 노치(Notch)는  $\gamma$ -세크레타제 억제의 잠재적인 부작용 및  $\gamma$ -세크레타제 억제제의 최근 실패에 대한 관심을 일으킨다. 세마가세스타트는 이러한 관심을 강화시키는 역할을 한다.

[0015] BACE는  $A\beta$  42의 생산 및 알츠하이머병(AD) 병리를 유도하는 APP의 처리에 관여하는 중요한 효소이다. BACE-1(또한 BACE라 명칭됨)은 이의 발견 이후로 인기있는 연구 분야가 되었고, 아마도 약제학적 연구를 위한 가장 유망한 표적으로서  $\gamma$ -세크레타제를 능가한다. 표적으로서  $\gamma$ -세크레타제가 갖는 하나의 문제는 신경 발달에서 중요한 기능을 담당하는 노치(Notch)의 이의 공지된 절단이다. 프레세닐린 녹아웃 마우스는 비정상적인 체질형성 및 짧은 신장을 갖는 축 골격 발달 뿐만 아니라 뇌 출혈을 증명한다(참조: Shen et al. (1997) Cell, 89: 629-639; Wong et al. (1997) Nature, 387: 288-292). 대조적으로, 몇몇 그룹은, BACE1 녹아웃 마우스가 건강하고, 어떤 부작용 신호도 나타내지 않음을 기록하는(참조: Luo et al. (2001) Nat. Neurosci., 4: 231-232; Roberds et al. (2001) Hum. Mol. Genet., 10: 1317-1324) 반면, 한 그룹은 다르게 생존가능하고 번식 능력이 있는 마우스에서 예민한 신경화학적 결핍 및 행동 변화를 주의한다(참조: Harrison et al. (2003) Mol. Cell Neurosci., 24: 646-655). 최근 연구가, BACE1 녹아웃 마우스가 말초 신경의 저수초형성을 나타냄을 보여주지만(참조: Willem et al. (2006) Science, 314: 664-666), 수초형성이 이미 발생한 성인 동물에서 BACE1 억제 결과는 불명확하다. 최근에, BACE1은 ST6Gal I, PSGL-1, 전압 개폐된 나트륨 채널의 서브유닛, APP형 단백질(APLPs), LDL 수용체 관련 단백질(LRP) 및, 가장 최근에 타입 III 뉴레굴린 1(NRG1)을 포함하는 다수의 기질을 절단하는 것으로 보고되어 있다(참조: Willem et al. (2006) Science, 314: 664-666; Hu et al. (2006) Nat. Neurosci., 9: 1520-1525). 따라서, BACE1을 직접 억제하는 결과는 아직 완전히 이해되지 않는다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0016] 전이-상태 억제제와 복합체 형성된 BACE-1 활성 부위의 분자 모델링(참조: Sauder et al. (2000) J. Mol.

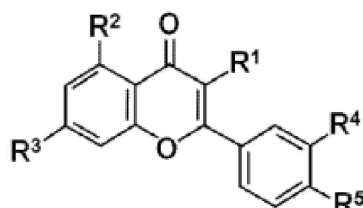
Biol, 300: 241-248) 및 후속적인 X-선 결정학(참조: Hong et al. (2000) Science, 290: 150-153; Maillard et al. (2007) J. Med. Chem., 50: 776-781)은 BACE-1-기질 상호작용에 대한 중요한 정보를 제공한다. 구조적으로, BACE-1 활성 부위는 기타 아스파틸 프로테아제보다 더 개방적이고 덜 소수성이어서 효과적인 생체내 BACE 억제제 후보의 개발을 어렵게 한다. 직접 BACE 억제제의 개발에 초점을 맞춘 거대한 약물 발견 노력이 존재하지만, 지금까지 임상 시험에 있어서 어떤 것도 현저하게 진전되지 않았다.

[0017] LY2811376 및 CTS21166과 같은 몇몇 BACE 억제제는 임상 시험에 들어가지만, 안전상의 이유로 임상-1을 초과하여 진행하지 못했다. BACE의 기타 생리학적 기질의 발견은 BACE 억제제 또는 BACE 조절제의 임상적 개발에서 주요한 관심을 일으키고, 질환 치료제로서 이러한 억제제의 발전에서 상당한 장애일 수 있다.

## 과제의 해결 수단

[0018] 요약

[0019] 특정 구현예에서, APP-특이적(또는 APP-선택적) BACE 억제제(ASBI)로서 작용하는 것으로 간주되는 플라보노이드 및 이의 유도체 또는 유사체(및 이의 전구약물)가 확인되었다. 각종 구현예에 있어서, 플라보노이드는 다음 화학식에 의해 특징화될 수 있다:



[0020]

[0021] 상기 화학식에서,

[0022] R<sup>1</sup>은 OH, O-사카라이드, O-알킬, O-트리플루오로메틸, O-아릴, O-헤테로아릴 및 카바메이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0023] R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는 독립적으로 H, OH, NH<sub>2</sub>, O-알킬, O-트리플루오로메틸, S-알킬, S-아릴, 카복실레이트, 할로젠, NH-알킬, N,N-디알킬, NHCO-알킬, 및 헤테로아릴, 알킬 우레아 및 카바메이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

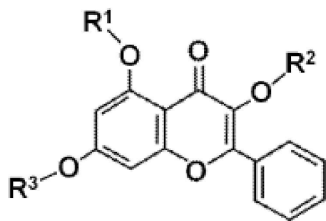
[0024] R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 독립적으로 H, OH, NH<sub>2</sub>, O-알킬, O-트리플루오로메틸, S-알킬, S-아릴, 카복실레이트, 할로젠, NH-알킬, N,N-디알킬, NHCO-알킬, 및 헤테로아릴, 알킬 우레아 및 카바메이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0025] 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및/또는 R<sup>3</sup>은 OH이다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup>는 OH이고, R<sup>3</sup>은 OH이다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및/또는 R<sup>3</sup>은 독립적으로 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 독립적으로 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬로 이루어진 그룹(예를 들어, 상기 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬의 알킬 성분은 C<sub>1-12</sub> 알킬, 또는 C<sub>1-9</sub> 알킬, 또는 C<sub>1-6</sub> 알킬, 또는 C<sub>1-3</sub> 알킬이다)으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및/또는 R<sup>3</sup>은 할로젠(예: Cl, Br, F, I 등)이다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup>는 할로젠이고, R<sup>3</sup>은 할로젠이다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및/또는 R<sup>3</sup>은 독립적으로 Cl, Br, F, I 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및/또는 R<sup>3</sup>은 S-아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 독립적으로 선택된 S-아릴이다. 특정 구현예에서, R<sup>2</sup> 및 R<sup>3</sup>은 독립적으로 선택된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup> 및/또는 R<sup>5</sup>는 OH이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup>는 H이고, R<sup>5</sup>는 OH이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup>는 OH이고, R<sup>5</sup>는 H이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup>는 OH이고, R<sup>5</sup>는 OH이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup> 및/또는 R<sup>5</sup>는 H이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup>는 H이고, R<sup>5</sup>는 H이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup> 및/또는 R<sup>5</sup>가 OH일 경우, R<sup>1</sup>은 O-사카라이드이다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup> 및/또는 R<sup>5</sup>는 독립적으로 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, R<sup>4</sup> 및 R<sup>5</sup>는 독립적으로 O-알킬, S-알킬,



NH-알킬 및 NHCO-알킬로 이루어진 그룹(예를 들어, 상기 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬의 알킬 성분은  $C_{1-12}$  알킬, 또는  $C_{1-9}$  알킬, 또는  $C_{1-6}$  알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬이다)으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 할로젠이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 할로젠이고,  $R^5$ 는 할로젠이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 독립적으로 Cl, Br, F 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 S-아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및  $R^5$ 는 독립적으로 선택된 S-아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및  $R^5$ 는 독립적으로 선택된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 O-사카라이드(예: O-모노사카라이드, O-디사카라이드, O-트리사카라이드)이다. 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 O-알킬, O-트리플루오로메틸, O-아릴 또는 O-헤테로아릴이다. 특정 구현예에서, APP 특이적(또는 선택적) BACE 억제제는 갈란긴 또는 이의 유도체이다. 특정 구현예에서, APP 특이적 BACE 억제제는 갈란긴이다. 특정 구현예에서, APP 특이적 BACE 억제제는 루틴 또는 이의 유도체이다. 특정 구현예에서, APP 특이적 BACE 억제제는 루틴이다.

[0026] 각종 구현예에서, ASBI 전구약물이 제공된다. 특정 구현예에서, 전구약물은 포유동물에게 투여될 경우 글란긴으로 처리되는 갈란긴 전구약물이다. 예시적 갈란긴 전구약물(들)은, 다음 화학식을 특징으로 하는 갈란긴 전구약물을 포함하나, 이에 국한되지 않으며, 전구약물은 포유동물에게 투여될 경우 APP의 BACE 처리를 부분적으로 또는 완전히 억제한다:

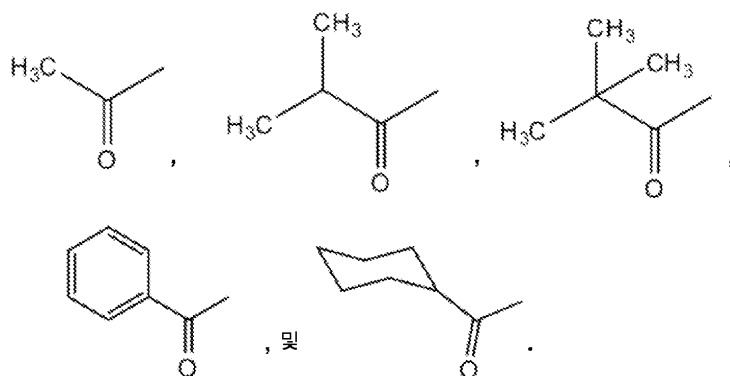


[0027]

[0028] 상기 화학식에서,

[0029]  $R^1$ ,  $R^2$  및  $R^3$ 은 H, 또는 포유동물에서 생체내 제거되는 보호 그룹이고,  $R^1$ ,  $R^2$  및  $R^3$  중의 적어도 하나는 H가 아니다.

[0030] 특정 구현예에서,  $R^1$ ,  $R^2$  및  $R^3$  중의 적어도 하나는 하기로 이루어진 그룹으로부터 독립적으로 선택된다:



[0031]

[0032] 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 H이고,  $R^2$  및  $R^3$ 은 동일하거나 상이하고, 상기 제시된 그룹의 임의의 조합을 포함한다. 특정 구현예에서, 전구약물은 도 1 및/또는 도 2에 도시된 화학식을 갖는다.

[0033] 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 ASBI 및/또는 ASBI 전구약물이 주요 활성 성분인 약제학적 제형으로서 제공된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 유일한 약제학적 활성 성분이다(예를 들어, 여기서 약제학적 활성은 BACE의 억제이다). 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 어떤 기타 성분도 신경약리학적 또는 신경정신병학적 활성을 위해 제공되지 않은 약제학적 제형으로 제공된다.

[0034] 특정 구현예에서, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키거나/시키거나, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키는 방법이 제공된다. 상기 방법은 이를 필요로 하는 대

상자에게 APP 특이적 BACE 억제제(ASBI) 및/또는 ASBI 전구약물을 전-알츠하이머 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키기에 충분한 양으로 투여함(또는 투여되도록 적용시킴)을 전형적으로 포함한다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 본원에 기술된 바와 같은(예: 상기한 바와 같은) ASBI 플라보노이드 및/또는 ASBI 전구약물을 포함한다. 특정 구현예에서, ASBI는 갈란긴이고/이거나, ASBI 전구약물은 갈란긴 전구약물이다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물(예: 갈란긴 및/또는 갈란긴 전구약물)은 ASBI가 주요 활성 성분인 약제학적 제형으로 투여된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물(예: 갈란긴 및/또는 갈란긴 전구약물)은 ASBI 및/또는 ASBI 전구약물이 유일한 약제학적 활성 성분인 약제학적 제형으로 투여된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물(예: 갈란긴 및/또는 갈란긴 전구약물)은 약제학적 제형으로 투여되고, 어떠한 기타 제제도 신경약리학적 또는 신경정신병학적 활성을 위해 제공되지 않는다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 인지적 무증상 전-알츠하이머 상태로 부터 전-알츠하이머 인지 기능장애로 전이를 예방하거나 지연시키는 방법이다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 전-알츠하이머 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키는 방법이다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 전-알츠하이머 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시킴을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 방법은 전-알츠하이머 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시킴을 포함하는 방법이다. 특정 구현예에서, 대상자는 임상적으로 정상인 사람 대상자 연령 50세 이상, 또는 55세 이상, 또는 60세 이상, 또는 65세 이상, 또는 70세 이상, 또는 75세 이상, 또는 80세 이상에서 Aβ의 바이오마커 양성을 나타낸다. 특정 구현예에서, 대상자는 무증상 뇌 아밀로이드증을 나타낸다. 특정 구현예에서, 대상자는 다운스트림 신경변성과 함께 뇌 아밀로이드증을 나타낸다. 특정 구현예에서, 대상자는 다운스트림 신경변성 및 예민한 인지/행동 저하와 함께 뇌 아밀로이드증을 나타낸다. 특정 구현예에서, 다운스트림 신경변성은 tau 및 FDG 흡수로 이루어진 그룹으로부터 선택된 신경 손상의 하나 이상의 상승된 마커로 측정된다. 특정 구현예에서, 뇌 아밀로이드증은 PET, 또는 CSF 분석, 및/또는 구조적 MRI(sMRI)로 결정된다. 특정 구현예에서, 대상자는 가벼운 인지 기능장애를 진단받은 대상자이다. 특정 구현예에서, 대상자는 임상적 치매 등급 0 초과 및 약 1.5 미만을 나타낸다. 특정 구현예에서, 대상자는 사람이다. 특정 구현예에서, 대상자는 알츠하이머병을 발병시킬 위험이 있는 대상자이다. 특정 구현예에서, 대상자는 알츠하이머병을 갖는 가족성 위험을 갖는다. 특정 구현예에서, 대상자는 가족성 알츠하이머병(FAD) 돌연변이를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상자는 APOE ε4 대립유전자를 갖는다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물의 투여는 MCI의 알츠하이머병으로의 진행을 지연시키거나 예방한다. 특정 구현예에서, 대상자는 파킨슨병 또는 정신분열병의 유전적 위험 인자로부터 자유롭거나 이를 갖지 않는다. 특정 구현예에서, 대상자는 파킨슨병 또는 정신분열병을 갖거나 이의 위험에 있는 것으로 진단되지 않는다. 특정 구현예에서, 대상자는 알츠하이머병 이외의 신경학적 질환 또는 장애의 위험에 있는 것으로 진단되지 않는다. 특정 구현예에서, 투여는 총-Tau (tTau), 포스포-Tau (pTau), APPneo, 가용성 Aβ40, pTau/Aβ42 비 및 tTau/Aβ42 비로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성분의 CSF의 수준의 감소 및/또는 Aβ42/Aβ40 비, Aβ42/Aβ38 비, sAPPα, sAPPα/sAPPβ 비, sAPPα/Aβ40 비, 및 sAPPα/Aβ42 비로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성분의 CSF의 수준의 증가를 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 뇌 내에서 플라크 부하의 감소를 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 뇌 내에서 플라크 형성 속도의 감소를 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 인지 능력의 개선을 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 임상적 치매 등급(CDR)의 저하율에서 개선, 안정화 또는 감소를 초래한다. 특정 구현예에서, 대상자는 사람이고, 투여는 사람에 의한 생활의 질의 지각된 개선을 초래한다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 경구 전달, 이온이동(isophoretic) 전달, 경피 전달, 비경구 전달, 에어로졸 투여, 흡입에 의한 투여, 정맥내 투여, 눈에 국소 투여, 안내 주사 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여된다. 특정 구현예에서, 화합물은 경구 투여된다. 특정 구현예에서, 투여는 적어도 3주의 기간 동안이거나 적어도 6개월의 기간 동안이거나 적어도 1년의 기간 동안이다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 이온이동 전달, 경피 전달, 에어로졸 투여, 흡입에 의한 투여, 경구 투여, 정맥내 투여, 눈에 국소 전달, 안내 주사 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 아세틸콜린 에스테라제 억제제(예: 타크린이피다크린, 갈란타민, 도네페질, 이코페질, 자나페질, 리바스티그민, 나멘다, 후페르진 A, 펜세린, 피소스티그민, 네오스티그민, 피리도스티그민, 암베노늄, 데마카륨, 에드로포늄, 라도스티길 및 운게레민, 메트리포네이트 등)는 ASBI 및/또는 ASBI 전구약물과 함께 투여되지 않는다.

[0035] 각종 구현예에서, 알츠하이머병의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 알츠하이머병을 반전시키고/시키거나 알츠하이머병의 진행 속도를 감소시키는 방법이 제공된다. 상기 방법은 통상적으로 이를 필요로 하는 대상자에게 APP 특이적 BACE 억제제(ASBI) 및/또는 ASBI 전구약물을 알츠하이머병의 하나 이상의 증상을 개선시키고

/시키거나, 알츠하이머병을 반전시키고/시키거나 알츠하이머병의 진행 속도를 감소시키기에 충분한 양으로 투여함(또는 투여되도록 적용시킴)을 포함한다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 본원에 기술된 바와 같은(예: 상기한 바와 같은) ASBI 플라보노이드 및/또는 ASBI 전구약물을 포함한다. 특정 구현예에서, ASBI는 갈란긴이고/이거나, ASBI 전구약물은 갈란긴 전구약물(예: 도 1 및/또는 도 2에 도시된 전구약물)이다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASIB 전구약물은 ASBI 및/또는 ASBI 전구약물이 주요 활성 성분인 약제학적 제형으로 투여된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 ASBI 및/또는 ASBI 전구약물이 유일한 약제학적 활성 성분인 약제학적 제형으로 투여된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 어떠한 기타 성분도 신경약리학적 또는 신경정신병학적 활성을 위해 제공되지 않은 약제학적 제형으로 투여된다. 특정 구현예에서, 대상자는 사람(또는 비-사람 포유동물)이다. 특정 구현예에서, 대상자는 50세 이상, 또는 55세 이상, 또는 60세 이상, 또는 65세 이상, 또는 70세 이상, 또는 75세 이상, 또는 80세 이상의 사람이다. 특정 구현예에서, 대상자는 초기 알츠하이머병을 진단받는다. 특정 구현예에서, 대상자는 중기 알츠하이머병을 진단받는다. 특정 구현예에서, 대상자는 후기 알츠하이머병을 진단받는다. 특정 구현예에서, 투여는 알츠하이머병의 중증도를 감소시킨다. 특정 구현예에서, 투여는 알츠하이머병의 하나 이상의 증상을 개선시킨다. 특정 구현예에서, 투여는 알츠하이머병의 진행 속도를 감소시킨다. 특정 구현예에서, 투여는 총-Tau (tTau), 포스포-Tau (pTau), APPneo, 가용성 Aβ40, pTau/Aβ42 비 및 tTau/Aβ42 비로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성분의 CSF의 수준의 감소 및/또는 Aβ42/Aβ40 비, Aβ42/Aβ38 비, sAPPα, sAPPα/sAPPβ 비, sAPPα/Aβ40 비, 및 sAPPα/Aβ42 비로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성분의 CSF의 수준의 증가를 유도하고, 인지적 무증상 전-알츠하이머 상태로부터 전-알츠하이머 인지 기능장애로 전이를 예방하거나 지연시키는 방법이다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 뇌 내에서 플라크 부하의 감소를 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 뇌 내에서 플라크 형성 속도의 감소를 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 인지 능력의 개선을 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 대상자의 임상적 치매 등급(CDR)의 저하율에서 개선, 안정화 또는 감소를 초래한다. 특정 구현예에서, 대상자는 사람이고, 상기 투여는 사람에 의한 생활의 질의 지각된 개선을 초래한다. 특정 구현예에서, 투여는 감소된 뇌 아밀로이드증 및/또는 다운스트림 신경변성을 유도한다. 특정 구현예에서, 다운스트림 신경변성은 tau, FDG 흡수, sAPPα의 감소, sAPPβ의 증가 및 Aβ로 이루어진 그룹으로부터 선택된 신경 손상의 하나 이상의 마커로 측정된다. 특정 구현예에서, 뇌 아밀로이드증은 PET, CSF 분석 및 구조적 MRI(sMRI)에 의해 측정된다. 특정 구현예에서, 대상자는 알츠하이머병인 임상적 치매 등급 지표를 나타낸다. 특정 구현예에서, 대상자는 알츠하이머병을 갖는 가족성 위험을 갖는다. 특정 구현예에서, 대상자는 가족성 알츠하이머병(FAD) 돌연변이를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상자는 APOE ε4 대립유전자를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상자는 파킨슨병 또는 정신분열병의 유전적 위험 인자로부터 자유롭거나 이를 갖지 않는다. 특정 구현예에서, 대상자는 파킨슨병 또는 정신분열병을 갖거나 이의 위험에 있는 것으로 진단되지 않는다. 특정 구현예에서, 대상자는 알츠하이머병 이외의 신경학적 질환 또는 장애를 갖지 않는다. 특정 구현예에서, 대상자는 알츠하이머병 이외의 신경학적 질환 또는 장애를 갖거나 이의 위험에 있는 것으로 진단되지 않는다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ABSI 전구약물은 경구 전달, 이온이동 전달, 경피 전달, 비경구 전달, 에어로졸 투여, 흡입에 의한 투여, 정맥내 투여, 피하 투여, 눈에 국소 투여, 안내 주사 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ABSI 전구약물은 경구 전달, 이온이동 전달, 경피 전달, 비경구 전달, 에어로졸 투여, 흡입에 의한 투여, 정맥내 투여 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 경구 투여된다. 특정 구현예에서, 투여는 적어도 3주의 기간 동안이거나 적어도 6개월의 기간 동안이거나 적어도 1년의 기간 동안이다. 특정 구현예에서, 아세틸콜린에스테라제 억제제(예: 타크린이피다크린, 갈란타민, 도네페질, 이코페질, 자나페질, 리바스티그민, 나멘다, 후페르진 A, 펜세린, 피소스티그민, 네오스티그민, 피리도스티그민, 암베노늄, 데마카륨, 에드로포늄, 라도스티길 및 운케레민, 메트리포네이트 등)는 ASBI 및/또는 ASBI 전구약물과 함께 투여되지 않는다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ABSI 전구약물은 경구 전달, 이온이동 전달, 경피 전달, 비경구 전달, 에어로졸 투여, 흡입에 의한 투여, 정맥내 투여 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여된다.

[0036] 각종 구현예에서, 포유동물에서 노인성 황반 변성(AMD) 및 녹내장의 진행을 늦추고, 정지시키거나 반전시키는 방법이 제공된다. 상기 방법은 통상적으로 포유동물에게 ASBI 및/또는 ASBI 전구약물을 상기 AMD 및/또는 녹내장의 하나 이상의 증상 및/또는 마커의 진행을 늦추고, 정지시키거나 반전시키고/시키거나 개선시키기에 충분한 양으로 투여함을 포함한다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ASBI 전구약물은 본원에 기술된 바와 같은(예: 상기한 바와 같은) ASBI 플라보노이드 및/또는 ASBI 전구약물을 포함한다. 특정 구현예에서, ASBI는 갈란긴이고/이거나, ASBI 전구약물은 갈란긴 전구약물(예: 도 1 및/또는 도 2에 도시된 전구약물)이다. 특정 구현예에서,

ASBI 및/또는 ABSI 전구약물은 경구 전달, 이온이동 전달, 경피 전달, 비경구 전달, 에어로졸 투여, 흡입에 의한 투여, 정맥내 투여, 피하 투여, 눈에 국소 투여, 안내 주사 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ABSI 전구약물은 경구 전달, 이온이동 전달, 경피 전달, 비경구 전달, 에어로졸 투여, 흡입에 의한 투여, 정맥내 투여 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, ASBI 및/또는 ABSI 전구약물은 눈에(예: 눈 점적 제, 안내 주사 등을 통해) 투여된다. 특정 구현예에서, 투여는 적어도 3주의 기간 동안이거나 적어도 6개월의 기간 동안이거나 적어도 1년의 기간 동안이다.

## 정의

일반적으로, 특정 원소, 예를 들어, 수소 또는 H에 대한 참조는 그 원소의 모든 동위원소를 포함하는 것을 의미한다. 예를 들어, R 그룹이 수소 또는 H를 포함하는 것으로 정의되면, 이는 또한 이중수소 및 삼중수소를 포함한다. 따라서, 동위원소 표시된 화합물들은 본 발명의 범위 내이다.

일반적으로, "치환된"은 본원에 함유된 수소원자에 대한 하나 이상의 결합이 비-수소 또는 비-탄소원자에 대한 결합으로 치환되는 이하 정의된 바와 같은 유기 그룹(예: 알킬 그룹)을 의미한다. 치환된 그룹은 또한 탄소(들) 또는 수소(들) 원자에 대한 하나 이상의 결합이 헤테로원자에 대한 이중 또는 삼중 결합을 포함하는 하나 이상의 결합으로 치환된 그룹을 포함한다. 따라서, 치환된 그룹은 다르게 구체화되지 않는 한 하나 이상의 치환체로 치환될 것이다. 일부 구현예에서, 치환된 그룹은 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 치환체로 치환된다. 치환체 그룹의 예는 할로겐(즉, F, Cl, Br 및 I); 하이드록실; 알콕시, 알켄옥시, 알킬옥시, 아릴옥시, 아르알킬옥시, 헤테로사이클릴옥시 및 헤테로사이클릴알콕시 그룹; 카보닐(옥소); 카복실; 에스테르; 우레탄; 옥심; 하이드록실아민; 알콕시아민; 아르알콕시아민; 티올; 설파이드; 설폭사이드; 설펜; 설포닐; 설펜아미드; 아민; N-옥사이드; 하이드라진; 하이드라지드; 하이드라존; 아지드; 아미드; 우레아; 아미딘; 구아니딘; 엔아민; 이미드; 이소시아네이트; 이소티오시아네이트; 시아네이트; 티오시아네이트; 이민; 니트로 그룹; 니트릴(즉, CN) 등을 포함한다.

용어 "알킬"은 정상 알킬, 측쇄 알킬, 사이클로알킬 및 또한 사이클로알킬-알킬로서 공지된 임의의 및 모든 그룹을 의미하고 포함한다. 예시적인 알킬 그룹은, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, 2급-부틸, 3급-부틸, 옥틸 및 데실을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 용어 "사이클로알킬"은 폴리사이클릭을 포함하는 사이클릭 포화된 하이드로카빌 그룹을 의미한다. 예는, 사이클로펜틸, 사이클로헥실, 디사이클로펜틸, 노르보르닐, 옥타하이드로나프틸 및 스피로[3.4]옥틸을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 특정 구현예에서, 알킬 그룹은 1 내지 12개의 탄소원자(C<sub>1-12</sub> 알킬), 또는 1 내지 9개의 탄소원자(C<sub>1-9</sub> 알킬), 또는 1 내지 6개의 탄소원자(C<sub>1-6</sub> 알킬), 또는 1 내지 5개의 탄소원자(C<sub>1-5</sub> 알킬), 또는 탄소원자(C<sub>1-4</sub> 알킬), 또는 1 내지 3개의 탄소원자(C<sub>1-3</sub> 알킬), 또는 1 또는 2개의 탄소원자(C<sub>1-2</sub> 알킬)를 함유한다.

예로써, 용어 "C<sub>1-6</sub> 알킬 그룹"은 1 내지 6개의 탄소원자를 갖는 직쇄 또는 측쇄 알킬 그룹을 의미하고, 메틸 그룹, 에틸 그룹, n-프로필 그룹, 이소프로필 그룹, n-부틸 그룹, 이소부틸 그룹, 3급-부틸 그룹, 2급-부틸 그룹, n-펜틸 그룹, 3급-아밀 그룹, 3-메틸부틸 그룹, 네오펜틸 그룹 및 n-헥실 그룹으로 예시될 수 있다.

본원에 사용된 용어 "알콕시"는 단일 말단 산소원자를 통해 결합된 알킬 그룹을 의미한다. "알콕시" 그룹은 알킬이 상기 정의된 바와 같은 --O-알킬로서 나타낼 수 있다. 용어 "아릴옥시"는 유사한 방식으로 사용되고, 이하 정의되는 바와 같은 아릴을 갖는 --O-아릴로서 나타낼 수 있다. 용어 "하이드록시"는 --OH를 의미한다.

유사하게, 본원에 사용된 용어 "알킬티오"는 단일 말단 황원자를 통해 결합된 알킬 그룹을 의미한다. "알킬티오" 그룹은 알킬이 상기 정의된 바와 같은 --S-알킬로서 나타낼 수 있다. 용어 "아릴티오"는 유사하게 사용되고, 이하 정의되는 바와 같은 아릴을 갖는 --S-아릴로서 나타낼 수 있다. 용어 "머캅토"는 --SH를 의미한다.

아릴 그룹은 헤테로원자를 함유하지 않는 사이클릭 방향족 탄화수소이다. 아릴 그룹은 모노사이클릭, 바이사이클릭 및 폴리사이클릭 환 시스템을 포함한다. 따라서, 아릴 그룹은, 페닐, 아줄레닐, 헵탈레닐, 바이페닐레닐, 인다세닐, 플루오레닐, 펜안트레닐, 트리페닐레닐, 피레닐, 나프타세닐, 크리세닐, 바이페닐, 안트라세닐, 인데닐, 인다닐, 헵탈레닐 및 나프틸 그룹을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 일부 구현예에서, 아릴 그룹은 6 내지 14개의 탄소원자를 함유하고, 기타에서는 상기 그룹의 환 부분에 6 내지 12개 또는 심지어 6 내지 10개의 탄소원자를 함유한다. 어구 "아릴 그룹"이 융합된 환을 함유하는 그룹, 예를 들어, 융합된 방향족-지방족 환 시



시스템(예: 인다닐, 테트라하이드로나프틸 등)을 포함하지만, 환 원 중의 하나에 결합된 기타 그룹, 예를 들어, 알킬 또는 할로 그룹을 갖는 아릴 그룹을 포함하지 않는다. 오히려, 톨릴과 같은 그룹은 치환된 아릴 그룹으로서 언급된다. 대표적인 치환된 아릴 그룹은 일-치환되거나 한 번 이상 치환될 수 있다. 예를 들어, 일치환된 아릴 그룹은, 상기 나열된 것들과 같은 치환체로 치환될 수 있는 2-, 3-, 4-, 5- 또는 6-치환된 페닐 또는 나프틸 그룹을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0045] 용어 "헤테로아릴 그룹"은 O, S 및 N으로부터 선택된 하나 이상의 헤테로-원자를 함유하는 모노사이클릭 또는 축합된-환 방향족 헤테로사이클릭 그룹을 의미한다. 방향족 헤테로사이클릭 그룹이 축합된 환을 가질 경우, 이는 부분적으로 수소화된 모노사이클릭 그룹을 포함할 수 있다. 이러한 헤테로사이클릭 그룹의 예는 피라졸릴 그룹, 티아졸릴 그룹, 이소티아졸릴 그룹, 티아디아졸릴 그룹, 이미다졸릴 그룹, 푸릴 그룹, 티에닐 그룹, 옥사졸릴 그룹, 이소옥사졸릴 그룹, 피롤릴 그룹, 이미다졸릴 그룹, (1,2,3)- 및 (1,2,4)-트리아졸릴 그룹, 테트라졸릴 그룹, 피라닐 그룹, 피리딜 그룹, 피리미디닐 그룹, 피라지닐 그룹, 피리다지닐 그룹, 퀴놀릴 그룹, 이소퀴놀릴 그룹, 벤조푸라닐 그룹, 이소벤조푸라닐 그룹, 인돌릴 그룹, 이소인돌릴 그룹, 인다졸릴 그룹, 벤조이미다졸릴 그룹, 벤조트리아졸릴 그룹, 벤조사졸릴 그룹, 벤조티아졸릴 그룹, 벤조[b]티오펜일 그룹, 티에노[2,3-b]티오펜일 그룹, (1,2)- 및 (1,3)-벤조사티올 그룹, 크로메닐 그룹, 2-옥소크로메닐 그룹, 벤조티아디아졸릴 그룹, 퀴놀리지닐 그룹, 프탈라지닐 그룹, 나프티리디닐 그룹, 퀴녹살리닐 그룹, 퀴나졸리닐 그룹, 신놀리닐 그룹 및 카바졸릴 그룹을 포함한다.

[0046] 화합물의 "유도체"는 화학적 변형이 화합물의 하나 이상의 작용성 그룹에서 일어나는 화학적으로 변형된 화합물을 의미한다. 그러나, 유도체는 유도체가 유도되는 화합물의 약리학적 활성을 유지시키거나 향상시킬 것으로 기대된다.

[0047] 본원에 사용된 "투여하는"은, 예를 들어, 장, 비경구, 폐 및 국소/경피 투여를 포함하는 국소 및 전신 투여를 의미한다. 본원에 기술된 방법에서 용도를 찾는 제제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기한 ASBI(들), 상기한 입체이성체(들), 또한 상기한 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)의 투여 경로는, 예를 들어, 대상자에게, 예를 들어, 경구(입으로(p.o.)) 투여, 비내 또는 흡입 투여, 좌제로서 투여, 국소 접촉, 경피 전달(예: 경피 패치를 통해), 척수강내(IT) 투여, 정맥내("iv") 투여, 복강내("ip") 투여, 근육내("im") 투여, 병변내 투여 또는 피하("sc") 투여, 또는 서방출 장치, 예를 들어, 소형-삼투압 펌프, 데포 제형 등의 이식을 포함한다. 투여는 비경구 및 점막(예: 경구, 비강, 질, 직장 또는 경피)을 포함하는 임의의 경로에 의해서일 수 있다. 비경구 투여는, 예를 들어, 정맥내, 근육내, 동맥내, 피내, 피하, 복강내, 심실내, 이온영동(ionophoretic) 및 두개내(intracranial)를 포함한다. 기타 전달 방식은, 리포솜 제형, 정맥내 주입, 경피 패치 등의 사용을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0048] 용어 "전신 투여" 및 "전신적으로 투여된"은 본원에서 기술된 제제(들) 또는 조성물을 포유동물에게 투여하여 상기 제제(들) 또는 조성물이 순환계를 통해 표적화된 약제학적 활동 부위를 포함하는 신체의 부위로 전달되도록 하는 방법을 의미한다. 전신 투여는, 경구, 비내, 직장 및 비경구(예: 소화관을 통하는 것 이외, 예를 들어, 근육내, 정맥내, 동맥내, 경피 및 피하) 투여를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0049] 용어 "공-투여하는" 또는 "동시 투여" 또는 "~와 함께 투여하는"은, 예를 들어, 본원에서 기술된 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물) 및 제2 활성제(예: 인지 향상제)와 관련하여 사용될 경우, 모두가 동시에 생리학적 효과를 달성할 수 있도록 상기 제제(들) 및/제2 활성제의 투여를 의미한다. 그러나, 두 제제가 함께 투여될 필요는 없다. 특정 구현예에서, 한 제제의 투여가 다른 제제의 투여에 선행할 수 있다. 동시 생리학적 효과는 순환시 동시에 두 제제의 존재를 반드시 필요로 할 필요는 없다. 그러나, 특정 구현예에서, 공-투여는 통상적으로 두 제제가 임의의 제시된 용량에 대한 이들의 최대 혈청 농도의 상당한 분획(예: 20% 이상, 바람직하게는 30% 또는 40% 이상, 더욱 바람직하게는 50% 또는 60% 이상, 가장 바람직하게는 70% 또는 80% 또는 90% 이상)으로 신체에(예: 혈장에) 동시에 존재하도록 한다.

[0050] 용어 "유효량" 또는 "약제학적 유효량"은 목적하는 결과를 일으키기 위해 필요한 하나 이상의 제제(들)의 양 및/또는 용량, 및/또는 용량 요법, 예를 들어, 포유동물에서 가벼운 인지 장애(MCI)와 관련된 하나 이상이 증상을 진정시키기에 충분한 양, 또는 포유동물의 뇌 내에서 아밀로이드 침착물을 특징으로 하는 질환의 중증도를 경감시키거나 이의 진행을 지연시키기에 충분한 양(예: 치료학적 유효량), 포유동물의 뇌 내에서 아밀로이드 침착물을 특징으로 질환의 위험을 감소시키거나 발병을 지연시키고/시키거나 이 질환의 궁극적인 중증도를 감소시키기에 충분한 양(예: 예방적 유효량)을 의미한다.

- [0051] 어구 "투여되도록 적용시킴"은 의료 전문가(예: 의사) 또는 대상자의 의료적 보호를 지배하는 사람에 의해 행해진 적용을 의미하고, 그 적용은 대상자에게 당면의 제제(들)의 투여를 조절하고/하거나 허용한다. 투여되도록 적용시킴은 대상자에게 적합한 치료적 또는 예방적 요법의 진단 및/또는 결정, 및/또는 특별한 제제(들)의 처방을 포함할 수 있다. 이러한 처방은, 예를 들어, 처방 형태의 초안화, 의료 기록에 주석달기 등을 포함할 수 있다.
- [0052] 본원에 사용된 용어 "치료하는" 및 "치료"는 용어가 적용되는 질환 또는 상태, 또는 이러한 질환 또는 상태의 하나 이상의 증상의 발병을 지연시키거나, 이의 진행을 지연시키거나 반전시키고, 이의 중증도를 감소시키거나 이를 개선시키거나 예방함을 의미한다.
- [0053] 용어 "진정시키는"은 그 병리 또는 질환의 하나 이상의 증상의 감소 또는 제거, 및/또는 그 병리 또는 질환의 하나 이상의 증상의 발병 또는 중증도의 속도의 감소 또는 지연 및/또는 그 병리 또는 질환의 예방을 의미한다. 특정 구현예에서, 병리 또는 질환의 하나 이상의 증상의 감소 또는 제거는, 병리 또는 질환의 특징인 하나 이상의 마커의 감소 또는 제거(예: 총-Tau (tTau), 포스포-Tau (pTau), APPneo, 가용성 A $\beta$  40, pTau/A $\beta$  42 비 및 tTau/A $\beta$  42 비의 감소 및/또는 A $\beta$  42/A $\beta$  40 비, A $\beta$  42/A $\beta$  38 비, sAPP  $\alpha$ , sAPP  $\alpha$ /sAPP  $\beta$  비, sAPP  $\alpha$ /A $\beta$  40 비, 및 sAPP  $\alpha$ /A $\beta$  42 비로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성분의 CSF의 수준의 증가 등) 및/또는 하나 이상의 진단 기준(예: 임상적 치매 등급(CDR))의 감소, 안정화 또는 반전을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다.
- [0054] 본원에 사용된 어구 "본질적으로 ~로 이루어진"은 방법에서 인용된 활성 억제학적 제제 또는 조성물의 부류(genera) 또는 종류(species)를 의미하고, 독자적으로 인용된 지시 또는 목적을 위한 실질적인 활동을 행하지 않는 기타 제제를 추가로 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 어구 "본질적으로 ~로 이루어진"은 명백히 인용된 제제(들) 이외(예: 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물과 같은 ASBI 이외)의 신경약리학적 활성을 갖는 하나 이상의 추가의 제제의 포함을 제외한다. 일부 구현예에서, 어구 "본질적으로 ~로 이루어진"은 명백히 본원에 기재된 활성제(들) 이외(예: 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물과 같은 ASBI 이외)의 하나 이상의 추가의 활성제의 포함을 제외한다. 일부 실시 구현예에서, 어구 "본질적으로 ~로 이루어진"은 명백히 하나 이상의 아세틸콜린에스테라제 억제제의 포함을 제외한다.
- [0055] 용어 "대상자", "개체" 및 "환자"는 상호교환적으로 포유동물, 바람직하게는 사람 또는 비-사람 영장류 뿐만 아니라 가정용 포유동물(예: 개 또는 고양이), 실험실 동물(예: 마우스, 래트, 래빗, 햄스터, 기니아 피그) 및 농업용 포유동물(예: 말, 소, 돼지, 양)을 의미한다. 각종 구현예에서, 대상자는 외래 환자 또는 기타 임상적 상황으로 병원, 정신 질환 치료 시설의 의사 또는 기타 보건의료원의 보호하의 사람(예: 성인 남성, 성인 여성, 청년기 남성, 사춘기 여성, 남자 아이, 여자 아이)일 수 있다. 특정 구현예에서, 대상자는 의사 또는 기타 보건의료원의 보호 또는 처방하에 있지 않을 수 있다.
- [0056] 본원에 사용된 용어 "제형" 또는 "약물 제형" 또는 "투여 형태" 또는 "약제학적 제형"은 대상자에게 전달하기 위한 하나 이상의 치료제 또는 약물을 함유하는 조성물을 의미한다. 특정 구현예에서, 투여 형태는 제시된 "제형" 또는 "약물 제형"을 포함하고, 환자에게 로젠지제, 환제, 정제, 캡슐제, 좌제, 막, 스트립, 액체, 패치, 필름, 겔, 스프레이 또는 기타 형태로 투여될 수 있다.
- [0057] 용어 "점막"은 일반적으로 신체 중의 임의의 점액-코팅된 생물학적 막을 의미한다. 특정 구현예에서, 본원에 기술된 활성제(들)는 구강, 설하, 코, 설하선, 폐, 직장 및 질 점막을 포함하지만 이에 국한되지 않는 신체에서 발견되는 임의의 점막을 통해 본원에서 투여될 수 있다. 구강 및 내장의 점막을 통한 흡수가 목적시된다. 따라서, 경구, 구강, 설하선, 치내 및 구개 흡수가 본원에서 예상된다.
- [0058] 약물 등의 용어 "점막" 전달은 점막을 교차하거나 통하는 모든 전달 형태를 포함하는 것을 의미한다.
- [0059] 본원에서 사용된 용어 "생체접착"은 생물학적 표면, 예를 들어, 점막에 대한 투여 형태(들)의 접착 과정을 의미한다.
- [0060] "제어 약물 전달"은 생체내에서 목적하는 약물동태 프로파일을 달성하기 위해 제어된 양식으로 제공된 투여 형태로부터 약물의 방출 또는 투여를 의미한다. "제어" 약물 전달의 국면은 목적하는 약물 방출 동역학을 확립하기 위해 제형 및/또는 투여 형태를 조작하는 능력이다.
- [0061] "지속 약물 전달"은 수분으로부터 수시간, 수일, 수주일 또는 수개월로 연장시킬 수 있는 연장된 그러나 특정된 시간 동안 지속된 방식으로 공급원(예: 약물 제형)으로부터 약물의 방출 또는 투여를 의미한다. 각종 구현예

서, 용어 "지속된"은 IV 투여로부터 수득된 것과 같은 즉시 방출 단계의 부재를 특징으로 하는 프로파일로 수분에서 1일까지의 시간 동안 약물의 일정한 및/또는 실질적으로 일정한 수준의 전달을 의미하기 위해 사용된다.

[0062] 본원에 사용된 용어 " $T_{max}$ "는 최대 관찰된 혈장 농도의 시점을 의미한다.

[0063] 본원에 사용된 용어 " $C_{max}$ "는 최대 관찰된 혈장 농도를 의미한다.

[0064] 본원에 사용된 용어 "혈장  $t_{1/2}$ "은 관찰된 "혈장 반감기"를 의미하고, 약물 혈장 농도가 이의 최대 값( $C_{max}$ )의 50%에 도달하는데 필요한 시간을 나타낸다. 이는 약리학적 효과의 평균 지속기간의 결정을 촉진시킨다. 또한, 이는 동일하거나 상이한 경로를 통해 전달 후 상이한 시험 품목의 지속 기간의 직접적이고 의미있는 비교를 촉진시킨다.

[0065] 용어 "최대 치료 표적화 비" 또는 "OTTR"은 약물 혈장 농도가 약물 제거 반감기에 의해 표준화된  $C_{max}$ 의 50% 초과로 유지되는 시간에 동일 투여량의 IV 투여 후  $C_{max}$ 에 대한 목적하는 투여 형태로 수득된  $C_{max}$  비를 곱한 것으로 정의된, 약물이 치료 수준에서 존재하는 평균 시간을 나타내고, 이는 다음 식으로 계산된다:

[0066]  $OTTR = (C_{max}^{IV} / C_{max}) \times (\text{투여량} / \text{투여량}^{IV}) (C_{max} \text{의 } 50\% \text{ 초과} \text{의 시간}) / (\text{약물의 말단 }^{IV} \text{ 제거 반감기})$

### 도면의 간단한 설명

[0067] 도 1은 루틴, 갈란긴 및 프라갈란긴-1의 구조를 도시한다.

도 2는 갈란긴 및 각종 프로-갈란틴을 도시한다.

도 3a는 소규모 임상 라이브러리의 스크리닝으로부터 산포도에 도시된 바와 같이 알파리사 분석(AlphaLisa assay)에 있어서 루틴의 식별을 도시한다. 도 3b는 MBP-C125의 BACE 절단의 검출에 사용되는 기본 알파리사 분석을 개략적으로 도시한다.

도 4는 ASBI를 식별하기 위해 BACE에 의한 MBP-C125 & P5-P5' 절단에서 바이오플라보노이드 계열을 스크리닝하는 결과를 도시한다.

도 5a는 루틴 & 갈란긴에 의한 SH-SY5Y 중의 sAPP $\beta$ 의 억제를 도시한다. 도 5b는 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의한 갈란긴 대 APP 단편의 결합을 도시한다.

도 6a는 갈란긴이  $\beta$ -CTF 생산을 억제함을 도시한다. 사람 APP를 안정하게 과발현시키는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포를 24시간 동안 10  $\mu$ M 갈란긴 또는 DMSO로 처리한 다음, 세포 용해물 및 조절된 배지를 수집했다. 세포 용해물 중의 전장 APP 및  $\beta$ -CTF의 수준 및 조절된 배지 중의 sAPP $\alpha$ 의 수준은 웨스턴 블롯(western blot)으로 검출했다. 도 6b는 갈란긴이 뉴레굴린1의 BACE1 절단을 억제하지 않는다는 것을 도시한다. SEAP-NRG1- $\beta$ 1의 BACE1-의존적 절단은 대조군 사람 배아 신장 293(HEK293) 세포(SEAP-NRG1- $\beta$ 1) 또는 HEK293 세포 공발현 BACE1(SEAP-NRG1- $\beta$ 1+BACE1)의 상청액을 사용하는 SEAP 분석으로 평가하였고, DMSO 또는 갈란긴(10  $\mu$ M)으로 처리했다. SEAP-NRG1-b1 융합 단백질의 탈락의 증가가 BACE1 공-발현시 측정되었다. 공-발현 세포 중의 탈락은 갈란긴에 의해 억제되지 않았다. 오차 막대는 SEM을 나타낸다. (N.S.,  $p > 0.05$ ;  $n = 4$ , 스튜던트 t 시험).

도 7a 및 7b는 갈란긴에 의한 APP-Ga14 및 APLP2-Ga14 전사 활성화의 억제를 도시한다. 도 7a: 전사의 강력한 전사 활성화는 두 Mint3 및 TAZ가 존재했을 때 Ga14 DNA 결합 도메인에 융합된 APP로 달성되었다. 이 전사 활성화는 갈란긴 및 BACE 억제제 IV로 억제되었다. 도 7b: 전사의 강력한 전사 활성화는 또한 두 Mint3 및 TAZ가 존재했을 때 Ga14 DNA 결합 도메인에 융합된 APLP2로 달성되었다. 이 전사 활성화는 갈란긴 및 BACE 억제제 IV로 억제되었다. 다이어그램은 세포가 Ga14-루시페라제 리포터 플라스미드(전사 활성화를 측정하기 위해),  $\beta$ -갈락토시다제 플라스미드(형질감염 효율을 표준화하기 위해) 및 시험 플라스미드(Mint3, TAZ 및 APP-Ga14 또는 APLP2-Ga14)로 공-형질감염된 실험을 나타낸다. 표준화된 루시페라제 활성은 DMSO 처리된 대조군의 비율로서 표현된다(도 7a, 7b). 오차 막대는 SEM을 나타낸다. (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ;  $n = 3$ , 스튜던트 t 시험).

도 8은 갈란긴 및 프라갈란긴(PG-1)에 대한 약물동태를 도시한다. 혈장 수준은 갈란긴 및 PG-1 둘 다에 대한 뇌 조직 수준보다 컸지만, 갈란긴 수준은 갈란긴 자체보다 PG-1 주사 후에 훨씬 더 높았다.

도 9, 패널 A 내지 D는 A $\beta$ 1-40 및 A $\beta$ 1-42 수준을 도시한다. A $\beta$ 1-40 수준은 갈란긴-처리된 마우스(패널 A)의 뇌에서 약간 더 낮았고, A $\beta$ 1-42는 변하지 않았다. A $\beta$ 1-40 및 A $\beta$ 1-42는 둘 다 프로-갈란긴 I-처리된 마우스의 뇌에서 약간 더 낮았다. A $\beta$ 1-40(패널 A)은 약간 하향가고, A $\beta$ 1-42(패널 B)는 동일하게 유지한다. A $\beta$ 1-40(패널 C) 및 A $\beta$ 1-42(패널 D)는 둘 다 프로-갈란긴-1에 의해 하향한다. 형제 자매의 경우, 단지 모두 N=3.

도 10은 ASBI 활성화에 대한 분자-클램프 모델을 도시한다.

도 11은 프로갈란긴(화합물 2)의 합성 반응식을 도시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0068] 상세한 설명

[0069] 특정 구현예에서, 바이오플라보노이드 유사체가 신규 메카니즘에 의한  $\beta$ -세크레타제 매개된 APP 처리를 억제한다는 것을 확인한다. 특히, 이러한 분자들은 MBP-C125 APP 기질의 BACE 절단을 억제하여  $\beta$ -부위 펩티드 기질(P5-P5')이 아니라 C99의 생산의 억제를 유도한다고 간주된다. 또한, 본원에서 확인된 각종 바이오플라보노이드 및 이의 유사체는 신경아세포종 SHSY5Y 세포 중의 sAPP $\beta$ 를 억제한다. 또한, 억제 활성화는 MBP-C125 기질에 대한 결합과 관련된다는 것이 입증되었다. 따라서, 이러한 분자들은 APP 특이적 BACE 억제제(ASBI)인 것으로 나타나고, APP 처리를 조절하기 위한 새로운 메카니즘을 제공한다. 이러한 ASBI는 병리학적 APP 처리를 특징으로 하는 병리(예: 알츠하이머병, 전-알츠하이머 상태, 예를 들어, MCI 또는 전-증후성 MCI 등)의 치료 및/또는 예방에 사용될 수 있다.

[0070] ASBI는 적어도 선택적이고, APP 기질에 특이적인 것으로 나타나고, ASBI가 통상적으로 효소를 위한 기타 기질 상에서 활성적이지 않기 때문에 보다 적은 바람직하지 않은 부작용을 나타내는 것으로 간주된다.  $\gamma$ -세크레타제의 억제제와 관련하여, APP 이외의 기질, 예를 들어, 노치(Notch)는  $\gamma$ -세크레타제 억제의 잠재적인 부작용에 대한 관심을 제기하고,  $\gamma$ -세크레타제 억제제, 세마가세스타트의 최근 장애는 이러한 관심을 보강하도록 작용한다. 유사하게, BACE의 경우에, 비-APP 기질, 예를 들어, PSGL1 또는 LRP의 억제는 유해한 부작용을 초래시킬 수 있다. 따라서, 최적의 BACE 억제제는 BACE가 아니라 오히려 APP에 결합하여 APP-특이적 BACE 억제(ASBI)를 유도할 수 있는 것일 수 있다.

[0071] 특별한 이론에 결부시키지 않고, 이러한 ASBI는 막에서 APP 또는 APP-BACE 복합체("불활성" 복합체)와 상호작용하고 초기 엔도솜에서 "활성" 복합체로의 이의 전이를 억제할 것으로 간주되고, 이때 pH < 5에서, BACE는 완전히 활성이다(참조: 예를 들어, 도 10). 일부  $\beta$ -부위 결합 항체는 BACE에 의한 APP의 절단을 차단하고, AD의 동물 모델에서 기능하는 것으로 나타났지만, 유효한 약제 개발을 위해, 작은 유기 분자가 통상적으로 항체와 같은 비교적 큰 생체분자보다 선호된다.

[0072] 제1 ASBI의 확인시 본원에 기재된 데이터는 이러한 접근법이 가능하다는 것을 입증한다. APP-특이적-BACE-억제제(ASBI)는 기타 기질의 단백질 분해 절단이 아니라 아밀로이드 전구체 단백질(APP)의 BACE 절단을 억제한다. 이러한 치료제는 알츠하이머병 (또는 기타 아밀로이드형성 질환) 치료제의 신규 부류를 나타내는 것으로 간주된다.

[0073] 초기에, 448 화합물의 임상적 라이브러리를 스크리닝하고, 이 분석은 P5-P5' 기질의 절단을 방지하지 않으면서 BACE의 MBP-C125 기질을 구체적으로 억제하는 단일 바이오플라보노이드의 확인을 유도한다. 이 바이오플라보노이드 루틴(참조: 예를 들어, 도 1)은 또한 세포에서 sAPP $\beta$ 를 억제하는 것으로 밝혀졌던 영양 보충제이다. 이어서, 바이오플라보노이드의 패널을 세포 배양에서 ASBI 및 sAPP $\beta$  분석으로 시험했다. 이 시험은 APP의 BACE 절단을 방지하는데 있어서 ASBI 분석 및 세포에 효과적이었던 공지된 사람 용도를 갖는 또 다른 영양 보충제인 제2 바이오플라보노이드 갈란긴(참조: 예를 들어, 도 1)을 확인했다. 갈란긴은 또한 아세틸콜린 에스테라제(AChE)의 억제제인 것으로 보고되어 있다. 단순한 니트로셀룰로스 필터 리간드-결합 분석을 사용하여 MBP-C125 기질에 대한 각종 바이오플라보노이드의 초기 결합을 입증했다. 바이오플라보노이드의 패널은 ASBI 분석으로 스크리닝했다. 루틴 및 갈란긴은 세포에서 sAPP $\beta$  수준을 조절하는데 효과적인 것으로 확인되었고, APP 기질에 대한 결합을 나타낸다(참조: 실시예 1).

[0074] 바이오플라보노이드가 APP 및 APLP2의 BACE 절단을 억제할 수 있음이 입증되었다. HEK-293 분석은 이 데이터를 수득하기 위해 APP 또는 APLP2-Gal4로 형질감염시켰다. 이 분석 시스템은 문헌[참조: Orcholski et al. (2011) J. Alzheimers Dis., 23(4):689-699]에 기재되어 있다. 전사 활성화는 Mint3 및 Taz로 형질감염시 달성되었다. ASBI는 APLP2-Gal4의 전사 활성화가 아니라 APP-Gal4의 전사 활성화만을 억제하는 것으로 기대되었



다. 이러한 실험을 위해, 세포는 Gal4-루시페라제 리포터 플라스미드(전사 활성을 측정하기 위해), 베타-갈락토시다제 플라스미드(형질감염 효율을 표준화하기 위해), 및 확인된 시험 플라스미드로 공-형질감염시켰다. 표준화된 루시페라제 활성은 APP-Gal4 단독(도 7a)에 의한 전사에 대한 유도 배율, 또는 APLP2-Gal4 단독(도 7b)에 대한 유도 배율로서 표현되었다. 이 분석에서 10  $\mu$ M에서 갈란긴의 예비 시험은, 이것이 APP-Gal4 및 APLP2-Gal4를 억제한다는 것을 나타냈다.

[0075] NTg 마우스를 사용하는 뇌 흡수 분석에서 이들 두 바이오플라보노이드의 초기 약물동태 평가는, 루틴이 sc 투여 후 10mpk에서 임의의 뇌 수준을 갖지 않는 반면, 갈란긴은 유전자도입(Tg) 마우스 모델에서 개념 실증 연구에서 이의 평가를 가능하게 하는 상당한 뇌 수준(1시간에 40ng/g)을 나타냈다는 것을 보여주었다. Tg 마우스의 치료는 5일 동안 100mpk에서 sc 경로로 수행했다. 이어서, 갈란긴은 sAPP  $\alpha$ , A $\beta$  40 및 A $\beta$  42에 대한 이의 효과에 대해 평가했다(참조: 실시예 1). A $\beta$  수준의 감소는 이 연구에서 매우 고무적이었다. 갈란긴의 뇌 수준에서의 증가의 증가는 갈란긴의 전구약물을 사용하여 가능했다(참조: 예를 들어, 도 1).

[0076] 본원에 제공된 실시예들은 특성의 바이오플라보노이드가 APP를 결합시키고 APP 및 APLP2의 BACE 절단을 억제하는 능력을 가져서 이들이 APP 특이적 BACE 억제제임을 제시한다는 것을 나타낸다. 이러한 분자들은 BACE의 직접 억제로부터 잠재적 독성을 회피할 수 있는 알츠하이머병의 신규 부류의 치료제를 나타낸다. 갈란긴은 또한 AD 마우스 모델에서 A $\beta$  40 및 A $\beta$  42를 감소시키는데 유효한 것으로 나타냈다.

[0077] 루틴은 마우스 모델에서 유효하지 않았는데, 이는 혈액 뇌 장벽을 통과하는 어려움 때문인 것으로 간주된다. 그러나, 이는 루틴 및 이의 유도체 또는 유사체가 본원에 기술된 방법에 사용하기에 적합하지 않다는 것을 의미하지 않는다. 분자를 혈액 뇌 장벽을 통해 수송하고/하거나 혈액 뇌 장벽을 우회하기 위한 다수의 방법은 당해 기술 분야의 숙련가들에게 공지되어 있다.

[0078] 통상적으로, 뇌에서 약물 표적화를 위한 메카니즘은 BBB를 "통해" 또는 "후에" 진행함을 수반한다. 각종 구현예에서, BBB를 통한 약물 전달 형식은 삼투성 수단에 의해, 생화학적으로 브라디키닌과 같은 혈관활성 물질의 사용으로, 또는 심지어 고강도 집중된 초음파(HIFU)에 국소 노출시킴에 의한 이의 파괴를 수반한다(참조: 예를 들어, McDannold et al. (2008) *Ultrasound in Medicine and Biology*, 34(5): 834-840). BBB를 통해 취득하기 위해 사용된 기타 방법은 글루코스 및 아미노산 담체와 같은 담체 매개된 수송체를 포함하는 내인성 수송 시스템; 수용체 매개된 트랜스시토시스의 사용 및 p-당단백질과 같은 활성 유출 수송체의 차단을 수반할 수 있다. BBB 후의 약물 전달 방법은 또한 뇌내 주입(예: 바늘 사용) 및 대류 증가 분포를 포함한다. 특정 구현예에서, m-만니톨을 BBB를 우회하는데 사용할 수 있다. 나노입자는 또한 BBB를 교차하여 약물의 전송을 도울 수 있다(참조: 예를 들어, Silva, (2008). *BMC Neuroscience*, 9:S4 등).

[0079] 갈란긴 및 루틴에서 ASBI 활성의 발견을 고려하여, 유사한 활성이 본원에서 기재된 다수의 추가 바이오플라보노이드 유사체에 존재하는 것으로 기대된다. 임의의 이들 유사체의 특별한 ASBI 활성은, 예를 들어, 상기 기술되고 본원에 제공된 실시예에서 설명된 바와 같은 분석을 사용하여 용이하게 추가로 확인할 수 있다.

[0080] 막 결합된 프로테아제  $\beta$ -세크레타제 및  $\gamma$ -세크레타제에 의한 APP의 순차적 절단은 A $\beta$ 의 형성을 유도한다.  $\beta$ -부위 APP 절단 효소-1(BACE1)은  $\beta$ -아밀로이드형성 경로에서 APP의 1차 절단을 조정하는 주요  $\beta$ -세크레타제 활성으로서 확인되었다. APP에서 BACE1 활성을 구체적으로 차단하는 본원에 기재된 ASBI 화합물의 능력을 고려하여, 이러한 ASBI 화합물이 A $\beta$  수준을 저하시킬 수 있거나 신경독성 A $\beta$  종의 형성을 방지할 수 있는 것으로 간주된다(그리고 본원에 제공된 데이터는 이를 나타낸다). 따라서, 이들 화합물은 질환의 진행을 예방하거나 늦추고/늦추거나 아밀로이드형성 질환 경로의 전임상 징후의 진행을 예방하거나 늦추는 것으로 간주된다.

[0081] 따라서, 이들 제제가 전-알츠하이머 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 비-아밀로이드형성 경로에 의해 아밀로이드 전구체 단백질(APP)의 처리를 촉진시키는데 사용될 수 있는 것으로 간주된다. 특정 구현예에서, 이들 제제는 알츠하이머병을 치료하는데(예를 들어, 상기 질환의 중증도를 경감시키고/시키거나 상기 질환의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나 상기 질환의 진행을 늦추기 위해) 사용될 수 있다.

## [0082] 치료 및 예방 방법

[0083] 각종 구현예에서, 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의

약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)를 사용하는 치료 및/또는 예방 방법이 제공된다. 통상적으로, 상기 방법은 하나 이상의 활성제(들)를 대상자(예: 이를 필요로 하는 사람)에게 목적하는 치료적 또는 예방적 결과를 실현하기에 충분한 양으로 투여함을 포함한다.

[0084] **예방**

[0085] 특정 구현예에서, 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)가 각종 예방 관점에서 사용된다. 따라서, 예를 들어, 특정 구현예에서, 활성제(들)는 전-알츠하이머 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키기 위해 사용될 수 있다.

[0086] 따라서, 특정 구현예에서, 본원에 기술된 예방 방법은 초기 알츠하이머병(AD) 병리학적 변화의 증거를 갖고 있는 것으로 그리고/또는 "위험"에 있지만, MCI 또는 치매의 임상적 기준을 충족시키지 않는 것으로 확인된 대상자에 대해 고려된다. 특별한 이론에 결부시키지 않고, 심지어 상기 질환의 이러한 "전임상" 단계는 AD 치매로 진행할 위험에 있는 AD-병태생리학적 과정(들)(AD-P로서 약칭됨, 참조: 예를 들어, Sperling et al. (2011) Alzheimer's & Dementia, 1-13)을 암시하는 바이오마커 증거를 갖는 완전 무증상 개체로부터 아주 예민한 감소를 이미 나타내지만 아직 MCI의 표준화 기준을 충족시키지 않는 바이오마커-양성 개체(참조: 예를 들어, Albert et al. (2011) Alzheimer's and Dementia, 1-10 (doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.008)에 이르는 연속체(continuum)를 나타낸다고 간주된다.

[0087] 이 후자 그룹의 개체는 "정상"은 아니지만, MCI는 아닌"으로서 분류될 수 있고, "전-증상성" 또는 "전-임상" 또는 "무증상성(asymptomatic)" 또는 "전명시성(premanifest)"으로 지정될 수 있을 것이다. 각종 구현예에서, 전-증상성 AD의 이 연속체는 또한 (1) AD-P 바이오마커-양성인 시점에서 AD 치매 발병 위험이 증가된 것으로 공지되거나 간주되는 하나 이상의 아포리포단백질 E((APOE) ε 4 대립 유전자를 수반하는 개체 및 (2) 이들 병의 전 증상성 바이오마커-양성 단계에 있고 임상 증상을 거의 확실히 명시하고 치매로 진행하는 상 염색체 우성 돌연변이의 담체를 포함할 수 있다.

[0088] AD-P의 가장 널리 검증된 바이오마커가 비정상적이 되고, 또한 주문된 방식으로 최고 한계에 도달하는 바이오마커 모델이 제안되었다(참조: 예를 들어, Jack et al. (2010) Lancet Neurol, 9: 119-128.). 이 바이오마커 모델은 (전-AD/AD)의 제안된 병태생리학적 서열과 유사하고, AD의 임상전 (무증상성) 단계를 추적하는 것과 관련된다[참조: 예를 들어, 문헌(참조: Sperling et al. (2011) Alzheimer's & Dementia, 1-13)의 도 3]. 뇌 아밀로이드증의 바이오마커는 CSF Aβ<sub>42</sub>의 감소 및 양전자 방출 단층촬영(PET) 영상 위의 증가된 아밀로이드 추적자 보유를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 상승된 CSF tau는 AD에 특이적이지 않고, 신경 손상의 바이오마커인 것으로 간주된다. 대사저하의 측두두정엽 패턴을 갖는 PET 상의 감소된 플루오로데옥시글루코스 18F(FDG) 흡수는 AD-관련된 시냅스 기능장애의 바이오마커이다. 중앙 측두엽, 부분연계 및 측두두정엽 피질을 포함하는 독특한 패턴의 구조적 자기 공명 영상(MRI) 상의 뇌 위축은 AD-관련 신경변성의 바이오마커이다. 기타 마커는, 용적측정 MRI, FDG-PET 또는 혈장 바이오마커를 포함하나, 이에 국한되지 않는다(참조: 예를 들어, Vemuri et al. (2009) Neurology, 73: 294-301; Yaffe et al. (2011) JAMA 305: 261-266).

[0089] 특정 구현예에서, 본원에서 예상된 예방 방법에 적합한 대상자는, 무증상성 뇌 아밀로이드증을 갖는 것을 특징으로 하는 대상자를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 각종 구현예에서, 이러한 개체들은 PET 아밀로이드 영상 위의 상승된 추적자 보유 및/또는 CSF 분석에서 낮은 Aβ<sub>42</sub>와 함께 Aβ 축적의 바이오마커 증거를 갖지만, 통상적으로 신경변성 또는 예민한 인지 및/또는 행동적 증상을 암시하는 추가의 뇌 변화의 검출가능한 증거는 갖지 않는다.

[0090] Aβ의 현재 이용가능한 CSF 및 PET 영상 바이오마커가 주로 아밀로이드 축적 및 아밀로이드의 섬유상 형태의 침착의 증거를 제공한다는 것이 주시된다. 데이터는, Aβ의 가용성 또는 올리고머성 형태가 리서버로서 작용할 수 있는 플라크와 평형상태에 있을 가능성이 있음을 제시한다. 특정 구현예에서, Aβ의 유일한 가용성 형태가 존재하는 식별가능한 예비플라크 단계가 존재한다는 것이 예상된다. 특정 구현예에서, 아밀로이드의 올리고머성 형태가 병리학적 캐스케이드에서 중요할 수 있고 유용한 마커를 제공할 수 있음이 예상된다. 또한, 초기 시

냅스 변화는 아밀로이드 축적 증거 앞에 존재할 수 있다.

- [0091] 특정 구현예에서, 본원에서 예상된 예방 방법에 적합한 대상자는, 시냅스 기능장애 및/또는 초기 신경변성의 증거와 함께 아밀로이드 양성인 것으로 특징화된 대상자를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 각종 구현예에서, 이러한 대상자는 아밀로이드 양성 및 "다운스트림" AD-P-관련 신경 손상의 하나 이상의 마커의 존재의 증거를 갖는다. 신경 손상의 예시적인 비제한적 마커는, (1) 상승된 CSF tau 또는 포스포-tau, (2) FDG-PET 상의 AD-형 패턴(즉, 후 대상, 선험부 및/또는 측두두정엽 피질)의 대사 저하 및 (3) 특정 해부 분포(즉, 내외측 두정, 후 대상 및 외측 측두엽 피질)에서 피질 회백화/회백질 손실 및/또는 용적측정 MRI 상의 해마 위축을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 기타 마커는, 디폴트 네트워크 접속성의 fMRI 척도를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 특정 구현예에서, 기능적인 영상 기술, 예를 들어, FDG-PET 및 fMRI로 평가한 초기 시냅스 기능장애는 용적측정 손실 전에 검출가능할 수 있다. 특별한 이론에 결부시키지 않고, 초기 신경변성 증거를 갖는 아밀로이드-양성 개체가 궤도 훨씬 아래에(즉, 전임상 (무증상성) AD의 후기 단계에) 존재할 수 있는 것으로 간주된다.
- [0092] 특정 구현예에서, 본원에서 예상된 예방 방법에 적합한 대상자는, 신경변성 및 예민한 인지 기능 저하 증거와 함께 아밀로이드 양성으로서 특징화된 대상자를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 특별한 이론에 결부시키지 않고, 아밀로이드 축적, 초기 신경변성의 바이오마커 증거 및 예민한 인지 기능 저하 증거를 갖는 개체들이 전임상 (무증상성) AD의 후기 단계에 있고, 가벼운 인지 장애(MCI)에 대한 임상 기준을 갖는 경계 영역에 접근하고 있는 것으로 간주된다. 이러한 개체들은, 이들이 표준 인지 척도 상의 "정상" 범위 내에서 수행될 지라도, 이들 자체 기준으로부터 감소 증거를 증명할 수 있다(특히 인지적 예비력의 대용물이 고려되는 경우에). 특별한 이론에 결부시키지 않고, 특히 도전적인 에피소드 기억 척도를 갖는 보다 민감한 인지 척도는 아밀로이드-양성 개체에서 매우 예민한 인지 장애를 검출할 수 있는 것으로 간주된다. 특정 구현예에서, 기준은, 기억 감소 또는 기타 예민한 신경행동 변화의 자기 불평을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0093] 상기 기술된 바와 같이, 본원에서 기술된 예방 방법에 영향을 받을 대상자/환자는 질환(예: 아밀로이드 플라크 형성을 특징으로 하는 병태, 예를 들어, MCI) 위험에 있지만 증상을 나타내지 않는 개체 뿐만 아니라 현재 특정 증상 또는 마커를 나타내는 대상자를 포함한다. MCI의 위험 및 후기 알츠하이머병은 일반적으로 연령에 따라 증가한다는 것이 공지되어 있다. 따라서, 기타 공지된 위험 인자가 없는 무증상성 대상자에서, 특정 구현예에서, 특히 가벼운 인지 장애(MCI)의 발병 또는 궁극적인 중증도를 예방하거나 늦추고/늦추거나 MCI로부터 초기 단계 알츠하이머병(AD)으로의 진행을 늦추거나 예방하기 위해 50세 이상의 대상자, 또는 55세 이상의 대상자, 또는 60세 이상의 대상자, 또는 65세 이상의 대상자, 또는 70세 이상의 대상자, 또는 75세 이상의 대상자, 또는 80세 이상의 대상자에 대해 예방적 적용을 하려고 한다.
- [0094] 특정의 구현예에서, 본원에 기재된 방법인 본 방법은 특히 이들이 무증상성이든 질환의 증상을 나타내든 알츠하이머병의 공지된 유전적 위험 (또는 기타 아밀로이드형성 병리)를 갖는 개체에 유용하다. 이러한 개체는 MCI 또는 AD를 경험한 친족(예: 부모, 조부모, 형제 자매)을 갖는 개체 및 위험이 유전적 또는 생화학적 마커의 분석으로 측정되는 개체를 포함한다. 알츠하이머병에 대한 위험의 유전적 마커는, 예를 들어, APP 유전자의 돌연변이, 특히 각각 하디(Hardy) 및 스웨디시(Swedish) 돌연변이로서 명칭되는 위치 717 및 위치 670 및 671에서의 돌연변이를 포함한다(참조: Hardy (1997) Trends. Neurosci., 20: 154-159). 기타 위험 마커는 프레세닐린 유전자(PS1 및 PS2)의 돌연변이, 가족성 알츠하이머병(FAD) 돌연변이를 갖는 AD의 가족력, APOE ε4 대립 유전자, 고콜레스테롤혈증 또는 아테롬성 동맥경화증을 포함한다. 알츠하이머병의 발생을 위한 추가의 민감성 유전자는, 예를 들어, 문헌(참조: Sleegers, et al. (2010) Trends Genet. 26(2): 84-93)에 개설되어 있다.
- [0095] 일부 구현예에서, 대상자는 무증상성이지만 MCI 또는 알츠하이머병을 발생시키는 가족성 및/또는 유전적 위험 인자를 갖는다. 무증상성 환자에서, 치료는 임의 연령(예: 20세, 30세, 40세, 50세)에서 시작할 수 있다. 그러나, 일반적으로, 환자가 적어도 약 40세, 50세, 60세 또는 70세에 달할 때까지 치료를 시작할 필요는 없다.
- [0096] 일부 구현예에서, 대상자는, 예를 들어, 가벼운 인지 장애(MCI) 또는 알츠하이머병(AD)의 증상을 나타낸다. 현재 알츠하이머병으로 고생하고 있는 개체는 독특한 치매 뿐만 아니라 상기한 위험 인자의 존재로부터 인지될 수 있다. 또한, 다수의 진단 시험이 AD를 갖는 개체를 확인하는데 이용가능하다. 이들은 CSF Tau, 포스포-tau(pTau), Aβ42 수준 및 C-말단 절단된 APP 단편(APPneo)의 측정을 포함한다. 상승된 총-Tau(tTau), 포스포-Tau(pTau), APPneo, 가용성 Aβ40, pTau/Aβ42 비 및 tTau/Aβ42 비, 및 감소된 Aβ42 수준, Aβ42/Aβ40 비, Aβ42/Aβ38 비, sAPPα 수준, sAPPα/sAPPβ 비, sAPPα/Aβ40 비, 및 sAPPα/Aβ42 비는 AD의 존재를 나타낸다. 일부 구현예에서, 대상자 또는 환자는 MCI를 갖는 것으로 진단된다. 노 중의 신경 트레드 단백질(NTP)의 증가된 수준 및/또는 혈장 중의 α2-마크로글로불린(α2M) 및/또는 보완성 인자 H(CFH)의 증가된 수준도 또한

MCI 및/또는 AD의 바이오마커이다(참조: 예를 들어, Anoop et al. (2010) Int. J. Alzheimer's Dzs. 2010:606802).

[0097] 특정 구현예에서, 치료에 순응하는 대상자는 노인성 기억 장애(AAMI) 또는 가벼운 인지 장애(MCI)를 가질 수 있다. 본원에 기재된 방법은 특히 MCI의 예방 및/또는 치료에 매우 적합하다. 이러한 예에서, 상기 방법은 MCI의 발병을 지연시키거나 예방하고/하거나, MCI의 특징인 하나 이상의 증상을 감소시키고/시키거나, MCI로부터 초기, 중기 또는 후기 알츠하이머병으로의 진행을 지연시키거나 예방하거나, 상기 질환의 궁극적인 중증도를 감소시킬 수 있다.

# [0098] 가벼운 인지 장애(MCI)

[0099] 가벼운 인지 장애(MCI, 또한 초기 치매 또는 분리 기억 장애로서 공지됨)는 이들의 연령 및 교육에 기대되는 것을 초과하는 인지 장애를 갖는 개체에게 제공되지만, 통상적으로 이들의 일상적 활동을 상당히 간섭하지 않는 진단이다(참조: 예를 들어, Petersen et al. (1999) Arch. Neurol. 56(3): 303-308). 이는 많은 경우에 정상 노화와 치매 사이의 경계 또는 전이 단계인 것으로 간주된다. MCI는 각종 증상으로 제공될 수 있지만, 기억 상실이 주요 증상인 경우에, 이는 "건망증MCI"로 불리고, 흔히 알츠하이머병에 대한 위험 인자인 것으로 나타난다(참조: 예를 들어, Grundman et al. (2004) Arch. Neurol. 61(1): 59-66; 및 인터넷 상 en.wikipedia.org/wiki/Mild\_cognitive\_impairment - cite\_note-Grundman-1). 개체가 기억 이외의 도메인에 장애를 갖는 경우, 이는 흔히 비-건망증 단일- 또는 복수-도메인 MCI로서 분류되고, 이러한 개체들은 기타 치매(예: 루이소체 치매)로 변환할 가능성이 더 높은 것으로 간주된다. 건망증 MCI 환자가 알츠하이머병에 대한 신경병리학적 기준을 충족시킬 수 없는 반면, 환자는 알츠하이머병을 진화시키는 전이 단계에 존재할 수 있음을 시사하는 증거가 있고; 이 가정된 전이 단계 환자는 신경피질에서 확산 아밀로이드를, 내측 측두엽에서는 빈번한 신경원섬유 혼란을 나타냈다(참조: 예를 들어, Petersen et al. (2006) Arch. Neurol. 63(5): 665-72).

[0100] MCI의 진단은 임상 관찰, 신경 영상 검사, 혈액 검사 및 신경심리학적 검사를 포함하는 종합적인 임상 평가를 포함한다. 특정 구현예에서, MCI의 진단 기준은, 문헌(참조: Albert et al. (2011) Alzheimer's & Dementia. 1-10)에 기술된 것들을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 본원에 기술된 바와 같이, 진단 기준은 (1) 고도의 영상 기술 또는 뇌 척수액 분석에의 접근 없이 의료 제공자에 의해 사용될 수 있는 핵심 임상 기준 및 (2) 임상 시험을 포함하는 임상 연구 셋팅에 사용될 수 있는 연구 기준을 포함한다. 제2 세트의 기준은 영상 및 뇌척수액 척도에 기초하는 바이오마커의 사용을 통합시킨다. AD에 기인하는 가벼운 인지 장애에 대한 기준의 최종 세트는 바이오마커 발견물의 존재 및 특성에 따라 확실성의 4개 수준을 갖는다.

[0101] 특정 구현예에서, MCI의 임상적 평가/진단은 (1) 환자 또는 정보제공자 또는 임상의로 인해 보고된 인지 변화를 반영하는 관심(즉, 시간 경과에 따라 감소의 역사적 또는 관찰된 증거); (2) 통상적으로 기억을 포함하는 하나 이상의 인지 도메인에서 장애의 객관적 증거(즉, 다수의 도메인에서 인지 기능의 수준을 확립하기 위한 공식적 또는 병상 검사); (3) 기능적 능력에 있어서 독립성 보존; (4) 미치매증; 및 특정 구현예에서, (5) AD 병태생리학적 과정과 일치하는 MCI의 병인을 포함한다. 통상적으로, 인지 기능 저하의 혈관성, 외상성, 의학적 원인은 가능할 경우 제외된다. 특정 구현예에서, 가능할 경우, 인지의 수직 기능 저하 증거가 확인된다. 진단은, 관련될 경우, AD 유전 인자와 일치하는 역사에 의해 강화된다.

[0102] 인지 도메인(들)의 장애와 관련하여, 개인의 이전 수준과 비교하여 인지 변화에 대한 관심의 증거가 존재해야 한다. 환자의 연령 및 교육적 배경에 대해 기대되는 것을 초과하는 하나 이상의 인지 도메인에서 낮은 성능의 증거가 존재해야 한다. 반복 평가가 이용가능할 경우, 성능의 기능 저하가 경시적으로 입증되어야 한다. 이 변화는 기억, 실행 기능, 주의, 언어 및 시공간 능력을 포함하는 각종 인지 도메인에서 발생할 수 있다. 에피소드 기억에서의 장애(즉, 새로운 정보를 학습하고 유지시키는 능력)가 후속적으로 AD 치매의 진단으로 진행되는 MCI 환자에게서 가장 일반적으로 발견된다.

[0103] 기능적 능력에서 독립성의 보존과 관련하여, MCI를 갖는 개인은 일반적으로 이들이 쇼핑을 수행하기 위해 사용되는 복잡한 기능적 임무를 수행하는 가벼운 문제를 갖는다는 것이 주시된다. 이들은 더 많은 시간을 소요하고, 덜 효율적이며, 과거보다 이러한 활동을 수행하는데 더 많은 에너지를 할 수 있다. 그럼에도 불구하고, 이들은 일반적으로 최소한의 보조 또는 지원으로 일상 생활 중에서 이들의 기능의 독립성을 유지한다.

[0104] 치매와 관련하여, 인지 변화는 사회적 또는 직업적 기능에서 상당한 장애의 증거가 없을 정도로 충분히 가벼워



야 한다. 개체가 단지 1회 평가될 경우, 변화는 인지 성능이 그 개체에 대해 기대되었던 것을 초과하여 손상된다는 역사 및/또는 증거로부터 추측될 것이다.

- [0105] 인지 검사는 개체에 대한 인지 장애 정도를 객관적으로 평가하기에 최적이다. MCI를 갖는 개체의 인지 검사 점수는 통상적으로 배양적으로 적합한 규범적 데이터(즉, 이용가능할 경우, 장애 도메인(들)에 대해)에 대해 이들의 연령 및 교육 매칭된 동료(이용가능할 경우, 손상된 도메인)에 대한 평균 이하의 1 내지 1.5 표준편차이다.
- [0106] 에피소드 기억(즉, 새로운 정보를 학습하고 유지하는 능력)은 후속적으로 AD 치매의 진단으로 진행되는 MCI 환자에서 가장 일반적으로 나타난다. 수년 내에 AD 치매로 진행할 가능성이 높은 MCI 환자를 확인하는데 유용한 다양한 에피소드 기억 검사가 있다. 이러한 검사는 통상적으로 즉시 및 지연 상기 둘 다를 평가하여 지연에 대한 보유를 결정하는 것이 가능하도록 한다. 이와 관련하여 유용한 것으로 입증된 검사의 모두는 아니지만 다수가 다수의 시험에 의한 단어리스트 학습 검사이다. 이러한 검사는 경시적인 학습 속도 뿐만 아니라 학습 시험 도중 획득된 최대량을 나타낸다. 이들은 또한 개체가 실제로 즉시 상기할 경우 임무에 집중한 다음, 지연 상기할 경우 보유된 자료의 상대량을 평가하기 위한 기준으로 사용될 수 있음을 입증하기에 유용하다. 이러한 검사의 예는, 프리 및 단서 선택 기억 검사, 레이 청각 언어 학습 검사, 및 캘리포니아 언어 학습 검사를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 기타 에피소드 기억 척도는, 개정된 (또는 기타 버전) 웨슬러 기억 규모의 논리 기억 I 및 II와 같은 단락의 즉시 및 지연 상기 및 웨슬러 기억 규모-개정된 I 및 II의 시각 재현 서브테스트와 같은 비언어 자료의 즉시 및 지연 상기를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0107] 기타 인지 도메인이 MCI 개체 사이에서 손상될 수 있기 때문에, 기억 이외의 도메인을 시험하는 것이 바람직하다. 이들은, 업무 집행 기능(예: 세트-시프팅, 추론, 문제 해결, 계획), 언어(예: 명명, 유창성, 표현성 스피치 및 이해), 시공간 능력, 주의 제어(예: 단순 및 분할 주의)를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 다수의 임상 신경심리학적 척도를 트레일 제로 검사(업무 집행 기능), 보스턴 명명 검사, 레터 및 카테고리 유창성(언어), 도형 카피(공간 능력) 및 전방 숫자 범위(주의)를 포함하지만, 이에 국한되지 않는 이러한 인지 도메인을 평가하는데 이용가능하다.
- [0108] 상기 지시된 바와 같이, 유전적 인자를 MCI의 진단에 통합시킬 수 있다. AD의 상 염색체 우성 형태(즉, APP, PS1, PS2에서 돌연변이)가 존재하는 것으로 공지될 경우, MCI의 발생이 가장 가능성이 높은 AD 치매의 전구체이다. 이러한 경우의 대다수는 초기 발병 AD(즉, 65세 이하의 발병)를 발생시킨다.
- [0109] 또한, 후기 발병 AD 치매의 발생에 대한 유전적 영향이 있다. 예를 들어, 아포리포단백질 E(APOE) 유전자에 1개 또는 2개의  $\epsilon 4$  대립 유전자의 존재는 후기 발병 AD 치매에 대한 위험이 증감함에 따라 광범위하게 허용되는 유전적 변이체이다. 증거는 MCI에 대한 임상적, 인지적 및 병인 기준을 충족시키고, 또한 APOE  $\epsilon 4$  양성인 개체가 이 유전적 특성 없는 개체보다 수년 내에 AD 치매로 진행할 가능성이 더 높다는 것을 시사한다. 추가의 유전자는 APOE보다 중요하지만 작은 역할을 하고, 또한 AD 치매로의 진행 위험에 변화를 제공하는 것으로 간주된다(참조: 예를 들어, Bertram et al. (2010) Neuron, 21: 270-281).
- [0110] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 예방 방법에 적합한 대상자는, 상기한 핵심 임상 기준의 하나 이상을 갖는 것으로 확인된 대상자 및/또는, 예를 들어, 이하 기술된 바와 같은 MCI에 대한 하나 이상의 "연구 기준"을 갖는 것으로 확인된 대상자를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0111] MCI의 식별/예후를 위한 "연구 기준"은, MCI 증후군이 AD의 병태생리학적 과정에 기인할 가능성을 증가시키는 바이오마커를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 특별한 이론에 결부시키지 않고, 임상 기준과 바이오마커의 공동 적용이 MCI 증후군이 AD 병태생리학적 과정에 기인한다는 다양한 수준의 확실성을 유도할 수 있다고 간주된다. 특정 구현예에서, 최고로 연구되어 임상 결과에 적용되는 바이오마커의 2개의 카테고리가 예상된다. 이들은 (CSF  $A\beta_{42}$  및/또는 PET 아밀로이드 영상을 포함하는) " $A\beta$ " 및 (CSF tau/p-tau, 해마, 또는 MRI에 대한 내측 측두엽 위축 및 PET 또는 SPECT 상의 측두두정엽/설전부 대사저하 또는 저관류를 포함하나, 이에 국한되지 않는) "신경 손상의 바이오마커"를 포함한다.
- [0112] 특별한 이론에 결부시키지 않고,  $A\beta$ , 및 신경 손상 둘 다의 증거(tau/p-tau의 증거 또는 AD의 지형상 패턴 특성에서 영상 바이오마커)는 함께 AD 병태생리학적 과정이 존재한다는 최고의 가능성을 제공하는 것으로 간주된다. 반대로, 이러한 바이오마커가 음성이면, 이는 대안적 진단 가능성에 관한 정보를 제공할 수 있다. 바이오마커 발견은 모순일 수 있고, 따라서 임의의 바이오마커 조합은 차별 진단의 맥락에서 사용된 지표(지시제)이고 그 자체로 결정적이지는 않다는 것이 인지된다. 다양한 비정상성의 심각성은 광범위한 적용을 위해 정확하게 정량화하는 것이 곤란한 상이한 가능성 또는 예후를 제공할 수 있다는 것이 인지된다.

- [0113] 임상 및 인지 MCI 증후군이 병인으로서 AD와 일치하는 이러한 잠재적 MCI 대상자의 경우, 바이오마커 분석의 첨가가 진단에서 확실성의 수준에 영향을 준다. 에피소드 기억 장애 및 추정된 변성 병인을 포함하여, MCI의 임상 및 인지 증후군이 확립되어 있는 가장 통상적인 예에서, 가장 가능한 원인은 AD의 신경변성 과정이다. 그러나, 최종적인 결과는 여전히 가변적인 확실성을 갖는다. AD 치매로의 진행 가능성은 인지 기능 저하의 심각성 및 AD 병태생리가 기본적인 원인임을 제시하는 증거의 특성에 따라 변한다. 특별한 이론에 결부시키지 않고, 신경 손상을 반영하는 양성 바이오마커가 치매로의 진행이 수년 이내에 발생할 가능성을 증가시키고, Ab 축적 및 신경 손상 둘 다를 함께 반영하는 양성 발견이 그러한 진단이 AD에 기인하는 MCI이다라는 최고의 가능성을 언급하는 것으로 간주된다.
- [0114] 양성 Aβ 바이오마커 및 신경 손상의 양성 바이오마커는 MCI 증후군이 AD 과정에 기인하고, 대상자가 본원에 기술된 방법에 매우 적합하다는 표시를 제공한다.
- [0115] 신경 손상 바이오마커가 시험되지 않았거나 시험될 수 없는 상황에서 양성 Aβ 바이오마커 또는 Aβ 바이오마커가 시험되지 않았거나 시험될 수 없는 상황에서 신경 손상의 양성 바이오마커는 MCI 증후군이 AD에 기인한다는 중간 가능성을 나타낸다. 이러한 대상자는 본원에 기술된 방법에 매우 적합한 것으로 간주된다.
- [0116] Aβ 및 신경 손상 둘 다에 대한 음성 바이오마커는 MCI 증후군이 AD에 기인하지 않는다는 것을 시사한다. 이러한 예에서, 대상자는 본원에 기술된 방법에 매우 적합하지 않을 수 있다.
- [0117] 자기 공명 영상이, 가벼운 인지 장애로부터 완전 알츠하이머병까지, 뇌에서 회백질의 진행성 손실을 포함하는, 악화를 관찰할 수 있다는 증거가 있다(참조: 예를 들어, Whitwell et al. (2008) Neurology 70(7): 512-520). PiB PET 영상으로서 공지된 기술은 살아있는 대상자에서 β 아밀로이드 침착 부위 및 형상을 이러한 침착물에 선택적으로 결합하는 C11 트래йс어를 사용하여 명백하게 나타내는데 사용된다(참조: 예를 들어, Jack et al. (2008) Brain 131 (Pt 3): 665-680).
- [0118] 특정 구현예에서, MCI는 통상적으로 1) 기억 장애의 증거; 2) 일반적인 인지 및 기능적 능력의 보전; 3) 진단된 치매의 부재가 존재할 경우에 진단된다.
- [0119] 특정 구현예에서, MCI 및 알츠하이머병의 단계는 임상 치매 등급(CDR) 점수에 의해 부분적으로 확인/분류될 수 있다. CDR은 알츠하이머병 및 관련 치매에 적용가능한 인지 및 기능적 성능의 6개 도메인: 기억, 방향, 판단 & 문제해결, 지역 사회 업무, 가정 & 취미, 및 개인 관리를 특징화하는데 사용되는 5포인트 규모이다. 각 등급을 수행하기 위해 필요한 정보는 환자의 반정형적 면접 및 신뢰가능한 정보제공자 또는 부수적 공급원(예: 가족 구성원)을 통해 취득된다.
- [0120] CDR 표는 면접 데이터 및 임상적 판단에 기초한 적합한 등급을 매기는데 있어 임상의를 안내하는 설명적 지주(anchors)를 제공한다. 각 도메인에 대한 등급 이외에, 전체적인 CDR 점수는 알고리즘을 사용하여 계산될 수 있다. 이 점수는 장애/치매의 환자 수준을 특징화하고 추적하기에 유용하다: 0 = 정상; 0.5 = 매우 가벼운 치매; 1 = 가벼운 치매; 2 = 중간 정도 치매; 3 = 심각한 치매. 예시적인 CDR 표는 표 1에 제시된다.

**표 1**

[0121] 예시적 임상 치매 등급(CDR) 표

장애: CDR	없음 0	의심스러움 0.5	가벼움 1	중간 정도 2	심각함 3
기억	기억 상실 없음 또는 약간의 일관 되지 않은 건망증	일관된 약간의 건 망증; 사건의 "양 성" 건망증의 부 분적 기억	중간 정도 기억 상실; 최근 사건 에 대해 보다 더 욱 현저함; 장애 는 일상적인 활동 을 방해한다	심각한 기억 상실; 단지 고도 로 학습된 자료만 유지; 새로운 자 료는 신속하게 손 실한다	심각한 기억 손상; 단편만 유 지
방향	완전 순응됨	시간 관계와 관련 된 약간의 어려움 을 제외하고 완전 순응됨	시간 관계와 관련 된 중간 정도의 어려움; 시험 장 소에 순응됨; 다 른 곳에서 지형적 방향 감각 상실을 가질 수 있음	시간 관계와 관련 된 심각한 어려움; 일반적으 로 시간, 흔히 장 소에 대한 인식 기능 상실	인간에게만 순응 됨

판단 & 문제해결	일상 문제 해결 & 사업 & 및 재무를 잘 처리; 과거 t 수행에 대해 판단 양호	문제, 유사성 및 차이를 해결하는데 약간 손상됨	문제, 유사성 및 차이를 처리하는데 있어 중간 정도의 어려움; 일반적으로 사회적 판단 유지	문제, 유사성 및 차이를 처리하는데 있어 심각하게 손상됨; 일반적으로 사회적 판단 장애됨	판단을 하거나 문제를 해결할 수 없음
지역 사회 업무	일, 쇼핑, 자원봉사 및 사회적 그룹에서 보통 수준으로 독립적 기능	이러한 활동에서 약간 손상됨	일부에 여전히 종사할 수 있지만 이들 활동에서 독립적으로 기능할 수 없음; 우연한 검사에 정상으로 나타남	가정 외부에서 독립적 기능 요구 없음; 가정 외부의 기능을 느끼기에 매우 충분한 것으로 나타남	가정 외부에서 독립적 기능 요구 없음; 가정 외부의 기능을 느끼기에는 너무 병든 것으로 나타남
가정 및 취미	가정 생활, 취미 및 지적 관심 잘 유지	가정 생활, 취미 및 지적 관심 약간 손상됨	가정에서 기능의 가벼운 약간 한정된 손상; 보다 어려운 가사 포기; 보다 복잡한 취미 및 관심 포기	단지 간단한 가사 유지; 매우 제한된 관심, 불충분하게 유지	가정에서 중요한 기능 없음
개인적 관리	자기 관리 완전 가능		격려 필요	옷입기, 위생, 개인 소지품의 유지에서 도움을 필요로 한다	개인적 관리와 함께 많은 도움을 필요로 하고; 빈번한 실금

[0122] 약 0.5 또는 약 0.5 내지 1.0의 CDR 등급은 흔히 임상적으로 관련된 MCI인 것으로 간주된다. 보다 높은 CDR 등급은 알츠하이머병으로의 진행을 나타낼 수 있다.

[0123] 특정 구현예에서, 본원에서 기재된 하나 이상의 제제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)의 투여는 Tau, 포스포-Tau(pTau), APPneo, 가용성 Aβ40, 가용성 Aβ42, 및/또는 Aβ42/Aβ40 비로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성분의 CSF의 수준의 감소가 존재할 경우 및/또는 대상자의 뇌 내에서 플라크 부하의 감소가 존재할 경우 및/또는 대상자의 뇌 내에서 플라크 형성 속도의 감소가 존재할 경우, 및/또는 대상자의 인지 능력의 개선이 존재할 경우, 및/또는 대상자에 의한 생활의 질의 지각된 개선이 존재할 경우, 및/또는 임상 치매 등급(CDR)의 현저한 감소가 존재할 경우, 및/또는 임상 치매 등급의 증가율이 느려지거나 정지될 경우 및/또는 MCI의 초기 단계 AD로의 진행이 느려지거나 정지될 경우에 효과적인 것으로 간주된다.

[0124] 일부 구현예에서, MCI의 진단은 다수의 임상 검사 결과를 고려함으로써 결정될 수 있다. 예를 들어, 문헌(참조: Grundman, et al., Arch Neurol (2004) 61:59-66)은 MCI의 진단이 객관적인 기억 장애를 확립하기 위한 단순한 기억 조사(단락 상기), 기억을 초과하는 광범위한 인지 기능 저하를 배제하기 위한 일반적 인지 척도(간이 정신 상태 검사(MMSE), 이하 보다 상세히 논의됨), 및 환자의 기억불만 및 기억 상실을 검증하고 환자가 미치지 않았다는 것을 보장하기 위한 환자 및 간병인과의 정형화된 임상 면접(CDR)을 사용하여 임상 효율로 확립될 수 있다고 보고한다. MCI 환자는 평균적으로 전지에 포함된 비기억인지 척도에 대한 정상 이하의 1 미만 표준편차(SD)를 실행한다. 학습, 주의, 인지 속도, 카테고리 유창 및 실행 기능의 검사는 MCI 환자에서 손상될 수 있지만, 이들은 기억 장애보다 훨씬 덜 현저하다.

# [0125] 알츠하이머병(AD)

[0126] 특정 구현예에서, 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물) 및/또는 이의 제형이 알츠하이머병의 치료용으로 예상된다. 이러한 예에서, 본원에 기술된 방법은 알츠하이머병(AD)의 발병을 예방하거나 지연시키는데, 대상자가 임상 AD 진단으로 전이될 경우, AD의 중증도를 감소시키는데 및/또는 알츠하이머병의 하나 이상의 증상을 경감시키는데 유용하다.

[0127] 특히, 알츠하이머병이 초기 단계일 경우, 상기 방법은 AD의 특징인 하나 이상의 증상을 감소시키거나 제거하고/하거나 MCI의 초기 또는 후기 단계 알츠하이머병으로의 진행을 지연시키거나 예방할 수 있다.

- [0128] 현재 알츠하이머병으로 고생하는 개체는 특징적인 치매 뿐만 아니라 상기한 위험 인자의 존재로부터 인지될 수 있다. 또한, 다수의 진단 검사는 AD를 갖는 개체를 확인하는데 이용가능하다. 현재 알츠하이머병으로 고생하는 개체는 특징적인 치매 뿐만 아니라 상기한 위험 인자의 존재로부터 인지될 수 있다. 또한, 다수의 진단 검사는 AD를 갖는 개체를 확인하는데 이용가능하다. 이들은 CSF Tau, 포스포-tau(pTau), sAPP $\alpha$ , sAPP $\beta$ , A $\beta$  40, A $\beta$  42 수준 및/또는 C 말단 절단된 APP 단편(APPneo)의 측정을 포함한다. 특히 차별 진단의 맥락에 있어서, 상승된 Tau, pTau, sAPP $\beta$  및/또는 APPneo, 및/또는 감소된 sAPP $\alpha$ , 가용성 A $\beta$  40 및/또는 가용성 A $\beta$  42 수준은 AD의 존재를 나타낼 수 있다.
- [0129] 특정 구현예에서, 치료에 순응하는 대상자는 알츠하이머병을 가질 수 있다. 알츠하이머병으로 고생하는 개체는 또한 알츠하이머병 및 관련 장애 협회(ADRD) 기준에 의해 진단될 수 있다. NINCDS-ADRD 알츠하이머 기준은 1984년 신경학적 및 통신 장애 및 뇌졸중의 국립 연구소 및 알츠하이머병 및 관련 장애 협회(현재 알츠하이머 협회로서 공지됨)에 의해 제안되었고, 알츠하이머병(AD)의 진단에 가장 많이 사용된다(참조: McKhann, et al. (1984) Neurology 34(7): 939-44). 이러한 기준에 따라, 인지 장애 및 치매 의심 증후군의 존재는 가능하거나 거의 확실한 AD의 임상 진단을 위한 신경심리학적 검사로 확인되어야 한다. 그러나, 조직병리학적 확인(뇌 조직의 현미경 검사)이 일반적으로 방향 결정적 진단을 위해 사용된다. NINCDS-ADRD 알츠하이머 기준은 AD에서 손상될 수 있는 8개의 인지 도메인: 기억, 언어, 인지 능력, 주의력, 건설적 능력, 방향, 문제해결 및 기능적 능력을 나타낸다. 이러한 기준은 양호한 신뢰성 및 타당성을 나타낸다.
- [0130] 환자 기능의 기준 평가는 고전적인 정신측정 척도, 예를 들어, 간이 정신 상태 검사(MMSE)(참조: Folstein et al. (1975) J. Psychiatric Research 12 (3): 189-198), 및 알츠하이머병 환자의 상태 및 기능을 평가하기 위한 포괄적 스케일인 알츠하이머병 평가 스케일(ADAS)(참조: 예를 들어, Rosen, et al. (1984) Am. J. Psychiatr., 141:1356-1364)을 사용하여 수행할 수 있다. 이러한 정신측정 스케일은 알츠하이머 상태의 진행의 척도를 제공한다. 적절한 정성적 생활 스케일도 또한 치료를 모니터링하는데 사용될 수 있다. 질환 진행 정도는 간이 정신 상태 조사(MMSE)(참조: 예를 들어, Folstein, et al. 상기)를 사용하여 결정할 수 있다. 25포인트 이상의 임의의 점수(30 중)는 효과적으로 정상이다(완전함). 이 이하에서, 점수는 심각한( $\leq 9$  포인트), 중간 정도(10-20 포인트) 또는 가벼운(21-24 포인트) 알츠하이머병을 나타낼 수 있다.
- [0131] 알츠하이머병은 표 2에 제시된 1) 중간 정도 인지 기능 저하(가벼운 또는 초기 단계 알츠하이머병), 2) 적당하게 심각한 인지 기능 저하(중간 정도 또는 중간 단계 알츠하이머병), 3) 심각한 인지 기능 저하(적당하게 심각한 또는 중간 단계 알츠하이머병) 및 4) 매우 심각한 인지 기능 저하(심각한 또는 후기 단계 알츠하이머병)를 포함하는 여러 단계로 분할될 수 있다.

## 표 2

- [0132] 알츠하이머병의 예시적 단계

중간 정도 인지 기능 저하(가벼운 또는 초기 단계 AD)	
	<p>이 단계에서, 조심스러운 의학적 면접이 다음 분야에서 명백한 결함을 인지한다:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>최근 사건에 대한 감소된 인식.</li> <li>도전적 암산을 수행하는 손상된 능력. 예를 들어, 100으로부터 7씩 거꾸로 세기.</li> <li>복잡한 임무, 예를 들어, 마케팅, 손님을 위한 저녁 식사 계획 또는 청구서 지불 및 재정 관리를 수행하는 감소된 능력.</li> <li>개인 역사에 대한 감소된 기억.</li> <li>영향을 받은 개체는, 특히 사회적으로 또는 정신적으로 어려운 상황에서 압도되고 위축되는 것처럼 보일 수 있다.</li> </ul>
적당하게 심각한 인지 기능 저하(중간 정도 또는 중기 알츠하이머병)	



	<p>기억의 주요한 껍 및 인지 기능 부족이 나타난다. 일상적인 활동에 일부 보조가 필수적이 된다. 이 단계에서, 개체는</p> <p>의학적 면접 동안 그들의 현재 주소, 그들의 전화번호, 또는 그들이 졸업한 대학 또는 고등학교의 이름과 같은 중요한 항목을 상기할 수 없다.</p> <p>어디에 있는지에 또는 날짜, 요일 또는 계절에 대해 혼란스러워 할 수 있다.</p> <p>덜 도전적인 암산, 예를 들어, 40으로부터 4씩, 또는 20으로부터 2씩 거꾸로 세기에 문제를 가질 수 있다.</p> <p>계절 또는 경우에 적절한 의류 선택에 도움을 필요로 할 수 있다.</p> <p>보통 자신에 대한 상당한 지식을 유지하고 그들 자신의 이름 및 그들의 배우자 또는 자녀의 이름을 알 수 있다.</p> <p>보통 식사 또는 화장실 사용에 대한 어떠한 도움도 필요로 하지 않을 수 있다.</p>
<b>심각한 인지 기능 저하(적당하게 심각한 또는 중간 단계 알츠하이머병)</b>	
	<p>기억 문제가 계속 악화되고, 중요한 성격 변화가 나타날 수 있고, 영향받은 개체는 일상 활동에 광대한 도움을 필요로 한다. 이 단계에서, 개체는</p> <p>최근 경험 및 사건 뿐만 아니라 그들 주위에 대한 대부분의 인식을 상실할 수 있다.</p> <p>그들이 일반적으로 그들 자신의 이름을 상기하지만, 그들 개인 역사를 불완전하게 상기할 수 있다.</p> <p>때때로 그들의 배우자 또는 주요 간병인의 이름을 잊을 수 있지만, 일반적으로 친숙한 얼굴과 생소한 얼굴을 구별할 수 있다.</p> <p>적절하게 옷을 입을 때 도움을 필요로 할 수 있고, 감독 없이 주간 옷으로 파자마를 입거나 잘못된 발에 신발을 신는 등의 실수를 할 수 있다.</p> <p>이들의 정상적인 수면/일어나기 주기의 혼란을 경험할 수 있다.</p> <p>화장실 사용의 세부사항(수세식 화장실, 닦기 및 적절하게 휴지 처리)에 대한 도움을 필요로 할 수 있다.</p> <p>소변 또는 배변 실금의 에피소드가 증가할 수 있다.</p> <p>의심 및 망상(예: 그들의 간병인을 사기꾼이라고 믿는 것); 환상(실제로는 존재하지 않는 것을 보거나 듣는 것); 또는 강박적, 반복적 거동, 예를 들어, 손 떨기 또는 조직 절단을 포함하는 중요한 성격 변화 및 행동 증상을 경험할 수 있다.</p> <p>방황하는 경향이 있고, 길을 잃게 된다.</p>
<b>매우 심각한 인지 기능 저하(심각한 또는 후기 단계 알츠하이머병)</b>	
	<p>이는 개체가 이들의 환경에 반응하는 능력, 말하는 능력 및 최종적으로 운동을 제어하는 능력을 상실할 때의 질환의 최종 단계이다.</p> <p>개체는 단어 또는 어구가 때때로 완전할 수 있지만, 인지가능한 이들의 연설 능력을 자주 상실한다.</p> <p>개체는 식사 또는 화장실 사용에 대한 도움을 필요로 하고, 일반적 실금이 있다.</p> <p>개체는 도움 없이 걷는 능력, 지원 없이 앉는 능력, 웃는 능력 및 그들의 머리를 올리는 능력을 상실한다.</p> <p>반사신경은 비정상적으로 되고, 근육은 경직된다. 삼키기가 손상된다.</p>

[0133] 각종 구현예에서, 알츠하이머병을 진단받은 대상자에게 본원에서 기재된 하나 이상의 제제의 투여는 Tau, 포스포-Tau(pTau), APPneo, 가용성 Aβ40, 가용성 Aβ42, 및/또는 Aβ42/Aβ40 비로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 성분의 CSF의 수준의 감소가 존재할 경우 및/또는 대상자의 뇌 내에서 플라크 부하의 감소가 존재할 경우 및/또는 대상자의 뇌 내에서 플라크 형성 속도의 감소가 존재할 경우, 및/또는 대상자의 인지 능력의 개선이 존재할 경우, 및/또는 대상자에 의한 생활의 질의 지각된 개선이 존재할 경우, 및/또는 대상자의 임상 치매 등급(CDR)의 현저한 감소가 존재할 경우, 및/또는 임상 치매 등급의 증가율이 느려지거나 정지될 경우 및/또는 AD의 진행이 느려지거나 정지될 경우(예: 하나의 단계에서 표 3에 나열된 또 다른 단계로의 전이가 늦춰지거나 정지될 경우)에 효과적인 것으로 간주된다.

[0134] 특정 구현예에서, 본 방법에 순응하는 대상자는 일반적으로 알츠하이머병 이외의 신경학적 질환 또는 장애를 함유하지 않는다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 대상자는 파킨슨병 및/또는 정신 분열증 및/또는 정신병과 같은 신경학적 질환 또는 장애를 갖지 않거나 이를 발병시킬 위험에 있지 않다.

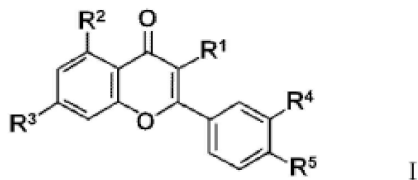
#### [0135] 활성제(들)

[0136] 본원에 기술된 방법은 부분적으로, 하나 이상의 활성제, 예를 들어, ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물의 투여가 뇌에서 아밀로이드 침착을 특징으로 하는 질환, 예를 들어, 가벼운 인지 장애, 알츠하이머병, 황반 변성증 등의 치료 및/또는 예방에서 용도를 발견한다는 인식에 기초한다.

[0137] **바이오플라보노이드**

[0138] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 방법에 사용된 활성제(들)는 플라보노이드, 예를 들어, 갈란긴 또는 루틴 또는 이의 유도체 및/또는 유사체를 포함한다. 특정 구현예에서, 플라보노이드는 화학식 I을 특징으로 한다:

[0139] (화학식 I)



[0140]

[0141] 상기 화학식 I에서,

[0142]  $R^1$ 은 OH, O-사카라이드, O-알킬, O-트리플루오로메틸, O-아릴, O-헤테로아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0143]  $R^4$  및  $R^5$ 는 독립적으로 H, OH,  $NH_2$ , O-알킬, O-트리플루오로메틸, S-알킬, S-아릴, 카복실레이트, 할로젠, NH-알킬, N,N-디알킬, NHCO-알킬, 및 헤테로아릴, 알킬 우레아 및 카바메이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되고;

[0144]  $R^2$  및  $R^3$ 은 독립적으로 H, OH,  $NH_2$ , O-알킬, O-트리플루오로메틸, S-알킬, S-아릴, 카복실레이트, 할로젠, NH-알킬, N,N-디알킬, NHCO-알킬, 및 헤테로아릴, 알킬 우레아 및 카바메이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0145] 특정 구현예에서,  $R^2$  및/또는  $R^3$ 은 OH이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 OH이고,  $R^3$ 은 OH이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및/또는  $R^3$ 은 독립적으로 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬의 알킬 성분은  $C_{1-12}$  알킬, 또는  $C_{1-9}$  알킬, 또는  $C_{1-6}$  알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및/또는  $R^3$ 은 할로젠이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 할로젠이고,  $R^3$ 은 할로젠이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및/또는  $R^3$ 은 독립적으로 Cl, Br, F, 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및/또는  $R^3$ 은 S-아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 독립적으로 선택된 S-아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 독립적으로 선택된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 OH이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 H이고,  $R^5$ 는 OH이거나,  $R^4$ 는 OH이고,  $R^5$ 는 H이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 OH이고,  $R^5$ 는 OH이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 H이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 H이고,  $R^5$ 는 H이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 가 OH일 경우,  $R^1$ 은 O-사카라이드이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 독립적으로 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및  $R^5$ 는 독립적으로 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 상기 O-알킬, S-알킬, NH-알킬 및 NHCO-알킬의 알킬 성분은  $C_{1-12}$  알킬, 또는  $C_{1-9}$  알킬, 또는  $C_{1-6}$  알킬, 또는  $C_{1-3}$  알킬이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 할로젠이다. 특정 구현예에서,  $R^4$ 는 할로젠이고,  $R^5$ 는 할로젠이다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 독립적으로 Cl, Br, F, 및 I로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및/또는  $R^5$ 는 S-아릴 및 헤테로아릴로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서,  $R^4$  및  $R^5$ 는 독립적으로 선택된 헤테로아릴이다. 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 O-사카라이드(예: O-모노사카라이드, O-디사카라이드, O-트리사카라이드 등)이다. 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 O-알킬, O-트리플루오로메틸, O-아릴 또는 O-헤테로아릴이다.

[0146] 특정 구현예에서, APP 특이적 BACE 억제제는 갈란긴 또는 이의 유도체이다. 특정 구현예에서, APP 특이적 BACE

억제제는 루틴 또는 이의 유도체이다.

[0147] 본원에서 예상되는 갈란긴 및/또는 루틴 및/또는 이의 각종 유도체의 제조방법은 당해 분야의 숙련가에게 공지되어 있다. 갈란긴 및 루틴 둘 다는 통상의 유도체와 같이 시판된다.

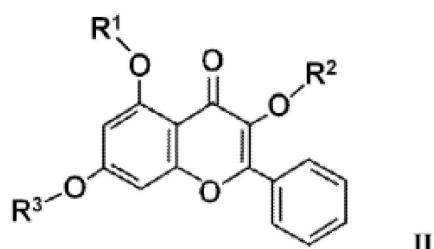
[0148] 이러한 화합물들은 당해 기술 분야의 숙련가에게 익히 공지된 방법을 사용하여 본원에 기술된 각종 유도체 및 유사체를 제조하기 위해 추가로 작용화될 수 있다. 예를 들어, 실시예 2에 기술된 절차는 각종 시판되는 디하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온을 사용하는 유사체의 합성에 사용될 것이다. 아세톡시 그룹으로의 전환은 실시예 2에 기술된 바와 같이 수행될 것이다. 디메틸디옥시란에 의한 처리는 3-하이드록시플라본으로 전환시키기 위해 사용될 것이다. 온화한 염기를 사용하는 추가의 가수분해가 아세톡시 보호 그룹을 제거하기 위해 수행될 수 있고, 플라본 유도체의 조 혼합물은 플래시 크로마토그래피 및 재결정화로 정제시켜 목적하는 플라본 유사체를 수득할 수 있다.

#### [0149] 플라보노이드 전구약물

[0150] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 각종 플라보노이드가 플라보노이드 전구약물로서 제공될 수 있다는 것이 예상된다. 예시적인 갈란긴 전구약물은 도 2에 도시되어 있다.

[0151] 특정 구현예에서, 전구약물은 화학식 II를 특징으로 하는 갈란긴 전구약물이고; 상기 전구약물은 포유동물에게 투여될 때, APP의 BACE 처리를 부분적으로 또는 완전히 억제한다:

[0152] (화학식 II)

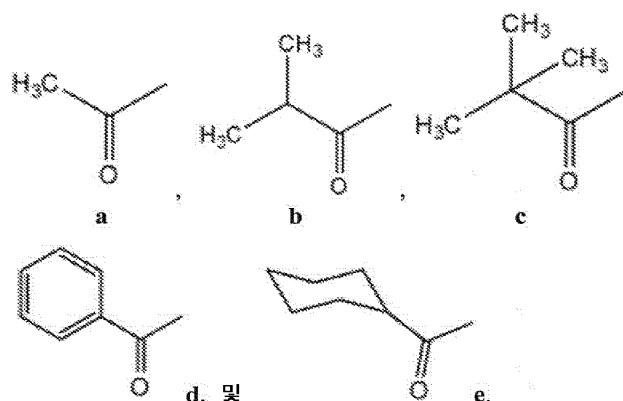


[0153]

[0154] 상기 화학식 II에서,

[0155] R¹, R² 및 R³은 H, 또는 포유동물에서 생체내 제거되는 보호 그룹이고, 여기서, R¹, R² 및 R³ 중의 적어도 하나는 H가 아니다.

[0156] 특정 구현예에서, R¹, R² 및 R³ 중의 적어도 하나는 하기로 이루어진 그룹으로부터 독립적으로 선택된다:



[0157]

[0158] 특정 구현예에서, R¹은 H이다. 특정 구현예에서, R²는 상기 그룹 a이고, R³은 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서, R³은 상기 그룹 a이고, R²는 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서, R² 및 R³은 둘다 상기 그룹 a이다.

- [0159] 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 H이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 상기 그룹 b이고,  $R^3$ 은 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 은 상기 그룹 b이고,  $R^2$ 는 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 둘 다 상기 그룹 b이다.
- [0160] 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 H이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 상기 그룹 c이고,  $R^3$ 은 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 은 상기 그룹 c이고,  $R^2$ 는 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 둘 다 상기 그룹 c이다.
- [0161] 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 H이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 상기 그룹 d이고,  $R^3$ 은 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 은 상기 그룹 d이고,  $R^2$ 는 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 둘 다 상기 그룹 d이다.
- [0162] 특정 구현예에서,  $R^1$ 은 H이다. 특정 구현예에서,  $R^2$ 는 상기 그룹 e이고,  $R^3$ 은 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^3$ 은 상기 그룹 e이고,  $R^2$ 는 상기 그룹 a, b, c, d 또는 e이다. 특정 구현예에서,  $R^2$  및  $R^3$ 은 둘 다 상기 그룹 e이다.
- [0163] 본원에 기술된 바와 같은 갈란긴 전구약물의 제조방법은 당해 기술 분야의 숙련가에 공지되어 있다.
- [0164] 하나의 이러한 프로토콜은 실시예 2(참조: 화합물 2를 합성하기 위한 도 11의 합성 반응식)에 예시된다.
- [0165] 각종 활성화제 및 합성 반응식은 예시적이지, 제한하지 않는 것으로 의도된다. 본원에 제공된 교시, 다수의 기타 플라보노이드, 플라보노이드 유도체 및 플라보노이드 전구약물을 사용하여, ASBI 화합물은 당해 기술 분야의 숙련가에 의해 합성되어 확인될 수 있다.

[0166] **약제학적 제형**

- [0167] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 하나 이상의 활성화제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 그의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 그의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 그의 유사체, 유도체 또는 전구약물)가 이를 필요로 하는 포유동물, 예를 들어, 아밀로이드 전구체 단백질의 비정상적인 처리를 특징으로 하는 병리의 위험이 있거나 이로부터 고생하는 포유동물, MCI가 알츠하이머병으로 진행할 위험이 있는 포유동물 등에게 투여된다. 특정 구현예에서, 활성화제(들)는 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 아밀로이드형성 경로에 의한 아밀로이드 전구체 단백질(APP)의 처리를 촉진시키기 위해 투여된다.
- [0168] 활성화제(들)는 "본래" 형태로 또는, 경우에 따라, 염, 에스테르, 아마이드, 전구약물, 유도체 등의 형태로 투여될 수 있고, 단, 염, 에스테르, 아마이드, 전구약물 또는 유도체가 약리학적으로 적합하고, 즉, 본 방법(들)에 효과적이다. 활성화제의 염, 에스테르, 아마이드, 전구약물 및 기타 유도체는 합성 유기 화학 분야의 숙련가들에게 공지되고, 예를 들어, 문헌(참조: March (1992) Advanced Organic Chemistry; Reactions, Mechanisms and Structure, 4th Ed. N.Y. Wiley-Interscience)에 기재된 표준 절차를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 제조할 수 있다.
- [0169] 예를 들어, 약제학적으로 허용되는 염은 염을 형성할 수 있는 작용기를 갖는 본원에서 기술된 임의의 제제(들)를 위해 제조될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염은 부모 화합물의 활성을 유지하고 이것이 투여되는 대상자에게, 투여된다는 맥락에서 임의의 유해하거나 부적당한 효과를 부여하지 않는 임의의 염이다.
- [0170] 각종 구현예에서, 약제학적으로 허용되는 염은 유기 또는 무기 염기로부터 유도될 수 있다. 상기 염은 1가 또는 다가 이온일 수 있다. 특히 흥미로운 것은 무기 이온, 리튬, 나트륨, 칼륨, 칼슘 및 마그네슘이다. 유기 염은 아민, 특히 암모늄 염, 예를 들어, 모노-, 디- 및 트리알킬 아민 또는 에탄올 아민으로 제조될 수 있다. 염은 또한 카페인, 트로메타민 및 유사한 분자로 형성될 수 있다.

- [0171] 약제학적 활성제를 염, 에스테르, 아마이드, 전구약물 등으로서 제형화하는 방법은 당해 기술 분야의 숙련자에게 익히 공지되어 있다. 예를 들어, 염은 통상적으로 적합한 산과의 반응을 포함하는 통상의 방법론을 사용하여 유리 염기로부터 제조될 수 있다. 일반적으로, 약물의 염기 형태를 메탄올 또는 에탄올과 같은 극성 유기 용매에 용해시키고, 여기에 산을 첨가한다. 생성되는 염은 침전시키거나 보다 덜 극성인 용매를 첨가하여 용액으로부터 취할 수 있다. 산 부가 염을 제조하기에 적합한 산은, 유기산, 예를 들어, 아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 피루브산, 옥살산, 말산, 말론산, 석신산, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 신남산, 만델산, 메탄설폰산, 에탄설폰산, p-톨루엔설폰산, 살리실산 등 뿐만 아니라 무기산, 예를 들어, 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 인산 등 둘 다를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 산 부가 염은 적합한 염기로 처리함으로써 유리 염기로 재전환시킬 수 있다. 본원에서 활성제의 특징의 특히 바람직한 산 부가 염은 염산 또는 브롬화수소산을 사용하여 제조될 수 있는 것과 같은 할라이드 염을 포함한다. 반대로, 본 발명의 활성제의 염기성 염의 제제는 약제학적으로 허용되는 염기, 예를 들어, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 수산화칼슘, 트리메틸아민 등을 사용하여 유사한 방식으로 제조된다. 특히 바람직한 염기성 염은 알칼리 금속 염, 예를 들어, 나트륨 염 및 구리 염을 포함한다.
- [0172] 염기성 약물의 염 형태를 제조하기 위해, 반대 이온의 pKa는 바람직하게는 약물의 pKa보다 적어도 약 2 pH 단위 더 낮다. 유사하게, 산성 약물의 염 형태를 제조하기 위해, 반대 이온의 pKa는 바람직하게는 약물의 pKa보다 적어도 약 2 pH 단위 더 높다. 이는 반대 이온이 용액의 pH를 염 안정기(plateau)에 도달하기 위한  $pH_{max}$ 보다 낮은 수준으로 조래하도록 하고, 이때 염의 용해도는 유리 산 또는 염기의 용해도보다 우세하다. 활성 약제학적 성분(API) 및 산 또는 염기의 이온성 그룹의 pKa 단위의 차이의 일반화된 규칙은 양성자 이동이 효과적으로 유리하게 하는 것을 의미한다. API 및 반대 이온의 pKa가 크게 상이하지 않을 경우, 고체 복합체를 형성할 수 있지만, 수성 환경에서 급속히 불균형일 수 있다(즉, 약물 및 반대 이온의 개별적 본체로 파괴될 수 있다).
- [0173] 바람직하게는, 반대 이온은 약제학적으로 허용되는 반대 이온이다. 적합한 음이온성 염은, 아세테이트, 벤조에이트, 벤질레이트, 비타르테이트, 브로마이드, 카보네이트, 클로라이드, 시트레이트, 에데테이트, 에디실레이트, 에스톨레이트, 푸마레이트, 글루세이트, 글루코네이트, 하이드로브로마이드, 하이드로클로라이드, 요오드, 락테이트, 락토비오네이트, 말레이트, 말레이트, 만델레이트, 메실레이트, 메틸 브로마이드, 메틸 설페이트, 무케이트, 납실레이트, 니트레이트, 파모에이트(엠포네이트), 포스페이트 및 디포스페이트, 살리실레이트 및 디살리실레이트, 스테아레이트, 석시네이트, 설페이트, 타르테이트, 토실레이트, 트리에티오디드, 발레레이트 등을 포함하나, 이에 국한되지 않고, 적합한 양이온성 염 형태는, 알루미늄, 벤자틴, 칼슘, 에틸렌디아민, 리신, 마그네슘, 메글루민, 칼슘, 프로카인, 나트륨, 트로메타민, 아연 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0174] 에스테르의 제조는 통상적으로 활성제의 분자 구조 내에 존재하는 하이드록실 및/또는 카복실 그룹의 작용화를 포함한다. 특정 구현예에서, 에스테르는 유리 알콜 그룹, 즉 화학식  $RCOOH$ 의 카복실산(여기서, R은 알킬, 바람직하게는 저급 알킬이다)으로부터 유도되는 잔기의 아실 치환된 유도체이다. 에스테르는, 경우에 따라, 통상적인 가수소분해 또는 가수분해 절차를 사용하여 유리 산으로 재전환시킬 수 있다.
- [0175] 아마이드는 또한 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지되거나 관련된 문헌에 기재된 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, 아마이드는 적합한 아민 반응물을 사용하여 에스테르로부터 제조할 수 있거나, 이들은 암모니아 또는 저급 알킬 아민과의 반응으로 무수물 또는 산 클로라이드로부터 제조할 수 있다.
- [0176] 각종 구현예에서, 본원에서 확인된 활성제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)는 본원에서 기술된 병리/징후(과도한 아밀로이드 플라크 형성 및/또는 침착 또는 바람직하지 않은 아밀로이드 또는 전-아밀로이드 처리를 특징으로 하는 병리) 중의 하나 이상의 예방적 및/또는 치료적 치료를 위해 비경구 투여, 국소 투여, 경구 투여, 비내 투여 (또는 다르게 흡입됨), 직장 투여 또는 국소 투여, 예를 들어, 에어로졸 또는 경피 투여에 유용하다.
- [0177] 본원에 기재된 활성제는 또한 약제학적으로 허용되는 담체(부형제)와 배합하여 약리학 적 조성물을 형성할 수 있다. 약제학적으로 허용되는 담체는, 예를 들어, 조성물을 안정화시키는 작용을 하거나 활성제(들)의 흡수를 증가시키거나 감소시키는 하나 이상의 생리학적으로 허용되는 화합물(들)을 함유할 수 있다. 생리학적으로 허용되는 화합물은, 예를 들어, 탄수화물, 예를 들어, 글루코스, 수크로스 또는 텍스트란, 산화방지제, 예를 들어, 아스코르브산 또는 글루타티온, 킬레이트제, 저분자량 단백질, 보호 및 흡수 증강제, 예를 들어, 지질, 활성제



의 클리어런스 또는 가수분해를 감소시키는 조성물, 또는 부형제 또는 기타 안정화제 및/또는 완충제를 포함할 수 있다.

[0178] 특히 정제, 캡슐, 겔 캡슐 등을 제조하는데 유용한 기타 생리학적으로 허용되는 화합물은, 결합제, 희석제/충전제, 붕해제, 윤활제, 현탁제 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0179] 특정 구현예에서, 경구 투여 형태(예: 정제)를 제조하기 위해, 예를 들어, 부형제(예: 락토스, 수크로스, 전분, 만니톨 등), 임의의 붕해제(예: 탄산칼슘, 카복시메틸셀룰로스 칼슘, 나트륨 전분 글리콜레이트, 크로스포비돈 등), 결합제(예: 알파-전분, 아라비아 고무, 미세결정성 셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 하이드록시프로필셀룰로스, 사이클로덱스트린 등), 및 임의의 윤활제(예: 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 폴리에틸렌 글리콜 6000 등)를 활성 성분 또는 성분들(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)에 첨가하고, 생성되는 조성물을 압축시킨다. 필요할 경우, 압축된 제품은, 예를 들어, 맛을 차폐시키거나 장 용해 또는 서방출을 위한 공지된 방법을 사용하여 코팅시킨다. 적합한 코팅 재료는, 에틸-셀룰로스, 하이드록시메틸셀룰로스, 폴리옥스(POLYOX<sup>®</sup>)이에틸렌 글리콜, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 하이드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트, 및 유드라지트(Eudragit)(Rohm & Haas, 독일; 메타크릴산-아크릴산 공중합체)를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0180] 기타 생리학적으로 허용되는 화합물은 미생물의 성장 또는 작용을 방지하는데 특히 유용한 습윤제, 유화제, 분산제 또는 방부제를 포함한다. 각종 방부제는 익히 공지되어 있고, 예를 들어, 페놀 및 아스코르브산을 포함한다. 당해 기술 분야의 숙련가는 생리학적으로 허용되는 화합물을 포함하는 약제학적으로 허용되는 담체(들)의 선택은, 예를 들어, 활성제(들)의 투여 경로 및 활성제(들)의 특별한 물리화학적 특성에 의존한다는 것을 이해할 것이다.

[0181] 특정 구현예에서, 부형제는 무균이고, 일반적으로 바람직하지 않은 물질을 함유하지 않는다. 이러한 조성물은 통상의 익히 공지된 멸균화 기술로 멸균시킬 수 있다. 각종 경구 투여 형태를 위해, 부형제, 예를 들어, 정제 및 캡슐 무균성은 필요하지 않다. USP/NF 표준은 일반적으로 충분하다.

[0182] 약제학적 조성물은 투여 방법에 따라 각종 단위 투여 형태로 투여될 수 있다. 적합한 단위 투여 형태는, 분말, 정제, 환제, 캡슐제, 로젠지제, 좌제, 패치, 비강 스프레이, 주사제, 이식가능한 서방성 제형, 점막 부착성 필름, 국소용 니스, 지질 복합체 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0183] 본원에 기술된 활성제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)를 포함하는 약제학적 조성물은 통상적인 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 연화, 유화, 캡슐화, 포획화 또는 동결건조 공정으로 제조할 수 있다. 약제학적 조성물은 활성제(들)의 약제학적으로 사용될 수 있는 제제로의 처리를 촉진시키는 하나 이상의 생리학적으로 허용되는 담체, 희석제, 부형제 또는 보조제를 사용하여 통상적인 방식으로 제형화될 수 있다. 적절한 제형은 선택된 투여 경로에 의존한다.

[0184] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 활성제는 경구 투여용으로 제형화된다. 경구 투여를 위해, 적합한 제형은 활성제(들)를 당해 기술 분야에 익히 공지된 경구 전달용으로 적합한 약제학적으로 허용되는 담체와 배합하여 용이하게 제형화할 수 있다. 이러한 담체는 본원에 기재된 활성제(들)가 치료될 환자가 경구 소화하기 위한 정제, 환제, 당의정, 캡슐제, 로젠지제, 겔 캡슐, 캡슐제, 액체, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로 제형화되도록 한다. 예를 들어, 산제, 캡슐제 및 정제와 같은 경구 고형 제형을 위해, 적합한 부형제는 충전제, 예를 들어, 당(예: 락토스, 수크로스, 만니톨 및 소르비톨), 셀룰로스 제제(예: 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트라가칸트 고무, 메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸-셀룰로스, 나트륨 카복시메틸셀룰로스), 합성 중합체(예: 폴리비닐피롤리돈(PVP)), 과립화제 및 결합제를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 가교결합된 폴리비닐피롤리돈, 한천 또는 알긴산 또는 이의 염, 예를 들어, 나트륨 알기네이트와 같은 붕해제를 첨가할 수 있다. 경우에 따라, 고체 투여 형태는 표준 기술을 사용하여 당 코팅되거나 장 코팅될 수 있다. 장 코팅된 입자의 제조는, 예를 들어, 미국 특허 제4,786,505호 및 제4,853,230호에 기재되어 있다.

[0185] 흡입 투여를 위해, 활성제(들)는 적합한 추진제, 예를 들어, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 기타 적합한 기체를 사용하여 압축 팩 또는 분무기로부터 에어로

졸 스프레이 형태로 편리하게 전달된다. 압축 에어로졸의 경우에, 투여 단위는 계량된 양을 전달하기 위해 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 화합물의 분말 혼합물 및 락토스 또는 전분과 같은 적합한 분말 기제를 함유하는, 흡입기 또는 주입기에 사용하기 위한, 예를 들어, 젤라틴의 캡슐 및 카트리지를 제형화할 수 있다.

[0186] 각종 구현예에서, 활성제(들)는 좌제 또는, 예를 들어, 코코아 버터 또는 기타 글리세라이드와 같은 통상의 좌제 기제를 함유하는 체류 관장제와 같은 직장 또는 질 조성물로 제형화될 수 있다. 직장 또는 질 전달용 활성제를 제형화하는 방법은 당해 기술 분야의 숙련자에게 익히 공지되어 있고(참조: 예를 들어, Allen (2007) Suppositories, Pharmaceutical Press), 통상적으로 활성제를 적합한 기제(예: 친수성(PEG), 친유성 물질, 예를 들어, 코코아 버터 또는 위텡솔(Witepsol) W45), 양쪽성 물질, 예를 들어, 수포시레(Suppocire) AP 및 폴리글리콜화 글리세라이드 등과 배합시킴을 포함한다. 기제를 선택하고, 목적하는 용용/전달 프로파일을 위해 혼합한다.

[0187] 국소 투여를 위해, 본원에 기술된 활성제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)를 당해 기술 분야에 익히 공지된 바와 같이 용액, 겔, 연고, 크림, 현탁액 등으로 제형화할 수 있다.

[0188] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 활성제는 당해 기술 분야의 숙련자에게 익히 공지된 표준 방법에 따라 전신 투여용으로(예: 주사물) 제형화된다. 전신 제형은, 주사, 예를 들어, 피하, 정맥내, 근육내, 척수강내 또는 복강내 주사에 의한 투여용으로 고안된 것들 뿐만 아니라 경피, 점막 경구 또는 폐 투여용으로 고안된 것들을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 주사의 경우, 본원에 기재된 활성제는 수용액, 바람직하게는 생리학적으로 적합한 완충제, 예를 들어, 헵크스 용액 또는 링거액 또는 생리 식염수 완충제로 및/또는 특정 에멀전 제형으로 제형화될 수 있다. 용액(들)은 제형화제, 예를 들어, 현탁화제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 활성제(들)는 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어, 무균 발열원 없는 물로 구성하기 위한 분말 형태로 제공될 수 있다. 점막 투여의 경우, 및/또는 혈액/뇌 장벽 통과를 위해, 투과될 장벽에 적합한 침투제를 제형화에 사용할 수 있다. 이러한 침투제는 일반적으로 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 주사용 제형 및 흡입용 제형은 일반적으로 무균 또는 실질적으로 무균 제형으로서 제공된다.

[0189] 이미 기술된 제형 이외에, 활성제(들)는 또한 데포 제제로서 제형화될 수 있다. 이러한 장기간 작용 제형은 이식(예: 피하 또는 근육내) 또는 근육내 주사로 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 활성제(들)는 적합한 중합성 또는 소수성 물질(예: 허용되는 오일 중의 에멀전으로서) 또는 이온 교환 수지로 또는 난용성 유도체로서, 예를 들어, 난용성 염으로서 제형화될 수 있다.

[0190] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)는 또한 통상적인 경피 약물 전달 시스템, 즉 활성제(들)가 통상적으로 피부에 부착되는 약물 전달 장치로서 작용하는 적층화된 구조 내에 함유된 경피 "패치"를 사용하여 피부를 통해 전달될 수 있다. 이러한 구조물에서, 약물 조성물은 통상적으로 상부 배면 층의 기초가 되는 층 또는 "리서버"에 함유된다. 이 문맥에서 용어 "리서버"는 피부의 표면으로 전달하는데 궁극적으로 이용가능한 "활성 성분(들)"의 양을 의미한다는 것이 이해된다. 따라서, 예를 들어, "리서버"는 활성 성분(들)을 패치의 배면 층 위의 접착제 층에 또는 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 임의의 각종 상이한 매트릭스 제형에 포함할 수 있다. 패치는 단일 리서버를 함유할 수 있거나, 이는 다수의 리서버를 함유할 수 있다.

[0191] 하나의 예시적 구현예에서, 리서버는 약물 전달 동안 시스템을 피부에 부착시키는 작용을 하는 약제학적으로 허용되는 접착 접착제의 중합성 매트릭스를 포함한다. 적합한 피부 접착 접착제의 예는, 폴리에틸렌, 폴리실록산, 폴리이소부틸렌, 폴리아크릴레이트, 폴리우레탄 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 대안적으로, 약물 함유 리서버 및 피부 접착 접착제는, 이러한 경우에 상기한 중합성 매트릭스일 수 있거나 액체 또는 하이드로겔 리서버일 수 있거나 임의의 기타 형태를 취할 수 있는 리서버의 기초가 되는 접착제와 함께 별도의 상이한 층으로서 존재한다. 장치의 상부 표면으로서 작용하는 이러한 적층물 중의 배면 층은 바람직하게는 "패치"의 1차 구조적 요소로서 기능하고, 많은 유연성을 갖는 장치를 제공한다. 배면 층용으로 선택된 재료는 바람직하게는 활성제(들) 및 존재하는 임의의 기타 재료에 실질적으로 불침투성이다.

[0192] 대안적으로, 기타 약제 전달 시스템이 사용될 수 있다. 예를 들어, 리포솜, 에멀전, 마이크로에멀전/나노에멀전은 약제학적 활성 화합물을 보호하고 전달하기 위해 사용될 수 있는 전달 비히클의 익히 공지된 예이다. 비록 통상적으로 보다 큰 독성을 대가로, 특정 유기 용매, 예를 들어, 디메틸설폭사이드도 또한 사용될 수 있다.

[0193] 특정 구현예에서, 본원에 기술된 활성제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구

약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)는 나노에멀전으로 제형화된다. 나노에멀전은, 수중유(O/W) 나노에멀전 및 유중수(W/O) 나노에멀전을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 나노에멀전은 약 20 내지 약 1000nm 범위의 평균 액적 직경을 갖는 에멀전으로서 정의될 수 있다. 일반적으로, 평균 액적 크기는 약 20nm 또는 50nm 내지 약 500nm이다. 용어 서브-마이크론 에멀전(SME) 및 미니-에멀전은 동의어로서 사용된다.

[0194] 예시적인 수중유(O/W) 나노에멀전은, 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는다: 계면활성제 미셀 -- 소분자 계면활성제 또는 세제(예: SDS/PBS/2-프로판올)로 구성된 미셀; 중합체 미셀 -- 중합체, 공중합체 또는 블록 공중합체 계면활성제(예: 플루로닉(Pluronic) L64/PBS/2-프로판올)로 구성된 미셀; 혼합 미셀 -- 하나 이상의 계면활성제 성분이 존재하거나 액체 상(일반적으로 알콜 또는 지방산 화합물) 중의 하나가 미셀(예: 옥탄산/PBS/EtOH)의 형성에 참여하는 미셀; 완전 미셀 -- 활성제(들)가 보조 계면활성제로서 작용하여 미셀의 불가결한 부분을 형성하는 혼합 미셀; 및 피커링(고체 상) 에멀전 -- 활성제(들)가 고체 나노입자(예: 폴리스티렌 나노입자/PBS/유상 없음)의 외부와 관련되어 있는 에멀전.

[0195] 예시적인 유중수(W/O) 나노에멀전은, 다음을 포함하나, 이에 국한되지 않는다: 계면활성제 미셀 -- 소분자 계면활성제 또는 세제(예: 디옥틸 설포석시네이트/PBS/2-프로판올, 이소프로필미리스테이트/PBS/2-프로판올 등)로 구성된 미셀; 중합체 미셀 -- 중합체, 공중합체 또는 블록 공중합체 계면활성제(예: 플루로닉(PLURONIC®) L121/PBS/2-프로판올)로 구성된 미셀; 혼합 미셀 -- 하나 이상의 계면활성제 성분이 존재하거나 액체 상(일반적으로 알콜 또는 지방산 화합물) 중의 하나가 미셀(예: 카프르산/카프릴산 디글리세라이드/PBS/EtOH)의 형성에 참여하는 미셀; 완전 미셀 -- 활성제(들)가 보조 계면활성제로서 작용하여 미셀의 불가결한 부분을 형성하는 혼합 미셀; 및 피커링(고체 상) 에멀전 -- 활성제(들)가 고체 나노입자(예: 키토산 나노입자/수성 상 없음/광유)의 외부와 관련되어 있는 에멀전.

[0196] 상기한 바와 같이, 특정 구현예에서, 나노에멀전은 하나 이상의 계면활성제 또는 세제를 포함한다. 일부 구현예에서, 계면활성제는 비이온성 세제(예: 폴리소르베이트 계면활성제, 폴리옥시에틸렌 에테르 등)이다. 본 발명에서 용도를 갖는 계면활성제는, 화합물의 트윈(TWEEN®), 트리톤(TRITON®) 및 틸록사폴(TYLOXAPOL®) 계열과 같은 계면활성제를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0197] 특정 구현예에서, 에멀전은, 세틸피리디늄 클로라이드를 포함하는 하나 이상의 양이온성 할로젠 함유 화합물을 추가로 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 또한 추가의 구현예에서, 조성물은 조성물과 미생물(예: 완충제 중의 에틸렌디아민테트라아세트산 또는 에틸렌비스(옥시에틸렌트릴로)테트라아세트산과 같은 킬레이트제)의 상호작용을 증가시키는 하나 이상의 화합물("상호작용 증강제")을 추가로 포함한다.

[0198] 일부 구현예에서, 나노에멀전은 에멀전의 형성을 돕는 유화제를 추가로 포함한다. 유화제는 오일/물 계면에서 응집하여 두 인접 액적 사이의 직접 접촉을 방지하는 일종의 연속 막을 형성하는 화합물을 포함한다. 본 발명의 특정 구현예는 이들의 항병원성 특성을 손상시키지 않고 물을 사용하여 목적하는 농도로 용이하게 희석될 수 있는 수중유 에멀전 조성물을 특징으로 한다.

[0199] 수상 상에 분산된 불연속 오일 액적 이외에, 특정의 수중유 에멀전은 또한 기타 지질 구조물, 예를 들어, 작은 지질 소포(예: 흔히 수상 상의 층에 의해 서로 분리된 다수의 실질적으로 동심 지질 이중 층으로 구성되는 지질 구), 미셀(극성 헤드 그룹이 수상 상을 향해 외부로 직면하고, 비극성 꼬리가 수상 상으로부터 멀리 내부로 격리되도록 배열된 50 내지 200 분자의 작은 클러스터로의 양친매성 분자) 또는 라멜라 상(각 입자가 물의 박막에 의해 분리된 병행 양친매성 이중 층으로 구성되는 지질 분산액)을 함유할 수 있다.

[0200] 이러한 구조물은 물로부터 비극성 잔기(예: 긴 탄화수소 쇄)를 구동하는 소수성력의 결과로 형성된다. 상기 지질 제제는 일반적으로 계면활성제 지질 제제(SLP)로서 기술될 수 있다. SLPs는 점막에 대한 최소한의 독성이고, 소장 내에서 대사되는 것으로 간주된다(참조: 예를 들어, Hamouda et al., (1998) J. Infect. Disease 180: 1939).

[0201] 특정 구현예에서, 에멀전은 수상 상에 분포된 불연속 오일 상, 알콜 및/또는 글리세롤을 포함하는 제1 성분, 및 계면활성제 또는 할로젠 함유 화합물을 포함하는 제2 성분을 포함한다. 수상 상은, 물(예: 탈이온수, 증류수, 수돗물) 및 용액(인산염 완충된 식염수 용액 또는 기타 완충 시스템)을 포함하는 임의 형태의 수상 상을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 오일 상은, 식물성 오일(예: 대두유, 아보카도유, 아마씨유, 야자유, 면실유, 스쿠알렌유, 올리브유, 카놀라유, 옥수수 기름, 평지씨유, 홍화유 및 해바라기유), 동물성 오일(예: 어유),



향미유, 수불용성 비타민, 광유 및 모터 오일을 포함하는 임의 형태의 오일을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 특정 구현예에서, 오일 상은 수중유 에멀전의 30 내지 90vol%(즉, 최종 에멀전의 총 용적의 30 내지 90%를 구성한다), 더욱 바람직하게는 50 내지 80%를 포함한다. 제형은 특별한 계면활성제에 제한될 필요는 없지만, 특정 구현예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 계면활성제(예: 트윈(TWEEN) 20®, 트윈 40®, 트윈 60® 및 트윈 80®), 페옥시폴리에톡시에탄올(예: 트리톤(TRITON®) X-100, X-301, X-165, X-102 및 X-200, 및 틸록사폴(TYLOXAPOL®), 또는 나트륨 도데실 설페이트 등이다.

[0202] 특정 구현예에서, 할로젠-함유 성분이 존재한다. 할로젠-함유 화합물의 특성, 일부 바람직한 구현예에서, 할로젠 함유 화합물은 클로라이드 염(예: NaCl, KCl 등), 세틸피리디늄 할라이드, 세틸트리메틸암모늄 할라이드, 세틸디메틸에틸암모늄 할라이드, 세틸디메틸벤질암모늄 할라이드, 세틸트리부틸포스포늄 할라이드, 도데실트리메틸암모늄 할라이드, 테트라데실트리메틸암모늄 할라이드, 세틸피리디늄 클로라이드, 세틸트리메틸암모늄 클로라이드, 세틸벤질디메틸암모늄 클로라이드, 세틸피리디늄 브로마이드, 세틸트리메틸암모늄 브로마이드, 세틸디메틸에틸암모늄 브로마이드, 세틸트리부틸포스포늄 브로마이드, 도데실트리메틸암모늄 브로마이드, 테트라데실트리메틸암모늄 브로마이드 등을 포함한다.

[0203] 특정 구현예에서, 에멀전은 4급 암모늄 화합물을 포함한다. 4급 암모늄 화합물은, N-알킬디메틸 벤질 암모늄 사카리네이트, 1,3,5-트리아진-1,3,5(2H,4H,6H)-트리에탄올; 1-데칸아미늄, N-데실-N,N-디메틸-, 클로라이드 (또는) 디데실 디메틸 암모늄 클로라이드; 2-(2-(p-(디이소부틸)크레소시)에톡시)에틸 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 2-(2-(p-(디이소부틸)펜옥시)에톡시)에틸 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 알킬 1 또는 3 벤질-1-(2-하이드록시에틸)-2-이미다졸리늄 클로라이드; 알킬 비스(2-하이드록시에틸)벤질 암모늄 클로라이드; 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 알킬 디메틸 3,4-디클로로벤질 암모늄 클로라이드 (100% C12); 알킬 디메틸 3,4-디클로로벤질 암모늄 클로라이드 (50% C14, 40% C12, 10% C16); 알킬 디메틸 3,4-디클로로벤질 암모늄 클로라이드 (55% C14, 23% C12, 20% C16); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (100% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (100% C16); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (41% C14, 28% C12); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (47% C12, 18% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (55% C16, 20% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (58% C14, 28% C16); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (60% C14, 25% C12); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (61% C11, 23% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (61% C12, 23% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (65% C12, 25% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (67% C12, 24% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (67% C12, 25% C14); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (90% C14, 5% C12); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (93% C14, 4% C12); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (95% C16, 5% C18); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (및) 디데실 디메틸 암모늄 클로라이드; 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (지방산에서와 같음); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (C12-C16); 알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 (C12-C18); 알킬 디메틸 벤질 및 디알킬 디메틸 암모늄 클로라이드; 알킬 디메틸 디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 알킬 디메틸 에틸 암모늄 브로마이드 (90% C14, 5% C16, 5% C12); 알킬 디메틸 에틸 암모늄 브로마이드 (대두유의 지방산에서와 같은 혼합된 알킬 및 알케닐 그룹); 알킬 디메틸 에틸벤질 암모늄 클로라이드; 알킬 디메틸 에틸벤질 암모늄 클로라이드 (60% C14); 알킬 디메틸 이소프로필벤질 암모늄 클로라이드 (50% C12, 30% C14, 17% C16, 3% C18); 알킬 트리메틸 암모늄 클로라이드 (58% C18, 40% C16, 1% C14, 1% C12); 알킬 트리메틸 암모늄 클로라이드 (90% C18, 10% C16); 알킬디메틸(에틸벤질) 암모늄 클로라이드 (C12-18); 디-(C8-10)-알킬 디메틸 암모늄 클로라이드; 디알킬 디메틸 암모늄 클로라이드; 디알킬 메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 디데실 디메틸 암모늄 클로라이드; 디이소데실 디메틸 암모늄 클로라이드; 디옥틸 디메틸 암모늄 클로라이드; 도데실 비스(2-하이드록시에틸) 옥틸 하이드로젠 암모늄 클로라이드; 도데실 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 도데실카바모일 메틸 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 헵타데실 하이드록시에틸이미다졸리늄 클로라이드; 헥사하이드로-1,3,5-트리스(2-하이드록시에틸)-s-트리아진; 미리스탈코늄 클로라이드 (및) 콰트(Quat) RNIUM 14; N,N-디메틸-2-하이드록시프로필암모늄 클로라이드 중합체; n-알킬 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; n-알킬 디메틸 에틸벤질 암모늄 클로라이드; n-테트라데실 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드 일수화물; 옥틸 데실 디메틸 암모늄 클로라이드; 옥틸 도데실 디메틸 암모늄 클로라이드; 옥티펜옥시에톡시에틸 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; 옥시디에틸렌비스 (알킬 디메틸 암모늄 클로라이드); 4급 암모늄 화합물, 디코코 알킬디메틸, 클로라이드; 트리메톡시실릴 프로필 디메틸 옥타데실 암모늄 클로라이드; 트리메톡시실릴 콰트, 트리메틸 도데실벤질 암모늄 클로라이드; n-도데실 디메틸 에틸벤질 암모늄 클로라이드; n-헥사데실 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; n-테트라데실 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드; n-테트라데실 디메틸 에틸벤질 암모늄 클로라이드; 및 n-옥타데실 디메틸 벤질 암모늄 클로라이드를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

- [0204] 나노에멀전 제형 및 이의 제조방법은 당해 기술 분야의 숙련가에게 익히 공지되어 있고, 예를 들어, 미국 특허 제7,476,393호, 제7,468,402호, 제7,314,624호, 제6,998,426호, 제6,902,737호, 제6,689,371호, 제6,541,018호, 제6,464,990호, 제6,461,625호, 제6,419,946호, 제6,413,527호, 제6,375,960호, 제6,335,022호, 제6,274,150호, 제6,120,778호, 제6,039,936호, 제5,925,341호, 제5,753,241호, 제5,698,219호, 및 제5,152,923호 및 문헌(참조: Fanun et al. (2009) Microemulsions: Properties and Applications (Surfactant Science), CRC Press, Boca Ratan Fl)에 기재되어 있다.
- [0205] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 하나 이상의 활성제는, 예를 들어, 희석될 준비가 된 저장 용기에(예: 예비측정된 용적으로) 또는 물, 알콜, 과산화수소 또는 기타 희석제의 용적에 첨가할 준비가 된 가용성 캡슐에 "농축물"로서 제공될 수 있다.
- [0206] **지속 방출(서방성) 제형**
- [0207] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)의 "지속 방출" 제형이 예상된다. 각종 구현예에서, 이러한 지속 방출 제형은 정맥내 및 통상의 즉시 방출 경구 투여 형태의 높은 피크 혈장 수준을 회피하도록 고안된다.
- [0208] 예시적인 서방성 정제는, 예를 들어, 치료제를 함유하는 고체 중합체의 반투성 매트릭스를 포함한다. 서방성 재료의 각종 용도가 확립되었고, 당해 기술 분야의 숙련가에게 익히 공지되어 있다. 서방성 캡슐은 이들의 화학적 특성에 따라, 100일 이상까지 수주 동안 화합물을 방출시킬 수 있다. 치료 시약의 화학적 특성 및 생물학적 안정성에 따라, 안정화를 위한 추가 전략이 사용될 수 있다.
- [0209] 특정 구현예에서, 이러한 "지속 방출" 제형은 점막을 이용하고, 독립적으로 정제 봉해 (또는 침식) 및/또는 약물 용해를 제어할 수 있고, 보다 안전한 전달 프로파일을 제공하기 위해 정제로부터 경시적으로 방출시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에서 기재된 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)의 경구 제형은 규정된 양의 시간 동안 전달되는 규정된 양의 활성제를 포함하는 개별적인 반복 용량을 제공한다.
- [0210] 하나의 예시적인 서방성 제형은 활성 성분(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물, 또는 이의 토토머(들) 또는 입체이성체(들), 또는 상기 ASBI(들), 상기 입체이성체(들) 또는 상기 토토머(들)의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물, 또는 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물) 약 0.01% 내지 약 99% w/w, 또는 약 0.1% 내지 약 95%, 또는 약 0.1%, 또는 약 1%, 또는 약 2%, 또는 약 5%, 또는 약 10%, 또는 약 15%, 또는 약 20% 내지 약 80%, 또는 약 90%, 또는 약 95%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%) 및 대상자(환자)의 표적화된 점막에 접착을 제공하는 하나 이상의 점막 접착제(또한 본원에서 "생체접착제"로서 명칭됨)를 포함하고, 다음 중의 하나 이상을 추가로 포함할 수 있는 실질적으로 균질한 조성물이다: 단일 정제에 부형제의 결합을 제공하는 하나 이상의 결합제; 하나 이상의 하이드로겔 형성 부형제; 하나 이상의 벌크화제; 하나 이상의 윤활제; 하나 이상의 유동촉진제; 하나 이상의 가용화제; 하나 이상의 계면활성제; 하나 이상의 향미제; 하나 이상의 봉해제; 하나 이상의 완충 부형제; 하나 이상의 코팅제; 하나 이상의 제어 방출 조절제; 하나 이상의 기타 부형제 및 약물 용해 또는 봉해 시간 및 동태를 변형시키고 제어하거나 활성 약물을 분해로부터 보호하는 인자.
- [0211] 각종 구현예에서, 경구 점막 전달용 서방성 약제 투여 형태는 고체 또는 비-고체일 수 있다. 하나의 바람직한 구현예에서, 투여 형태는 타액과의 접촉 후에 하이드로겔로 변하는 고체이다.
- [0212] 적합한 부형제는, 시판품을 제조하는데 필요한 제형에 첨가되는 물질을 포함하나, 이에 국한되지 않고, 벌크화제, 결합제, 계면활성제, 생체접착제, 윤활제, 봉해제, 안정화제, 가용화제, 유동촉진제, 및 첨가제 또는 용해 또는 봉해 시간에 영향을 미치는 인자를 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 적합한 부형제는 상기한 것들에 국한되지 않고, 경구 제형에 사용하기 위한 기타 적합한 무독성의 약제학적으로 허용되는 담체는 문헌(참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Edition, 1985)에서 찾을 수 있다.
- [0213] 특정 구현예에서, 경구 점막 약물 전달용으로 본원에 기술된 활성제(들)의 지속 방출 제형은 약물 전달 동안 경구 점막에의 접착을 촉진시키기 위한 적어도 하나의 생체접착제(점막접착제) 또는 다수의 생체접착제의 혼합물을 포함한다. 또한, 생체접착제는 또한 투여 형태 침식 시간 및/또는, 투여 형태가 습윤될 때 경시적으로 약물 용해 동태를 제어하는데 효과적일 수 있다. 이러한 점막접착제 약물 전달 시스템이 매우 이로운데, 이는 이들

이 흡수 부위에서 약물의 체류 시간을 연장시키고 약물 생체이용율을 증가시킬 수 있기 때문이다. 하이드로겔을 형성하는 점막접착성 중합체는 접착에 유리한 하이드록실, 카복실 또는 아민과 같은 다수의 수소 결합 형성 그룹을 함유하는 통상적으로 친수성이고 팽윤성이다. 무수 형태로 사용될 경우, 이들은 점막 표면으로부터 물을 유인하고, 팽윤하여 수소 결합, 정전기적, 소수성 또는 반 데르 바알스(van der Waals) 상호작용을 통해 중합체/점막 상호작용을 유도한다.

[0214] 예시적인 적합한 점막접착성 또는 생체접착성 물질은, 천연, 합성 또는 생물학적 중합체, 지질, 인지질 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 천연 및/또는 합성 중합체의 예는 셀룰로스 유도체(예: 메틸셀룰로스, 카복시메틸 셀룰로스, 하이드록시에틸 셀룰로스, 하이드록시에틸메틸 셀룰로스 등), 천연 검(예: 구아 검, 크산탄 검, 로커스트 빈 검, 카라야 검, 비검 등), 폴리아크릴레이트(예: 카보폴(CARBOPOL®), 폴리카보필 등), 알기네이트, 티올 함유 중합체, 폴리옥스(POLYOX®)이에틸렌, 모든 분자량(바람직하게는 임의 화학의 1000 내지 40,000 Da, 선형 또는 분지됨)의 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 모든 분자량(바람직하게는 임의 공급원의 1000 내지 40,000 Da)의 텍스트란, 블록 공중합체, 예를 들어, 락트산 및 글리콜산의 조합으로 제조된 것들(각종 점도, 분자량 및 락트산-대-글리콜산 비의 PLA, PGA, PLGA) 임의 수 및 조합의 반복 단위의 폴리에틸렌 글리콜-폴리프로필렌 글리콜 블록 공중합체(예: 플루로닉스(PLURONICS®), 텍트로닉스(TEKTRONIX®) 또는 게나폴(GENAPOL®) 블록 공중합체), 상기 공중합체의 조합, 물리적 또는 화학적으로 결합된 단위(예: PEG-PLA 또는 PEG-PLGA 공중합체) 혼합물을 포함한다. 바람직하게는, 생체접착성 부형제는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥스(POLYOX®)이에틸렌, 폴리아크릴산 중합체, 예를 들어, 카보폴(CARBOPOL®)(예: 카보폴(CARBOPOL®) 71G, 934P, 971P, 974P 등) 및 폴리카보필(예: 노베온(NOVEON®) AA-1, 노베온(NOVEON®) CA-1, 노베온(NOVEON®) CA-2 등), 셀룰로스 및 이의 유도체의 그룹으로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 이는 폴리에틸렌 글리콜, 카보폴, 및/또는 셀룰로스 유도체 또는 이의 조합이다.

[0215] 특정 구현예에서, 점막접착성/생체접착성 부형제는 통상적으로 1 내지 50% w/w, 바람직하게는 1 내지 40% w/w 또는 가장 바람직하게는 5 내지 30% w/w로 존재한다. 특별한 제형은 하나 이상의 상이한 생체접착제를 임의의 조합으로 함유할 수 있다.

[0216] 특정 구현예에서, 경구 점막 약물 전달용 제형은 또한 단일 투여 형태에 부형제의 결합을 촉진시키는 결합제 또는 둘 이상의 결합제의 혼합물을 포함한다. 예시적인 결합제는 셀룰로스 유도체(예: 메틸셀룰로스, 카복시메틸 셀룰로스, 하이드록시에틸 셀룰로스, 하이드록시에틸메틸 셀룰로스 등), 폴리아크릴레이트(예: 카보폴(CARBOPOL®), 폴리카보필 등), 포비돈(POVIDONE®)(모든 등급), 자극되거나 자극되지 않은 임의 분자량 또는 등급의 폴리옥스(POLYOX®), 전분, 폴리비닐피롤리돈(PVP), 아비셀(AVICEL®) 등으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 결합제는 통상적으로 0.5 내지 60% w/w, 바람직하게는 1 내지 30% w/w, 가장 바람직하게는 1.5 내지 15% w/w로 존재한다.

[0217] 특정 구현예에서, 제형은 또한 적어도 하나의 하이드로겔 형성 부형제를 포함한다. 예시적인 하이드로겔 형성 부형제는 폴리에틸렌 글리콜 및 단독중합체이든 가교결합된 헤테로중합체이든지 에틸렌 글리콜 골격을 갖는 기타 중합체, 에틸렌 글리콜 단위, 예를 들어, 폴리옥스(POLYOX®)이에틸렌 단독중합체(예: 폴리옥스(POLYOX®) N10/MW=100,000 폴리옥스(POLYOX®)-80/MW=200,000; 폴리옥스(POLYOX®) 1105/MW=900,000; 폴리옥스(POLYOX®)-301/MW=4,000,000; 폴리옥스(POLYOX®)-303/MW=7,000,000, 폴리옥스(POLYOX®) WSR-N-60K, 모두 유니온 카바이드(Union Carbide)의 상품명이다)를 사용하는 블록 공중합체, 모든 분자량 및 등급의 하이드록시프로필메틸 셀룰로스(HPMC)(예: 메톨로스(METOLOSE®) 90SH50000, 메톨로스(METOLOSE®) 90SH30000, 모두 신-에쓰 케미칼 캄파니(Shin-Etsu Chemical company)의 상품명이다), 폴록사머(예: 루트롤(LUTROL®) F-68, 루트롤(LUTROL®) F-127, F-105 등, 모두 바스프 케미칼스(BASF Chemicals)의 상품명이다), 게나폴(GENAPOL®), 폴리에틸렌 글리콜(PEG, 예를 들어, PEG-1500, PEG-3500, PEG-4000, PEG-6000, PEG-8000, PEG-12000, PEG-20,000 등), 천연 검(크산탄 검, 로커스트 빈 검 등) 및 셀룰로스 유도체(HC, HMC, HMPC, HPC, CP, CMC), 유리 또는 가교결합된 폴리아크릴산계 중합체 및 이의 조합, 생분해성 중합체, 예를 들어, 폴리 락트산, 폴리글리콜산 및 물리적 혼합물이거나 가교결합되든지 이의 임의의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 하이드로겔 성분은 가교결합될 수 있다. 하이드로겔 형성 부형제(들)는 통상적으로 0.1 내지 70% w/w, 바람직하게는 1 내지 50% w/w, 가장 바람직하게는 1 내지 30% w/w로 존재한다.

[0218] 특정 구현예에서, 상기 제형은 또한 투여 형태의 수화시 우선적으로 약물 분자에 부착되고, 따라서 경구 투여 형태로부터 이의 확산 속도를 감소시키는 물질인 적어도 하나의 제어 방출 조절제를 포함할 수 있다. 이러한 부형제는 또한 제형에 의한 물의 흡수 속도를 감소시킬 수 있고, 따라서 정제로부터 보다 연장된 약물 용해 및 방출을 가능하게 한다. 일반적으로, 선택된 부형제(들)는 친유성이고, 소수성 또는 친유성 약물에 자연적으로



복합체를 형성할 수 있다. 방출 조절제 및 약물의 회합 정도는 제형 중의 조절제-대-약물 비를 변경함으로써 변화시킬 수 있다. 또한, 이러한 상호작용은 제조 공정 중에 방출 조절제와 활성 약물의 적절한 조합으로 적절하게 강화시킬 수 있다. 대안적으로, 제어 방출 조절제는 양성 또는 음성인 순 전하를 포함하는 합성 또는 생중합체이고, 정전기적 상호작용을 통해 활성물에 결합하여 정제를 통한 이의 확산 및/또는 점막 표면을 통한 이의 침투 동태 모두를 변형시킬 수 있는 하전된 중합체일 수 있다. 상기 언급된 기타 화합물과 유사하게, 이러한 상호작용은 가역적이고, 활성물과 영구적인 화학 결합을 포함하지 않는다. 특정 구현예에서, 제어 방출 조절제는 통상적으로 0 내지 80% w/w, 바람직하게는 1 내지 20% w/w, 가장 바람직하게는 1 내지 10% w/w로 존재할 수 있다.

[0219] 각종 구현예에서, 지속 방출 제형은 또한 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 경구 투여 형태의 개발에 필요한 기타 통상적 성분을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 하나 이상의 벌크화제(예: 락토스 USP, 전분 1500, 만니톨, 소르비톨, 말리톨 또는 기타 비환원당; 미세결정성 셀룰로스(예: 아비셀(AVICEL®), 이염기성 인산칼슘 탈수물, 수크로스 및 이의 혼합물), 적어도 하나의 가용화제(들)(예: 사이클로덱스트린, pH 조절제, 염 및 완충제, 계면활성제, 지방산, 인지질, 지방산의 금속 등), 금속 염 및 완충제 유기(예: 아세테이트, 시트레이트, 타르트레이트 등) 또는 무기(포스페이트, 카보네이트, 비카보네이트, 보레이트, 설페이트, 설파이트, 비설파이트, 메타비설파이트, 클로라이드 등), 금속, 예를 들어, 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등의 염), 적어도 하나의 윤활제(예: 스테아르산 및 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트 등의 2가 양이온, 탈크, 글리세롤 모노스테아레이트 등), 하나 이상의 유동촉진제(예: 콜로이드성 이산화규소, 침강된 이산화규소, 발연 실리카(CAB-O-SIL® M-5P, 카보트 코퍼레이션(Cabot Corporation)의 상표명), 스테아로웨트 및 스테로텍스, 실리카(예: 실로이드(SILOID®) 및 실록스(SILOX®) 실리카 - 그레이스 데이비슨 프로덕츠(Grace Davison Products)의 상표명, 에어로실(Aerosil) - 데구사 파마(Degussa Pharma)의 상표명), 고급 지방산, 이의 금속 염, 수소화된 식물성 오일 등), 향미제 또는 감미제 및 착색제(예: 아스파탐, 만니톨, 락토스, 수크로스, 기타 인공 감미제; 제2철 산화물 및 FD&C lakes), 물리적 분해의 화학으로부터 약물 물질을 안정화시키는 것을 돕는 첨가제(예: 산화방지제, 항가수분해제, 응집 차단제 등. 산화방지제는 BHT, BHA, 비타민, 시트르산, EDTA, 중황산나트륨, 메타중황산나트륨, 티오우레아, 메티오닌, 계면활성제, 아미노산, 예를 들어, 아르기닌, 글리신, 히스티딘, 메티오닌 염, pH 조절제, 킬레이트제 및 무수 또는 용액 형태의 완충제를 포함할 수 있다), 정제 분해 동태 및 정제로부터 약물 방출에 영향을 미칠 수 있고, 따라서 약물동태에 영향을 미칠 수 있는 하나 이상의 부형제(당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 것들과 같고, 전분, 카복시-메틸셀룰로스 형태 또는 가교결합된 폴리비닐 피롤리돈(예: 크로스-포비돈, PVP-XL), 알기네이트, 셀룰로스가 분해제(예: 정제된 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 가교결합된 나트륨 카복시 메틸셀룰로스(Ac-Di-Sol) 및 카복시 메틸 셀룰로스), 셀룰로스의 저치환된 하이드록시프로필 에테르, 미세결정성 셀룰로스(예: 아비셀(AVICEL®)), 이온 교환 수지(예: 엠브레일라이트(AMBRELITE®) IPR 88), 검(예: 한천, 로커스트 빈, 카라야, 펙틴 및 트라가칸트), 구아 검, 카라야 검, 키틴 및 키토산, 스택타, 젤란 검, 이사프굴라(isapghula) 껍질, 폴라크틸린 칼륨(Tulsion<sup>339</sup>), 가스-발생 분해제(예: 중탄산나트륨, 탄산나트륨, 중탄산칼륨 또는 탄산칼슘과 함께 시트르산 및 타르타르산), 나트륨 전분 글리콜레이트(예: 엑스플로탭(EXPLOTAB®) 및 프리모겔(PRIMOGE®)), 전분 DC 및 유사류로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있는 분해제), 지속 약물 방출에 유용한 임의 형태의 적어도 하나의 생분해성 중합체를 포함할 수 있다. 예시적인 중합체 조성물은, 폴리무수물 및 락트산 및 글리콜산의 공중합체, 폴리(dl-락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 폴리(락트산)(PLA), 폴리(글리콜산)(PGA), 폴리오르토에스테르, 단백질 및 폴리사카라이드를 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0220] 특정 구현예에서, 활성제(들)는 혈장 중의 약물동태를 상당히 변형시키기 위해 화학적으로 변형시킬 수 있다. 이는, 예를 들어, 부위-특이적 PEG화를 포함하는 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)과의 접합으로 달성될 수 있다. PEG화는 약물동태를 최적화하고 면역원성 및 투여 빈도를 감소시켜 약물 성능을 개선시킬 수 있다.

[0221] GI 또는 경구 점막 전달을 위한 본원에 기재된 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)의 제형의 제조방법이 또한 제공된다. 하나의 방법은 분말 분쇄, 무수 분말 혼합 및 직접 압축을 통한 정제화 단계를 포함한다. 대안적으로, 습식 과립화 공정이 사용될 수 있다. 이러한 방법(예: 고전단 과립화 공정)은 활성 성분과 가능하게는 일부 부형제를 믹서에서 혼합함을 포함한다. 결합제는 무수 혼합물 상태로 첨가되거나 과립화에 사용되는 유체에 용해된 부형제 중의 하나일 수 있다. 과립화 용액 또는 현탁액을 믹서에서 무수 분말에 첨가하고, 목적하는 특성이 달성될 때까지 혼합한다. 이는 통상적으로 적당한 용해 시간, 함량 균일성 및 기타 물리적 특성을 갖는 투여 형태를 제조하기에 적합한 특성이 되는 과립을 생성한다. 습식 과립화 단계 후, 생성물은 대부분 자주 건조시키고/시키거나, 목적하는 크기 범위의 생성물의 주요 비율을 수득하기 위해 건조시킨 후 분쇄한다. 때때로, 생성물은 진동 과립화기 또는 분쇄기와 같은 장

치를 사용하여 습식 사이징 후 건조시킨다. 이어서, 무수 과립을 체질 장치로 먼저 스크리닝한 다음, 파크기 입자를 분쇄하여 허용되는 크기 범위를 갖도록 처리할 수 있다.

[0222] 추가로, 상기 제형은 당해 기술 분야의 숙련자에게 모두 공지된 대안의 과립화 공정, 예를 들어, 스프레이 유동상 과립화, 압출 및 구형화 또는 유동상 로터 과립화로 제조될 수 있다.

[0223] 추가로, 본 발명의 정제 투여 형태는 상기한 바와 같이 제조된 1차 정제를 당해 기술 분야에 공지된 적합한 코팅제로 코팅하여 제조할 수 있다. 이러한 코팅제는 코어가 수송 및 저장 동안 노출되는 영향(대기 습도, 온도 변동)에 대한 손상(마모, 파손, 분진 형성)으로부터 활성 코어를 보호하기 위한 것이고, 자연적으로 이러한 필름 피복제도 또한 착색시킬 수 있다. 수증기에 대한 필름 외막의 밀봉 효과는 수증기 투과성으로 표현된다. 코팅은 우르스터(Wurster) 코팅, 건식 코팅, 필름 코팅, 유동상 코팅, 팬 코팅 등과 같은 이용가능한 공정 중의 하나로 수행할 수 있다. 통상적인 코팅 재료는 폴리비닐 피롤리돈(PVP), 폴리비닐 피롤리돈 비닐 아세테이트 공중합체(PVPVA), 폴리비닐 알콜(PVA), 폴리비닐 알콜/폴리에틸렌 글리콜 공중합체(PVA/PEG), 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 에틸 셀룰로스, 젤란 검, 말토덱스트린, 메타크릴레이트, 메틸 셀룰로스, 하이드록실 프로필 메틸 셀룰로스(모든 등급 및 분자량의 HPMC), 카라기난, 셀락 등을 포함한다.

[0224] 특정 구현예에서, 본원에서 기재된 활성제(들)를 포함하는 정제 코어는 상기 정의된 것들과 같은 재료가 설하 구강에서 정제의 생체접착성을 개선시키도록 하는 생체접착성 및/또는 pH 내성 재료로 코팅시킬 수 있다.

[0225] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)는 포괄 복합체로서 제형화된다. 사이클로덱스트린 포괄 복합체에 국한되지 않지만, 사이클로덱스트린이 약제학적 포괄 복합체를 형성하는데 가장 빈번하게 사용되는 제제임이 주시된다. 사이클로덱스트린(CD)은 통상적으로  $\alpha$ -1,4 결합으로 결합된 6, 7, 또는 8개의 글루코스 단량체를 함유하는 글루코스의 사이클릭 올리고머이다. 이러한 올리고머는 통상 각각  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD 및  $\gamma$ -CD라 명칭된다. 12개 이하의 글루코스 단량체를 함유하는 고급 올리고머가 공지되어 있고, 본원에 기재된 제형에서 예상된다. 작용화된 사이클로덱스트린 포괄 복합체도 또한 예상된다. 예시적이지만 비제한적인 작용화 사이클로덱스트린은, 하이드록시부테닐 사이클로덱스트린의 설포네이트, 설포네이트 및 설피네이트, 또는 디설포네이트; 사이클로덱스트린의 혼합 에테르(여기서, 에테르 치환체 중의 적어도 하나는 하이드록시부테닐 사이클로덱스트린이다)의 설포네이트, 설포네이트 및 설피네이트 또는 디설포네이트를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 예시적인 사이클로덱스트린은 적어도 하나의 2-하이드록시부테닐 치환체를 포함하는 폴리사카라이드 에테르(여기서, 적어도 하나의 하이드록시부테닐 치환체는 설폰화 및 설핀화 또는 디설폰화된다) 및 적어도 하나의 2-하이드록시부테닐 치환체를 포함하는 알킬폴리글리코시드(여기서, 적어도 하나의 하이드록시부테닐 치환체는 설폰화 및 설핀화 또는 디설폰화된다)를 포함한다. 각종 구현예에서, 설폰화 하이드록시부테닐 사이클로덱스트린과 본원에 기재된 하나 이상의 활성제(들) 사이에 형성된 포괄 복합체가 예상된다. 사이클로덱스트린, 및 사이클로덱스트린 포괄 복합체의 제조방법은, 예를 들어, 미국 특허 공보 제2004/0054164호 및 이에 인용된 참조문헌 및 미국 특허 공보 제2011/0218173호 및 이에 인용된 참조문헌에서 찾을 수 있다.

## [0226] 약물동태(PK) 및 제형 속성

[0227] 본원에 기재된 지속 (제어) 방출 경구 (GI 또는 점막) 제형의 하나의 이점은, 이들이 고체 투여 형태이든 액체 투여 형태이든, 즉시 방출 제형을 사용하는 것보다 긴 지속 기간 동안 표적화 치료 윈도우 내에서 혈장 약물 농도를 유지시킬 수 있다는 것이다. 이러한 통상의 즉시 방출 제형에 대해 통상적으로 관찰된 높은 피크 혈장 수준은 1 내지 12시간 이상 동안 약물의 연장 방출에 의해 둔화된다. 또한, 혈장 수준의 급속한 감소는, 약물이 정제의 용해 시간 동안 구강으로부터 혈류로 계속해서 교차하여 보다 안정한 안정기를 갖는 혈장 약물동태를 제공하기 때문에, 회피된다. 또한, 본원에 기재된 투여 형태는 혈장 약물동력학에서 피크 및 골의 감소에 기인하여, 치료 안전성을 위태롭게 하는 잠재적으로 유해한 부작용을 최소화하여 치료 안전성을 향상시킬 수 있다.

[0228] 각종 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)의 경구 점막 제형을 점막을 사용하고 정제 봉해 (또는 침식) 및 약물 용해 둘 다를 독립적으로 제어하여 정맥내 및 통상의 즉시 방출 경구 투여 형태의 높은 피크 혈장 수준을 피하고 정제로부터 경시적으로 방출시켜 안전한 전달 프로파일을 제공하도록 고안되었다. 본원에 기재된 경구 제형은 활성제의 규정량을 포함하는 개별적인 반복 용량을 제공한다.

[0229] 본원에 기재된 생체접착성 경구 점막 제형의 이점은, 이들이 매우 일관된 생체이용성을 나타내고, 고체 투여 형태이든 IV 투여 형태이든지, 현재 이용가능한 투여 형태보다 긴 지속 기간 동안 상당히 낮은 변동성을 갖는 표

적화 치료 윈도우 내에서 혈장 약물 농도를 유지시킬 수 있다는 점이다. 또한, 혈장 수준의 급속한 감소는, 약물이 정제의 용해 시간 이상 동안 구강 또는 GI 관으로부터 혈류로 계속해서 교차하여 통상의 즉시 방출 경구 투여 형태와 비교하여 연장된 안정기 상을 갖는 혈장 약물동태를 제공하기 때문에, 회피된다. 또한, 본원에 기재된 투여 형태는 혈장 약물동태에서 피크 및 골의 상대적 감소에 기인하여, 치료 안전성을 위태롭게 하고 현재 이용가능한 투여 형태의 전형인 잠잠적으로 유해한 부작용을 최소화하여 치료 안전성을 향상시킬 수 있다.

[0230] 각종 구현예에서, 본원에서 기재된 생체접착성 제형은 본원에서 기재된 활성제(들)의 약물동태 프로파일을 조작하고 제어하도록 고안될 수 있다. 그 자체로, 상기 제형은 '느린' 봉해 시간 (및 침식 동태 프로파일) 및 느린 약물 방출을 달성하고, 따라서 지속된 약물 작용을 제공하는 매우 연장된 약물동태 프로파일을 가능하게 하도록 조정될 수 있다. 이러한 제형이 빠른 개시를 제공하도록 고안될 수 있지만, 이들은 대부분 생체접착성, 작용 재현성, 둔화된  $C_{max}$  등과 같은 정제의 기타 성능 속성을 유지하면서 지속적인 약물 PK 및 효과를 가능하게 하는 것을 의도한다.

[0231] 본 발명의 생체접착성 점막 제형의 성능 및 속성은 제조 공정과 무관하다. 당해 기술 분야에서 익히 확립되고 공지된 다수의 통상의 공정(예: 습식 및 건식 과립화, 직접 압축 등)이 약물 형태 물리화학적 성질 또는 생체내 성능에 영향을 미치지 않고 본 발명의 제형을 제조하는데 사용될 수 있다.

[0232] 본 발명의 투여 형태의 투여 후, 본원에 기재된 활성제(들)의 측정된 혈장 수준의 연장된 안정기 상을 증명하는 예시적인 수학적 비율은 용어 "최적의 치료 표적화 비" 또는 "OTTR"이고, 이는 약물 혈장 농도가 동일한 용량의 IV 투여 후 표준화된  $C_{max}$ 에 대한 목적하는 약물 형태에서 수득된  $C_{max}$ 의 비가 곱해진 약물 제거 반감기에 의해 표준화된  $C_{max}$ 의 50% 초과로 유지되는 시간으로서 정의된, 약물이 치료적 수준에 존재하는 평균 시간을 나타낸다. 특정 구현예에서, OTTR은 다음 식으로 계산될 수 있다:

[0233]  $OTTR = (C_{max}^{IV}/C_{max}) \times (\text{용량}/\text{용량}^{IV}) (C_{max} \text{의 } 50\% \text{ 초과} \text{의 시간}) / (\text{약물의 말단}^{IV} \text{ 제거 반감기}).$

[0234] 특정 구현예에서, OTTR은 약 15 초과, 또는 약 20 초과, 또는 약 25 초과, 또는 약 30 초과, 또는 약 40 초과, 또는 약 50 초과이다.

## [0235] 투여

[0236] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 하나 이상의 활성제(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)는 이를 필요로 하는 포유동물, 예를 들어, 아밀로이드 전구체 단백질의 비정상적인 처리를 특징으로 하는 병리학의 위험에 있거나 이로부터 고통받고 있는 포유동물, MCI의 알츠하이머병으로의 진행 위험에 있는 포유동물 등에게 투여된다. 특정 구현예에서, 활성제(들)는 전-알츠하이머 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 비-아밀로이드형성 경로에 의한 아밀로이드 전구체 단백질(APP)의 처리를 촉진시키기 위해 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 활성제(들)는 초기 단계, 중간 단계 또는 후기 단계 알츠하이머병의 치료용으로, 예를 들어, 상기 질환의 중증도를 감소시키고/시키거나 상기 질환의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나 상기 질환의 진행을 늦추기 위해 투여된다.

[0237] 각종 구현예에서, 본원에서 기재된 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)는 임의의 다수 경로에 의해 투여할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 이들은 경구, 비경구(정맥내(IV), 근육내(IM), 테포-IM, 피하(SQ), 및 테포-SQ), 설하, 비내(흡입), 척수강내, 경피(예: 경피 패치를 통해), 국소, 이온이동(ionophoretic) 또는 직장 투여될 수 있다. 통상적으로, 투여 형태는 뇌로의 전달(예: 혈액 뇌 장벽을 통한 통과)을 촉진시키도록 선택된다. 이 문맥에서, 본원에서 기술된 화합물은 뇌에 용이하게 전달된다는 것이 주시된다. 당해 기술 분야의 숙련가에게 공지된 투여 형태는 화합물의 전달에 적합하다.

[0238] 활성제(들)는 치료 대상자에게 바람직하지 않은 부작용의 부재하에 예방학적으로 및/또는 치료학적으로 유용한 효과를 발휘하기에 충분한 양/투여 요법으로 투여된다. 특정량/투여 요법은 개체의 체중, 성별, 연령 및 건강 상태; 특정 화합물의 제형, 생화학적 특성, 생물활성, 생체이용성 및 부작용에 따라 변한다.

[0239] 특정 구현예에서, 치료적 또는 예방적 유효량은 치료할 장애에 대해 공지된 시험관내 및 생체내 모델 시스템에서 제제(들)를 검사하여 실험적으로 결정할 수 있다. 치료적 또는 예방적 유효 용량은 저용량을 먼저 투여한

다음, 최소한의 바람직하지 않은 부작용을 갖거나 전혀 갖지 않고 목적하는 효과를 달성하는 용량이 달성될 때까지 점진적으로 증가시킴으로써 결정할 수 있다.

- [0240] 특정 구현예에서, 경구 투여될 경우, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 비-아밀로이드형성 경로에 의한 아밀로이드 전구체 단백질(APP)의 처리를 촉진시키고/시키거나, AD를 치료하거나 예방하기에 효과적인 본원에 기재된 제제(들)의 투여량은 약 0.1mg/일 내지 약 500mg/일 또는 약 1,000mg/일, 또는 약 0.1mg/일 내지 약 200mg/일, 예를 들어, 약 1mg/일 내지 약 100mg/일, 예를 들어, 약 5mg/일 내지 약 50mg/일의 범위내이다. 일부 구현예에서, 대상자는 화합물을 약 0.05 내지 약 0.50mg/kg, 예를 들어, 약 0.05mg/kg, 0.10mg/kg, 0.20mg/kg, 0.33mg/kg, 0.50mg/kg의 용량으로 투여한다. 환자는 단일 용량으로 개시할 수 있지만, 그 용량은 환자의 상태가 변화함에 따라 경시적으로 변할 수 있다(필요에 따라, 증가되거나 감소된다)는 것이 이해된다. 결과 평가에 따라, 보다 높은 용량이 사용될 수 있다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 1000mg/일 만큼까지, 예를 들어, 5mg/일, 10mg/일, 25mg/일, 50mg/일, 100mg/일, 200mg/일, 300mg/일, 400mg/일, 500mg/일, 600mg/일, 700mg/일, 800mg/일, 900mg/일 또는 1000mg/일이 투여될 수 있다.
- [0241] 각종 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)는 비경구로, 예를 들어, IV, IM, 데포-IM, SC 또는 데포-SC로 투여될 수 있다. 비경구로 투여될 경우, 약 0.5 내지 약 100mg/일, 바람직하게는 매일 약 5 내지 약 50mg의 치료학적 유효량이 전달되어야 한다. 데포 제형이 한달에 한번 또는 2주 마다 1번 주입에 사용될 경우, 용량은 약 0.5mg/일 내지 약 50mg/일, 또는 매월 용량 약 15mg 내지 약 1,500mg이어야 한다. 알츠하이머병 환자의 건강증 때문이라는 부분에서, 비경구 투여 형태가 데포 제형인 것이 바람직하다.
- [0242] 각종 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)는 설하 투여될 수 있다. 설하 투여될 경우, 화합물 및/또는 이의 유사체는 IM 투여에 대해 상기 기술된 양으로 매일 1 내지 4회 투여될 수 있다.
- [0243] 각종 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)는 비내로 투여될 수 있다. 이 경로로 투여될 경우, 적합한 투여 형태는 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 바와 같이, 비강 스프레이 또는 무수 분말이다. 비내 투여하기 위한 화합물 및/또는 이의 유사체의 투여량은 IM 투여에 대해 상기 기술된 양이다.
- [0244] 각종 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)는 척수강내로 투여될 수 있다. 이 경로로 투여될 경우, 적합한 투여 형태는 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 바와 같은 비경구 투여 형태일 수 있다. 척수강내 투여하기 위한 화합물 및/또는 이의 유사체의 투여량은 IM 투여에 대해 상기 기술된 양이다.
- [0245] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)는 국소 투여될 수 있다. 이 경로로 투여될 경우, 적합한 투여 형태는 크림, 연고 또는 패치이다. 국소 투여될 경우, 투여량은 약 1.0mg/일 내지 약 200mg/일이다. 패치로 전달될 수 있는 양이 제한되기 때문에, 2개 이상의 패치가 사용될 수 있다. 패치의 수 및 크기는 중요하지 않고, 중요한 것은 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 바와 같이 화합물의 치료학적 유효량이 전달된다는 것이다. 화합물은 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 바와 같이 좌제로 직장내 투여될 수 있다. 좌제로 투여될 경우, 치료학적 유효량은 약 1.0mg 내지 약 500mg이다.
- [0246] 각종 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)는 당해 기술 분야의 숙련자에게 공지된 바와 같이 이식체로 투여될 수 있다. 화합물을 이식체로 투여할 경우, 치료학적 유효량은 데포 제형에 대해 상기 기술된 양이다.
- [0247] 각종 구현예에서, 투여 형태는 대상자에게 하루에 1, 2, 3 또는 4회 투여될 수 있다. 화합물은 하루에 3회 이하, 보다 바람직하게는 1 또는 2회 투여되는 것이 바람직하다. 제제(들)는 경구 투여 형태로 투여되는 것이 바람직하다.
- [0248] 정확한 투여량 및 투여 빈도는 치료될 특정 상태, 치료될 상태의 중증도, 특정 환자의 연령, 체중, 일반적인 신체 상태, 및 당해 기술 분야의 숙련자인 투여 의사에게 익히 공지된 바와 같이 개체가 복용할 수 있는 기타 약물에 의존한다는 것이 당해 기술 분야의 숙련자에게 자명해야 한다.
- [0249] 조성물 및 방법이 사람에서의 사용과 관련하여 본원에서 기술되지만, 이들은 또한 동물, 예를 들어, 수의학적 사용에도 적합하다. 따라서, 특정의 바람직한 유기체는, 사람, 비-사람 영장류, 개, 말, 고양이, 돼지, 유제동물, 토끼 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0250] 상기 제형 및 투여 방법은 예시적이고, 이에 국한되지 않는 것으로 간주한다. 본원에 제공된 교시를 사용하여, 기타 적합한 제형 및 투여 방식이 용이하게 고안될 수 있다는 것이 이해된다.



[0251] **병용 요법**

[0252] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)는 MCI 및/또는 AD를 포함하여 뇌에서 아밀로이드 침착을 특징으로 하는 질환을 치료하거나 예방하기 위해 사용되는 기타 치료제 또는 접근법과 함께 사용될 수 있다. 이러한 제제 또는 접근법은 아세틸콜린에스테라제 억제제(제한 없이, 예를 들어, (-)-펜세린 에난티오머, 타크린, 이피다크린, 갈란타민, 도네페질, 이코페질, 자나페질, 리바스티그민, 후페르진 A, 펜세린, 피소스티그민, 네오스티그민, 피리도스티그민, 암베노늄, 테마카륨, 에드로포늄, 라도스티길 및 운게레민을 포함); NMDA 수용체 길항제(제한 없이, 예를 들어, 메만틴 포함); 무스카린성 수용체 작용제(제한 없이, 예를 들어, 탈사클리딘, AF-102B, AF-267B (NGX-267) 포함); 니코틴성 수용체 작용제(제한 없이, 예를 들어, 이스프로니클린(AZD-3480) 포함);  $\beta$ -세크레타제 억제제(제한 없이, 예를 들어, 로지글리타존 및 피오글리타존을 포함하는 티아졸리딘디온을 포함);  $\gamma$ -세크레타제 억제제(제한 없이, 예를 들어, 세마가세스타트 (LY-450139), MK-0752, E-2012, BMS-708163, PF-3084014, 베가세스타트 (GSI-953), 및 NIC5-15 포함); A $\beta$  응집 억제제(제한 없이, 예를 들어, 클리오퀴놀 (PBT1), PBT2, 트라미프로세이트 (호모타우린), 실로(Scyllo)-이노시톨 (a.k.a., 실로-사이클로헥산헥솔, AZD-103 및 ELND-005), A $\beta$  단편을 사용하는 수동 면역요법(제한 없이, 예를 들어, 바피노제맙 포함) 및 에피갈로카테킨-3-갈레이트(EGCg) 포함); 항염증제, 예를 들어, 사이클로옥시게나제 II 억제제; 산화방지제, 예를 들어, 비타민 E 및 징콜리드; 면역학적 접근법, 예를 들어, A $\beta$  펩티드에 의한 면역화 또는 항-A $\beta$  펩티드 항체의 투여; 스타틴; 및 직접적 또는 간접적 신경영양제, 예를 들어, 세레브롤리신(Cerebrolysin<sup>TM</sup>), AIT-082(참조: Emilieu (2000) Arch. Neurol. 57:454), 네트린(참조: Luorenco (2009) Cell Death Differ 16: 655-663), 네트린 모방제, NGF, NGF 모방제, BDNF 및 신경발생을 촉진시키는 제제인 장래의 기타 신경영양제, 예를 들어, 줄기 세포 요법을 포함한다. MCI 및/또는 AD를 포함하여, 뇌 내에서 아밀로이드 침착을 특징으로 하는 질환을 치료하거나 예방하는 트리피세트론, 디설피람, 호노키올 및/또는 니메타제팜과 함께 유용한 추가의 약물학적 제제는, 예를 들어, 문헌(참조: Mangialasche, et al., Lancet Neurol (2010) 9:702-716)에 기재되어 있다.

[0253] 각종 구현예에서, 본원에 기재된 하나 이상의 활성제와의 병용 요법은 명시적으로 아세틸콜린에스테라제 억제제와 함께 이들 제제의 투여를 제외한다.

[0254] **노인성 황반 변성증 및 녹내장에 ASBI의 사용**

[0255] 각종 구현예에서, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 발병을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 전-알츠하이머 상태 및/또는 인지 기능장애의 하나 이상의 증상을 개선시키거나, 전-알츠하이머 상태 또는 인지 기능장애의 알츠하이머병으로의 진행을 예방하거나 지연시키고/시키거나, 알츠하이머병을 치료하기 위해 ASBI의 사용이 예상되지만, ASBI의 기타 용도도 또한 예상된다. 특히, 특정 구현예에서, 노인성 황반 변성증 및/또는 녹내장의 치료 및/또는 예방을 위해 ASBI의 사용이 예상된다.

[0256] 특별한 이론에 결부시키지 않고, 단백질의 비정상적 세포외 침착이 노인성 황반 변성증(AMD) 병인 및 진행에 기여할 수 있고, 이는 또한 알츠하이머병 및 아테롬성동맥경화증에서의 경우이기도 하다는 것이 간주된다. 두 상태에서, 단백질 침착물은 많은 공유 성분, 예를 들어, apoE, 보충제 및 A $\beta$  펩티드를 함유한다. 예를 들어, 사람 AMD에서, A $\beta$  펩티드 침착은 드루젠과 관련되고, 여기서 이것은 활성화 보충 성분을 축적시키고 공존한다(참조: Anderson et al. (2004) Exp. Eye. Res., 78:243-256; Dentchev et al. (2003) Mol. Vis., 9: 184-190; Johnson et al. (2002) Proc Natl Acad Sci USA 99: 11830-11835.). 문헌(참조: Luibl et al. (2006) J. Clin. Invest., 116: 378-385)은 드루젠에 잠재적으로 독성인 아밀로이드 올리고머의 존재, 서브-RPE 기저 침착물, 및 구체적으로 A $\beta$ 의 올리고머 형태를 인지하는 항체를 사용하는 사람 공여자 눈의 RPE를 나타냈다. 이러한 A $\beta$  올리고머는 드루젠이 없는 대조군 연령 일치된 공여자 눈에서는 검출되지 않았다. 문헌(참조: Isas et al. (2010) Invest. Ophthalmol Vis. Sci., 51:1304-1310)은 또한 드루젠에서 가용성 뿐만 아니라 성숙한 A $\beta$  피브릴을 검출시켰다. 집단적으로, 이 발견은 A $\beta$ 를 AMD의 병인에 결부시킨다. 또한, A $\beta$  펩티드는 서브-RPE 기저 침착물 및 AMD의 무린 모델의 혈관신생 병변에서 검출되었다(참조: Ding et al. (2008) Vision Res., 48: 339-345; Malek et al. (2005) Proc Natl Acad Sci USA, 102: 11900-11905). 이 모델에서, 고지방 콜레스테롤 풍부(HFC) 식이(APOE4-HFC 마우스)가 공급된 고령화 사람 APOE4-표적화 교환 마우스(APOE4 마우스)는 건식 및 습식 AMD 모두에서 관찰된 형태학적 특징을 나타낸다. 이러한 특징은 두껍게 확산된 서브-RPE 침착물, 지질-



및 단백질 함유 국소성 드루젠형 침착물, 브루크(Bruch) 막의 비후화, 광수용체 변성 영역에 대항하는 RPE 위축의 반점 영역 및 CNV를 포함한다(참조: Malek et al. (2005) Proc Natl Acad Sci USA, 102: 11900-11905). AMD의 APOE4-HFC 마우스 모델에서, A $\beta$  축적은 RPE/맥락막의 수준에서 손상을 유발한다고 간주되고, 항-A $\beta$  40-특이적 항체의 전신 투여가 이 모델에서 나타났던 시각 기능의 저하를 부분적으로 약화시킬 수 있음을 이미 나타내 있다(참조: Ding et al. (2008) Vision Res., 48: 339-345). A $\beta$  40 및 A $\beta$  42 둘 다를 동시에 표적화하는 항-A $\beta$  면역요법이 조직병리학적 변화를 차단하고, APOE4-HFC 마우스에서 시각 기능을 완전히 보호한다는 것이 또한 입증되었다(참조: Ding et al. (2011) Proc. Nat'l. Acad. Sci. U.S.A., 108(28): E279-E287).

[0257] 특별한 이론에 결부시키지 않고, 눈에서 A $\beta$ 로 APP 처리가 망막 및 망막 색소 상피(RPE) 세포 층에서 BACE 및  $\gamma$ -세크레타제의 활성화에 의해 발생하고, sAPP $\alpha$  및 A $\beta$ 는 유리체액(vitreous humor)으로 분비되는 것으로 간주된다(참조: 예를 들어, 문헌(Prakasam et al. (2008) J. Alzh. Dis., 20:1243-1253)). A $\beta$ 는 또한 이것이 용이하게 측정되는 안방수(aqueous humor)로 수송된다.

[0258] 이러한 발견을 고려하여, 예를 들어, 상기한 바와 같은 ASBI는 노인성 황반 변성증(AMD) 및/또는 녹내장의 치료 또는 예방에서 용도를 찾을 수 있는 것으로 간주된다. 따라서, ASBI는 AMD (및/또는 녹내장)의 출현을 늦추거나 예방하고/하거나 AMD의 하나 이상의 증상을 감소시키고/시키거나 상기 질환의 진행을 늦추고, 정지시키거나 반전시키기 위해 대상자에게 투여될 수 있다. 각종 구현예에서, 하나 이상의 ASBI(예: 본원에 기재된 임의의 하나 이상의 활성제(들))는 이러한 목적을 위해 대상자(예: 사람 또는 비-사람 영장류)에게 투여된다. 상기한 바와 같이, 각종 구현예에서, ASBI는 경구 전달, 이온이동 전달, 경피 전달, 비경구 전달, 에어로졸 투여, 흡입을 통한 투여, 정맥내 투여 및 직장 투여로 이루어진 그룹으로부터 선택된 경로를 통해 투여된다.

[0259] 특정 구현예에서, 투여는 눈에 직접이다. 따라서, 예를 들어, 특정 구현예에서, 제제(들)는 눈에 안내 주사를 통해 점안제 등의 형태로 투여될 수 있다.

[0260] 통상적으로, ASBI는 AMD 또는 녹내장의 치료 및/또는 예방을 위한 유효량으로 투여되고, 여기서 유효량은 투여 양식에 따라 변한다. 특정 구현예에서, 유효량은 노인성 황반 변성증(AMD)과 관련된 하나 이상의 증상을 포유 동물에서 경감시키기에 충분한 양이다. 특정 구현예에서, 유효량은 유리체액 및/또는 안방수 및/또는 망막 및/또는 RPE 세포 층 상의 아밀로이드 침착물에서 A $\beta$ 의 감소를 특징으로 하는 AMD 질환 (또는 녹내장)의 위험을 감소시키거나 발병을 지연시키고/시키거나 궁극적인 중증도를 감소시키기에 충분한 양이다.

## [0261] APP 처리를 평가하기 위한 분석 시스템

[0262] 특별한 이론에 결부시키지 않고, 본원에 기재된 활성제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)는 비아밀로이드형성 경로에 의해 APP의 처리를 촉진시키고/시키거나 아밀로이드형성 경로에 의해 APP의 처리를 감소시키거나 억제한다고 간주된다. 비아밀로이드형성 경로에서, APP는 먼저 A $\beta$  서열 내에서  $\alpha$ -세크레타제에 의해 먼저 절단되어 APPs $\alpha$  엑토도메인("sAPP $\alpha$ ")을 방출시킨다. 대조적으로, 아밀로이드형성 경로는  $\beta$ -세크레타제가 A $\beta$ 의 아미노 말단에서 APP를 절단할 때 개시되어 APPs $\beta$  엑토도메인("sAPP $\beta$ ")을 방출시킨다. 비아밀로이드형성 경로 및 아밀로이드형성 경로에 의한 APP 처리는 당해 기술 분야에 공지되어 있고, 문헌(참조: 예를 들어, Xu (2009) J Alzheimers Dis., 16(2): 211-224, and De Strooper, et al. (2010 Nat Rev Neurol 6(2): 99-107)에 개시되어 있다.

[0263] 활성제(들)의 효능을 평가하는 하나의 방법은 아밀로이드형성 경로에 의한 APP 처리 수준에서 감소 또는 제거, 예를 들어, 목적하는 제제(들)의 투여에 반응하여  $\beta$ -세크레타제 절단에 의한 APP 처리 수준에서 감소 또는 제거를 결정하는 것이다.  $\beta$ -세크레타제 절단 부위에서 APP 절단 정도를 결정하는 분석은 당해 기술 분야에 익히 공지되어 있다. 예시적인 분석은, 예를 들어, 미국 특허 제5,744,346호 및 제5,942,400호에 기재되어 있다. sAPP $\alpha$  및 sAPP $\beta$  뿐만 아니라 APPneo 및 A $\beta$ 의 생물학적 샘플 중의 존재 및 수준을 측정하기 위한 키트는, 예를 들어, 퍼킨엘머(PerkinElmer)로부터 시판된다.

## [0264] ASBI 분석

[0265] 본원에 기재된 임의의 화합물의 ASBI 활성은, 예를 들어, 본원에 제공된 실시예에 예시된 분석을 사용하여 용이하게 입증될 수 있다. 기본적으로, 특정 구현예에서, 한쌍의 분석을 사용하여 MBP-C125 APP 기질의 BACE 절단을 억제하여  $\beta$ -부위 펩티드 기질(P5-P5')이 아니라 C99의 생산의 억제를 유도하는 화합물을 확인한다.

[0266] 실시예에 예시된 바와 같이, 하나의 구현예에서, MBP-C 125 APP695wt 융합 단백질은 기질 중의 하나로써 사용될 수 있다. 제2 기질은 시판되는 P5-P5' 형광 기질일 수 있다. 이러한 기질 각각은, 예를 들어, 96웰 플레이트 포맷에서 재조합 BACE(R&D (cat#931-AS-050)로 배양한다. MBP-C 125 기질의 경우, BACE 절단으로부터 C-99 생성물은 판독치로서 알파리사(AlphaLisa) 분석을 사용하여 측정할 수 있다. P5-5' 기질의 경우, BACE 절단시 형광 손실이 판독치로서 사용될 수 있다. ASBI는 형광 기질의 억제제가 아니라 MBP-C125 기질의 BACE 절단을 억제한다.

## [0267] 기타 무세포 분석

[0268] 활성제(들)의 억제 활성을 입증하기 위해 사용될 수 있는 예시적 분석은, 예를 들어, 제WO 00/17369호, 제WO 00/03819호 및 미국 특허 제5,942,400호 및 제5,744,346호에 기재되어 있다. 이러한 분석은 무세포 배양 또는  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 및  $\alpha$ -세크레타제 및  $\beta$ -세크레타제 절단 부위를 갖는 APP 기질을 발현시키는 세포를 사용하는 세포 배양으로 수행할 수 있다.

[0269] 하나의 예시적 구현예에서, 목적하는 제제(들)를 APP, 예를 들어, 완전 APP 또는 변이체, APP 단편의  $\alpha$ -세크레타제 및  $\beta$ -세크레타제 절단 부위를 함유하는 APP 기질, 또는 아미노산 서열: KM-DA 또는 NL-DA (APP-SW)을 함유하는 재조합 또는 합성 APP와 접촉시키고, 효소의 절단 활성에 적합한 배양 조건하에  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 효소, 이의 단편, 또는  $\alpha$ -세크레타제 또는  $\beta$ -세크레타제 활성을 갖고 APP의  $\alpha$ -세크레타제 또는  $\beta$ -세크레타제 절단 부위를 절단시키기에 효과적인 합성 또는 재조합 폴리펩티드의 존재하에 배양한다. 목적하는 활성을 갖는 제제(들)는 APP 기질의 절단을 감소시키거나 방지한다. 적합한 기질은 임의로 융합 단백질 또는 기질 펩티드 및 펩티드 또는 이의  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 절단 생성물의 정제 또는 검출을 촉진시키는데 유용한 변형을 함유하는 펩티드일 수 있는 유도체를 포함한다. 유용한 변형은 항체 결합을 위해 공지된 항원 에피토프의 삽입; 라벨 또는 검출가능한 잔기의 결합, 결합 기질의 결합 등을 포함한다.

[0270] 무세포 시험관내 분석에 적합한 배양 조건은, 예를 들어, 약 10분 내지 3시간의 시간 동안 약 37°C에서 대략적 pH 4 내지 7에서 수용액에 약 200nM 내지 10  $\mu$ M 기질, 약 10 내지 200pM 효소 및 약 0.1nM 내지 10  $\mu$ M의 제제(들)를 포함한다. 이러한 배양 조건은 단지 예시적이고, 특별한 분석 성분 및/또는 목적하는 측정 시스템을 위해 필요에 따라 변할 수 있다. 특별한 분석 성분의 배양 조건의 최적화는 사용된 특이적  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 효소 및 이의 pH 최적, 분석에 사용될 수 있는 임의의 추가의 효소 및/또는 마커 등을 설명해야 한다. 이러한 최적화는 통상적이고, 과도한 실험을 필요로 하지 않는다.

[0271] 또 하나의 예시적인 분석은 APP-SW의 C-말단 125 아미노산에 융합된 말토스 결합 단백질(MBP)을 갖는 융합 펩티드를 사용한다. MBP 부분은 항-MBP 포획 항체에 의해 분석 기질 상에서 포획된다.  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제의 존재하에 포획된 융합 단백질의 배양은 각각  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 절단 부위에서 기질의 절단을 유도한다. 이 시스템을 목적하는 제제(들)의 억제 활성을 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 절단 활성의 분석은, 예를 들어, 절단 생성물의 면역분석에 의해서일 수 있다. 하나의 상기 면역분석은, 예를 들어, 항체 SW192를 사용하여 절단된 융합 단백질의 카복시 말단에서 노출된 독특한 에피토프를 검출한다. 이 분석은, 예를 들어, 미국 특허 제5,942,400호에 기재되어 있다.

## [0272] 세포 분석

[0273] 다수의 세포계 분석은 상대적  $\alpha$ -세크레타제 활성 대  $\beta$ -세크레타제 활성에 대한 목적하는 제제(들)의 활성 및/또는 아밀로이드형성 대 비-아밀로이드형성 A $\beta$  올리고머를 방출시키기 위해 APP의 처리를 평가하기 위해 사용될 수 있다. 세포 내에서 제제(들)의 존재 또는 부재하에 APP 기질과  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 효소의 접촉을 사용하여 제제(들)의  $\alpha$ -세크레타제 촉진 및/또는  $\beta$ -세크레타제 억제 활성을 입증할 수 있다. 바람직하게는, 제제(들)의 존재하의 분석은 비-억제된 대조군과 비교하여, 효소 활성의 적어도 약 30%, 가장 바람직하게는 적어도 약 50% 억제를 제공한다.

[0274] 하나의 구현예에서, 자연스럽게  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제를 발현하는 세포가 사용된다. 대안적으로, 세포는 상기 논의된 바와 같이 변형되어 재조합  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 또는 합성 변이체 효소를 발현시킨다. APP 기질은 배양 배지에 첨가할 수 있고, 바람직하게는 세포에서 발현된다. 자연스럽게, APP, APP의 변이체 또는 돌연변이 형태를 발현시키는 세포, 또는 APP의 이소폼, APP의 돌연변이 또는 변이체,

재조합 또는 합성 APP, APP 단편, 또는  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 APP 절단 부위를 함유하는 합성 APP 펩티드 또는 융합 단백질을 발현시키기 위해 형질변환된 세포가 사용될 수 있고, 단 발현된 APP는 효소와의 접촉이 허용되고, 효소적 절단 활성은 분석될 수 있다.

[0275] 통상적으로 APP로부터  $A\beta$ 를 처리하는 사람 세포주는 제제(들)의 억제 활성을 분석하기 위한 유용한 수단을 제공한다. 배양 배지에서  $A\beta$  및/또는 기타 절단 생성물의 생산 및 방출은, 예를 들어, 면역분석, 예를 들어, 웨스턴 블롯(Western blot) 또는 효소 결합된 면역분석(EIA), 예를 들어, ELISA로 측정할 수 있다.

[0276] APP 기질 및 활성  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제를 발현시키는 세포를 대조군과 비교하여  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제의 상대적 효소 활성을 입증하기 위한 제제의 존재하에 배양할 수 있다.  $\alpha$ -세크레타제 대  $\beta$ -세크레타제의 상대적 활성은 APP 기질의 하나 이상의 절단 생성물의 분석으로 측정할 수 있다. 예를 들어, 기질 APP에 대한  $\beta$ -세크레타제 활성의 억제는 특이적  $\beta$ -세크레타제 유도된 APP 절단 생성물, 예를 들어,  $A\beta$ , sAPP $\beta$  및 APPneo의 방출을 감소시킬 것으로 기대된다. 기질 APP에 대한  $\alpha$ -세크레타제 활성의 촉진 또는 증강은 특이적  $\alpha$ -세크레타제 유도된 APP 절단 생성물, 예를 들어, sAPP $\alpha$  및 p3 펩티드의 방출을 증가시킬 것으로 기대된다.

[0277] 신경 및 비신경 세포 둘 다를 처리하고  $A\beta$ 를 방출하지만, 내인성  $\beta$ -세크레타제 활성의 수준은 낮고, 흔히 EIA로 검출하기에 곤란하다. 향상된  $\beta$ -세크레타제 활성,  $A\beta$ 로의 APP의 향상된 처리 및/또는  $A\beta$ 의 증강된 생산을 갖는 것으로 공지된 세포 유형의 사용이 따라서 바람직하다. 예를 들어, APP의 스웨덴 돌연변이 형태(APP-SW); 인디애나 돌연변이 형태(APP-IN); 또는 APP-SW-IN에 의한 세포의 형질감염은 향상된  $\beta$ -세크레타제 활성을 갖고, 용이하게 측정될 수 있는  $A\beta$ 의 양을 생성하는 세포를 제공한다.

[0278] 이러한 분석에서, 예를 들어, APP,  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제를 발현시키는 세포를 APP 기질 상의 이의 절단 부위에서  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 효소 활성에 적합한 조건하에 배양 배지에서 배양한다. 제제(들)에 세포를 노출시, 배지에 방출된  $A\beta$ 의 양 및/또는 세포 용해물 중의 APP의 CTF99 단편의 양은 대조군과 비교하여 감소된다. APP의 절단 생성물은, 예를 들어, 상기 논의된 바와 같이, 특이적 항체와의 면역 반응으로 분석할 수 있다.

[0279]  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 활성 분석에 바람직한 세포는 1차 사람 신경 세포, 1차 유전자도입 동물 신경 세포(여기서, 이식 유전자는 APP이다), 및 기타 세포, 예를 들어, APP를 발현시키는 안정한 293 세포주의 것들, 예를 들어, APP-SW를 포함한다.

## [0280] 생체내 분석: 동물 모델

[0281] 각종 동물 모델은 상대적  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 활성에 대한 목적하는 제제(들)의 활성 및/또는  $A\beta$ 를 방출시키는 APP의 처리를 분석하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, APP 기질,  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 효소를 발현시키는 유전자도입 동물을 사용하여 제제(들)의 억제 활성을 입증할 수 있다. 특정의 유전자도입 동물 모델은, 예를 들어, 미국 특허 제5,877,399호; 제5,612,486호; 제5,387,742호; 제5,720,936호; 제5,850,003호; 제5,877,015호, 및 제5,811,633호, 및 문헌(참조: Ganes et al., 1995, Nature 373:523)에 기재되어 있다. AD의 병리생리학과 관련되는 특징을 나타내는 동물이 바람직하다. 본원에 기재된 유전자도입 마우스에 제제(들)의 투여는 제제(들)의 억제 활성을 입증하기 위한 또 다른 방법을 제공한다. 약제학적으로 유효한 담체에 및 적절한 치료량으로 표적 조직에 도달하는 투여 경로로 제제(들)의 투여가 또한 바람직하다.

[0282]  $\beta$ -세크레타제 절단 부위에서 APP의  $\beta$ -세크레타제 매개된 절단의 억제 및  $A\beta$  방출의 억제는 이러한 동물에서 뇌척수액 또는 조직과 같은 동물 체액 중의 절단 단편의 척도로 분석할 수 있다. 이와같이,  $\alpha$ -세크레타제 절단 부위에서 APP의  $\alpha$ -세크레타제 매개된 절단의 촉진 또는 증강 및 sAPP $\alpha$ 의 방출의 촉진 또는 증강은 이러한 동물에서 뇌척수액 또는 조직과 같은 동물 체액 중의 절단 단편의 척도로 분석할 수 있다. 특정 구현예에서,  $A\beta$  침착물 또는 플라크에 대한 뇌 조직의 분석이 바람직하다.

[0283] APP 기질을 APP의 효소 매개된 절단 및/또는 기질로부터  $A\beta$ 의 방출을 허용하기에 충분한 조건하에 제제(들)의 존재하에  $\alpha$ -세크레타제 및/또는  $\beta$ -세크레타제 효소와 접촉시, 바람직한 제제(들)는  $\beta$ -세크레타제 절단 부위에서 APP의  $\beta$ -세크레타제 매개된 절단을 감소시키기에 유효하고/하거나  $A\beta$ 의 방출량을 감소시키기에 유효하다. 제제(들)는 또한 바람직하게는  $\alpha$ -세크레타제 절단 부위에서 APP의  $\alpha$ -세크레타제 매개된 절단을 증강시키고, sAPP $\alpha$ 의 방출량을 증가시키기에 유효하다. 이러한 접촉이, 예를 들어, 상기한 바와 같이, 동물 모

텔에게 제제(들)의 투여일 경우, 제제(들)는 동물의 뇌 조직에서 A $\beta$  침착을 감소시키고,  $\beta$  아밀로이드 플라크의 수 및/또는 크기를 감소시키기에 유효하다. 이러한 투여가 사람 대상자에게 일 경우, 제제(들)은 A $\beta$ 의 증강된 양을 특징으로 하는 질환의 진행을 억제하거나 늦추고, 상기 질환 위험에 있는 환자에서 AD의 진행을 늦추고/늦추거나 상기 질환 위험에 있는 환자에서 AD의 발병 또는 발생을 예방하는데 유효하다.

[0284] **임상 효율의 모니터링 방법**

[0285] 각종 구현예에서, 치료의 유효성은 제제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)의 투여 전 질환의 파라미터의 기준 척도를 상기 제제(들) 또는 유사체가 투여된 후 하나 이상의 시점에서 동일 파라미터에서 시작하여 비교하여 결정할 수 있다. 측정될 수 있는 하나의 예시적 파라미터는 APP 처리의 바이오마커(예: 펩티드 올리고머)이다. 적합한 바이오마커는, 혈액, 혈장, 혈청, 뇨, 점액 또는 뇌척수액(CSF) 중의 sAPP $\alpha$ , p3 (A $\beta$  17-42 또는 A $\beta$  17-40), sAPP $\beta$ , 가용성 A $\beta$  40, 및/또는 가용성 A $\beta$  42의 증가된 수준을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. sAPP $\alpha$  및/또는 p3의 증가된 수준 및 sAPP $\beta$  및/또는 APPneo의 감소된 수준의 검출은 치료가 유효하다는 지표이다. 반대로, sAPP $\alpha$  및/또는 p3의 감소된 수준 및 sAPP $\beta$ , APPneo, Tau 또는 포스포-Tau (pTau)의 증가된 수준의 검출은 치료가 유효하지 않다는 지표이다.

[0286] 치료의 유효성을 결정하기 위한 또 하나의 파라미터는 뇌 내에서 아밀로이드 플라크 침착물의 수준이다. 아밀로이드 플라크는, 예를 들어, CT, PET, PIB-PET 및/또는 MRI로 결정되는 바와 같이, 당해 기술 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 제제(들)(예: ASBI, 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체 또는 전구약물)의 투여는 뇌에서 플라크 형성 속도의 감소 및 심지어 플라크 침착물의 철회 또는 감소를 유도할 수 있다. 치료의 유효성은 또한 대상자의 인지 능력의 안정화 및/또는 개선을 관찰함으로써 결정될 수 있다. 인지 능력은, 예를 들어, 임상적 치매 등급(CDR), 간이 정신 상태 검사(MMSE) 또는 톨스타인(Folstein) 검사를 포함하는 임의의 기술 분야 허용된 방법을 사용하여 평가할 수 있고, 평가 기준은 DSM-IV(정신 질환의 진단 및 통계적 매뉴얼, 제4판) 또는 DSM-V 등에 기재되어 있다.

[0287] 임상 효율은 당해 기술 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 모니터링할 수 있다. 효율을 모니터링하기 위한 측정가능한 바이오마커는, sAPP $\alpha$ , sAPP $\beta$ , A $\beta$  42, A $\beta$  40, APPneo 및 p3(예: A $\beta$  17-42 또는 A $\beta$  17-40)의 혈액, 혈장, 혈청, 뇨, 점액 또는 뇌척수액(CSF) 수준을 모니터링함을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. sAPP $\alpha$  및/또는 p3의 증가된 수준 및 sAPP $\beta$  및/또는 APPneo의 감소된 수준의 검출은 치료 또는 예방 요법이 유효하다는 지표이다. 반대로, sAPP $\alpha$  및/또는 p3의 감소된 수준 및 sAPP $\beta$  및/또는 APPneo의 증가된 수준의 검출은 치료 또는 예방 요법이 유효하지 않다는 지표이다. 기타 바이오마커는 Tau 및 포스포-Tau (pTau)를 포함한다. Tau 및 pTau의 감소된 수준의 검출은 치료 또는 예방 요법이 유효하다는 지표이다.

[0288] 효율은 또한 뇌 내에서 아밀로이드 플라크 부하를 측정함으로써 결정될 수 있다. 치료 또는 예방 요법은 뇌 내의 아밀로이드 플라크 부하가 증가하지 않거나 감소될 경우 유효하다고 간주된다. 반대로, 치료 또는 예방 요법은 뇌 내에서 아밀로이드 플라크 부하가 증가할 경우 유효하지 않다고 간주된다. 아밀로이드 플라크 부하는, 예를 들어, CT, PET, PIB-PET 및/또는 MRI를 포함하여 당해 기술 분야의 숙련가에게 공지된 임의의 방법을 사용하여 결정할 수 있다.

[0289] 효율은 또한 대상자의 인지 능력을 측정하여 결정할 수 있다. 인지 능력은 당해 기술 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 측정할 수 있다. 예시적인 검사는 임상 치매 등급(CDR) 점수를 할당하거나 간이 정신 상태 검사(MMSE)를 적용함을 포함한다(참조: Folstein, et al., Journal of Psychiatric Research 12 (3): 189-98). 동일한 점수를 유지하거나 향상된 점수를 달성하는 대상자는, 예를 들어, CDR 또는 MMSE를 적용할 경우, 치료 또는 예방 요법이 유효하다는 것을 나타낸다. 반대로, 감소된 인지 능력을 나타내는 점수를 받은 대상자는, 예를 들어, CDR 또는 MMSE를 적용할 경우, 치료 또는 예방 요법이 유효하지 않았음을 나타낸다.

[0290] 특정 구현예에서, 모니터링 방법은 제제(들)의 투여량을 투여하기 전에 대상자에서 측정가능한 바이오마커 또는 파라미터(예: 아밀로이드 플라크 부하 또는 인지 능력)의 기준 값을 측정하고, 이를 치료 후 동일한 측정가능한 바이오마커 또는 파라미터에 대한 값과 비교함을 수반할 수 있다.

[0291] 기타 방법에서, 측정가능한 바이오마커 또는 파라미터의 제어 값(예: 평균 및 표준편차)이 대조군 집단을 위해 측정된다. 특정 구현예에서, 대조군 집단의 개체는 사전 치료를 받지 않고, AD, MCI를 갖지 않고 AD 또는 MCI를 발병시킬 위험에 있지도 않다. 그러한 경우에, 측정가능한 바이오마커 또는 임상적 파라미터의 값이 제어 값에 접근할 경우, 치료는 유효한 것으로 간주된다. 기타 구현예에서, 대조군 집단의 개체는 사전 치료를 받지



않았고, AD 또는 MCI를 진단받았다. 이러한 경우에, 측정가능한 바이오마커 또는 임상적 파라미터의 값이 제어 값에 접근할 경우, 치료는 유효하지 않은 것으로 간주된다.

[0292] 기타 방법에서, 현재 치료를 받지 않지만 치료의 사전 과정을 경험한 대상자는 치료의 재개가 필요한지 여부를 결정하기 위해 하나 이상의 바이오마커 또는 임상적 파라미터에 대해 모니터링한다. 대상자에서 하나 이상의 바이오마커 또는 임상적 파라미터의 측정 값을 치료의 사전 과정 후 대상에서 이미 달성된 값과 비교할 수 있다. 또는, 대상자에서 측정된 값은 치료 과정을 경험한 후 대상의 집단에서 결정된 제어 값(평균 + 표준 편차/ANOVA)과 비교할 수 있다. 대안적으로, 대상자에서 측정된 값은 질환의 증상을 함유하지 않는 예방학적으로 처리된 대상자의 집단 또는 질환 특성의 개선을 나타내는 치료학적으로 처리된 대상자의 집단에서 제어 값과 비교할 수 있다. 이러한 경우에, 측정가능한 바이오마커 또는 임상적 파라미터의 값이 제어 값에 접근하면, 치료는 유효하고, 재개될 필요가 없는 것으로 간주된다. 이러한 경우 모두에서, 대조 수준에 대한 유의차(예: 표준 편차 이상)가 치료가 대상자에게 재개되어야 한다는 지표이다.

[0293] 특정 구현예에서, 분석용 조직 샘플은 통상적으로 대상자의 혈액, 혈장, 혈청, 뇨, 점액 또는 뇌척수액이다.

## [0294] 키트

[0295] 각종 구현예에서, 활성제(들)(예: APP 특이적 BACE 억제제(ASBI), 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체, 토토머 또는 입체이성체, 또는 본원에서 기술된 바와 같은 이의 전구약물)는 다수 또는 단일 용량 용기에 포함될 수 있다. 포함된 제제(들)는, 예를 들어, 사용하기 위해 조립될 수 있는 구성 요소를 포함하는 키트에 제공될 수 있다. 예를 들어, 동결건조된 형태의 활성제 및 적합한 희석제는 사용 직전에 조합하기 위한 별도의 구성 요소로서 제공될 수 있다. 키트는 공-투여하기 위한 활성제 및 제2 치료제를 포함할 수 있다. 상기 활성제 및 제2 치료제는 개별적 구성 요소로서 제공될 수 있다. 키트는 다수의 용기를 포함할 수 있고, 각 용기는 화합물의 하나 이상의 단위 용량을 유지한다. 용기는 바람직하게는 본원에서 기술된 바와 같이, 경구 투여용 정제, 껌 캡슐, 서방성 캡슐 등, 비경구 투여용 데포 제품, 예비충전된 시린지, 앰플, 바이알 등, 및 국소 투여용 패치, 메디패드, 크림 등을 포함하나, 이에 국한되지 않고, 목적하는 투여 방식에 적합하다.

[0296] 특정 구현예에서, 키트가 제공되고, 여기서 키트는 바람직하게는 약제학적 조성물로서 적합한 용기 또는 용기들에 및/또는 적합한 포장과 함께 제공된 본원에서 기재된 하나 이상의 ASBI 화합물, 또는 이의 전구약물, 토토머 또는 입체이성체, 또는 상기 화합물, 상기 입체이성체 또는 상기 토토머 또는 전구약물의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물; 임의로 존재할 경우, 바람직하게는 약제학적 조성물로서 적합한 용기 또는 용기들에 및/또는 적합한 포장과 함께 제공되는 하나 이상의 추가의 활성제; 및 임의로 사용 지침서, 예를 들어, 화합물 또는 조성물의 투여 방법에 대한 서면 지침서를 포함한다.

[0297] 또 하나의 구현예에서, 단일 용기 또는 다수의 용기: (a) 본원에서 기재되고/되거나 특허청구된 하나 이상의 ASBI 화합물, 또는 이의 토토머 또는 입체이성체, 또는 상기 화합물, 상기 입체이성체, 또는 상기 토토머의 약제학적으로 허용되는 염 또는 용매화물을 포함하는 약제학적으로 허용되는 조성물, 임의로 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 약제학적으로 허용되는 조성물; 및 임의로 이들 사용을 위한 지침서를 포함하는 키트가 제공된다. 키트는 임의로 의도된 사용 또는 사용들에 적합한 라벨링(예: 교재)을 포함할 수 있다.

[0298] 임의의 약제 제품의 경우와 같이, 포장 재료(들) 및/또는 용기(들)는 저장 및 수송 동안 제품의 안정성을 보호하도록 설계된다. 또한, 키트는 사용자, 예를 들어, 의사, 기술자 또는 환자에게 관심 질환의 예방적, 치료적 또는 개선 치료로서 조성물(들)을 적절하게 투여하는 방법에 대해 충고할 수 있는 사용 지침서 또는 기타 정보 자료를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 지침서는, 실제 용량 및 모니터링 절차를 포함하나, 이에 국한되지 않는 투여 요법을 나타내거나 제한할 수 있다.

[0299] 일부 구현예에서, 지침서는 조성물의 투여가, 알레르기 반응, 예를 들어, 아나필락시스를 포함하는 부작용을 유도할 수 있음을 나타내는 정보 자료를 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 정보 자료는 알레르기 반응이 단지 가벼운 소양성 발진으로서 나타날 수 있거나 심할 수 있고, 홍피증, 혈관염, 아나필락시스, 스티븐-존슨(Steven-Johnson) 증후군 등을 포함한다는 것을 나타낼 수 있다. 특정 구현예에서, 정보 자료(들)는 아나필락시스가 치명적일 수 있고, 임의의 외래 단백질이 체내에 도입될 경우에 발생할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다. 특정 구현예에서, 정보 자료는 이러한 알레르기 반응이 자체로 두드러기 또는 발진으로서 나타나서 치명적인 전신 반응으로 발전할 수 있고, 예를 들어, 10분 이내와 같은 노출 직후 곧 발생할 수 있음을 나타낼 수 있다. 정보 자료는 추가로 알레르기 반응이 대상자에게 경험 지각장애, 저혈압, 후두부종, 정신 상태 변화, 안면 또는

인두 혈관성 부종, 기도폐색, 기관지경련, 두드러기 및 소양증, 혈청병, 관절염, 알레르기성 신염, 사구체신염, 일과성 관절염, 호산구증가증 또는 이의 조합 상태를 일으킬 수 있음을 나타낼 수 있다.

[0300] 교재는 통상적으로 서면 또는 인쇄 자료를 포함하지만, 이에 국한되지 않는다. 이러한 지침서를 저장하고, 이들을 최종 사용자에게 전달할 수 있는 임의의 매체가 본 발명에 의해 고려된다. 이러한 매체는, 전자 기억 매체(예: 자기 디스크, 테이프, 카트리지, 칩), 광학 매체(예: CD ROM) 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 이러한 매체는 이러한 교재를 제공하는 인터넷 사이트 주소를 포함할 수 있다.

[0301] 일부 구현예에서, 키트는 하나 이상의 포장 재료, 예를 들어, 상자, 병, 튜브, 바이알, 용기, 분무기, 흡입기, 정맥내(I.V.) 백, 봉투 등; 본원에 기재된 활성제(들) 및 포장 재료를 포함하는 제제의 적어도 하나의 단위 투여 형태를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 키트는 또한 관심 질환의 예방적, 치료적 또는 개선 치료제로서 조성물을 사용하기 위한 지침서를 포함한다.

[0302] 일부 구현예에서, 키트는 하나 이상의 포장 재료, 예를 들어, 상자, 병, 튜브, 바이알, 용기, 분무기, 흡입기, 정맥내(I.V.) 백, 봉투 등; 및 포장 재료 내에 하나 이상의 활성제(들)(예: APP 특이적 BACE 억제제(ASBI), 예를 들어, 갈란긴, 루틴, 및 이의 유사체, 유도체, 토토머 또는 입체이성체, 또는 본원에서 기재된 바와 같은 이의 전구약물)를 포함하는 제제의 적어도 하나의 단위 투여 형태를 포함하는 제1 조성물을 제2 제제, 예를 들어, 알츠하이머병의 치료 및/또는 예방에 사용되는 제제(예: 본원에서 기술된 바와 같음), 또는 이의 임의의 전구약물, 공약물, 대사산물, 유사체, 상동체, 동족체, 유도체, 염 및 조합을 포함하는 제2 조성물과 함께 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 키트는 또한 관심 질환의 예방적, 치료적 또는 개선 치료제로서 조성물을 사용하기 위한 지침서를 포함한다.

[0303] 특정 구현예에서, 존재할 경우, 지침서/교재는 키트에 함유되는 활성제의 투여량 및/또는 치료 요법(들) 및/또는 반대 징후를 교시한다. 교재는, 존재할 경우, 통상적으로 서면 또는 인쇄물을 포함할 수 있지만, 이에 국한되지 않는다. 이러한 지침서를 저장하고, 이들을 최종 사용자에게 전달할 수 있는 임의의 매체가 본 발명에 의해 고려된다. 이러한 매체는, 전자 기억 매체(예: 자기 디스크, 테이프, 카트리지, 칩), 광학 매체(예: CD ROM) 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 이러한 매체는 이러한 교재를 제공하는 인터넷 사이트 주소를 포함할 수 있다.

[0304] **실시예**

[0305] 다음 실시예는 특허청구된 발명을 제한하기 위한 것이 아니라 예시하기 위해 제공된다.

[0306] **실시예 1**

[0307] **APP-특이적 BACE 억제제(ASBI):**

[0308] **알츠하이머병 치료제의 신규 부류**

[0309] 다양한 병상의 치료에서 프로테아제 억제 전략(예: BACE 억제제)의 중요한 제한은 기질 표적 효과, 즉 주어진 표적 프로테아제의 모든 기질, 예를 들어, BACE 또는  $\gamma$ -세크레타제 복합체의 절단 억제의 복잡성이다.  $\gamma$ -세크레타제의 경우에, APP 이외의 기질(예: 노치)은  $\gamma$ -세크레타제의 잠재적 부작용에 대한 관심을 제기하고,  $\gamma$ -세크레타제 억제제, 세마가세스타트의 최근의 장애는 이러한 관심을 보강하도록 작용한다. BACE의 경우에, PSGL1 또는 LRP와 같은 비-APP 기질의 억제는 유사한 관심을 제기한다.

[0310] 따라서, 최적 BACE 억제제는 BACE가 아닌 APP에 결합하여 APP-특이적 BACE 억제(ASBI)를 유도하는 것일 수 있다. 이러한 치료제는 알츠하이머병 치료제: ASBI의 신규 부류를 나타낼 것이다.

[0311] 제1 ASBI의 확인에 대한 본 실시예에서 보고된 데이터는 이러한 접근법이 가능하다는 것을 증명한다. APP-특이적 BACE 억제제(ASBI)는 아밀로이드 전구체 단백질(APP)의 BACE 절단을 억제하지만, 기타 기질의 단백질분해 절단을 억제하지 않는다. ASBI 분석에서 448개 임상 화합물(NCC 3364)의 작은 라이브러리의 스크리닝을 통해 바이오플라보노이드, 1  $\mu$ M의 용량에서 ASBI로서 효과적인 루틴, 시트루스 플라보노이드 글리코사이드가 확인되었다. 바이오플라보노이드 그룹의 추가의 분석은 제2 분자, 갈란긴, 50  $\mu$ M의 용량에서 ASBI로서 유사하게 작용하는 갈란갈 근경으로부터의 바이오플라보노이드를 밝혀냈다. 이들 바이오플라보노이드는 AD를 위한 질환-개선 치료제의 신규 부류인 것으로 생각되는 최초의 구성원을 나타낸다.

[0312] APP-특이적 BACE 억제제를 확인하고 APP 처리를 특이적으로 조절하는 이들의 생체내 능력을 평가하기 위해 본원

에서 개설된 방법의 전신 적용은 이전에 보고된 바가 없는 것으로 생각된다. 세포 모델에서 ASBI로서 작용하는 분자 유도 화합물을 제공하는 바이오플라보노이드 영양 보충제가 확인되어 있다. 전구약물 방법을 통해 이러한 바이오플라보노이드의 뇌 수준을 증가시키는 것은 AD 마우스 모델에서 A $\beta$  42의 감소를 유도하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, ASBI는 AD 치료제의 신규 부류를 나타낸다.

[0313] **재료 및 방법**

[0314] **화합물**

[0315] 루틴(ASBI-1)은 시그마(Sigma)(cat # R5143, St. Louis, MO)로부터 입수하고, 갈란긴(ASBI-2)은 시그마(cat# 282200, St. Louis, MO)로부터 입수하고, 프로갈란긴(PG-1)은 합성했다.

[0316] **ASBI 분석**

[0317] 2개 부분, a) MBP-C125 기질의 BACE 절단의 억제를 위한 화합물의 평가 및 b) P5-P5' 기질의 BACE 억제를 위한 후보의 평가로 구성된다.

[0318] **a) MBP-C125 절단 분석**

[0319] APP의 125 C-말단 잔기를 함유하는 말토스-결합 단백질의 단백질 작제물(물 중의 1mM 1 $\mu$ L)을 15분 동안 플라보노이드(100 $\mu$ M)와 함께 배양했다. 이어서, 혼합물을 30분 동안 BACE(Sigma #B9059, BACE 완충제 중의 3단위/ml 5 $\mu$ l)에 의한 절단에 제공했다. 0, 10, 20 및 30분 후, 반응 혼합물 2 $\mu$ L를 동결시키고, 상이한 시점을 생성된 APP-C99의 양에 대해 동시에 정량했다. 정량은, 항-아베타 수용체 비드(AL275AC)를 항-APP 수용체 비드(AL275AC)로 대체하고 항체 혼합물을 2 $\times$ 알파리사(ALPHALisa) 완충제로 제조하여 변형시킨 퍼킨 엘머 알파리사 아밀로이드 아밀로이드 베타 키트(AL275C)를 사용하여 수행했다.

[0320] **b) P5-P5' 절단 분석**

[0321] 100 $\mu$ M에서 형광 기질 P5-P5'의 BACE 절단의 억제는 시그마-알드리히(Sigma-Aldrich)(CS0010)사의  $\beta$ -세크레타제(BACE1) 활성 검출 키트 및 표준 프로토콜을 사용하여 측정했다.

[0322] **플라스미드**

[0323] pAPtag5-NRG1- $\beta$ 1 작제물은 칼 블로벨 박사(Dr. Carl Blobel)에 의해 친절하게 제공되었다[참조: Horiuchi et al. (2005) Dev. Biol. 283: 459-471]. BACE1 작제물은 미하엘 위렘 박사(Dr. Michael Willem) 및 크리스티안 하스 박사(Dr. Christian Haass)의 기증물이었다[참조: Willem et al. (2006) Science 314: 664-666]. 작제물 pCMV5-Mint3, pMst-A $\beta$ PP, pG5E1B-luc 및 pCMV-LacZ은 토마스 시드호프 박사(Dr. Thomas Sidhof), 패트릭 멜렌 박사(Dr. Patrick Mehlen) 및 베로니크 코르셋 박사(Dr. Veronique Corset)에 의해 관대하게 제공되었다[참조: Cao (2001) Science 293: 115-120]. 작제물 pEF-N-FLAG-TAZ는 미하엘 야페 박사(Dr. Michael Yaffe) 및 이아인 파란스 박사(Dr. Iain Farrance)에 의해 친절하게 제공되었다. 작제물 pcDNA3.1-APLP2-Gal4은 문헌[참조: Orcholski et al.(2011) J. Alzheimers Dis. 23: 689-699]에 이전에 기재되어 있다.

[0324] **세포 배양 및 웨스턴 블롯**

[0325] 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포주 과발현 인간 A $\beta$ PP(7W)는 에드워드 구 박사(Dr. Edward Koo)에 의해 친절하게 제공되었다. 플라스미드 작제물을 리포펙타민 200(Invitrogen)으로 HEK293T 또는 7W 세포 내로 일시적으로 형질감염시켰다. 웨스턴 블롯 분석은 문헌[참조: Swistowski et al. (2009) J. Neurosci., 29: 15703-15712]에 이미 기재된 바와 같이 수행했다. 요약하면, 형질감염 48시간 후, 세포를 수거하고, NP-40 세포 용해 완충제(50 mM TrisHCl, pH 8.0, 150 mM NaCl 및 1% NP-40)에 용해시켰다. 세포 용해물을 IX LDS 적재 완충제(Invitrogen) 및 50 mM DTT와 혼합하고, 100 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 비등시켰다. SDS-PAGE 및 전기이동 후, 항-APP

항체(CT15,  $\beta$ -CTF의 경우에 에드워드 구 박사의 친절한 기증물; 전장 APP 및 sAPP $\alpha$ 의 경우에 6E10(Covance))을 사용하여 웨스턴 블롯팅을 수행했다. 30분의 TBS-트윈 세척 후, 제2 항체와 함께 배양했다.

[0326] **뉴레굴린1 발산 분석**

[0327] 인간 태반 분비 알칼리 포스파타제 (SEAP)-NRG1(pAPtag5-NRG1- $\beta$ 1) 융합 단백질을 인코딩하는 cDNA 작제물은 문헌[참조: Vassar et al. (1999) Science, 286: 735-741]에 이미 기재된 바와 같이 Lipofectamine 2000 (Invitrogen)을 사용하여 전장 야생형 BACE1의 존재 또는 부재하에 6-웰 포맷으로 HEK293 세포에 형질감염시켰다. 형질감염 후, 배지는 10% 열-불활성화된 태소 혈청을 함유하는 DMEM으로 대체하고, 24시간 동안 배양했다. SEAP 활성은 조절된 배지에서 측정했다. 알칼리 포스파타제 활성 측정을 위해, 200 $\mu$ l의 반응 용액(0.1M 글리신, pH 10.4, 1mM MgCl<sub>2</sub>, 1mg/ml 4-니트로페닐 포스페이트 2나트륨염 6수화물을 함유하는 1mM ZnCl<sub>2</sub>, Sigma)을 20 $\mu$ l의 조절된 배지에 첨가했다. 흡광도는 405nm에서 판독했다. 통계학적 분석은 양측 꼬리 스튜던트 t-시험을 사용하여 수행했다.

[0328] **전사활성화 분석**

[0329] HEK293T 세포는 5개의 플라스미드: (1) pG5E1B-luc, 0.3 $\mu$ g; (2) pCMV-LacZ, 0.1 $\mu$ g; (3) pMst-APP(APP-Gal4) 또는 pcDNA3.1-APLP2-Gal4, 0.3 $\mu$ g; (4) pCMV5-Mint3, 1.0 $\mu$ g; (5) pEF-N-FLAG-TAZ, 1.0 $\mu$ g로 동시 형질감염시켰다. 세포는 웰당 0.2ml 세포 배양 용해 완충제(Promega)에서 형질감염 48시간 후에 수거하고, 이들의 루시페라제 및  $\beta$ -갈락토시다제 활성은 각각 프로메가 루시페라제 분석 키트 및 프로메가  $\beta$ -갈락토시다제 분석 키트로 측정했다. 루시페라제 활성은  $\beta$ -갈락토시다제 활성으로 표준화하여 형질감염 효율 및 전사의 일반 효과를 조절했다. 형질감염은 리포펙타민 2000(Invitrogen)을 사용하여 6개 웰 플레이트에서 80-90% 컨플루언스로 수행했다.

[0330] **표면 플라즈몬 공명(SPR) 시험**

[0331] 카복시메틸화-텍스트란(CM-5) 칩의 4개 유동 세포(FC1, FC2, FC3, FC4)의 표면은 비아코어 T-100(GE Healthcare)을 사용하여 1분 동안 30 $\mu$ l/분의 유속을 사용하여 평행하게 50mM NaOH, 1mM HCl, 0.05% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 및 20mM 인산나트륨(pH 7.4), 125 mM 염화나트륨으로 순차로 세척했다. 3개의 융합 단백질은 20mM 인산염, 125mM 염화나트륨(pH 7.4)을 사용하여 아민 커플링에 의해 고정했다. 3개 단백질은 MBP-eAPP<sub>230-624</sub>(말토스 결합 단백질(MBP) 및 APP(90-kDa)(FC4)의 엑토도메인(ectodomain)의 잔기 230-624를 함유하는 융합 단백질), eAPP<sub>230-624</sub>(잔기 230-624(45-kDa)(FC2)만을 함유하는 단백질) 및 TRX-eAPP<sub>575-624</sub>(티오레독신(TRX) 및 엑토도메인(20-kDa)(FC3)의 잔기 575-624를 함유하는 융합 단백질)이었다. 단백질은 문헌[참조: Libeu, et al. (2011) J. Alzheimers Dis., 25(3): 547-566 Libeu et al (2011)]에 기재된 바와 같이 생성했다. 유동 세포 FC1은 대조군으로 사용했다. 갈란틴은 DMSO 중의 10mM 용액 내지 1% DMSO 중의 50 $\mu$ M 용액, 20mM 인산나트륨(pH 7.4), 125mM 염화나트륨, 0.05% 트윈으로 희석하고, 이어서 10단계 동안 1.5배로 연속 희석했다. 결합 흔적은 60초의 결합 상 및 240초의 해리 상으로 각각의 희석물에 대해 기록했다. 각 사이클은 20 $\mu$ l/분의 일정 유속으로 20°C에서 수행했다. 세포 사이에 1분당 60 $\mu$ l로 추가 240초의 완충제 유동을 재생 상(phase)으로 적용하여 단백질로부터 화합물의 완전한 해리를 용이하게 한다. 센소그램은 비아코어 T100 평가 소프트웨어를 사용하여 기준 및 완충제 신호를 감산함으로써 취득했다. 결합 곡선은 PRISM(Graphpad Inc)로 모델링했다.

[0332] **약물동태(PK) 분석**

[0333] 갈란틴 및 프로갈란틴의 뇌 침투도는 25g 마우스에 대해 디메틸설폭사이드(DMSO) 중의 화합물 5mg/ml 50 $\mu$ l 또는 10mg/kg의 용량으로 5마리 성숙 비-유전자도입 마우스의 피하(Sub-Q) 주사를 포함하는 표준 PK에서 평가했다. 주사된 마우스를 1, 2, 4, 6 및 8시간에서 케타민/크실라진으로 마취시키고, 혈액을 심장 천공에 의해 수집했다. 이어서, 마우스를 염수로 관류시키고, 뇌 조직을 해부하고, 드라이 아이스로 급속 동결시켰다. 혈액을 10분 동안 3000rpm으로 원심분리하고, 혈장 상청액을 수집했다. 혈장 및 우반뇌(right hemibrain) 둘 다를 조직 및 혈장 중의 화합물 수준 분석을 위해 화합물의 기준 샘플과 함께 통합 분석 솔루션(Integrated



Analytical Solutions; IAS, Berkeley, CA)으로 보냈다. 화합물 수준은 LC-MS/MS 방법을 사용하여 측정했다.

[0334] **파이렛 효능 시험**

[0335] 갈란긴 및 프로갈란긴(PG-1)을 10% 솔루톨/15% DMSO/75% 폴리에틸렌 글리콜(PEG)에 용해시켰다. 저장 용액은 각 화합물에 대해 10mg/ml로 제조하고, 100 $\mu$ l를 40mkd의 용량으로 14일 동안 매일 피하 주사했다. 갈란긴 및 프로갈란긴 그룹 둘 다에서 5 PDAPP AD 모델 J120 마우스 및 9개 비히클-단독 처리된 J20 대조군이 있었다. 마우스를 마취시키고, 혈액은 혈장을 위해 수집하고, 뇌 조직은 처리 최종일에 주사 2시간 후에 상기한 바와 같이 수집했다. 우반뇌를 추가로 마이크로해부하여 해마 및 내후각 피질을 분리시키고, 이러한 조합된 조직을 생화학 분석에 사용했다. 나머지 조직 및 혈장은 화합물 수준 분석을 위해 IAS로 보냈다.

[0336] **생화학**

[0337] A $\beta$  1-42 및 A $\beta$  1-40 수준은 해마/후각내 피질 조직을 사용하여 측정했다. 요약하면, 동결된 조직 샘플을 칭량하고, 20% w/v는 5M 구안단-HCl/50mM 트리스(pH8)에서 제조되었고 초음파로 파괴한다. 초음파처리는 빙수 중의 샘플 튜브로 60Hz에서 4 $\times$ 5, 이어서 80Hz에서 3 $\times$ 5초로 수행했다. 이어서, 샘플은 3시간 동안 실온에서 회전시키고, 분석할 때까지 -20 $^{\circ}$ C에서 동결시켰다. 인비트로겐 ELISA 키트를 제조업자의 지시에 따라 A $\beta$  1-40 및 A $\beta$  1-42에 사용했다.

[0338] **결과**

[0339] **APP-특이적 BACE 억제제(ASBI)의 확인**

[0340] 1차 고생산성 스크리닝(HTS) 분석은 이중-기질 시험 패러다임을 사용하는 ASBI의 확인을 위해 설정했다(도 3A & 3B). 상기 보고된[참조: Sinha et al. (1999) Nature, 402: 537-540] BACE 기질, 야생형 APP의 카복시말단 125개 아미노산에 융합된 말토스 결합 단백질로 이루어진 MBP-C125 APP<sup>695Wt</sup> 융합 단백질은 1차 기질로서 사용했고, APP의 BACE 절단 부위의 P5-P5' 잔기로부터 유래된 상업적으로 입수가 가능한 P5-P5' 형광 기질을 2차 기질로서 사용했다. 이들 기질 각각을 96-웰 플레이트 포맷에서 재조합체 BACE[R&D (cat#931-AS-050)]와 함께 항온처리했다. MBP-C125 기질의 경우, BACE 절단으로부터의 C-99 생성물은 판독치로 알파리사 분석을 사용하여 측정했다(도 3B). P5-5' 기질의 경우, BACE 절단 후의 형광 소실을 판독치로 사용했다. ASBI는 MBP-C125 기질의 BACE 절단을 억제하지만, ASBI가 APP 기질에 결합한 장소에 따라, 형광 기질의 절단을 반드시 억제하지는 않는 것으로 예측된다.

[0341] 448 화합물의 임상 화합물 라이브러리의 예비 스크리닝에 기초하여, 적중율(hit-rate)은, 하나의 화합물만이 초기 스크리닝에서 확인되었기 때문에, 매우 낮을 것으로 예상되었다. 잠재적 "적중"의 용량 반응 곡선은 추가의 개발을 위한 검증된 "적중"을 확인하기 위해 후속적으로 수행했다. HTS 스크리닝은 각 후보자에 대해 10  $\mu$ M의 초기 농도에서 수행했다. 448 상업적으로 입수가 가능한 임상 화합물의 소규모 임상 화합물의 초기 스크리닝을 완성했다. 스크리닝은, 메틸에서 발견된 시트루스 플라보노이드 글리코사이드로부터 유래되는 바이오플라보노이드 루틴(ASBI-1, 또한 루토사이드로서 명칭됨)으로 확인된 단일 적중(도 3a)을 수득했다. 이 바이오플라보노이드는 SH-SY5Y 세포에서 sAPP $\beta$ 를 감소시켰고, APP에 특이적인 것으로 밝혀졌으며, 이는 루틴이 APP의 BACE 절단에 특이적으로 작용함을 뒷받침한다. 이어서, 바이오플라보노이드의 패널(도 4)은 세포에서 sAPP $\beta$ 를 억제하는 이들의 능력에 대해 먼저 시험했다. 또 다른 바이오플라보노이드(갈란긴)는 ASBI로서 또한 거동하는 것으로 확인되었고, 이는 BACE에 의한 MBP 기질의 절단을 억제시키지만(도 4, 다이아몬드형) P5-P5' 기질의 억제를 나타내지 않는다(도 4, 원형). 갈란긴(ASBI-2)은 갈란갈 근경에서 발견되는 플라바놀이고, 영양 보충제로서 통상 사용된다.

[0342] **바이오플라보노이드 ASBI가 세포에서 sAPP $\beta$  및 APP 처리에 미치는 효과**

[0343] APP는 2개의 주요 경로를 통해 처리된다: 비-아밀로이드형성 경로는 APP를 sAPP $\alpha$  및  $\alpha$ -CTF(C83)으로 단백질분해시키는  $\alpha$ -세크레타제 절단을 수반하는 반면, 아밀로이드형성 경로는 APP를 sAPP $\beta$  및  $\beta$ -CTF(C99)로 절단시키는  $\beta$ -세크레타제 절단으로 개시한다. 이어서,  $\beta$ -CTF는, A $\beta$  및 AICD를 생성하는  $\gamma$ -세크레타제에 의해 절

단된다. APP의  $\beta$ -세크레타제 처리를 억제하는 ASBI의 능력은 APP를 발현하는 SH-SY5Y 신경아종 세포에서 시험했다. BACE 절단 생성물로부터 형성된 sAPP $\beta$  단편은 퍼킨-엘머(Cat# A2132)의 알파리사 분석을 사용하여 측정했다. 초기 스크리닝에서 루틴의 발견 후, 1  $\mu$ M에서 SH-SY5Y 세포에 의한 sAPP $\beta$ 의 생성이 약간 억제된 것으로 입증되었다(도 5a). 바이오플라보노이드 패널의 시험은 ASBI로서 갈란긴의 확인을 유도했다. 갈란긴에 의한 SH-SY5Y의 처리는 50  $\mu$ M에서 sAPP $\beta$  수준을 유사하게 감소시켰다. APP 수준에 대한 효과는 검출되지 않았다.

[0344] **바이오플라보노이드 ASBI는 APP-Gal4 및 APLP2-Gal4 전사활성화를 억제한다.**

[0345] APP-C31 절단은 세포 사멸과 관련되어 있지만,  $\gamma$ -세크레타제 절단 후에 생성된 APP 세포내 도메인(AICD)은 다양한 신호전달 경로에 관여하고, KAI1, 네프틸리신 및 APP 자체를 포함하는 다수의 유전자의 발현을 조절하는 것으로 밝혀졌다[참조: Hong et al. (2000) Science, 290: 150-153]. APP-Gal4/Mint3/TAZ 전사활성화 분석[참조: Maillard et al. (2007) J. Med. Chem., 50: 776-781; Hardy et al. (1991) Trends Pharmacol. Sci., 12: 383-388]은 확립되었고, 이 분석을 사용하여, ASBI가 APP-Gal4 전사활성화를 억제시키는 것으로 밝혀졌다(도 7). 이 효과를 확인하기 위해, APP-Gal4/Fe65 전사활성화 분석을 사용했다. APLP2-Gal4 전사활성화에서 ASBI의 효과를 검사했다(도 7). 이들 결과는 루틴(ASBI-1) 및 갈란긴(ASBI-2)이 APP 및 관련 계열 구성원 APLP2-Gal4 전사활성화 둘 다를 억제시키는 것을 나타낸다.

[0346] **APP와 ASBI의 상호작용**

[0347] ASBI와 APP의 상호작용을 조사하기 위해 리간드 블롯 기술을 사용했고, 여기서 MBP-C125 APP는 니트로셀룰로스 블롯 상에 점 블롯팅했고, 단백질에 대한 결합은 바이오플라보노이드에 의한 처리로 검출했다. 소 혈청 알부민(BSA)에 의한 니트로셀룰로스 필터-결합 분석을 대조군으로 사용했다. 바이오플라보노이드의 결합은 UV 및 MALDI 질량 스펙트럼 분석을 사용하여 측정했다. 이는 단백질 소분자 상호작용의 정성적 측정이지만, ASBI가 APP에 결합했음을 나타내지는 않는다.

[0348] 이어서, 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 사용하여, APP에 대한 결합을 증명하고 APP에 대한 갈란긴의 친화성을 측정했다.

[0349] **표면 플라즈몬 공명(SPR) 스크리닝:**

[0350] APP의 엑토도메인에 대한 화합물의 결합 친화성은 SPR을 사용하여 측정했다. APP의 엑토도메인의 단편에 대한 화합물의 친화성을 측정하는 기술이 개발되었다. 갈란긴 결합 시험을 위해 TRX-eAPP575-624가 사용되었다. eAPP는 CM5 바이아코어 칩(GE Healthcare)에 가고 결합되었다. 다양한 농도의 갈란긴이 칩 위를 통과하는 유동에 사용되었고, 플라즈몬 공명 신호는 바이아코어 T100을 사용하여 측정했다(도 5b).

[0351] **바이오플라보노이드 ASBI 처리는 AD 유전자도입 마우스 모델에서 A $\beta$ 를 감소시킨다.**

[0352] 마우스에서 바이오플라보노이드 루틴 및 갈란긴의 뇌 침투성을 평가하였고, 10 mpk sc 투여 후에 루틴은 뇌에서 검출되지 않았지만 낮은 수준의 갈란긴(1h에서 C<sub>max</sub> ~50 ng/g)은 뇌에서 검출되는 것으로 밝혀졌다(도 8). 뇌 대 혈장 비율은 1:10이었다. 갈란긴의 뇌 수준을 향상시킬 수 있는지를 확인하기 위해, 전구약물(PG-1)을 시험했고, 이는 뇌로 갈란긴의 증가된 전달을 제공했다(1h에서 C<sub>max</sub> ~ 100 ng/g). 이들 약물동태 분석에 기초하여, AD 마우스 모델, PDAPP(J20) 마우스에서 갈란긴 및 프로갈란긴(PG-1)을 시험하기로 결정했다.

[0353] 40 mpk에서 갈란긴을 사용한 J20 마우스의 처리는 A $\beta$  40의 약간의 감소를 나타내지만, A $\beta$  42는 해마 및 피질에서 변화하지 않았다. 그러나, 프로갈란긴에 의한 처리는 전구약물의 처리시에 관찰된 갈란긴의 증가된 뇌 수준과 일관되게 A $\beta$  40 및 A $\beta$  42 둘 다의 감소를 나타낸다. 이들 결과는, 함께 취하여, 바이오플라보노이드 갈란긴이 APP와 직접 상호작용하고, 뉴레굴린 또는 BACE-표적 펩티드가 아닌 APP의 BACE 절단을 억제하며, BACE-의존성 APP 핵 신호전달을 억제하고, AD의 유전자도입 마우스 모델에서 A $\beta$  1-42를 감소시키는 것을 나타낸다.

[0354] **논의**

- [0355] 영양 보충제로서 사용되고 신규 메카니즘에 의해  $\beta$ -세크레타제 매개된 APP 처리를 억제하는 2개의 바이오플라보노이드 동족체가 확인되었다. 이들 분자는 C99의 생성의 억제를 야기시키는, MBP-C125 APP 기질의 BACE 절단을 억제하지만,  $\beta$ -부위 펩티드 기질(P5-P5')의 절단을 억제하지 않는다. 또한, 이들 바이오플라보노이드는 신경아세토종 SH-SY5Y 세포에서 sAPP $\beta$ 를 감소시키지만, 갈란긴은 뉴레굴린 BACE-의존성 발산을 감소시키지 않는다. 추가로, 활성은 MBP-C125 기질에 대한 결합과 관련되는 것으로 증명되었다. 이들 발견은 APP 처리를 조절하는 신규 메카니즘을 정의한다.
- [0356] 본원에 기재된 방법은 알츠하이머병(AD)의 프로테아제 억제 전략의 중요한 제한을 해소하며, 소정의 표적화된 프로테아제, 예를 들어, BACE 또는  $\gamma$ -세크레타제 복합체의 기질 모두의 절단의 억제를 회피하는 메카니즘을 제공한다. APP 이외의  $\gamma$ -세크레타제 기질, 예를 들어, 노치는  $\gamma$ -세크레타제 억제의 잠재적 부작용에 대한 관심을 제기하고,  $\gamma$ -세크레타제 억제제(세마가세스타트)의 최근 장애는 이러한 관심을 보강하기 위해 작용한다. BACE의 경우에, PSGL1 및 LRP 등의 비-APP 기질은 유사한 관심을 제기한다. 따라서, 최적 BACE 억제제는 BACE 이외의 APP에 결합하여 APP-특이적 BACE 억제(ASBI)를 유도하는 것일 수 있다. 본원에 기재된 이러한 치료제는 알츠하이머병 치료제의 신규 부류를 나타낸다.
- [0357] 2개의 공지된 BACE 기질은 면역학적 기능에서 중요할 것 같다: 백혈구 부착을 매개하는 P-셀렉틴 당단백질 리간드-1[참조: Lichtenthaler et al. (2003) J. Biol. Chem. 278: 48713-48719], 및 시알릴-트랜스페라제 ST6Gal I[참조: Kitazume et al. (2003) J. Biol. Chem., 278: 14865-14871], 절단 후에 분비되고 면역 반응의 조절에 관여하는 효소. ST6Gal I에 의해 단독으로 합성되는 시알릴-알파-2,6 갈락토즈 잔기와 B-세포-특이적 렉틴, CD22/Siglee-2의 상호작용은 B-세포 기능에 중요하다(Id.). 일부 글리코실화 효소가 결핍된 마우스는 정상적으로 성장하지만 연령 증가와 함께 예민한 신경 이상을 나타내고; 글리코스핑고리피드-결핍 마우스는 청각 자극에 의해 유도된 치사 청원 발작을 나타낸다. 이와 관련하여, 면역 켈린지에 대한 BACE1 늘 마우스의 반응에 대해 어떠한 보고도 아직까지 나타나지 않은 것에 주목하는 것이 중요하다. BACE1은 또한 APP 동족체, APLP2를 처리하는 것으로 밝혀졌고; 이 동족체는 추정의 BACE1 절단 부위 주위에 APP의 것과는 상이한 서열 특이성을 갖고, 갈란긴은 또한 BACE에 의한 APLP2의 절단을 억제시켰다. APLP2 단백질분해 생성물의 수준은 BACE1 결핍 마우스에서 감소되었고, BACE1 과발현 마우스에서 증가되었다[참조: Pastorino et al. (2004) Mol. Cell Neurosci., 25: 642-649]. 질환이 AD에서 치료법을 변형시키는 큰 필요성을 고려하면, APP 기질-특이적 BACE 억제제를 개발하는 이러한 접근은 신규하고, 질환에 효과적인 임상적 후보를 유도할 수 있다.
- [0358] ASBI를 확인하기 위한 HTS 분석을 설정했다. 이러한 분석에서 448 화합물의 임상 라이브러리의 초기 스크리닝은, BACE의 MBP-C125 기질을 특이적으로 억제하지만 P5-P5' 기질의 절단을 방지하지 않는 바이오플라보노이드의 확인을 유도했다. 이러한 바이오플라보노이드, 루틴은, 세포에서 sAPP $\beta$  생성을 억제하는 것으로 또한 밝혀진 영양 보충제이다. 이어서, 바이오플라보노이드의 패널은 세포 배양물에서 ASBI 및 sAPP $\beta$  분석으로 시험했다. 이러한 시험으로부터 또 다른 바이오플라보노이드, 갈란긴이 확인되었다. 갈란긴은 APP의 BACE 절단을 방지하는데 있어서 세포뿐만 아니라 ASBI 분석에서 효과적인 또 다른 영양 보충제이다. 단순한 니트로셀룰로스 필터 리간드-결합 분석을 사용하여 MBP-C125 기질에 대한 다양한 바이오플라보노이드의 초기 결합을 입증했다. 바이오플라보노이드의 패널을 ASBI 분석으로 스크리닝했다. 그러나, 루틴 및 갈란긴만이 ASBI로서 효과적이었다(도 4). 갈란긴은 세포에서 sAPP $\beta$  수준을 조절하고, APP 기질에 대한 결합을 입증했다(도 5). 흥미롭게도, 갈란긴은 또한 아세틸콜린 에스테라제(AChE)의 억제제이고[참조: Guo et al. (2010) Chemico-Biol. Interaction, 187: 246-248] 자가 소화작용을 유도하는 것으로 보고되어 있다[참조: Wen et al. (2012) Pharmacology, 89: 247-255].
- [0359] 바이오플라보노이드는 APP 또는 APLP2-Gal4로 형질감염된 HEK-293 분석을 사용하여 APP 및 APLP2의 BACE 절단을 억제하는 것으로 입증되었다[참조: Orcholski et al. (2011) J. Alzheimers Dis., 23(4):689-99, 당해 분석의 기재를 위해]. 전사활성화는 Mint3 및 Taz에 의한 형질감염으로 달성된다. ASBI는 예상된 바와 같이 APLP2-Gal4가 아닌 APP-Gal4의 전사활성화만을 억제시킨다. 그러나, 갈란긴은 APP-Gal4 및 APLP2-Gal4 둘 다를 억제시켰다. 따라서, 갈란긴은 APP 특이성이 아닌 APP-계열 특이성을 나타내지만, APLP2로부터 유래된 A $\beta$ -양 단편이 입증되면, APP 및 APLP2 둘 다의 BACE 절단을 억제하는 능력은 APP 단독의 절단을 억제하는 것보다 더욱 바람직할 수 있다[참조: Eggert et al. (2004) J. Biol. Chem. 279(18): 18146-18156].
- [0360] NTg 마우스를 사용한 뇌 흡수 분석에서 이들 2개 바이오플라보노이드의 초기 약물동태 평가는 루틴이 혈액-뇌 장벽을 통과하지 않지만, 반면에 갈란긴이 몇몇 뇌 침투를 나타냈고 따라서 유전자도입(Tg) 마우스 모델에서 개념 실증 연구를 위한 이의 평가를 가능하게 함을 나타냈다. 이어서, 갈란긴은 A $\beta$ 40 및 A $\beta$ 42에 대한 이의 생체내 효과에 대해 평가했다(도 7). A $\beta$  수준의 감소는 이러한 연구에서 매우 유망하다. 갈란긴의 뇌 수준에서

의 추가 증가는 갈란긴의 전구약물(PG-1)을 사용하여 가능해지고, PG-1은 A $\beta$ 40 및 A $\beta$ 42를 감소시키는데 있어서 갈란긴보다 생체내에서 더욱 효과적임을 입증했다.

[0361] 결론적으로, 이러한 현재의 연구는 특정한 바이오플라보노이드가 APP를 억제하고 APP 및 APLP2의 BACE 절단을 억제하는 능력을 갖는 것을 나타내고, 따라서 이들이 APP 특이적 BACE 억제제로서 기능한다는 것을 시사한다. 이들은 BACE의 직접 억제로부터 잠재적 독성을 회피할 수 있는 알츠하이머병을 위한 신규 부류의 치료제를 나타낸다. 이의 전구약물 동족체, 프로갈란긴-1으로서 갈란긴은 또한 AD 마우스 모델에서 A $\beta$ 40 및 A $\beta$ 42를 감소시키는데 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0362] **실시예 2**

[0363] **ASBI로서의 프로갈란긴**

[0364] CNS 노출 연구가 수행되었고, 해파린화 혈장 및 뇌를 수집하기 위해 경시적 디자인으로 구성되었다. 10 mg/kg에서 갈란긴 또는 프로갈란긴(화합물-2)의 sc 투여 후, 당해 화합물의 혈장 및 뇌 수준은 정량적 LC/MS/MS 방법에 의해 측정했다. 혈장 샘플은 내부 표준을 함유하는 아세트니트릴:메탄올(1:1) 각테일로 침전시켰다. 뇌 샘플은 에틸아세테이트에서 직접 균질화시키거나, 액체-액체 방법으로 5M 구아니딘 균질물로부터 추출했다. 수득된 상청액을 증발 건조시키고, LC/MS/MS 분석으로 처리했다. 각 화합물에 대해 5마리 마우스를 분석에 사용했다. 이어서, 뇌 대 혈장 비율 및 혈장/뇌 C<sub>max</sub> 수준을 측정했다(도 8 참조).

[0365] **실험 절차 - 화합물 합성**

[0366] **5,7-디아세톡시플라본:**

[0367] 5,7-디하이드록시-2-페닐-4H-크로멘-4-온(5.00g, 19.67mmol)을 피리딘 중의 아세트산 무수물의 용액(1:5, 42mL)에 첨가하고, 반응 혼합물을 주위 온도에서 60시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 디에틸 에테르(100mL)로 희석시키고, 여과했다. 고체를 추가의 디에틸 에테르(3×50mL)로 세척하고, 높은 진공하에 건조시켜 4-옥소-2-페닐-4H-크로멘-5,7-디일 디아세테이트(6.40g, 18.92mmol, 96%)를 백색 결정질 고체로서 수득했다.

[0368] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 2.45 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 6.67 (s, 1H, H-3), 6.85 (d, J = 2 Hz, 1H, H-6), 7.36 (d, J = 2 Hz, 1H, H-8), 7.50 (m, 3H, H-3', 5', H-4'), 7.84 (dd, J = 8 Hz, 2H, H-2', 6');

[0369] <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.2 (q, CH<sub>3</sub>COO), 21.3 (q, CH<sub>3</sub>-C=O), 108.7 (d, C-3), 109.1 (d, C-8), 113.7 (d, C-6), 115.1 (s, C-4a), 126.3 (2×d, C-2', 6'), 129.2(2×d, C-3', 5'), 131.2 (d, C-4'), 131.9 (s, C-1'), 150.3 (s, C-5), 154.0 (s, C-7), 157.8 (s, C-8a), 162.6 (s, C-2), 168.1 (s, CH<sub>3</sub>-C=O), 169.5 (s, CH<sub>3</sub>COO), 176.5 (s, C-4).

[0370] **DMDO의 제조:**

[0371] 3L 3구 환저 반응 플라스크에 효율적인 기계적 교반기, 고체용의 부가 깔때기 및 응축기(30 cm)를 장착시키고, 하방으로의 배치를 위해 설정하고, 2구 수용 플라스크에 부착시키고, 후자는 드라이 아이스/아세톤 욕조에 의해 -78℃로 냉각시켰다. 반응 플라스크에 물(254mL), 아세톤(192mL) 및 NaHCO<sub>3</sub>(58g)의 혼합물을 충전시키고, 아이스/물 욕조에 의해 5 내지 10℃로 냉각시켰다. 격렬하게 교반 및 냉각시키면서, 고체 OXONE®(120g, 0.195mol)을 3분 간격으로 5개 부분으로 첨가했다. 최종 첨가 3분 후, 부가 깔때기를 스톱퍼로 대체하고, 중간 진공(80 내지 100 mmHg)를 플라스크에 적용했다. 냉각 욕조(5 내지 10℃)를 반응 플라스크로부터 제거하고, 격렬하게 교반시키면서 DMDO/아세톤 용액을 증류시키고, 90분의 기간에 걸쳐 냉각된(-78℃) 수용 플라스크에서 수집했다. 수용 플라스크를 -20℃로 가온시키고, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 상에서 3시간 동안 건조시켰다. DMDO 용액을 건조 플라스크로 여과시키고, 사용될 때까지 -20℃에서 유지시켰다. 대략 130mL의 DMDO 용액을 수집했다. DMDO의 농도는 건조된 DMDO 용액의 0.2mL 분획을 CDCl<sub>3</sub>에 용해시키고 디메틸디옥시란의 메틸 양자 신호(δ 1.65에서)의 높이를 아세

톤(0.5%)의 우측의  $^{13}\text{C}$  세이틀라이트(satellite)의 것과 비교하여 NMR에 의해 측정했고, 이에 의해 0.05M DMDO 용액을 수득했다. 이러한 분석은 지체 없이 수행되어야 한다.

[0372] **5,7-디아세톡시-3-하이드록시플라본:**

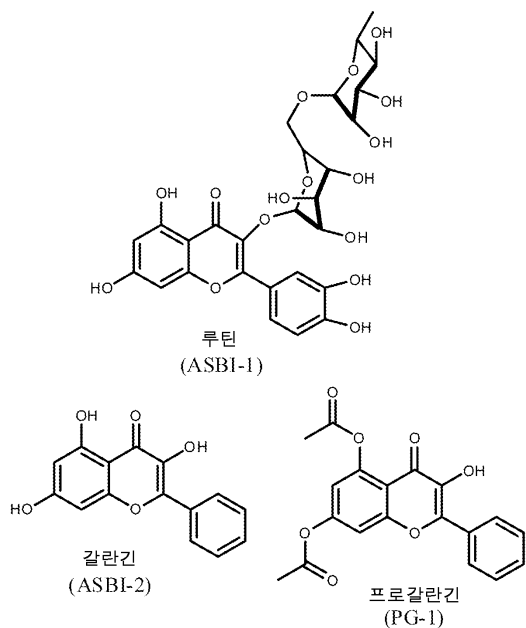
[0373] 4-옥소-2-페닐-4H-크로멘-5,7-디일 디아세테이트(1.80g, 5.32mmol)를 DCM(32mL) 중의 4Å 분자체(1.80g)의 현탁액에 첨가하고, 0℃로 냉각시켰다. DMDO 용액(120mL, 7.02mmol, 1.32 당량)을 적가했다. 생성 용액을 0℃에서 3시간 동안 교반시키고, 주위 온도로 가온시키고, 48시간 동안 당해 온도에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 셀라이트(CELITE®) 상의 무수 황산나트륨의 층을 통해 여과하고, 휘발물을 진공하에 주위 온도에서 제거하여 조악한 7-옥소-1a-페닐-7,7a-디하이드로-1aH-옥시레노[2,3-b]크로멘-4,6-디일 디아세테이트(약 1.90g)를 오일로 수득했다. 이 오일은 후속 단계로 진행시켰다.

[0374] 조악한 반응 혼합물(약 1.90g)은 p-TSA 15 mg을 함유하는 DCM(32mL)에서 교반시켰다. 반응 혼합물을 거의 즉시 고화시켰다. 반응 혼합물을 DCM(20mL)로 희석시키고, 2일 동안 교반시켰고, 여기서 TLC 분석은 7-옥소-1a-페닐-7,7a-디하이드로-1aH-옥시레노[2,3-b]크로멘-4,6-디일 디아세테이트의 소비를 나타냈다. 반응 혼합물을 실리카 겔로 흡수시키고, 반복된 플래시 컬럼 크로마토그래피(용출제로서 클로로포름)로 불순한 3-하이드록시-4-옥소-2-페닐-4H-크로멘-5,7-디일 디아세테이트(800mg)을 수득한다. 추가의 정제를 아세톤/디에틸 에테르 혼합물로부터 재결정화에 의해 달성하여, 3-하이드록시-4-옥소-2-페닐-4H-크로멘-5,7-디일 디아세테이트(660mg, 1.86 mmol, 2단계에 걸쳐 35%)를 크림색 고체로서 수득한다. 당해 물질은 수화물로서 단리했다. 또한, 미량의 디에틸 에테르는 진공하에 연장된 건조 후에도 진공하에 제거할 수 없다.

[0375] 본원에 기재된 실시예 및 구현예는 예시만을 목적으로 하고, 이에 비추어 다양한 변경 또는 변화는 당해 기술분야의 당업자에게 암시될 수 있고 본 출원의 정신 및 이해 범위 내에 및 첨부된 특허청구범위의 범주 내에 포함되어야 하는 것으로 이해된다. 본원에서 인용된 모든 공보, 특허 및 특허 출원은 전체 목적을 위해 이의 전체가 참조로서 포함된다.

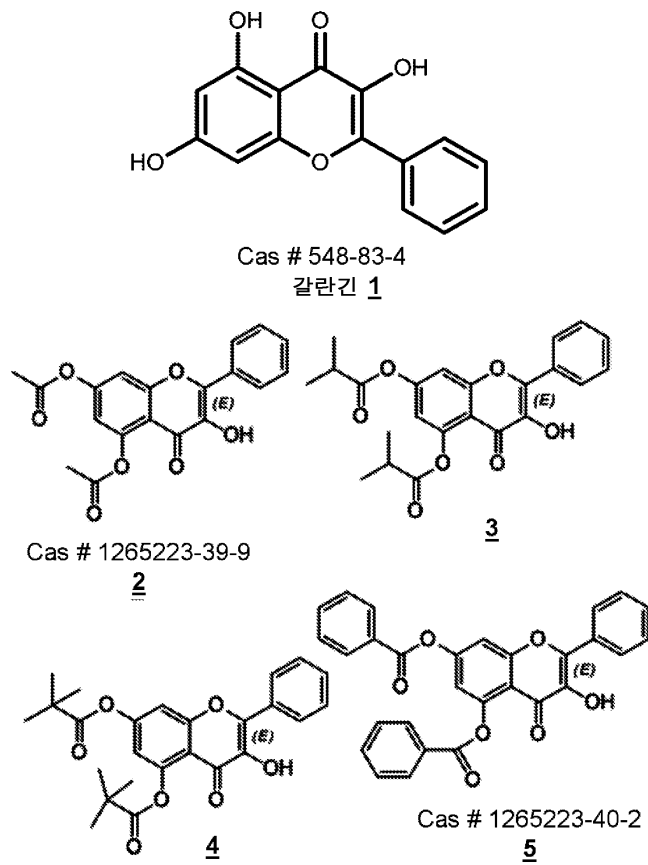
**도면**

**도면1**

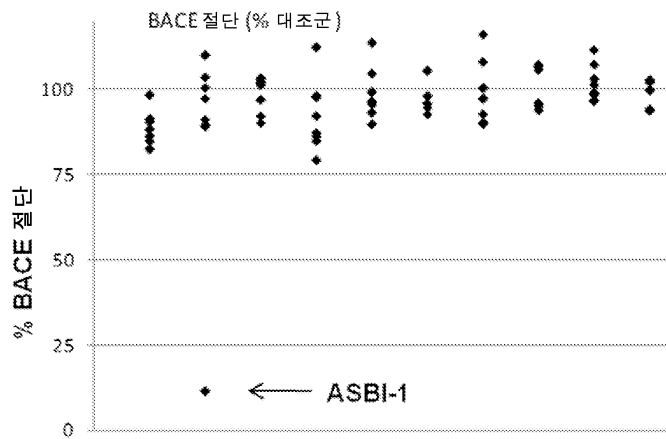




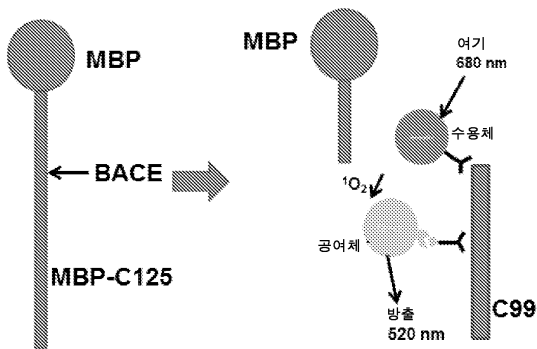
도면2



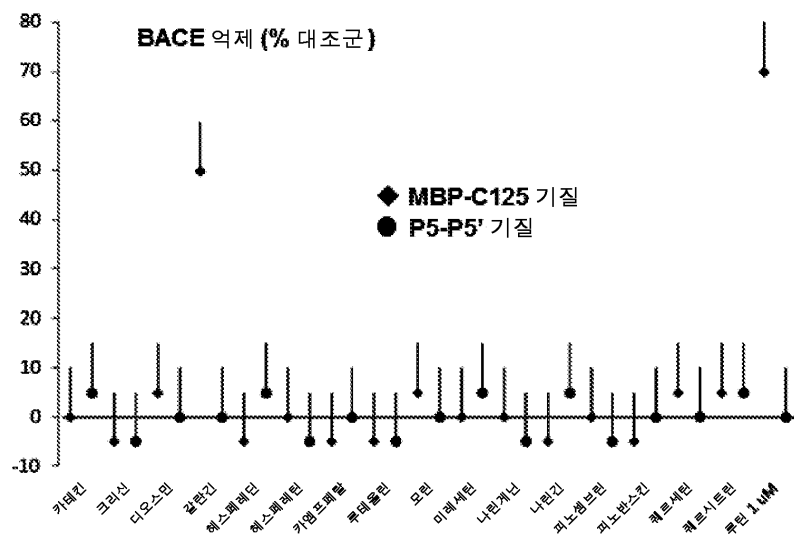
도면3a



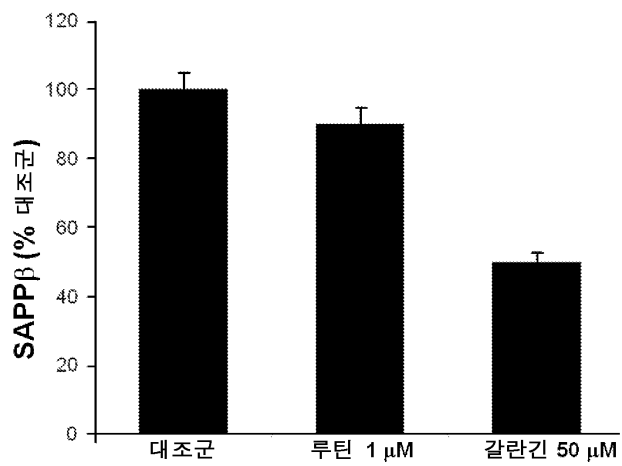
도면3b



도면4

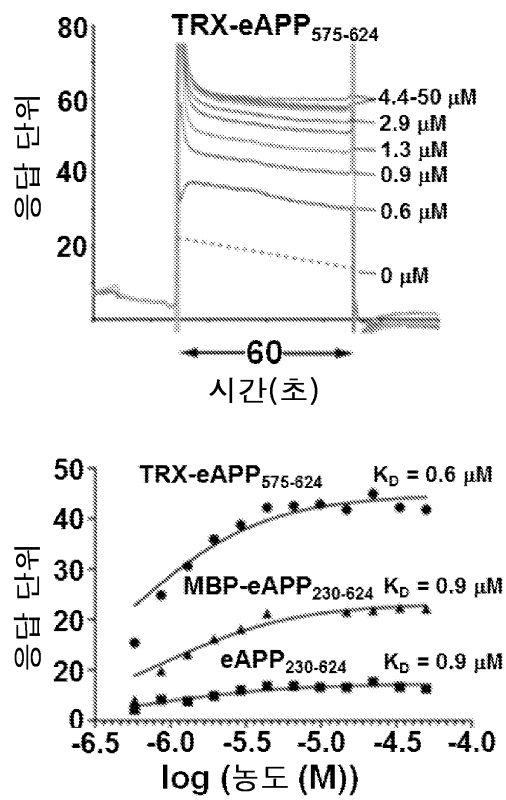


도면5a

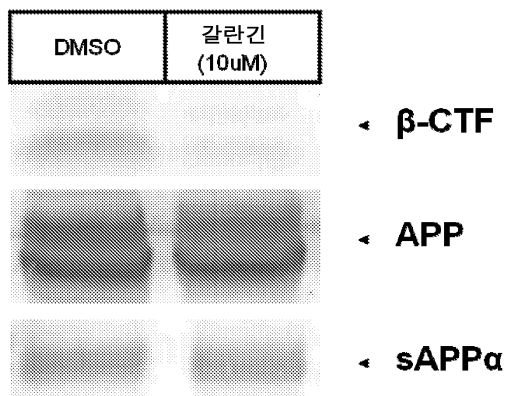


도면5b

APP의 상이한 단편에 대한  
갈란긴 결합

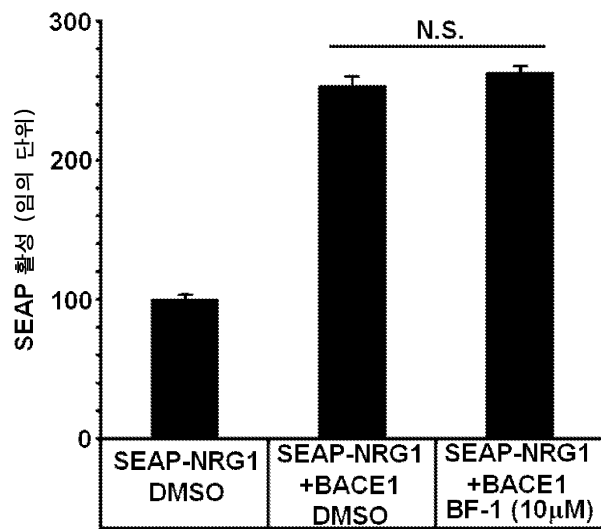


도면6a

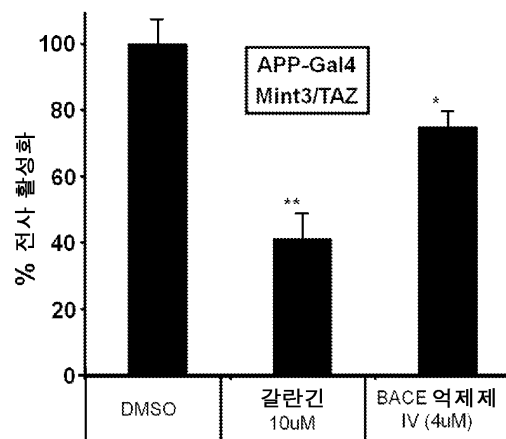




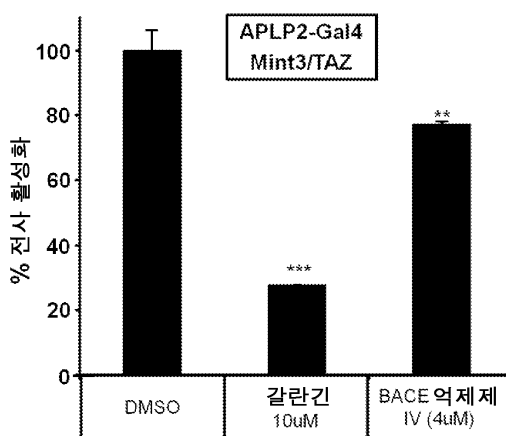
도면6b



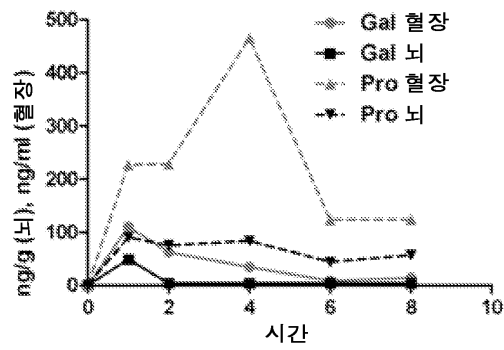
도면7a



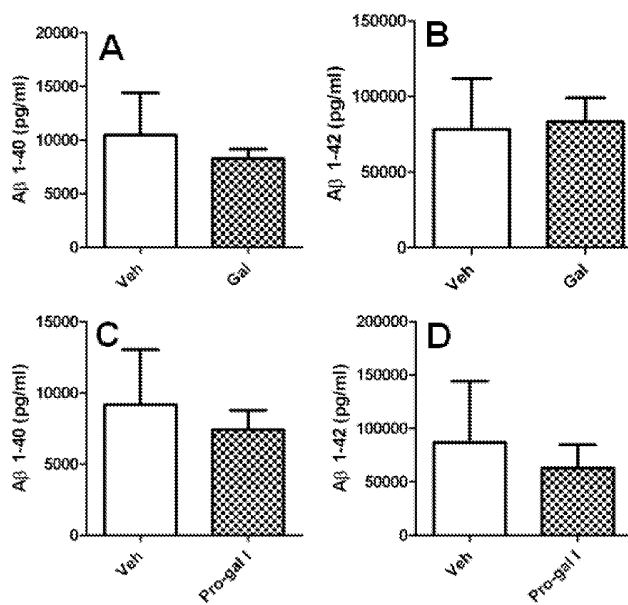
도면7b



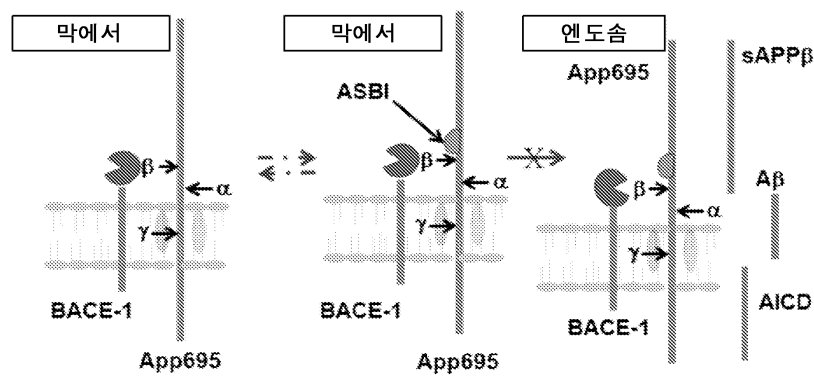
도면8



도면9



도면10



도면11

