



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2152256 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.

A01N 43/04 (2006.01)
A61K 8/34 (2006.01)
A61K 31/03 (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01)
A61K 31/055 (2006.01)
A61K 31/136 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01)
A61K 31/695 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61Q 5/00 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
C07C 215/50 (2006.01)
C07D 213/16 (2006.01)
C07D 213/30 (2006.01)
C07D 295/096 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2015.03.16
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.10.15
(86)	Europeisk søknadsnr	08763514.0
(86)	Europeisk innleveringsdag	2008.06.04
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2010.02.17
(30)	Prioritet	2007.06.04, US, 924875 P 2007.07.02, US, 929524 P 2007.07.02, US, 929525 P 2008.02.06, US, 6924 P
(84)	Utpelte stater	AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR
(73)	Innehaver	Ben Gurion University Of The Negev Research And Development Authority, Po Box 653, 84105 Beer Sheva, IL-Israel Slavin, Shimon, Oren 21, 96190 Jerusalem, IL-Israel Gazit, Aviv, 14 Nof Arim Street, 96190 Jerusalem, IL-Israel
(72)	Oppfinner	GAZIT, Aviv, 14 Nof Arim Street, 96910 Jerusalem, IL-Israel SLAVIN, Shimon, Oren 21, 96910 Jerusalem, IL-Israel PRIEL, Esther, Eliyahu Bet Suree 19, 84105 Beer Sheva, IL-Israel YITZCHAK, Sara, Shapira 481, 14311 Tiberias, IL-Israel
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	TELOMERASEAKTIVERENDE FORBINDELSER OG FREMGANGSMÅTER FOR ANVENDELSE AV DISSE
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A1-01/08677 WO-A1-93/15063

WO-A1-97/34589
WO-A1-02/056880
WO-A1-2006/007864
WO-A1-2006/084031
WO-A1-2008/039085
WO-A2-01/49663
WO-A2-97/34599
WO-A2-2006/083869
JP-A- 2007 016 214
US-A- 4 093 557
US-A- 5 198 531
US-A- 5 571 825
US-A- 5 625 027
US-A- 6 028 103
US-A1- 2006 058 414
US-A1- 2006 111 365
US-A1- 2007 042 962
US-B1- 6 191 165
US-B2- 7 115 619

NEAMATI ET AL: "Depsidones and depsidones as inhibitors of HIV-1 Integrase", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 40, no. 6, 14 March 1997 (1997-03-14) , pages 942-951, XP002113505, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/JM960759E

DESSALEW NIGUS ET AL: "INVESTIGATION OF POTENTIAL GLYCOGEN SYNTHASE KINASE 3 INHIBITORS USING PHARMACOPHORE MAPPING AND VIRTUAL SCREENING", CHEMICAL BIOLOGY & DRUG DESIGN, BLACKWELL PUBLISHING TD., OXFORD, GB, vol. 68, no. 3, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 154-165, XP009080602, ISSN: 1747-0277, DOI: 10.1111/J.1747-0285.2006.00430.X

G V ROMANOV ET AL: 'SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF PHOSPHONIUM SALTS', [Online] 01 January 1991, pages 414 - 417, XP055055496 Retrieved from the Internet: <URL:http://download.springer.com/static/pdf/f/596/art%3A10.1007%2F00765789.pdf?auth66=1363872067_2e16c605ab16342714e5f8a1615a1ec8&ext=.pdf> [retrieved on 2013-03-06]

Beskrivelse

OPPFINNELSENS OMRÅDE

[0001] Foreliggende oppfinnelse rettes mot anvendelse av en serie forbindelser for å øke uttrykking og/eller aktivering av telomerase og for behandling av sykdommer, forstyrrelser og/eller tilstander forbundet med dette.

BAKGRUNN FOR OPPFINNELSEN

[0002] Telomerase er et ribonukleoprotein som katalyserer tilsetningen av telomere gjentakelser til endene av telomere. Telomerer er lange strekninger av gjentatte sekvenser som dekker endene av kromosomene. Hos menneskene er telomerer vanligvis 7-10 kb i lengde og omfatter flere repetisjoner. Telomerase uttrykkes ikke i de fleste voksne celler, og telomerlengden avtar med suksessive runder av replikasjon.

[0003] Telomerase fungerer som revers transkriptase i forlengelsen av telomerer, som hindrer tap av telomerer på grunn av endereplikasjonsproblemene. Uten telomerase forkortes telomere ved hver celledeling som fører til alderdom, apoptose og celledød forårsaket av kromosomustabilitet. Telomerasen er inaktiv i somatiske celler, men aktiv i 90 % av kreftcellene der telomerasen reaktiveres. Selv om telomeraseaktivering kan være farlig, fordi den kan etterligne kreftutviklingsprosessen, kan telomerase-fremmende midler komme til anvendelse teoretisk som anti-aldningsmidler og bli klinisk nyttige i visse medisinske tilstander. Til forskjell kan telomerasehemmere være nyttige for å bekjempe kreft. Kreft og aldring er nært beslektet: Inngrep som beskytter mot kreft kan føre til for tidlig aldring mens immortalisering av celler er nødvendig for dannelsen av ondartede kreftceller. Til tross for den teoretiske risikoen for aktivering av karsinogenese, kan aktivering av telomerase føre til redusert aldringshastighet.

[0004] Vurderingen av telomerlengden er viktig for forståelsen av biologisk og klinisk betydning av telomeren. Telomerlengden tjener som en nyttig indikator i studiet av den kromosomale stabiliteten, telomeraseaktiviteten og/eller telomeraseuttrykkingen, den proliferative kapasiteten og aldringsprosessen av cellene. Den kliniske verdien av telomerer kan demonstreres i sin betydning i kreft, for tidlig aldringssyndrom eller segmentell progeria; genetiske misdannelser, sykdommer som skyldes kromosomustabilitet, så som Bloom-syndrom (en sjelden arvelig forstyrrelse preget av en høy frekvens av pauser og rearrangementer i den berørte personens kromosomer), og aldersrelaterte sykdommer, så som Warners syndrom (en sjelden sykdom som manifesterer rask aldring hos yngre mennesker). Dynamikken i telomerlengden har forskjellige mønstre av uttrykk i spesifikke sykdomsprogresjoner. Derfor har den en stor verdi i prognosen av sykdommene.

[0005] Telomerlengden kan måles med Southern blott, hybridiseringsbeskyttelses-analyse, fluorescens *in situ*-hybridisering, strømningscytometri, primers *in situ*, kvantitativ polymerasekjedereaksjon og enkelt telomerlengdeanalyse.

[0006] Mangel på telomeraseaktivitet og/eller telomeraseuttrykking og korte telomerer kan forårsake dyskeratosis congenita, aplastisk anemi, økning av dødsfall på grunn av hjerte- og karsykdommer, slag eller infeksjoner, hypertensjon eller kronisk stress.

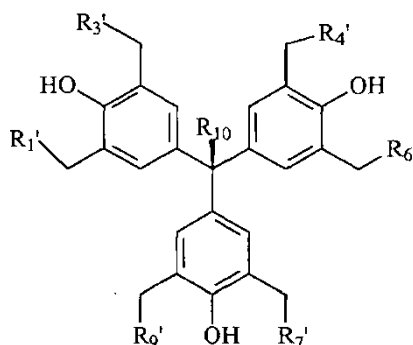
[0007] Det ble vist at transduksjon av telomerase hos telomerase-knockoutmus forebygget skader på leveren.

[0008] I tillegg til rollen som telomerase i telomerlengdeoppretholdelse tyder akkumulerende data på at telomerasereverstranskriptaseproteinet (TERT-proteinet) har flere fysiologiske funksjoner, dvs. å beskytte celler og mus fra forskjellige skader i en mekanisme (ennå uklart) som ikke involverer telomerforlengelse.

[0009] Forbindelser som aktiverer telomerase vil dermed finne anvendelse i flere klinisk relevante scenarier.

OPPSUMMERING AV OPPFINNELSEN

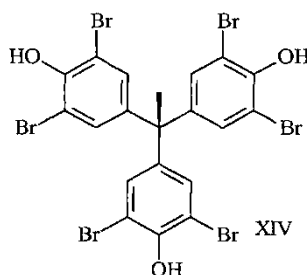
[0010] I en utførelsesform tilveiebringer denne oppfinnelsen en forbindelse representert av strukturen av formel VI:



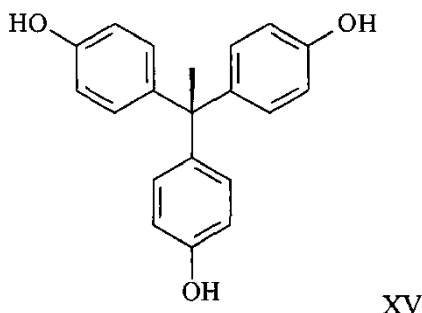
VI

der R_1' , R_3' , R_4' , R_6' , R_7' og R_9' er de samme og valgt fra heterosykloalkyl, alkoksy og dialkylamino, og R_{10} er metyl;

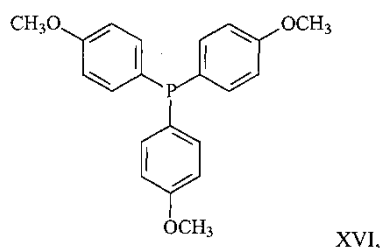
eller av strukturen av formel XIV:



eller av strukturen av formel XV:



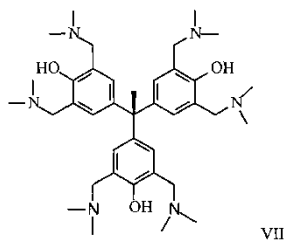
eller av strukturen av formel XVI:



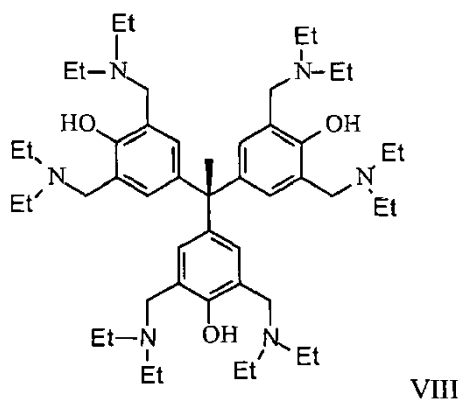
for anvendelse ved behandling i et individ med sykdommer som kan behandles både ved å stimulere eller øke telomeraseuttrykking og/eller aktivitet, og valgt fra en nevrodegenerativ sykdom, nervesystemskade, vaskulær sykdom, en sykdom eller forstyrrelse forbundet med aldring, en degenerativ leddsykdom, en degenerativ sykdom i skjelettsystemet, en degenerativ sykdom i muskulaturen, makuladegenerasjon, infeksjon, immunsystemsvekkelse, kreft, degenerativ inflammatorisk sykdom, en genetisk forstyrrelse som forårsaker akselerert cellefornyelse, anemi, mannlig eller kvinnelig ufruktbarhet, og en akutt eller kronisk sykdom eller forstyrrelse i huden ved kontakt med påvirket hud med forbindelsen.

[0011] I en annen utførelsesform er den akutte eller kroniske hudtilstanden eller forstyrrelsen et sår, et brannså, en slitasje, et innsnitt, et podesete, en vaskulær lesjon, en lesjon forårsaket av et infeksjonsmiddel, et kronisk venøst sår, et diabetessår, et kompresjonssår, et trykksår, en slimhinne eller sår, melanom- eller keloiddannelse.

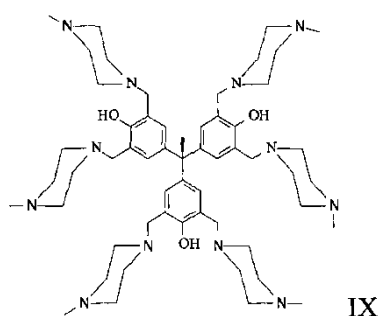
[0012] I en annen utførelsesform representeres strukturen av formel VI med strukturen av formel VII:



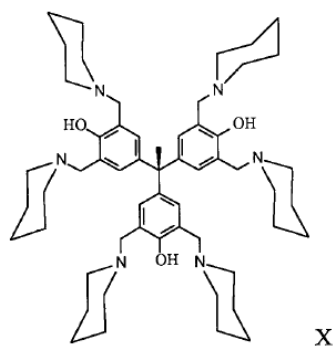
eller av strukturen av formel VIII:



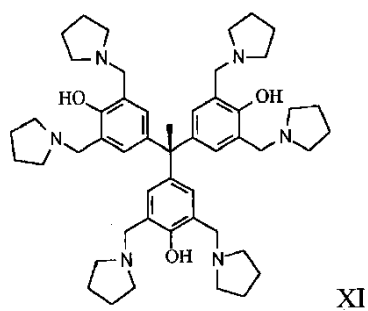
eller av strukturen av formel IX:



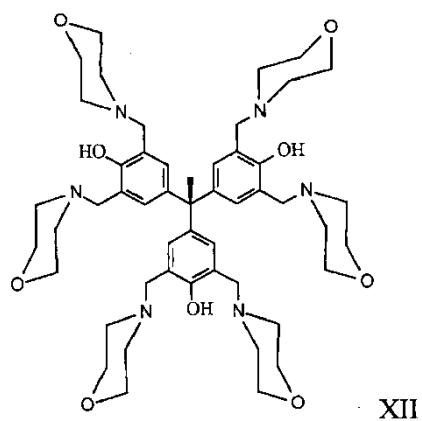
eller av strukturen av formel X:



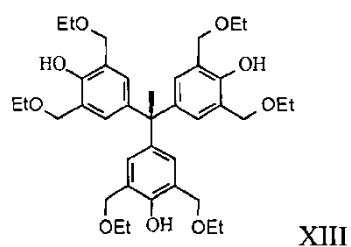
eller av strukturen av formel XI:



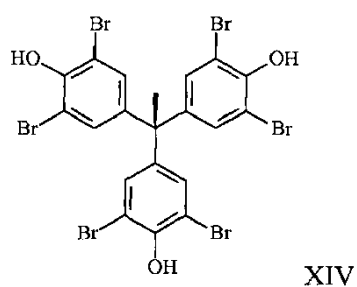
eller av strukturen av formel XII:



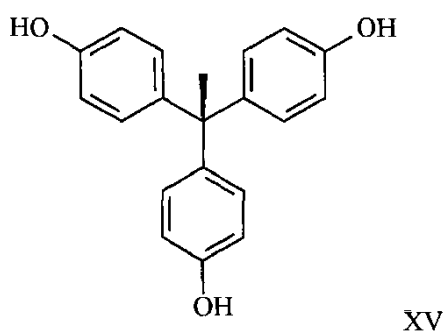
eller av strukturen av formel XIII:



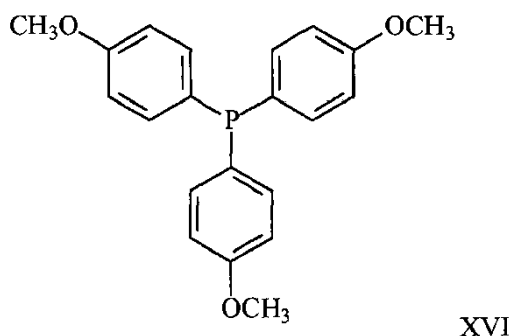
[0013] I en annen utførelsesform representeres strukturen av formel VI av strukturen av formel XIV:



eller av strukturen av formel XV:



eller av strukturen av formel XVI:



[0014] I en annen utførelsesform gjør oppfinnelsen bruk av en forbindelse representert av strukturen av formel VI, XIV, XV eller XVI som definert ovenfor for behandling av en aldersrelatert tilstand som kan behandles ved å stimulere eller øke telomerase-uttrykkningen og/eller telomeraseaktiviteten, der den aldersrelaterte tilstanden er rynkedannelse av huden eller gråning av håret.

[0015] I en annen utførelsesform gjør oppfinnelsen bruk av en forbindelse representert av strukturen av formel VII, VIII, IX, X, XI, XII eller XIII som definert ovenfor for behandling av en aldersrelatert tilstand som kan behandles ved å stimulere eller øke telomeraseuttrykkningen og/eller telomeraseaktiviteten, der den aldersrelaterte tilstanden er rynkedannelse av huden eller gråning av håret.

KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

[0016] Emnet som anses som oppfinnelsen blir særlig pekt ut og tydelig angitt i den avsluttende delen av beskrivelsen. Oppfinnelsen kan imidlertid, både med hensyn til organiseringen og fremgangsmåten for operasjonen, sammen med formål, funksjoner og fordeler ved denne, best forstås ved henvisning til den følgende detaljerte beskrivelsen når den leses sammen med de vedlagte tegningene, der:

Fig. 1: Behandling av U-251-celle med forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen og måling av telomeraseaktiviteten ved TRAP-analyse.

A. Telomeraseaktiviteten i celler behandlet med forbindelse 68. B. Beregning av resultater og % telomeraseaktivering.

Fig. 2: Tidsavhengig økning i telomeraseproteinnivå av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. A. Western blott-analyse med anti-humant telomeraseantistoff. B. Kvantifisering av telomeraseproteinnivå.

Fig 3: Forbindelse 68 øker uttrykkningen av telomerase-RNA. A. Northern blott-analyse ved hjelp av hTERT-spesifikk cDNA-probe. AD er aktinomycin D.B. Kvantifisering av RNA-nivå.

Fig 4: Effekt av behandling med forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse for overlevelse og proliferasjon av hMSC.

Fig 5: Aktivisering av telomeraseuttrykking i hMSC av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. A. - hMSC ble behandlet med 250 nM av forbindelsene 79, 77 og 68 i 6 timer. Immunofluorescensen ble utført med anti-hTERT-antistoff (rød) og kjernen ble farget med DAPI (blå). B. hMSC ble behandlet med forbindelse 79 i 6 og 24 timer. Telomeraseaktiviteten ble målt ved sanntids-PCR ved anvendelse av et kvantitativt telomersedeteksjonssett (Allied Biotech Inc., USA).

Fig 6: Effekten av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på aldrende humane keratinocytter *in vitro*.

Fig 7: A. Effekten av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på humane retinale pigmenterte epitelceller under oksidativt stress. B. Effekten av forbindelsene på telomeraseaktiviteten i RPE-celler (målt av en kvantitativ telomersedeteksjonssett-sanntids-PCR).

Fig 8: Levetidsforlengelse av *C. elegans* av de telomeraseaktiverende forbindelsene 68 og 77.

Fig 9: Aktivisering av telomeraseuttrykking av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse i rotteendometriale celler. A,B. Histologisk analyse. CF. Immunhistokjemisk analyse med spesifikt anti-hTERT-antistoff. G. Telomeraseaktiviteten i nukleære ekstrakter som stammer fra endometriet til rotter injisert med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. G(B) Telomeraseaktiviteten i nukleære ekstrakter som stammer fra endometriet til rotter injisert med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse målt ved sanntids-PCR ved å anvende et kvantitativt telomersedeteksjonssett (Allied Biotech Inc., USA).

Fig 10: Telomeraseaktivering av rotte-hjernebark-celler av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse.

Fig 11: Telomeraseaktivering av muse-CNS av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse.

Fig 12: Telomeraseproteinet økes hos rotter behandlet med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse.

Fig 13: Forebygging av glutamatindusert apoptose i lillehjernen til mus av forbindelse 79.

Fig. 14: Telomeraseuttrykkningen aktiveres i musehjertet av forbindelse 79.

Fig. 15: Forbindelse 68 forebygger effekten av skadelige legemidler på embryoutviklingen hos rotter.

DETALJERT BESKRIVELSE AV DEN FORELIGGENDE OPPFINNELSEN

[0017] I den følgende detaljerte beskrivelsen fremsettes mange spesifikke detaljer for å gi en grundig forståelse av oppfinnelsen. Fagfolk på området vil imidlertid forstå at den foreliggende oppfinnelsen kan praktiseres uten disse spesifikke detaljene. I andre tilfeller har ikke velkjente fremgangsmåter, prosedyrer og komponenter blitt beskrevet i detalj for ikke å tilsløre den foreliggende oppfinnelsen.

[0018] Den foreliggende oppfinnelsen vedrører anvendelsen av tri-fenylforbindelser for behandling av sykdommer eller tilstander som er i stand til å påvirkes av forbedret telomeraseuttrykking og/eller telomeraseaktivering, som definert i de vedlagte kravene.

[0019] Beskrivelsen offentliggjør anvendelsen av slike forbindelser som stimulerer og/eller øker telomeraseuttrykkningen og/eller aktiviteten i celler og vev i et individ, der aktiviteten er redusert, mangler, er endret eller normal. Slike forstyrrelser inkluderer blant annet a) Alzheimers sykdom; b) Parkinsons sykdom; c) Huntingtons sykdom; d) nerveskade, motorisk nevronsykdom, multippel sklerose (MS), perifer og sentral nervesystemskade inkludert ryggskade og cerebrale vaskulære hendelser; e) slag; f) sykdommer eller tilstander knyttet til aldring, så som f.eks. aldring av huden, så som dermal atrofi og hudtynning, elastolyse og dannelse av rynker, talgkjertelhyperplasi eller hypoplasi, senile lentigo, unormal pigmentering (eng.: pigmentation abnormalities), gråning av hår og håravfall eller tynning (skallethet, alopesi), eller kroniske hudsår; g) degenerativ leddsykdom; h) osteoporose, osteoartritt og andre degenerative tilstander i skjelettsystemet; i) sarkopeni og andre degenerative tilstander i muskulaturen; j) alders- og stressrelaterte sykdommer i det vaskulære systemet, inkludert aterosklerose, forkalkning, trombose og aneurisme; k) aldersrelatert makuladegenerasjon; l) AIDS; m) alders- og stressrelatert immunsystemforringelse, inkludert forringelse av vevsfornyelse, som oppstår med naturlig aldring, kreft, kreftbehandling, akutte eller kroniske infeksjoner, degenerative inflammatoriske sykdommer eller med genetiske forstyrrelser som forårsaker akselerert cellefornyelse, og relaterte anemier og andre degenerative tilstander; n) helbredelse av sår, brannsår,

skrubbsår eller andre akutte eller kroniske tilstander i epidermis; o) sekresjonsfasefeil; og/eller p) for tidlig eggstokksvikt (primær eggstokksvikt eller hypergonadotropisk hypogonadisme).

5 **Forbindelser ifølge oppfinnelsen:**

[0020] Oppfinnelsen omfatter anvendelsen av tri-fenylforbindelser representert av strukturen av formel VI til XVI.

[0021] Begrepet "alkyl" refererer til rettkjedede og forgrenede alkylgrupper. I en utførelsesform har alkylgruppen 1-12 karboner. I en annen utførelsesform har
10 alkylgruppen 1-7 karboner. I en annen utførelsesform har alkylgruppen 1-6 karboner. I en annen utførelsesform har alkylgruppen 1-7 karboner. I en annen utførelsesform har alkylgruppen 2-6 karboner. I en annen utførelsesform har alkylgruppen 1-7 karboner. I en annen utførelsesform har alkylgruppen 2-8 karboner. I en annen utførelsesform har alkylgruppen 3-6 karboner. I en annen utførelsesform har alkylgruppen 3-7 karboner. I
15 en annen utførelsesform har alkylgruppen 1-4 karboner. I en annen utførelsesform er det forgrenede alkylet et alkyl substituert med alkylsidekjeder på 1 til 5 karboner.

[0022] En "alkoksy"-gruppe refererer til en alkylgruppe som definert ovenfor, som er knyttet til oksygen. Eksempler på alkoksygrupper er etoksy, propoksy, tert-butoksy.

[0023] En "heterosykloalkyl"-gruppe refererer, i en utførelsesform, til en ikke-
20 aromatisk, monosyklisk eller polysyklisk ring omfattende karbon og i tillegg til karbon, svovel, fosfor, oksygen eller nitrogen, som en del av ringen. En heterosykloalkylgruppe kan ha én eller flere dobbeltbindinger i ringen, så lenge ringen ikke gjengis som aromatisk av deres nærvær. Eksempler på heterosykloalkylgrupper inkluderer, men er ikke begrenset til, piperidin, piperazin, pyran, morfolin. Fortrinnsvis er heterosyklo-
25 alkylgruppen en monosyklisk eller bisyklisk på en ringstruktur omfattende, i tillegg til karbonatomer, svovel, oksygen, nitrogen eller hvilken som helst kombinasjon derav, som en del av ringen. I en annen utførelsesform er heterosykloalkylet en 3-12-leddet ring. I en annen utførelsesform er heterosykloalkylet en 6-leddet ring. I en annen utførelsesform er heterosykloalkylet en 5-7-leddet ring. I en annen utførelsesform er
30 heterosykloalkylet en 4-8-leddet ring. I en annen utførelsesform er heterosykloalkylet et syklisk urea, imidazolinyl, imidazolidinyl, pyrrolinyl, pyrrolidinyl, oksazolinyl, isoksazolinyl, oksazolidinyl, oksazolidonyl, isoksazolidonyl, pyrazolinyl, pyrazolidinyl, piperidyl, piperazin, morfolinyl.

[0024] Farmasøytisk akseptable salter av forbindelsene kan fremstilles for å danne
35 alkalimetallsalter og for å danne addisjonssalter av frie syrer eller frie baser. Egnede farmasøytisk akseptable syreaddisjonssalter av forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan fremstilles fra en uorganisk syre eller fra en organisk syre. Eksempler på uorganiske syrer er saltsyre, hydrobromsyre, hydrojodsyre, salpetersyre, karbonsyre, svovelsyre og fosforsyre. I en utførelsesform kan organiske syrer velges fra alifatiske, sykloalifatiske,

aromatiske, aralifatiske, heterosykliske, karboksyliske og sulfonsyreklasser av organiske syrer, eksempler på slike er maursyre, eddiksyre, propionsyre, ravsyre, glykolsyre, glukonsyre, melkesyre, eplesyre, vinsyre, sitronsyre, askorbinsyre, glukoronsyre, maleinsyre, fumarsyre, pyrodruesyre, asparaginsyre, glutaminsyre, benzosyre, antranilsyre, oksalsyre, p-toluensulfonsyre, mesylsyre, salisylsyre, p-hydroksybenzosyre, fenyleddiksyre, mandelsyre, embonsyre (pamoinisyre), metansulfonsyre, etylsulfonsyre, benzensulfonsyre, sulfanilsyre, stearinsyre, sykloheksylaminosulfonsyre, algensyre, galakturonsyre. Egnede farmasøytisk akseptable baseaddisjonssalter av forbindelser ifølge oppfinnelsen inkluderer metallsalter fremstilt fra aluminium, kalsium, litium, magnesium, kalium, natrium og sink eller organiske salter fremstilt av N,N'-dibenzyletylendiamin, kolin, klorprokain, dietanolamin, etylendiamin, meglumin (N-metylglukamin) og prokain. Alle disse saltene kan fremstilles ved konvensjonelle fremgangsmåter fra de tilsvarende forbindelsene.

[0025] Farmasøytisk akseptable salter kan fremstilles, fra de fenoliske forbindelsene, ved behandling med uorganiske baser, f.eks. natriumhydroksid.

[0026] I noen utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen anvendelse av forbindelsen, for behandling av en tilstand som kan behandles ved å øke telomeraseaktiviteten og/eller terlomeraseuttrykkningen i celler eller vev hos et individ, så som behandling av en akutt eller kronisk tilstand av epidermis; og/eller behandling av alders- og stressrelaterte sykdommer i det vaskulære systemet, inkludert aterosklerose, forkalkning, trombose, hypertensjon eller aneurisme; og/eller behandling av aldersrelatert makuladegenerasjon og/eller aldersrelaterte sykdommer i huden; og/eller behandling av alders- og stressrelatert immunsystemforringelse.

[0027] I noen utførelsesformer tilveiebringer oppfinnelsen sammensetninger omfattende forbindelsen ifølge denne oppfinnelsen og/eller behandling av kvinnelige infertilitetsrelaterte tilstander, inkludert sekresjonsfasefeil (eng.: luteal phase defect) eller for tidlig eggstokksvikt (primær eggstokksvikt eller hypergonadotropisk hypogonadisme); og/eller redusert granulosacelletelomeraseaktivitet; og/eller behandling av mannlige infertilitetsrelaterte forhold, inkludert svekket spermproduksjon eller nedsatt spermlevering.

[0028] I en utførelsesform inkluderer begrepene "behandle" eller "behandling" forebyggende samt forstyrrelsesremittiv behandling. Begrepene "reduserende", "undertrykkende" og "hemmende" har sin allment forståtte betydning av å minske eller redusere, i en annen utførelsesform, eller forsinke, i en annen utførelsesform, eller redusere, i en annen utførelsesform forekomsten, alvorlighetsgraden eller patogenesen av en sykdom, forstyrrelsen eller tilstanden. I en utførelsesform refererer begrepet behandling til forsinket progresjon av, langvarig remisjon av, redusert forekomst av eller lindring av symptomer forbundet med sykdommen, forstyrrelsen eller tilstanden. I

en utførelsesform refererer begrepene "behandle" "redusere", "undertrykke" eller "hemme" til en reduksjon av sykkelighet, dødelighet, eller en kombinasjon derav, i assosiasjon med den indikerte sykdommen, forstyrrelsen eller tilstanden. I én utførelsesform refererer begrepet "progresjon" til en økning i omfang eller alvorlighetsgrad, utvikling, vokser eller blir dårligere. Begrepet "tilbakefall" betyr, i en annen utførelsesform, returen av en sykdom etter en remisjon. I én utførelsesform reduserer anvendelsen i behandling ifølge oppfinnelsen alvorlighetsgraden av sykdommen, eller i en annen utførelsesform symptomer forbundet med sykdommen, eller i en annen utførelsesform antallet biomarkører som uttrykkes i løpet av sykdommen.

[0029] I en utførelsesform refererer begrepet "behandle" og dets inkluderte aspekter, til administrasjon til et individ med den indikerte sykdommen, forstyrrelsen eller tilstanden eller i noen utførelsesformer, til et individ som er disponert for den indikerte sykdommen, forstyrrelsen eller tilstanden. Begrepet "predisponert for" skal anses å referere *blant annet* til en genetisk profil eller familiært forhold som er forbundet med en trend eller statistisk økning i forekomst, alvorlighetsgrad osv. av den indikerte sykdommen. I noen utførelsesformer skal begrepet "predisponert til" betraktes som å referere *blant annet* til en livsstil som er forbundet med økt risiko for den indikerte sykdommen. I noen utførelsesformer skal begrepet "predisponert for" anses å referere *blant annet* til nærværet av biomarkører som er forbundet med den indikerte sykdommen, f.eks. i kreft kan begrepet "predisponert til" omfatte nærværet av prekankrøse forløpere for den indikerte kreften.

[0030] I noen utførelsesformer skal begrepet "redusere patogenesen" forstås som å omfatte å redusere vevskade eller organskade forbundet med en bestemt sykdom, forstyrrelse eller tilstand. I en annen utførelsesform skal begrepet "redusere patogenesen" forstås som å omfatte å redusere forekomsten eller alvorligheten av en forbundet sykdom, forstyrrelse eller tilstand, med det i minne. I en annen utførelsesform skal begrepet "redusere patogenesen" forstås som å omfatte å redusere antallet forbundne sykdommer, forstyrrelser eller tilstander med det indikerte eller symptomer forbundet med disse.

[0031] Begrepet "administrering", i en annen utførelsesform, refererer til å bringe en gjenstand i kontakt med en forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse. Administreringen utføres *in vivo*, dvs. i celler eller vev fra levende organismer, f.eks. mennesker.

[0032] I en utførelsesform gjør oppfinnelsen bruk av den beskrevne forbindelsen ifølge denne oppfinnelsen ved å bringe et telomeraseenzym i kontakt med eller binde et telomeraseenzym i en mengde som er effektiv til å øke telomeraseaktiviteten og/eller telomeraeuttrykkingen og derved å mediere de beskrevne effektene.

Farmasøytiske sammensetninger

[0033] I noen utførelsesformer tilveiebringer denne oppfinnelsen anvendelse i fremgangsmåter som omfatter å administrere en sammensetning omfattende de beskrevne forbindelsene. Som anvendt i dette dokumentet betyr "farmasøytisk sammensetning" en "terapeutisk effektiv mengde" av den aktive bestanddelen, dvs. forbindelsene anvendt i denne oppfinnelsen, sammen med en farmasøytisk akseptabel bærer eller fortynningsmiddel. En "terapeutisk effektiv mengde" som anvendt i dette dokumentet refererer til den mengden som gir en terapeutisk effekt for en gitt tilstand og administreringsregime.

[0034] I enkelte utførelsesformer kan sammensetningene omfatte minst én forbindelse anvendt i denne oppfinnelsen, i hvilken som helst form eller utførelsesform som er beskrevet i dette dokumentet. I noen utførelsesformer skal begrepet "en" forstås som å omfatte en enkelt eller flere av det angitte materialet. I noen utførelsesformer refererer "én" eller "et" til minst én.

[0035] I noen utførelsesformer vil hvilken som helst av sammensetningene bestå av en forbindelse anvendt i denne oppfinnelsen, i hvilken som helst form eller utførelsesform som beskrevet i dette dokumentet. I noen utførelsesformer vil sammensetningene bestå i det vesentlige av en forbindelse anvendt i hvilken som helst form eller utførelse som beskrevet i dette dokumentet.

[0036] I noen utførelsesformer refererer begrepet "omfatte" til inkludering av det angitte aktive midlet, så som forbindelsene anvendt i denne oppfinnelsen, samt inkludering av andre aktive midler, og farmasøytisk akseptable bærere, eksipienser, bløtgjørende midler, stabiliseringsmidler osv. som er kjent i den farmasøytiske industrien. I noen utførelsesformer vil hvilken som helst av sammensetningene omfatte en forbindelse av formel VI - XVI i hvilken som helst form eller utførelsesform som beskrevet i dette dokumentet. I noen utførelsesformer vil hvilken som helst av sammensetningene bestå av en forbindelse av formel VI - XVI, i hvilken som helst form eller utførelsesform som beskrevet i dette dokumentet. I noen utførelsesformer vil sammensetningene bestå i det vesentlige av en forbindelse anvendt i denne oppfinnelsen, i hvilken som helst form eller utførelsesform som beskrevet i dette dokumentet. I noen utførelsesformer refererer begrepet "omfatte" til inkludering av det angitte aktive midlet, så som forbindelsen anvendt i denne oppfinnelsen, samt inkludering av andre aktive midler, og farmasøytisk akseptable bærere, eksipienser, bløtgjøringsmidler, stabilisatorer, som er kjent i den farmasøytiske industrien. I noen utførelsesformer refererer begrepet "bestående i det vesentlige av" til en sammensetning, hvis eneste aktive bestanddel er den indikerte aktive bestanddelen, men andre forbindelser kan imidlertid inkluderes, som er for å stabilisere, bevare formuleringen, men er ikke involvert direkte i den terapeutiske effekten av den angitte aktive bestanddelen. I noen utførelsesformer refererer begrepet "bestående i det vesentlige av"

til en sammensetning, hvis eneste aktive bestanddel med en sammenlignbar virkningsmåte eller tilsvarende molekylære mål er den angitte aktive bestanddelen, men andre aktive bestanddeler kan innføres, med slike sekundære aktive bestanddeler som virker på forskjellige mål, eller i en palliativ kapasitet. I noen utførelsesformer kan begrepet "i det vesentlige bestående av" referere til komponenter som letter frigjøringen av den aktive bestanddelen. I noen utførelsesformer refererer begrepet "bestående" til en sammensetning, som inneholder en forbindelse som beskrevet i dette dokumentet som den eneste aktive bestanddelen og en farmasøytisk akseptabel bærer eller eksipiens.

[0037] En aktiv komponent kan formuleres til sammensetningen som nøytraliserte farmasøytisk akseptable saltformer. Farmasøytisk akseptable salter inkluderer syreaddisjonssaltene, som er dannet med uorganiske syrer, så som f.eks. saltsyre eller fosforsyrer, eller organiske syrer, så som eddiksyre, oksalsyre, vinsyre, mandelsyre. Salter dannet fra de frie karboksylgruppene kan også avledes fra uorganiske baser, så som f.eks. natrium, kalium, ammonium, kalsium eller jernhydroksider og organiske baser, så som isopropylamin, trimetylamin, 2-etylaminoglykol, histidin, prokain.

[0038] De farmasøytiske sammensetningene inneholdende forbindelsen anvendt i denne oppfinnelsen kan administreres til et individ av hvilken som helst fremgangsmåte som er kjent for en fagmann på området, så som oralt, parenteralt, intravaskulært, parakanseralt, transmukosalt, transdermalt, intramuskulært, intranasalt, intravenøst, intradermalt, subkutant, sublingualt, intraperitonealt, intraventrikulært, intrakranielt, intravaginalt, ved innånding, rektalt, intratumoralt eller på enhver annen måte der det/den rekombinante viruset/sammensetningen kan leveres til vev (f.eks. nål eller kateter). Alternativt kan topisk administrering være ønskelig for anvendelse på slimhinneceller, for hud eller okulær anvendelse. En annen fremgangsmåte for administrering er via inhalering eller aerosolformulering.

[0039] Sammensetningene formuleres i en utførelsesform for oral levering, der de aktive forbindelsene kan innføres med eksipienter og anvendes i form av fordøyelige tabletter, bukkale tabletter, pastiller, kapsler, eliksirer, suspensjoner, siruper, skiver. Tablettene, lozengene, pillene, kapslene kan også inneholde følgende: et bindemiddel, som gummitragant, akasie, maisstivelse eller gelatin; eksipienser, så som dikalsiumfosfat; et oppbrytende middel, så som maisstivelse, potetstivelse, alginsyre; et smøremiddel, så som magnesiumstearat; og et søtningsmiddel, så som sukrose, laktose eller sakkarin kan tilsettes eller et smaksgivende middel, så som peppermynte, vintergrønn olje eller kirsebærsmak. Når doseringsenhetsformen er en kapsel kan den inneholde, i tillegg til materialer av den ovennevnte angitte typen, en flytende bærer. Forskjellige andre materialer kan være til stede som belegg eller på annen måte å modifisere den fysikalske formen av doseringsenheten. F.eks. kan tabletter, piller eller kapsler belegges med skjellakk, sukker eller begge deler. Sirup av

eliksir kan inneholde den aktive forbindelsen, sukrose som søtningsmiddel, metyl og propylparabener som konserveringsmidler, et fargestoff og smaksmiddel, så som kirsebær eller appelsinsmak. I tillegg kan de aktive forbindelsene innføres i forlenget frigjøring, pulset frigjøring, kontrollert frigjøring eller utsatte frigjørende preparater og formuleringer.

[0040] I en annen utførelsesform omfatter sammensetningene ett eller flere farmasøytisk akseptable bærermaterialer.

[0041] I én utførelsesform er bærerne for anvendelse i slike sammensetninger biokompatible, og i en annen utførelsesform, biologisk nedbrytbare. I andre utførelsesformer kan formuleringen tilveiebringe et forholdsvis konstant nivå for frigjøring av en aktiv komponent. I andre utførelsesformer kan imidlertid en hurtigere frigjøringshastighet umiddelbart etter administrering være ønskelig. I andre utførelsesformer kan frigjøring av aktive forbindelser hendelsesutløses. Hendelsene som utløser frigjøringen av de aktive forbindelsene kan være de samme i en utførelsesform, eller forskjellig i en annen utførelsesform. Hendelser som utløser frigjøringen av de aktive komponentene kan utsettes for fuktighet i en utførelsesform, lavere pH-verdi i en annen utførelsesform eller temperaturterskel i en annen utførelsesform. Formuleringen av slike sammensetninger er godt innenfor nivået av ordinær kunnskap på området ved anvendelse av kjente fremgangsmåter. Illustrerende bærere som er nyttige i denne forbindelse inkluderer mikropartikler av poly (laktid-koglykolid), polyakrylat, lateks, stivelse, cellulose, dekstran og lignende. Andre illustrative utsatte frigjørelsesbærere inkluderer supramolekylære biovektorer, som omfatter en ikke-flytende hydrofil kjerne (f.eks. et tverrbundet polysakkarid eller oligosakkarid) og, eventuelt, et ytre lag omfattende en amfifil forbindelse, så som fosfolipider. Mengden av aktiv forbindelse som inneholdes i en utførelsesform, i løpet av en forlenget frigjørelsesformulering, avhenger av administreringssetet, hastigheten og den forventede varigheten av frigjøringen og arten av tilstanden som skal behandles, undertrykkes eller hemmes.

[0042] I én utførelsesform vil det være ønskelig å levere sammensetningene offentliggjort i dette dokumentet parenteralt, intravenøst, intramuskulært eller også intraperitonealt. Slike fremgangsmåter er godt kjente for fagfolk på området, og noen av disse er nærmere beskrevet, f.eks. i US pat. nr. 5,543,158; U.S. Pat. nr. 5,641,515 og U.S. pat. nr. 5,399,363. I visse utførelsesformer kan løsninger av de aktive forbindelsene som fri base eller farmakologisk akseptable salter fremstilles i vann hensiktsmessig blandet med en surfaktant, så som hydroksypropylcellulose. Dispersjoner kan også fremstilles i glyserol, flytende polyetylenglykoler og blandinger derav og i oljer. Den må være stabil under betingelsene for fremstilling og lagring og må være konserveret mot forurensningen fra mikroorganismer, så som bakterier og sopp.

[0043] I en annen utførelsesform, vil det være å foretrekke å inkludere isotoniske midler, f.eks. sukkere eller natriumklorid. I andre utførelsesformer vil forlenget absorpsjon av de injiserbare sammensetningene være ønskelig. Forlenget absorpsjon av de injiserbare sammensetningene kan frembringes ved anvendelse av midler som

5 forsinker absorpsjon, f.eks. aluminiummonostearat og gelatin, i sammensetningene.

[0044] Parenterale vehikler inkluderer i enkelte utførelsesformer natriumklorid-løsning, Ringers dekstrose, dekstrose og natriumklorid, laktert Ringers og fikserte oljer. Intravenøse vehikler inkluderer væske og næringetterfyllere, elektrolyttetterfyllere, så som de basert på Ringers dekstrose. Konserveringsmidler og andre

10 tilsetningsstoffer kan også være til stede, så som f.eks. antimikrobielle midler, antioksidanter, blandingsmidler (eng.: collating agents), inerte gasser.

[0045] I noen utførelsesformer kan forbindelsene anvendt i denne oppfinnelsen administreres ved forskjellige doser til et individ, som i en utførelsesform, er et menneske. I én utførelsesform administreres forbindelsene ved en dose på 0,1 til

15 200 mg per dag. I en utførelsesform administreres forbindelsen i en dose på 0,1 - 10 mg, eller i en annen utførelsesform, 0,1 - 25 mg, eller i en annen utførelsesform, 0,1 - 50 mg, eller i en annen utførelsesform, 0,3 - 15 mg, eller i en annen utførelsesform, 0,3 - 30 mg, eller i en annen utførelsesform, 0,5 - 25 mg, eller i en annen utførelsesform, 0,5 - 50 mg, eller i en annen utførelsesform, 0,75 - 15 mg,

20 eller i en annen utførelsesform, 0,75 - 60 mg, eller i en annen utførelsesform, 1 - 5 mg, eller i en annen utførelsesform, 1 - 20 mg, eller i en annen utførelsesform, 3 - 15 mg, eller i en annen utførelsesform, 1 - 30 mg, eller i en annen utførelsesform, 30 - 50 mg, eller i en annen utførelsesform, 30 - 75 mg, eller i en annen utførelsesform, 100 - 2000 mg. I noen utførelsesformer kan forbindelsene administreres ved

25 forskjellige doseringer, som en funksjon av tid, eller sykdom/symptom/tilstands-alvorlighetsgrad eller alder, eller andre faktorer, som vil forstås av en fagmann på området.

[0046] Forbindelsene kan administreres ved forskjellige doseringer. I én utførelsesform administreres forbindelsene ved en dose på 1 mg. I en annen

30 utførelsesform administreres forbindelsene ved en dose på 5 mg eller i en annen utførelsesform, 3 mg, eller i en annen utførelsesform 10 mg, eller i en annen utførelsesform 15 mg, eller i en annen utførelsesform 20 mg, eller i en annen utførelsesform 25 mg, eller i en annen utførelsesform 30 mg, eller i en annen utførelsesform 35 mg, eller i en annen utførelsesform 40 mg, eller i en annen

35 utførelsesform 45 mg, eller i en annen utførelsesform 50 mg, eller i en annen utførelsesform 55 mg, eller i en annen utførelsesform 60 mg, eller i en annen utførelsesform 65 mg, eller i en annen utførelsesform 70 mg, eller i en annen utførelsesform 75 mg, eller i en annen utførelsesform 80 mg, eller i en annen

utførelsesform 85 mg, eller i en annen utførelsesform 90 mg, eller i en annen utførelsesform 95 mg eller i en annen utførelsesform 100 mg.

[0047] Selv om forbindelsene kan administreres som det eneste aktive farmasøytiske midlet kan de også anvendes i kombinasjon med én eller flere andre forbindelser og/eller i kombinasjon med andre midler anvendt ved behandling og/eller forebygging av sykdommene, forstyrrelsene og/eller tilstander, slik det vil bli forstått av en fagmann på området. I en annen utførelsesform kan forbindelsene administreres sekvensielt med én eller flere slike midler for å tilveiebringe vedvarende terapeutiske og profylaktiske effekter. I en annen utførelsesform kan forbindelsene administreres via forskjellige veier, til forskjellige tider, eller en kombinasjon derav.

[0048] I tillegg kan forbindelsene anvendes, enten alene eller i kombinasjon, i kombinasjon med andre modaliteter for forebygging eller behandling av tilstander, sykdommer eller forstyrrelser. I noen utførelsesformer kan slike andre behandlingsmodaliteter inkludere, uten begrensning, kirurgi, stråling, hormontilskudd, diettregulering, viklet debridement, slik det vil være hensiktsmessig for tilstanden som behandles. Disse kan utføres sekvensielt (f.eks. behandling med en forbindelse anvendt i oppfinnelsen etter kirurgi eller stråling) eller i kombinasjon (f.eks. i tillegg til en diett).

[0049] De ytterligere aktive midlene kan generelt benyttes i terapeutiske mengder som angitt i PHYSICIANS' DESK REFERENCE (PDR) 53. utgave (1999), eller i slike terapeutisk nyttige mengder som vil være kjent for en fagmann på området.

Forbindelsene anvendt i oppfinnelsen og de andre terapeutisk aktive midlene kan administreres ved den anbefalte maksimale kliniske doseringen eller ved lavere doser. Doseringsnivåene av de aktive forbindelsene i sammensetningene ifølge oppfinnelsen kan varieres for å oppnå en ønsket terapeutisk respons, avhengig av administreringsveien, alvorlighetsgraden av sykdommen og pasientens respons. Kombinasjonen kan administreres som separate sammensetninger eller som en enkelt doseringsform som inneholder begge midlene. Når de administreres som en kombinasjon, kan de terapeutiske midlene formuleres som separate sammensetninger som blir gitt på samme tid eller til forskjellige tider, eller de terapeutiske midlene kan tilføres som en enkelt sammensetning.

[0050] Den farmasøytiske sammensetningen kan omfatte forbindelsene alene eller kan omfatte ytterligere en farmasøytisk akseptabel bærer og kan være i fast eller flytende form, så som tabletter, pulvere, kapsler, pelleter, løsninger, suspensjoner, eliksirer, emulsjoner, geler, kremer eller stikkpiller, inkludert rektale stikkpiller og urinrørstikkpiller. Farmasøytisk akseptable bærere inkluderer gummier, stivelser, sukkere, cellulosematerialer og blandinger derav. Det farmasøytiske preparatet inneholdende forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen kan administreres til et individ ved f.eks. subkutan implantasjon av en pellet; i en ytterligere utførelsesform muliggjør pelleten

kontrollert frigjøring av forbindelsene over en tidsperiode. Fremstillingen kan også administreres ved intravenøs, intraarteriell eller intramuskulær injeksjon av et flytende preparat, oral administrering av en væske eller et fast preparat eller ved topisk påføring. Administreringen kan også utføres ved anvendelse av en rektal stikkpille eller en urinrørstikkpille. Den farmasøytiske sammensetningen kan også være en parenteral formulering; i en utførelsesform omfatter formuleringen et liposom som inkluderer et kompleks av en forbindelse anvendt i denne oppfinnelsen.

[0051] Den farmasøytiske sammensetningen kan fremstilles ved kjente løsnings-, blande-, granulerings- eller tablettdannende prosesser. For oral administrering blandes forbindelsene eller deres fysiologisk tolererbare derivater, så som salter, estere, *N*-oksider med tilsetningsstoffer som er vanlige for dette formålet, så som vehikler, stabilisatorer eller inerte fortynningsmidler, og omdannes av vanlige fremgangsmåter til en egnet form for administrering, så som tabletter, belagte tabletter, harde eller myke gelatinkapsler, vandige, alkoholiske eller oljeaktige løsninger. Eksempler på egnede inerte vehikler er konvensjonelle tablettbaser, så som laktose, sukrose eller maisstivelse i kombinasjon med bindemidler som akasia, maisstivelse, gelatin eller med oppbrytende midler, så som maisstivelse, potetstivelse, alginsyre eller sammen med et smøremiddel, så som stearinsyre eller magnesiumstearat. Eksempler på egnede oljeaktige vehikler eller løsningsmidler er vegetabiliske eller animalske oljer, så som solsikkeolje eller fiskeleverolje. Preparater kan utføres både som tørre og som fuktige granuler. For parenteral administrering

[0052] (subkutan, intravenøs, intraarteriell eller intramuskulær injeksjon) omdannes forbindelsene eller deres fysiologisk tolererbare derivater, så som salter, estere, *N*-oksid til en løsning, suspensjon eller emulsjon, om ønsket med forbindelsene som er vanlige og egnet for dette formålet, f.eks. løsningsmidler eller andre hjelpestoffer. Eksempler er: sterile væsker, så som vann og oljer, med eller uten tilsetning av en surfaktant og andre farmasøytisk akseptable adjuvanser. Illustrerende oljer er de av petroleum, animalsk, vegetabilisk eller syntetisk opprinnelse, f.eks. peanøttolje, soyabønneolje eller mineralolje. Generelt er vann, saltløsning, vandig dekstrose og beslektede sukkerløsninger, og glykoler, så som propylenglykoler eller polyetylenglykol, foretrukne flytende bærere, spesielt for injiserbare løsninger.

[0053] Fremstillingen av farmasøytiske sammensetninger som inneholder en aktiv komponent er godt forstått på området. Slike sammensetninger fremstilles vanligvis som en aerosol av polypeptidet levert til nesesvelgrommet eller som injiserbare preparater, enten som flytende løsninger eller suspensjoner, imidlertid kan faste former egnet for løsning eller suspensjon i væske før injeksjon også fremstilles. Fremstillingen kan også emulgeres. Den aktive terapeutiske bestanddelen blandes ofte med eksipienser som er farmasøytisk akseptable og kompatible med den aktive bestanddelen. Egnede eksipienser er f.eks. vann, saltløsning, dekstrose, glyserol, etanol og

kombinasjoner derav. I tillegg, hvis ønskelig, kan sammensetningen inneholde mindre mengder hjelpestoffer, så som fuktemidler eller emulgeringsmidler eller pH-buffermidler som øker effektiviteten av den aktive bestanddelen.

[0054] For topisk administrering til kroppsoverflater, ved hjelp av f.eks. kremer, geler, dråper og lignende, fremstilles og anvendes forbindelsene eller deres fysiologisk tolererbare derivater, så som salter, estere, N-oksider, som løsninger, suspensjoner eller emulsjoner i et fysiologisk akseptabelt fortynningsmiddel, med eller uten en farmasøytisk bærer.

[0055] I en annen utførelsesform kan den aktive forbindelsen leveres i en vesikkel, særlig et liposom (se Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., i Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (utg.), Liss, New York, s. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, ibid., s. 317-327; se generelt ibid).

[0056] I en utførelsesform tilveiebringer foreliggende oppfinnelse anvendelse i kombinerte preparater. I én utførelsesform definerer begrepet "et kombinert preparat" spesielt et "sett av deler" i den forstand at kombinasjonspartnerne som definert ovenfor kan doseres uavhengig av hverandre eller ved anvendelse av forskjellige faste kombinasjoner med atskilte mengder av kombinasjonspartnerne, dvs. simultant, samtidig, separat eller sekvensielt. I noen utførelsesformer kan delene av settet deretter f.eks. administreres simultant eller forskyves kronologisk, dvs. ved forskjellige tidspunkter og med like eller forskjellige tidsintervaller for hvilken som helst del av settet av deler. Forholdet mellom de totale mengdene av kombinasjonspartnerne, i noen utførelsesformer, kan administreres i det kombinerte preparatet. I én utførelsesform kan det kombinerte preparatet varieres, f.eks. for å takle behovene til en pasientunderpopulasjon som skal behandles eller behovene til en enkelt pasient, der de forskjellige behovene kan være på grunn av en bestemt sykdom, alvorlighetsgraden av sykdommen, alder, kjønn eller kroppsvekt, som lett kan foretas av en person med kunnskap på området.

Behandling av tilstander eller sykdommer i stand til å påvirkes av telomeraseaktivering og/eller uttrykking

[0057] Denne oppfinnelsen tilveiebringer forbindelser og farmasøytiske sammensetninger omfattende det samme, for anvendelse ved behandling av tilstander og/eller sykdommer i stand til å påvirkes av forbedret telomeraseuttrykking og/eller aktivitet som definert i kravene. Disse forbindelsene samhandler med telomeraseenzymet og stimulerer og/eller øker telomeraseuttrykkingen og/eller telomeraseaktiviteten i vevene og cellene til et individ. En slik aktivitet kan bli redusert eller være fraværende, noe som resulterer i utviklingen av, eller forsterket patogenesen eller symptomer forbundet med en sykdom, forstyrrelse eller tilstand i individet. En slik sykdom, forstyrrelse eller

tilstand kan omfatte *blant annet* a) Alzheimers sykdom; b) Parkinsons sykdom; c) Huntingtons sykdom; d) slag; e) nerveskade, motorisk nevronsykdom, multippel sklerose (MS), perifer og sentral nervesystemskade, inkludert ryggskade og cerebrale vaskulære hendelser; f) aldersrelaterte sykdommer i huden, så som dermal atrofi og

5 tynning, elastolyse (eng.: elastolysis) og hud som danner rynker, talgkjertelhyperplasi eller hypoplasi, senile lentigo, unormal pigmentering, gråning av hår og håravfall eller tynning (skallethet, alopesi), eller kroniske hudsår; g) degenerativ leddsykdom; h) osteoporose, osteoartritt og andre degenerative tilstander i skjelettsystemet; i) alders- og stressrelaterte sykdommer i det vaskulære systemet, inkludert aterosklerose,

10 forkalkning, trombose, hypertensjon og aneurisme; j) aldersrelatert makula-degenerasjon; k) AIDS; l) alders- og stressrelatert immunsystemforringelse, inkludert svekkelse av vevsfornyelse, som oppstår med naturlig aldring, kreft, kreftbehandling, akutte eller kroniske infeksjoner, degenerative inflammatoriske sykdommer eller med genetiske forstyrrelser som forårsaker akselerert cellefornyelse, og relaterte anemier og

15 andre degenerative tilstander; m) helbredelse av sår, brannsår, skrubbsår eller andre akutte eller kroniske tilstander av epidermis; n) sarkopeni og/eller annen muskel-sykdom eller tilstand; o) sekresjonsfasefeil; p) prematur eggstokksvikt (primær eggstokksvikt eller hypergonadotropisk hypogonadisme); q) forringet sperm-produksjon; og/eller r) forringet spermlevering.

20 **[0058]** Telomerase detekteres vanligvis ved lave nivåer i normale somatiske celler. I huden uttrykkes lymfocytiske vev, endometrievev, hårfollikler og tarmkrypter, aktive mitotiske celler og stamceller, telomeraseuttrykkingen og/eller telomeraseaktiviteten ved lave nivåer. Telomeraseuttrykkingen og/eller telomeraseaktiviteten reguleres ved forskjellige molekulære nivåer, inkludert transkripsjon, mRNA-spleising, og via

25 modning og modifikasjon av telomerreverstranskriptase (TERT) og telomer RNA-komponent (TERC).

[0059] I én utførelsesform aktiverer forbindelsene anvendt i denne oppfinnelsen telomerase, og fremgangsmåter som beskrevet i dette dokumentet er derved nyttige.

[0060] En forbindelses evne til å øke telomeraseuttrykkingen og/eller telomerase-aktiviteten i en celle kan bestemmes ved anvendelse av TRAP-analyse (telomer gjentakelsesamplifiseringsprotokollanalyse) som er kjent på området (f.eks. Kim et al., U. S. patent nr. 5,629, 154; Harley et al., U. S. patent nr. 5,891,639). Aktiviteten sammenlignes vanligvis med aktiviteten tilsvarende målt i en kontrollanalyse av slike celler (f.eks. en telomeraseaktivitet 50 % større enn observert i en løsningsmiddel-

35 kontroll). Cellelinjer som er egnet for anvendelse i analysen kan omfatte normale humane fibroblaster (Now) eller normale humane keratinocytter (NHK).

[0061] Telomerlengden kan tjene som nyttig indikator for telomeraseuttrykkingen og/eller telomeraseaktiviteten. I en utførelsesform er telomeraseuttrykkingen og/eller telomeraseaktiveringens viktig ved behandling av kreft, for tidlig aldringssyndrom eller

segmentell progeria, genetiske abnormaliteter og aldersrelaterte sykdommer.

Telomerlengden har forskjellige mønstre for uttrykking i spesifikk sykdomsprogresjon, og er en funksjon av dens aktivering, og måler dermed en slik lengde som en funksjon av at behandling har verdi, i form av prognosen til forskjellige sykdommer.

5 **[0062]** Telomerlengden kan måles av Southern blott, hybridiseringbeskyttelses-analyse, fluorescens *in situ*-hybridisering, strømningscytometri, primes *in situ*, kvantitativ polymerasekjedereaksjon og enkelt telomerlengdeanalyse, som alle er fremgangsmåter som er kjent på området (Kah-Wai Lin and Ju Yan, J. Cell. Mol. Med., 2005, bind 9, nr. 4, 977-989).

10 **[0063]** Denne oppfinnelsen er nyttig i fremgangsmåter for behandling av en tilstand som er i stand til å påvirkes av telomeraseuttrykking og/eller aktivering i et individ, fremgangsmåten er omfattende å administrere en effektiv mengde av en forbindelse anvendt i denne oppfinnelsen, der forbindelsen stimulerer eller forsterker telomerase-uttrykkingen og/eller telomeraseaktiviteten i cellene eller vevet til individet, som
15 nærmere definert i kravene.

[0064] I en utførelsesform kan slike tilstander omfatte f.eks. tilstander forbundet med cellealdring eller med en økt hastighet på proliferasjon av en celle i fravær av telomerase, som fører til akselerert telomert gjentakelsestap. Begrepet "økt forekomst av proliferasjon" refererer til høyere hastighet av celledeling i forhold til normale celler
20 av den celletypen eller sammenlignet med normale celler i andre individer av den celletypen. Aldringen av de gruppene av celler ved en unormalt tidlig alder kan til slutt føre til sykdom.

[0065] I noen utførelsesformer finner denne oppfinnelsen anvendelse i forbedring av immunfunksjonen i sykdom. I noen utførelsesformer finner denne oppfinnelsen
25 anvendelse i forsterking av T-celleaktiviteten, f.eks. cytotoksisk T-lymfocytaktivitet eller reaksjonsevne, eller redning fra anergi, som kan finne anvendelse i behandling av flere sykdommer, f.eks. i infeksjon eller neoplasie. I noen utførelsesformer er denne oppfinnelsen spesielt nyttig i behandling av patogener som er svært resistente mot konvensjonell behandling, spesielt virulente organismer eller organismer som ingen
30 andre behandlinger er tilgjengelige for, f.eks. multi-medikamentresistente organismer.

[0066] I en annen utførelsesform er tilstanden kvinnelig fertilitetsrelatert, inkludert sekresjonsfasefeil, der det er et avbrudd i den normale kvinnelige menstruasjonssyklusen og kroppen ikke produserer nok progesteron, noe som resulterer i en
35 forsinkelse i utviklingen av slimhinnen i livmoren (endometrium), eller for tidlig eggstokksvikt (primær eggstokksvikt eller hypergonadotropisk hypogonadisme), der det er et tap av normal funksjon av eggstokkene hos en kvinne som er yngre enn 40 år.

[0067] I en annen utførelsesform er tilstanden mannlige fertilitetsrelatert, inkludert forringet spermieproduksjon eller forringet spermlevering.

[0068] Videre inkluderer celletyper der en økning i telomeraseuttrykkingen og/eller telomeraseaktiviteten kan være terapeutisk fordelaktig i cellene i leveren, endokrine og eksokrine kjertler, glatt muskulatur eller skjelettmuskulatur.

[0069] I en utførelsesform antas AIDS-sykdom å være forårsaket av tidlig aldring av CD8+-celler. Aldringen av slike celler er knyttet ikke bare til en unormal mengde av tap av telomere sekvenser per celledobling, men i tillegg til den økte replikative hastigheten av cellene, slik at telomer attrisjon er større enn normalt for den celledoblingsgruppen. Oppfinnelsen tilveiebringer dermed anvendelse i fremgangsmåter for behandling av et HIV-infisert individ, og nærmere bestemt i å redusere tidlig alderdom av HIV-begrensede CD8+-celler i et HIV-infisert individ, omfattende administrering av en forbindelse anvendt i denne oppfinnelsen, eller en sammensetning omfattende det samme til individet.

[0070] I en utførelsesform kan en økning i telomeraseuttrykking og/eller telomeraseaktivitet dra nytte av ikke-delende celler samt prolifererende celler, f.eks. i tilstander forbundet med økt mottakelighet for celledød på grunn av stress, så som iskemi i hjertesvikt eller ved slag (Schneider, J. Mol. Cell. Cardiol 34(7):717-24; Mattson, Exp Gerontol. 35(4):489-502). Denne oppfinnelsen tilveiebringer anvendelse i fremgangsmåter for redusering av stress- eller DNA-skadeindusert celledød hos et individ, så som et individ som opplever iskemiske tilstander i vevet på grunn av hjertesvikt eller slag, ved å øke telomeraseuttrykkingen og/eller telomeraseaktiviteten i celler i individet, omfattende administrering til individet av en sammensetning omfattende en forbindelse anvendt i denne oppfinnelsen.

[0071] I én utførelsesform tilveiebringer denne oppfinnelsen anvendelse i fremgangsmåter for å øke telomeraseuttrykking og/eller aktivitet, og derved å fremme helbredelse av sår, forbrenninger, skrubbsår eller andre akutte eller kroniske tilstander i huden som definert i kravene, og i noen utførelsesformer, særlig i epidermis. Det offentliggjøres en fremgangsmåte for behandling av en akutt eller kronisk tilstand av huden, ved administrering av en forbindelse som beskrevet i dette dokumentet og/eller en sammensetning omfattende det samme til individet. I én utførelsesform administreres sammensetningen topisk til det angrepne området.

[0072] I en annen utførelsesform kan akutte eller kroniske hudtilstander via anvendelsen av denne oppfinnelsen omfatte lesjoner lidd i traumer, forbrenninger, skrubbsår, kirurgiske snitt, donorpodeseter og/eller lesjoner forårsaket av smittestoffer.

[0073] I en annen utførelsesform kan de akutte eller kroniske tilstandene i huden omfatte kronisk venøst sår, diabetessår, kompresjonssår, trykksår og sår eller sår på en slimhinneoverflate.

[0074] I et annet aspekt kan den akutte eller kroniske tilstanden av huden omfatte overflatelesjoner forårsaket av en vedvarende inflammatorisk tilstand eller infeksjon, eller av en genfeil (så som haloiddannelse og koagulasjonsabnormaliteter).

[0075] I ett aspekt omfatter fremgangsmåtene for helbredelse av sår, forbrenninger, skrubbsår eller andre akutte eller kroniske tilstander i huden å administrere en sammensetning omfattende en forbindelse som beskrevet i dette dokumentet for å stimulere eller fremme celleproliferasjon eller migrering på behandlingssetet, øke
 5 tettheten av epitelceller på setet som følge av den anvendte behandlingen og derved lukke et sår hvis til stede, eller gjenopprette normal fysiologisk funksjon.

[0076] I noen aspekter er denne oppfinnelsen nyttig i en tilleggsbehandling ved behandling av kreft, i kombinasjon med kirurgiske, strålings-, kjemoterapeutiske og immunterapeutiske fremgangsmåter/forbindelser, og i å forbedre responsen til andre
 10 kreftbehandlinger.

[0077] I noen aspekter undertrykker forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen kreftlatens, dvs. opprettholdelse av neoplastiske celler i en aktiv tilstand, hvorved ytterligere forbindelser som er giftige for kreftceller er mer effektive. I noen aspekter øker denne oppfinnelsen, når den anvendes i kombinasjonsbehandling for kreft,
 15 sannsynligheten for overlevelse av et individ med kreft. Forbindelser og/eller sammensetninger som beskrevet i dette dokumentet kan virke som stimulerende midler av (a) celler med replikativ kapasitet i sentralnervesystemet, inklusive astrocytter, endotelceller og fibroblaster som spiller en rolle i slike aldersrelaterte sykdommer som Alzheimers sykdom, Parkinsons sykdom, Huntingtons sykdom og hjerneslag, eller i å
 20 reparere nerveskade, motornevro sykdom, perifer og sentral nervesystemskade, inkludert ryggskade og cerebrale vaskulære hendelser (CVI), så som hjerneslag, eller i sykdommer, så som multippel sklerose (MS); (b) celler med begrenset replikativ kapasitet i integumentet, inkludert fibroblaster, talgkjertelceller, melanocytter, keratinocytter, Langerhans-celler og hårsekkceller som kan spille en rolle i alders-
 25 relaterte sykdommer i integumentet, så som dermal atrofi, elastolyse og dannelse av hudrynker, talgkjertelhyperplasi, senile lentigo, gråning av hår og hårtap (skallethet, alopesi), kroniske hudsår, keratose og aldersrelatert forringelse av sårtilheling; (c) celler med begrenset replikativ kapasitet i leddbrusken, så som kondrocytter og lakune og synoviale fibroblaster som spiller en rolle i degenerativ leddsykdom;
 30 (d) celler med begrenset replikativ kapasitet i beinet, så som osteoblaster og osteoprogenitorceller som spiller en rolle i osteoporose; (e) celler med begrenset replikativ kapasitet i immunsystemet, så som B- og T-lymfocytter, monocytter, nøytrofiler, eosinofiler, basofiler, NK-celler og deres respektive forløpere, som kan spille en rolle i aldersrelatert immunsystemforringelse; (f) celler med begrenset
 35 replikativ kapasitet i det vaskulære systemet, inkludert endotelceller, glattmuskelceller og adventitielle fibroblaster som kan spille en rolle i aldersrelaterte sykdommer i det vaskulære systemet, inkludert aterosklerose, forkalkning, trombose, hypertensjon og aneurismer; (g) celler med begrenset replikativ kapasitet i kroppsorganer, inkludert, men ikke begrenset til, lever, lunge og bukspyttkjertel (øyceller), som kan spille en

rolle i leversykdom (skrumplever), lungesykdom eller diabetes; (h) celler med begrenset replikativ kapasitet i reproduksjonssystemet, inkludert eggstokkfollikkel-celler og corpus luteum-celler; (i) celler med begrenset replikativ kapasitet i øret, inkludert indre og ytre cilierte auditive celler av det cortiske organet; og (j) celler med en bestemt replikativ kapasitet i øyet, så som pigmenterte epitel- og vaskulære endotelceller, som kan spille en viktig rolle i aldersrelatert makuladegenerasjon.

[0078] De følgende eksemplene presenteres for mer fullstendig å illustrere de foretrukne utførelsesformene ifølge oppfinnelsen.

EKSEMPLER

EKSEMPEL 1

Syntese av forbindelse 77

[0079] 1,1,1-tris(4-hydroksyfenyl)etan (4 g, 13 mM), formaldehyd (3,6 g, 120 mM) og en 40 % løsning av dimetylamin i vann (15 ml) ble tilsatt til en løsning av 50 ml vann og 60 ml EtOH. Løsningen ble tilbakeløpskokt i 2,5 timer. Delvis fordampning av løsningsmidlet utfelte et hvitt faststoff, som ble filtrert, vasket med vann og tørket for å gi 7,85 g hvitt faststoff av forbindelse 77, utbytte: 93 %, smp. = 169°.

[0080] NMR CDCl₃ δ 6,64(6H, s, ArH), 3,40(12H, s, CH₂), 2,22(36H, s, N-CH₃), 2,06(3H, s, C-CH₃).

EKSEMPEL 3

Syntese av forbindelse 78

[0081] 1,1,1-tris(4-hydroksyfenyl)etan (1,53 g, 5 mM), formaldehyd (1,35 g, 45 mM) og 1-metylpiperazin (2,5 ml, 50 mM) i 20 ml vann og 25 ml EtOH ble tilbakeløpskokt i 3 timer. Fordampning ga et faststoff som ved hjelp av TLC og NMR inneholdt 2 produkter, som ikke var utgangsmaterialet. Formaldehyd (0,75 g, 25 mM) og 1-metylpiperazin (1,5 ml, 30 mM) ble tilsatt til 5 ml vann og 10 ml EtOH, og reaksjonsblandingen ble tilbakeløpskokt i 4 timer. Fordampning og opparbeidelse ga 3,3 g lysegult-hvitt faststoff, utbytte: 67 %, smp. 63°. Løselig i etanol og veldig god løselighet i vann.

[0082] NMR CDCl₃ δ 6,67(6H,s,ArH), 3,53(12H, s, CH₂), 2,44(48H,br,m,ringpiperazin),2,26(18H,s,N-CH₃), 2,00(3H,s,C-CH₃).

EKSEMPEL 5

Syntese av forbindelse 81

[0083] Forbindelse 81 ble syntetisert ved en prosess tilsvarende den som er beskrevet i eksempel 1. Et hvitt faststoff ble oppnådd. Smp. = 135°.

[0084] NMR CDCl_3 δ 6,68(6H,s, ArH), 3,61(12H,s,CH₂), 2,51(24H,br,t,N-CH₂-ring), 2,03(3H,s,C-CH₃), 1,76(24H,br,t,N-CH₂-ring).

EKSEMPEL 6

5 **Syntese av forbindelse 82**

[0085] Forbindelse 82 ble syntetisert av en prosess tilsvarende den som er beskrevet i eksempel 1. Et hvitt faststoff ble oppnådd. Smp. = 212°.

[0086] NMR CDCl_3 δ 6,68(6H,s, ArH), 3,69 (24H,t,J=4,5 Hz ,N-CH₂ ring), 3,52 (12H,s,CH₂), 2,45(24H,br,t,O-CH₂-ring), 2,03(3H,s,C-CH₃).

10

EKSEMPEL 7

Syntese av forbindelse 79

[0087] Trinn 1: Forbindelse 77 (2,98 g, 4,6 mM), fremstilt av en prosess som beskrevet i eksempel 1, ble tilsatt til 20 ml eddiksyreanhydrid og oppvarmet til 100 ° i 4 timer. Blandingen ble avkjølt og vann ble tilsatt. Blandingen ble omrørt over natten ved romtemperatur, og deretter ekstrahert med CH_2Cl_2 . Løsningsmidlet ble fordampet for å gi et nona-acetat-derivat som en gul olje og ble ytterligere rensset ved kromatografi (silikagel; 1 % MeOH/ CH_2Cl_2) for å gi 3,2 g av en viskøs olje, 80 % utbytte.

15

[0088] Trinn 2: En KOH (4 g) løsning i vann ble tilsatt til en løsning av nona-acetatet fra trinn 1 (2,5 g) i 20 ml EtOH. Blandingen ble omrørt i 20 timer ved romtemperatur. Blandingen ble surgjort med HCl og ekstrahert med CH_2Cl_2 . Løsningsmidlet ble fordampet, og ga 2,2 g av en gul olje og ble ytterligere rensset ved kolonnekromatografi (silikagel; 2 % MeOH/ CH_2Cl_2) og rekrySTALLISERT fra toluen-heksan for å gi 1 g av forbindelse 79, 53 % utbytte, hvitt faststoff, smp. 78°. TLC - R_f=0,55 i 5 %

20

MeOH/ CH_2Cl_2 .

25

[0089] NMR CDCl_3 δ 7,93(3H,s,OH), 6,79(6H,s,Ar-H), 4,54(12H,s,Ar-CH₂), 3,55(12H,q,J=7,0 Hz,CH₂), 2,05(3H,s,C-CH₃), 1,22(18H,t,J=7,0 Hz,CH₃).

EKSEMPEL 8

30 **Syntese av 1,1,1-tris(4-hydroksy-3,5-dibrom-fenyl)-etan (forbindelse 68)**

[0090] Trinn 1: En løsning av NaOH (1 g, 25 mM) i 10 ml vann og dimetylsulfat (5,1 g, 40 mM) (1:8-molforhold) ble tilsatt i løpet av 1 time og samtidig i porsjoner til en løsning av 1,1,1-tris(4-hydroksyfenyl)-etan (1,53 g, 5 mM) i 20 ml etanol og 10 ml vann. Løsningen ble deretter tilbakeløpskokt i 1 time og ble omrørt i 70 timer ved RT. Det hvite bunnfallet ble filtrert, vasket med vann og tørket for å gi 1,74 g av 1,1,1-tris(4-metoksyfenyl)-etan. Omkrystallisering to ganger fra 50 ml etanol ga 1,15 g hvite krystaller, 66 % utbytte og smp. 160°. TLC R_f = 0,85 i CH_2Cl_2 .

35

[0091] NMR CDCl_3 δ 6,99, 6,79(12H, ABq, J_{AB}=8,8 Hz), 3,78(9H,s,OCH₃), 2,11(3H,s,CH₃).

[0092] Trinn 2: Til en løsning av 1,1,1-tris(4-metoksyfenyl)-etan (0,49 g, 1,4 mM), fra trinn 1, i 22 ml ble 1,2-diklorethan, en løsning av brom (1,65 g, 10,2) (7,3:1-forhold) i 5 ml 1,2-diklorethan tilsatt i porsjoner. Løsningen ble omrørt ved RT over natten og oppvarmet i 3 timer til 70°, og opparbeidet (natriumtiosulfat) for å gi 1,0 g råprodukt.

5 TLC viser intet utgangsmateriale, men NMR viste blandinger, noe som indikerer at bromeringen ikke var ferdig (m ved 6,90 ppm, og 4-metoksy). Faststoffet ble bromert på nytt med 1 g brom og tilbakeløpsbehandlet i 18 timer. Blandingen ble opparbeidet som ovenfor og tritureert med varm etanol for å gi 0,27 g hvitt faststoff, utbytte: 23 %, smp. = 160°. TLC R_f = 0,95 i CH₂Cl₂.

10 **[0093]** NMR CDCl₃ δ 7,16(6H,s,ArH), 3,92,3,91(6:4-forhold)(9H,2s,OCH₃), 2,04,2,03 (4:6 forhold)(3H,s,CH₃).

EKSEMPEL 10

Reparasjon av DNA-dobbeltrådede fragmenter ved anvendelse av telomerase

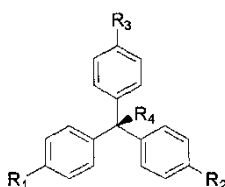
15 **[0094]** For å vurdere telomeraseaktivering og/eller telomeraseuttrykkningen ble det gjennomført en DNA-reparasjonsanalyse. DNA-fragmentene ble generert ved ionisk stråling. Alle forbindelsene økte reparasjonen. Disse resultatene tyder på at telomeraseaktiviteten og/eller telomeraseuttrykkningen ga stabilitet i stresstilstandene.

EKSEMPEL 11

Effekter av tri-fenyltelomeraseaktiverende forbindelser på levetidsutvidelse med nematoder

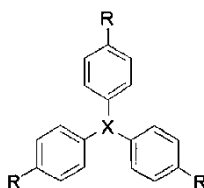
20 **[0095]** Nematoder (*C. elegans*) ble administrert tri-fenyltelomeraseaktiverende forbindelser presentert i tabellene nedenfor, og telomeraseaktiviteten og/eller telomeraseuttrykkningen ble målt i form av nematodelevetidsforlengelse. Nematoder ble

25 dyrket med aktivatorene ved 50 mikromolar konsentrasjon, og den gjennomsnittlige, maksimale og halveringstiden for forbindelse 68 og forbindelse 77, to representative molekyler, ble målt i forhold til den i kontrollen (fig. 8). Verdiene representerer gjennomsnittslevetiden.

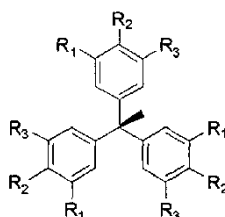


Tabell 1

Forbindelse #	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Levetidutv. %
1	OH	OH	OH	CH ₃	30



Forbindelse #	R	X	Levetid %
62	OCH ₃	P	29



5

Forbindelse #	R ₁	R ₂	R ₃	Levetid %
68	Br	OH	Br	13
77	CH ₂ -dimetylamino	OH	CH ₂ - dimetylamino	43
78	CH ₂ -metylpiperazin	OH	CH ₂ - metylpiperazin	36
79	CH ₂ OEt	OH	CH ₂ OEt	16
81	CH ₂ - pyrrolidin	OH	CH ₂ - pyrrolidin	
82	CH ₂ - morfolin	OH	CH ₂ - morfolin	

EKSEMPEL 12

Effekter av tri-fenyltelomeraseaktiverende forbindelser på humane glioblastomceller

10 **[0096]** Forbindelsene 1, 62, 68, 77 og 79 (referert til i tabellene ovenfor) ble undersøkt for telomeraseaktivering og/eller telomeraseuttrykken i glioblastomceller. Forbindelse 79 og 68 ble syntetisert som beskrevet ovenfor i dette dokumentet. Forbindelsene 1 og 62 er kommersielt tilgjengelige. En μ M av kjerneceelleproteinene (som kilden for telomerase) ble tilsatt til en spesifikk reaksjonsblanding av telomerase

15 og en telomerasegjentakelsesforsterkningsanalyse (TRAP-analyse) ble utført i fravær eller nærvær av telomeraseaktivatorer (forbindelsene 79, 68, 1 og 62). Reaksjonsproduktene ble analysert på PAGE etterfulgt av autoradiografi. % av telomeraseaktiviteten/telomeraseuttrykken ble beregnet.

20 **[0097]** U-251-glioblastomcellene ble behandlet med forskjellige konsentrasjoner av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse i 1 eller 3 timer. Dyrkningsmediet ble fjernet og cellene ble vasket flere ganger med PBS. Chaps-kjerneekstrakt ble utført ved

standard metodologi og telomeraseaktiviteten ble bestemt av TRAP ved anvendelse av radioaktive nukleotider. Et representativt bilde av flere forsøk som viser produktene av telomeraseaktiviteten observert av TRAP-analysen er vist i fig. 1A. Cellene ble behandlet med forbindelse 68 ved 1 (kolonnene 2 og 4), eller 0,25 μM (kolonnene 3 og 5) i henholdsvis 1 (kolonnene 2-3) eller 3 (kolonnene 4-5) timer. Bane 1 viser bare vehikkelbehandlingen. Kvantifisering av telomeraseaktiviteten fra flere forsøk ble utført ved anvendelse av en β -scintillasjonsteller ved å måle den totale radioaktive merkingen av telomeraseprodukter, og telomeraseaktiviteten i hver prøve ble beregnet i forhold til den indre standarden. Den prosentvise telomeraseaktivering (fra kontrollcellene kun behandlet med vehikkelen) ble bestemt for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse (fig. 1B). Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse økte aktiviteten av telomerase i de behandlede cellene betydelig og aktiveringsnivået var avhengig av arten av forbindelsen, konsentrasjonen og tiden for celleeksponeringen til forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse.

[0098] Effekten av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på nivået av telomeraseprotein og langsiktig behandling av en enkelt dose av forbindelse 68 på telomerase ble testet ved å utsette cellene for forskjellige intervaller (3-24 t) til 1 μM av forbindelsen og å detektere telomeraseproteinnivået ved western blott-analyse med anti-telomeraseantistoff. Forbindelse 68 økte telomeraseproteinnivået i de behandlede cellene (fig. 2A). En tidsavhengig økning i telomerase ble observert, med en aktiveringstopp 1-3 timer etter behandling og avtok deretter gradvis. Telomeraseaktivitetsnivået var bare litt høyere sammenlignet med det som finnes i de vehikkel-behandlede cellene etter 24 timer (fig. 2B). Ingen endringer i nivået for β -aktinprotein (nedre panel) eller andre kjerneenzymmer, så som topoisomerase I ble observert, hvilket antyder at en enkelt dose forårsaker en rask og spesifikk aktivering av telomerase, selv om denne aktiveringen er transient og nivået av telomerase returnerte til basalverdien sin 24 timer etter behandling, noe som indikerer en evne hos forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse til å styre telomeraseaktiveringen.

[0099] Forsøkene ble også utført for å bestemme effekten av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på telomerase-mRNA-nivået (inkludert de hele og skjødete variantene av telo-mRNA-er). Cellene ble behandlet med en enkelt dose på 1 mM forbindelse 68 for forskjellige intervaller (1-24 t). Totale RNA-ekstrakter ble fremstilt, og tilsvarende RNA-konsentrasjoner ble analysert ved hjelp av Northern blotting med en spesifikk hTERT-probe. Fig. 3A viser telomerase-full-lengden og spleisevariant-mRNA-ene i de kontrollubehandlede cellene (kolonnene 1,2). Nivået av full-lengde-mRNA samt spleisevarianten av RNA-ene økte vesentlig med tiden i celler behandlet med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse (opptil 4,5-ganger kontroll) (fig. 3B, kolonnene 3-7). Den økte uttrykkingen av telomerase var spesifikk ettersom det ikke ble observert noen spesifikk effekt på GAPDH mRNA (nedre panel). Tilsetning av

aktinomycin D (en RNA-transkripsjonshemmer) under behandling med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse (for 3H) avskaffet aktiveringen av telomerase-uttrykkningen (fig. 3A og B, sammenlignet med kolonnene 8 til 4), noe som tyder på at forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse aktiverer uttrykkningen av telomerase-genet.

EKSEMPEL 13

Effekter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på humane mesenkymale stamceller

[0100] De humane mesenkymale stamcellene ble isolert ved hoftekamaspirasjon og dyrket i cellekultur i 6 måneder (passasje 19) før man observerte en vesentlig reduksjon i celleveksten. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ble tilsatt direkte til kulturmediet daglig i 3 dager. Betydelig overlevelse og proliferasjon av hMSC ble observert etter behandling med forskjellige forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse (fig. 4).

[0101] Muligheten for at forbindelsene ifølge den foreliggende oppfinnelsen øker hMSC-overlevelse og proliferasjon ved aktivering av TERT ble undersøkt ved å dyrke hMSC (p 3) i et lysbilde av et vevskulturkammer på 17×10^3 celler/brønn i 60 timer. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ble tilsatt i 6 timer med friskt medium. Immunfluorescens med anti-hTERT-antistoff (første antistoff) og cy3-fluorescerende sekundært antistoff ble utført. Kjernen ble farget med DAPI. Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse aktiverte telomeraseuttrykking i hMSC (fig. 5). Uttrykking av telomeraseprotein ble sett både i cytoplasma og cellekjernen. Graden av aktivering av telomeraseuttrykkningen var forbindelse 68>79>77. Kvantifisering av telomerase-aktiviteten i hMSC ble utført av sanntids-PCR (kvantifiseringstelomersedeteksjonssett) i kjerneekstraktene avledet fra hMSC behandlet med forbindelse 79 (250 nM) i 6 eller 24 timer. Forbindelse 79 økte telomeraseaktiviteten i hMSC 12 eller 6 ganger på en tidsavhengig måte (fig. 5B).

EKSEMPEL 14

Effekter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på humane keratinocytter

[0102] De humane keratinocytterne som hadde mistet sin evne til å proliferere (i sin femte passasje) ble oppnådd fra en lokal hudbank og behandlet med forbindelse 68 i 24 timer. Cellelevedyktighet, cellenummer og morfologi ble undersøkt. Cellene som ble behandlet med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse oppviste vesentlig (2-4 ganger) celleproliferasjon og levedyktige celler ble observert (fig. 6). Forbindelse 79 viste en bedre celleoverlevelseseffekt enn forbindelse 68. Disse resultatene understøtter en rolle for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse i hudtransplantasjon, sårheling, kroniske hudsår og andre hudtilstander.

EKSEMPEL 15**Effekter av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på humane retinapigmenterte epitelceller**

[0103] Kronisk eksponering av humane retinale pigmenterte epitelceller (RPE-celler) til oksidativt stress predisponerer dem til utviklingen av aldersrelatert makula-degenerasjon (AMD). Humane RPE-celler ble utsatt for oksidativt stress ved behandling med H₂O₂ (1 mM) i 24 timer og H₂O₂ (0,5 mM) i ytterligere 24 timer. Cellene ble deretter behandlet daglig i to dager med de angitte forbindelsene i fravær av H₂O₂. Den økte celleveksten ble observert som en konsekvens av behandling med forbindelsene (Fig. 7A). Telomeraseaktiviteten ble økt i RPE-celler som ble behandlet med forbindelsene 68 og 79 etter henholdsvis 30 og 50 ganger (fig 7B). Disse resultatene tyder på en rolle for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ved behandling av makuladegenerasjon og andre retinale sykdommer.

EKSEMPEL 16**Utvidelse av overlevelse i *C. elegans***

[0104] Overlevelse av *C. elegans*, en nematode som normalt overlever i 12-14 dager, representerer en akseptabel modell for å studere levetidsforlengelsen. Nematodene ble administrert tri-fenyltelomeraseaktiverende forbindelser og deres effekt på nematodelevetidsforlengelsen ble bestemt. Nematodene ble dyrket med aktivatorene i en konsentrasjon på 50 mikromolar og den gjennomsnittlige tiden, den maksimale tiden og halveringstiden ble målt i sammenligning med ubehandlede kontroller. Levetiden økte med 13-43 % (tabell 2) og den gjennomsnittlige levetiden økte omtrent 2 ganger (fra 12 dager til 22 dager, som vist i figur 8).

Tabell 2: Utvidelse av overlevelse av *C.elegans* av telomeraseforbindelser

Forbindelse nr.	Levetidsforlengelse (%)
62	29
68	13
77	43
78	36
79	16

EKSEMPEL 17**Aktivering av telomeraseuttrykkningen av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse i rotteendometrieceller**

[0105] Hunnrotter i diøstrus (stadiet der epitellaget i rotteendometriet undergår nedbrytning) ble injisert subkutant med 6 mg/kg av forbindelse 68 eller med en vehikkel. Rottene ble avlivet 24 timer senere og endometriesnittene ble fremstilt fra livmorhornene til behandlede og ubehandlede rotter og analysert ved histologiske prosedyrer og ved immunhistokjemisk farging. Endometrieskivene ble farget av hematoksylin-eosin. Behandling med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse forebygget nedbrytningen av det endometrielle epitellaget. I tillegg lignet endometrievevet strukturen for de prolifererende stadiene (proøstrus og østrus) (fig. 9A, B) morfologisk. Aktivisering av telomeraseuttrykkningen i de endometrilte cellene av behandlede rotter ble undersøkt ved immunhistokjemi med anti-telomeraseantistoff (fig. 9C-F). Det var en vesentlig økning i fargingen av telomerase i endometrievevet til rotten injisert med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse, spesielt i de epiteliale lagene av det endometrielle lumenet og epitellaget av de utskillende kjertlene (sammenlign fig. 9C og D, E og F). I tillegg ble telomeraseaktiviteten målt i kjerneekstrakter avledet fra endometriet i de forskjellige behandlingsgruppene. En vesentlig 4-8-gangers økning i aktiviteten av telomerase ble observert i rottene injisert med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse (fig. 9G), noe som indikerer at forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse injisert subkutant i nakken nådde endometrievevet, aktiverte telomerase og forårsaket vevsspredning. Disse dataene understøtter en rolle for at forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen aktiverer telomerase i dyr og påvirker proliferasjon av et vev *in vivo*. Dataene støtter en rolle for behandling av endometriose med forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen.

EKSEMPEL 18

Telomeraseaktivering av rottehjernebarkceller av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse

[0106] Effekten av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse injisert subkutant i hunnrotter og voksne hannmus på telomeraseuttrykking i forskjellige områder av hjernen ble undersøkt. Kolokalisering av telomerase og DAPI (DAPI eller 4',6-diamidino-2-fenylindol), en DNA-bindende fluorescerende farge demonstrerte aktivering og/eller uttrykking i disse cellene som en konsekvens av behandlingen. En meget lav uttrykking av telomerase ble observert i spesifikke celler i forskjellige områder i sentralnervesystemet (fig. 10 og 11). Injeksjoner av forbindelsene 79 og 77 i rotte aktiverte uttrykkingen av telomerase i hjernebarken betydelig, men forbindelse 68 gjorde ikke det, noe som indikerer at forbindelsene 79 og 77, men ikke forbindelse 68, kan krysse blod-hjerne-barrieren (BBB) (fig. 10).

[0107] Forbindelse 79 ble injisert subkutant i tre måneder gamle hannmus. Musene ble avlivet 24 timer senere og hjernebarken, lillehjernen, hippocampus, hypothalamus, hjernestammen og luktelappen (bulbus olfactorius) ble isolert og utsatt for immun-

fluorescens. En lav uttrykking av telomerase ble observert i de fleste områdene av hjernen som ble undersøkt bortsett fra Purkinje-celler i lillehjernen (fig. 11). Injeksjon av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse økte betydelig og dramatisk telomeraseuttrykkingen i de forskjellige områdene av hjernen. Denne aktiveringen syntes å være spesifikk for visse nevronale celler. Forbindelse 79, f.eks., økte telomeraseuttrykkingen i de motornevronale cellene til stede i hjernestammen.

[0108] Bekreftelse av immunfluorescensresultatene ble oppnådd ved å undersøke nivået av TERT-proteinenzym i kjerneproteineksrakter avledet fra hjernene fjernet fra rotter behandlet eller ubehandlet med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse. Western blott-analyse ved anvendelse av spesifikt anti-hTERT-antistoff ble utført og telomeraseaktivisering (%) ble bestemt og beregnet i forhold til de resultatene som ble oppnådd med vehikkelen. En betydelig økning (9-13 ganger) i telomeraseprotein ble observert i rottehjernebarkceller som ble behandlet med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse (fig. 12), som støtter en rolle for anvendelsen av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ved behandling av hjernerelaterte sykdommer.

EKSEMPEL 19

Forebygging av glutamat-indusert apoptose i lillehjernen til mus

[0109] Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse sin evne til å forebygge glutamat-indusert apoptose i lillehjernen til mus ble undersøkt. Musene ble injisert med 6 mg/kg av forbindelse 79 eller bare med vehikkel. Musene ble avlivet 24 timer etter behandling og hjernene deres ble fjernet. Skiver av lillehjernen ble fremstilt og utsatt for behandling med glutamat ved forskjellige konsentrasjoner i 30 min. Snittene ble farget med propidiumjodid og antallet apoptotiske celler ble telt og beregnet ved anvendelse av spesiell programvare (Jimage). Forebygging av apoptose i mus som ble behandlet med forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ble beregnet som en prosent i forhold til kontrollmus (fig. 13). Dette understøtter en rolle for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ved behandling av anfall, slag, Alzheimers sykdom, epilepsi, schizofreni og alkohol og tilsetning av opiater.

EKSEMPEL 20

Telomeraseaktivisering av celler fra musehjertet av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse

[0110] Aktivisering av telomerase ved forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse i hjerteproteineksrakter avledet fra en mus ble målt (fig. 14). Det var en vesentlig økning i hjertetelomeraseuttrykkingen etter injeksjon av forbindelse 79. Dette understøtter en rolle for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ved behandling av infarkt, iskemi, myokarditt.

EKSEMPEL 21**Forebygging av legemiddelskade på embryoer av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse**

[0111] Forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse sin evne til å forebygge de skadelige effektene av legemidler på embryoutvikling ble undersøkt i rotter. Hunnrotter ble behandlet med kamptotecin (CPT) (5 mg/kg), et antikreftlegemiddel og deretter injisert med forbindelse 68 (6 mg/kg) eller vehikkel (0,1 %). Embryoene ble fjernet på dagene 14-15 av svangerskapet og undersøkt for skader. Embryoer behandlet med både CPT og forbindelse 68 utviklet seg normalt, mens embryoer behandlet med CPT bare viste tegn på unormal utvikling (fig. 15).

EKSEMPEL 22**Effekt av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på BCL1-tumorgenisitet**

[0112] (BALB/c x C57BL/6) F1-mus ble inokulert med 10^5 murine B-celleleukemi-lymfomceller (BCL1-celler). Splenomegali og lymfocytose (leukemi) utviklet seg i alle kontroller og hos mus behandlet med telomeraseaktiverende forbindelser (40 eller 80 mg/kg).

Tabell 3

Forsøksgruppe	Gjennomsnittlig overlevelse (område)
Kun BCL1	29 (21-35)
BCL1 + forbindelse 77 10 mM	26 (22-41)

[0113] De telomerase-aktiverende forbindelsene forbedret ikke utviklingen av leukemi og forkortet ikke overlevelsen av mus som ble inokulert med leukemi. De telomerase-aktiverende forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse lettet ikke progresjonen av eksisterende kreft, og den langvarige administreringen av forbindelsene resulterte ikke i utvikling av kreft.

EKSEMPEL 23**Effekt av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på transplantat-mot-vert-sykdom (GVHD) som en representativ T-cellefunksjon**

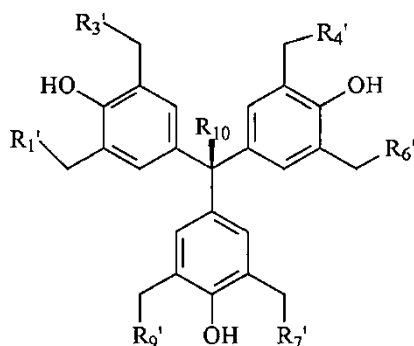
[0114] (BALB/c x C57BL/6)F1-mus ble inokulert med 30×10^6 C57BL/6-miltceller for induksjon av GVHD. Mus behandlet med forbindelse 77 oppviste mer alvorlige tegn på akutt GVHD, som vist ved vekttap sammenlignet med ubehandlede kontroller. Disse resultatene tyder på at forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse kan anvendes som en kraftig adjuvans.

EKSEMPEL 24**Effekt av forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse på transplantat-mot-leukemi-sykdom (GVL-sykdom) som et representativt eksempel på immunbehandling med T-celler**

- 5 **[0115]** (BALB/c x C57BL/6)F1-mus ble inokulert med 10^5 BCL1 etter total kroppsbestråling 400cGy for å tillate innpoding av allojene lymfocytter for induksjon av transplantat-mot-leukemi-effekter (GVL-effekter) medisinerert med 30×10^6 C57BL/6 miltceller. Overlevelse av de ubehandlede kontrollene varierte fra 21-35 dager (gjennomsnitt: 29). Overlevelse av mus behandlet med allojene stamceller
- 10 varierte fra 13-22 dager ettersom leukemien aktiverte en alvorlig GVHD. I motsetning til dette varierte overlevelse av mus behandlet med allojene stamceller og forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse fra 37-74 dager, der en mus overlevde i 125 dager. Dette understøtter en rolle for forbindelsene ifølge foreliggende oppfinnelse ved behandling av leukemi.

P a t e n t k r a v

1. Forbindelse representert av strukturen av formel VI:

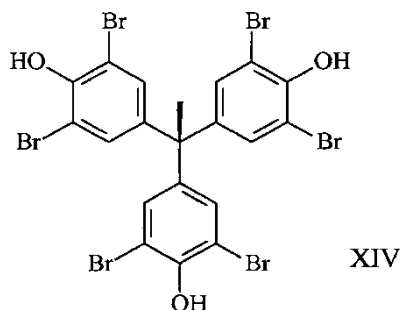


5

VI

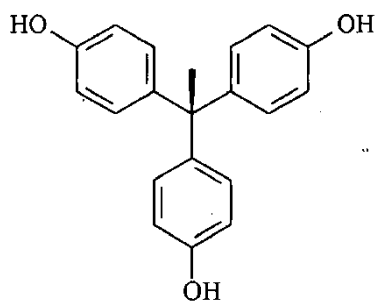
der R_1' , R_3' , R_4' , R_6' , R_7' og R_9' er de samme og valgt fra heterosykloalkyl, alkoksy og dialkylamino, og R_{10} er metyl;

10 eller av strukturen av formel XIV:



XIV

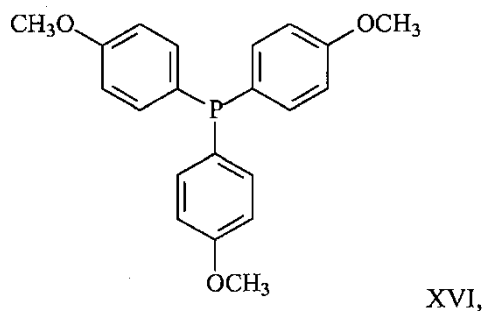
eller av strukturen av formel XV:



XV

15

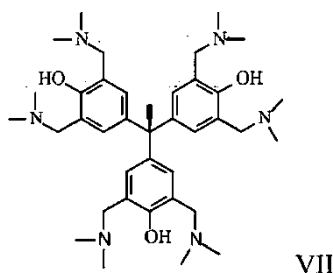
eller av strukturen av formel XVI:



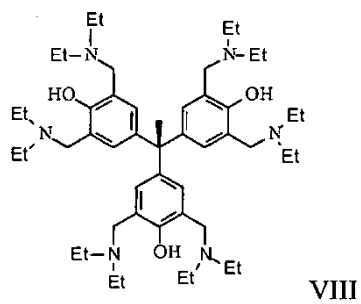
for anvendelse ved behandling i et individ av sykdommer som kan behandles ved både
 å stimulere eller øke telomeraseuttrykkningen og/eller telomeraseaktiviteten, og er valgt
 5 fra en nevrodegenerativ sykdom, nervesystemskade, vaskulær sykdom, en sykdom eller
 forstyrrelse forbundet med aldring, en degenerativ leddsykdom, en degenerativ sykdom
 i skjelettsystemet, en degenerativ sykdom i muskulaturen, makuladegenerasjon,
 infeksjon, immunsystemforringelse, kreft, degenerativ inflammatorisk sykdom, en
 genetisk forstyrrelse som forårsaker akselerert cellefornyelse, anemi, mannlig eller
 10 kvinnelig ufruktbarhet og en akutt eller kronisk sykdom eller forstyrrelse i huden ved
 kontakt av berørt hud med forbindelsen.

2. Forbindelsen for anvendelse ifølge krav 1, der den akutte eller kroniske
 hudsykdommen eller forstyrrelsen er et sår, en forbrenning, et skrubbsår, et innsnitt, et
 15 podesete, en lesjon forårsaket av et infeksjonsmiddel, et kronisk venøst sår, et
 diabetessår, et kompresjonssår, et trykksår, et slimhinnesår eller sår, melanom eller
 keloiddannelse.

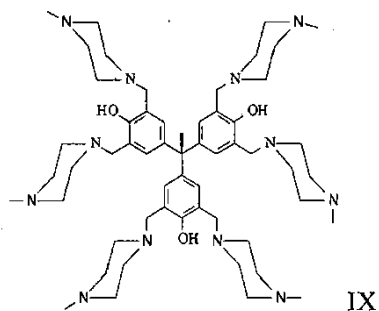
3. Forbindelsen for anvendelse ifølge krav 1 eller krav 2, der forbindelsen
 20 representeres av strukturen av formel VII:



eller av strukturen av formel VIII:

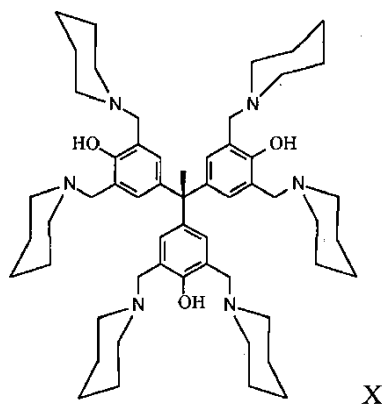


eller av strukturen av formel IX:

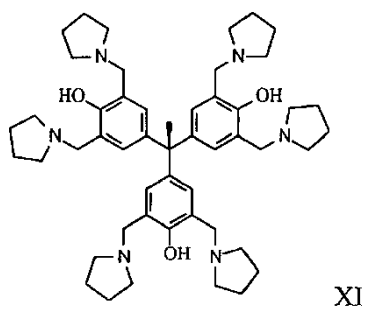


5

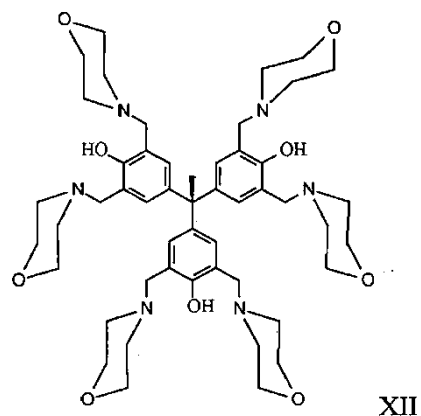
eller av strukturen av formel X:



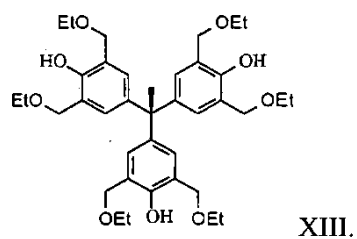
10 eller av strukturen av formel XI:



eller av strukturen av formel XII:

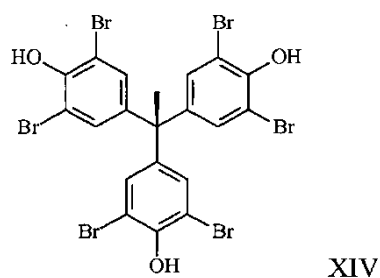


eller av strukturen av formel XIII:



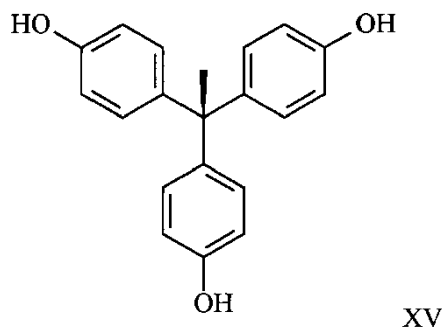
5

4. Forbindelsen for anvendelse ifølge krav 1 eller krav 2, der forbindelsen repræsenteres av strukturen av formel XIV:

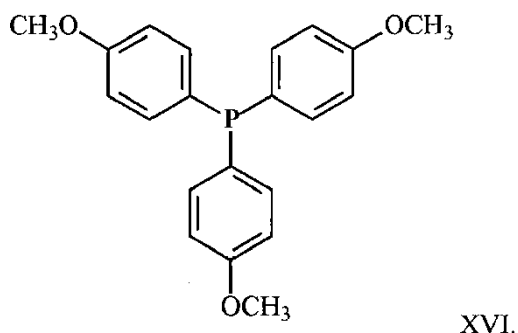


10

eller av strukturen av formel XV:

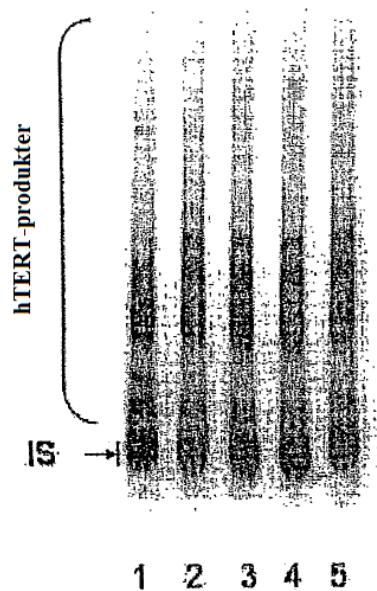


eller av strukturen av formel XVI:



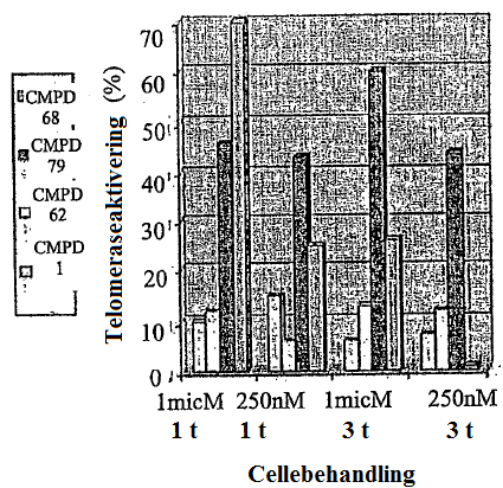
5. Anvendelse av en forbindelse representert av strukturen av formel VI, XIV, XV eller XVI som definert i krav 1 for behandling av en aldersrelatert tilstand som kan behandles ved å stimulere eller øke telomeraseuttrykkingen og/eller telomerase-aktiviteten, der den aldersrelaterte tilstanden er dannelse av hudrynker eller gråning av håret.
6. Anvendelse ifølge krav 5, der forbindelsen representeres av strukturen av formel VII, VIII, IX, X, XI, XII eller XIII som definert i krav 3.
7. Anvendelse ifølge krav 5, der forbindelsen representeres av strukturen av formel XIV, XV eller XVI som definert i krav 4.

Figur 1A



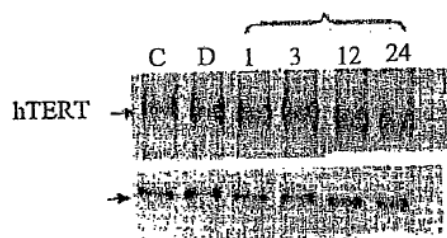
IS-Intern
standard

Figur 2B

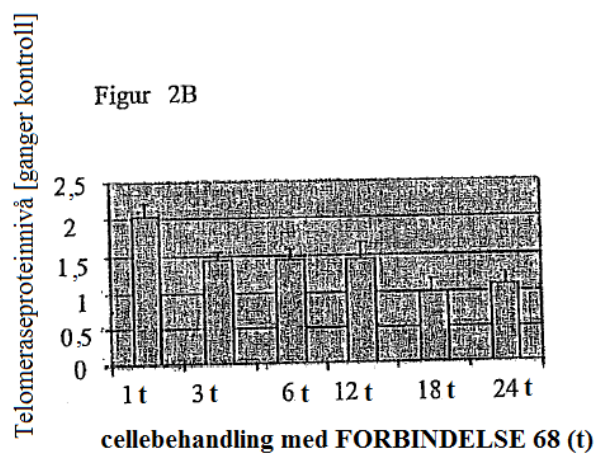


Figur 1

Figur 2A

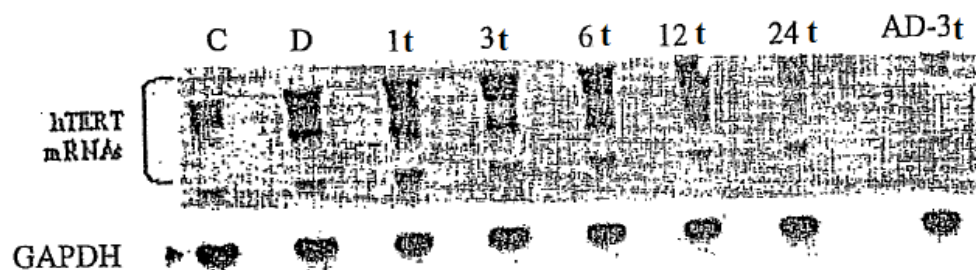


Figur 2B

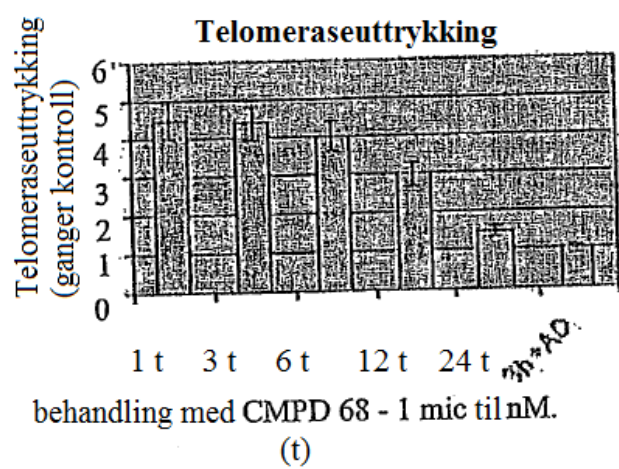


Figur 2

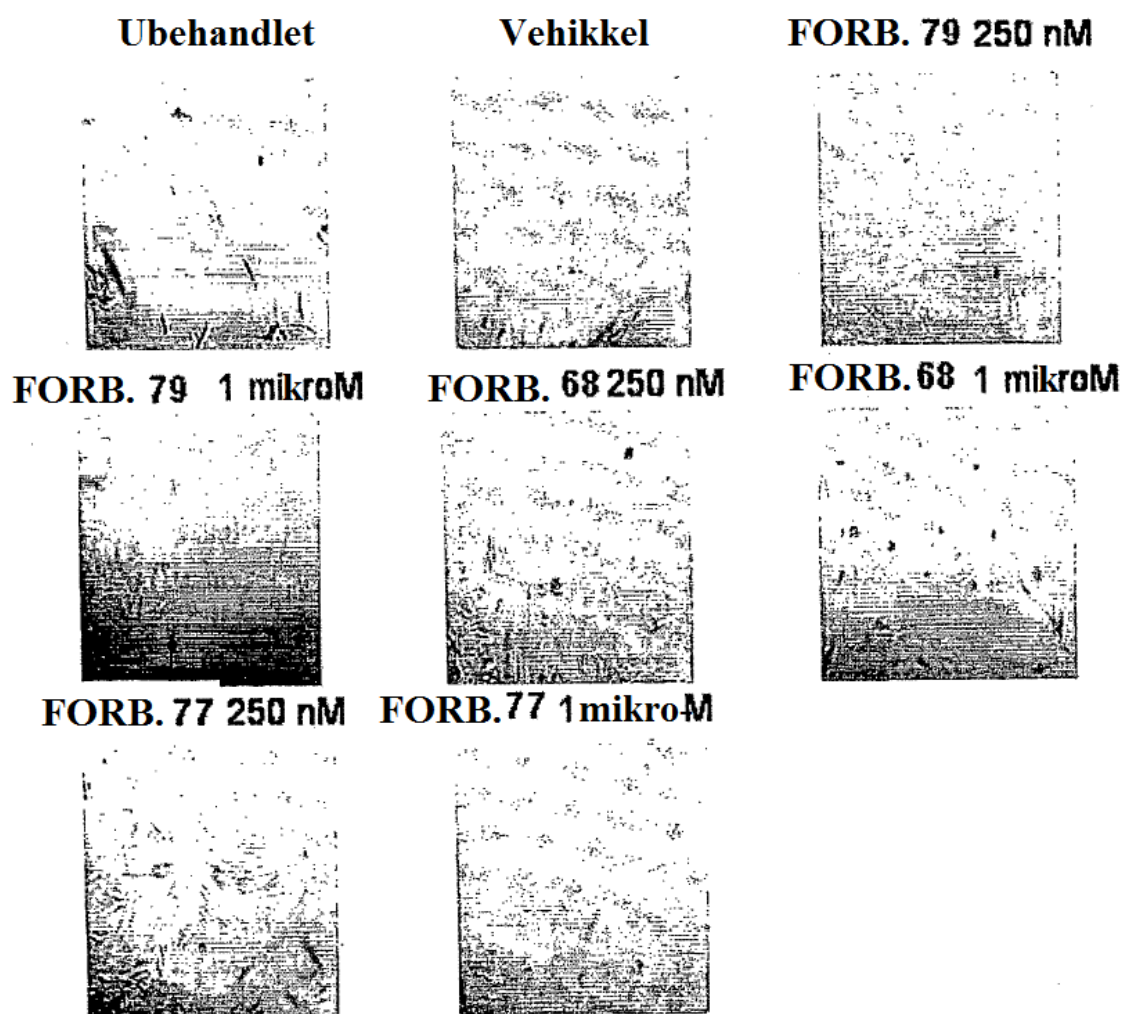
Figur 3A



Figur 3B

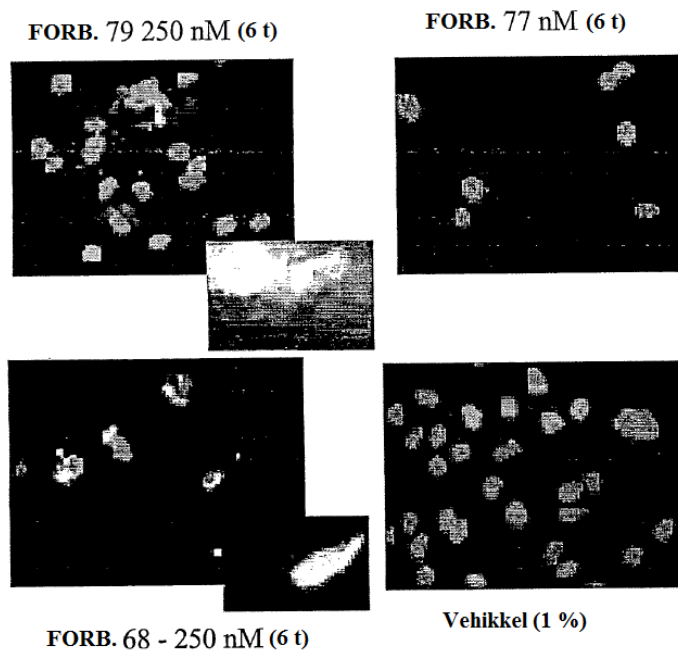


Figur 3

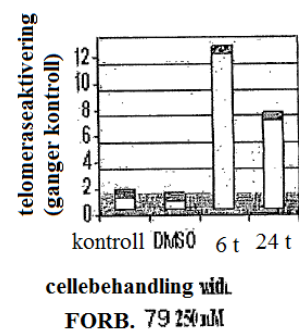
**Figur 4**

Figur 5A

Telomeraseaktivering i hMSC



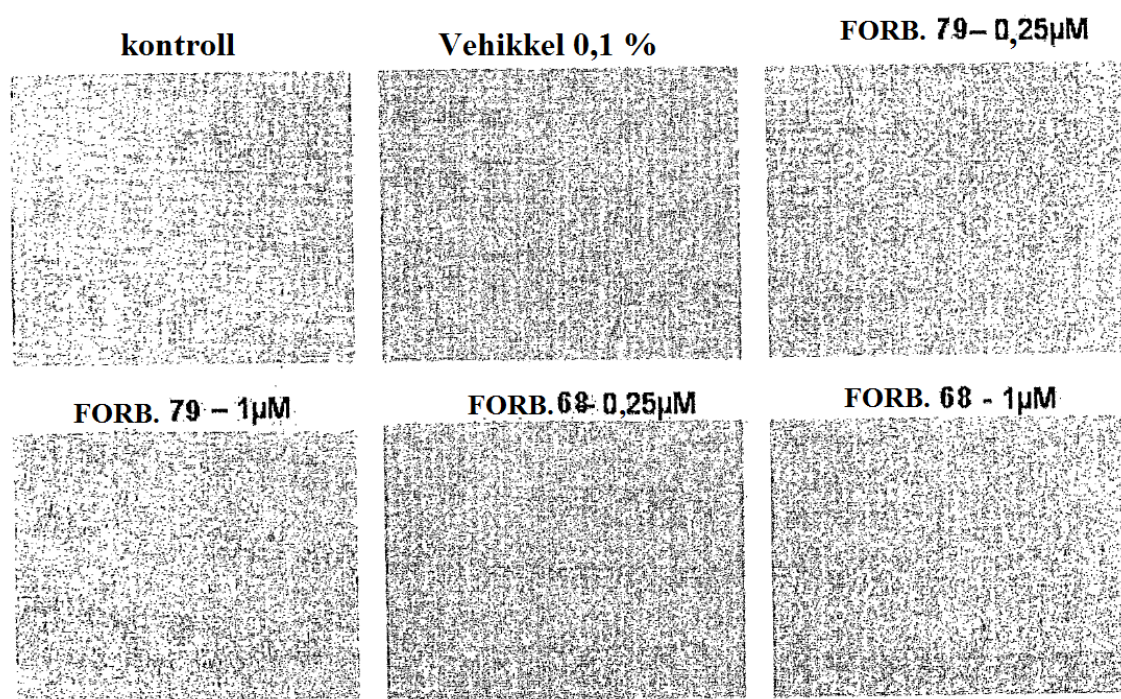
Figur 5B

Telomeraseaktivering i hMSC
(sanntids-PCR)

A - immunfluorescens med antiTERT
AB

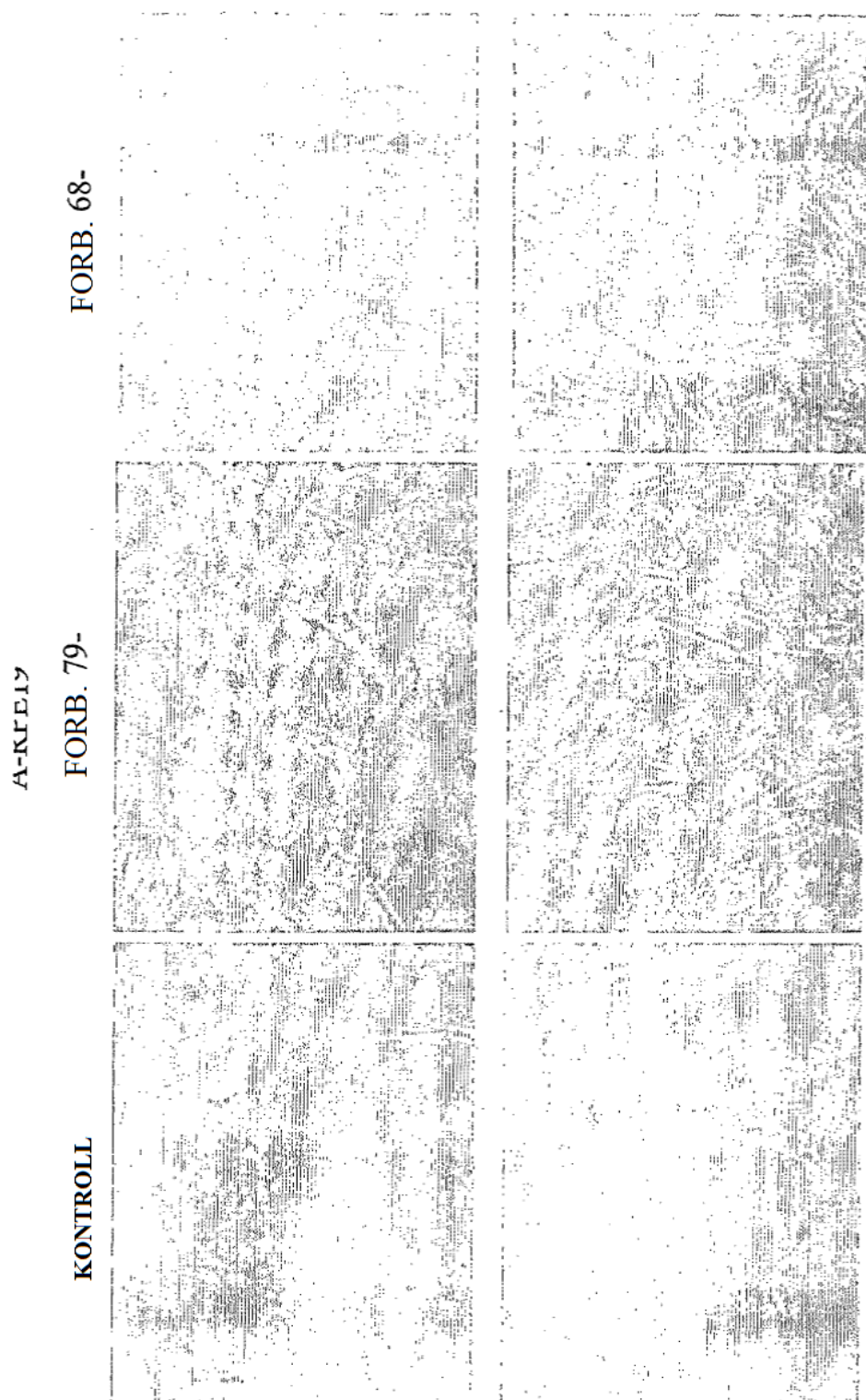
B- telomeraseaktivitet ved anvendelse av
det sanntids-PCR-spesifikke settet

Figur 5



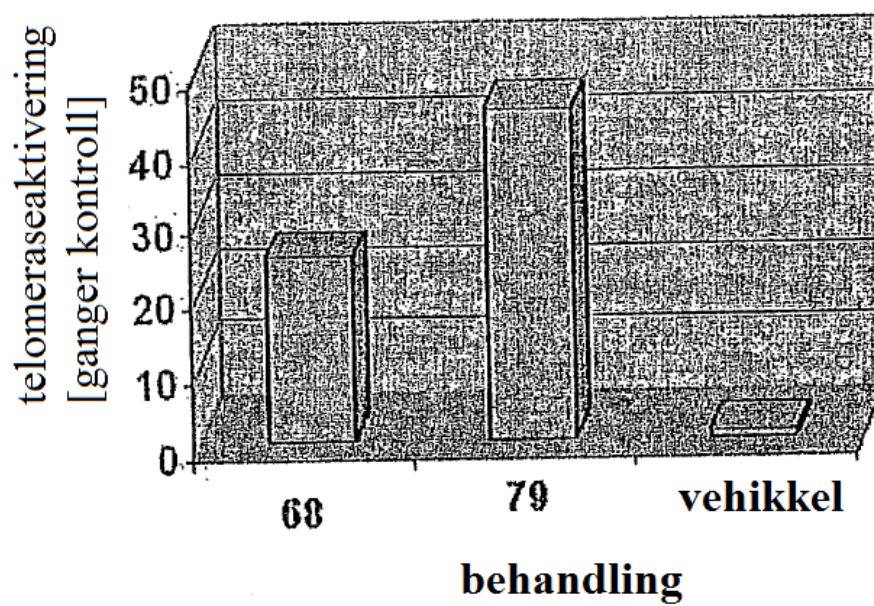
x10

Figur 6

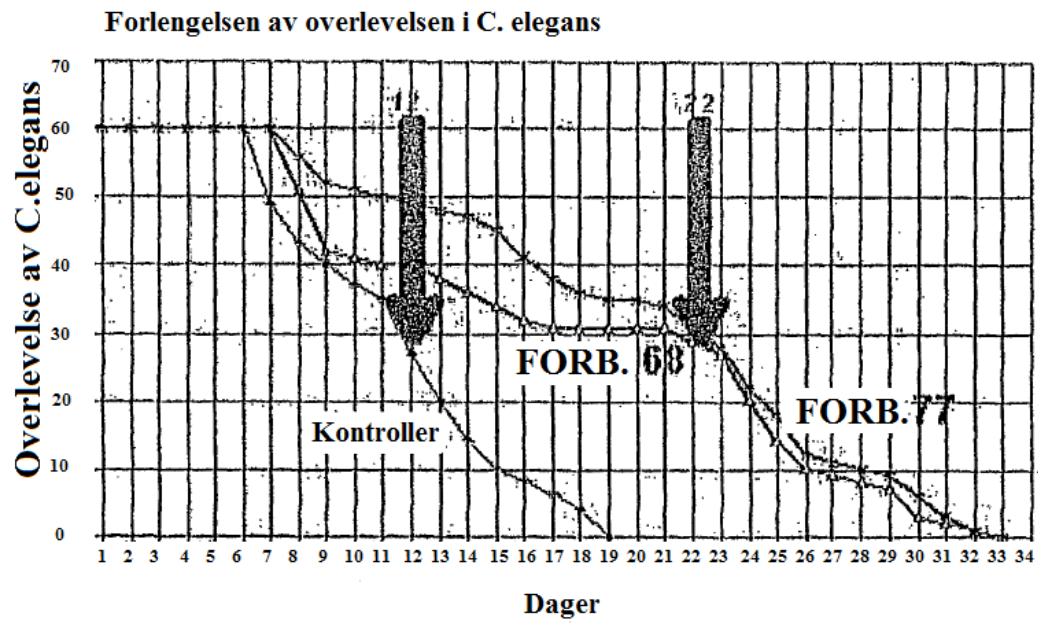


FIGUR 7A

**telomeraseaktivering i RPE-celler
(24 timers behandling) ved anvendelse av
sanntids-PCR-settet**

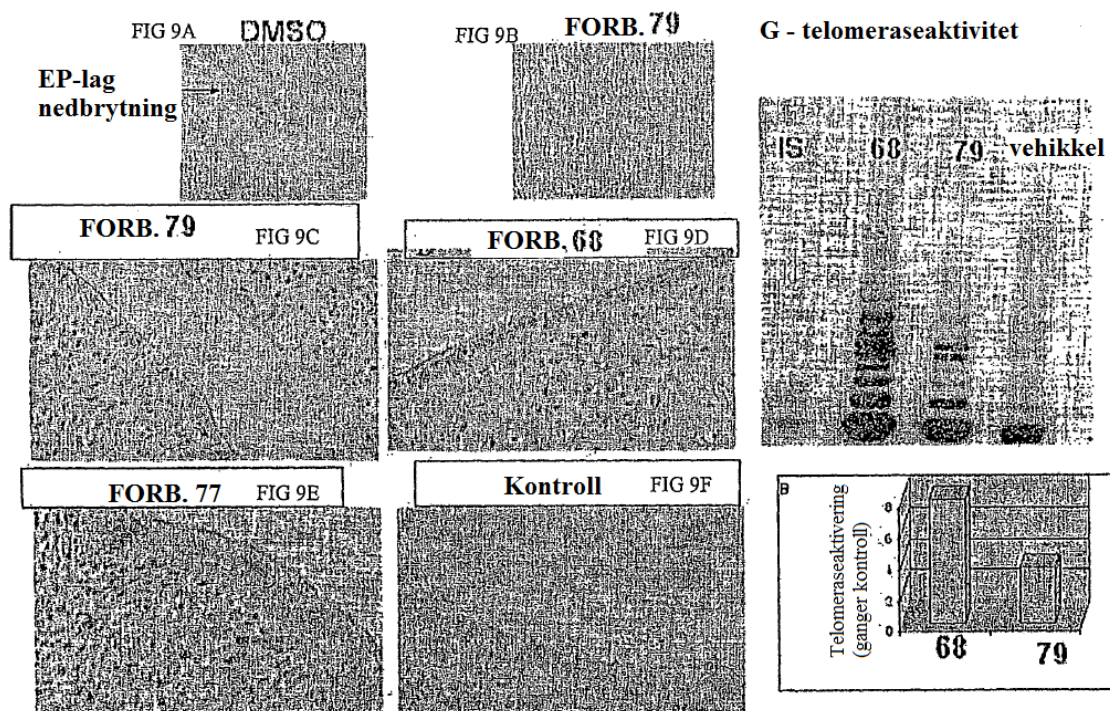


Figur 7B

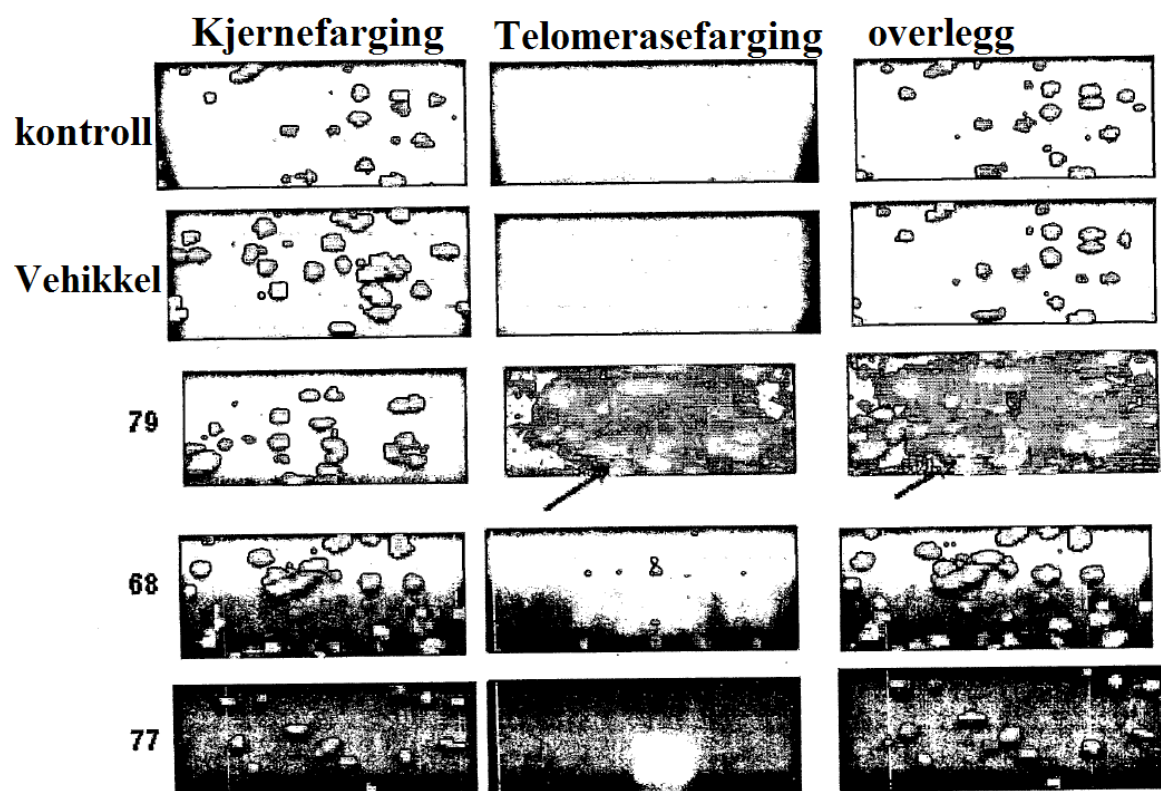


Figur 8

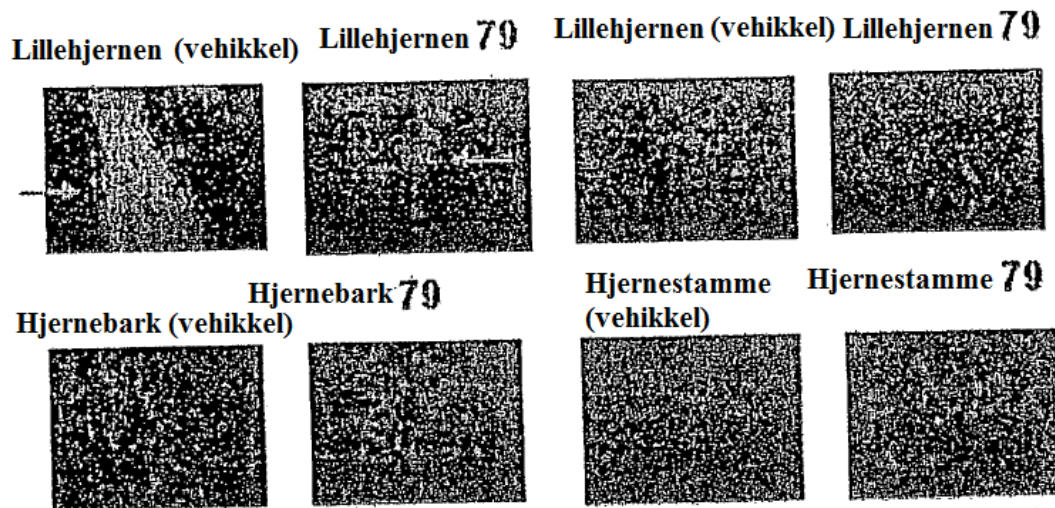
**TELOMERASEAKTIVATORER INJISERT (S.C.) TIL HUNNROTTER AKTIVERER
TELOMERASEUTTRYKKINGEN I ENTROMETRIECELLENE**



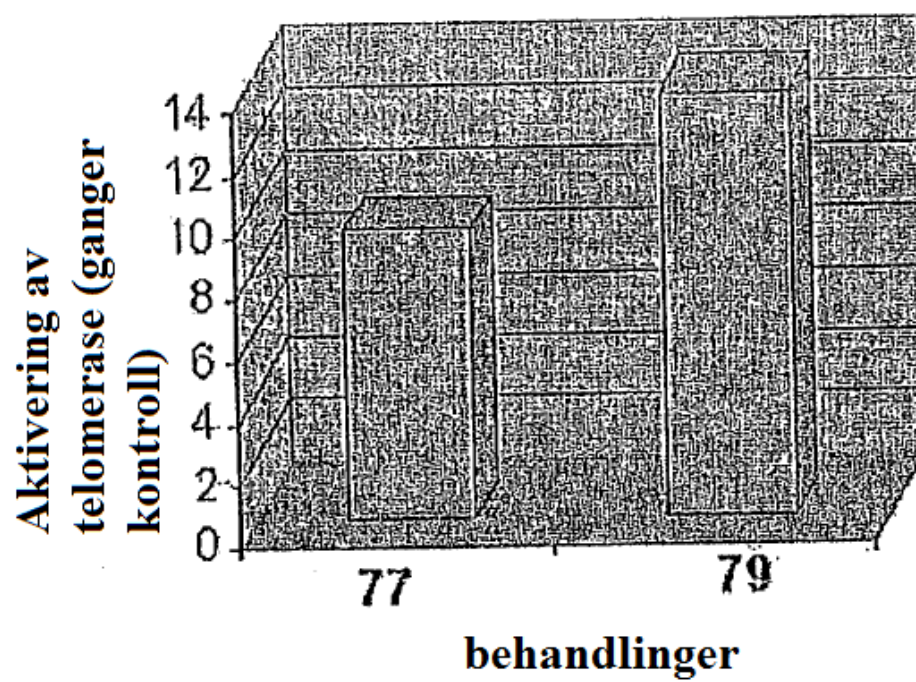
Figur 9

Telomeraseaktivivering i hjernebarken (X40)

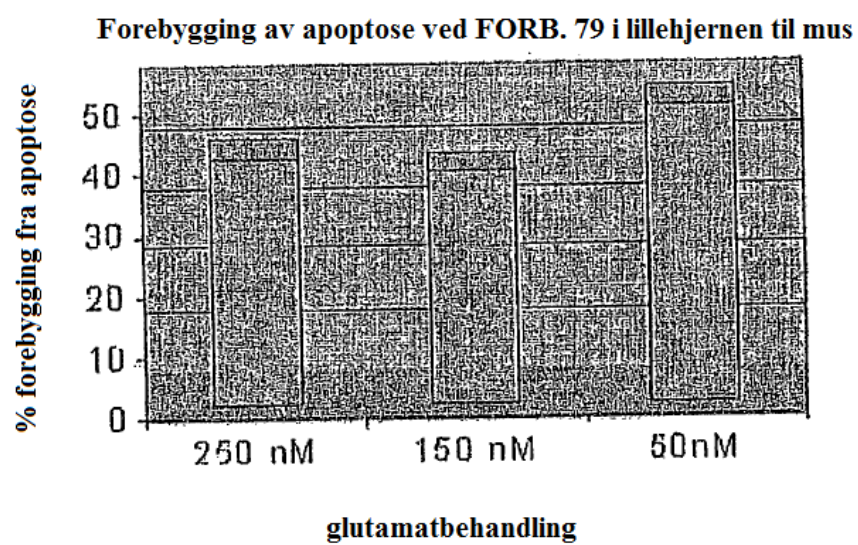
Figur 10



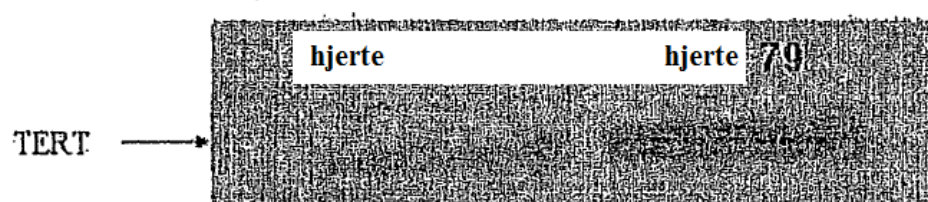
Figur 11



Figur 12

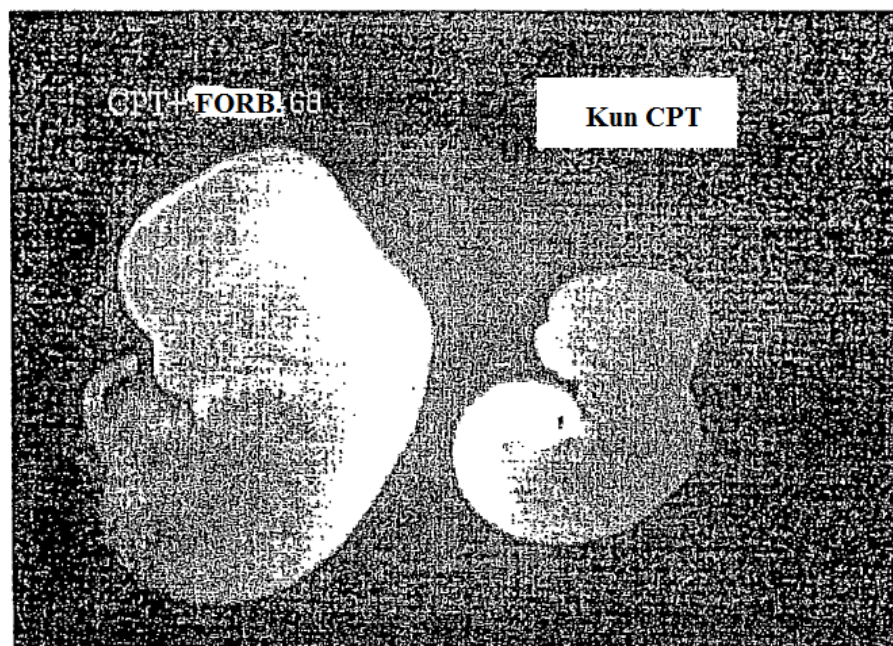
FOREBYGGING AV GLUTAMATINDUSERT APOPTOSE I LILLEHJERNEN TIL MUS**Figur 13**

Telomeraseuttrykken aktiveres i musehertet



Figur 14

FORB. 68 forebygger effekten av ødeleggende legemidler på embryoutviklingen i rotter



Figur 15