(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202190406 (13) A1

# (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
**2021.10.15**

(22) Дата подачи заявки
**2019.07.30**

(51) Int. Cl. ***A61K 31/185*** (2006.01)
***A61K 31/19*** (2006.01)
***A61P 25/28*** (2006.01)

## (54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

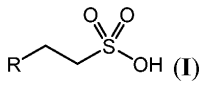
(31) **62/713,061**
(32) **2018.08.01**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/044023**
(87) **WO 2020/028290 2020.02.06**

(71) Заявитель:
**АЛЖЕОН, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Хей Джон, Косис Петр, Толар Мартин, Фланзраич Нил Уильям (US)**

(74) Представитель:
**Костюшенкова М.Ю., Угрюмов В.М., Строкова О.В., Гизатуллин Ш.Ф., Гизатуллина Е.М., Лебедев В.В., Джермакян Р.В., Парамонова К.В., Христофоров А.А. (RU)**

(57) Изобретение относится к области медицины. В данном документе предложены способы лечения нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера (БА). Также предложен способ предотвращения снижения когнитивных функций у субъекта и способ предотвращения деменции у субъекта. Способы по изобретению включают введение нуждающемуся в этом субъекту соединения, имеющего формулу (I), как описано в данном документе.



(I)

202190406 A1

202190406 A1

# СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

## РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

**[0001]** Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/713 061, 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 иммунотерапия были связаны с дозозависимым риском аномалией визуализации, связанной с амилоидом, отеком (ARIA-E), с повышенным риском, зарегистрированным у носителей APOE4. 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 APOE 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 ARIA-E при применении двух самых высоких доз адуканумаба. См. Sevigny et al. A dose titration regimen with aducanumab still shows approximately 35% incidence of ARIA-E in APOE 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 ARIA-E может протекать бессимптомно или с симптомами легкой степени, у некоторых пациентов могут развиться судороги или другие серьезные нежелательные явления. В связи с риском возникновения ARIA-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 Aβ42 признаны ключевыми факторами патогенеза БА, а повышенная концентрация олигомеров Aβ42 тесно коррелирует с началом и прогрессированием клинических симптомов. См., например, Viglietta et al. Было показано, что растворимые олигомеры Aβ вызывают синаптическое повреждение, гибель нейронов, способствуют фосфорилированию тау-белка и вызывают патологию тау-белка. См., например, Esparza et al., Amyolid 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 t 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 APOE 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 Aβ, 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 (Aβ) 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 Aβ *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]** Было обнаружено, что метаболит трамипросата, 3-сульфопропановая кислота (3-SPA) присутствуют в спинномозговой жидкости (СМЖ) человека и плазме субъектов, не получавших ранее лекарственные препараты. См., например, **ФИГ. 2**. Было обнаружено, что эта эндогенная 3-SPA ингибирует агрегацию A□42 в небольшие олигомеры с эффективностью, сопоставимой с эффективностью трамипросата. См., например, **ФИГ. 5** и **ФИГ. 6**.

**[0008]** 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. 7**. 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.

**[0009]** На основании этих результатов мы предполагаем, что повышение уровней 3-SPA в СМЖ 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 другого пролекарственного препарата, или предшественника трамипросата (все из которых в конечном итоге продуцируют 3-SPA), или экзогенной формы 3-SPA, включая пролекарственный препарат или предшественник 3-SPA.

**[0010]** Таким образом, в одном аспекте в данном документе предложены способы лечения нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера (БА), у субъектов, имеющих концентрацию 3-SPA ниже определенного исходного порогового

уровня, например, ниже значения концентрации 3-SPA в СМЖ (± 10%), определенного для MMSE 30 в наилучшем соответствии случайной популяции субъектов с болезнью Альцгеймера с различными когнитивными нарушениями.

**[0011]** 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 ε4 гена аполипопротеина 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).

**[0012]** 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 (± 10%), определенного для MMSE 30 в наилучшем соответствии случайной популяции субъектов, страдающих снижением когнитивных функций.

## КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

**[0013]** **На ФИГ. 1** проиллюстрировано метаболическое превращение ALZ-801 в 3-сульфопропановую кислоту (3-SPA).

**[0014]** **На ФИГ. 2** представлен график, показывающий концентрацию (нг/мл) 3-SPA, присутствующего в спинномозговой жидкости (СМЖ) человека у субъектов, не получавших ранее лекарственные препараты, которым не был поставлен диагноз БА.

**[0015]** 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 Aß42 с 3-SPA в соотношении 1:1000 с профилем олигомеров Aß42. Обнаружение димеров, тримеров и пентамеров Aβ42 в этих условиях показывает, что 4 часов инкубации *in vitro* было недостаточно для полного ингибирования образования олигомеров.

**[0016]** **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 Aβ42 с 1000-кратным избытком 3-SPA. Были обнаружены только пентамеры.

**[0017]** **На ФИГ. 5** изображено представление молекулярно-динамического эксперимента, показывающего полуциклическую конформацию Aβ42 в присутствии избытка 3-SPA в соотношении 1000:1. Функциональный результат 3-SPA аналогичен функциональному конечному результату, то есть ингибированию образования олигомера Aß42, обнаруженному с применением трамипросата (Kocis et al., Pharmacokinetic and Clinical Data. CNS Drugs 2017; 31:495–509).

**[0018]** **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).

**[0019]** **На ФИГ. 7** представлены спектры ЖХ-МС/МС аутентичного эталонного стандарта 3-SPA (дериватизированного с помощью EDC и TFEA).

**[0020]** **На ФИГ. 8 Панель А** представлены хроматограммы ЖХ-МС/МС для стандарта 3-SPA.

**[0021]** **На ФИГ. 8 Панель В** представлены хроматограммы ЖХ-МС/МС для СМЖ человека от одного субъекта с БА с MMSE 20.

**[0022]** **На ФИГ. 9** показаны средние фармакокинетические кривые для однократной пероральной и внутривенной доз 3-SPA у самцов крыс лини SD (30 мг/кг и 10 мг/кг, соответственно; n=3). Показанные данные представляют собой среднее значение ± СО.

**[0023]** **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 лини SD (n=3). Показанные данные представляют собой среднее значение ± СО.

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**[0024]** Трамипросат (гомотаурин, 3-амино-1-пропансульфоновая кислота (3-APS) или Alzhemed™) представляет собой соединение для перорального приема, которое связывается с растворимым Aβ и снижает агрегацию амилоида и последующее отложение. См., например, Gervais et al., Targeting soluble Abeta peptide with Tramiprosate for the treatment of brain amyloidosis. Neurobiol Aging. 2007;28:537–47. *In vitro*, трамипросат обеспечивает нейрозащиту против Aβ-индуцированной нейротоксичности в нейрональных и органотипических культурах гиппокампа мышей и реверсирует ингибирование Aβ-индуцированной долговременной потенциации (LTP) в гиппокампе крыс (Krzywkowski et al., Tramiprosate Prevents Amyloid Beta-induced Inhibition of Long-term Potentiation in Rat Hippocampal Slices. 8th International Conference AD/PD; March 14-18, 2007; Salzburg Austria), частично за счет активации рецепторов β-аминомасляной кислоты А (ГАМК-А). См.,

например, Azzi M, Morissette C, Fallon L. Involvement of both GABA-dependent and -independent pathways in tramiprosate neuroprotective effects against amyloid-beta toxicity. 8th International Conference AD/PD; March 14-18, 2007; Salzburg Austria. 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 APOE4/4 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. См. Abushakra et al., Clinical benefits of tramiprosate in alzheimer's disease are associated with higher number of APOE4alleles: the ''APOE4gene-dose effect''. J Prev Alz Dis. 2016;3:219–28.Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. EMBO Mol Med 2016; 8:595–608.

**[0025]** ALZ-801 представляет собой валиновый конъюгат трамипросата, который был оптимизирован для улучшения фармакокинетических свойств и желудочно-кишечной переносимости. Были завершены исследования хронической токсичности, необходимые для перехода ALZ-801 в исследования фазы 3, включая доклиническую характеристику безопасности ALZ-801, а также вспомогательное исследование безопасности для получения обширных данных о доклинической токсичности и безопасности трамипросата. ALZ-801 для перорального приема хорошо переносился и показал NOAEL в 1-месячных и 6-месячных исследованиях на крысах 2000 мг/кг и 1500 мг/кг, соответственно. Результаты исследований ADME (англ. Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion — абсорбция, распределение, метаболизм и выведение) на животных и у людей показывают, что ALZ-801 быстро абсорбируется после перорального приема и быстро превращается в трамипросат, что приводит к значительному улучшению доставки трамипросата в головной мозг. См., 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 и 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. Концентрации трамипросата в плазме сопоставимы при введении животным эквимолярных доз ALZ-801 и трамипросата. Как ALZ-801, так и трамипросат имеют согласующийся период полувыведения из плазмы у всех видов после

перорального приема повторных доз ALZ-801, что указывает на отсутствие потенциала к накоплению после постоянного приема. После превращения ALZ-801 в трамипросат, трамипросат последовательно метаболизируется *in vivo* в один основной метаболит, 3-сульфопропановую кислоту (3-SPA) у людей, мышей, крыс, собак и карликовых свиней. Для 3-SPA не наблюдалось дальнейшего метаболизма или взаимодействия с CYP, а выведение трамипросата, а также 3-SPA происходит через почки как у людей, так и у животных. Схематическое изображение представлено на **ФИГ. 1**.

**[0026]** Теперь мы обнаружили присутствие 3-SPA в спинномозговой жидкости (СМЖ) человека и плазме здоровых субъектов, ранее не получавших лекарственные препараты. См., например, **ФИГ. 2**. Как обсуждается в разделе «Примеры» ниже, эти результаты распространяются на субъектов с нарушениями когнитивных функций (например, диапазон MMSE 15-30). В последующих исследованиях *in vitro* для оценки влияния 3-SPA на образование олигомера анти-Aβ42 мы обнаружили, что 3-SPA ингибирует образование олигомеров Aβ42 способом, который является качественно и количественно сопоставимым с трамипросатом. См., например, **ФИГ. 3**, **ФИГ. 4** и **Таблицу 3.** В данном документе далее представлены и описаны сравнения молекулярных взаимодействий трамипросата и 3-SPA с Aβ42. См., например, **ФИГ. 5**.

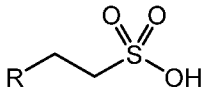
**[0027]** Мы также обнаружили обратную корреляцию между концентрацией 3-SPA в СМЖ и тяжестью когнитивных нарушений. Например, по мере снижения тяжести БА (что определяется увеличением баллов по шкале MMSE) в СМЖ были обнаружены более высокие концентрации 3-SPA. См. **ФИГ. 6**. В совокупности с нашим открытием того, что 3-SPA ингибирует образование олигомеров Aβ42 способом, который является качественно и количественно сопоставимым с трамипросатом, согласно данной тенденции предполагается, что 3-SPA способствует защитным эффектам, направленным против БА, и/или снижает вероятность прогрессирования заболевания.

**[0028]** Следовательно, в случаях, когда концентрация 3-SPA у субъекта ниже определенного исходного порогового уровня (например, ниже значения концентрации 3-SPA в СМЖ (± 10%), определенного для MMSE 30 в наилучшем соответствии случайной популяции субъектов с болезнью Альцгеймера), доставка или восполнение более высоких концентраций 3-SPA обеспечивает терапевтический подход для предотвращения или минимизации снижения когнитивных функций и прогрессирования нейродегенеративного заболевания, например БА. Кроме того, поддержание более высоких концентраций 3-SPA может предотвратить снижение когнитивных функций, например, предотвратить БА.

**[0029]** Соответственно, в первом варианте осуществления в данном документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий следующие этапы:

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

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

 (**I**), или его фармацевтически приемлемой соли, где:

R представляет собой COOH или $-CH_2NH-(AA^{1)}{}_q(AA^{2)}{}_t-H$;

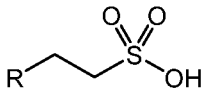
$AA^1$ and $AA^2$ каждый независимо, выбран из аланина (Ala), цистеина (Cys), аспарагиновой кислоты (Asp), глутаминовой кислоты (Glu), фенилаланина (Phe), глицина (Gly), гистидина (His), изолейцина (Ile), лизина (Lys), лейцина (Leu), метионина (Met), аспарагина (Asn), пролина (Pro), глутамина (Gln), аргинина (Arg), серина (Ser), треонина (Thr), валина (Val), триптофана (Trp), тирозина (Tyr), □ -аланина (□□ALA) и □-аминомасляной кислоты (ГАМК); и

q и t, каждый независимо, выбран из 0 или 1.

**[0030]** Во втором варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий следующие этапы:

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

b) введение субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**:

 (**I**), или его фармацевтически приемлемой соли, только если количество эндогенного соединения у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня; где

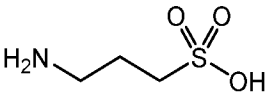
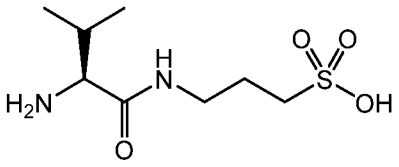
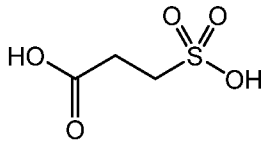
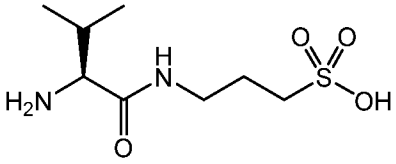
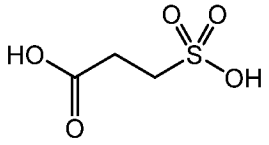
R представляет собой COOH или $-CH_2NH-(AA^{1)}{}_q(AA^{2)}{}_t-H$;

$AA^1$ и $AA^2$ каждый независимо, выбран из аланина (Ala), цистеина (Cys), аспарагиновой кислоты (Asp), глутаминовой кислоты (Glu), фенилаланина (Phe), глицина (Gly), гистидина (His), изолейцина (Ile), лизина (Lys), лейцина (Leu), метионина (Met), аспарагина (Asn), пролина (Pro), глутамина (Gln), аргинина (Arg), серина (Ser), треонина (Thr), валина (Val), триптофана (Trp), тирозина (Tyr), □-аланина (□-ALA) и □-аминомасляной кислоты (ГАМК); и

q и t, каждый независимо, выбран из 0 или 1.

**[0031]** В третьем варианте осуществления t в соединении формулы **I** равно 0, а q равно 1.

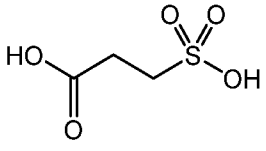
**[0032]** В четвертом варианте осуществления $AA^1$ в соединении формулы **I** выбран из аланина (Ala), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), серина (Ser) и валина (Val). Альтернативно, в пятом варианте осуществления $AA^1$ в соединении формулы **I** выбран из аланина (Ala), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), серина (Ser) и валина (Val); t равно 0; а q равно 1.

**[0033]** В шестом варианте осуществления соединение формулы **I** представляет собой  ,  , или  ; или его фармацевтически приемлемую соль. Альтернативно, в седьмом варианте осуществления соединение формулы **I** представляет  собой; или его фармацевтически приемлемую соль. В другом альтернативном седьмом варианте осуществления соединение формулы **I** представляет  собой; или его фармацевтически приемлемую соль.

**[0034]** Субъекты в настоящих способах могут быть стратифицированы (то есть дополнительно отобраны) по их оценкам по шкале MMSE до лечения. Например, в восьмом варианте осуществления субъект, проходящий лечение согласно вариантам осуществления, описанным в данном документе (например, как в первом или втором вариантах осуществления), имеет оценку по шкале MMSE более 19 баллов (например, более 20, более 21, более 22, более 23, более 24, более 25 или более 26 баллов) до лечения; и необязательно соединение формулы **I** может быть выбрано из любого из соединений, описанных в третьем, четвертом, пятом, шестом или седьмом вариантах осуществления. В другом аспекте субъект, проходящий лечение согласно вариантам осуществления, описанным в данном документе (например, как в первом или втором вариантах осуществления), имеет оценку по шкале MMSE от 16 до 30 баллов (например, оценку по шкале MMSE от 22 до 30 баллов, оценку по шкале MMSE от 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 необязательно

соединение формулы **I** может быть выбрано из любого из соединений, описанных в третьем, четвертом, пятом, шестом или седьмом вариантах осуществления.

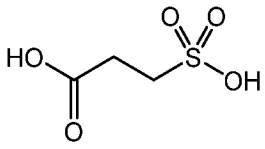
**[0035]** В дополнение к шкале MMSE субъект также может иметь определенные генетические факторы, такие как наличие аллелей APOE4 (например, являться гомо- или гетерозиготным по APOE4), или другие маркеры амилоида, такие как наличие амилоида головного мозга, или и то, и другое. Описанные в данном документе субъекты также могут иметь по меньшей мере один аллель ε4 APOE. Например, в девятом варианте осуществления субъект, проходящий лечение согласно вариантам осуществления, описанным в данном документе (например, как в первом, втором или восьмом вариантах осуществления), является гетерозиготным по APOE4 до лечения; и необязательно соединение формулы **I** может быть выбрано из любого из соединений, описанных в третьем, четвертом, пятом, шестом или седьмом вариантах осуществления. Альтернативно, в десятом варианте осуществления субъект, проходящий лечение согласно вариантам осуществления, описанным в данном документе (например, как в первом, втором или восьмом вариантах осуществления), является гомозиготным по APOE4 до лечения; и необязательно соединение формулы **I** может быть выбрано из любого из соединений, описанных в третьем, четвертом, пятом, шестом или седьмом вариантах осуществления. 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 десятого варианта осуществления субъекта отбирают для лечения, если он или она является гомозиготным по APOE4 и имеет оценку по шкале MMSE 22-28.

**[0036]** В одиннадцатом 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 фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы  или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемого носителя.

**[0037]** В двенадцатом варианте осуществления субъект по одиннадцатому 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; b) у субъекта имеется по меньшей мере один аллель ApoE4; или c) у субъекта имеется болезнь Альцгеймера в семейном анамнезе. В качестве альтернативы, субъект по одиннадцатому варианту осуществления нуждается в предотвращении заболевания, если присутствует одно или более из следующего: a) уровень 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня; b) у субъекта имеется по меньшей мере два аллеля ApoE4; или c) у субъекта имеется болезнь Альцгеймера в семейном анамнезе.

**[0038]** В тринадцатом 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 фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы




или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемого носителя.

**[0039]** В четырнадцатом варианте осуществления деменция по тринадцатому 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.

**[0040]** В пятнадцатом варианте осуществления деменция по тринадцатому 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.

**[0041]** В одном аспекте концентрация 3-SPA, присутствующая у субъекта по описанным способам (например, как в вариантах осуществления со первого по десятый, двенадцатом и пятнадцатом), 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.

**[0042]** 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 (± 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 (± 10%), определенная в случайной популяции БА при оценке по шкале MMSE ≤ 29; (3) собственная концентрация 3-SPA в СМЖ субъекта (± 5%), определенная до появления каких-либо симптомов БА; (4) средняя концентрация 3-SPA в СМЖ (± 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: (a) значения концентрации 3-SPA в СМЖ (± 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 (b) наивысшей концентрации 3-SPA в СМЖ (± 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 (± 10%), определенной в случайной популяции БА для оценки по шкале MMSE, равной 22 баллам или выше); (6) значение концентрации 3-SPA в СМЖ (± 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-

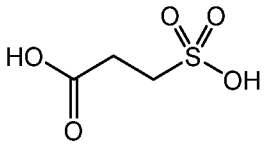
85 лет. В еще других аспектах средний возраст популяции субъектов составляет 58 лет и более. В некоторых аспектах, когда критерии отбора дополнительно включают в себя статус ApoE4, случайная популяция субъектов с болезнью Альцгеймера различной степени тяжести, из которой можно вывести линию наилучшего 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.

**[0043]** 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 нг/мл до 25 нг/мл (например, от 7 нг/мл до 25 нг/мл, от 8 нг/мл до 25 нг/мл, от 9 нг/мл до 25 нг/мл, от 6 нг/мл до 24 нг/мл или от 6 нг/мл до 23 нг/мл.

**[0044]** 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.

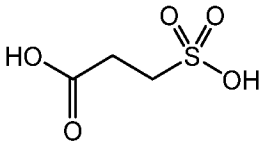
**[0045]** В шестнадцатом варианте осуществления в настоящем документе предложен способ лечения субъекта, страдающего БА, включающий введение субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу **I**, как определено в данном документе, при этом субъект имеет оценку по шкале MMSE, равную 30 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.

**[0046]** В семнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ лечения субъекта, страдающего БА, включающий введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы  или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемого носителя, 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.

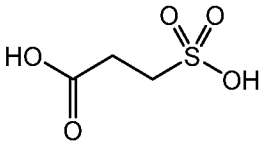
**[0047]** В восемнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий:

a) отбор субъекта, имеющего оценку по шкале MMSE 22-28 баллов; и

b) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу:  или его фармацевтически приемлемой соли.

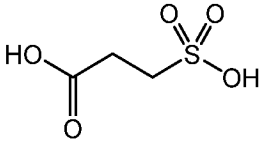
**[0048]** В девятнадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий:

a) отбор субъекта, который является гомозиготным по APOE4 или гетерозиготным по APOE4; и

b) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу:  или его фармацевтически приемлемой соли.

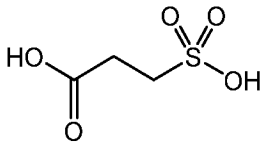
**[0049]** В двадцатом варианте осуществления в данном документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий:

a) отбор субъекта, имеющего оценку по шкале MMSE 22-28 баллов, и являющегося гомозиготным по APOE4 или гетерозиготным по APOE4; и

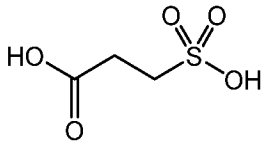
b) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу:  или его фармацевтически приемлемой соли.

**[0050]** В некоторых аспектах вариантов осуществления с восемнадцатого по двадцатый субъекта отбирают, если субъект имеет оценку по шкале MMSE 22-26 баллов. В некоторых аспектах вариантов осуществления с восемнадцатого по двадцатый субъекта отбирают, если субъект является гомозиготным по APOE4. В некоторых аспектах вариантов осуществления с восемнадцатого по двадцатый субъекта отбирают, если субъект является гомозиготным по APOE4 и имеет оценку по шкале MMSE 22-28 баллов. В некоторых аспектах вариантов осуществления с восемнадцатого по двадцатый субъекта отбирают, если субъект является гомозиготным по APOE4 и имеет оценку по шкале MMSE 22-26 баллов.

**[0051]** В двадцать первом 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:

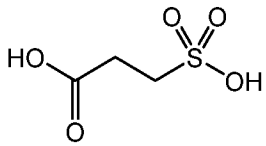


или его фармацевтически приемлемой соли. В другом аспекте в настоящем документе предложен способ отбора и лечения субъекта, страдающего БА, включающий: а) отбор субъекта, имеющего оценку по шкале MMSE от 16 до 30 баллов (например, оценку по шкале MMSE от 22 до 30 баллов, оценку по шкале MMSE 22 до 28 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:



или его фармацевтически приемлемой соли.

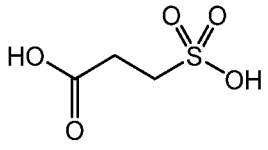
**[0052]** В двадцать втором варианте осуществления в данном документе предложен способ предотвращения БА, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества соединения, имеющего формулу



, или его фармацевтически приемлемой соли.

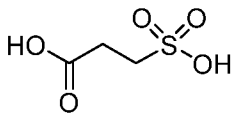
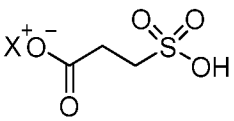
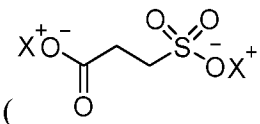
**[0053]** В двадцать третьем варианте осуществления в данном документе предложен способ предотвращения снижения когнитивных функций у субъекта, у которого нет

симптомов, но который подвержен риску возникновения БА или снижения когнитивных функций, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества

соединения, имеющего формулу  , или его фармацевтически приемлемой соли. Субъекты, входящие в группу риска, будут включать, например, наличие APOE4/4 (или обоих APOE4 и APOE4/4), пожилой возраст или паттерн семейного снижения когнитивных функций, или комбинацию двух или более из вышеперечисленных.

**[0054]** 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 Aβ и, таким образом, привести к предотвращению БА или снижения когнитивных функций.

**[0055]** 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.

**[0056]** 3-сульфопропановая кислота и 3-SPA используются взаимозаменяемо и относятся к соединению, имеющему структуру  , а также к моно- (  ) или дионным (  ) солевым формам, где $X^+$ представляет собой противоион, такой как натрий.

**[0057]** 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.

**[0058]** 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.

**[0059]** «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.

**[0060]** 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, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат, камфорсульфонат и памоатные (*т.е.* 1,1'-метилен-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.

**[0061]** «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.

**[0062]** Термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному носителю, адъюванту 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.

**[0063]** 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.

**[0064]** 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.

**[0065]** 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.

## ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ПРИМЕРЫ

**[0066] 1. Способы**

*Забор и обработка образцов спинномозговой жидкости человека*

**[0067]** 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 (MCI 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 (MCI, 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 °C. 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.

**[0068]** 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 (Aβ1-42, 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*

**[0069]** 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*

**[0070]** Образцы эталонного материала 3-SPA и образцы СМЖ человека смешивали с N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимидом (EDC) и 2,2,2-трифторэтиламином (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% ± 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*

**[0071]** 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 1IYT Aβ42 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)*

**[0072]** 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.

**[0073]** 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*

**[0074]** 1 мг рекомбинантного пептида Aß42 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 DriftScover v2.7 для визуализации изменение времени для пептида.

*Определение характеристик видов Aß42*

**[0075]** Определение характеристик видов Aß42 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*

**[0076]** Сбор данных по пептиду выполняли Aß42 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.

**[0077]** 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 Aβ42.

**[0078]** 1 мг рекомбинантного пептида Aβ42 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-Доули (SD)*

**[0079]** Фармакокинетику 3-SPA при пероральном приеме и внутривенном введении оценивали натощак на крысах-самцах линии Спрег-Доули 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 K2EDTA, и обрабатывали для получения плазмы посредством центрифугирования. Образцы плазмы хранили при -80°C до проведения биоанализов.

**[0080]** 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 Nextcea. 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).

**[0081]** **2. Результаты**

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

**[0082]** *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. [M-H]- 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 нарушениями памяти** | **Концентрация 3-SPA в СМЖ нг/мл (нМ) Комбинированный пол** | **Концентрация 3-SPA в СМЖ нг/мл (нМ) Мужчины** | **Концентрация 3-SPA в СМЖ нг/мл (нМ) Женщины** |
|---|---|---|---|
| n | 64 | 27 | 37 |
| Возраст | 68,6 ± 8,5 лет | 69,0 ± 8,7 лет | 68,1 ± 8,5 лет |
| Клинический диагноз* | БА-14<br>MCI вследствие БА-20 | БА-14<br>MCI вследствие БА-11 | БА-10<br>MCI вследствие БА-9 |

| | MCI (другое)-7<br>ЛВДД-18<br>Другое- | MCI (другое)-2<br>ЛВДД-9<br>Другое-1 | MCI (другое)-5<br>ЛВДД-9<br>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, MCI — легкое когнитивное нарушение, ЛВДД — лобно-височная долевая дегенерация, другое заболевание с тельцами Леви, сосудистая деменция, смешанное заболевание

**[0083]** 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 Aβ42 в СМЖ у пациентов с БА (от 0,04 до 0,1 нМ) (Bakan et al., ProDy: 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 Aβ42, который попадает в диапазон, в котором у некоторых пациентов может проявляться активность частичной антиолигомерной агрегации Aβ (**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 лекарственные 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-Aβ42 олигомерная активность 3-SPA*

**[0084]** Чтобы рассмотреть высокую конформационную гибкость Aß42 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 Aβ представляет собой предотвращение образования олигомеров. Мы обнаружили не только зависимость от концентрации, но также зависимость от времени этого анти-Aβ42 олигомерного эффекта 3-SPA, как показано на **ФИГ. 3** и **ФИГ. 4.** Сводные данные по зависимости превышения концентрации 3-SPA относительно Aß42 представлены в **таблице 3**. Молярный избыток 3-SPA в 100 раз по сравнению с 1000 раз относительно Aß42 приводит к получению профиля ингибирования другого подвида образования олигомера Aß42. Активность также сравнивают с такой же избыточной зависимостью трамипросата. Для 3-SPA показано практически полное предотвращение образования олигомеров Aß42, за исключением пентамеров.

**Таблица 3 - Сравнение олигомерной активности анти-Aβ42 3-SPA по сравнению с трамипросатом при соотношениях избытков соединения:белка 100:1 и 1000:1**

| **Виды олигомеров** | **Только Aß42** | **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.

**[0085]** В то время как функциональные конечные результаты, то есть ингибирование образования олигомера Aß42, 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 Aβ42 (**ФИГ. 5**). Это протонированные аминогруппы Asp1, Lys16, Lys28, His13,14. В то же время действуют силы отталкивания 3-SPA дианионных и карбоксилатных групп Aß42. Эта взаимозависимость ионных взаимодействий вносит вклад в значительные конформационные изменения видов мономера Aß42.

**[0086]** 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 Aß42. 3-SPA взаимодействует с Aß42 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-Aß42 олигомерный результат для обоих соединений. Трамипросат показал полное ингибирование образования олигомеров Aß42 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 Aβ42. 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*

**[0087]** 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% |

**[0088] 3. Обсуждение**

**[0089]** 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 ± 4,3 нМ. Мы также показали, что 3-SPA вызывает анти-Aβ42 олигомерный эффект как в зависимости от времени, так и от концентрации. См. раздел Анти-Aß42 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.

**[0090]** 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. Поддержание достаточных уровней 3-SPA или повышение более низких уровней 3-SPA может частично достигаться посредством лечения AZL-801, трамипросатом, другими предшественниками трамипросата (такими, как те, которые представлены в формуле **I**) или фармацевтическими композициями, содержащими 3-SPA. Таким образом, терапевтические подходы, описанные в данном документе, обеспечивает новые средства для снижения нейротоксичности бета-амилоидного олигомера и обеспечивают клинически значимые результаты для лечения когнитивных расстройств, таких как БА.

**[0091]** 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.

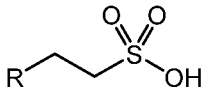
**[0092]** Содержание всех ссылок (включая ссылки на литературные источники, выданные патенты, опубликованные заявки на патенты и одновременно рассматриваемые заявки на патенты), которые могут быть процитированы в данной заявке, настоящим полностью включены в данный документ посредством ссылки. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значения, известные специалисту в данной области техники.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ отбора и лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий следующие этапы:

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

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

 (**I**), или его фармацевтически приемлемой соли.

где:

R представляет собой COOH или $-CH_2NH-(AA^{1)}{}_q(AA^{2)}{}_t-H$;

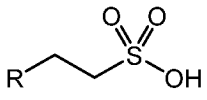
$AA^1$ и $AA^2$ каждый независимо, выбран из аланина (Ala), цистеина (Cys), аспарагиновой кислоты (Asp), глутаминовой кислоты (Glu), фенилаланина (Phe), глицина (Gly), гистидина (His), изолейцина (Ile), лизина (Lys), лейцина (Leu), метионина (Met), аспарагина (Asn), пролина (Pro), глутамина (Gln), аргинина (Arg), серина (Ser), треонина (Thr), валина (Val), триптофана (Trp), тирозина (Tyr), □-аланина (□-ALA) и □-аминомасляной кислоты (ГАМК); и

q и t, каждый независимо, выбран из 0 или 1.

2. Способ лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий следующие этапы:

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

b) введение субъекту эффективного количества соединения формулы **I**:

 (**I**); или его фармацевтически приемлемой соли, только если концентрация 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня;

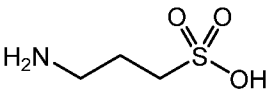
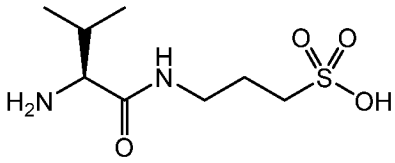
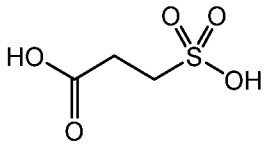
где:

R представляет собой COOH или $-CH_2NH-(AA^{1)}{}_q(AA^{2)}{}_t-H$;

$AA^1$ и $AA^2$ каждый независимо, выбран из аланина (Ala), цистеина (Cys), аспарагиновой кислоты (Asp), глутаминовой кислоты (Glu), фенилаланина (Phe), глицина (Gly), гистидина (His), изолейцина (Ile), лизина (Lys), лейцина (Leu), метионина (Met), аспарагина (Asn), пролина (Pro), глутамина (Gln), аргинина (Arg), серина (Ser), треонина (Thr), валина (Val), триптофана (Trp), тирозина (Tyr), □-аланина (□-ALA) и □-аминомасляной кислоты (ГАМК); и

q и t, каждый независимо, выбран из 0 или 1.

3. Способ по пп. 1 или 2, в котором концентрация 3-SPA у субъекта представляет собой концентрацию 3-SPA в спинномозговой жидкости.

4. Способ по любому из пп. 1–3, в котором соединение формулы **I** представляет собой  ,  , или  ; или их фармацевтически приемлемую соль.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором субъекта отбирают или субъекту вводят соединение формулы **I**, только если субъект является гетерозиготным по ApoE4.

6. Способ по любому из пп. 1-4, в котором субъекта отбирают или субъекту вводят соединение формулы **I**, только если субъект является гомозиготным по ApoE4/4.

7. Способ по любому из пп. 1-6, в котором субъекта отбирают или ему вводят соединение формулы **I**, только если оценка субъекта по шкале MMSE составляет от 22 до 28 баллов до лечения.

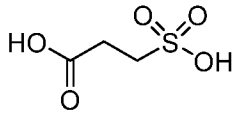
8. Способ по любому из пп. 1-7, в котором субъекта отбирают или ему вводят соединение формулы **I**, только если оценка субъекта по шкале MMSE составляет от 22 до 26 баллов до лечения.

9. Способ по любому из пп. 1-8, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA менее 25 нг/мл.

10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA от 6 нг/мл до 25 нг/мл.

11. Способ по любому из пп. 1-9, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA менее 5 нг/мл.

12. Способ по любому из пп. 1-9 и 11, в котором предварительно определенный исходный пороговый уровень определяется как концентрация 3-SPA от 2 нг/мл до 4 нг/мл.

13. Способ предотвращения снижения когнитивных функций у субъекта, включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы  или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемый носитель.

14. Способ по п. 13, в котором субъект нуждается в предотвращении заболевания, если:

a) уровень 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня; и/или

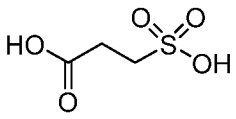
b) субъект имеет по меньшей мере один аллель ApoE4; и/или

c) у субъекта имеется болезнь Альцгеймера в семейном анамнезе.

15. Способ по п. 14, в котором субъект нуждается в предотвращении заболевания, если:

a) уровень 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня; и/или

b) субъект имеет по меньшей мере два аллеля ApoE4.

16. Способ предотвращения деменции у субъекта, включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы  или его фармацевтически приемлемую соль; и фармацевтически приемлемый носитель.

17. Способ по п. 16, в котором субъект нуждается в предотвращении заболевания, если:

a) уровень 3-SPA у субъекта ниже предварительно определенного исходного порогового уровня; и/или

b) у субъекта имела место по меньшей мере одна травма головы.

18. Способ отбора и лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий:

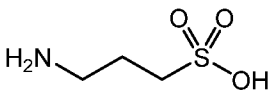
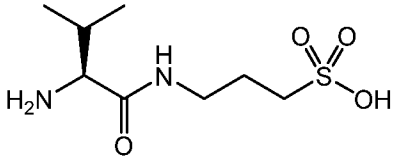
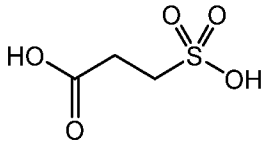
a) отбор пациента при условии, что:

i. 3-SPA присутствует в образце спинномозговой жидкости, взятом у субъекта, в концентрации менее 10 нг/мл;

ii. оценка субъекта по шкале MMSE на исходном уровне составляет от 22 до 28 баллов; и

iii. у субъекта имеется по меньшей мере один аллель ApoE4; и

b) введение отобранному субъекту эффективного количества соединения, имеющего структурную формулу:


, 
, или, 
или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеперечисленного.

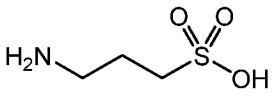
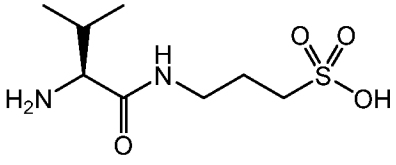
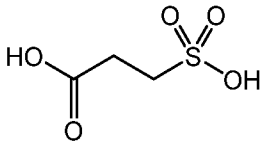
19. Способ по п. 18, в котором концентрация 3-SPA, присутствующей в спинномозговой жидкости субъекта, составляет 2-4 нг/мл.

20. Способ по пп. 18 или 19, в котором субъект является гомозиготным по ApoE4.

21. Способ лечения субъекта, страдающего болезнью Альцгеймера, включающий следующие этапы:

a) определение концентрации 3-SPA, присутствующей в спинномозговой жидкости субъекта; и

b) введение субъекту эффективного количества соединения, имеющего структурную формулу:


, 
или 
, или его фармацевтически приемлемой соли, только если:

i) концентрация 3-SPA в спинномозговой жидкости субъекта составляет менее 10 нг/мл; и

ii) оценка субъекта по шкале MMSE на исходном уровне составляет от 22 до 30 баллов.

22. Способ по п. 21, в котором субъекту вводят эффективное количество соединения, только если:

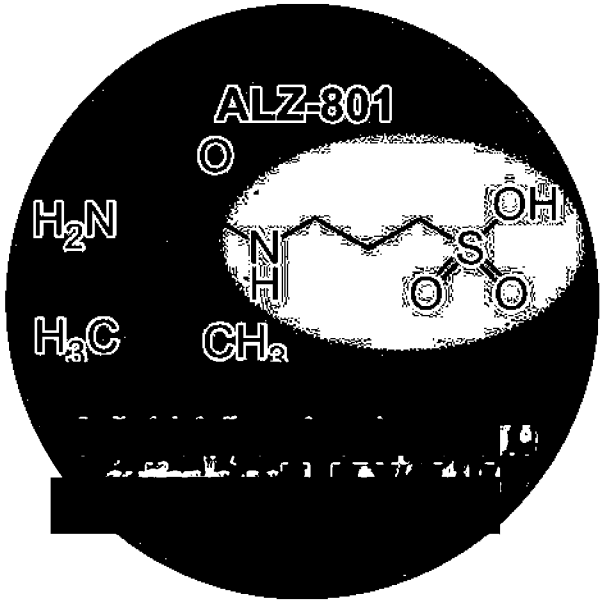
i) концентрация эндогенного соединения в СМЖ субъекта составляет менее 10 нг/мл;

ii) оценка субъекта по шкале MMSE на исходном уровне составляет от 22 до 28 баллов; и

iii) субъект имеет два аллеля ApoE4.

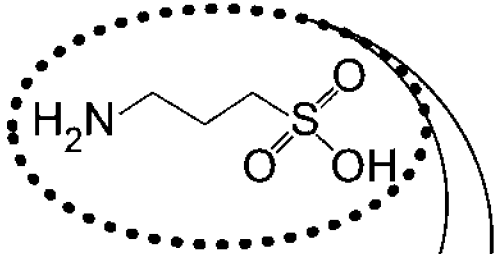
23. Способ по пп. 21 или 22, в котором субъекта отбирают только в том случае, если концентрация 3-SPA в спинномозговой жидкости субъекта составляет 2-4 нг/мл.

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



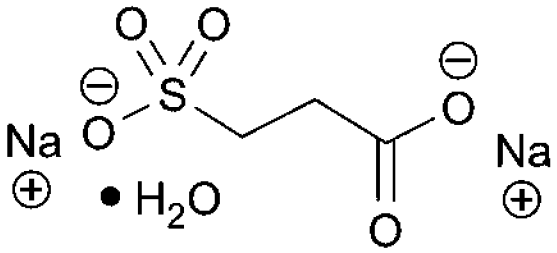

*Основное преобразование в печени* в трамипросат под действием амидазы

Трамипросат




Первичный метаболит

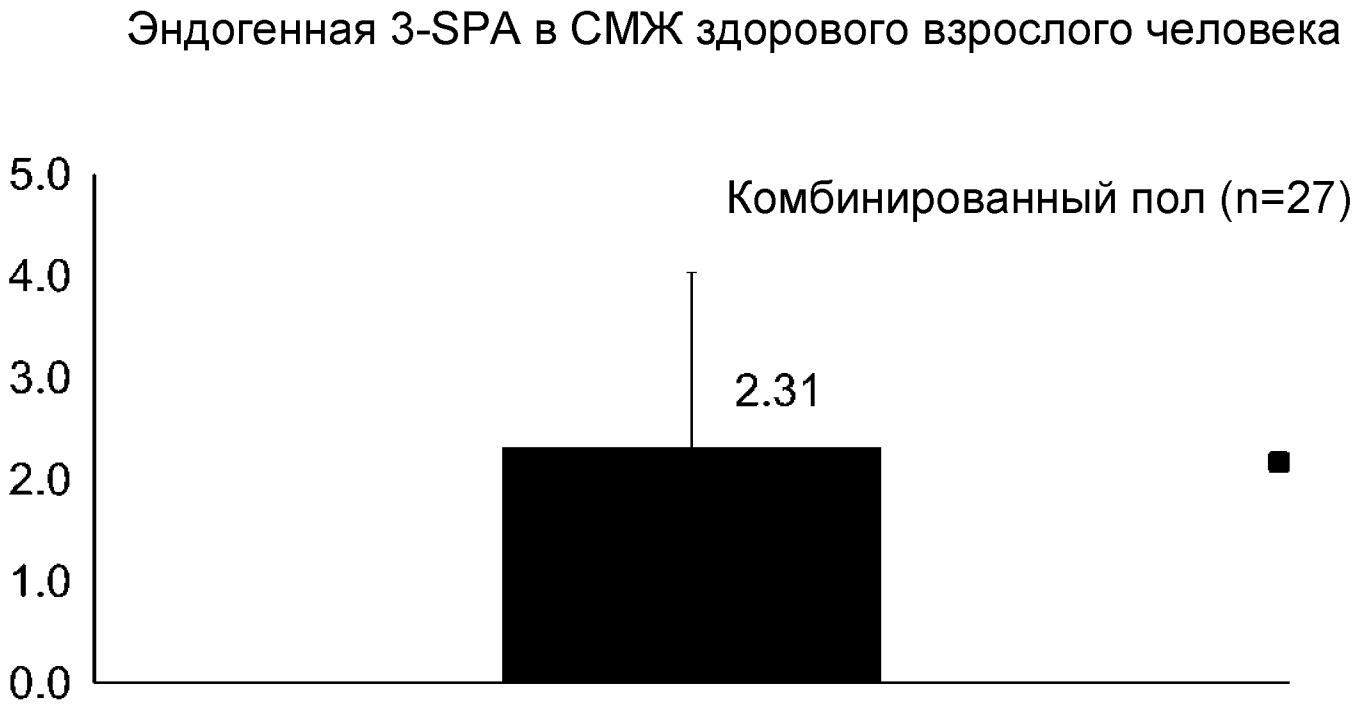
5074 (двуосновная кислота)



**Выведение почками**

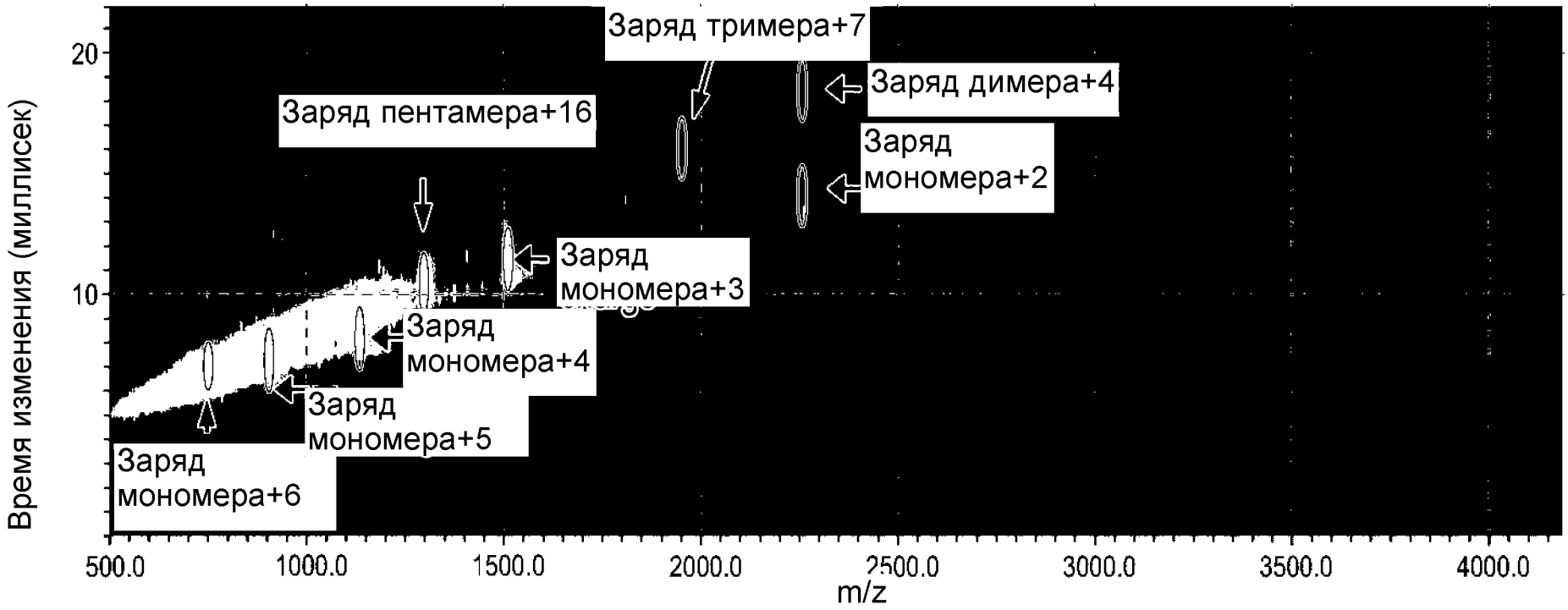
Основной путь выведения ~100% трамипросата + метаболита

ФИГ. 1



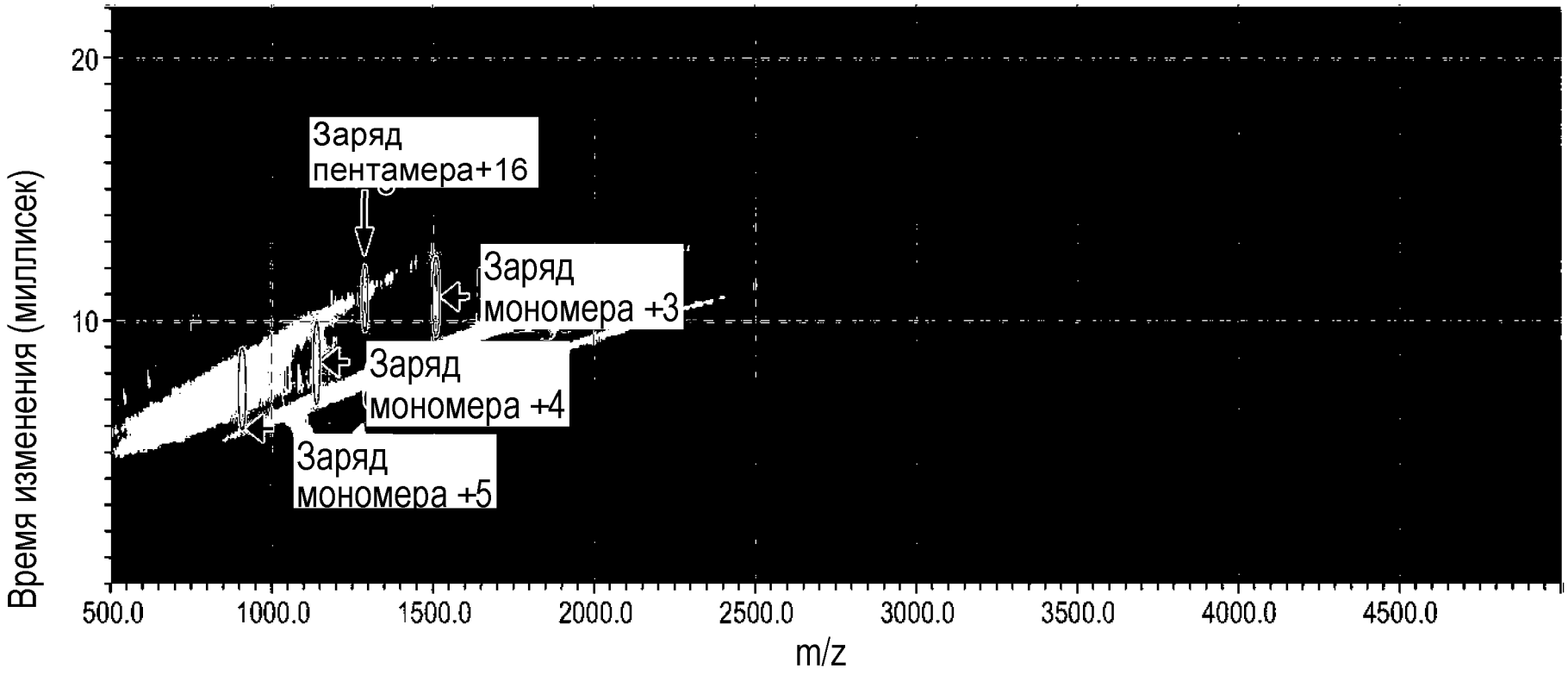

ФИГ. 2

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)




ФИГ. 3

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



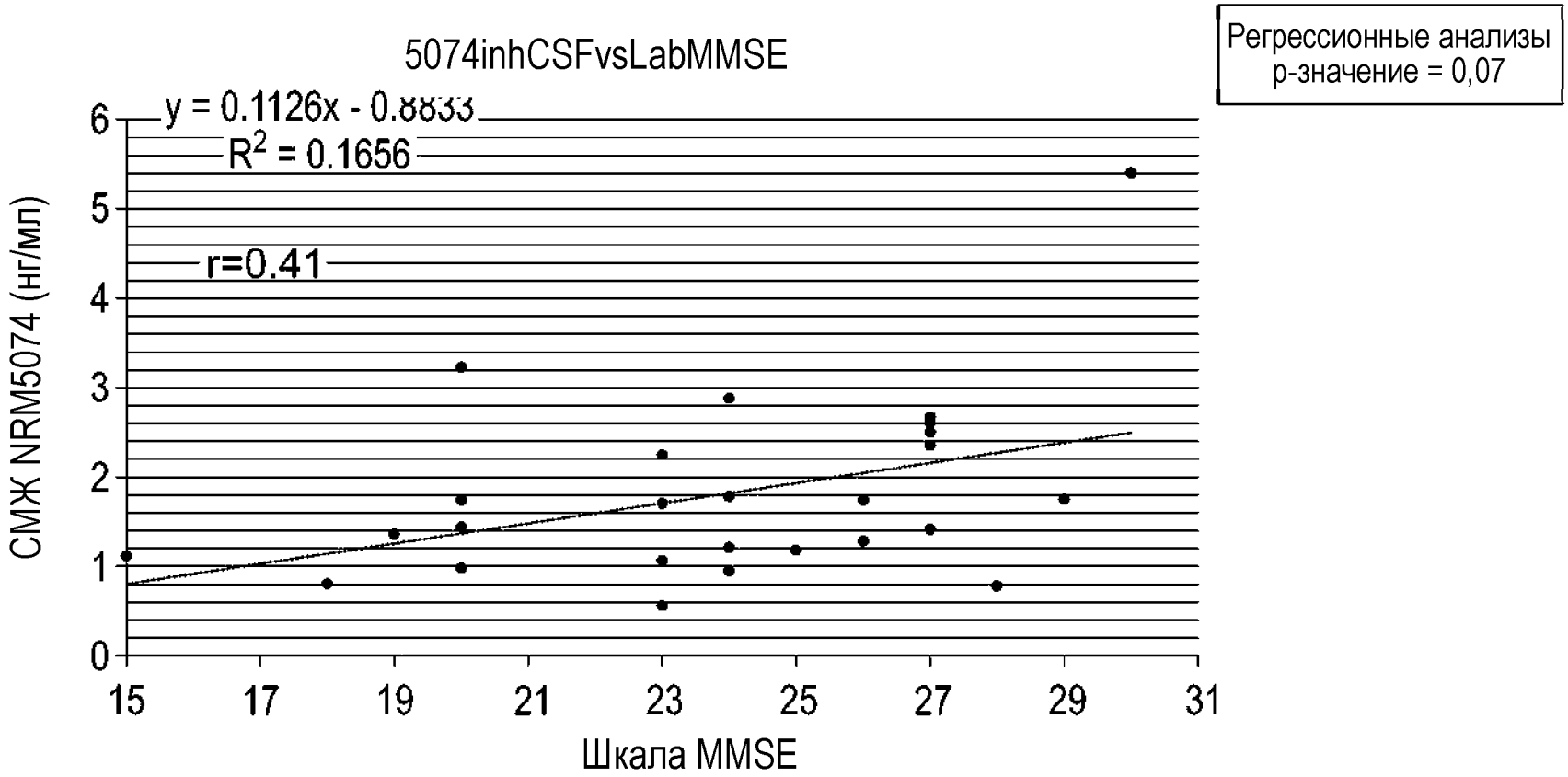

ФИГ. 4

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

ФИГ. 5

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

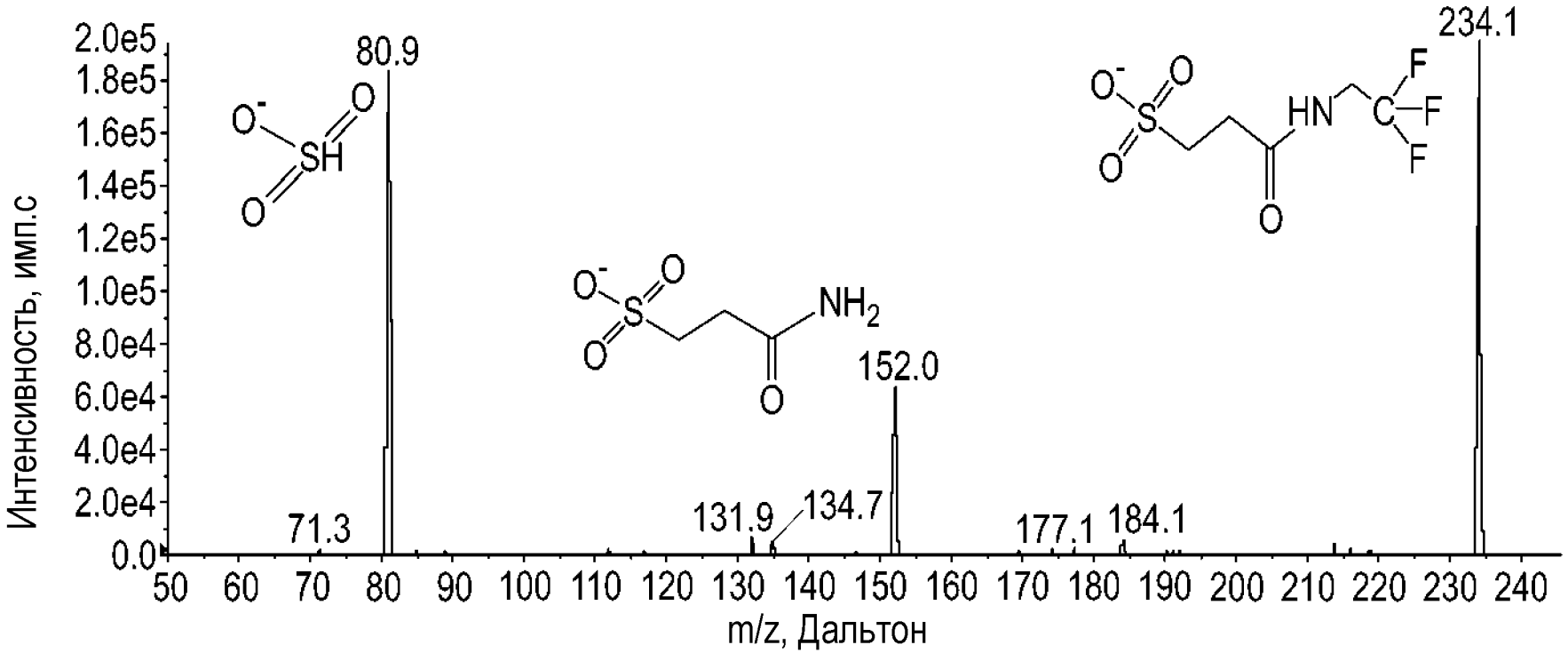
*Более низкие уровни у пациентов с БА с более высокими оценками по шкале MMSE (n=27)*



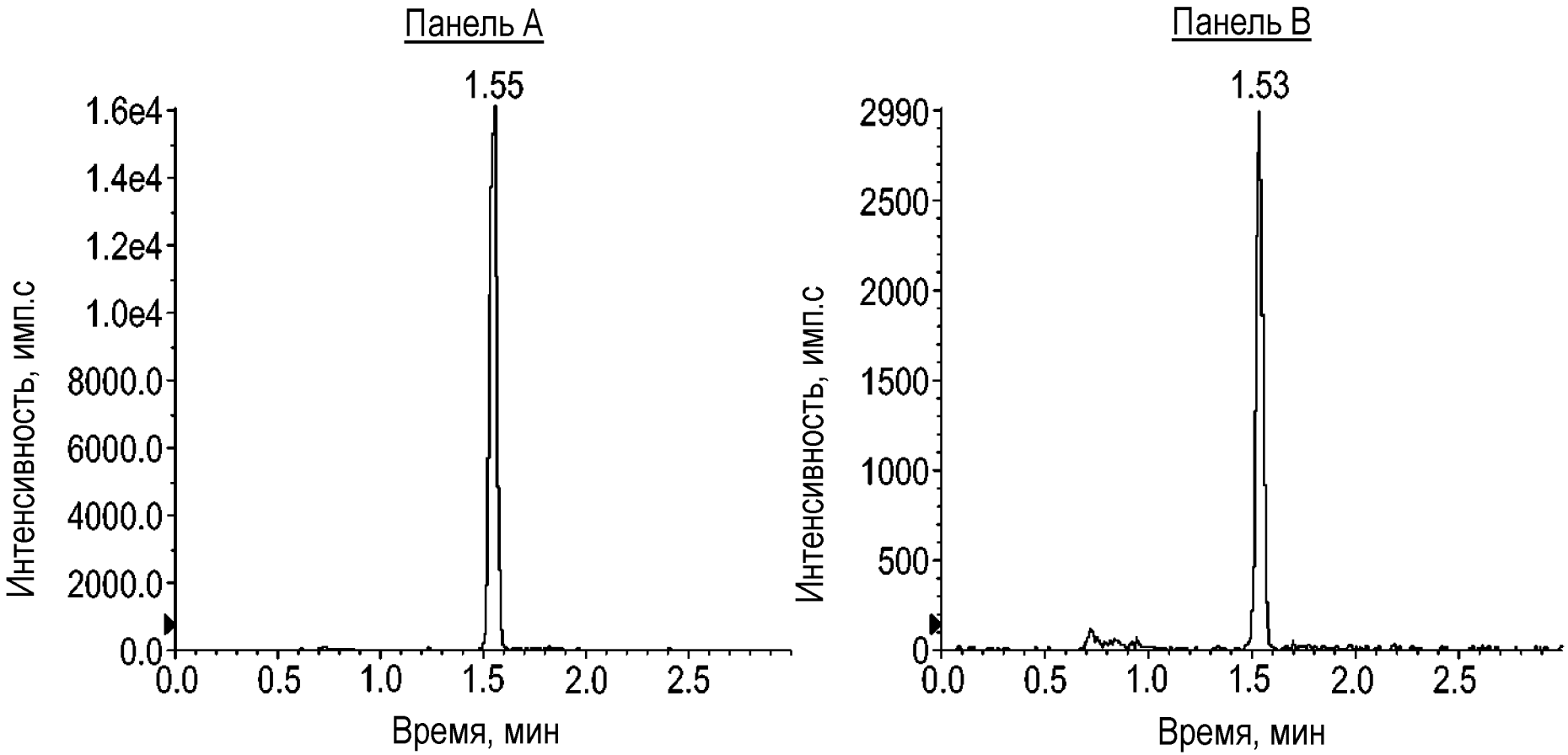

ФИГ. 6

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

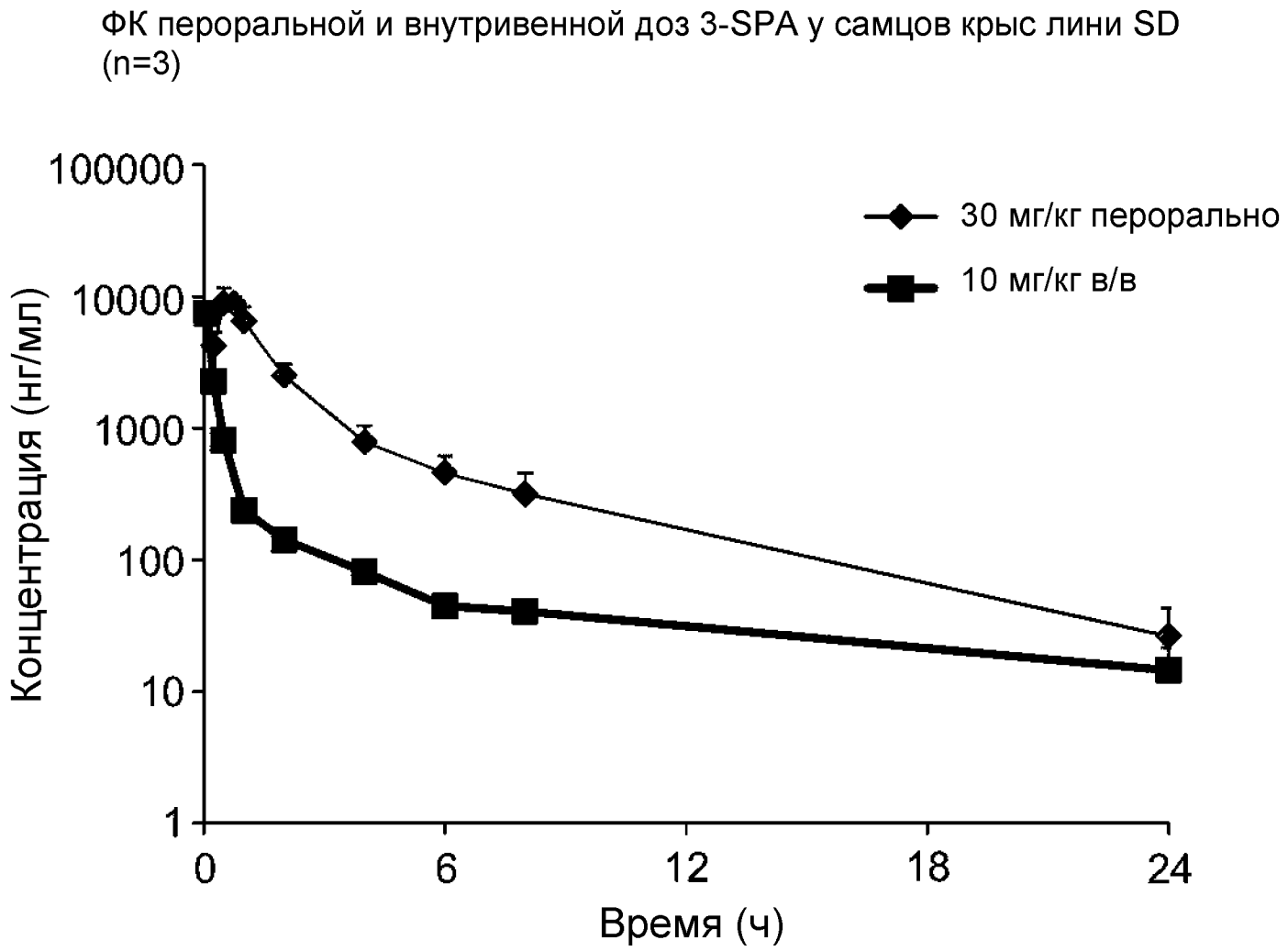
ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



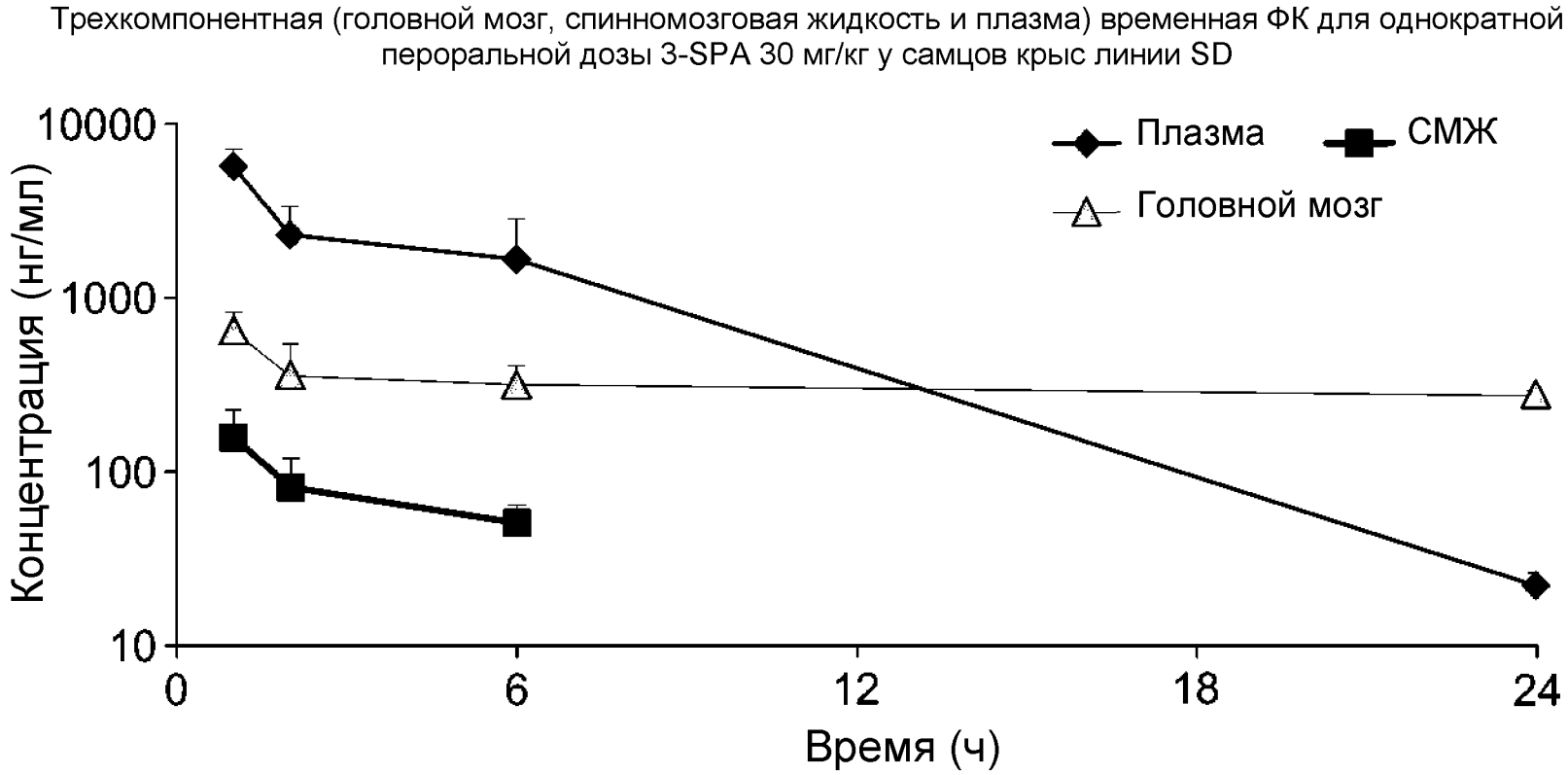

ФИГ. 7


Панель A
1.55
1.6e4
1.4e4
1.2e4
1.0e4
8000.0
6000.0
4000.0
2000.0
0.0
Интенсивность, имп.с
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
Время, мин
Панель B
1.53
2990
2500
2000
1500
1000
500
0
Интенсивность, имп.с
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
Время, мин

ФИГ. 8


ФК пероральной и внутривенной доз 3-SPA у самцов крыс лини SD (n=3)
30 мг/кг перорально
10 мг/кг в/в
Концентрация (нг/мл)
100000
10000
1000
100
10
1
0
6
12
18
24
Время (ч)

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
Концентрация (нг/мл)
10000
1000
100
10
0
6
12
18
24
Время (ч)
Плазма
СМЖ
Головной мозг

ФИГ. 10