

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392289** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.10.10

(22) Дата подачи заявки
2019.07.30

(51) Int. Cl. *A61K 31/221* (2006.01)
A61K 31/222 (2006.01)
A61K 31/223 (2006.01)
A61K 31/225 (2006.01)
A61K 31/255 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/52 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

(31) **62/713,056**

(32) **2018.08.01**

(33) **US**

(62) **202190359; 2019.07.30**

(71) Заявитель:
АЛЖЕОН, ИНК. (US)

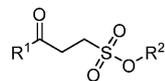
(72) Изобретатель:

**Косис Петр, Хей Джон, Толар Мартин
(US)**

(74) Представитель:

**Костюшенкова М.Ю., Гизатуллин
Ш.Ф., Гизатуллина Е.М., Угрюмов
В.М., Строкова О.В., Джермакян Р.В.
(RU)**

(57) В изобретении предложено применение соединения формулы I



или его фармацевтически приемлемой соли для лечения заболевания, характеризующегося амилоидом и амилоидоподобными агрегатами, например болезни Альцгеймера.

A1

202392289

202392289

A1

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/713 056, поданной 1 августа 2018 г., содержание которой полностью включено в данный документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой прогрессирующее дегенеративное заболевание головного мозга, прежде всего связанное со старением. Возрастающие масштабы затрат на медицинские услуги для общества при БА подчеркиваются количеством пациентов, страдающих от данного заболевания по географическим регионам: более 5,7 миллионов в США (Alzheimer's Association 2018) и 35 миллионов во всем мире (World Alzheimer Report 2016). Клиническая картина БА характеризуется потерей памяти, когнитивных функций, способности к рассуждению, суждению и ориентации. По мере прогрессирования заболевания также нарушаются двигательные, сенсорные и языковые способности, вплоть до глобального нарушения множества когнитивных функций. Такая потеря когнитивных функций происходит постепенно, но обычно приводит к тяжелым нарушениям и, в конечном итоге, к летальному исходу в период от четырех до двенадцати лет.

[0003] В настоящее время имеется два класса одобренных препаратов для лечения БА — это ингибиторы холинэстеразы и мемантин. Оба класса являются симптоматическими средствами, которые нацелены на вторичные дефициты нейромедиаторов, наблюдаемые при БА. Однако ни один из классов не демонстрирует эффективность свыше 6 месяцев лечения в клинических испытаниях, и нет никаких доказательств того, что эти классы нацелены на лечение патологии основного заболевания. Новые антиамилоидные антитела (например, адуканумаб) являются перспективными в качестве потенциальных вариантов болезнь-модифицирующей терапии при применении на ранних стадиях заболевания. См., например, Lasser *et al.* Efficacy and Safety of Gantenerumab in Prodromal AD: Results from Scarlet Road—a Global, Multicenter Trial. Alzheimer's Association International Conference (AAIC) 2015 Abstract ID: 5963. Однако некоторые варианты антиамилоидогенной иммунотерапии были связаны с дозозависимым риском аномалией визуализации, связанной с амилоидом, отеком (ARIA-E), с повышенным

риском, зарегистрированным у носителей АРОЕ4. См., например, Salloway *et al.* Two Phase 3 Trials of Bapineuzumab in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* 2014; 370:322-33; Sevigny *et al.*, The antibody aducanumab reduces Abeta plaques in Alzheimer's disease. *Nature* 2016; 537:50–6; и Caselli *et al.* Longitudinal modeling of age-related memory decline and the АРОЕ epsilon4 effect. *N Engl J Med* 2009; 361:255- 263. Это представляет собой проблему разработки, поскольку дозы, которые показывают клиренс амилоида и клиническую пользу, связаны с приблизительно 40% случаев возникновения АRIA-E при применении двух самых высоких доз адуканумаба. См. Sevigny *et al.* A dose titration regimen with aducanumab still shows approximately 35% incidence of АRIA-E in АРОЕ carriers. См., например, Viglietta *et al.*, Aducanumab titration dosing regimen: 12-month interim analysis from prime, a randomized double blind, placebo-controlled phase Ib study in patients with prodromal or mild Alzheimer's disease. *J Prev Alzheimers Dis* 2016; 3, suppl 1:378. Хотя у большинства пациентов АRIA-E может протекать бессимптомно или с симптомами легкой степени, у некоторых пациентов могут развиваться судороги или другие серьезные нежелательные явления. В связи с риском возникновения АRIA-E у пациентов с БА может потребоваться проведение мониторинга посредством МРТ, что является обременительным для пациентов пожилого возраста и может ограничивать применение этих препаратов в клинической практике.

[0004] В настоящее время растворимые низкомолекулярные олигомеры Аβ42 признаны ключевыми факторами патогенеза БА, а повышенная концентрация олигомеров Аβ42 тесно коррелирует с началом и прогрессированием клинических симптомов. См., например, Viglietta *et al.* Было показано, что растворимые олигомеры Аβ вызывают синаптическое повреждение, гибель нейронов, способствуют фосфорилированию тау-белка и вызывают патологию тау-белка. См., например, Esparza *et al.*, Amyloid beta oligomerization in Alzheimer's dementia vs. high pathology controls. *Ann Neurol* 2013; 73(1):104-119; Hashimoto *et al.* Apolipoprotein E, especially apolipoprotein E4, increases tau peptide. *J Neurosci.* 2012; 32:15181-15192; Ono *et al.*, Low-n oligomers as therapeutic targets of Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 2011;117:19–28; Townsend *et al.*, Effects of secreted oligomers of amyloid beta-protein on hippocampal synaptic plasticity: a potent role for trimers. *J. Physiol.*; 2006;572:477–92; and Lambert *et al.* Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A 1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *PNAS.* 1998; 95:6448–53. Важно отметить, что пациенты с БА и АРОЕ 4/4 имеют более высокую нагрузку растворимыми амилоидными олигомерами (Usui *et al.*, Site-specific modification of Alzheimer's peptides by cholesterol oxidation products enhances aggregation energetics and neurotoxicity. *PNAS.*; 2009;106:18563–8), что, вероятно, является причиной более раннего начала заболевания в этой популяции.

[0005] На сегодняшний день только агенты, нацеленные на олигомеры А β , такие как адуканумаб и ALZ-801/трамипросат, показали клиническую пользу у амилоид-положительных пациентов с БА. Трамипросат, 3-амино-1-пропансульфоновая кислота (3APS), представляет собой пероральный амилоидный антиагрегационный агент, который снижает нейротоксичность бета-амилоидного олигомера. Исследования фазы 3 трамипросата при БА от легкой до умеренной степени тяжести продемонстрировали превосходный профиль препарата, в том числе способность замедлять уменьшение объема гиппокампа головного мозга и улучшать когнитивные функции и функцию головного мозга в анализах подгрупп. См., например, Gauthier, S. et al. Effect of tramiprosate in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: exploratory analyses of the MRI sub-group of the Alphase study. *J Nutr Health Aging* 13, 550–557 (2009); Saumier, D., Duong, A., Haine, D., Garceau, D. & Sampalis, J. Domain-specific cognitive effects of tramiprosate in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: ADAS-cog subscale results from the Alphase Study. *J Nutr Health Aging* 13, 808–812 (2009); и Aisen, P. S. et al. Tramiprosate in mild-to-moderate Alzheimer's disease - a randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-centre study (the Alphase Study). *Arch Med Sci* 7, 102–111 (2011).

[0006] ALZ-801 находится на этапе клинической разработки в качестве перорального низкомолекулярного ингибитора образования бета-амилоидного (А β) олигомера для лечения болезни Альцгеймера (БА). ALZ-801 представляет собой валиновый конъюгат трамипросата с улучшенными фармакокинетическими свойствами и желудочно-кишечной переносимостью. См., например, Hey et al., Clinical Pharmacokinetics and Safety of ALZ-801, a Novel Prodrug of Tramiprosate in Development for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Clin Pharmacokinetics* 2018; 315-333. Трамипросат, активная фрагмент ALZ-801, ингибирует образование олигомеров А β *in vitro*. См., например, Kocis et al., Elucidating the Abeta42 Anti-Aggregation Mechanism of Action of Tramiprosate in Alzheimer's Disease: Integrating Molecular Analytical Methods. *Pharmacokinetic and Clinical Data. CNS Drugs* 2017; 31:495–509. Пероральный трамипросат ранее оценивали в ходе двух исследований фазы 3, в которые было включено 2015 пациентов с БА от легкой до умеренной степени тяжести, получавших 100 мг трамипросата 2 раза в сутки, 150 мг трамипросата 2 раза в сутки или плацебо. Данные по безопасности этих исследований фазы 3 и исследование продления терапии для оценки безопасности показывают благоприятный профиль безопасности при воздействии трамипросата в течении периода до 2,5 лет. См., например, Abushakra et al., Clinical effects of tramiprosate in APOE 4/4 homozygous patients with mild Alzheimer's disease suggest disease modification potential. *J Prev Alzheimers Dis* 2017; 4:149–56. В анализе подгрупп субъектов с

аллелем ε4 аполипопротеина E (APOE4) было обнаружено положительное и клинически значимое улучшение когнитивных функций.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Биотрансформация ALZ-801 в трамипросат показана на **ФИГ. 1**. Как объяснялось ранее, трамипросат ингибирует образование олигомеров A β и оценивается для лечения БА от легкой до умеренной степени тяжести.

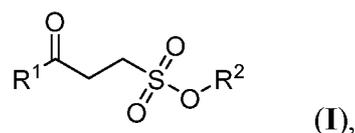
[0008] Нами был обнаружен метаболит трамипросата, 3-сульфопропановая кислота (3-SPA), присутствующий в спинномозговой жидкости (СМЖ) человека и плазме субъектов, не получавших ранее лекарственных препараты (См., например, **ФИГ. 2** и **ФИГ. 3**) и мы установили, что этот метаболит ингибирует агрегацию A β 42 в небольшие олигомеры с эффективностью, сопоставимой с эффективностью самого трамипросата. См., например, **ФИГ. 4** и **ФИГ. 5**.

[0009] Кроме того, мы определили обратную корреляцию между тяжестью когнитивных нарушений и концентрацией 3-SPA у субъектов с БА от легкой до умеренной степени тяжести, что позволяет предположить, что уровень 3-SPA снижается по мере увеличения тяжести когнитивных нарушений и, что поддержание более высоких уровней 3-SPA может играть роль в предотвращении или уменьшении снижения когнитивных функций, ассоциированного с БА, например, при измерении с помощью Краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE - англ.: Mini Mental State Examination) субъекта («MMSE»), хорошо задокументированного метода определения тяжести заболевания у субъекта с болезнью Альцгеймера. См., например, Pangman, et al., Applied Nursing Research. 13 (4): 209–213. Нами было обнаружено, что субъекты с БА с более высоким баллом по шкале MMSE (то есть с меньшими когнитивными нарушениями) имели более высокие уровни 3-SPA в СМЖ по сравнению с субъектами с более низкими баллами по шкале MMSE. См., например, **ФИГ. 6**. Данная корреляция позволила нам определить тенденцию или линию наилучшего соответствия между оценкой по шкале MMSE и концентрацией 3-SPA в СМЖ для субъектов в исследуемой популяции, которые страдали БА от легкой до умеренной степени тяжести.

[0010] На основании этих результатов мы предполагаем, что повышение уровней 3-SPA в СМЖ, например, выше уровней, обнаруженных у субъектов с БА с наименьшими когнитивными нарушениями (т. е., MMSE = 30) («исходный пороговый уровень»), и поддержание таких повышенных уровней должно защищать этих субъектов от дальнейшего снижения когнитивных функций или уменьшения скорости снижения когнитивных функций по сравнению с приемом плацебо. Повышение уровней 3-SPA в

СМЖ до уровня выше такого исходного порогового уровня может быть достигнуто путем введения ALZ-801, трамипросата, или его предшественника (все из которых в конечном итоге продуцируют 3-SPA) или путем непосредственного введения экзогенной формы 3-SPA.

[0011] Таким образом, в настоящем документе предложены соединения, которые предназначены для превращения в ходе метаболизма в 3-SPA и, следовательно, повышения уровня 3-SPA в СМЖ у субъектов, нуждающихся в защите, например, субъектов, страдающих болезнью Альцгеймера, деменцией или снижением когнитивных функций. Описанные в данном документе соединения включают соединения, имеющие формулу I:



или их фармацевтически приемлемую соль.

[0012] В данном документе также предложены способы применения описанных соединений для лечения болезни Альцгеймера (БА) у субъектов, имеющих концентрацию 3-SPA ниже определенного исходного порогового уровня, например, ниже значения концентрации 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенного для MMSE 30 в наилучшем соответствии случайной популяции субъектов с БА с различными когнитивными нарушениями.

[0013] В данном документе также предложены способы лечения отобранных субъектов с БА, у которых определяется различная степень когнитивных нарушений. Например, в одном аспекте отобранные субъекты для лечения могут иметь определенные баллы по шкале MMSE, указывающие, например, на БА с легкой или от легкой до умеренной степени тяжести. В других аспектах субъекты могут иметь определенные баллы по шкале MMSE и иметь один или более из аллеля $\epsilon 4$ гена аполиipoproteина E (APOE) (например, быть гомозиготными по APOE4), отклонения от нормы по результатам Свободного или упорядоченного теста избирательного напоминания (FCSR), указывающие на когнитивные нарушения легкой степени и определенный балл по шкале Оценки клинической деменции (CDR).

[0014] Кроме того, в данном документе предложены способы предотвращения деменции или предотвращения дальнейшего снижения когнитивных функций у субъектов, имеющих концентрацию 3-SPA ниже определенного исходного порогового уровня, например, ниже значения концентрации 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенного для MMSE 30 в наилучшем соответствии случайной популяции субъектов, страдающих снижением когнитивных функций.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0015] На ФИГ. 1 проиллюстрировано метаболическое превращение ALZ-801 в 3-сульфопропановую кислоту (3-SPA).

[0016] На ФИГ. 2 представлен график, показывающий концентрацию (нг/мл) 3-SPA, присутствующего в спинномозговой жидкости (СМЖ) человека у субъектов, не получавших ранее лекарственных препараты, которым не был поставлен диагноз БА.

[0017] На ФИГ. 3 изображено изменение времени спектрометрии подвижности ионов-масс-спектрометрии (СПИ-МС) в качестве отношения массы к заряду (m/z) после 4 часов инкубации Аβ42 с 3-SPA в соотношении 1:1000 с профилем олигомеров Аβ42. Обнаружение димеров, тримеров и пентамеров Аβ42 в этих условиях показывает, что 4 часов инкубации *in vitro* было недостаточно для полного ингибирования образования олигомеров.

[0018] На ФИГ. 4 изображено изменение времени спектрометрии подвижности ионов-масс-спектрометрии (СПИ-МС) в качестве отношения массы к заряду (m/z) после 24 часов инкубации, что показывает профиль олигомеров Аβ42 с 1000-кратным избытком 3-SPA. Были обнаружены только пентамеры.

[0019] На ФИГ. 5 изображено представление молекулярно-динамического эксперимента, показывающего полуциклическую конформацию Аβ42 в присутствии избытка 3-SPA в соотношении 1000:1. Функциональный результат 3-SPA аналогичен функциональному конечному результату, то есть ингибированию образования олигомера Аβ42, обнаруженному с применением трамипросата (Kocis et al., Pharmacokinetic and Clinical Data. CNS Drugs 2017; 31:495–509).

[0020] На ФИГ. 6 проиллюстрирована обратная корреляция между уровнями 3-SPA в СМЖ человека из популяции субъектов, имеющих БА, с различными баллами по шкале MMSE (тяжесть БА).

[0021] На ФИГ. 7 представлены спектры ЖХ-МС/МС аутентичного эталонного стандарта 3-SPA (дериватизированного с помощью EDC и TFEA).

[0022] На ФИГ. 8 Панель А представлены хроматограммы ЖХ-МС/МС для стандарта 3-SPA.

[0023] На ФИГ. 8 Панель В представлены хроматограммы ЖХ-МС/МС для СМЖ человека от одного субъекта с БА с MMSE 20.

[0024] На ФИГ. 9 показаны средние фармакокинетические кривые для однократной пероральной и внутривенной доз 3-SPA у самцов крыс линии SD (30 мг/кг и 10 мг/кг, соответственно; n=3). Показанные данные представляют собой среднее значение ± СО.

[0025] На ФИГ. 10 показано среднее время изменения концентрации 3-SPA в головном мозге, СМЖ и плазме после однократной пероральной дозы 30 мг/кг у самцов крыс линии SD (n=3). Показанные данные представляют собой среднее значение \pm СО.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Определения

[0026] В контексте данного документа дефис («-») в начале или конце приведенной группы обозначает точку, в которой приведенная группа присоединяется к определенной группе. Например, -O-(C₁-C₄ алкил) означает, что группа присоединена через атом кислорода.

[0027] Термин «алкилен» относится к двухвалентной алкильной группе с линейной или разветвленной цепью.

[0028] Термин «C₀ алкилен» в контексте данного документа означает связь. Таким образом, фрагмент, определенный в данном документе как «-(C₀-C₂₀ алкилен)-арил», включает как -арил (т.е. C₀ алкилен-арил), так и -(C₁-C₂₀ алкилен)-арил.

[0029] Термин «алкенилен» относится к двухвалентной алкенильной группе с линейной или разветвленной цепью.

[0030] Термин «алкинилен» относится к двухвалентной алкинильной группе с линейной или разветвленной цепью.

[0031] Термин «алкил», при использовании отдельно или в качестве части более крупного фрагмента, такого как, *например*, «галогеналкил», означает насыщенную одновалентную линейную или разветвленную углеводородную группу, имеющую, если не указано иное, 1-10 атомов углерода, и включает, например, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, н-гексил, н-гептил, н-октил, н-нонил, н-децил и тому подобное.

[0032] Термин «алкенил», используемый отдельно или в качестве части более крупного фрагмента, такого как, *например*, «галогеналкенил», означает одновалентную группу, полученную из алифатического фрагмента с линейной или разветвленной цепью, имеющего по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь, имеющую, если не указано иное, 1-10 атомов углерода. Типичные алкенильные группы включают, но не ограничиваются ими, этенил («винил»), пропенил («аллил»), бутенил, 1-метил-2-бутен-1-ил и тому подобное.

[0033] Термин «алкинил», используемый отдельно или в качестве части более крупного фрагмента, такого как, *например*, «галогеналкинил», означает одновалентную группу, полученную из алифатического фрагмента с линейной или разветвленной цепью,

имеющего по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь, имеющую, если не указано иное, 1-10 атомов углерода. Типичные алкинильные группы включают, но не ограничиваются ими, этинил, 2-пропинил («пропаргил»), 1-пропинил и тому подобное.

[0034] «Алкокси» представляет собой алкильную группу, которая присоединена к другому фрагменту через кислородный линкер (–O(алкил)). Неограничивающие примеры включают в себя метокси, этокси, пропокси и бутокси.

[0035] Используемый в данном документе термин «галоген» относится к атому к атому, выбранному из фтора (фтор, –F), хлора (хлор, –Cl), брома (бром, –Br) и йода (йод, –I).

[0036] Термин «карбоцикл» (также обозначаемый в данном документе как «карбоцикл», «циклоалифатический» или «циклоалкил») в контексте данного документа означает моноциклический углеводород или бициклический углеводород, где каждое кольцо является полностью насыщенным или частично насыщенным, но не ароматическим.

[0037] Термин «арил», используемый отдельно или в качестве части более крупного фрагмента, такого как «аралкил», «аралкокси» или «арилоксиалкил», относится к моноциклической и бициклической углеродной кольцевой системе, имеющей в общей сложности от пяти до 10 членов в кольце, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим. Термин «арил» может использоваться взаимозаменяемо с термином «арильное кольцо». В некоторых вариантах осуществления «арил» относится к ароматической кольцевой системе, которая включает, но не ограничивается ими, фенил, бифенил, нафтил, антрацил и тому подобное. В одном варианте осуществления «арил» представляет собой фенил. Следует понимать, что необязательные заместители, если они указаны, в арильной группе могут присутствовать в любом замещаемом положении.

[0038] Термин «гетероарил», используемый отдельно или в качестве части более крупного фрагмента, как в «гетероарилалкиле», «гетероарилалкокси» или «гетероарилалкокси», относится к 5-12-членной полностью ароматической кольцевой системе, содержащей 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S. Термин «гетероарил» может использоваться взаимозаменяемо с терминами «гетероарильное кольцо», «гетероарильная группа» или «гетероароматический». Гетероарильная группа может быть моно- или бициклической. Моноциклический гетероарил включает, например, тиенил, фуранил, пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, пиридил, пиридазинил, пиримидинил и пиазинил. Бициклические гетероарилы включают группы, в которых моноциклическое гетероарильное кольцо конденсировано с одним или более арильными или гетероарильными кольцами. Неограничивающие примеры включают индолил, бензооксазолил, бензооксодиазолил, индазолил, бензимидазолил, бензтиазолил, хинолил,

хиназолинил, хиноксалинил, пирролопиридинил, пирролопиримидинил, пирролопиридинил, тиенопиридинил, тиенопиримидинил, индолизинил, пуринил, нафтиридинил и птеридинил. Следует понимать, что необязательные заместители, если они указаны, в гетероарильной группе могут присутствовать в любом замещаемом положении и включают, например, *положение*, в котором присоединен гетероарил.

[0039] Термин «гетероциклил» означает 4-12-членную кольцевую систему, которая является насыщенной или частично ненасыщенной (но не ароматической), содержащая от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S. Термины «гетероцикл», «гетероциклил», «гетероциклильное кольцо», «гетероциклическая группа» и «гетероциклический фрагмент» используются в данном документе взаимозаменяемо. Гетероциклильное кольцо может быть присоединено к своей боковой группе на любом гетероатоме или атоме углерода, что приводит к стабильной структуре. Гетероциклильная группа может быть моно- или бициклической. Примеры моноциклических насыщенных или частично ненасыщенных гетероциклических групп включают, без ограничения, тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, тетрагидропиранил, пирролидинил, пирролидонил, пиперидинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, морфолинил, дигидрофуранил, дигидропиранил, дигидропиридинил, тетрагидропиридинил, дигидропиримидинил и тетрагидропиримидинил. Бициклические гетероциклильные группы включают, *например*, гетероциклическое кольцо, конденсированное с другим ненасыщенным гетероциклическим, циклоалкильным, ароматическим или гетероарильным кольцом, таким как, например, бензодиоксолил, дигидробензодиоксинил, 6,7-дигидро-5H-пирроло[2,1-с][1,2,4]триазол, 5,6,7,8-тетрагидроимидазо[1,2-а]пиридинил, 1,2-дигидрохинолинил, дигидробензофуранил, тетрагидронафтиридин, индолинон, дигидропирролотриазол, хинолинон, диоксаспиродекан. Следует понимать, что необязательные заместители, если они указаны, в гетероциклильной группе могут присутствовать в любом замещаемом положении и включают, *например*, *положение*, в котором присоединен гетероциклил.

[0040] Термин «циклический фрагмент» относится к насыщенной, ненасыщенной или частично насыщенной моноциклической или полициклической кольцевой системе. Такие кольцевые системы включают, например, карбоциклил, арил, гетероарил или гетероциклил, как определено выше.

[0041] Когда стереохимия раскрытого соединения названа или изображена структурой, названный или изображенный стереоизомер является чистым по меньшей мере на 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по массе относительно всех других стереоизомеров. Процент чистоты по массе относительно всех других стереоизомеров представляет собой

отношение массы одного стереоизомера к массе других стереоизомеров. Когда один энантиомер назван или изображен по структуре, изображенный или названный энантиомер является оптически чистым по меньшей мере на 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по массе. Процент оптической чистоты по массе представляет собой отношение массы энантиомера к массе энантиомера плюс масса его оптического изомера.

[0042] Когда стереохимия раскрытого соединения названа или изображена структурой, и названная или изображенная структура включает более одного стереоизомера (*например*, как в диастереомерной паре), следует понимать, что включен один из охватываемых стереоизомеров или любая смесь охваченных стереоизомеров. Кроме того, следует понимать, что стереоизомерная чистота названного или изображенного стереоизомера составляет по меньшей мере 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 99,9% по массе чистоты относительно всех других стереоизомеров. Стереоизомерная чистота в этом случае определяется посредством деления общей массы смеси стереоизомеров, обозначенных названием или структурой, на общую массу смеси всех стереоизомеров.

[0043] Когда раскрытое соединение названо или изображено структурой без указания стереохимии, и соединение имеет один хиральный центр, следует понимать, что название или структура включает один энантиомер соединения, не содержащий соответствующего оптического изомера, рацемическую смесь соединения или смеси, обогащенные одним энантиомером относительно его соответствующего оптического изомера.

[0044] Когда раскрытое соединение названо или изображено по структуре без указания стереохимии и, *например*, соединение имеет более одного хирального центра (*например*, по меньшей мере два хиральных центра), следует понимать, что название или структура охватывает один стереоизомер, не содержащий другие стереоизомеры, смеси стереоизомеров или смеси стереоизомеров, в которых один или более стереоизомеров обогащены относительно других стереоизомеров. *Например*, название или структура могут охватывать один стереоизомер, не содержащий другие диастереомеры, смеси стереоизомеров или смеси стереоизомеров, в которых один или более диастереомеров обогащены относительно других диастереомеров.

[0045] Термин «фармацевтически приемлемая соль» представляет собой соль основной группы (*например*, аминогруппы) или кислотной группы (*например*, сульфоновой кислоты) описанных в данном документе соединений. Иллюстративные соли основной группы включают, но не ограничиваются ими, сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, fumarат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат,

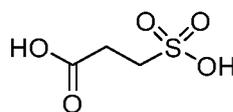
метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат, камфорсульфонат и памоатные (*m.e.* 1,1'-метилден-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)) соли. Иллюстративные соли кислотной группы включают, но не ограничиваются ими, соли лития, натрия, калия, кальция, магния, алюминия, хрома, железа, меди, цинка, кадмия, аммония, гуанидиния, пиридиния и органического аммония.

[0046] «Фармацевтически приемлемый» относится к лекарственным препаратам, медикаментам, инертным ингредиентам и т. д., которые описывает этот термин, подходящим для применения при контакте с тканями человека и низших животных без чрезмерной токсичности, несовместимости, нестабильности, раздражения, аллергической реакции и тому подобного, соразмерно разумному соотношению польза/риск. В одном аспекте фармацевтически приемлемый относится к соединению или композиции, которые одобрены или подлежат одобрению регуляторным органом федерального правительства или правительства штата, или перечислены в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения у животных и, в частности, у людей.

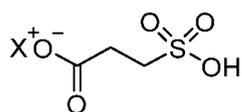
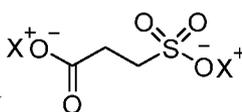
[0047] Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному носителю, адьюванту или несущей среде, которые не нарушают фармакологическую активность соединения, с которым он составлен. Фармацевтически приемлемые носители, которые можно использовать в описанных в данном документе композициях, включают, но не ограничиваются ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, частичные глицеридные смеси насыщенных растительных жирных кислот, вода, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, динатрийгидрофосфат, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный кремнезем, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропиленовые блок-полимеры, полиэтиленгликоль и ланолин.

[0048] Термины «субъект» и «пациент» используются как взаимозаменяемо. В одном аспекте субъект является человеком. В некоторых аспектах субъект является человеком в возрасте 85 лет или менее. В других аспектах субъект является человек в возрасте 65-85 лет. В еще других аспектах субъект является человеком в возрасте 58 лет или более.

[0049] 3-сульфопропановая кислота и 3-SPA используются взаимозаменяемо и



относятся к соединению, имеющему структуру , а также к моно- (

X^+O^-

) или дионным (
 
) солевым формам, где X^+ представляет собой противоион, такой как натрий.

[0050] В контексте денного документа термин «лечить», «процесс лечения» или «лечение» означает обращение, облегчение или ингибирование развития нейродегенеративного заболевания, такого как БА, или одного или более симптомов, связанных с ним.

[0051] Факторы для определения того, страдает ли субъект БА, включают, например, один или более баллов по шкале MMSE, наличие амилоида в головном мозге (например, по данным визуализации посредством ПЭТ), оценку субъекта по шкале CDR, результаты теста на память FCSR, соответствующие нарушению когнитивных функций легкой степени или идентификацию биомаркеров амилоида головного мозга в спинномозговой жидкости (СМЖ), таких как Abeta-40, Abeta-42, тау-белок или олигомеры Abeta, или их комбинации. Например, субъект страдает БА, если 1) субъект является гомозиготным по APOE4 и имеет когнитивные симптомы; 2) субъект является гомозиготным по APOE4 и имеет субъективные нарушения памяти, MCI или MMSE, равные 30, и субъект имеет отклоняющийся от нормы результат FCSR; 3) субъект является гомозиготным по APOE4 и имеет ранние симптомы БА, такие как MCI или MMSE, равные 26-30, и общий показатель CDR, равный 0,5; 4) субъект является гетерозиготным по APOE4 и имеет MMSE менее 20; 5) субъект является гетерозиготным по APOE4 и имеет MMSE 20 или выше, и субъект имеет амилоид головного мозга, который определяется одним или более методами, описанными в данном документе (например, визуализация посредством ПЭТ или биомаркеры СМЖ, выбранные из Abeta-40, Abeta 42, и тау-белка или олигомеров Abeta); или 6) субъект является отрицательным по APOE4, и субъект имеет оценку по шкале MMSE, равную 20 баллов или выше или оценку по шкале MMSE менее 20 баллов, и у субъекта имеется амилоид головного мозга, который определяется одним или более методами, описанными в данном документе (например, визуализация посредством ПЭТ или биомаркеры СМЖ, выбранные из Abeta-40, Abeta 42, и тау-белка или олигомеров Abeta). Для классификации аномального FCSR см., например, E. Grober, R.B Lipton, C. Hall et al; Neurology 2000; 54: 827–832.

[0052] «Эффективное количество» или «эффективная доза» представляет собой количество соединения, которое достаточно для лечения нейродегенеративного заболевания, такого как БА. Эффективные количества могут варьироваться, как известно специалисту в данной области техники, в зависимости, например, от тяжести

нейродегенеративного заболевания, пути введения, пола, возраста и общего состояния здоровья пациента, использования вспомогательного вещества, возможности совместное использование с другими терапевтическими методами лечения, такими как использование других средств и мнение лечащего врача или другого поставщика медицинских услуг. Примеры эффективных количеств соединений, используемых в описанных в данном документе способах, представлены ниже. В некоторых аспектах эффективное количество представляет собой количество, которое увеличивает концентрацию 3-SPA в СМЖ выше предварительно определенного исходного порогового уровня. В более конкретных аспектах эффективное количество представляет собой количество, которое увеличивает концентрацию 3-SPA в СМЖ в 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5 или более раз по сравнению с предварительно определенным исходным пороговым уровнем.

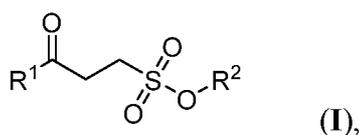
[0053] Также следует понимать, что конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента будут зависеть от множества факторов, включая возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, рацион, время приема, скорость выведения, комбинацию лекарственных препаратов, мнение лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, которое лечат. Количество предоставленного соединения в композиции также будет зависеть от конкретного соединения в композиции. Примеры схем представлены ниже.

[0054] Термины «предварительно определенный исходный пороговый уровень», «предварительно определенный исходный уровень» или «определенный исходный уровень» в настоящих способах (например, как в вариантах осуществления с первого по десятый, двенадцатом и пятнадцатом) используются взаимозаменяемо и относятся к одному или более из следующего: (1) значение концентрации 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенное для оценки 30 баллов по шкале MMSE в наилучшем соответствии между концентрацией 3-SPA и оценкой по шкале MMSE в случайной популяции субъектов с болезнью Альцгеймера различной степени тяжести («случайная популяция БА»); (2) самая высокая концентрация 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенная в случайной популяции БА при оценке по шкале MMSE ≤ 29 ; (3) собственная концентрация 3-SPA в СМЖ субъекта ($\pm 5\%$), определенная до появления каких-либо симптомов БА; (4) средняя концентрация 3-SPA в СМЖ ($\pm 5\%$), определенная в сопоставимой по возрасту нормальной популяции (без БА); (5) для вариантов осуществления, в которых субъектов дополнительно выбирают в зависимости от нахождения в рамках диапазона баллов по шкале MMSE, выше: (а) значения концентрации 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенное для оценки 30 баллов по шкале MMSE в наилучшем соответствии между концентрацией 3-SPA и оценкой по шкале MMSE в случайной популяции БА; или (б) наивысшей концентрации 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенной в случайной популяции БА для оценок по шкале MMSE, равных или

превышающих самый низкий балл по шкале MMSE в диапазоне отбора (например, если для отбора требуется оценка по шкале MMSE в диапазоне 22-28 баллов, тогда (b) является наивысшей концентрацией 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенной в случайной популяции БА для оценки по шкале MMSE, равной 22 баллам или выше); (б) значение концентрации 3-SPA в СМЖ ($\pm 10\%$), определенное для оценки по шкале MMSE в наилучшем соответствии между концентрацией 3-SPA и оценками по шкале MMSE в случайной популяции субъектов. Если не указано иное, значение предварительно определенного исходного порогового значения, полученного с использованием любого из вышеперечисленных параметров, может быть уменьшено или увеличено до 10%, чтобы в меньшей или большей степени включать субъектов, подлежащих лечению, и для уменьшения количества ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Случайная популяция субъектов с болезнью Альцгеймера представляет собой случайно отобранную выборку пациентов с БА по степени тяжести их болезни Альцгеймера (например, по степени снижения когнитивных функций или по их оценке по шкале MMSE), возрасту, массе тела, общему состоянию здоровья, полу, рациону, и т.п. и может включать, например, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 500, по меньшей мере 1000 субъектов. Однако в одном аспекте средний возраст субъектов составляет 85 лет или менее. В других аспектах средний возраст субъектов составляет 65-85 лет. В еще других аспектах средний возраст популяции субъектов составляет 58 лет и более. В некоторых аспектах, когда критерии отбора дополнительно включают в себя статус ApoE4, случайная популяция субъектов с болезнью Альцгеймера различной степени тяжести, из которой можно вывести линию наилучшего соответствия или определить самый высокий уровень концентрации 3-SPA в СМЖ, ограничивается этими субъектами с БА, имеющими тот же статус ApoE4, что и критерии отбора статуса ApoE4.

2. Применения / способы

[0055] В первом варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения заболевания, характеризующегося амилоидными агрегатами (например, болезнь Альцгеймера), у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения субъекту эффективного количества соединения формулы I:



или его фармацевтически приемлемой соли, где:

R^1 выбран из $-\text{O}-\text{R}^3$, $-\text{O}-\text{R}^4$, $-\text{CH}(\text{NHR}^6)-\text{C}(\text{O})-\text{R}^5$ и $-\text{[N}(\text{R}^6)-\text{CH}(\text{R}^7)-\text{C}(\text{O})]_{1-2}-\text{R}^5$;

R^2 выбран из водорода, R^3 и R^4 -CH(NHR⁶)-C(O)-O-R⁵;

каждый R^3 независимо выбран из C₁-C₂₀ алкила, -C₂-C₂₀ алкенила, -C₂-C₂₀ алкинила, -(C₀-C₂₀ алкилен)-арила, -(C₀-C₂₀ алкилен)-карбоциклила, -(C₀-C₂₀ алкилен)-гетероциклила, -(C₀-C₂₀ алкилен)-гетероарила, -(C₂-C₂₀ алкенилен)-арила, -(C₂-C₂₀ алкенилен)-карбоциклила, -(C₂-C₂₀ алкенилен)-гетероциклила, -(C₂-C₂₀ алкенилен)-гетероарила, -(C₂-C₂₀ алкинилен)-арила, -(C₂-C₂₀ алкинилен)-карбоциклила, -(C₂-C₂₀ алкинилен)-гетероциклила и -(C₂-C₂₀ алкинилен)-гетероарила;

каждый R^4 представляет собой независимо выбранную дериватизированную боковую цепь природной или неприродной α-аминокислоты, где боковая цепь была дериватизирована через свободную группу -ОН, присутствующую на боковой цепи до дериватизации;

каждый R^5 независимо выбран из -ОН, -O-C₁-C₄ алкила и -NH₂;

каждый R^6 независимо выбран из водорода и -C(O)R⁸;

R^7 представляет собой боковую цепь α-аминокислоты; и

каждый R^8 независимо выбран из водорода, C₁-C₄ алкила, -O-C₁-C₄ алкила, -(C₁-C₄ алкилен)-арила и (C₁-C₄ алкокси)-арила;

где:

каждая алкильная, алкиленовая, алкенильная, алкениленовая, алкинильная или алкиниленовая часть R^3 необязательно замещена до 6 заместителями, независимо выбранными из галогена, -ОН, -O-(C₁-C₄ алкила), -O-(C₁-C₄ галогеналкила), карбоциклила, арила, гетероциклила и гетероарила;

каждая карбоциклильная, арильная, гетероциклильная или гетероарильная часть R^3 необязательно замещена до четырех заместителями, независимо выбранными из галогена, -ОН, -O-(C₁-C₄ алкила), -O-(C₁-C₄ галогеналкила), C₁-C₁₈ алкила, C₂-C₁₈ алкенила и C₂-C₁₈ алкинила, где алкильная, алкенильная или алкинильная части C₁-C₁₈ алкила, C₂-C₁₈ алкенила или C₂-C₁₈ алкинила, соответственно, необязательно замещены до шести заместителями, независимо выбранными из галогена, -ОН, -O-(C₁-C₄ алкила) и -O-(C₁-C₄ галогеналкила);

R^1 содержит не более 2 циклических фрагментов; и

R^2 содержит не более 2 циклических фрагментов.

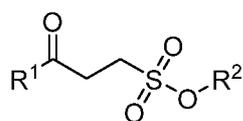
[0056] Заболевания, характеризующиеся амилоидными агрегатами, включают, но не ограничиваются ими, болезнь Альцгеймера, включая ее семейные (наследственные) формы, деменцию при синдроме Дауна, болезнь Паркинсона, острую макулярную дегенерацию (ОМД), глаукому, миозит с тельцами включения (ИВМ), черепно-мозговые травмы, деменцию с тельцами Леви, болезнь Хантингтона, болезнь Ниманна — Пика типа

С, церебральную амилоидную ангиопатию (ЦАА), болезнь Крейтцфельда — Якоба, амилоидоз АА, амилоидоз АL, амилоидоз АТТR, семейную амилоидную полинейропатию (САП), семейную амилоидную кардиомиопатию (САК), старческий системный амилоидоз и прионную болезнь. В одном аспекте заболевание, характеризующееся амилоидными агрегатами, представляет собой болезнь Альцгеймера.

[0057] Во втором варианте осуществления предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий следующие этапы:

а) отбор субъекта, если концентрация 3-SPA, присутствующая у субъекта, является меньше предварительно определенного исходного порогового уровня; и

б) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу I:

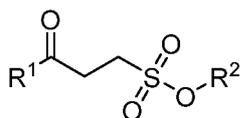


(I) или его фармацевтически приемлемой соли, где переменные для формулы I соответствуют описанию выше в первом варианте осуществления.

[0058] В третьем варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий следующие этапы:

а) определение того, присутствует ли 3-SPA у субъекта в концентрации, меньшей, чем предварительно определенный исходный пороговый уровень; и

б) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу I:



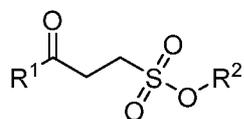
(I) или его фармацевтически приемлемой соли, где переменные для формулы I соответствуют описанию выше в первом варианте осуществления.

[0059] Субъекты в настоящих способах могут быть стратифицированы (то есть дополнительно отобраны) по их оценкам по шкале MMSE до лечения. В четвертом варианте осуществления, например, субъект, проходящий лечение в вариантах осуществления, описанных в данном документе (например, как в первом, втором или третьем вариантах осуществления), имеет оценку по шкале MMSE более 19 (например, более 20, более 21, более 22, более 23, более 24, более 25 или более 26) до лечения. В другом аспекте субъект, проходящий лечение в вариантах осуществления, описанных в данном документе (например, как в первом, втором или третьем вариантах осуществления), имеет оценку по шкале MMSE от 16 до 30 (например, оценку по шкале MMSE от 22 до 30, оценку по шкале

MMSE 22–28, оценку по шкале MMSE от 16 до 19, оценку по шкале MMSE от 18 до 26, оценку по шкале MMSE от 20 до 26 или оценку по шкале MMSE от 22 до 26) до лечения.

[0060] В дополнение к шкале MMSE субъект также может иметь определенные генетические факторы, такие как наличие аллелей APOE4 (например, являться гомо- или гетерозиготным по APOE4), или другие маркеры амилоида, такие как наличие амилоида головного мозга, или и то, и другое. Описанные в данном документе субъекты также могут иметь по меньшей мере один аллель ε4 APOE. Например, в пятом варианте осуществления субъект, которого лечат в вариантах осуществления, описанных в данном документе (например, как в первом, втором, третьем или четвертом вариантах осуществления), является гетерозиготным по APOE4 до лечения. Альтернативно, в шестом варианте осуществления субъект, которого лечат в вариантах осуществления, описанных в данном документе (например, как в первом, втором, третьем или четвертом вариантах осуществления), является гомозиготным по APOE4 до лечения. Термины «гетерозиготный для APOE4» и «гетерозиготный по APOE4» используются взаимозаменяемо и относятся к субъектам, имеющим один аллель APOE4. Термины «гомозиготный для APOE4», «гомозиготный по APOE4», «гомозиготный для APOE4/4» и «гомозиготный по APOE4/4» используются взаимозаменяемо и относятся к субъектам, имеющим два аллеля APOE4. В более конкретном аспекте шестого варианта осуществления субъекта отбирают для лечения, если он или она является гомозиготным по APOE4 и имеет оценку по шкале MMSE 22-28.

[0061] В седьмом варианте осуществления в данном документе предложен способ предотвращения болезни Альцгеймера или снижения когнитивных функций у субъекта (например, у субъекта, страдающего БА или деменцией вследствие травмы головы), включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту соединения, имеющего формулу I:

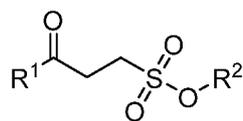


(I) или его фармацевтически приемлемой соли, где переменные для формулы I соответствуют описанию выше в первом варианте осуществления.

[0062] В восьмом варианте осуществления субъект по седьмому варианту осуществления нуждается в предотвращении заболевания, если присутствует одно или более из следующего: а) уровень 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня; б) у субъекта имеется по меньшей мере один аллель ApoE4; или с) у субъекта имеется болезнь Альцгеймера в семейном анамнезе. В качестве альтернативы, субъект по седьмому варианту осуществления нуждается в предотвращении

заболевания, если присутствует одно или более из следующего: а) уровень 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня; б) у субъекта имеется по меньшей мере два аллеля ApoE4; или с) у субъекта имеется болезнь Альцгеймера в семейном анамнезе.

[0063] В девятом варианте осуществления, в данном документе предложен способ предотвращения деменции у субъекта (например, у субъекта, страдающего БА или деменцией вследствие травмы головы), включающий этап введения нуждающемуся в этом



субъекту соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, где переменные для формулы I соответствуют описанию выше в первом варианте осуществления.

[0064] В десятом варианте осуществления деменция по девятому варианту осуществления связана с черепно-мозговой травмой (например, травмой головы). Черепно-мозговая травма возникает, когда внешняя сила ударяет по голове настолько сильно, что мозг начинает сильно двигаться внутри черепа. Эта сила может вызвать встряску, скручивание, синяк (ушиб) или резкое изменение движения мозга (сотрясение мозга). Следует понимать, что даже относительно легкие черепно-мозговые травмы могут привести к длительному или стойкому снижению когнитивных функций.

[0065] В одиннадцатом варианте осуществления деменция по девятому варианту осуществления связана с черепно-мозговой травмой головы, и субъект по тринадцатому варианту осуществления нуждается в предотвращении заболевания, если уровень 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня.

[0066] В одном аспекте концентрация 3-SPA, присутствующая у субъекта по описанным способам (например, как в вариантах осуществления со второго по пятый, восьмом и одиннадцатом), определяется по образцу спинномозговой жидкости. Таким образом, в одном аспекте предварительно определенный исходный пороговый уровень 3-SPA у субъекта представляет собой исходную концентрацию 3-SPA в спинномозговой жидкости (СМЖ) субъекта, полученную до проявления симптомов БА и/или на момент времени определения оценки по шкале MMSE у субъекта, равной 30 баллам.

[0067] В одном аспекте предварительно определенный исходный пороговый уровень 3-SPA в настоящих способах (например, как в вариантах осуществления с первого по десятый, двенадцатом и пятнадцатом) определяется как концентрация 3-SPA у субъекта менее 25 нг / мл (например, менее 20 нг/мл, менее 15 нг/мл, менее 12 нг/мл, менее 10 нг/мл, менее 8 нг/мл, менее 6 нг/мл, менее 5 нг/мл, менее 4 нг/мл, менее 3 нг/мл, менее 2,9 нг/мл,

менее 2,8 нг/мл, менее 2,7 нг/мл, менее 2,6 нг/мл, менее 2,5 нг/мл, менее 2,4 нг/мл, менее 2,3 нг/мл, менее 2,2 нг/мл, менее 2,1 нг/мл, менее 2,0 нг/мл). В других аспектах предварительно определенный исходный пороговый уровень 3-SPA определяется как концентрация 3-SPA у субъекта от 2,0 до 25 нг/мл (например, от 7 до 25 нг/мл, от 8 нг/мл до 25 нг/мл, от 9 до 25 нг/мл, от 6 нг/мл до 24 нг/мл или от 6 до 23 нг/мл).

[0068] В одном аспекте предварительно определенный исходный пороговый уровень 3-SPA в настоящих способах (например, как в вариантах осуществления с первого по десятый, двенадцатом и пятнадцатом) определяется как субъект, имеющий оценку по шкале MMSE, равную 22-28 баллам или оценку по шкале MMSE, равную 22-26 баллам; и концентрацию 3-SPA (например, в спинномозговой жидкости) менее 5 нг/мл, менее 4 нг/мл, менее 3 нг/мл, менее 2,9 нг/мл, менее 2,8 нг/мл, менее 2,7 нг/мл, менее 2,6 нг/мл, менее 2,5 нг/мл, менее 2,4 нг/мл, менее 2,3 нг/мл, менее 2,2 нг/мл, менее 2,1 нг/мл или менее 2,0 нг/мл. В других аспектах предварительно определенный исходный пороговый уровень 3-SPA в настоящих способах (например, как в вариантах осуществления с первого по десятый, двенадцатом и пятнадцатом) определяется как субъект, имеющий оценку по шкале MMSE, равную 22-28 баллам или оценку по шкале MMSE, равную 22-26 баллам и концентрацию 3-SPA (например, в спинномозговой жидкости) 2-4 нг/мл.

[0069] В двенадцатом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ лечения субъекта, страдающего БА, включающий введение субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли, при этом субъект имеет оценку по шкале MMSE, равную 30 баллам, является гомозиготным по APOE4 и имеет отклоняющиеся от нормы результаты теста на память FCSR, указывающие на MCI. Для классификации аномального FCSR см., например, E. Grober, R.B Lipton, C. Hall et al; *Neurology* 2000; 54: 827–832.

[0070] В тринадцатом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий: а) отбор субъекта, имеющего оценку по шкале MMSE 22-28 баллов; и б) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

[0071] В четырнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий: а) отбор субъекта, который является гомозиготным по APOE4 или гетерозиготным по APOE4; и б) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

[0072] В пятнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий: а) отбор субъекта, имеющего оценку по шкале MMSE 22-28 баллов и являющегося гомозиготным по APOE4 или гетерозиготным по APOE4; и б) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

[0073] В некоторых аспектах вариантов осуществления с тринадцатого по пятнадцатый субъекта отбирают, если субъект имеет оценку по шкале MMSE 22-26 баллов. В некоторых аспектах осуществления с тринадцатого по пятнадцатый субъекта отбирают, если субъект является гомозиготным по APOE4. В некоторых аспектах осуществления с тринадцатого по пятнадцатый субъекта отбирают, если субъект является гомозиготным по APOE4 и имеет оценку по шкале MMSE 22-28 баллов. В некоторых аспектах осуществления с тринадцатого по пятнадцатый субъекта отбирают, если субъект является гомозиготным по APOE4 и имеет оценку по шкале MMSE 22-26 баллов.

[0074] В шестнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий: а) отбор субъекта, имеющего оценку по шкале MMSE больше 19 баллов (например, больше 20, больше 21, больше 22, больше 23, больше 24, больше 25 или больше 26) до лечения; и введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли. В другом аспекте в настоящем документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий: а) отбор субъекта, имеющего оценку по шкале MMSE от 16 до 30 баллов (например, оценку по шкале MMSE от 22 до 30 баллов, оценку по шкале MMSE 22 до 28 баллов, оценку по шкале MMSE от 16 до 19 баллов, оценку по шкале MMSE от 18 до 26 баллов, оценку по шкале MMSE от 20 до 26 баллов или оценку по шкале MMSE от 22 до 26 баллов) до лечения; и введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

[0075] В семнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ предотвращения БА, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

[0076] В восемнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ предотвращения снижения когнитивных функций у субъекта, у которого нет симптомов, но который подвержен риску возникновения БА или снижения когнитивных

функций, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли. Субъекты, входящие в группу риска, будут включать, например, наличие АРОЕ4/4 (или обоих АРОЕ4 и АРОЕ4/4), пожилой возраст или паттерн семейного снижения когнитивных функций, или комбинацию двух или более из вышеперечисленных.

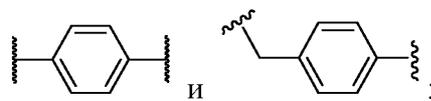
[0077] Что касается предотвращения БА или снижения когнитивных функций у субъекта, у которого нет симптомов, но который подвержен риску возникновения БА или снижения когнитивных функций, мы предполагаем, на основании данных, представленных ниже, что 3-SPA является всегда активным в мозге, предотвращая или подавляя образование токсичных олигомеров. Таким образом, чем меньше количество 3-SPA, тем более высокая предрасположенность у субъекта к развитию снижения когнитивных функций или к его более раннему развитию. Введение соединений, таких как описанные в данном документе, должно привести к большей выработке 3-SPA в головном мозге. Это, в свою очередь, должно установить стойкое и/или усиленное ингибирование олигомеров А β и, таким образом, привести к предотвращению БА или снижению когнитивных функций.

3. Соединения по настоящим применениям / способам

[0078] Соединения, используемые в настоящих способах, включают соединения, имеющие формулу **I**, как определено выше, или их фармацевтически приемлемые соли.

[0079] Альтернативно, в шестнадцатом варианте осуществления соединения, используемые в настоящих способах, включают соединения, имеющие формулу **I**, как определено выше, где R² выбран из водорода и C₁-C₆ алкила, и где остальные переменные соединения соответствуют описанию выше для формулы **I**. Альтернативно, соединения, используемые в настоящих способах, включают соединения, имеющие формулу **I**, как определено выше, где R² представляет собой -CH₃, и где остальные переменные соответствуют определениям выше для формулы **I**.

[0080] Альтернативно, в семнадцатом варианте осуществления соединения, используемые в настоящих способах, включают соединения, имеющие формулу **I** как определено выше, где R¹ выбран из -O-R³, -O-R⁴-CH(NHR⁶)-C(O)-R⁵ и -O-R⁴-CH(NHR⁶)-CH(OH)-R⁵; R³ представляет собой C₁-C₄ алкил; а R⁴ выбран из -CH(CH₃)-, -CH₂-,



; и где остальные переменные соединения соответствуют описанию выше для формулы **I** или второго варианта осуществления.

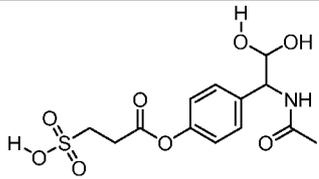
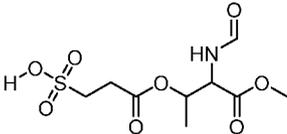
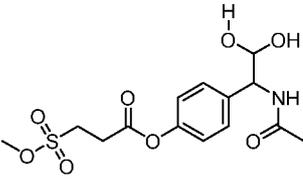
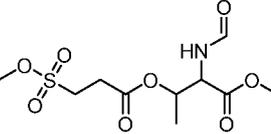
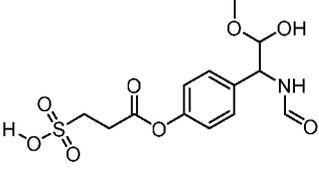
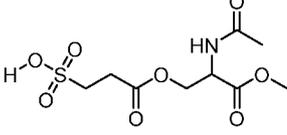
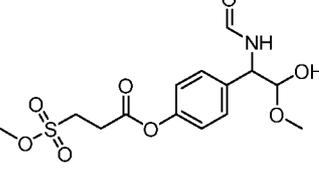
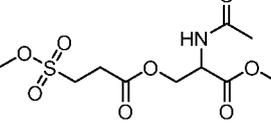
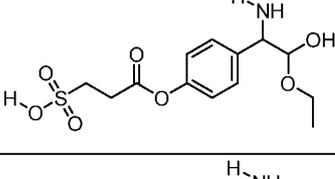
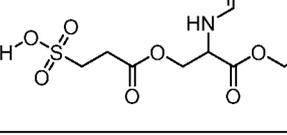
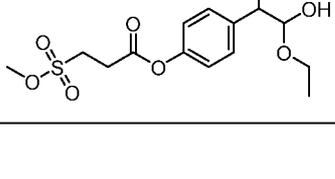
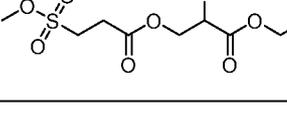
[0081] Альтернативно, в восемнадцатом варианте осуществления соединения, используемые в настоящих способах, включают соединения, имеющие формулу **I**, как

определено выше, где R⁶ выбран из водорода, -C(O)H, -C(O)CH₃, -C(O)O-C(CH₃)₃ и -C(O)O-бензила, и где остальные переменные для соединения соответствуют описанию выше для формулы I или второго или третьего вариантов осуществления.

[0082] Альтернативно, в девятнадцатом варианте осуществления соединения, используемые в настоящих способах, включают соединения, имеющие формулу I, как определено выше, где R⁵ выбран из -OH, -OCH₃ и -OCH₂CH₃ и, где остальные переменные соединения соответствуют описанию выше для формулы I или второго, третьего или четвертого вариантов осуществления.

[0083] Альтернативно, в двадцатом варианте осуществления соединения формулы I выбрано из любого соединения, приведенного в таблице 1, или его фармацевтически приемлемой соли:

Таблица 1

№	Структура	№	Структура
100		168	
101		169	
102		170	
103		171	
104		172	
105		173	

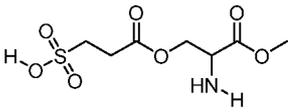
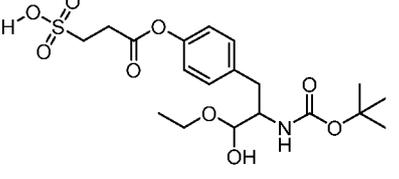
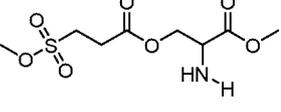
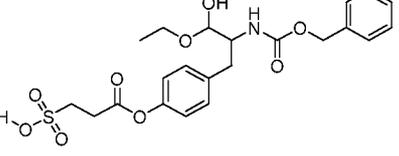
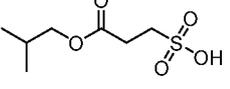
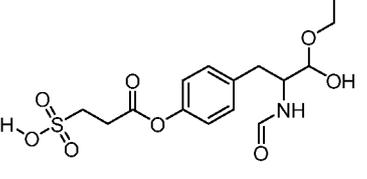
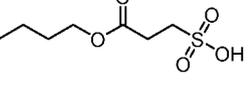
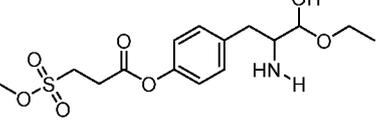
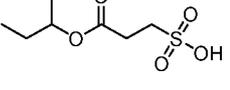
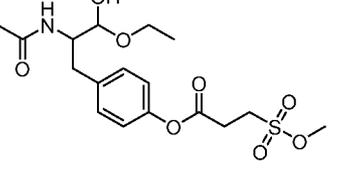
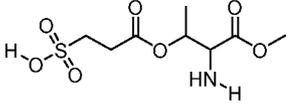
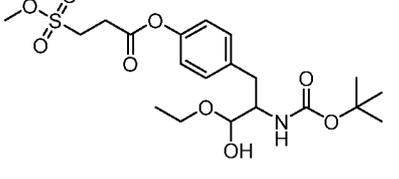
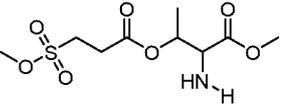
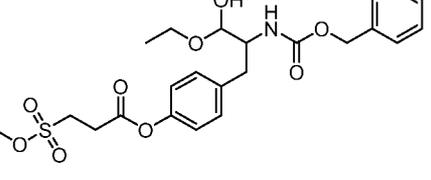
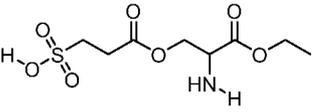
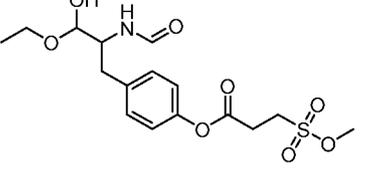
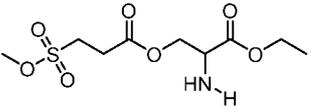
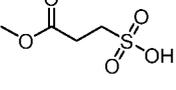
№	Структура	№	Структура
106		174	
107		175	
108		176	
109		177	
110		178	
111		179	
112		180	
113		181	
114		182	
115		183	

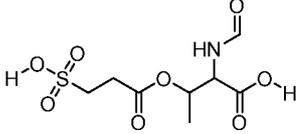
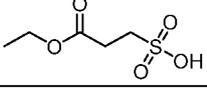
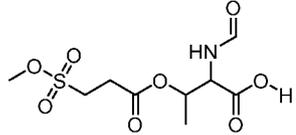
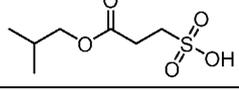
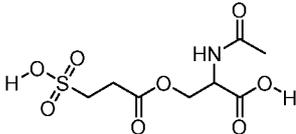
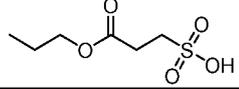
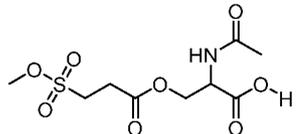
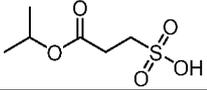
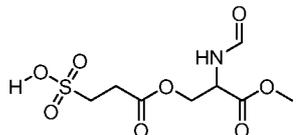
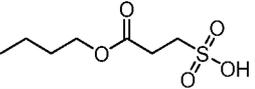
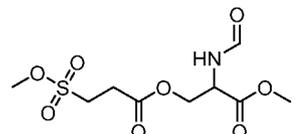
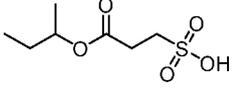
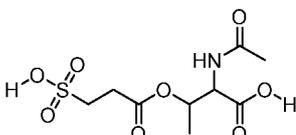
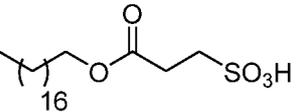
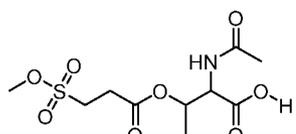
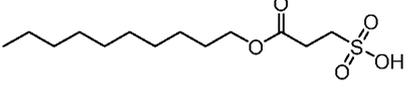
№	Структура	№	Структура
116		184	
117		185	
118		186	
119		187	
120		188	
121		189	
122		190	
123		191	
124		192	
125		193	

№	Структура	№	Структура
126		194	
127		195	
128		196	
129		197	
130		198	
131		199	
132		200	
133		201	

№	Структура	№	Структура
134		202	
135		203	
136		204	
137		205	
138		206	
139		207	
140		208	

№	Структура	№	Структура
141		209	
142		210	
143		211	
144		212	
145		213	
146		214	
147		215	
148		216	
149		217	
150		218	

№	Структура	№	Структура
151		219	
152		220	
153		221	
154		222	
155		223	
156		224	
157		225	
158		226	
159		227	

№	Структура	№	Структура
160		228	
161		229	
162		230	
163		231	
164		232	
165		233	
166		234	
167		235	

4. Составление и введение

[0084] Соединения по описанным в данном документе способам могут быть составлены в виде фармацевтических композиций и введены субъекту, такому как человек.

Композиции, описанные в данном документе, можно вводить перорально, парентерально, с помощью спрея для ингаляции, применять местно, вводить ректально, назально, буккально, вагинально или через имплантированный резервуар. В контексте данного документа термин «парентеральный» включает подкожную, внутривенную, внутримышечную, внутрисуставную, интрасиновиальную, интрастернальную, интратекальную, внутрипеченочную, внутриочаговую и внутричерепную инъекцию или способы инфузии. В данный документ включены жидкие лекарственные формы, инъекционные препараты, твердые дисперсионные формы и лекарственные формы для местного или трансдермального применения соединения. В одном аспекте введение осуществляется путем перорального приема.

[0085] Фармацевтически приемлемые носители, которые можно использовать по данному раскрытию, включают, но не ограничиваются ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, частичные глицеридные смеси насыщенных растительных жирных кислот, вода, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, динатрийгидрофосфат, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный кремнезем, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы (например, микрокристаллическая целлюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, моногидрат лактозы, лаурилсульфат натрия и кросскармеллоза натрия), полиэтиленгликоль, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропиленовые блок-полимеры, полиэтиленгликоль и ланолин.

[0086] В способах введения могут применять количество и способ введения, эффективные для лечения или уменьшения тяжести заболевания, описанного в данном документе. Точное требуемое количество будет варьироваться от субъекта к субъекту, в зависимости от вида, возраста и общего состояния субъекта, степени тяжести инфекции, конкретного средства, способа его введения и тому подобного. Предложенные соединения предпочтительно составляют в виде единичной лекарственной формы для простоты введения и однородности дозировки. Например, предложенные соединения могут быть составлены таким образом, что доза соединения от 0,01 до 100 мг/кг массы тела/сутки может вводиться пациенту, получающему эти композиции. Выражение «единичная лекарственная форма» в контексте данного документа относится к физически дискретной единице средства, подходящей для пациента, подлежащего лечению. Однако следует понимать, что решение об общем суточном применении соединений и композиций по настоящему раскрытию будет приниматься лечащим врачом в рамках обоснованного

медицинского заключения. Конкретный эффективный уровень дозы для любого конкретного пациента будет зависеть от множества факторов, включая расстройство, подлежащее лечению, и тяжесть расстройства; активность конкретного используемого соединения; конкретный используемый состав; возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и рацион пациента; время введения, способ введения и скорость выведения конкретного используемого соединения; продолжительность лечения; лекарственные средства, используемые в комбинации или одновременно с конкретным применяемым соединением; и подобные факторы, хорошо известные в медицине.

ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ПРИМЕРЫ

[0087] 1. Способы

Забор и обработка образцов спинномозговой жидкости человека

[0088] Отдельные образцы спинномозговой жидкости были получены от 64 субъектов мужского и женского пола с нарушениями когнитивных функций (диапазон оценок по шкале MMSE 15-30 баллов) вследствие различных нейрогенеративных заболеваний (описательные характеристики обобщены в **таблице 1**). Эти пациенты были направлены в Центр лечения когнитивных нарушений при отделении неврологии Карлова университета, 2-й медицинский факультет и университетскую больницу Мотол, Прага, Чехия. 64 образца были получены от пациентов, у которых были клинически диагностированы следующие состояния: деменция при болезни Альцгеймера (деменция при БА; n=14), легкие когнитивные нарушения вследствие БА (МСИ вследствие БА, n=20), смешанная деменция (n=3), болезнь с тельцами Леви (LBD; n=1), лобно-височная долевая дегенерация (ЛВДД; n=18), легкие когнитивные нарушения другой этиологии (МСИ, другие; n=7) и прогрессирующий надъядерный паралич (n=3). Сосудистое заболевание учитывалось при наличии сливающихся сосудистых изменений на МРТ (2 и 3 балла по шкале Фазекаса). 12 мл СМЖ было отобрано путем люмбальной пункции в положении лежа на спине между телами позвонков L3-L5 с использованием атравматической иглы. Люмбальную пункцию проводили с 8 до 11 часов утра сразу после взятия пробы сыворотки. Образец СМЖ был передан в лабораторию по анализу СМЖ, расположенную на том же этаже, где было проведено центрифугирование в течение 5 минут со скоростью 2000 об/мин при комнатной температуре. После центрифугирования СМЖ отбирали аликвотами с использованием пробирок объемом 0,5 мл и сразу отправляли на хранение при -80 °С. Для забора и хранения спинномозговой жидкости использовали только полипропиленовые пробирки. Время обработки между взятием СМЖ, центрифугированием и замораживанием было стандартизировано и в целом не превышало 45 минут.

[0089] Образцы были извлечены из морозильной камеры и отправлены на сухом льду в Nextcea Inc (Уоберн, штат Массачусетс) и их хранили в морозильной камере, настроенной для поддержания -80°C после получения. Забор и хранение СМЖ проводили после подписания субъектами информированного согласия в соответствии с этическими принципами Чешской Республики и надлежащей клинической практикой, а также в соответствии с широко признанным протоколом консенсуса для стандартизации забора СМЖ и хранения биологических образцов (Viola et al., Amyloid β oligomers in Alzheimer's disease pathogenesis, treatment, and diagnosis. Acta Neuropathol 2015; 129:183–206; и Vanderstichele et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: A consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. Alzheimers Dement 2012; 8(1):65–73). Коммерческие наборы для ELISA (Innogenetics NV, Гент, Бельгия) использовали для анализа биомаркеров деменции ($\text{A}\beta_{1-42}$, тау-белок и фосфо-тау), и использовали пороговые значения, полученные из валидационного исследования. Концентрация 3-SPA в СМЖ также была определена количественно у 12 пациентов, получавших трамипросат в дозе 150 мг два раза в сутки на неделе 78 Североамериканского исследования БА фазы 3.

Идентификация и количественное определение 3-SPA в СМЖ человека методом ЖХ-МС/МС

[0090] Анализ образца СМЖ был выполнен компанией Nextcea с использованием методов ЖХ-МС и ЖХ-МС/МС. Всего в Nextcea для анализа было получено 64 образца СМЖ человека.

Дериватизация и метод ЖХ-МС/МС

[0091] Образцы эталонного материала 3-SPA и образцы СМЖ человека смешивали с N-этил-N'--(3-диметиламинопропил)карбодиимидом (EDC) и 2,2,2-трифторэтиламиноном (TFEA). Образцы перемешивали вихревым способом и подвергали реакции при комнатной температуре в течение 30 минут. Продукт реакции центрифугировали при 4500 об/мин в течение 5 минут. Супернатант переносили на новый планшет для анализа. 3-SPA был идентифицирован и охарактеризован с использованием методов ЖХ-МС и ЖХ-МС/МС. Инъекции производили в колонку Thermo Scientific AQUASIL 5 мкм, 50 x 2,1 мм с использованием автоматического пробоотборника Shimadzu и насоса UPLC. Подвижная фаза А представляла собой 0,1% трифторуксусную кислоту в воде (об./об.). Подвижная фаза В представляла собой 0,1% муравьиную кислоту в смеси ацетонитрил/вода 90/10 (об./об.). Скорость потока составляла 0,35 мл/мин. Общее время обработки на образец составляло 4 мин. Для обнаружения использовали тройной квадрупольный масс-спектрометр API 6500. Данные были получены в режимах отрицательной ЖХ-МС и ЖХ-

МС/МС. Типичные хроматограммы 3-SPA в неочищенном нативном материале и СМЖ человека, дериватизированного с помощью EDC и TFEA, показаны на **ФИГ. 7**, **ФИГ. 8 Панель А** и **ФИГ. 8 Панель В**. Данные ЖХ-М и ЖХ-МС/МС получали с использованием программного обеспечения Analyst (AB Sciex, Фостер Сити, штат Калифорния). ПКО для метода ЖХ-МС/МС составлял 0,1 нг/мл с динамическим диапазоном от 0,1 до 1000 нг/мл ($r=0,99688$ и % КВ $5,8\% \pm 2,0$; неопубликованные данные). 3-SPA был идентифицирован в СМЖ человека путем сопоставления хроматографического времени удерживания и совместного элюирования переходных ионов ЖХ-МС/МС с аутентичным эталонным стандартом 3-SPA (синтезирован компанией Paraza Pharma, Монреаль, Канада).

Молекулярное моделирование и молекулярно-динамическое моделирование 3-SPA

[0092] Все молекулярное моделирование было выполнено с использованием программы Schrödinger suite (Schrödinger Suite, 2015-3; Schrödinger, LLC, Нью-Йорк, штат Нью-Йорк). Молекулярно-динамическое моделирование проводилось с использованием программы Desmond. См. Vanderstichele et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: A consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimers Dement* 2012; 8(1):65–73. Моделирование проводилось с использованием видеокарт GeForce GTX Titan Black GPU (графический процессор). Силовое поле OPLS 3.0 (Оптимизированный потенциал для моделирования жидкостей) (Hort et al., The liquor tau protein and beta amyloid in Alzheimer's disease. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70(1):30–36) использовали для моделирования всех взаимодействий, а модель SPC использовали для воды. Структура ЯМР ПУТ Аβ42 из банка данных белков (PDB) использовали в качестве отправной точки для молекулярно-динамического моделирования. Эта структура в основном является альфа-спиральной и типичной для пептида в аполярной среде. Контейнер с водой 20 Angstrom или контейнер для смешанных растворителей с 1% 3-SPA в воде добавляли вокруг пептида, используя инструменты настройки системы Шредингера. Ионы добавляли для нейтрализации заряда всей системы. Моделирование было уравновешено и проводилось в условиях NPT (постоянное число (N), давление (P) и температура (T) с периодическими граничными условиями. Термостат Носа — Гувера и баростат Мартина — Тобиаса — Кляйна использовали для контроля температуры и давления, соответственно. Моделирование проводили в трех повторностях по 100 наносекунд каждая, а результаты были скомпилированы для анализа. Анализ главных компонентов был выполнен с использованием ProDy (Shivakumar et al., Improving the Prediction of Absolute Solvation Free Energies Using the Next Generation OPLS Force Field. *J. Chem. Theory Comput* 2012; 8:2553–8) и построены графики с использованием пользовательских скриптов Python.

Масс-спектрометрия подвижности ионов (СПИ-МС)

[0093] Условия, используемые для масс-спектрометрии с использованием Waters Synapt G2-S, были следующими: положительная полярность в режиме чувствительности, капилляр = 2,5 кВ, распылитель = 2 мбар, температура источника = 80°C, температура десольватации = 60°C, настройка пробоотборного конуса = 35 В, настройка смещения источника = 60 В и диапазон изменения массы = от 500 до 4000 m/z . Эти условия поддерживали на протяжении всего исследования, чтобы гарантировать согласованность данных и избежать влияния на обнаружение олигомеров из-за предпочтительных условий ионизации.

[0094] Образцы вводили непосредственно в масс-спектрометр со скоростью потока 10 мкл/мин с использованием шприцевого насоса Protea PM-1000 и шприца Hamilton объемом 1 мл. Сбор данных по амилоидному пептиду выполняли с использованием квадрупольного времяпролетного масс-спектрометра Waters Synapt G2-S (Q-TOF MS) с подвижностью ионов бегущей волны (Waters Corp., Милфорд, штат Массачусетс). Данные были получены с использованием режима чувствительности системы, позволяющего обнаруживать олигомеры с меньшей численностью. Образцы вводили при комнатной температуре. Исследования СПИ-МС проводили в Protea, Inc. (Моргантаун, штат Западная Вирджиния).

Получение образцов

[0095] 1 мг рекомбинантного пептида A β 42 человека от BioLegend (чистота 99%, номер по каталогу 843801) восстанавливали в 200 мкл воды Fisher Optima со степенью чистоты для ЖХ/МС (номер по каталогу W6-1) и интенсивно перемешивали вихревым способом в течение 2 минут для растворения пептида с получением 5 мг/мл раствора. Затем образцы разбавляли до конечной концентрации 22 пмоль/мкл перед инкубацией. Затем смеси образцов инкубировали при комнатной температуре в течение 0, 4 и 24 часов. После завершения сбора инкубированных образцов необработанные данные были проанализированы с использованием программы Waters MassLynx v2.4 suite с DriftScoper v2.7 для визуализации изменения времени для пептида.

Определение характеристик видов A β 42

[0096] Определение характеристик видов A β 42 с использованием СПИ-МС проводили путем прямой инфузии при концентрации 22 пмоль/мкл в воде. Пептид был подготовлен в воде для поддержания конформации пептида в нативном состоянии, и сбор данных по ионной подвижности выполняли для обнаружения и определения характеристик конформационных изменений мономера в нативном состоянии и любых олигомеров, которые могли образоваться во время инкубации.

Исследование связывания 3-SPA методом СПИ-МС

[0097] Сбор данных по пептиду выполняли Аβ42 с использованием квадрупольного времяпролетного масс-спектрометра Waters Synapt G2-S (Q-TOF MS) с подвижностью ионов бегущей волны (Waters Corp., Милфорд, штат Массачусетс). Данные были получены с использованием режима чувствительности системы, позволяющего обнаруживать олигомеры с меньшей численностью. Образцы вводили при комнатной температуре, как описано выше.

[0098] 1 мг 3-SPA восстанавливали в 1 мл воды Fisher Optima со степенью чистоты для ЖХ/МС (номер по каталогу W6-1) и интенсивно перемешивали вихревым способом в течение 2 минут до полного растворения. Затем образец разбавляли для получения растворов 220 пмоль/мкл и 22 000 пмоль/мкл для выполнения 100-кратного и 1000-кратного молярного избытка для экспериментов по связыванию с пептидом Аβ42.

[0099] 1 мг рекомбинантного пептида Аβ42 человека восстанавливали в 200 мкл воды Fisher Optima со степенью чистоты для ЖХ/МС и интенсивно перемешивали вихревым способом для растворения с получением 5 мг/мл раствора. Затем образцы разбавляли до их конечных концентраций перед инкубацией. Смеси образцов инкубировали при комнатной температуре в течение 0, 4 и 24 часов с последующим анализом, как описано выше.

Фармакокинетика, пероральная абсорбция и воздействие 3-SPA на головной мозг крыс линии Спрег-Дули (SD)

[00100] Фармакокинетику 3-SPA при пероральном приеме и внутривенном введении оценивали натошак на крысах-самцах линии Спрег-Дули в дозе 30 мг/кг и 10 мг/кг, соответственно (n=3 на группу). Животных содержали в стандартном помещении, при этом вода и пища предоставлялись в ходе эксперимента *ad libitum*. 3-SPA растворяли в физиологическом растворе, вводили перорально через желудочный зонд и внутривенно болюсно. Забор серийных образцов крови (приблизительно по 1,0 мл каждый) у каждого животного проводили через 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 и 24 часа после дозирования в пробирки, содержащие К2EDТА, и обрабатывали для получения плазмы посредством центрифугирования. Образцы плазмы хранили при -80°C до проведения биоанализов.

[00101] Отдельной группе животных перорально вводили дозу 30 мг/кг, и проводили забор образцов головного мозга, СМЖ и плазмы через 1, 2, 6 и 24 часа (по 3 животных для каждой временной точки) для биоанализов 3-SPA в головном мозге и СМЖ, и чтобы оценить проникновение в головной мозг относительно концентраций в плазме. Прижизненное исследование было выполнено в Agilux Laboratories (Вустер, штат Массачусетс) в соответствии со стандартами качества и надлежащей лабораторной

практикой. Биоанализы плазмы, СМЖ и головного мозга крыс был выполнен с использованием ЖХ-МС/МС в Nextsea. Перед обработкой головного мозга крысы для биоанализа мозг перфузировали для удаления скопившейся крови. Анализ фармакокинетических данных проводили с использованием Winnonlin Professional v5.0.1 (Pharsight, Маунтин-Вью, штат Калифорния).

[00102] 2. Результаты

Идентификация и количественное определение 3-SPA в спинномозговой жидкости субъектов, ранее не получавших лекарственные препараты, и пациентов с БА, получавших траминпрост

[00103] 3-SPA идентифицировали и количественно оценивали в СМЖ человека с использованием метода ЖХ-МС/МС. Перед анализом образцы были дериватизированы с использованием EDC и TFEA. Переходные ионы ЖХ-МС/МС были выбраны для мониторинга на основе 2-[(2,2,2-трифторэтил)карбамоил]этан-1-сульфоновой кислоты, спектров ионов продукта дериватизированного эталонного стандарта 3-SPA. [М-Н]- 3-SPA был обнаружен в СМЖ человека при m/z 234,1 при времени удерживания 1,55 мин. Структурное соответствие 3-SPA в СМЖ человека с аутентичным образцом в качестве стандарта было выполнено путем сопоставления молекулярного пика кислоты, а также молекулярных пиков производного 2-[(2,2,2-трифторэтил)-карбамоил]этан-1-сульфоновой кислоты, включая паттерн фрагментации МС-МС, путем мониторинга двух переходных ионов ЖХ-МС/МС. Переходные ионы и время удерживания 3-сульфопропановой кислоты в СМЖ человека соответствовали аутентичному эталонному стандарту 3-сульфопропановой кислоты. Переходные ионы молекулярного пика двухосновной кислоты (234,1/80,9) были выбраны для количественного определения. НПКО анализа ЖХ-МС/МС составлял 0,1 нг/мл для 3-SPA. Концентрации 3-SPA в СМЖ человека представлены в **таблице 1**. В отдельном анализе присутствие 3-SPA было также подтверждено с помощью ЖХ-МС/МС в образцах СМЖ человека, не подвергавшихся воздействию лекарственных препаратов, полученных от Bioreclamation, Вестбери, штат Нью-Йорк (n=27 и n=88, соответственно). См. **ФИГ. 2**

Таблица 1 - Концентрации 3-SPA в спинномозговой жидкости человека у ранее не получавших лекарственные препараты пациентов с нарушениями памяти

Описательная статистика пациентов с	Концентрация 3-SPA в СМЖ нг/мл (нМ)	Концентрация 3-SPA в СМЖ нг/мл (нМ) Мужчины	Концентрация 3-SPA в СМЖ нг/мл (нМ) Женщины

нарушениями памяти	Комбинированный пол		
n	64	27	37
Возраст	68,6 ± 8,5 лет	69,0 ± 8,7 лет	68,1 ± 8,5 лет
Клинический диагноз*	БА-14 МСІ вследствие БА- 20 МСІ (другое)-7 ЛВДД-18 Другое-	БА-14 МСІ вследствие БА-11 МСІ (другое)-2 ЛВДД-9 Другое-1	БА-10 МСІ вследствие БА-9 МСІ (другое)-5 ЛВДД-9 Другое-4
Диапазон оценок по шкале MMSE	25,0 ± 3,2	25,4 ± 2,5	24,6 ± 3,7
Среднее ± СО	1,8 ± 0,7 (11,7 ± 4,3)	1,9 ± 0,6 (12,3 ± 3,9)	1,7 ± 3,7 (11,0 ± 4,5)
Медианное значение	1,7 (11,0)	1,7 (11,0)	1,6 (10,3)
Минимальное - максимальное	0,64 - 4,27 (4,15 - 27,7)	0,85 - 2,8 (5,6 - 18,5)	0,64 - 4,27 (4,2 - 27,7)

*БА — болезнь Альцгеймера, МСІ — легкое когнитивное нарушение, ЛВДД — лобно-височная долевая дегенерация, другое заболевание с тельцами Леви, сосудистая деменция, смешанное заболевание

[00104] Уровни 3-SPA у пациентов с различными заболеваниями, нарушающими когнитивные функции, включая БА, варьировались от 4,15 до 27,7 нМ (0,64 - 4,27 нг/мл) (**таблица 1**). Если это связано с концентрациями мономеров Аβ42 в СМЖ у пациентов с БА (от 0,04 до 0,1 нМ) (Bakan et al., ProDu: динамика белка, выведенная из теории и экспериментов. *Bioinformatics* 2011; 27:1575–7; Shaw et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol* 2009; 65:403–13; Pannee et al. Reference measurement procedure for CSF Abeta1-42 and the CSF Abeta1-42 /Abeta1-40 ratio - a crossvalidation study against Amyloid PET. *J. Neurochem* 2016; and Lambert et al. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A 1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *PNAS*. 1998; 95:6448–53), имеется избыток 3-SPA приблизительно в 40-700 раз по сравнению с растворимыми мономерами Аβ42, который попадает в диапазон, в котором у некоторых пациентов может проявляться активность частичной антиолигомерной агрегации Аβ (**Таблица 3**). Кроме того, ретроспективный анализ СМЖ подгруппы

пациентов из исследования трамипросата фазы 3 также оценивали на наличие 3-SPA, основного метаболита трамипросата. В **таблице 2** представлены обобщенные в описательном анализе концентрации 3-SPA в СМЖ. Концентрации метаболита были количественно определены у 6 пациентов, для которых были доступны образцы спинномозговой жидкости на неделе 78. Средняя концентрация 3-SPA в СМЖ составляла 147 нМ (диапазон = 114,3 - 235,8 нМ), что в 12,6 раз превышает уровни, наблюдаемые у пациентов, ранее не получавших лекарственных препараты.

Таблица 2. Концентрации 3-SPA в СМЖ (нг/мл) на неделе 78 Североамериканского исследования трамипросата фазы 3.

Описательная статистика	Доза трамипросата 150 мг два раза в сутки, неделя 78 Североамериканского исследования фазы 3 (нМ)
n	6
Среднее ± СО	22,3 ± 7,9 нг/мл (147 ± 51,3 нМ)
Медианное значение	19,3 нг/мл (127,5 нМ)
Минимальное - максимальное	17,3 – 35,7 нг/мл (114,3– 235,8 нМ)

Анти-Аβ42 олигомерная активность 3-SPA

[00105] Чтобы рассмотреть высокую конформационную гибкость Аβ42 и охарактеризовать его взаимодействие с 3-SPA, мы использовали масс-спектрометрию ионной подвижности (СИП) с применением квадрупольного времяпролетного масс-спектрометра (Q-TOF MS) с подвижностью ионов бегущей волны. Полученный эффект модуляции конформационного пространства Аβ представляет собой предотвращение образования олигомеров. Мы обнаружили не только зависимость от концентрации, но также зависимость от времени этого анти-Аβ42 олигомерного эффекта 3-SPA, как показано на **ФИГ. 3** и **ФИГ. 4**. Сводные данные по зависимости превышения концентрации 3-SPA относительно Аβ42 представлены в **таблице 3**. Молярный избыток 3-SPA в 100 раз по сравнению с 1000 раз относительно Аβ42 приводит к получению профиля ингибирования другого подвида образования олигомера Аβ42. Активность также сравнивают с такой же избыточной зависимостью трамипросата. Для 3-SPA показано практически полное предотвращение образования олигомеров Аβ42, за исключением пентамеров.

Таблица 3 - Сравнение олигомерной активности анти-Аβ42 3-SPA по сравнению с трамипросатом при соотношениях избытков соединения:белка 100:1 и 1000:1

Виды олигомеров	Только Аβ42	Трамипросат 100:1	3-SPA 100:1	Трамипросат 1000:1	3-SPA 1000:1
Димер	Д	Н	Д	Н	Н
Тример	Д	Д	Д	Н	Н
Тетрамер	Д	Д	Д	Н	Н
Пентамер	Д	Д	Д	Н	Д
Гексамер	Д	Д	Д	Н	Н
Декамер	Д	Н	Н	Н	Н

Д = да, наличие видов олигомеров; Н = отсутствие видов олигомеров.

[00106] В то время как функциональные конечные результаты, то есть ингибирование образования олигомера Аβ42, являются одинаковыми как для трамипросата, так и для его метаболита, 3-SPA, конформационный ландшафт процесса таковым не является. 3-SPA в виде дианиона в физиологических условиях взаимодействует с катионами боковых цепей аминокислот Аβ42 (**ФИГ. 5**). Это протонированные аминогруппы Asp1, Lys16, Lys28, His13,14. В то же время действуют силы отталкивания 3-SPA дианионных и карбоксилатных групп Аβ42. Эта взаимозависимость ионных взаимодействий вносит вклад в значительные конформационные изменения видов мономера Аβ42.

[00107] Как данные масс-спектрометрии ионной подвижности, так и молекулярная динамика (**ФИГ. 3, 4, 7, 8 Панель А и 8 Панель В**) демонстрируют взаимодействие связывания нескольких лигандов 3-SPA с мономерами Аβ42. 3-SPA взаимодействует с Аβ42 посредством других ионных взаимодействий, чем трамипросат. Интересно, что, несмотря на использование разных моделей ионного связывания, в одних и тех же условиях данные СПИ-МС и молекулярной динамики показывают качественно одинаковый анти-Аβ42 олигомерный результат для обоих соединений. Трамипросат показал полное ингибирование образования олигомеров Аβ42 через 24 часа *in vitro*, тогда как 3-SPA показал такие же результаты, за исключением ингибирования образования пентамеров в той же временной шкале. Однако подробное исследование динамики также показывает зависимость ингибирования олигомеров от времени. Через 4 часа 3-SPA ингибирует образование олигомеров, за исключением димеров, тримеров и пентамеров. После продолжительного 24-часового воздействия единственными не ингибируемыми олигомерными видами были пентамеры Аβ42. Эти данные свидетельствуют о том, что за первым антиолигомерным эффектом трамипросата следует второй антиолигомерный эффект метаболита трамипросата 3-SPA.

Фармакокинетика и проникновение в головной мозг вводимого перорально 3-SPA у крыс

[00108] Концентрация в плазме однократной дозы 3-SPA, растворенной в физиологическом растворе в виде прозрачного раствора, вводимой перорально и внутривенно крысам при уровне дозы 30 мг/кг и 10 мг/кг, соответственно, показана на **ФИГ. 9**. Соответствующие уровни в головном мозге, СМЖ и плазме после однократной пероральной дозы 30 мг/кг 3-SPA через 1, 2, 6 и 24 часа показаны на **ФИГ. 10**. Кривые средних параметров ФК использовали для расчета фармакокинетических параметров. Полученные фармакокинетические параметры, пероральная биодоступность и проникновение в головной мозг 3-SPA у крыс показаны в **таблицах 4-6**.

Таблица 4 - Фармакокинетические параметры перорального 3-SPA у самцов крыс линии SD (n=3)

ФК параметры при пероральном введении (30 мг/кг)		
Параметр	Единица измерения	Значение
Лямбда_z	1/ч.	0,16
t1/2	ч	4,40
Tmax	ч	0,50
Cmax	нг/мл	8943
AUC 0-t	нг/мл*ч	18894
AUC 0-inf_obs	нг/мл*ч	19061

Таблица 5 - Фармакокинетические параметры в/в 3-SPA у самцов крыс линии SD (n=3)

ФК параметры при в/в введении (10 мг/кг)		
Параметр	Единица измерения	Значение
t1/2	ч	10,99
Tmax	ч	0,08
Cmax	нг/мл	7484
C0	нг/мл	13599
AUC 0-t	нг/мл*ч	3407
AUC 0-inf_obs	нг/мл*ч	3638
Vz_obs	л/кг	43,6
Cl_obs	л/кг/ч	2,7
Vss_obs	л/кг	12,9
Пероральная биодоступность	%	~ 100

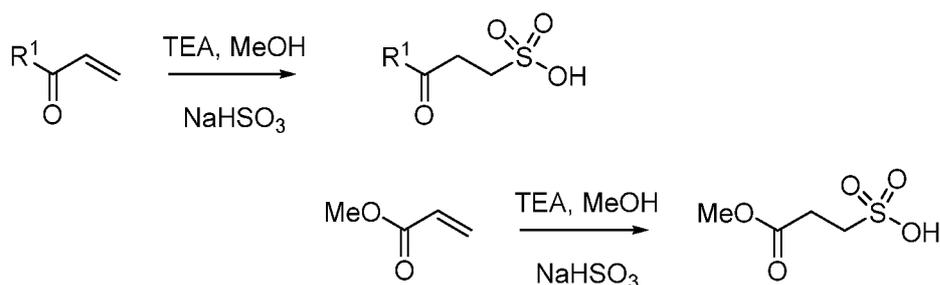
Таблица 6 - Проникновение в головной мозг перорального 3-SPA (30 мг/кг) у самцов крыс линии SD

ФК параметр	Единица измерения	Плазма	Головной мозг	СМЖ
t1/2	ч	3,03	64,07	3,56
Cmax	нг/мл	5714,6	649,8	159,2
AUC 0-t	нг/мл*ч	30001,7	7586,5	463,6
AUC 0-inf_obs	нг/мл*ч	30099,2	33224,4	726,2
Головной мозг/плазма (AUC%)			25,3%	
СМЖ/головной мозг AUC%				6,1%

[00109] 3. Получение соединений формулы I

Общий синтез сложных алкиловых эфиров 3-сульфопропановой-1-алкиловой кислоты.

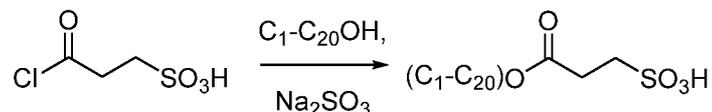
[00110] Следующие реагенты добавляют в этой последовательности: олефин (0,20 ммоль), MeOH (2,0 мл), триэтиламин (5,5 мкл, 0,04 ммоль) и 0,5 М водный раствор бисульфита натрия (0,6 мл, 0,3 ммоль) в пробирку для анализу, снабженную магнитной мешалкой. Реакционную смесь перемешивают при 22°C в течение 14 часов.



[00111] Альтернативно, эти сложные алкиловые эфиры можно получить из бета-бромпропионовой кислоты путем приведения в реакцию с Na₂SO₃ и соответствующим спиртом.

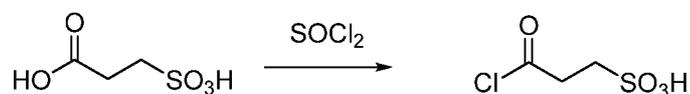
Альтернативный способ получения сложных эфиров 3-сульфопропановой-1-алкиловой кислоты.

[00112] Реакция 3-хлор-3-оксопропан-1-сульфоновой кислоты с соответствующим C₁-C₂₀ спиртом в ацетонитриле при комнатной температуре дает соответствующий C₁-C₂₀ сложный эфир 3-сульфопропановой кислоты.



Получение галогенида альфа-сульфокарбоновой кислоты

[00113] Хлорид сульфокарбоновой кислоты может быть получен путем обработки сульфокарбоновой кислоты галогенирующим агентом, например, SOCl₂ в диэтиловом простом эфире и необходимого количества диметилформамида для растворения при 30°C в течение 45 часов.

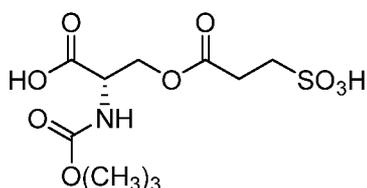


Общий синтез сложных эфиров 3-сульфопропановой кислоты, полученных из аминокислот, связанных через гидроксильную функциональную группу в их боковой цепи

[00114] Для реакции 1 экв. N-защищенной аминокислоты или N-защищенной и карбоксил-derivатизированной аминокислоты с 1 экв. 3-хлор-3-оксопропан-1-сульфоновой кислоты в органическом растворителе, например, ацетонитриле (с ДМФ, если это необходимо для солюбилизации реагентов) смешивают при комнатной температуре. В зависимости от аминокзащитной группы добавляют триэтиламин или N-метилпиперидин. За реакцией следят до исчезновения исходной аминокислоты. Реакционную смесь упаривают с последующей стандартной обработкой.

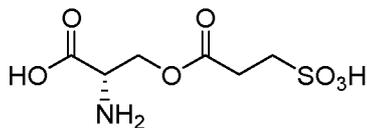
Синтез (2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-[(3-сульфопропаноил)окси]пропановой кислоты

[00115] Для реакции 1 экв. Вос-L-серина с 1 экв. 3-хлор-3-оксопропан-1-сульфоновой кислоты в органическом растворителе, например, ацетонитриле (с ДМФ, если это необходимо для солюбилизации реагентов) и N-метилпиперидин смешивают при комнатной температуре. За реакцией следят до исчезновения исходного Вос-L-серина. Реакционную смесь упаривают посредством стандартной обработки с получением (2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-[(3-сульфопропаноил)окси]пропановой кислоты.



Получение (2S)-2-амино-3-[(3-сульфопропаноил)окси]пропановой кислоты

[00116] (2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-[(3-сульфопропаноил)окси]пропановая кислота снимается с защиты в трифторуксусной кислоте или в смеси дихлорметана с трифторуксусной кислотой (1:1) в присутствии тиоанизола в течение 30 мин.



Общая процедура синтеза соединений со структурой ядра 2-(карбамоилметилкарбамоил)этансульфоновой кислоты, (3-сульфопропанамидо)уксусной кислоты, [2-(3-сульфопропанамидо)ацетидами]уксусной кислоты и 2-[(карбамоилметилкарбамоил)метилкарбамоил]этансульфоновой кислоты

[00117] 1 экв. соответствующим образом N-защищенной и O-защищенной боковой цепи аминокислоты или производного аминокислоты или N-защищенной и O-защищенной боковой цепи дипептида или производного дипептида добавляют к 1 экв. 3-хлор-3-оксопропан-1-сульфоновой кислоты в ацетонитриле с ДМФ (в зависимости от растворимости реагентов), а затем добавляют 1 экв. третичного основания, например, триметиламина или N-метилпиперидина. Реакцию проводят при комнатной температуре и наблюдают до исчезновения исходной аминокислоты или дипептидного компонента. В результате стандартной обработки получают соответствующий продукт.

[00118] Активность и/или фармацевтические свойства вышеупомянутых соединений, описанных в данном документе, могут быть получены с использованием биологических анализов и/или анализов ADME, известных специалистам в данной области техники.

[00119] 4. Обсуждение

[00120] Из наших исследований мы обнаружили присутствие 3-SPA в спинномозговой жидкости (СМЖ) человека субъектов, ранее не получавших лекарственные препараты. См., например, **ФИГ. 2**. Кроме того, как показано выше (см., например, **таблицу 1**), мы идентифицировали присутствие 3-SPA в СМЖ 64 ранее не получавших лечение пациентов с нарушениями когнитивных функций. Средняя концентрация 3-SPA в исследовании составила $11,7 \pm 4,3$ нМ. Мы также показали, что 3-SPA вызывает анти-A β 42 олигомерный эффект как в зависимости от времени, так и от концентрации. См. раздел Анти-A β 42 олигомерная активность 3-SPA, представленный выше. Мы также показали, что 3-SPA демонстрирует 100% пероральную биодоступность и 25% проницаемость в головной мозг, что указывает на то, что 3-SPA хорошо абсорбируется и проникает через гематоэнцефалический барьер. См. **таблицы 4-6**. Взятые вместе, эти данные

свидетельствуют о том, что более высокие концентрации СМЖ в головном мозге человека после перорального приема ALZ-801 или трамипросата являются результатом проникновения метаболита 3-SPA в ЦНС.

[00121] Мы также обнаружили обратную корреляцию между концентрацией 3-SPA в СМЖ и тяжестью когнитивных нарушений. Например, по мере снижения тяжести БА в СМЖ были обнаружены более высокие концентрации 3-SPA. См. **ФИГ. 6**. Напротив, по мере повышения тяжести БА в СМЖ были обнаружены более низкие концентрации 3-SPA. См. **ФИГ. 6**. Эти данные свидетельствуют о том, что уровни 3-SPA в головном мозге играют важную роль в снижении вероятности или задержке начала прогрессирования заболевания.

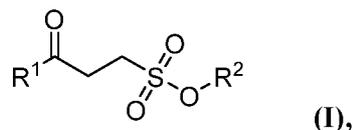
[00122] На основании этих результатов мы предполагаем, что повышение уровней 3-SPA в СМЖ может обеспечить терапевтический эффект для субъекта, страдающего БА. Мы также предполагаем, что такое повышение принесет дополнительную пользу субъектам с БА с наименьшими когнитивными нарушениями (т. е., MMSE = 30) («исходный пороговый уровень»), и поддержание таких повышенных уровней должно защищать этих субъектов от дальнейшего снижения когнитивных функций или уменьшения скорости снижения когнитивных функций по сравнению с приемом плацебо. Повышение уровней 3-SPA в СМЖ до уровня выше такого исходного порогового уровня может быть достигнуто путем введения соединения формулы I, как описано в данном документе. Данный новый терапевтический подход обеспечивает средства для снижения нейротоксичности бета-амилоидного олигомера и предоставляет клинические пути лечения когнитивных расстройств, таких как БА.

[00123] Хотя мы описали ряд вариантов осуществления этого изобретения, очевидно, что наши основные примеры могут быть изменены для предоставления других вариантов осуществления, в которых применяются соединения и способы по данному изобретению. Следовательно, следует понимать, что объем данного изобретения должен определяться прилагаемой формулой изобретения, а не конкретными вариантами осуществления, которые были представлены в качестве примера.

[00124] Содержание всех ссылок (включая ссылки на литературные источники, выданные патенты, опубликованные заявки на патенты и одновременно рассматриваемые заявки на патенты), которые могут быть процитированы в данной заявке, настоящим полностью включены в данный документ посредством ссылки. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значения, известные специалисту в данной области техники

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения формулы I:



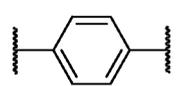
или его фармацевтически приемлемой соли для лечения болезни Альцгеймера, где:

R^1 выбран из $-O-R^3$, $-O-R^4-CH(NHR^6)-C(O)-R^5$ и $-[N(R^6)-CH(R^7)-C(O)]_{1-2}-R^5$;

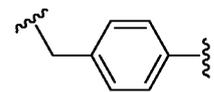
R^2 выбран из водорода, R^3 и $R^4-CH(NHR^6)-C(O)-O-R^5$;

каждый R^3 независимо выбран из C_1-C_{20} алкила, $-C_2-C_{20}$ алкенила, $-C_2-C_{20}$ алкинила, $-(C_0-C_{20}$ алкилен)-арила, $-(C_0-C_{20}$ алкилен)-карбоциклила, $-(C_0-C_{20}$ алкилен)-гетероциклила, $-(C_0-C_{20}$ алкилен)-гетероарила, $-(C_2-C_{20}$ алкенилен)-арила, $-(C_2-C_{20}$ алкенилен)-карбоциклила, $-(C_2-C_{20}$ алкенилен)-гетероциклила, $-(C_2-C_{20}$ алкенилен)-гетероарила, $-(C_2-C_{20}$ алкинилен)-арила, $-(C_2-C_{20}$ алкинилен)-карбоциклила, $-(C_2-C_{20}$ алкинилен)-гетероциклила и $-(C_2-C_{20}$ алкинилен)-гетероарила;

каждый R^4 выбран из $-CH(CH_3)-$, $-CH_2-$,



, и



каждый R^5 независимо выбран из $-OH$, $-O-C_1-C_4$ алкила и $-NH_2$;

каждый R^6 независимо выбран из водорода и $-C(O)R^8$;

R^7 представляет собой боковую цепь природной α -аминокислоты; и

каждый R^8 независимо выбран из водорода, C_1-C_4 алкила, $-O-C_1-C_4$ алкила, $-(C_1-C_4$ алкилен)-арила и $(C_1-C_4$ алкокси)-арила;

где:

каждый карбоциклil представляет собой 3-12-членный моноциклический углеводород или бициклический углеводород;

каждый арил представляет собой моноциклическую или бициклическую углеродную кольцевую систему, имеющую в общей сложности от 5 до 10 членов в кольце, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим;

каждый гетероарил представляет собой 5-12-членную, полностью ароматическую кольцевую систему, содержащую 1-4 гетероатома, выбранных из N, O и S;

каждый гетероциклил представляет собой 4-12-членную кольцевую систему, которая является насыщенной или частично ненасыщенной (но не ароматической), содержащая от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S;

каждая алкильная, алкиленовая, алкенильная, алкениленовая, алкинильная или алкиниленовая часть R^3 необязательно замещена до 6 заместителями, независимо выбранными из галогена, $-OH$, $-O-(C_1-C_4$ алкила), $-O-(C_1-C_4$ галогеналкила), карбоциклила, арила, гетероциклила и гетероарила;

каждая карбоциклильная, арильная, гетероциклильная или гетероарильная часть R^3 необязательно замещена до четырех заместителями, независимо выбранными из галогена, $-OH$, $-O-$

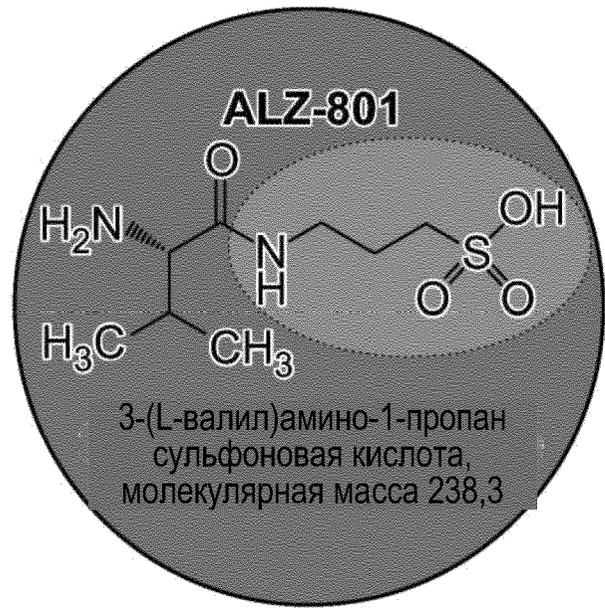
(C₁-C₄ алкила), -O-(C₁-C₄ галогеналкила), C₁-C₁₈ алкила, C₂-C₁₈ алкенила и C₂-C₁₈ алкинила, где алкильная, алкенильная или алкинильная части C₁-C₁₈ алкила, C₂-C₁₈ алкенила или C₂-C₁₈ алкинила, соответственно, необязательно замещены до шести заместителями, независимо выбранными из галогена, -ОН, -O-(C₁-C₄ алкила) и -O-(C₁-C₄ галогеналкила);

R¹ содержит не более 2 циклических фрагментов; и

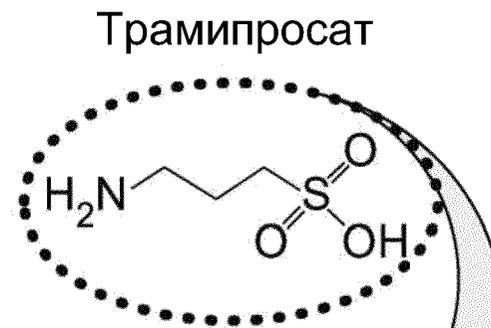
R² содержит не более 2 циклических фрагментов.

2. Применение по п. 1, где R² выбран из водорода и C₁-C₆ алкила.
3. Применение по пп. 1 или 2, где R² выбран из водорода и -CH₃.
4. Применение по любому из пп. 1-3, в котором R¹ выбран из -O-R³, -O-R⁴-CH(NHR⁶)-C(O)-R⁵, и -O-R⁴-CH(NHR⁶)-CH(OH)-R⁵; и R³ представляет собой C₁-C₄ алкил.
5. Применение по любому из пп. 1-4, где R⁶ выбран из водорода, -C(O)H, -C(O)CH₃, -C(O)O-C(CH₃)₃ и -C(O)O-бензила.
6. Применение по любому из пп. 1-5, где R⁵ выбран из -ОН, -OCH₃ и -OCH₂CH₃.
7. Применение по любому из пп. 1-6, в котором субъекту вводят соединение формулы I, только если субъект является гетерозиготным по ApoE4.
8. Применение по любому из пп. 1-6, в котором субъекту вводят соединение формулы I, только если субъект является гомозиготным по ApoE4/4.
9. Применение по любому из пп. 1-8, в котором субъекту вводят соединение формулы I, только если оценка субъекта по шкале MMSE составляет от 22 до 28 баллов до лечения.
10. Применение по любому из пп. 1-9, в котором субъекту вводят соединение формулы I, только если оценка субъекта по шкале MMSE составляет от 22 до 26 баллов до лечения.
11. Применение по любому из пп. 1-10, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA менее 25 нг/мл.
12. Применение по любому из пп. 1-11, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA от 6 нг/мл до 25 нг/мл.

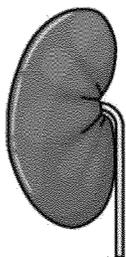
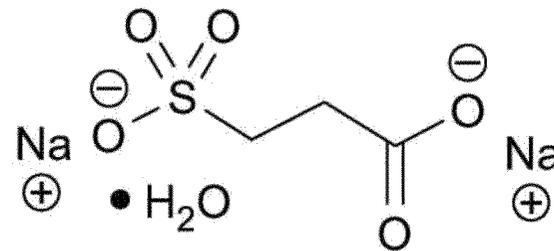
13. Применение по любому из пп. 1-11, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA менее 5 нг/мл.
14. Применение по любому из пп. 1-11 и 13, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA от 2 нг/мл до 4 нг/мл.
15. Применение по любому из пп. 1-14, для лечения болезни Альцгеймера у субъекта, имеющего i) концентрацию 3-SPA в спинномозговой жидкости менее 10 нг/мл; ii) оценка по шкале MMSE на исходном уровне составляет от 22 до 28 баллов; и iii) по меньшей мере один аллель ApoE4.
16. Применение по п. 15, в котором концентрация 3-SPA, присутствующей в спинномозговой жидкости субъекта, составляет 2-4 нг/мл.
17. Применение по пп. 15 или 16, в котором субъект является гомозиготным по ApoE4.
18. Применение по любому из пп. 1-17, для лечения болезни Альцгеймера у субъекта, имеющего i) концентрацию 3-SPA в спинномозговой жидкости, составляющую менее 10 нг/мл; и ii) оценку по шкале MMSE на исходном уровне, составляющую от 22 до 30 баллов.
19. Применение по п. 18, в котором субъекту вводят эффективное количество соединения, только если:
 - i) концентрация эндогенного соединения в СМЖ субъекта составляет менее 10 нг/мл;
 - ii) оценка субъекта по шкале MMSE на исходном уровне составляет от 22 до 28 баллов; и
 - iii) субъект имеет два аллеля ApoE4.
20. Применение по пп. 18 или 19, в котором субъекта отбирают только в том случае, если концентрация 3-SPA в спинномозговой жидкости субъекта составляет 2-4 нг/мл.



Основное преобразование
в печени в трамипросат под
действием амидазы



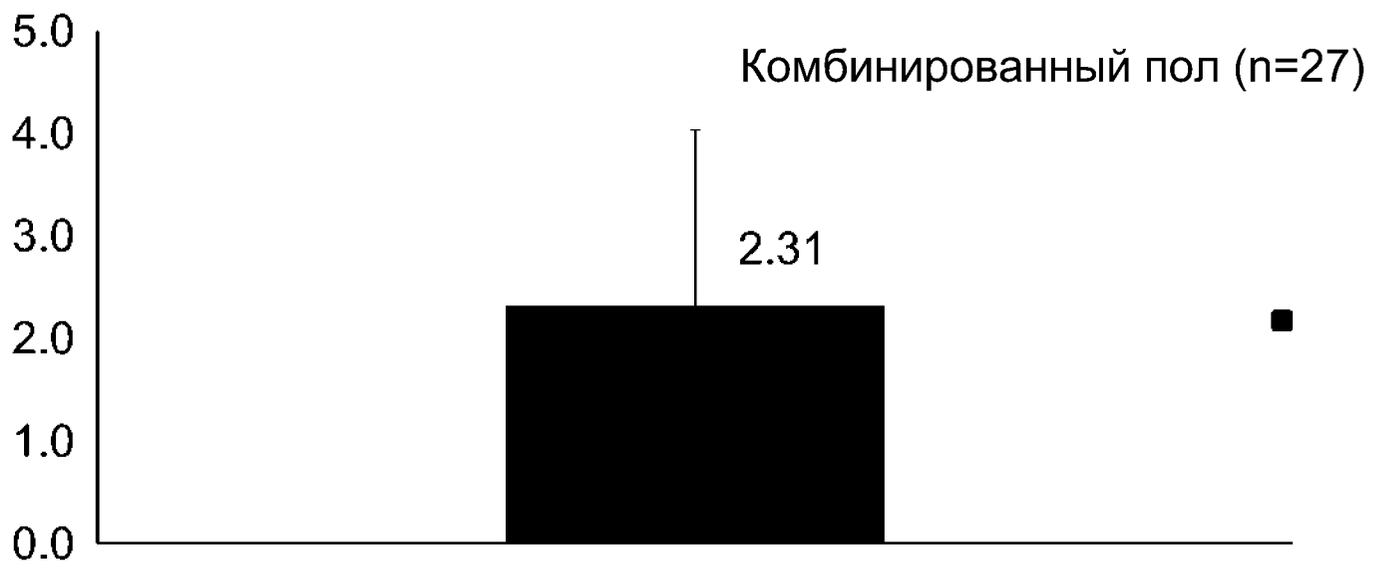
Первичный метаболит
5074 (двуосновная кислота)



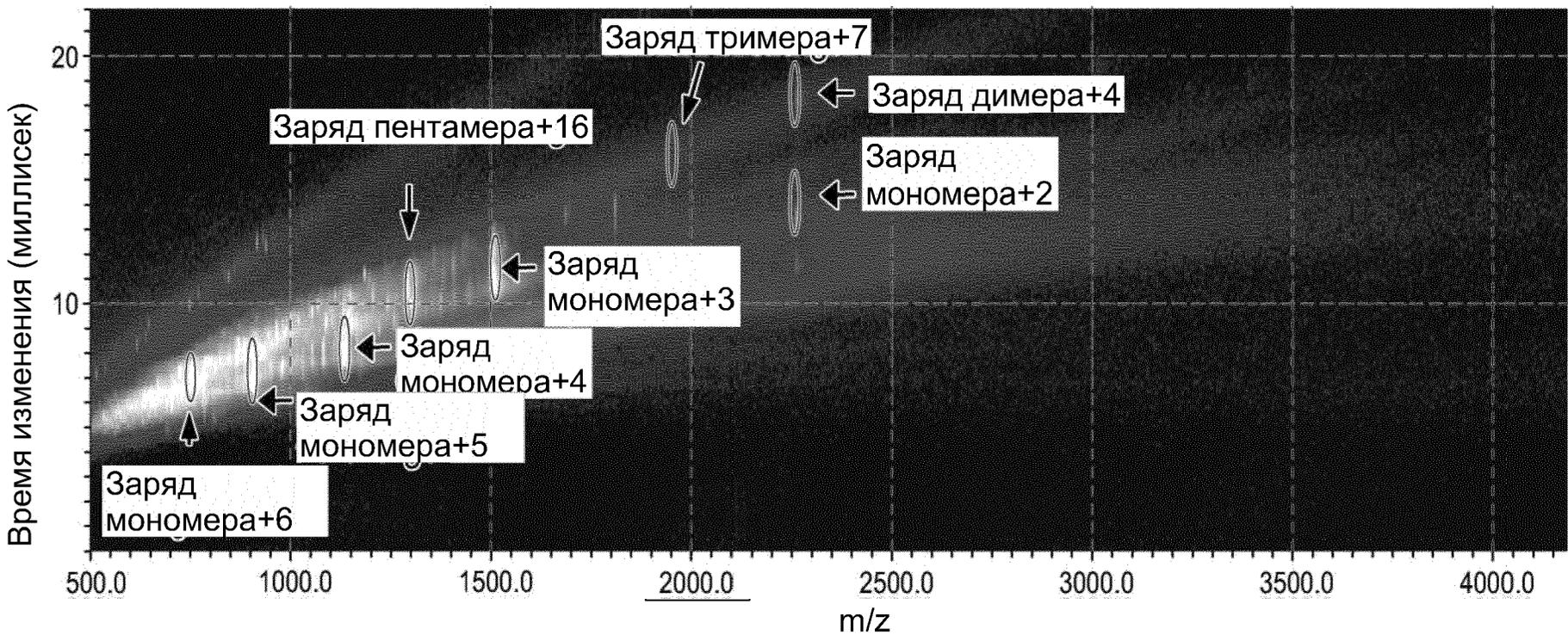
Выведение почками
Основной путь выведения
~100% трамипросата +
метаболита

ФИГ. 1

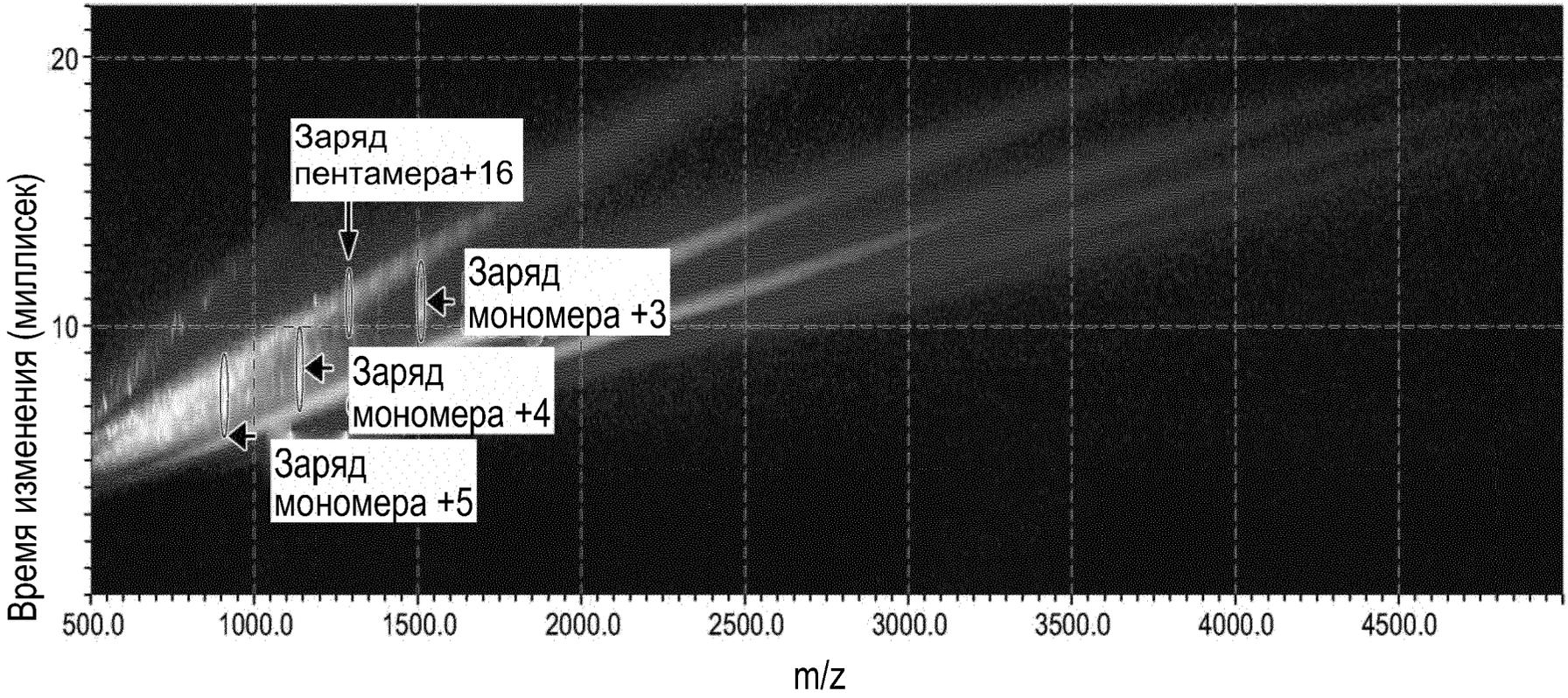
Эндогенная 3-SPA в СМЖ здорового взрослого человека



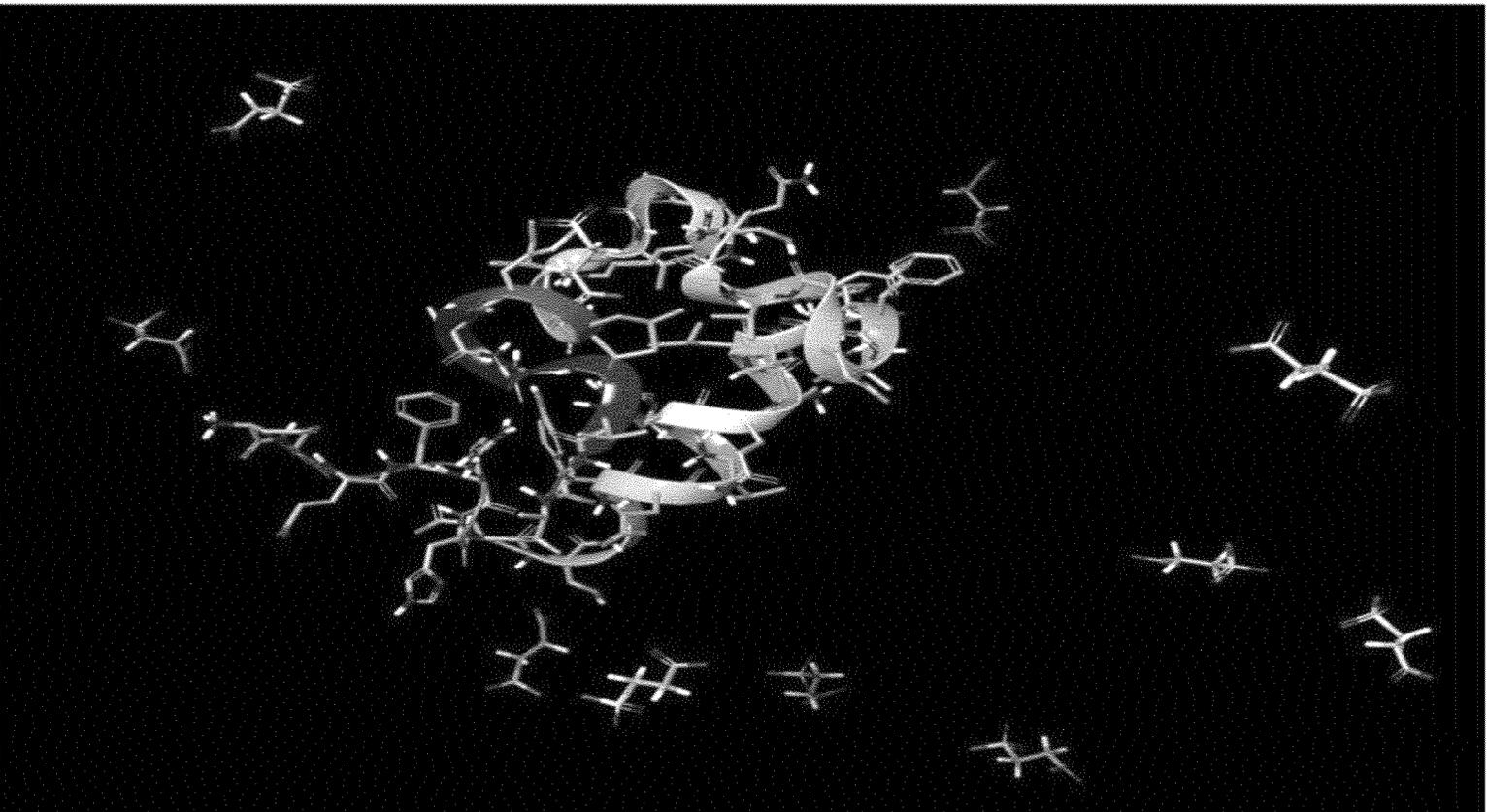
ФИГ. 2



ФИГ. 3



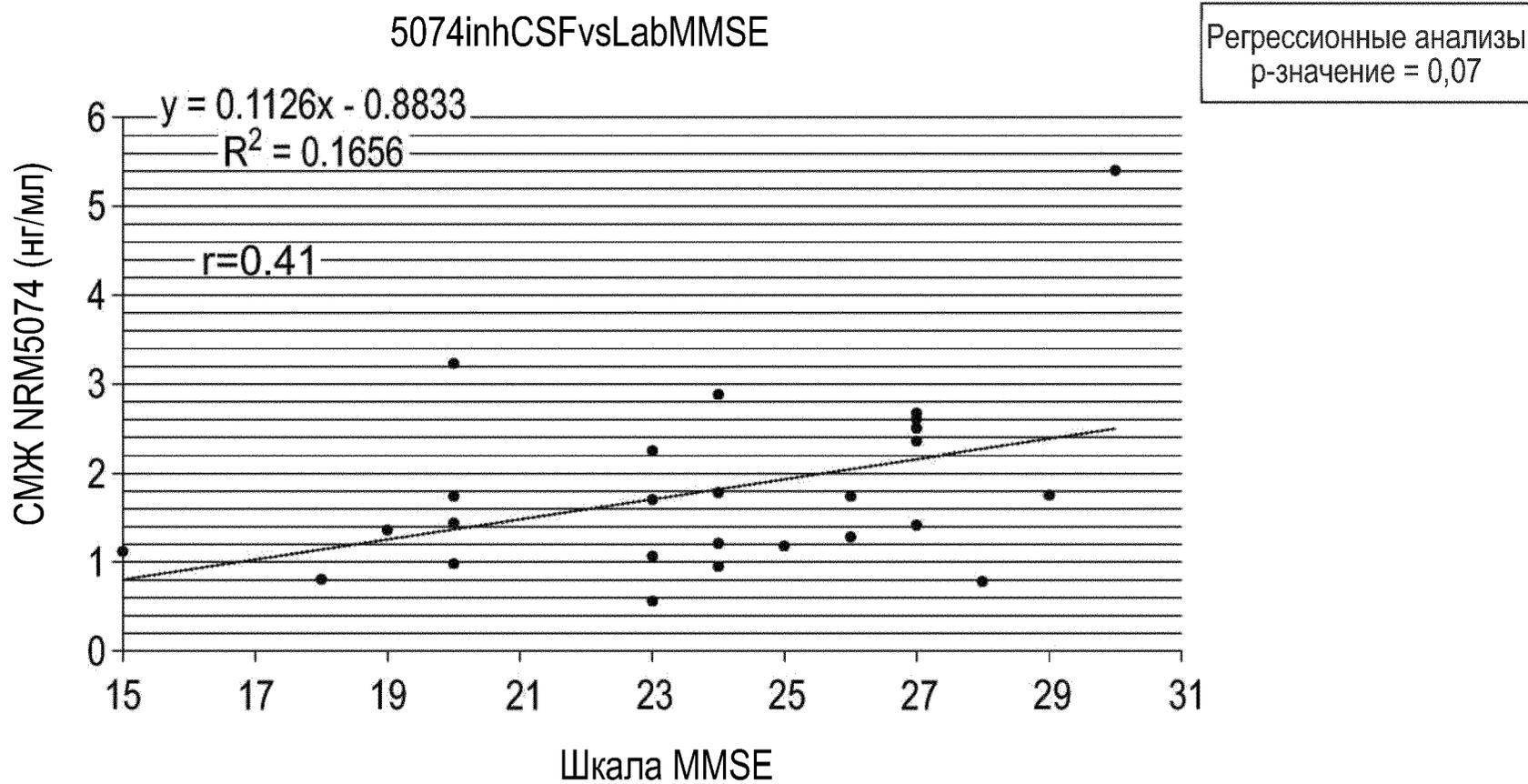
ФИГ. 4



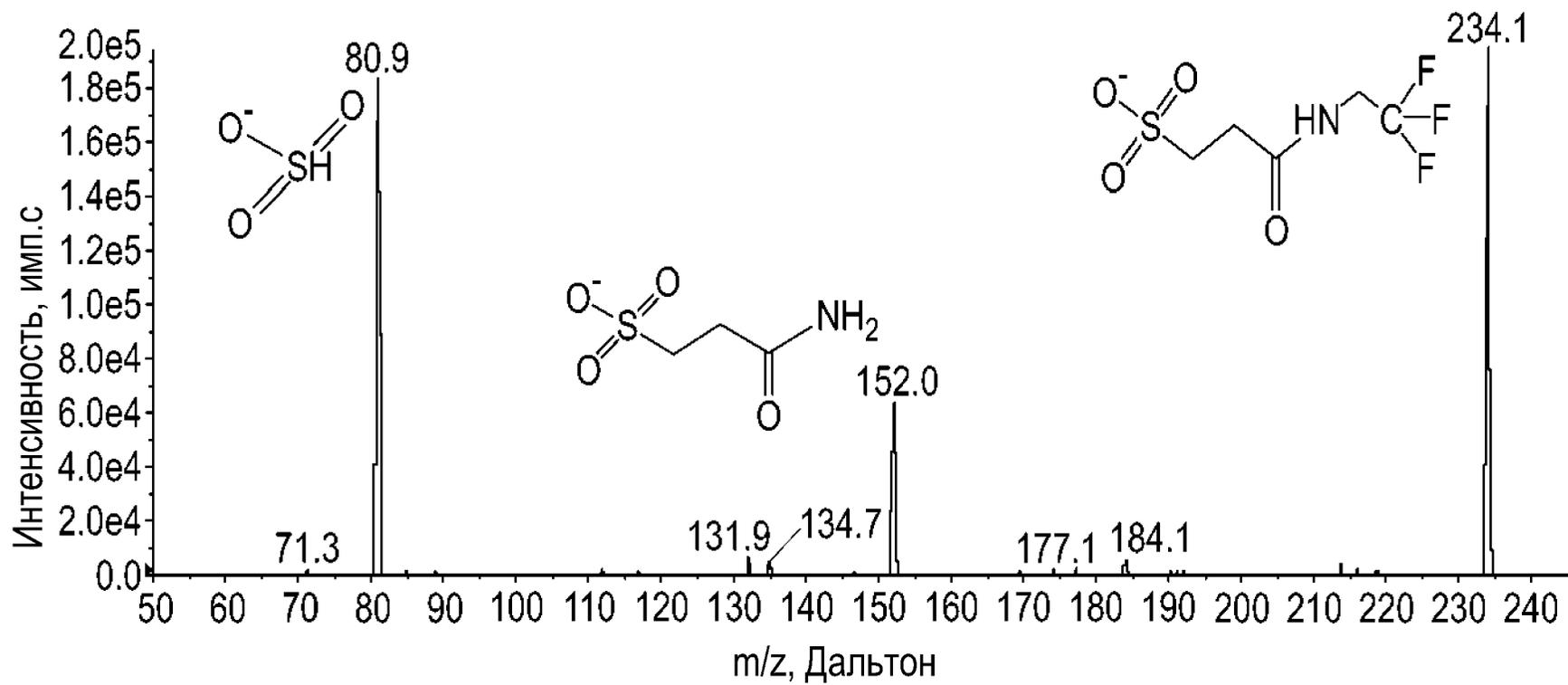
ФИГ. 5

Эндогенный 5074 в СМЖ человека показывает тенденцию корреляции с тяжестью по шкале MMSE

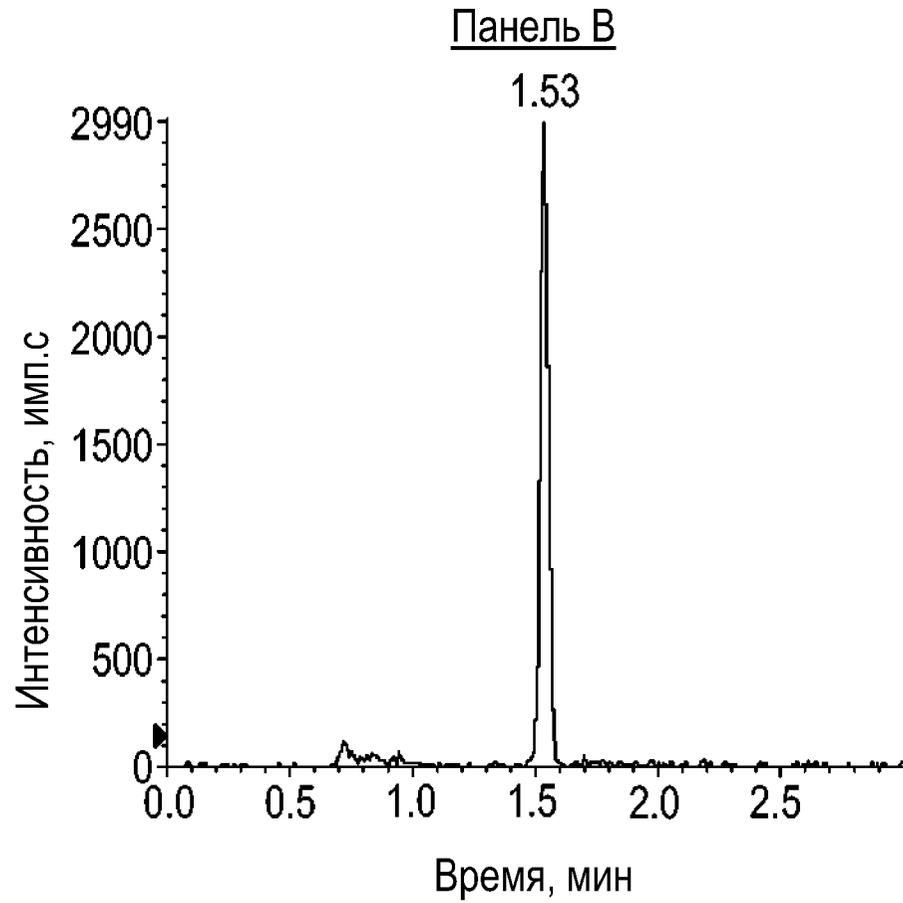
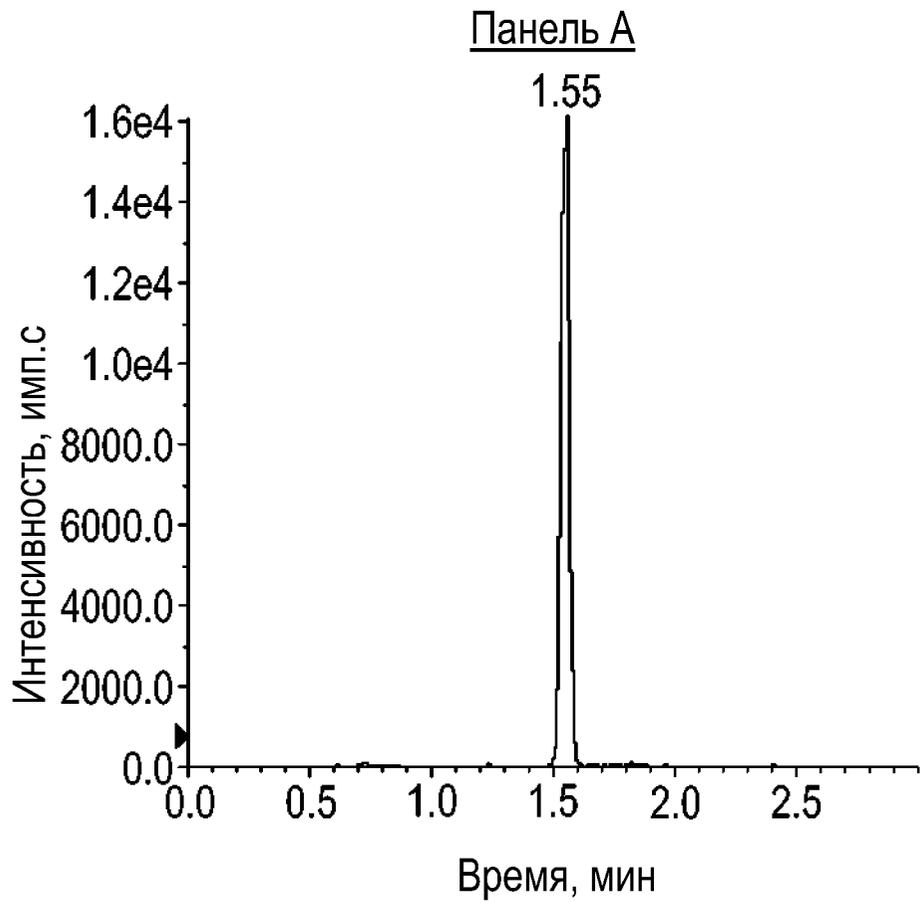
Более низкие уровни у пациентов с БА с более высокими оценками по шкале MMSE (n=27)



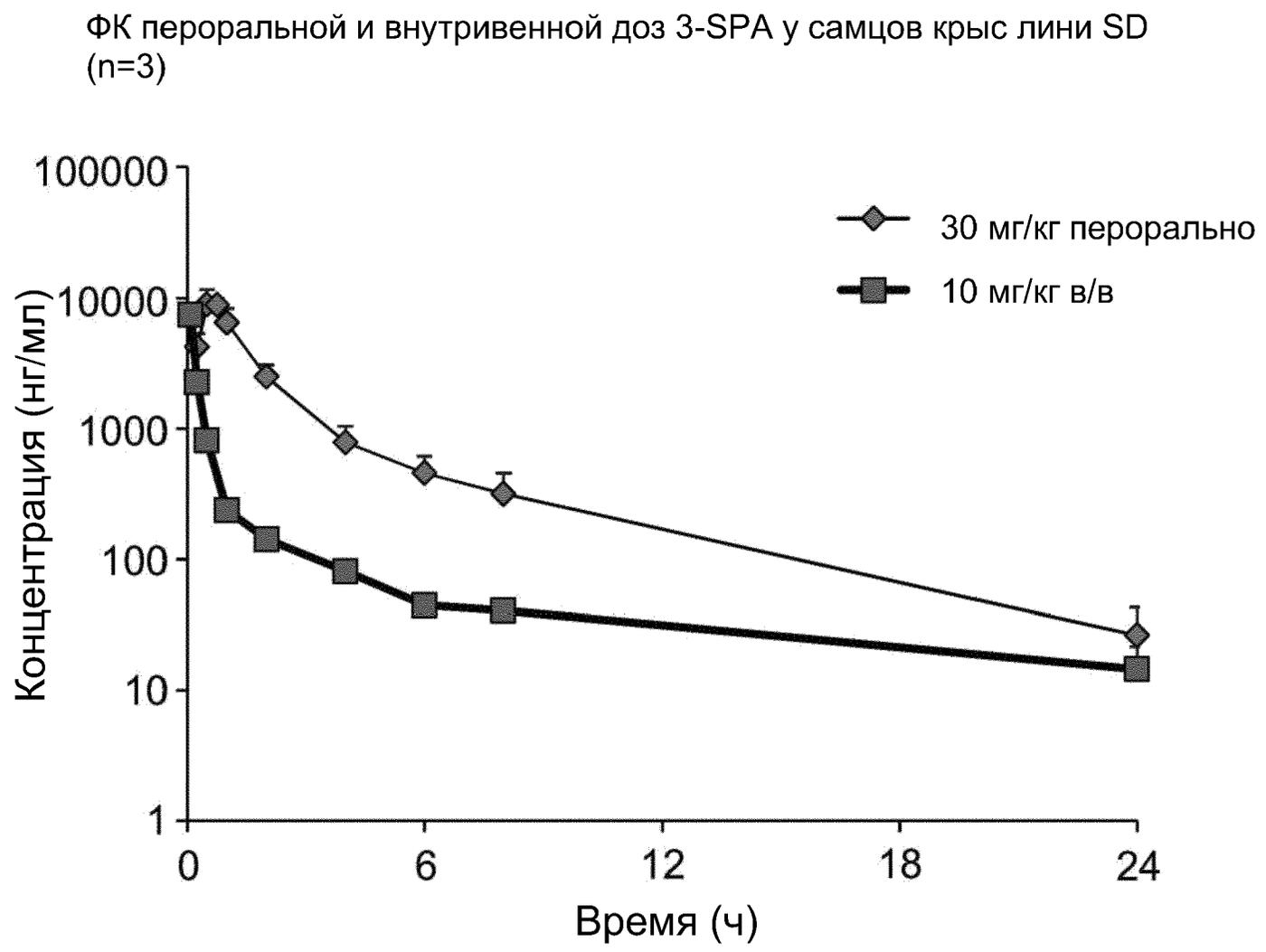
ФИГ. 6



ФИГ. 7

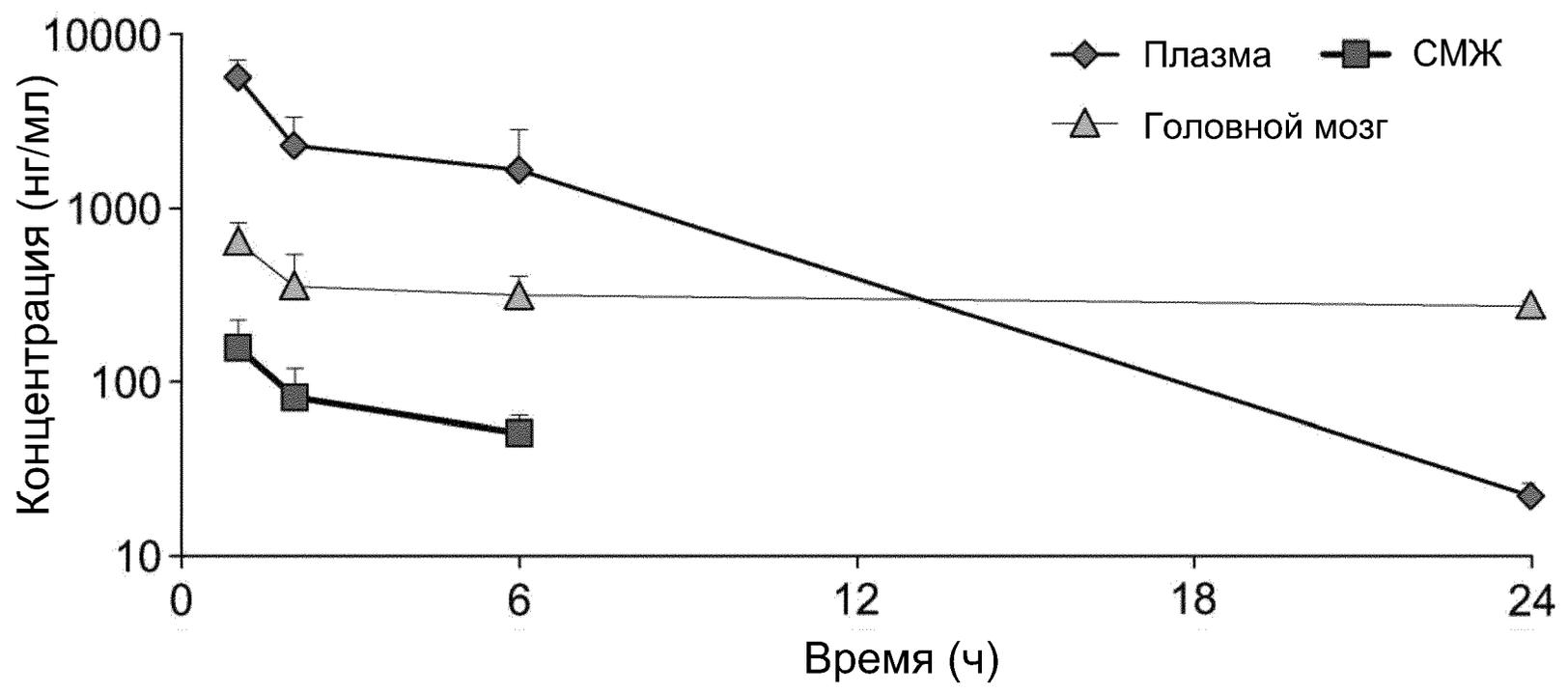


ФИГ. 8



ФИГ. 9

Трехкомпонентная (головной мозг, спинномозговая жидкость и плазма) временная ФК для однократной пероральной дозы 3-SPA 30 мг/кг у самцов крыс линии SD



ФИГ. 10

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 128219-00520	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2019/044114	International filing date (<i>day/month/year</i>) 30 July 2019 (30-07-2019)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 1 August 2018 (01-08-2018)
Applicant ALZHEON, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- the international application in the language in which it was filed
 a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).

c. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- the text is approved as submitted by the applicant
 the text has been established by this Authority to read as follows:

SULFOPROPANOIC ACID DERIVATIVES FOR TREATING NEURODEGENERATIVE DISORDERS

5. With regard to the **abstract**,

- the text is approved as submitted by the applicant
 the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
 as suggested by the applicant
 as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
 as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/044114

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. A61K31/221 A61K31/222 A61K31/223 A61K31/225 A61K31/255
 A61P25/28 G01N33/50 G01N33/52
 ADD.
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
 Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 A61K A61P G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 EPO-Internal, CHEM ABS Data, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96/28187 A1 (UNIV KINGSTON [CA]; KISILEVSKY ROBERT [CA] ET AL.) 19 September 1996 (1996-09-19) abstract page 1, paragraph 2 page 11, paragraph 2 page 14, last paragraph - page 15, line 2; claims figure 16; compound CII	1-6
A	WO 2017/044840 A1 (ALZHEON INC [US]) 16 March 2017 (2017-03-16) abstract; claims; examples ----- -/--	1-22

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 17 October 2019	Date of mailing of the international search report 24/10/2019
--	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Hoff, Philippe
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/044114

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>JOHN A. HEY ET AL: "Clinical Pharmacokinetics and Safety of ALZ-801, a Novel Prodrug of Tramiprosate in Development for the Treatment of Alzheimer's Disease", CLINICAL PHARMACOKINETICS., vol. 57, no. 3, 23 October 2017 (2017-10-23), pages 315-333, XP055633070, NZ ISSN: 0312-5963, DOI: 10.1007/s40262-017-0608-3 the whole document</p>	1-22
A	<p>----- S. Abushakra ET AL: "Clinical Benefits of Tramiprosate in Alzheimer's Disease Are Associated with Higher Number of APOE4 Alleles: The "APOE4 Gene-Dose Effect"", J Prev Alz Dis, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 219-228, XP055569473, DOI: 10.14283/jpad.2016.115 Retrieved from the Internet: URL:10.14283/jpad.2016.115 [retrieved on 2019-10-15] the whole document</p>	1-22
X,P	<p>----- JOHN A. HEY ET AL: "Discovery and Identification of an Endogenous Metabolite of Tramiprosate and Its Prodrug ALZ-801 that Inhibits Beta Amyloid Oligomer Formation in the Human Brain", CNS DRUGS, vol. 32, no. 9, 3 August 2018 (2018-08-03), pages 849-861, XP55631696, AUCKLAND, NZ ISSN: 1172-7047, DOI: 10.1007/s40263-018-0554-0 the whole document</p> <p>-----</p>	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No PCT/US2019/044114

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9628187	A1	19-09-1996	AT 306282 T 15-10-2005
			AU 716218 B2 24-02-2000
			BR 9607197 A 11-11-1997
			CA 2213759 A1 19-09-1996
			DE 69635271 T2 27-07-2006
			DK 0814842 T3 28-11-2005
			EP 0814842 A1 07-01-1998
			EP 1614432 A2 11-01-2006
			ES 2250985 T3 16-04-2006
			JP 3623236 B2 23-02-2005
			JP H11501635 A 09-02-1999
			JP 2004115539 A 15-04-2004
			JP 2008101020 A 01-05-2008
			NZ 303914 A 22-12-2000
			SI 0814842 T1 30-04-2006
			US 5840294 A 24-11-1998
			WO 9628187 A1 19-09-1996
WO 2017044840	A1	16-03-2017	AU 2016319107 A1 22-03-2018
			CA 2997376 A1 16-03-2017
			CN 108289870 A 17-07-2018
			EP 3347002 A1 18-07-2018
			JP 2018526407 A 13-09-2018
			KR 20180051561 A 16-05-2018
			WO 2017044840 A1 16-03-2017