



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 694 34 571 T2 2006.08.03**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 060 750 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 34 571.7**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 202 287.9**

(96) Europäischer Anmeldetag: **29.03.1994**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **20.12.2000**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.12.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **03.08.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/185 (2006.01)**

A61K 31/70 (2006.01)

A61K 31/795 (2000.01)

(30) Unionspriorität:

37844 29.03.1993 US

(73) Patentinhaber:

**Queen's University at Kingston, Kingston,
Ontario, CA**

(74) Vertreter:

HOFFMANN & EITLÉ, 81925 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU,
MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**Kisilevsky, Robert, Kingston, Ontario K7M 4B9,
CA; Szarek, Walter, Kingston, Ontario K7L 2Y6,
CA; Weaver, Donald, Kingston, Ontario K7M 7J8,
CA**

(54) Bezeichnung: **Propan-1,3-disulphonsäure und deren pharmazeutisch akzeptable Salze zur Behandlung von Amyloidosis**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0001] Amyloidose bezieht sich auf einen pathologischen Zustand, der durch das Vorliegen von Amyloid gekennzeichnet ist. Amyloid ist ein generischer Begriff, der sich auf eine Gruppe diverser aber spezifisch extrazellulärer Proteinablagerungen bezieht, die in einer Anzahl verschiedener Krankheiten beobachtet werden. Obwohl verschiedenartig in ihrem Auftreten, weisen alle Amyloidablagerungen gemeinsame morphologische Eigenschaften auf, Färbung mit spezifischen Farbstoffen (z.B. Kongorot) und haben eine charakteristische rot-grüne Doppelbrechungserscheinung in polarisiertem Licht nach dem Färben. Sie weisen überdies gemeinsame ultrastrukturelle Merkmale und gemeinsame Röntgenbeugungen und Infrarotspektren auf.

[0002] Amyloidose kann klinisch als primär, sekundär und familiär und/oder isoliert klassifiziert werden. Primäre Amyloidose tritt de novo ohne irgendwelche vorhergehende Störung auf. Sekundäres Amyloid ist die Form, die als Komplikation bei einer vorher bestehenden Störung auftritt. Familiäres Amyloid ist eine genetisch vererbte Form, die in besonderen geographischen Populationen gefunden wird. Isolierte Formen von Amyloid, sind jene, die dazu neigen ein einziges Organsystem zu betreffen. Verschiedene Amyloide werden auch durch die Art des in der Ablagerung vorliegenden Proteins charakterisiert. Beispielsweise werden neurodegenerative Krankheiten, wie etwa Traberkrankheit, bovine spongiforme Enzephalitis [Rinderwahnsinn], Creutzfeldt-Jakob-Syndrom und dergl. durch das Auftreten und die Akkumulierung einer Protease-resistenten Form eines Prionenproteins (bezeichnet mit Asc_r oder PrP-27) im zentralen Nervensystem gekennzeichnet. Gleichermaßen wird Alzheimer, eine weitere neurodegenerative Störung, durch kongophile Angiopathie, neuritische Plaques und neurofibrilläre Knäuel, die alle die Eigenschaften von Amyloiden aufweisen, gekennzeichnet. In diesem Fall werden die Plaques und Blutgefäßamyloide durch das beta-Protein gebildet. Andere systemische Krankheiten, wie etwa Erwachsenenidiabetes, Komplikationen bei Langzeithämodialyse und Folgeerscheinungen von langandauernden Entzündungen oder Plasmazellendyskrasien werden durch die systemische Akkumulierung von Amyloiden gekennzeichnet. In jedem dieser Fälle ist ein anderes amyloidogenes Protein in die Amyloidablagerung involviert.

[0003] Nachdem sich diese Amyloide gebildet haben, gibt es keine bekannte Therapie oder Behandlung, um die Ablagerungen in situ aufzulösen. Mit Ausnahme des familiären mediterranen Fiebers, bei dem Colchicin prophylaktisch eingesetzt wird, existiert keine Therapie für irgendeine Form der Amyloidose. Es besteht daher ein dringendes Bedürfnis für therapeutische Mittel, die entweder die Bildung oder das Wachstum von Amyloiden inhibieren können oder Amyloidablagerungen nach deren Bildung aufzulösen vermögen.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0004] Diese Erfindung bezieht sich auf Verfahren und Zusammensetzungen, die geeignet sind für die Behandlung von Amyloidose. Die Verfahren der Erfindung beinhalten die Verabreichung einer Amyloidablagerung-inhibierenden Verbindung an ein Subjekt. Entsprechend sind die Zusammensetzungen der Erfindung geeignet zur Inhibierung von Amyloidose in Störungen, bei denen Amyloidablagerungen auftreten. Die Zusammensetzungen der Erfindung können therapeutisch eingesetzt werden, um Amyloidose zu behandeln oder sie können prophylaktisch verwendet werden in einem für Amyloidose anfälligen Subjekt. Die Erfindung basiert zumindest zum Teil auf der Inhibierung einer Wechselwirkung zwischen einem amyloidogenen Protein und einem Bestandteil der Basalmembran unter Inhibierung der Amyloidablagerung. Der Bestandteil der Basalmembran ist ein Glycoprotein oder Proteoglycan, vorzugsweise Heparansulfatproteoglycan. Eine therapeutische Verbindung zur Verwendung in der Erfindung kann mit der Bindung des Basalmembranbestandteils an einen Zielbindungsort auf einem amyloidogenen Protein interferieren, unter Inhibierung der Amyloidablagerung.

[0005] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf die folgenden Ausführungsformen:

1. Die Verwendung einer Verbindung bei der Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prävention von Amyloidose oder einer Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt in einem hierfür bedürftigen Subjekt, worin besagte Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Propan-1,3-disulfonsäure und pharmazeutisch akzeptablen Salzen davon.
2. Die Verwendung gemäß Absatz 1, worin die Verbindung das Natriumsalz von Propan-1,3-disulfonsäure ist.
3. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin besagte Amyloidose oder Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt, assoziiert ist mit einem Protein ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Amyloid A, Amyloid κ L-Kette, Amyloid λ L-Kette, ATTR, atrialem natriuretischem Faktor, Procalcitonin, Gelsolin, Cystatin C, AApoA-I, AApoA-II, Fibrinogen, Lysozym, AS_r und PrP-27.

4. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin die Amyloidose oder Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt, ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus reaktiver [sekundärer] Amyloidose, familiärem mediterranem Fieber, familiärer Amyloidnephropatie mit Urticaria und Taubheit [Muckle-Wells-Syndrom], idiopathisch [primär], Myelom-assoziiert, Makroglobulinämie-assoziiert, familiärer Amyloidpolyneuropathie [portugiesisch, japanisch, schwedisch], familiäre Amyloidkardiomyopathie [dänisch], isolierte Kardioamyloidose, systemische senile Amyloidose, isolierte atriale Amyloidose, medullärem Thyroidkarzinom, familiäre Amyloidose [finnisch], erbliche zerebrale Hämorrhagie mit Amyloidose [isländisch], familiäre amyloidotische Polyneuropathie [Iowa], beschleunigte Seneszenz in Mäusen, Fibrinogen-assoziierte Amyloidose, Lysozym-assoziierte Amyloidose, Traberkrankheit, Creutzfeldt-Jacob-Syndrom, Gerstmann-Straussler-Scheinker-Syndrom und bovine spongiforme Enzephalitis [Rinderwahnsinn].
5. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin besagte Verbindung Amyloidablagerung inhibiert.
6. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin die Verbindung Amyloidablagerungen in einem Subjekt mit fortschreitender Amyloidose reduziert.
7. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin besagte Verbindung eine Wechselwirkung eines amyloidogenen Proteins mit einem Bestandteil der Basalmembran inhibiert.
8. Die Verwendung einer Verbindung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze bei der Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Amyloidose oder einer Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt in einem hierfür bedürftigen Subjekt, worin besagte Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Propan-1,3-disulfonsäure und pharmazeutisch akzeptablen Salzen davon.
9. Die Verwendung gemäß Absatz 8, worin besagte Verbindung das Natriumsalz von Propan-1,3-disulfonsäure ist.
10. Die Verwendung einer Verbindung gemäß irgendeinem der Absätze 1 bis 7 bei der Herstellung eines Medikaments zur Prävention von Amyloidose oder einer Krankheit, bei der Amyloidablagerung in einem Subjekt auftritt, worin besagte Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Propan-1,3-disulfonsäure und pharmazeutisch akzeptablen Salzen davon.
11. Die Verwendung gemäß Absatz 10, worin besagte Verbindung das Natriumsalz von Propan-1,3-disulfonsäure ist.
12. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin besagte Verbindung zur oralen Verabreichung adaptiert ist.
13. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin besagtes Medikament zur oralen Verabreichung adaptiert ist.
14. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin besagtes Medikament zur intravenösen Verabreichung adaptiert ist.
15. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Absätze, worin besagtes Medikament weiterhin einen pharmazeutisch akzeptablen Träger umfasst.

[0006] Die therapeutischen Verbindungen zur Verwendung in der Erfindung können einem Subjekt verabreicht werden auf eine Weise, die zur Inhibierung der Amyloidablagerung wirksam ist. Geeignete Routen der Verabreichung beinhalten subkutane, intravenöse und intraperitoneale Injektionen. Es wurde gefunden, dass die therapeutischen Verbindungen der Erfindung bei oraler Verabreichung wirksam sind. Entsprechend ist die orale Verabreichung ein bevorzugter Weg der Verabreichung. Die therapeutischen Verbindungen können mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger verabreicht werden.

[0007] Die Erfindung stellt überdies pharmazeutische Zusammensetzungen zur Behandlung von Amyloidose bereit. Die pharmazeutischen Zusammensetzungen beinhalten eine therapeutische Verbindung der Erfindung in einer zur Inhibierung der Amyloidablagerung wirksamen Menge und einen pharmazeutisch akzeptablen Träger.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0008] [Fig. 1](#) ist ein Balkendiagramm, welches die Wirkung der Vergleichsverbindung Poly(vinylsulfonsäurenatriumsalz) bei intraperitonealer Verabreichung auf die in vivo AA-Amyloidablagerung in der Milz der Maus darstellt.

[0009] [Fig. 2](#) ist ein Diagramm, welches die Wirkung der Vergleichsverbindung Poly(vinylsulfonsäurenatriumsalz) auf die Heparansulfatproteoglycanbindung von β -APP in Tris-gepufferte Salzlösung (TBS) darstellt.

[0010] [Fig. 3](#) ist ein Diagramm, welches die Wirkung der Vergleichsverbindung Poly(vinylsulfonsäurenatriumsalz) auf die Bindung von Heparansulfatproteoglycan an β -APP in Phosphat-gepuffertes Salzlösung (PBS) dar-

stellt.

[0011] [Fig. 4](#) ist ein Balkendiagramm, welches die Wirkung der Vergleichsverbindung Poly(vinylsulfonat) bei oraler Verabreichung auf die in vivo AA-Amyloidablagerung in der Milz der Maus darstellt.

[0012] [Fig. 5](#) ist ein Diagramm, welches den Blutspiegel des Amyloidvorläufers, SAA, im Zeitverlauf für Tiere darstellt, die die Vergleichsverbindung Poly(vinylsulfonsäurenatriumsalz) erhielten (offen Kreise) und für Vergleichstiere (Dreiecke) darstellt.

[0013] [Fig. 6](#) ist ein Diagramm, welches die Wirkung oral verabreichter Vergleichsverbindung Poly(vinylsulfonsäurenatriumsalz) auf den Verlauf der AA-Amyloidablagerung in der Milz der Maus darstellt, wobei Amyloidablagerungen bereits vor der Behandlung der Tiere vorlagen. Die Dreiecke stellen die Vergleichstiere und die offenen Kreise stellen die behandelten Tiere dar.

[0014] [Fig. 7](#) ist ein Diagramm, welches die Wirkung von oral verabreichter Vergleichsverbindung Poly(vinylsulfonsäurenatriumsalz) auf die Amyloidablagerung in der Milz darstellt, wenn ein Entzündungsherd während der Verlaufes des Experiments aufrechterhalten wird. Die Dreiecke stellen die Vergleichstiere dar, während die offenen Kreise die behandelten Tiere darstellen.

[0015] [Fig. 8](#) ist ein Diagramm, welches die Wirkung von oral verabreichter Vergleichsverbindung Ethanmonosulfonat, Natriumsalz (EMS) auf die in vivo AA-Amyloidablagerung in der Milz darstellt. Die Dreiecke stellen die Vergleichstiere, die offenen Kreise stellen Tiere dar, die 2,5 mg/ml EMS in ihrem Trinkwasser erhielten und die offenen Quadrate stellen Tiere dar, die 6 mg/ml EMS in ihrem Trinkwasser erhielten.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0016] Diese Erfindung bezieht sich auf Zusammensetzungen, die geeignet sind zur Behandlung von Amyloidose. Die Methoden der Erfindung beinhalten die Verabreichung einer therapeutischen Verbindung, die Amyloidablagerungen inhibiert, an ein Subjekt. "Inhibierung von Amyloidablagerung" soll die Prävention der Amyloidbildung, die Inhibierung weiterer Amyloidablagerung in einem Subjekt mit fortschreitender Amyloidose und die Reduzierung von Amyloidablagerungen in einem Subjekt mit fortschreitender Amyloidose umfassen. Die Inhibierung von Amyloidablagerungen wird im Vergleich zu einem unbehandelten Subjekt oder im Vergleich zu einem behandelten Subjekt vor der Behandlung bestimmt. Die Amyloidablagerung wird inhibiert durch die Inhibierung einer Wechselwirkung mit einem amyloidogenen Protein und einem Bestandteil der Basalmembran. "Basalmembran" bezieht sich auf eine extrazelluläre Matrix, umfassend Glycoproteine und Proteoglycane, einschließlich Laminin, Kollagen Typ IV, Fibronectin und Heparansulfatproteoglycan (HSPG). In einer Ausführungsform wird die Amyloidablagerung inhibiert durch Störung der Wechselwirkung zwischen einem amyloidogenen Protein und einem sulfatierten Glycosaminoglycan, wie etwa HSPG. Es ist bekannt, dass sulfatierte Glycosaminoglycane in allen Arten von Amyloiden vorliegen (siehe Snow, A.D. et al. (1987) Lab. Invest. 56:120–123) und Amyloidablagerung und HSPG-Ablagerung treten in vier Modellen der Amyloidose gleichzeitig auf (siehe Snow, A.D. et al., (1987) Lab. Invest. 56:665–675). In der Erfindung werden Moleküle verwendet, die eine den sulfatierten Glucosaminoglycanen ähnliche Struktur aufweisen, um eine Wechselwirkung zwischen einem amyloidogenen Protein und einem Bestandteil der Basalmembran zu inhibieren. Insbesondere umfassen die in der vorliegenden Erfindung zu verwendenden Verbindungen zwei Sulfonatgruppen, die mit einem Trägermolekül verknüpft sind. Zusätzlich zu der Funktion als Träger für die anionische funktionelle Gruppe kann das Trägermolekül die Verbindung in die Lage versetzen, biologische Membranen zu überqueren und ohne exzessive oder verfrühte Metabolisierung bioverteilt zu werden. Überdies dient, da mehrere anionische funktionelle Gruppen an dem Trägermolekül vorliegen, das Trägermolekül dazu, die anionischen Gruppen in einer korrekten geometrischen Anordnung voneinander zu separieren.

[0017] In einer Ausführungsform umfasst die vorliegende Erfindung die Verwendung einer therapeutischen Verbindung, die geeignet ist zur Inhibierung einer Wechselwirkung zwischen einem amyloidogenen Protein und einem Glycoprotein oder Proteoglycan Bestandteil einer Basalmembran und somit die Amyloidablagerung zu inhibieren. Die therapeutische Verbindung wird ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Propan-1,3-disulfonsäure und pharmazeutisch akzeptablen Salzen davon.

[0018] Die Eignung einer therapeutischen Verbindung der Erfindung eine Wechselwirkung zwischen einem amyloidogenen Protein und einem Glycoprotein oder Proteoglycan Bestandteil einer Basalmembran zu inhibieren, kann durch einen in vitro Bindungs-Assay beurteilt werden, wie etwa jenem, der in den Beispielen oder im US-Patent Nr. 5,164,295 von Kisilevsky et al. beschrieben ist. Kurz gesagt, ein fester Träger, wie etwa eine

Polystyrolmikrotiterplatte wird mit einem amyloidogenen Protein (z.B. Serumamyloid A-Protein oder β -Amyloid-Vorläuferprotein (β -APP)) beschichtet und sämtliche verbleibenden hydrophoben Oberflächen werden blockiert. Der beschichtete feste Träger wird mit verschiedenen Konzentrationen eines Bestandteils der Basalmembran, vorzugsweise HSPG, inkubiert, entweder in Gegenwart oder in Abwesenheit einer zu testenden Verbindung. Der feste Träger wird extensiv gewaschen, um ungebundenes Material zu entfernen. Die Bindung des Basalmembran-Bestandteil (z.B. HSPG) an das amyloidogene Protein (z.B. β -APP) wird anschließend gemessen unter Verwendung eines gegen den Basalmembran-Bestandteil gerichteten Antikörpers, der an eine detektierbare Substanz (z.B. ein Enzym, wie etwa alkalische Phosphatase) konjugiert ist, unter Detektierung der detektierbaren Substanz. Eine Verbindung, die eine Wechselwirkung zwischen einem amyloidogenen Protein und einem Glycoprotein oder Proteoglycan Bestandteil einer Basalmembran inhibiert wird die Menge an detektierter Substanz verringern (z.B. wird sie das Ausmaß an detektierter Enzymaktivität inhibieren).

[0019] Vorzugsweise wechselwirkt eine in der Erfindung zu verwendende therapeutische Verbindung mit einem Bindungsort für ein Basalmembran Glycoprotein oder Proteoglycan in einem amyloidogenen Protein und inhibiert dadurch die Bindung des amyloidogenen Proteins an den Basalmembran-Bestandteil. Basalmembran-Glycoproteine und -Proteoglycane beinhalten Laminin, Kollagen Typ IV, Fibronectin und Heparansulfatproteoglycan (HSPG). In einer bevorzugten Ausführungsform inhibiert die therapeutische Verbindung eine Wechselwirkung zwischen einem amyloidogenen Protein und HSPG. Konsensusbindungsmotive der Bindungsstellen für HSPG in amyloidogenen Proteinen wurden beschrieben (siehe z.B. Cardin und Weintraub (1989) *Arteriosclerosis* 9:21-32). Beispielsweise kann ein HSPG Konsensusbindungsmotiv von der allgemeinen Formel X1-X2-Y-X3 sein, worin X1, X2 und X3 basische Aminosäuren (z.B. Lysin oder Arginin) sind und Y ist irgendeine Aminosäure. Modeling der Geometrie dieser Bindungsstelle führte zur Bestimmung der nachfolgenden Abstände zwischen den basischen Aminosäureresten (Carboxylat bis Carboxylat, in Angstrom):

X1-X2	$5,3 \pm 1,5 \text{ \AA}$
X1-X3	$7,1 \pm 1,5 \text{ \AA}$
X2-X3	$7,6 \pm 1,5 \text{ \AA}$

[0020] Diese Werte wurden bestimmt unter Verwendung einer Kombination von molekular-mechanischen Berechnungen und semi-empirischen quantenmechanischen Berechnungen. Die Molekularmechanikberechnungen wurden durchgeführt unter Verwendung des MM2 Kraftfelds. Semi-empirische Molekülorbital-Berechnungen wurden auf dem AM1-Niveau durchgeführt. Der Konformationsraum der Bindungsstelle wurde unter Verwendung einer Kombination von Moleküldynamik (sowohl hohe als auch niedrige Temperatur) und Monte Carlo-Simulationen gesampled.

[0021] Entsprechend ist bei den therapeutischen Verbindungen der Erfindung, da mehrere anionische Gruppen an das Trägermolekül gebunden sind, der relative Abstand der anionischen Gruppen so gewählt, dass die anionischen Gruppen (Sulfonate) optimal mit den basischen Resten innerhalb der HSPG-Bindungsstelle wechselwirken (unter Inhibierung der Wechselwirkung von HSPG mit der Bindungsstelle). D.h., anionische Gruppen sind ungefähr $5,3 \pm 1,5 \text{ \AA}$ voneinander entfernt, so dass der relative Abstand der anionischen Gruppen optimale Wechselwirkung mit einer Bindungsstelle für einen Basalmembranbestandteil (z.B. HSPG) in einem amyloidogenen Protein ermöglicht.

[0022] Eine therapeutische Verbindung der Erfindung umfasst weiterhin typischerweise ein Gegenkation. Kationische Gruppen beinhalten positiv geladene Atome und Einheiten. Wenn die kationische Gruppe Wasserstoff, H^+ , ist, dann kann die Verbindung als Säure angesehen werden. Wenn ein Wasserstoff durch ein Metall oder dessen Äquivalent ersetzt wird, ist die Verbindung ein Salz der Säure. Pharmazeutisch akzeptable Salze der therapeutischen Verbindung sind innerhalb des Umfangs der Erfindung. Beispielsweise kann die kationische Gruppe ein pharmazeutisch akzeptables Alkalimetall, Erdalkali, Kation mit höherer Valenz (z.B. Aluminiumsalz), polykationisches Gegenion oder Ammonium sein. Ein bevorzugtes pharmazeutisch akzeptables Salz ist Natriumsalz, aber andere Salze werden im Rahmen des pharmazeutisch akzeptablen Bereiches ebenso in Betracht gezogen.

[0023] Der in diesem Zusammenhang verwendete Begriff "Kohlenhydrat" soll substituierte und unsubstituierte Mono-, Oligo- und Polysaccharide enthalten. Monosaccharide sind einfache Zucker, die üblicherweise die Formel $C_6H_{12}O_6$ aufweisen und die kombiniert werden können unter Bildung von Oligosacchariden oder Polysacchariden. Monosaccharide beinhalten Enantiomere und sowohl die D- als auch die L-Stereoisomere von Monosacchariden.

[0024] Der hier verwendete Begriff "Polymer" soll Moleküle beinhalten, die gebildet werden, durch die chemi-

sche Vereinigung von zwei oder mehreren als Monomeren bezeichneten Untereinheiten. Monomere sind Moleküle oder Verbindungen, die üblicherweise Kohlenstoff enthalten und von relativ niedrigem Molekulargewicht und einfacher Struktur sind. Ein Monomer kann in ein Polymer überführt werden, indem es mit sich selbst oder mit anderen ähnlichen Molekülen oder Verbindungen kombiniert wird. Ein Polymer kann aus einer einzigen identischen Wiederholungseinheit oder aus multiplen verschiedenen Wiederholungseinheiten (Copolymere) gebildet werden. Polymere beinhalten substituierte und unsubstituierte Vinyl-, Acryl-, Styrol- und Kohlenhydratbasierende Polymere und Copolymere und Salze davon. In einer Ausführungsform hat das Polymer ein Molekulargewicht von ungefähr 800 bis 1.000 Dalton.

[0025] Der Begriff "Peptid" beinhaltet zwei oder mehr Aminosäuren, die durch eine Peptidbindung kovalent verbunden sind. Aminosäuren beinhalten die natürlich auftretenden Aminosäuren, die in Proteinen gefunden werden, wie etwa Glycin, Alanin, Valin, Cystein, Leucin, Isoleucin, Serin, Threonin, Methionin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Glutamin, Asparagin, Lysin, Arginin, Prolin, Histidin, Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan. Der Begriff Aminosäure beinhaltet weiterhin Analoge, Derivate und Verwandte der natürlich auftretenden Aminosäuren, von denen eins oder mehrere in einem Peptidderivat vorliegen kann. Beispielsweise können Aminosäureanaloga verlängerte oder verkürzte Seitenketten oder Varianten der Seitenketten mit geeigneten funktionellen Gruppen aufweisen. Ebenso sind D- und L-Stereoisomere einer Aminosäure beinhaltet, wenn die Struktur der Aminosäure stereoisomere Formen zulässt. Der Begriff "Peptidderivat" beinhaltet weiterhin Verbindungen, welche Moleküle enthalten, die ein Peptidrückgrat nachahmen, aber keine Aminosäuren sind (sogenannte Peptidomimetika), wie etwa Benzodiazepinmoleküle (siehe z.B. James, G. L. et al. (1993) Science 260:1937–1942).

[0026] Der Begriff "aliphatische Gruppe" soll organische Verbindungen beinhalten, die durch geradkettige oder verzweigte Ketten mit typischerweise zwischen 1 und 22 Kohlenstoffatomen gekennzeichnet sind. Aliphatische Gruppen beinhalten Alkylgruppen, Alkenylgruppen und Alkynylgruppen. In komplexen Strukturen können die Ketten die Ketten verzweigt oder kreuzvernetzt sein. Alkylgruppen beinhalten gesättigte Kohlenwasserstoffe mit ein oder mehreren Kohlenstoffatomen, einschließlich geradkettigen Alkylgruppen und verzweigten Alkylgruppen. Derartige Kohlenwasserstoffgruppen können an einem oder mehreren Kohlenstoffen substituiert sein, beispielsweise mit einer Halogen-, einer Hydroxyl-, einer Thiol-, einer Amino-, einer Alkoxy-, einer Alkylcarboxy-, einer Alkylthio- oder einer Nitrogruppe. Sofern die Anzahl an Kohlenstoffen nicht besonders angegeben ist, bezieht sich "nieder-aliphatisch" wie hierin verwendet, auf die oben definierte aliphatische Gruppe, (z.B. Niederalkyl, Niederalkenyl, Niederalkynyl), jedoch mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen. Repräsentanten derartiger nieder-aliphatischer Gruppen, z.B. Niederalkylgruppen, sind Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, 2-Chlorpropyl, n-Butyl, Sec-Butyl, 2-Aminobutyl, Isobutyl, tert-Butyl, 3-Thiopentyl und dergl. Der hier verwendete Begriff "Amino" bedeutet $-NH_2$; der Begriff "Nitro" bedeutet $-NO_2$; der Begriff "Halogen" bezeichnet $-F$, $-Cl$, $-Br$ oder $-I$; der Begriff "Thiol" bedeutet SH_2 ; und der Begriff "Hydroxyl" bedeutet $-OH$. Somit bedeutet der hier verwendete Begriff "Alkylamino" eine Alkylgruppe, wie oben definiert, mit einer daran gebundenen Aminogruppe. Der Begriff "Alkylthio" bezieht sich auf eine wie oben definierte Alkylgruppe an die eine Sulphydrylgruppe gebunden ist. Der hier verwendete Begriff "Alkylcarboxyl" bedeutet eine wie oben definierte Alkylgruppe mit einer daran gebundenen Carboxylgruppe. Der hier verwendete Begriff "Alkoxy" bedeutet eine wie oben definierte Alkylgruppe mit einem daran gebundenen Sauerstoffatom. Repräsentative Alkoxygruppen beinhalten Methoxy, Ethoxy, Propoxy, tert-Butoxy und dergl.

[0027] Die Begriffe "Alkenyl" und "Alkynyl" beziehen sich auf ungesättigte aliphatische Gruppen, die den Alkylgruppen analog sind, aber die zumindest eine Doppel- oder Dreifachbindung enthalten.

[0028] Der Begriff "alicyclische Gruppe" soll geschlossene Ringstrukturen von drei oder mehr Kohlenstoffatomen beinhalten. Alicyclische Gruppen beinhalten Cycloparaffine oder Naphthaline, die gesättigte cyclische Kohlenwasserstoffe sind, Cycloolefine, die mit zwei oder mehreren Doppelbindungen ungesättigt sind, und Cycloacetylene, die eine Dreifachbindung aufweisen. Sie umfassen nicht aromatische Gruppen. Beispiele von Cycloparaffinen beinhalten Cyclopropan, Cyclohexan und Cyclopentan. Beispiele von Cycloolefinen beinhalten Cyclopentadien und Cyclooctatetraen. Alicyclische Gruppen beinhalten auch anellierte Ringstrukturen und substituierte alicyclische Gruppen, wie etwa Alkyl-substituierte alicyclische Gruppen. Im Falle der alicyclischen Gruppen können derartige Substituenten weiterhin ein Niederalkyl, Niederalkenyl, Niederalkoxy, Niederalkylthio, Niederalkylamin, Niederalkylcarboxyl, Nitro, Hydroxyl, $-CF_3$, $-CN$ oder dergl. umfassen.

[0029] Der Begriff "heterocyclische Gruppe" soll geschlossene Ringstrukturen beinhalten, in denen ein oder mehrere der Atome im Ring ein von Kohlenstoff verschiedenes Element ist, beispielsweise Stickstoff oder Sauerstoff. Heterocyclische Gruppen können gesättigt oder ungesättigt sein und heterocyclische Gruppen, wie etwa Pyrrol und Furan können aromatischen Charakter aufweisen. Sie beinhalten anilierte Ringstrukturen, wie

etwa Chinolin und Isochinolin. Andere Beispiele heterocyclischer Gruppen beinhalten Pyridin und Purin. Heterocyclische Gruppen können ebenso an einem oder mehreren konstituierenden Atomen substituiert sein mit beispielsweise einem Halogen, einem Niederalkyl, Niederalkenyl, Niederalkoxy, Niederalkylthio, Niederalkylamin, Niederalkylcarboxyl, Nitro, Hydroxyl, $-CF_3$, $-CN$ oder dergl.

[0030] Der Begriff "aromatische Gruppe" soll ungesättigte cyclische Kohlenwasserstoffe, die einen oder mehrere Ringe beinhalten, umfassen. Aromatische Gruppen beinhalten 5- und 6-gliedrige einfache Ringstrukturen, die 0 bis 4 Heteroatome enthalten können, beispielsweise Benzol, Pyrrol, Furan, Thiophen, Imidazol, Oxazol, Thiazol, Triazol, Pyrazol, Pyridin, Pyrazin, Pyridazin und Pyrimidin und dergl. Der aromatische Ring kann an einer oder mehreren der Ringpositionen mit beispielsweise einem Halogen, einem Niederalkyl, Niederalkenyl, Niederalkoxy, Niederalkylthio, Niederalkylamin, Niederalkylcarboxyl, Nitro, Hydroxyl, $-CF_3$, $-CN$ oder dergl. substituiert sein.

[0031] Die therapeutische Verbindung der Erfindung kann in einem pharmazeutisch akzeptablen Träger verabreicht werden. Der hier verwendete Begriff "pharmazeutisch akzeptabler Träger" beinhaltet jegliche und alle Lösungsmittel, Dispersionsmedien, Beschichtungen, antibakterielle und Antipilzmittel, isotonische und absorptionsverzögernde Mittel, und dergl., die mit der Aktivität der Verbindung kompatibel sind und für das Subjekt physiologisch akzeptabel sind. Ein Beispiel eines pharmazeutisch akzeptablen Trägers ist gepufferte normale Salzlösung (0,15 molare NaCl). Die Verwendung derartiger Medien und Mittel für pharmazeutisch akzeptable Substanzen ist auf diesem Gebiet wohl bekannt. Abgesehen von dem Fall, dass irgendwelche konventionellen Medien oder Mittel mit der therapeutischen Verbindung inkompatibel sind, wird die Verwendung davon in den für die pharmazeutische Verabreichung geeigneten Zusammensetzungen in Betracht gezogen. Zusätzliche aktive Verbindungen können in die Zusammensetzungen ebenso eingearbeitet werden.

[0032] Ein sulfoniertes Polymer ist Poly(vinylsulfonsäure) (PVS). PVS kann ein Molekulargewicht von ungefähr 800 bis 1.000 Dalton aufweisen.

[0033] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von Propan-1,3-disulfonsäure, und pharmazeutisch akzeptable Salzen davon.

[0034] Erfindungsgemäß kann die Amyloidablagerung in einem Subjekt durch Verabreichung einer therapeutischen Verbindung der Erfindung an das Subjekt inhibiert werden. Der Begriff Subjekt soll lebende Organismen, in denen Amyloidose auftreten kann, umfassen. Beispiele von Subjekten beinhalten Menschen, Affen, Kühe, Schafe, Ziegen, Hunde, Katzen, Mäuse, Ratten und transgene Arten davon. Verabreichung von Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung an ein zu behandelndes Subjekt kann unter Verwendung bekannter Verfahren durchgeführt werden mit Dosierungen und über Zeitdauern, die zur Inhibierung der Amyloidablagerung in dem Subjekt wirksam sind. Eine wirksame Menge der therapeutischen Verbindung, die zur Erzielung der therapeutischen Wirkung erforderlich ist, kann in Abhängigkeit von Faktoren wie etwa der bereits abgelagerten Menge an Amyloid am klinischen Ort im Subjekt, dem Alter, Geschlecht und Gewicht des Subjekts, und der Eignung der therapeutischen Verbindung zur Inhibierung der Amyloidablagerung im Subjekt variieren. Dosierungsschemata können für die Erzielung einer optimalen therapeutischen Antwort angepasst werden. Beispielsweise können mehrere aufgeteilte Dosen täglich verabreicht werden oder es kann die Dosis proportional gemäß den Anforderungen der therapeutischen Situation reduziert werden. Ein nicht-beschränkendes Beispiel eines effektiven Dosierungsbereiches für eine therapeutische Verbindung der Erfindung (z.B. Poly(vinylsulfonatnatriumsalz)) liegt zwischen 5 und 500 mg/kg an Körpergewicht/Tag.

[0035] Wie durch die Beispiele gezeigt, sind die therapeutischen Verbindungen der Erfindung bei oraler Verabreichung wirksam. Entsprechend ist die orale Verabreichung eine bevorzugte Verabreichungsrouten. Alternativ kann die aktive Verbindung (d.h., die therapeutische Verbindung, die Amyloidablagerung inhibieren kann) durch andere geeignete Routen, wie etwa subkutan, intravenös, intraperitoneal, etc. verabreicht werden (z.B. durch Injektionen). Abhängig von der Verabreichungsrouten kann die aktive Verbindung durch ein Material beschichtet sein, um die Verbindung vor der Wirkung von Säuren und anderen natürlichen Bedingungen, die die Verbindung inaktivieren können, zu schützen.

[0036] Zur Verabreichung der therapeutischen Verbindung durch von der parenteralen Verabreichung verschiedene Wege kann es erforderlich werden, die Verbindung mit einem Material zur Verhinderung von dessen Deaktivierung zu beschichten oder damit gemeinsam zu verabreichen. Beispielsweise kann die therapeutische Verbindung an ein Subjekt in einem geeigneten Träger, beispielsweise Liposomen oder einem Verdünnungsmittel, verabreicht werden. Pharmazeutisch akzeptable Verdünnungsmittel beinhalten Salzlösung und wässrige Pufferlösungen. Liposomen beinhalten Wasser-in-Öl-in-Wasser CGF Emulsionen, wie auch konventionelle

Liposomen (Strejan et al., (1984) J. Neuroimmunol. 7:27).

[0037] Die therapeutische Verbindung kann auch parenteral oder intraperitoneal verabreicht werden. Dispersionen können in Glycerin, flüssigen Polyethylenglycolen, Mischungen davon und in Ölen hergestellt werden. Unter normalen Bedingungen der Lagerung und Verwendung können diese Präparate ein Konservierungsmittel enthalten, um das Wachstum von Mikroorganismen zu verhindern.

[0038] Pharmazeutische Zusammensetzungen, die geeignet sind zur Verwendung durch Injektion, beinhalten sterile wässrige Lösungen (soweit wasserlöslich) oder Dispersionen und sterile Pulver zur extemporierten Herstellung steriler injizierbarer Lösungen oder Dispersionen. In allen Fällen muss die Zusammensetzung steril und flüssig sein in dem Maße, dass einfache Spritzbarkeit vorliegt. Sie muss unter den Bedingungen der Herstellung und Lagerung stabil sein und gegen die kontaminierende Wirkung von Mikroorganismen, wie etwa Bakterien und Pilzen, geschützt sein. Der Träger kann ein Lösungsmittel oder ein Dispersionsmedium sein, enthaltend beispielsweise Wasser, Ethanol, Polyol (beispielsweise Glycerin, Propylenglycol und flüssiges Polyethylenglycol und dergl.), geeignete Mischungen davon und Pflanzenöle. Die geeignete Fluidität kann aufrechterhalten werden beispielsweise durch Verwendung einer Beschichtung, wie etwa Lecithin, durch die Aufrechterhaltung einer erforderlichen Partikelgröße im Falle einer Dispersion und durch die Verwendung von Tensiden. Die Verhinderung der Wirkung von Mikroorganismen kann erzielt werden durch verschiedene antibakterielle Mittel und Antipilzmittel, beispielsweise Parabene, Chlorobutanol, Phenol, Ascorbinsäure, Thimerosal und dergl. In vielen Fällen wird es bevorzugt sein, isotonische Mittel, beispielsweise Zucker, Natriumchlorid oder Polyalkohole, wie etwa Mannitol und Sorbitol, in der Zusammensetzung zu beinhalten. Verlängerte Absorption der injizierbaren Zusammensetzungen kann erzielt werden durch Beinhaltens in der Zusammensetzung eines Mittels, welches die Absorption verzögert, beispielsweise Aluminiummonostearat oder Gelatine.

[0039] Steril injizierbare Lösungen können hergestellt werden durch Einarbeiten der therapeutischen Verbindung in der erforderlichen Menge in ein geeignetes Lösungsmittel mit einem oder einer Kombination von oben aufgezählten Bestandteilen, nach Bedarf, gefolgt von Sterilisation durch Filtration. Im allgemeinen werden Dispersionen hergestellt durch Einarbeiten der therapeutischen Verbindung in einen sterilen Träger, enthaltend ein basisches Dispersionsmedium und die erforderlichen anderen aus den oben aufgezählten Bestandteilen. Im Falle steriler Pulver zur Herstellung steriler injizierbarer Lösungen sind die bevorzugten Verfahren der Herstellung Vakuumtrocknen und Gefriertrocknung, das ein Pulver des aktiven Bestandteils (d.h., der therapeutischen Verbindung) plus jeglicher zusätzlicher gewünschter Bestandteile ergibt, ausgehend von einer vorher steril-gefilterten Lösung davon.

[0040] Die therapeutische Verbindung kann oral verabreicht werden, beispielsweise mit einem inerten Verdünnungsmittel oder einem assimilierbaren essbaren Träger. Die therapeutische Verbindung und andere Bestandteile können auch in einer Gelatine kapsel mit harter oder weicher Schale eingeschlossen sein, in Tablettenform gepresst sein oder direkt in die Nahrung des Subjekts eingearbeitet werden. Zur oralen therapeutischen Verabreichung kann die therapeutische Verbindung mit Auszugsmitteln eingearbeitet und verwendet werden in Form von essbaren Tabletten, Lutschtabletten, Pastillen, Kapseln, Elixieren, Suspensionen, Sirups, Plättchen und dergl. Der Prozentsatz der therapeutischen Verbindung in den Zusammensetzungen und Präparaten kann natürlich variiert werden. Die Menge an therapeutischer Verbindung in derartigen therapeutisch geeigneten Zusammensetzungen ist so, dass eine geeignete Dosierung erhalten wird.

[0041] Es ist besonders vorteilhaft, die parenteralen Zusammensetzungen in Form von Dosiereinheiten zur einfachen Verabreichung und Gleichförmigkeit der Dosierung zu formulieren. Die hier verwendete Form von Dosiereinheiten bezieht sich auf physikalisch diskrete Einheiten, die als Dosiereinheiten für die zu behandelnden Subjekte geeignet sind; jede Einheit, enthaltend eine vorbestimmte Menge an therapeutischer Verbindung, die berechnet wurde zur Erzielung des gewünschten therapeutischen Effekts, zusammen mit dem erforderlichen pharmazeutischen Träger. Die Spezifizierung der Form der Dosiereinheiten der Erfindung wird bestimmt durch und ist direkt abhängig von (a) den speziellen Eigenschaften der therapeutischen Verbindung und der besonderen zu erzielenden therapeutischen Wirkung, und (b) den auf diesem Gebiet der Einarbeitung derartiger therapeutischer Verbindungen zur Behandlung von Amyloidablagerungen in Subjekten inhärenten Limitierungen.

[0042] Die Zusammensetzung der Erfindung ist geeignet zur Behandlung von Amyloidose, die mit jeglicher Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt, assoziiert ist. Klinisch kann Amyloidose primär, sekundär, familiär oder isoliert sein. Amyloidose kann durch die Art des im Amyloid enthaltenen amyloidogenen Proteins kategorisiert werden. Nicht-beschränkende Beispiele von Amyloiden, die inhibiert werden können, sind gemäß Identifizierung durch deren amyloidogenes Protein, wie folgt (mit der damit zusammenhängenden Krankheit in Klammern nach dem amyloidogenen Protein): β -Amyloid (Alzheimer, Down-Syndrom, erbliche cerebrale Häm-

morrhage mit Amyloidose [niederländisch]; Amyloid A (reaktive [sekundäre] Amyloidose, familiäres mediterranes Fieber, familiäres Amyloidnephropathie mit Urticaria und Taubheit [Muckle-Wells-Syndrom]); Amyloid- κ -L-Kette oder Amyloid- λ -L-Kette (idiopathisch [primär], Myelom- oder Macroglobulinämie-assoziiert); A β 2M (chronische Hämodialyse); ATTR (familiäre Amyloid-Polyneuropathie [portogisisch, japanisch, schwedisch], familiäre Amyloidkardiomyopathie [dänisch], isolierte Cardioamyloidose, systemische senile Amyloidose); AL-APP oder Amylin (im Erwachsenenalter auftretende Diabetes, Insulinome); atrialer naturetischer Faktor (isoliertes atriales Amyloid); Procalcitonin (medullares Thyroidkarzinom); Gelsolin (familiäre Amyloidose [finnisch]); Cystatin C (erbliche cerebrale Hämorrhagie mit Amyloidose [isländisch]); AApoA-I (familiäre amyloidotische Polyneuropathie [Iowa]); AApoA-II (beschleunigte Seneszenz in Mäusen); Fibrinogen-assoziiertes Amyloid; Lysozym-assoziiertes Amyloid und AScr oder PrP-27 (Traberkrankheit (Scrapie), Creutzfeld-Jacob-Syndrom, Gerstmann-Straussler-Scheinker-Syndrom, bovine spongiforme Enzephalitis (Rinderwahnsinn)).

[0043] In der Erfindung ist Kongorot von den in der Erfindung eingesetzten sulfonierten Verbindungen ausgeschlossen.

[0044] In der Erfindung sind die folgenden sulfatierten Verbindungen von der Verwendung in der Erfindung ausgeschlossen: Dextransulfat 500, ι -Carrageen, λ -Carrageen, Dextransulfat 8, κ -Carrageen, Pentosanpolysulfat und/oder Heparan.

[0045] In gewissen Ausführungsformen der Erfindung können die Zusammensetzungen der Erfindung zur Inhibierung von Amyloidablagerungen bei Amyloidose verwendet werden, worin das amyloidogene Protein nicht die Protease-resistente Form eines Prionenproteins, AScr (ebenso bekannt als PrP-27) ist.

[0046] Die Erfindung wird weiterhin durch die folgenden Beispiele erläutert, die nicht als den Gegenstand der Erfindung einschränkend ausgelegt werden sollten.

BEISPIELE

[0047] In den folgenden Beispielen wurde ein gut charakterisiertes Mausmodell der Amyloidose eingesetzt. In diesem in vivo System erhalten die Tiere einen Entzündungs-Stimulus und einen Amyloid-verstärkenden Faktor. Für akute Amyloidose (d.h., kurzzeitige Amyloidablagerung) ist der Entzündungs-Stimulus AgNO₃. Für chronische Amyloidose (fortschreitende Amyloidablagerung) ist der Entzündungs-Stimulus Lipopolysaccharid (LPS). Amyloidablagerung (AA Amyloid) in der Milz von Mäusen wurde mit und ohne therapeutische Behandlung gemessen.

EXPERIMENT 1 (VERGLEICHSBEISPIEL)

TIERE

[0048] Alle Mäuse waren vom CD-Stamm (Charles Rivers, Montreal, Quebec) und wogen 25 bis 30 g.

TIERBEHANDLUNG

[0049] Alle Tiere erhielten AgNO₃ (0,5 ml, 2%ige Lösung) subkutan in den Rücken sowie Amyloid-verstärkenden Faktor (AEF) 100 μ g intravenös. Die Herstellung des Amyloid-verstärkenden Faktors wurde bereits früher in Axelrad, M.A. et al. ("Further Characterization of Amyloid Enhancing Factor" Lab. Invest. 47:139–146 (1982)) beschrieben. Die Tiere wurden in verschiedene Gruppen aufgeteilt, von denen eines eine unbehandelte Kontrollgruppe war, die 6 Tage später geopfert wurde. Die verbleibenden Tiere wurden in jene aufgeteilt, die 50 mg, 40 mg, 20 mg oder 10 mg Poly(vinylsulfonsäurenatriumsalz) (PVS) durch intraperitoneale Injektion alle 12 Stunden oder 73 mg oder 36,5 mg Sucroseoctasulfatammoniumsalz (SOA) alle 8 Stunden durch IP-Injektion erhielten. Überlebende Tiere wurden am 5. Tag der Behandlung geopfert. In allen Fällen war PVS oder SOA in einem sterilen wässrigen Träger gelöst.

GEWEBEPRÄPARATION

[0050] Am Ende der Experimente wurden die Tiere durch Halswirbeldislokation geopfert und die Milz, Leber und Niere wurden in 96 % Ethanol, 1 % Eisessig und 3 % Wasser fixiert, wie in Lyon, A.W. et al. ("Co-deposition of Basement Membrane Components During the Induction of Murine Splenic AA Amyloid" Lab. Invest. 64:785–790 (1991)) beschrieben. Nach der Fixierung wurden die Gewebe in Paraffin eingebettet, 8 bis 20 μ m-Sektionen wurden geschnitten und mit Kongorot ohne Gegenfärbung gefärbt, wie in Puchtler, H. et al. ("Ap-

plication of Thiazole Dyes to Amyloid Under Conditions of Direct Cotton Dyeing: Correlation of Histochemical and Chemical Data" Histochemistry 77:431–445 (1983)) beschrieben. Die histologischen Schnitte wurden unter polarisiertem Licht betrachtet und mittels Bildanalyse hinsichtlich des durch Amyloid besetzten Prozentsatzes an Milz beurteilt. Im Falle der Experimente mit Sucroseoctasulfat wurden die Gewebe immunogefärbt mit einem Antikörper auf das SAA-Protein (beschrieben in Lyon A.W. et al. Lab. Invest. 64:785–790 (1991)) und die immunogefärbten Sektionen wurden beurteilt durch Bildanalyse hinsichtlich des Prozentsatzes an von dem Amyloid eingenommenen Gewebebereich.

LEBENSFÄHIGKEIT DER TIERE

[0051] Alle Kontrolltiere überlebten das Experiment ohne Vorkommnisse. Im Falle der eine Therapie erhaltenden Tiere erlagen alle 73 mg/Injektion an Sucroseoctasulfat erhaltenden Tiere vor Ende des Experiments der Therapie. Alle der 36,5 mg an Sucroseoctasulfat/Injektion erhaltenden Tiere überlebten. Von den PVS (Molekulargewicht 900 bis 1.000) erhaltenden Tieren in jeder Dosierungsgruppe, erlagen etwa die Hälfte bis ein Drittel aller Tiere vor Ende des Experiments der Therapie. In allen Fällen des Sterbens von Tieren vor dem Ende des Experiments war die Todesursache unkontrollierte intraperitoneale Hämorrhagie.

WIRKUNGEN VON MITTELN AUF DIE AMYLOIDABLAGERUNG

[0052] Die Wirkung von Sucroseoctasulfat bei 36,5 mg/Injektion ist nachfolgend in Tabelle 1 dargestellt. Die mittlere durch Amyloid eingenommene Fläche der Milz in den Kontrolltieren betrug $7,8 \% \pm 1,5 \% \text{ S.E.M.}$ In den die therapeutischen Mittel erhaltenden Tieren betrug die mittlere Fläche $3,2 \% \pm 0,5 \% \text{ S.E.M.}$ Der Unterschied ist bei $p \leq 0,02$ signifikant.

TABELLE 1

WIRKUNG VON SUCROSEOCTASULFATAMMONIUMSALZ AUF AA AMYLOIDABLAGERUNG IN DER MILZ DER MAUS

% der durch Amyloid eingenommenen Fläche		
Unbehandelt	7,8 + 1,5	n = 5
SucroseoctaSO ₄	3,2 + 0,5	n = 5
	p ≤ 0,02	

[0053] Im Falle von PVS sind die Daten in [Fig. 1](#) dargestellt. Es gab eine tiefgreifende Inhibierung der Amyloidablagerung bei allen Dosierungen mit einem Hinweis auf einen Dosis-abhängigen Effekt. Ein wirksamer Dosierungsbereich liegt zwischen 5 und 500 mg/kg an Körpergewicht/Tag.

[0054] Vorläufige Beurteilung des Plasmaspiegels des Vorläufers von Entzündungs-assoziiertes Amyloidose, SAA, hat gezeigt, dass kein Unterschied besteht zwischen den PVS behandelten Tieren und den unbehandelten Tieren.

[0055] Es wird angenommen, dass das Verfahren der Verabreichung der Mittel der vorliegenden Erfindung eine Wirkung auf die Sterblichkeitsrate der Tiere hatte. Intraperitoneale Injektion wurde ausgewählt, da sie eine große Membranoberfläche bietet für einen leichten Zugang zum Kreislaufsystem. Wie Heparan zeigen die Verbindungen der vorliegenden Erfindung jedoch Anti-Koagulanzeigenschaften. Wiederholte Injektionen durch das Bauchfell induzierten ernste Hämorrhagien und führten schlussendlich zu dem Füllen der Bauchhöhle, wobei der Blutverlust den Tod verursachte. Während subkutane Injektion zu niedrigerer Absorption der aktiven Verbindung führen würde, ist es weniger wahrscheinlich, dass diese Route in so einem Ausmaß zu Hämorrhagien führen würde, dass dies den Tod verursachen würde. Orale Verabreichung der Verbindungen wurde in den nachfolgenden Experimenten durchgeführt (siehe unten).

EXPERIMENT 2 (VERGLEICHSBEISPIEL)

[0056] Schweizer weiße Mäuse mit einem Gewicht von 25 bis 30 g wurden Amyloid-verstärkender Faktor (AEF) und AgNO₃, wie früher beschrieben (Kisilevsky, R. und Boudreau, L. (1983) "The kinetics of amyloid deposition: I. The effect of amyloid enhancing factor and splenectomy" Lab. Invest., 48, 53–59) beschrieben, verabreicht, um Amyloidose zu induzieren. Vierundzwanzig (24) Stunden später wurden sie in drei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe diente als Kontrolle und wurde mit einem Standardlabormäusefutter und Leitungswasser

zur freien Verfügung gehalten. Eine zweite Gruppe erhielt das Standardfutter, aber deren Wasser enthielt 20 mg/ml Poly(vinylsulfonat)natriumsalz (PVS). Die dritte Gruppe hatte 50 mg/ml an PVS in ihrem Trinkwasser. Die Flüssigkeitsaufnahme in beiden Gruppen war dieselbe. Alle Tiere wurden am Tage sechs (6) des Experiments geopfert, ihre Milz wurde gesammelt, zum Schneiden präpariert, Milzsektionen wurden gefärbt mit Kongorot (Puchtler, H., et al. (1983) "Application of Thiazole Dyes to Amyloid under Conditions of Direct Cotton Dyeing: Correlation of Histochemical and Chemical Data" *Histochemistry*, 77, 431–445), und die prozentuale Fläche, die durch Amyloid eingenommen wurde, wurde mit Hilfe eines Bildanalyseapparats und -programmes (MCID M2, Imaging Research Inc., Brock University, St. Catharines, Ontario, Canada) beurteilt. Wie in [Fig. 4](#) dargestellt, greift die orale Verabreichung von PVS in die Amyloidablagerung in einer dosisabhängigen Weise ein.

EXPERIMENT 3 (VERGLEICHSBEISPIEL)

[0057] Da es möglich war, dass PVS die hepatische Synthese des Amyloidvorläufers inhibierte und somit die Abwesenheit der Ablagerung von Amyloid durch die Abwesenheit des Vorläufer-Pools verursacht wurde, wurde die Wirkung von PVS auf den Blutspiegel des Amyloidvorläufers (SAA) während des Verlaufs des Experiments bestimmt. Die Tiere erhielten AEF + AgNO₃, wie oben beschrieben, und wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Gruppe 1 erhielt keine weitere Behandlung. 24 Stunden später erhielt Gruppe 2 50 mg an PVS durch intraperitoneale Injektion alle 12 Stunden über eine Zeitdauer von 5 Tagen. Um den Spiegel an SAA während dieses Verfahrens darzustellen, wurde jedem Tier (Kontrolltiere und Versuchstiere) täglich Blut aus dem Schwanz (≈25 µl) abgenommen. Die SAA-Spiegel in diesen Proben wurden durch eine Festphasen-ELISA-Prozedur (beschrieben in Brissette, L., et al. (1989) *J. Biol. Chem.*, 264, 19327–19332) bestimmt. Die Ergebnisse sind in [Fig. 5](#) dargestellt. Die offenen Kreise stellen die Daten der PVS-behandelten Mäuse dar, während die Dreiecke die Daten der nicht-behandelten Tiere darstellen. Die SAA-Spiegel waren in behandelten und unbehandelten Tieren äquivalent, was zeigte, dass PVS seine Wirkung nicht durch eine Prävention der Synthese von SAA erzielt.

EXPERIMENT 4 (VERGLEICHSBEISPIEL)

[0058] In den oben beschriebenen Experimenten wurde die Therapie mit PVS bei 24 Stunden im Laufe des Amyloid-Induzierungsprotokolls begonnen. Dies ahmt nicht eine klinische Situation nach, bei der der Patient üblicherweise wohl ausgebildetes Amyloid aufweist. Um eine realistischere klinische Situation nachzustellen, wurde ein separater Satz an Experimenten durchgeführt, bei denen die PVS-Behandlung begonnen wurde, nachdem die Amyloidablagerung bereits begonnen hatte. Die Tiere erhielten AEF + AgNO₃, wie oben beschrieben, blieben auf Leitungswasser über 7 Tage, nachdem sie in zwei Gruppen aufgeteilt wurden. Gruppe 1 blieb auf Standardnahrung und Leitungswasser. Gruppe 2 blieb auf Standardnahrung, aber hatte 50 mg/ml an PVS, das ihrem Trinkwasser zugegeben wurde. Zur Beurteilung der Wirkung von PVS auf den Verlauf der Amyloidablagerung nach bereits vorliegendem Amyloid wurden 5 Tiere in jeder Gruppe an den Tagen 7, 10, 14 und 17 geopfert. Die Milz wurde bearbeitet und ausgewertet wie oben beschrieben. Die Daten sind in [Fig. 6](#) dargestellt. Vergleichstiere (Dreiecke) fuhren fort in der Amyloidablagerung über 14 Tage, nach denen die Menge an Amyloids abzunehmen begann. Diese spätere Abnahme ist höchstwahrscheinlich bedingt durch die Tatsache, dass lediglich eine Injektion von AgNO₃, dem Entzündungs-Stimulus, verabreicht wurde und nach 14 Tagen der SAA-Spiegel bekannterweise abnimmt (Kisilevsky, R., Boudreau, L. und Foster, D. (1983) "Kinetics of amyloid deposition. II. The effects of dimethylsulfoxide and colchicin therapy" *Lab. Invest.*, 48, 60–67). In der Abwesenheit von Vorläufer kann kein weiteres Amyloid abgelagert werden und existierende Ablagerungen werden mobilisiert (Kisilevsky, R. und Boudreau, L. (1983) "The kinetics of amyloid deposition: I. The effect of amyloid enhancing factor and splenectomy" *Lab. Invest.*, 48, 53–59). Im Gegensatz hierzu hörte die Amyloidablagerung in der Gruppe der behandelten Tiere innerhalb von 3 Tagen nach der Verabreichung von PVS auf. Dies zeigt, dass PVS zur Inhibierung fortschreitender Ablagerung von Amyloid wirksam ist.

EXPERIMENT 5 (VERGLEICHSBEISPIEL)

[0059] Um die Entzündung und den Blut-SAA-Spiegel aufrechtzuerhalten und eine kontinuierliche Ablagerung von Amyloid über die Dauer eines längeren Experiments zu gewährleisten, wurde die Art des Entzündungsstimulus geändert. Um die Entzündung aufrechtzuerhalten erhielten die Tiere Lipopolysaccharid (LPS, 20 µg) + AEF am Tag 0 und LPS wurde durch intraperitoneale Injektion an jedem 2. Tag verabreicht. Am Tag sieben (7) wurden die Tiere in zwei Gruppen aufgeteilt, wie in Experiment 4 beschrieben. Die Auswertung von Amyloid über den Verlauf des Experiments erfolgte wie im Experiment 4 beschrieben. Die Daten sind in [Fig. 7](#) dargestellt. Die Kontrollgruppe (Dreiecke) zeigte kontinuierliche Amyloidablagerung über die gesamte 17-tägige Zeitdauer. Jene, die PVS erhielten, stoppten die Amyloidablagerung offenbar am Tag 14 (offene Kreise und

gestrichelte Linie). Die Daten am Tag 17 repräsentieren 4 Tiere pro Gruppe, da ein Tier aus dieser Zeitperiode weggelassen wurde. Die Menge an Amyloid in diesem besonderen Individuum war so weit von allen anderen Datenpunkten entfernt (behandelt oder unbehandelt betrug sie 21 %), dass angenommen wird, dass dies eine statistisch richtige Prozedur war. Falls dieses Individuum mit einbezogen wird, ist die Kurve durch die gestrichelte Linie und den verbleibenden offenen Kreis repräsentiert. Es sollte darauf hingewiesen werden, dass die PVS-erhaltenen Tiere begannen, eine ausgeprägte Diarrhö im Verlaufe des Experiments zu entwickeln.

EXPERIMENTE 6 (VERGLEICHSBEISPIEL)

[0060] In diesem Experiment wurde eine andere sulfonierte Verbindung, Ethanmonosulfonat, zur Inhibierung der Amyloidose eingesetzt. Ethanmonosulfonat, Natriumsalz, (EMS) ist strukturell die Monomereinheit von PVS. Den Tieren wurde wie in Beispiel 5 LPS + AEF verabreicht, aber am Tag 7 EMS als therapeutisches Mittel im Trinkwasser eingesetzt. Am Tag 7 wurden die Tiere in drei Gruppen aufgeteilt. In Gruppe 1 war die unbehandelte Gruppe. Gruppe 2 erhielt 2,5 mg/ml EMS in ihr Trinkwasser. Gruppe 3 erhielt 6 mg/ml in ihr Trinkwasser. Die Tiere wurden an den Tagen 7, 10, 14 und 17 geopfert. Diese Tiere entwickelten keine gastrointestinalen Probleme. Diese Daten sind in [Fig. 8](#) dargestellt. Die 6 mg/ml EMS in ihrem Trinkwasser erhaltenden Tiere (offene Quadrate) hörten auf Amyloid nach dem Tag 14 abzulagern. Jene, die 2,5 mg/ml EMS erhielten (offene Kreise) schienen einen unvollkommenen therapeutischen Effekt aufzuweisen, mit einer kleinen Verringerung in der Rate der Amyloidablagerung am Tag 14, die nicht bis zum Tag 17 aufrechterhalten wurde.

EXPERIMENTE 7 (VERGLEICHSBEISPIEL)

Die Wirkung von PVS auf die Bindung von HSPG an das Alzheimer Amyloid-Vorläufer-Protein (Beta-APP)

[0061] Die Bindung von Heparansulfatproteoglycan an beta-APP wurde beurteilt unter Verwendung einer enzym-gebundenen Immunosorbent-Assay-Technik, wie in Narindrasorasak, S. et al. ("High Affinity Interactions Between the Alzheimer's Beta-Amyloid Precursor Proteins and the Basement Membrane From of Heparan Sulfate proteoglycan" J. Biol. Chem. 266:12878–12883 (1991)) beschrieben. Polystyrol-Mikrotiterplatten (Linbro, Flow Laboratories) wurden mit einer 100 µl-Lösung, 1 µg/ml an β-APP, in 20 mM NaHCO₃-Puffer, pH 9,6 beschichtet. Nach der Inkubierung über Nacht bei 4°C wurden die Platten mit 0,15 M NaCl, 20 mM Tris-Cl, pH 7,5 (TBS) gewaschen. Die Platten wurden anschließend mit 150 µl an 1 % Bovine-Serum-Albumin (BSA) in TBS über 2 Stunden bei 37°C inkubiert unter Blockierung der verbleibenden hydrophoben Oberfläche der Mulden. Nach Waschen mit TBS, enthaltend 0,05 % (w/v) an Tween 20 (TBS-Tween), 100 µl an verschiedenen Konzentrationen von HSPG in TBS-Tween wurden einzeln oder mit 500 µg/ml an PVS zugegeben, entweder in Tris-gepufferter Salzlösung (TBS) oder Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS), wurde in den Bindungsassay aufgenommen zur Beurteilung der Wirkung von PVS auf die HSPG-Bindung an β-APP. Die Platten wurden über Nacht bei 4°C gelassen, um maximale Bindung von HSPG an β-APP zu gestatten. Die Platten wurden anschließend extensiv gewaschen und über 2 Stunden bei 37°C mit 100 µl Anti-HSPG, verdünnt in TBS-Tween, enthaltend 0,5 % BSA, inkubiert. Die Platten wurden wiederum gewaschen und über weitere 2 Stunden mit 100 µl Ziegen-anti-Kaninchen-IgG, konjugiert mit alkalischer Phosphatase (1:2.000 Verdünnung) in TBS-Tween, enthaltend BSA, wie oben, inkubiert. Schließlich, nach weiterem Waschen, wurden die gebundenen Antikörper durch Zugabe einer alkalischen Phosphatasesubstratlösung (100 µl), enthaltend 2 mg/ml p-Nitrophenylphosphat, 0,1 mM ZnCl₂, 1 mM MgCl₂ und 100 mM Glycin, pH 10 detektiert. Die Platten wurden über 15 bis 120 Minuten bei Raumtemperatur gelassen. Die Enzymreaktion wurde durch Zugabe von 50 µl an 2 M NaOH gestoppt. Die Absorption des freigesetzten p-Nitrophenyls wurde bei 405 nm mit einem Titertek Multiscan/MCC 340 (Flow Laboratories) gemessen. Die Mengen an gebundenem HSPG wurden durch die Nettoabsorption A₄₀₅ nach Subtraktion der Absorption von Vergleichsmulden, bei denen der HSPG-Inkubierungsschritt ausgelassen wurde, bestimmt. Die Wirkung von PVS auf HSPG: beta-APP-Bindung ist in [Fig. 2](#) (in TBS) und in [Fig. 3](#) (in PBS) dargestellt. Etwa 30 bis 50 % Inhibierung der Bindung wird mit dieser Verbindung gezeigt.

EXPERIMENT 8 (VERGLEICHSBEISPIEL)

[0062] Akute Amyloidose wurde in Mäusen mit AgNO₃ und Amyloid-verstärkendem Faktor, wie in Experiment 2 beschrieben, erzeugt. Vierundzwanzig Stunden später wurden die Tiere in eine Kontrollgruppe und sechs Testgruppen aufgeteilt. Die Kontrollgruppe wurde auf Standardlabormausfutter und Trinkwasser zur freien Verfügung gehalten. Die Testgruppen erhielten Standardfutter, aber ihr Trinkwasser enthielt 50 µM von einer der folgenden sechs Verbindungen: Ethansulfonsäurenatriumsalz, 2-Amino-ethansulfonsäurenatriumsalz (Taurin), Propan-1-sulfonsäurenatriumsalz, Ethan-1,2-disulfonsäurenatriumsalz, Propan-1,3-disulfonsäurenatriumsalz oder Butan-1,4-disulfonsäurenatriumsalz. Die Wasseraufnahme war für alle Gruppen ungefähr gleich. Nach

sechs Tagen wurden die Tiere geopfert und ihre Milz wurde, wie in Experiment 2 beschrieben, verarbeitet. Für eine vorläufige Analyse wurden die Milzschnitte visuell unter einem Mikroskop examiniert hinsichtlich Differenzen in der Amyloidablagerung in den behandelten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren.

[0063] Die Ergebnisse zeigten, dass die mit Propan-1-sulfonsäurenatriumsalz, Ethan-1,2-disulfonsäurenatriumsalz oder Propan-1,3-disulfonsäurenatriumsalz behandelten Tiere weniger Amyloidablagerung aufwiesen als die Vergleichstiere. Unter diesen akuten Amyloidosebedingungen konnte bei den mit Ethansulfonsäurenatriumsalz, Taurinnatriumsalz oder Butan-1,4-disulfonsäurenatriumsalz behandelten Tieren nicht beobachtet werden, dass sie weniger Amyloidablagerung aufwiesen als die Kontrolltiere. Diese Verbindungen können jedoch unter anderen Bedingungen Wirksamkeit aufweisen, beispielsweise wurde beobachtet, dass Ethansulfonsäurenatriumsalz chronische Amyloidablagerungen inhibiert (siehe Experiment 6).

[0064] Dieses Experiment deutet darauf hin, dass die orale Verabreichung von sulfonierten niederen Aliphaten, wie etwa Propan-1-sulfonsäurenatriumsalz, Ethan-1,2-disulfonsäurenatriumsalz und Propan-1,3-disulfonsäurenatriumsalz in einem akuten amyloidogenen System die Amyloidablagerung inhibieren kann.

ÄQUIVALENTE

[0065] Der Fachmann wird zu den hier beschriebenen spezifischen Prozeduren eine Vielzahl von Äquivalenten erkennen oder unter Verwendung von nicht mehr als Routineexperimenten feststellen. Derartige Äquivalente werden als im Rahmen der Erfindung gemäß den nachfolgenden Ansprüchen angesehen.

Patentansprüche

1. Die Verwendung einer Verbindung bei der Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prävention von Amyloidose oder einer Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt in einem hierfür bedürftigen Subjekt, worin besagte Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Propan-1,3-disulfonsäure und pharmazeutisch akzeptablen Salzen davon.

2. Die Verwendung gemäß Anspruch 1, worin die Verbindung das Natriumsalz von Propan-1,3-disulfonsäure ist.

3. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin besagte Amyloidose oder Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt, assoziiert ist mit einem Protein ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Amyloid A, Amyloid κ L-Kette, Amyloid λ L-Kette, ATTR, atrialem natriuretischem Faktor, Procalcitonin, Gelsolin, Cystatin C, AApoA-I, AApoA-II, Fibrinogen, Lysozym, AScr und PrP-27.

4. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin die Amyloidose oder Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt, ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus reaktiver [sekundärer] Amyloidose, familiärem mediterranem Fieber, familiärer Amyloidnephropatie mit Urticaria und Taubheit [Muckle-Wells-Syndrom], idiopathisch [primär], Myelom-assoziiert, Makroglobulinämie-assoziiert, familiärer Amyloidpolyneuropathie [portugiesisch, japanisch, schwedisch], familiäre Amyloidkardiomyopathie [dänisch], isolierte Kardioamyloidose, systemische senile Amyloidose, isolierte atriale Amyloidose, medullärem Thyroidkarzinom, familiäre Amyloidose [finnisch], erbliche zerebrale Hämorrhagie mit Amyloidose [isländisch], familiäre amyloidotische Polyneuropathie [Iowa], beschleunigte Seneszenz in Mäusen, Fibrinogen-assoziierte Amyloidose, Lysozym-assoziierte Amyloidose, Traberkrankheit, Creutzfeldt-Jacob-Syndrom, Gerstmann-Straussler-Scheinker-Syndrom und bovine spongiforme Enzephalitis [Rinderwahnsinn].

5. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin besagte Verbindung Amyloidablagerung inhibiert.

6. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin die Verbindung Amyloidablagerungen in einem Subjekt mit fortschreitender Amyloidose reduziert.

7. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin besagte Verbindung eine Wechselwirkung eines amyloidogenen Proteins mit einem Bestandteil der Basalmembran inhibiert.

8. Die Verwendung einer Verbindung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche bei der Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Amyloidose oder einer Krankheit, bei der Amyloidablagerung auftritt in einem hierfür bedürftigen Subjekt, worin besagte Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus

Propan-1,3-disulfonsäure und pharmazeutisch akzeptablen Salzen davon.

9. Die Verwendung gemäß Anspruch 8, worin besagte Verbindung das Natriumsalz von Propan-1,3-disulfonsäure ist.

10. Die Verwendung einer Verbindung gemäß irgendeinem der Ansprüche 1 bis 7 bei der Herstellung eines Medikaments zur Prävention von Amyloidose oder einer Krankheit, bei der Amyloidablagerung in einem Subjekt auftritt, worin besagte Verbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Propan-1,3-disulfonsäure und pharmazeutisch akzeptablen Salzen davon.

11. Die Verwendung gemäß Anspruch 10, worin besagte Verbindung das Natriumsalz von Propan-1,3-disulfonsäure ist.

12. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin besagte Verbindung zur oralen Verabreichung adaptiert ist.

13. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin besagtes Medikament zur oralen Verabreichung adaptiert ist.

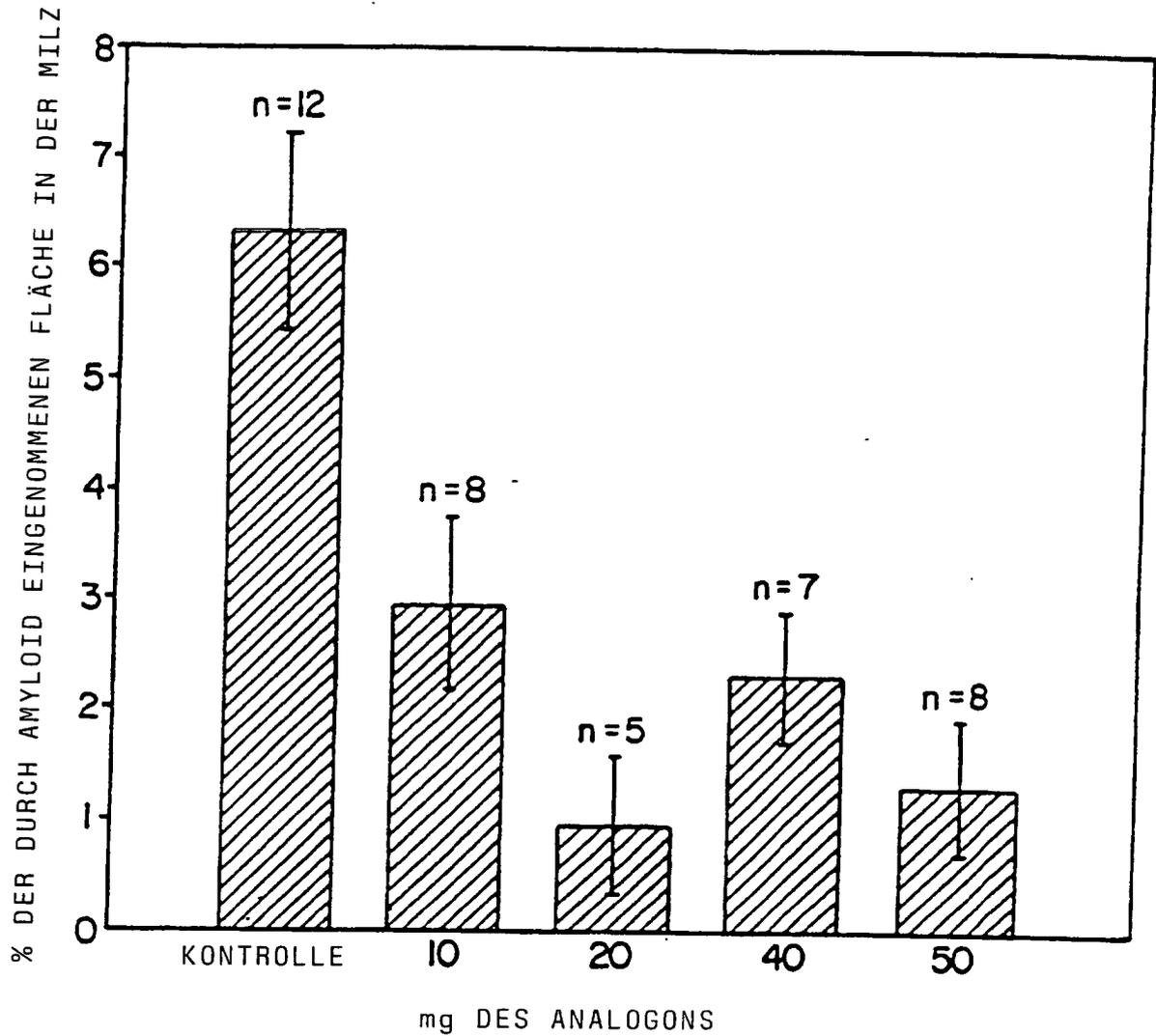
14. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin besagtes Medikament zur intravenösen Verabreichung adaptiert ist.

15. Die Verwendung gemäß irgendeinem der vorstehenden Ansprüche, worin besagtes Medikament weiterhin einen pharmazeutisch akzeptablen Träger umfasst.

Es folgen 6 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

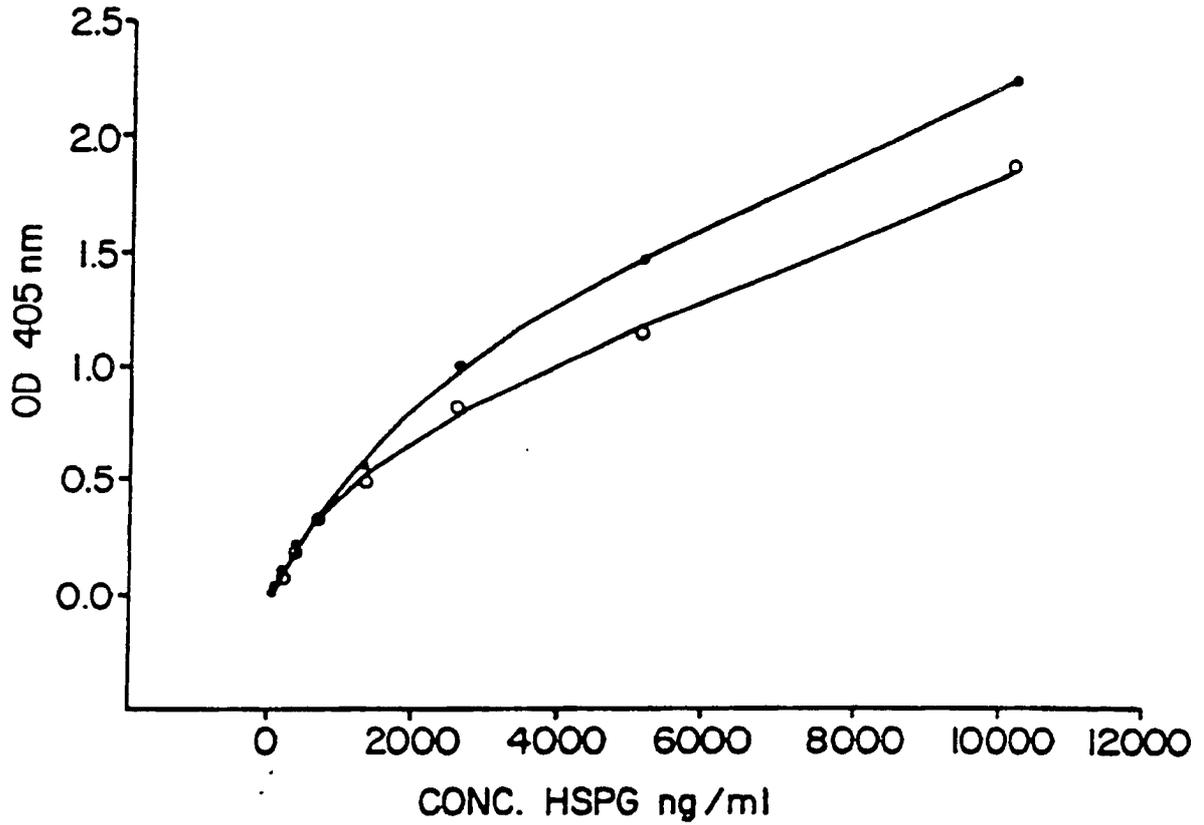
WIRKUNG VON POLY(VINYLSULFONAT) AUF DIE
IN VIVO AA-AMYLOIDABLAGERUNG IN DER MILZ



DIE WERTE STELLEN DEN MITTELWERT \pm S.E.M. VON n-BESTIMMUNGEN DAR

FIG. 1

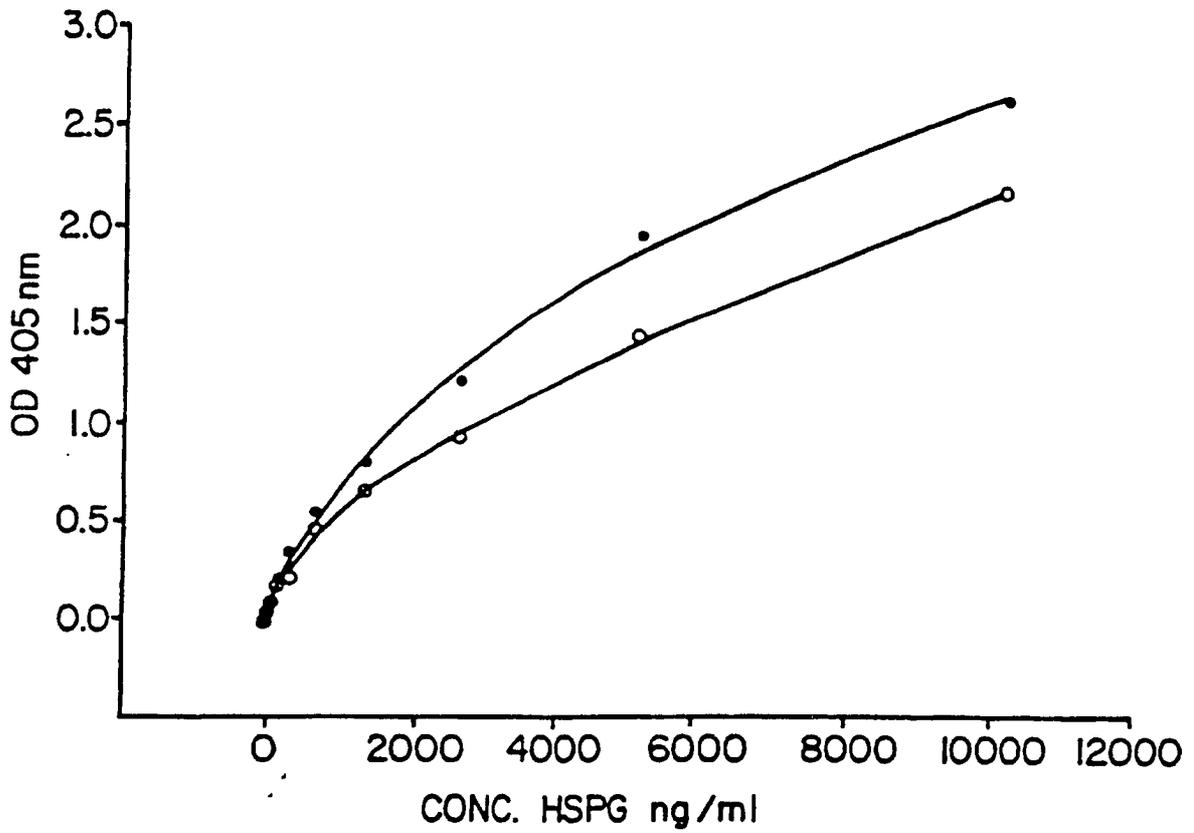
INHIBIERUNG VON BAPP:HSPG-BINDUNG DURCH
POLY(VINYLSULFONAT) IN TBS



	<u>K_d</u>	<u>B_{max}</u>
• HSPG	6nM	1,42
○ HSPG + POLY(VINYLSULFONAT)	2nM	0,675

FIG. 2

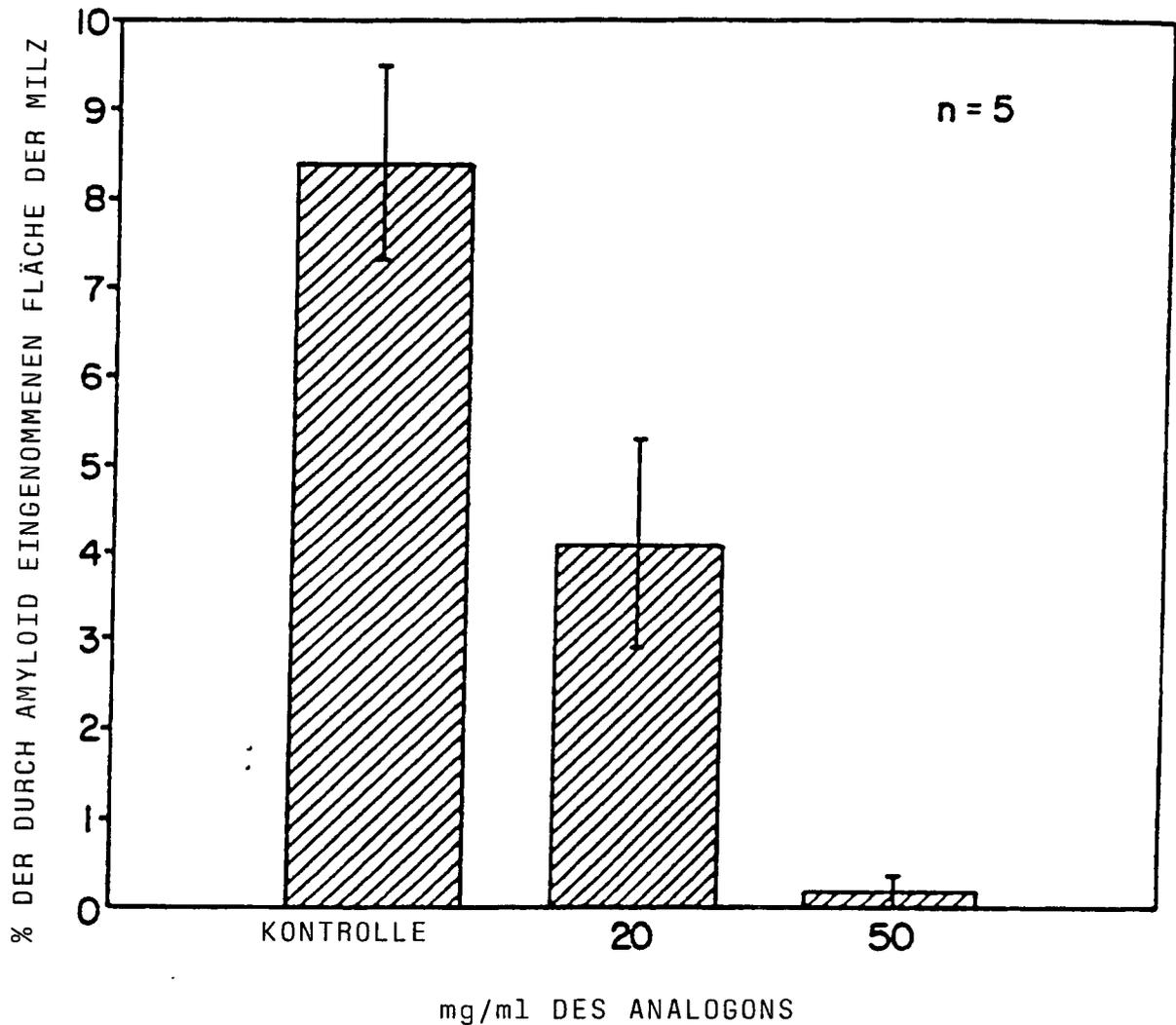
INHIBIERUNG VON BAPP:HSPG-BINDUNG DURCH
POLY(VINYLSULFONAT) IN PBS



	<u>K_d</u>	<u>B_{max}</u>
• HSPG	5nM	1,94
○ HSPG + POLY(VINYLSULFONAT)	2nM	0,859

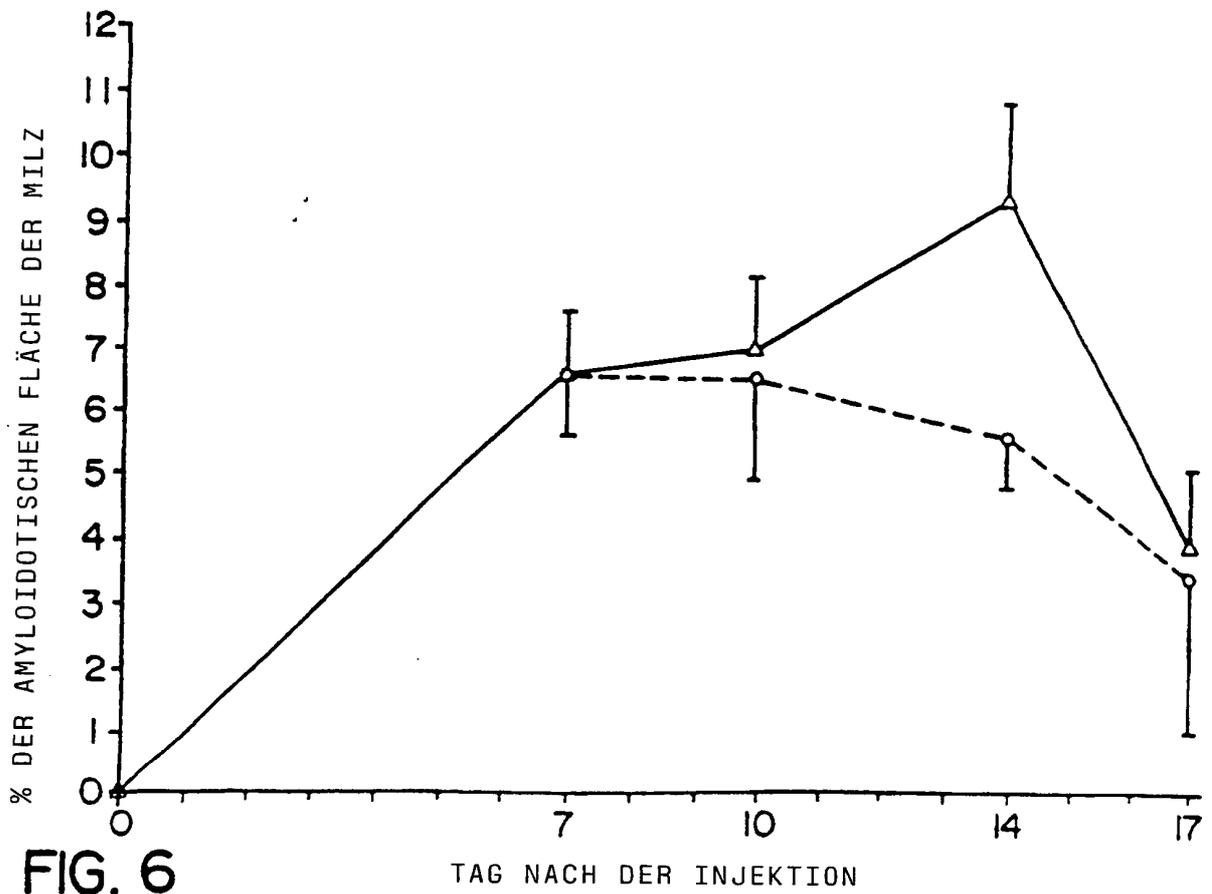
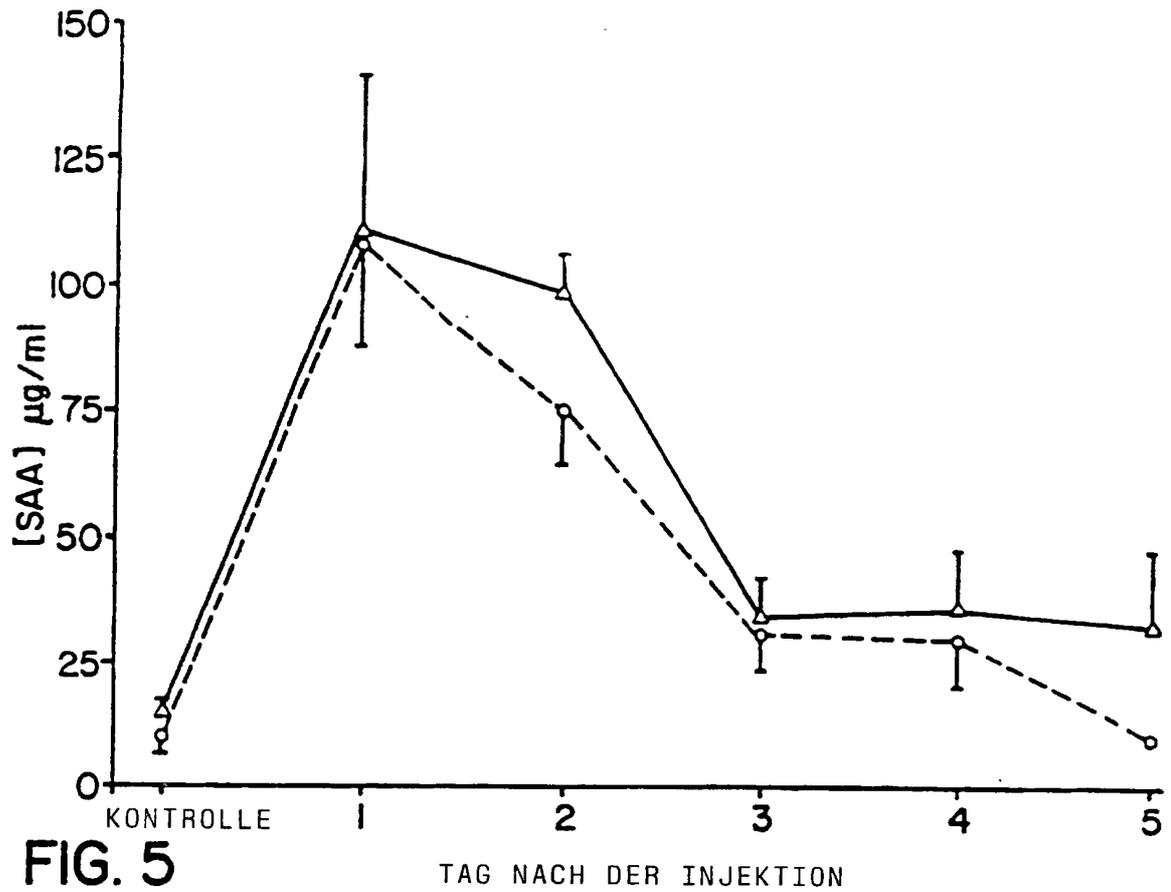
FIG. 3

WIRKUNG VON POLY(VINYLSULFONAT) AUF IN VIVO
AA-AMYLOIDABLAGERUNG IN DER MILZ



DIE WERTE STELLEN DEN MITTELWERT \pm S.E.M. VON n-BESTIMMUNGEN DAR

FIG. 4



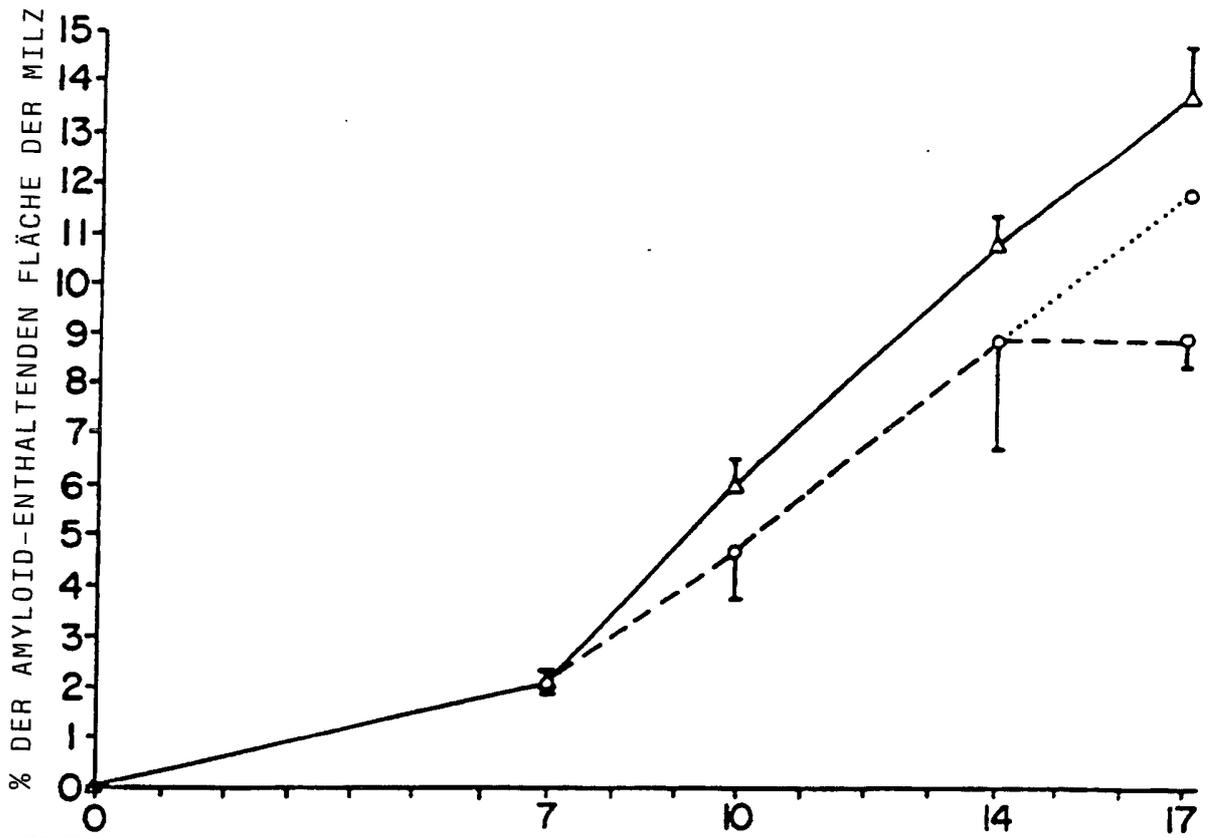


FIG. 7

TAG NACH DER INJEKTION

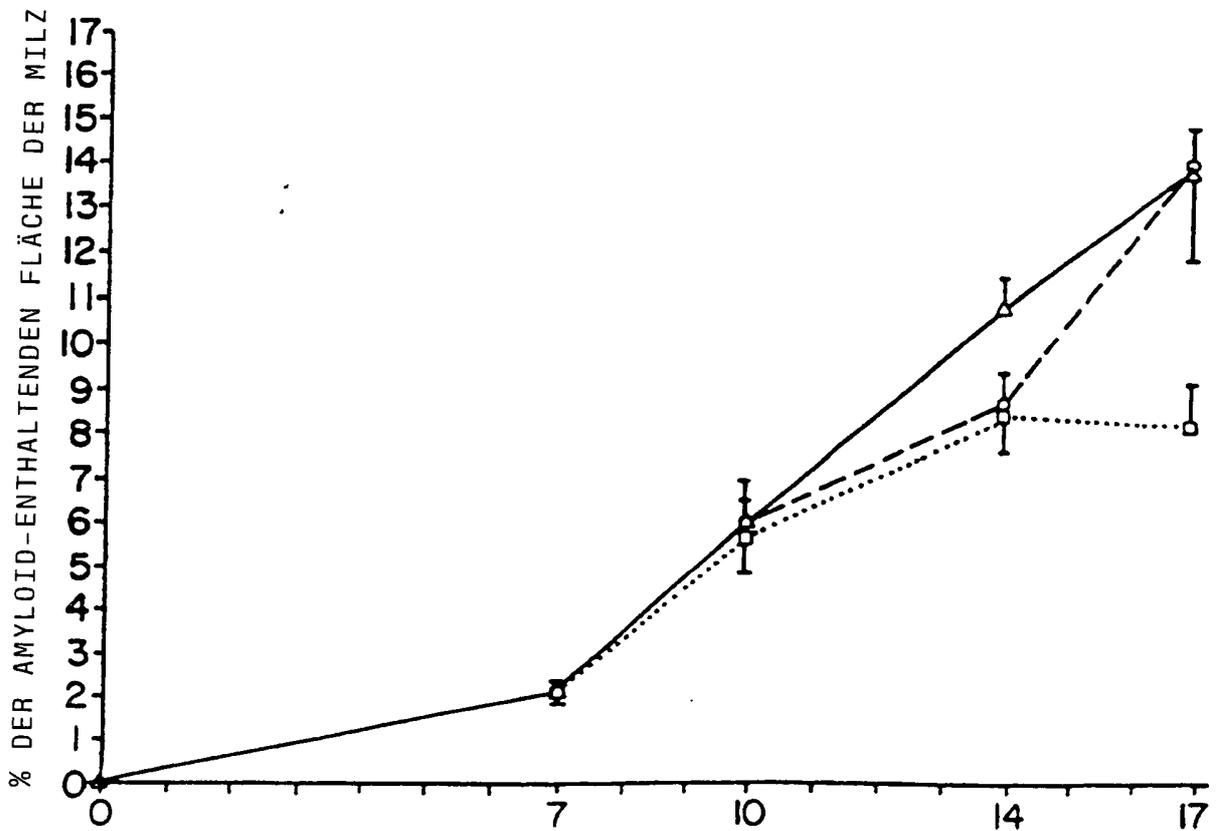


FIG. 8

TAG NACH DER INJEKTION