



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 27 913 T2** 2007.01.11

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 224 205 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 27 913.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/GB00/03737**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 964 439.4**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2001/023406**

(86) PCT-Anmeldetag: **29.09.2000**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **05.04.2001**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **24.07.2002**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **10.05.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **11.01.2007**

(51) Int Cl.⁸: **C07J 71/00** (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/14 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

9923076 29.09.1999 GB

(73) Patentinhaber:

**Phytopharm plc, Godmanchester,
Cambridgeshire, GB**

(74) Vertreter:

Eisenführ, Speiser & Partner, 80335 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**BARRACLOUGH, Paul, Maidstone Kent ME15
9SB, GB; HANSON, Jim, West Sussex BN44 3PF,
GB; GUNNING, Phil, Grantchester Cambs. CB3
9NP, GB; REES, Daryl, Sandy SG19 2DD, GB; XIA,
Zongqin, Shanghai 200025, CN; HU, Yaer,
Shanghai 200025, CN**

(54) Bezeichnung: **5-BETA-SAPOGENIN UND PSEUDOSAPOGENINDERIVATE UND IHRE VERWENDUNG ZUR BE-
HANDLUNG VON DEMENZ**

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

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

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Sapogeninderivaten zur Behandlung von kognitiven Funktionsstörungen und damit verwandte Zustände. Die Erfindung betrifft auch die Behandlung von Zuständen oder Bedingungen, die durch einen Mangel in der Anzahl oder Funktion von membrangebundenen Rezeptoren gekennzeichnet sind. Im Folgenden wird die vorliegende Erfindung hauptsächlich unter Bezugnahme auf die Behandlung der Alzheimer-Krankheit (AD) und senile Demenz vom Typ Alzheimer (SDAT) beschrieben, bei denen Mängel bei einer Anzahl von Rezeptorarten gezeigt wurden. Es versteht sich jedoch, dass die vorliegende Erfindung allgemein von Interesse ist für die Behandlung von Zuständen, die intrinsischen pathologischen Zuständen und/oder dem Kontakt mit ungünstigen Umgebungsbedingungen zuzuschreiben sind, wobei diese Bedingungen durch einen Mangel an Anzahl oder Funktion von membrangebundenen Rezeptoren oder einen Mangel in der Übertragung an den Schnittstellen zwischen Neuronen oder den Verbindungsstellen von Neuronen und Effektorzellen gekennzeichnet sind.

[0002] Zustände bzw. Bedingungen der oben erwähnten Art schließen Parkinson-Krankheit, Lewi-Körperdemenz, orthostatische Hypotonie, Autismus, chronisches Müdigkeitssyndrom, Myasthenia gravis, Lambert-Eaton-Krankheit, Krankheiten und Probleme, die mit dem Golfkriegssyndrom verbunden sind, berufsbedingten Kontakt mit Organophosphorverbindungen und Probleme, die mit dem Altern verbunden sind, ein.

[0003] Die Alzheimer-Krankheit (AD) und senile Demenz vom Typ Alzheimer (SDAT) sind schwere und wachsende Probleme in allen Gesellschaften, wo aufgrund einer Zunahme der Lebenserwartung und der Kontrolle von zufällig erworbenen Krankheiten das demographische Profil sich zunehmend zu einer älteren Population hin entwickelt. Mittel, die AD/SDAT behandeln oder bei dem Umgang damit helfen können, sind dringend erforderlich.

[0004] Eine mit dem Alter in Beziehung stehende Beeinträchtigung des Gedächtnisses (AAMI) ist eine charakteristische Eigenschaft von älteren Patienten, die sich, während sie psychologisch und physisch normal sind, über Gedächtnisverlust beschweren. Es ist ein schlecht definiertes Syndrom, aber Mittel, die für die Behandlung von AD/SDAT wirksam sind, können auch wertvoll für diese Patienten sein.

[0005] Forschungen für AD/SDAT werden mit traditionellen und üblichen Medizinforschungsmethoden und Disziplinen durchgeführt. In der konventionellen Medizin gibt es verschiedene Ansätze zur Behandlung von AD/SDAT. Es ist bekannt, dass die biochemischen Prozesse, die das Gedächtnis in der Hirnrinde unterstützen, (zumindest teilweise) cholinerg vermittelt sind. Der Fachmann auf diesem Gebiet weiß, dass "cholinerg vermittelte" Mechanismen direkt dem Acetylcholin, das auf Rezeptoren einwirkt, zuzurechnen sind, und dies sind direkte Wirkungen. Andere klinisch nützliche Wirkungen können auch durch Modulation der Freisetzung von Acetylcholin aus präsynaptischen Nervenenden oder Hemmung der Enzyme, die Acetylcholin zerstören, verursacht werden. Diese modulierenden Faktoren können durch Neuronen ausgeübt werden, wo der Mediator nicht cholinerg ist; diese werden als indirekte Wirkungen bezeichnet. Einige Versuche bei der Behandlung haben sich auf die Rolle anderer Mediatoren, wie 5-Hydroxytryptamin konzentriert, das ein Mediator in anderen Bereichen des Hirns ist, z.B. dem mittleren Hirnkern. Da Fasern aus diesen Bereichen sich jedoch in die Hirnrinde erstrecken, wo der primäre Transmitter Acetylcholin ist, hat sich die Aufmerksamkeit auf die Beeinflussung dieses Mediators in der Suche nach geeigneten therapeutischen Mitteln konzentriert.

[0006] Cholinerge Strategien für die Behandlung von AD/SDAT haben sich auf verschiedene Punkte entlang des Stoffwechselwegs der Bildung, synaptischen Freisetzung und Entfernung von freigesetztem Acetylcholin gerichtet.

[0007] Ein Ansatz betrifft die Behandlung mit hohen Dosen von Lecithin und anderen Vorläufern von Acetylcholin. Dies ist von begrenztem Nutzen, wenn man auf längere Sicht Verbesserungen der kognitiven Leistung erreichen möchte.

[0008] Ein weiterer Ansatz betrifft die Verwendung von pflanzlichen Wirkstoffen, wie Polygalae-Wurzelextrakt, von dem gezeigt wurde, dass er die Acetylcholintransferase-(CAT)-aktivität und die Ausscheidung von Nervenzellwachstumsfaktor (NGF) im Gehirn verbessert. Die orale Verabreichung von NGF hat keine Wirkung auf Neuronen des zentralen Nervensystems, da es ein Protein mit hohem Molekulargewicht ist, das die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann. Mittel, die die Blut-Hirn-Schranke passieren können und eine stimulierende Wirkung auf die NGF-Synthese im zentralen Nervensystem haben, wurden zur Verbesserung von mit Erinnerung in Beziehung stehendem Verhalten vorgeschlagen.

[0009] Die Ergebnisse eines dritten klinischen Ansatzes, bei denen Cholinesteraseinhibitoren, wie Tacrinhydrochlorid, verwendet werden, sind marginal positiver als die obigen. Substanzen, die aus Pflanzen erhalten wurden, die in der chinesischen und westlichen Medizin verwendet wurden, z.B. Huperzin, Galanthamin und Physostigmin haben alle einen gewissen, wenn auch begrenzten, Nutzen in der Behandlung von AD/SDAT in klinischen Studien und auch in Labormodellen gezeigt. All diese Substanzen sind Inhibitoren von Acetylcholinesterase (AChE). Bei Patienten mit AD/SDAT kann eine verminderte Synthese von Acetylcholin (ACh), verminderte Effizienz bei der Freisetzung von ACh aus präsynaptischen Vorräten und eine Abnahme der Anzahl oder Funktion von postsynaptischen (M_1) Rezeptoren vorliegen. Reduktionen der präsynaptischen M_2 -Rezeptoren wurden auch gezeigt. Die nützliche Wirkung von AChE-Inhibitoren wird der Verbesserung des Acetylcholinpegels an den Synapsen im Gehirn zugerechnet, indem die Zerstörung freigesetzter Transmitter verlangsamt wird.

[0010] Es ist bekannt, dass Zusammensetzungen, die die cholinerge Funktion modulieren, Gedächtnis und Abrufbarkeit beeinflussen. Z.B. stimuliert Nicotin Nicotin-Acetylcholinrezeptoren und man nimmt an, dass die kurzlebigen gedächtnisverbessernden Wirkungen des Zigarettenrauchens auf dieser Wirkung von Nicotin beruhen. Scopolamin, ein Antagonist von Acetylcholin, erzeugt Amnesie und eine gestörte kognitive Funktion, was in psychomotorischen Tests als Verlängerung der einfachen Reaktionszeiten festgestellt wird, möglicherweise als Ergebnis einer gestörten Aufmerksamkeit und es wird für diesen Zweck als unterstützende analgetische Behandlung verwendet. Die amnesische Wirkung von Scopolamin kann durch Nicotin antagonisiert werden.

[0011] Es gibt zwei Familien von Nicotinrezeptorunterarten (α und β) und jede schließt vier Untergruppen ein, die sich in der Ligandenspezifität unterscheiden. Die Rolle der Nicotinrezeptoren im ZNS wird nicht gut verstanden auf der molekularen Ebene. Es ist möglich, dass Mittel, die an Nicotinrezeptoren binden, die Durchsatzrate an den Muscarinrezeptorstellen im Gehirn modifizieren. Nicotinrezeptoren sind von Liganden bewachte Ionenkanäle und ihre Aktivierung verursacht einen schnellen (ms) Anstieg der zellulären Permeabilität für Na^+ und Ca^{2+} , eine Depolarisation und Anregung.

[0012] Eine weitere Klasse von cholinergen Rezeptoren kann durch Muscarin stimuliert werden. Solche Muscarin-(M)-rezeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Antworten auf Muscarinrezeptoren sind langsamer; sie können exzitatorisch oder hemmend sein. Sie sind nicht notwendigerweise mit Veränderungen der Ionenpermeabilität verbunden. Fünf Arten von Muscarinrezeptoren wurden durch das Klonieren von cholinergen Rezeptoren nachgewiesen und sie werden als m_1 bis m_5 bezeichnet. Pharmakologische Wirkungen sind mit vier der klonierten Rezeptoren verbunden und sie werden basierend auf der pharmakologischen Spezifität als M_1 bis M_4 bezeichnet.

[0013] Unter Verwendung spezifischer Rezeptorproteine und monoklonaler Antikörper wurde es möglich, weitere muscarinische Rezeptoren im Gehirn zu lokalisieren, als m_1 (postsynaptisch) und m_2 (präsynaptisch). Im Herzen sind M_2 -Rezeptoren postsynaptisch. Es wird angenommen, dass präsynaptische Muscarinrezeptoren hemmend sind, wobei die Bindung von ACh an diese Rezeptoren die Freisetzung von weiteren ACh abschwächt, um einen negativen Feedback-Mechanismus für die ACh-Freisetzung zu schaffen. Selektive M_2 -Rezeptorantagonisten, die im Umfang des Hirns verteilt sind, können daher nützlich sein bei der Behandlung der Alzheimer-Krankheit.

[0014] Es ist bekannt, dass bei Krankheitszuständen, wie AD/SDAT, ein allgemeiner neuronaler Verlust und Defizite in der cholinergen Nervenfunktion auftreten. Es wurde spekuliert, dass die Nicotinbindungsstellen mit hoher Affinität in den verbleibenden cholinergen Neuronen in Bindungsstellen geringerer Affinität umgewandelt werden könnten bei Behandlung solcher Krankheiten, wodurch die Transmitterfreisetzung erhalten wird. Durch Senkung der Affinität der Nicotinbindungsstellen wird ein schneller Desensibilisierungsprozess vermieden.

[0015] Die Agonistaktivierung an Nicotinrezeptoren im Gehirn setzt schnell ein und schnell aus. Eine geringere Affinität der Nicotinrezeptoren vermindert den Desensibilisierungsprozess. R. D. Schwarz et al. (J. Neuro Chem 42 (1984), 1495–8) haben gezeigt, dass Nicotinbindungsstellen präsynaptisch an cholinergen (und auch 5-hydroxytryptaminergen und catecholaminergen) Axonenden angeordnet sind. Eine Veränderung der Bindungsstellen mit hoher Affinität auf AD/SDAT kann auch eine Veränderung der modulatorischen Wirkung induzieren, die die Nicotinbindungsstellen in anderen Transmittersystemen haben.

[0016] Präsynaptische cholinerge Mechanismen stehen auch unter hemmender Kontrolle durch GABAerge Neuronen und es wird angenommen, dass diese Hemmung bei AD/SDAT intensiviert wird. Die Entfernung oder Reduktion dieser Hemmung intensiviert die präsynaptische corticale cholinerge Aktivität und verbessert

die kognitive Verarbeitung.

[0017] Die Wechselwirkungen von interneuronalen Fasern, die durch Nicotin (reduzierende Bindungsaktivität) ernerviert werden und die Dishemmung von GABAergen Fasern haben beide eine präsynaptischen Ort.

[0018] Dies ist ein vereinfachtes Modell der zentralen Übertragung, liefert aber einen Rahmen für das Verständnis der Versuche, die gemacht wurden, um die wirksame Konzentration von Acetylcholin in zentralen Synapsen zu erhöhen. Dies erläutert weiterhin das Konzept der direkten und indirekten Wirkung. Es gibt verschiedene Nachteile, die mit den drei üblichen therapeutischen Ansätzen bei der AD/SDAT-Behandlung, die oben erwähnt wurde, verbunden sind: Auffüllen der ACh-Vorläufer, Agonistersatz und Acetylcholinesterasehemmung. Diese Behandlungen können zu einem kurzzeitigen Anstieg der Verfügbarkeit von ACh führen, was Feedback-Mechanismen aktivieren kann, die zu einer Desensibilisierung von postsynaptischen Rezeptoren führen. Aus theoretischen Gründen wäre kein langzeitiger Nutzen vorherzusagen und wenn die Behandlung unterbrochen wird, verschwindet jeder Nutzen bei der Behandlung von AD/SDAT und AAMI und der Zustand kann sich sogar verschlechtern.

[0019] Es wurde gezeigt, dass eine Verbindung mit M_1 -Agonist- und M_2/M_3 -Antagonistaktivität die kognitive Leistung bei SDAT-Patienten verbesserte (Sramak et al., Life Sciences Bd. 2, Nr. 3, 195–202, 1997). Diese Verbindung verursachte jedoch unannehmbare cholinerge Nebenwirkungen, wie Müdigkeit, Diarrhoe und Erbrechen.

[0020] Ein radikalerer Ansatz für AD/SDAT und AAMI hat das Ziel, die Anzahl der postsynaptischen (M_1) Rezeptoren im Gehirn zu erhöhen. Es ist aus dem chinesischen Patent Nr. CN1096031A bekannt, dass Sarsapogenin (SaG) M_1 -cholinerge Rezeptoren hinaufregulieren kann.

[0021] Patentanmeldungen wurden veröffentlicht, die den Nutzen einer Anzahl von Steroidsapogenine mit Spirostan, Furospirostan-, Spirosolan- oder Solanidinstrukturen zur Behandlung von Krankheiten beanspruchen. Zwei Patentanmeldungen sind hier von besonderer Relevanz: Chinesische Patentanmeldung Nr. CN1096031A offenbart regulatorische Zwei-Wege-Wirkungen von Spirostansapogenin, Sarsasapogenin auf β -adrenerge und M-cholinerge Rezeptoren. Die Offenbarung in diesem Dokument ist jedoch kurz. Das andere Dokument von Relevanz ist die Patentschrift DE 4303214A1, die die Verwendung eines breiten Bereichs von Saponinen und Sapogeninen zur Behandlung eines breiten Bereichs an Krankheiten beansprucht, von denen der Erfinder annimmt, dass sie viralen Ursprungs sind. Diese Offenbarung ist jedoch von zweifelhaftem Wert, da es wohl bekannt ist, dass es kein infektiöses Element für eine sehr große Anzahl von Bedingungen gibt, die durch eine defiziente synaptische Übertragung gekennzeichnet sind und daher die Grundvoraussetzung der vermeintlichen Erfindung flachfällt. Zusätzlich gibt es derzeit keine Daten irgendwelcher Art, die es dem Fachmann erlauben, eine bevorzugte Verbindung aus der großen Anzahl, die beansprucht wird, auszuwählen.

[0022] EP-A-1024146, entsprechend WO-A-99/16786, beschreibt (Verbindungen Va, Vb) 3-O-[β -D-Glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-Xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-Glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)- β -D-Galactopyranosyl]-Derivate von Tigogenin und Neotigogenin (A/T-trans-Sapogenine) und auch (Verbindungen I, II) 3-O-Galactoseglucose-26-O-glucosederivate von Verbindungen, die als Sapogenine angesehen werden können, in denen der F-Ring des fusionierten Ringsystems gespalten wurde, mit einer ungesättigten Bindung zwischen C20 und C22. Weiterhin beschreibt die Literaturstelle (Verbindungen III, IV) 3-O-Galactoseglucose-26-O-glucosederivate von Verbindungen, die als Sapogenine angesehen werden können, in denen der F-Ring des kondensierten Ringsystems gespalten wurde, ohne eine ungesättigte Bindung zwischen C20 und C22. Eine pharmakologische Aktivität in Ratten wird für Verbindung III gezeigt, hauptsächlich eine Wirkung auf die cerebrale Blutzirkulation und den Metabolismus und auf die Vermehrung von Hippocampuszellen. Die Verbindungen werden zur Prophylaxe oder Behandlung von Demenz vorgeschlagen.

[0023] In Synthesis and Applications of Isotopically Labelled Compounds 1997, Seiten 315–320, beschreiben Ningyu et al. die Verwendung des Sapogenins Sarsasapogenin zur Behandlung von seniler Demenz.

[0024] EP-A-1066042, entsprechend WO-A-99/48507, und EP-A-1066033, entsprechend WO-A-99/48482, beschreiben die Verwendung der Sapogenine Smilagenin und Sarsasapogenin zur Behandlung von kognitiven Funktionsstörungen und verwandten Bedingungen.

[0025] Die Erfinder haben gefunden, dass bestimmte Sapogeninderivate die Fähigkeit haben, Rezeptoren zu regulieren. Insbesondere wurde gefunden, dass diese Verbindungen die Anzahl von M_2 -Rezeptoren im Hirn erhöhen. Gemäß einem Aspekt der Erfindung wird daher die Verwendung eines Sapogeninderivats der allge-

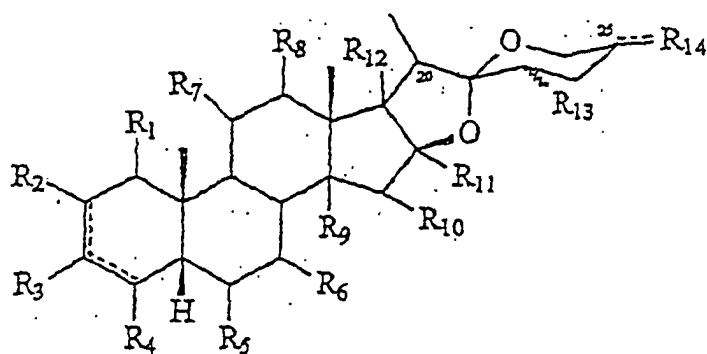
meinen Formel (I) oder (II) zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung eines Zustands, der durch einen Mangel an Anzahl oder Funktion von membrangebundenen Rezeptoren gekennzeichnet ist, bereitgestellt.

[0026] Der Fachmann erkennt sogleich die Beziehung zwischen Saponinen und deren Sapogeninen und dass letztere eher fettlöslich sind, wohingegen die Saponine eher wasserlöslich sind. Sapogenine können daher besser die Blut-Hirn-Schranke überqueren. Dem Fachmann ist auch die Epimerisierung bestimmter Sapogenine unter den Bedingungen der sauren Hydrolyse bewusst.

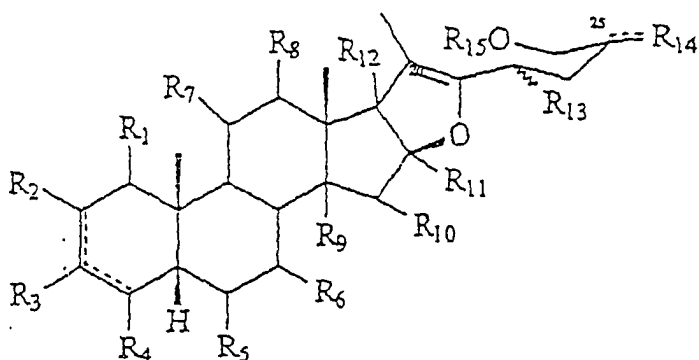
[0027] Die Variation der pharmakologischen Eigenschaften und pharmakodynamischen Wirkungen verschiedener Arten von Sapogeninen unterstreicht die Notwendigkeit zur Auswahl dieser Mittel, die am nützlichsten bei der Behandlung von AD/SDAT sind. Die Erkenntnis neuer Fakten über die Wirkung von Sapogeninderivaten hat es möglich gemacht, zu bestimmen, welche Substanzen für die Behandlung von AD/SDAT und dgl. am nützlichsten sind.

[0028] Die Erfinder haben gefunden, dass die oben beschriebenen Eigenschaften von Sapogeninderivaten gezeigt werden, bei denen die A/B-Ringkongformation des kondensierten Ringsystems cis ist. Die vorliegende Erfindung wird in den beigefügten Ansprüchen definiert.

[0029] Somit haben die Sapogeninderivate, die für die vorliegende Erfindung von Interesse sind, die folgenden allgemeinen Formeln (I) oder (II):



I



II

und deren pharmazeutische Salze.

[0030] In der allgemeinen Formel (I)

sind $-R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_{10}$ unabhängig voneinander entweder H, OH, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

ist $-R_3$ entweder H, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

können $-R_9, R_{12}, R_{11}, R_{13}$ entweder H, OH oder OR sein, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gege-

benenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 ist $-R_{14}$ eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;
 bedeutet eine fakultative Doppelbindung.

[0031] Bevorzugt sind in den Verbindungen der allgemeinen Formel (I):

$-R_4, R_9, R_{12}, R_{13} = H$;
 $-R_1, R_2, R_5, R_6, R_7, R_8, R_{10}$ unabhängig voneinander jeweils H, OH, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 $-R_3$ ist entweder H, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 $-R_{11} = H, OH, OR$, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 $-R_{14} =$ eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;
 und bedeutet eine fakultative Doppelbindung.

[0032] Bevorzugt sind in den Verbindungen der allgemeinen Formel (I):

$-R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = R_{10} = R_{11} = R_9 = R_{12} = R_{13} = H$,
 $-R_3 = H, -OMe, -OCOCH_3, =O, -O-CO-OEt, -O-CO-(CH_2)_2-CO_2H$;
 $-R_{14} = CH_3$.

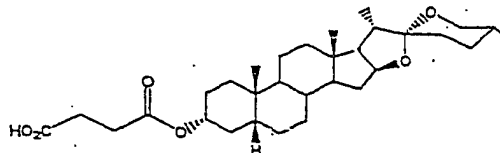
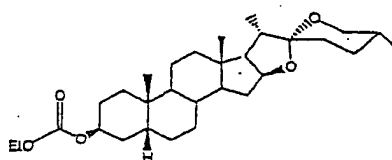
[0033] In der allgemeinen Formel (II)

sind $-R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_{10}$ unabhängig voneinander entweder H, OH, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 ist $-R_3$ entweder H, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 können $-R_9, R_{12}, R_{11}, R_{13}$ entweder H, OH oder OR sein, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 $-R_{14} =$ eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;
 $-R_{15} = H$, gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl oder Glucosyl;
 bedeutet eine fakultative Doppelbindung.

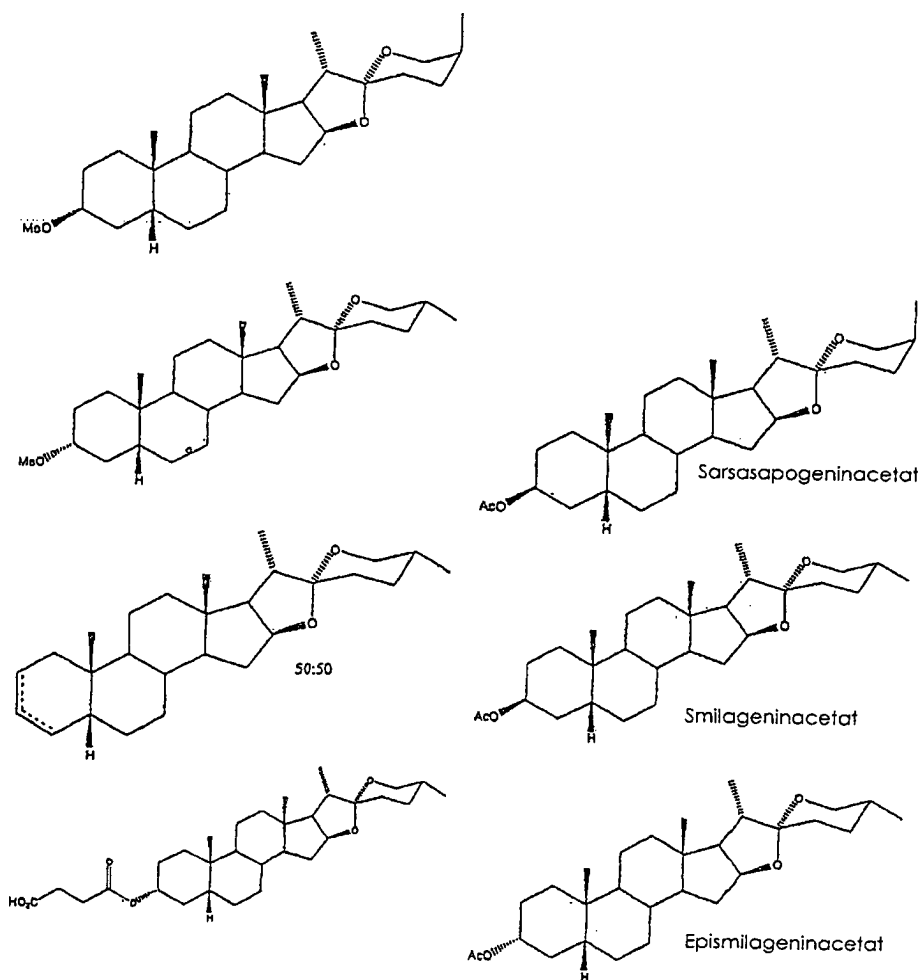
[0034] Bevorzugt ist in der allgemeinen Formel (II):

$-R_4, R_9, R_{12}, R_{13} = H$;
 $-R_1, R_2, R_5, R_6, R_7, R_8, R_{10}$ unabhängig voneinander jeweils H, OH, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 ist $-R_3$ entweder H, =O oder OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 $-R_{11} = H, OH, OR$, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;
 $-R_{14} =$ eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;
 $-R_{15} = H$, gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl oder Glucosyl;
 und bedeutet eine fakultative Doppelbindung.

[0035] Die folgenden Verbindungen sind besonders bevorzugt:



[0036] Allgemein können jedoch die folgenden Verbindungen spezifisch zur Verwendung für die vorliegende Erfindung erwähnt werden:



[0037] Die folgenden Begriffe bedeuten, wie sie im Folgenden verwendet werden und vorher verwendet wurden:

"Acyl" bedeutet eine H-CO- oder Alkyl-CO-Gruppe, wobei die Alkylgruppe wie hier beschrieben ist. Bevorzugte Acyle enthalten ein Niedrigalkyl. Beispielhafte Acylgruppen schließen Formyl, Acetyl, Propanoyl, 2-Methylpropanoyl, Butanoyl und Palmitoyl ein.

"Alkyl" bedeutet eine aliphatische Kohlenwasserstoffgruppe, die gerade oder verzweigt sein kann, die z.B. etwa 1 bis etwa 20 Kohlenstoffatome in der Kette hat. Bevorzugte Alkylgruppen haben 1 bis etwa 12 Kohlenstoffatome in der Kette. Verzweigt bedeutet, dass eine oder mehrere Niedrigalkylgruppen, wie Methyl, Ethyl oder Propyl an eine lineare Alkylkette gebunden sind. "Niedrigalkyl" bedeutet etwa 1 bis etwa 4 Kohlenstoffatome in der Kette, die gerade oder verzweigt sein können. Beispielhafte Alkylgruppen schließen Methyl, Ethyl, n-Propyl, i-Propyl, n-Butyl, i-Butyl, n-Pentyl, 3-Pentyl ein.

"Gegebenenfalls substituiert" bedeutet, dass die Gruppe mit einem oder mehreren Substituenten, die gleich oder verschieden sein können, und Halogen, Alkyl, Cycloalkyl, Hydroxy, Alkoxy, Amino, Acylamino, Aryl, Arylamino, Carboxy, Alkoxycarbonyl, Aralkoxycarbonyl, Heteroaralkoxycarbonyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl einschließen, substituiert sein kann.

Der Ausdruck "pharmazeutische Zusammensetzung" bedeutet eine Zusammensetzung mit einer Verbindung der Formel I oder II und mindestens einer Komponente, die ausgewählt ist aus der Gruppe enthaltend pharmazeutisch annehmbare Träger, Verdünnungsmittel, Hilfsstoffe, Exzipienzien oder Träger, wie Konservierungsmittel, Füllstoffe, Sprengmittel, Benetzungsmittel, Emulgiermittel, Suspendiermittel, Süßstoffe, Aromastoffe, parfümierende Mittel, antibakterielle Mittel, Antipilzmittel, Gleitmittel und dispergierende Mittel, abhängig von der Art der Verabreichung und der Art der Dosierungsformen.

"Pharmazeutisch annehmbar" bedeutet, dass innerhalb des Bereichs der medizinischen Beurteilung es für die Verwendung in Kontakt mit den Zellen von Menschen und niedrigeren Tieren ohne unnötige Toxizität, Reizung, allergische Reaktion und dgl. anwendbar ist und ein vernünftiges Verhältnis von Nutzen/Risiko hat.

"Pharmazeutisch annehmbare Dosierungsformen" bedeutet Dosierungsformen der erfindungsgemäßen Verbindung und schließt z.B. Tabletten, Dragees, Pulver, Elixiere, Sirupe, flüssige Präparate, einschließlich Suspensionen, Sprays, Inhalationstabletten, Pastillen, Emulsionen, Lösungen, Körnchen, Kapseln und Zäpfchen ein ebenso wie flüssige Präparate für Injektionen, einschließlich Liposomenpräparate. Techniken und Formulierungen finden sich allgemein in Remington, Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA,

letzte Auflage.

"Pharmazeutisch annehmbare Salze" bedeutet die relativ untoxischen, anorganischen und organischen Säureadditionssalze und Baseadditionssalze von Verbindungen der vorliegenden Erfindung. Diese Salze können in situ hergestellt werden während der letzten Isolierung und Reinigung der Verbindungen. Insbesondere können Säureadditionssalze hergestellt werden, indem die gereinigte Verbindung in ihrer freien Baseform mit einer geeigneten organischen oder anorganischen Säure umgesetzt wird und das so gebildete Salz isoliert wird. Siehe z.B. S. M. Berge et al., *Pharmaceutical Salts*, J. Pharm. Sci. 66: S. 1–19 (1977), das hier durch Bezugnahme miteingeschlossen wird. Baseadditionssalze können auch hergestellt werden, indem die gereinigte Verbindung in ihrer Säureform mit einer geeigneten organischen oder anorganischen Base umgesetzt wird und das so gebildete Salz isoliert wird. Baseadditionssalze schließen pharmazeutisch annehmbare Metall- und Aminsälsalze ein.

[0038] Einige Sapogeninderivate von Interesse für die vorliegende Erfindung können natürlich in einigen Pflanzenarten vorkommen, insbesondere aus den Gattungen *Smilax*, *Asparagus*, *Anemarrhena*, *Yucca* und *Agave*. Die Arten, die derzeit von größtem Interesse sind, schließen *Smilax regelii* Kilip & Morton – allgemein bekannt als Hondurischer Sarsaparilla; *Smilax aristolochiaefolia* Miller – allgemein bekannt als Mexikanischer Sarsaparilla; *Smilax ornata* Hooker – allgemein bekannt als Jamaikanischer Sarsaparilla; *Smilax aspera* – allgemein bekannt als Spanischer Sarsaparilla; *Smilax glabra* Roxburgh; *Smilax febrifuga* – Kunth – allgemein bekannt als Sarsaparilla aus Ecuador oder Peru; *Anemarrhena asphodeloides* Bunge; *Yucca schidigera* Roez ex Ortgies und *Yucca brevifolia* Engelm ein. Sapogeninderivate, die von Interesse sein können, können auch natürlich in anderen Gattungen vorkommen, z.B. *Dioscorea*, *Trillium*, *Solanum*, *Strophanthus*, *Digitalis* und *Trigonella*. Einige Sapogeninderivate aus diesen Quellen besitzen jedoch unerwünschte Eigenschaften und werden daher zur Verwendung für die vorliegende Erfindung nicht empfohlen.

[0039] Sapogeninderivate von Interesse für die vorliegende Erfindung können auch im Handel erhältlich sein; Lieferanten sind dem Fachmann auf diesem Gebiet wohl bekannt und schließen Sigma Aldrich, Research Plus Inc., Steraloids Inc. etc ein.

[0040] Substituierte Sapogenine von Interesse für die vorliegende Erfindung können mit synthetischen Methoden hergestellt werden. Sie können z.B. aus unsubstituierten Sapogeninderivaten hergestellt werden, die natürlich vorkommen oder im Handel erhältlich sind, wie oben angegeben.

[0041] Ausgehend von diesen unsubstituierten Sapogeninen kann die Reaktion mindestens eine Substitutionsstufe beinhalten, wobei die funktionelle Gruppe an dem Sapogeninderivat substituiert bzw. ersetzt wird; gewöhnlich ist das Ausgangsprodukt ein unsubstituiertes Sapogenin mit der erforderlichen Stereochemie und die Reaktion kann die Substitution an einer OH-Gruppe mit dem erwünschten funktionellen Rest betreffen; Smilagenin und Epismilagenin sind als Ausgangsprodukte bevorzugt.

[0042] Verbindungen, die für die vorliegende Erfindung nützlich sind, können hergestellt werden unter Anwendung oder Angleichung bekannter Methoden, worunter Methoden verstanden werden, die bisher verwendet wurden oder in der Literatur beschrieben wurden, z.B. solche, die von R. C. Larock in *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers, 1989, beschrieben wurden.

[0043] Bei den im Folgenden beschriebenen Reaktionen kann es notwendig sein, reaktive funktionelle Gruppen zu schützen, z.B. Hydroxy- oder Carboxygruppen, wenn diese im Endprodukt erwünscht sind, um deren unerwünschte Teilnahme an den Reaktionen zu vermeiden. Übliche Schutzgruppen können verwendet werden gemäß der Standardpraxis, siehe z.B. T. W. Green und P. G. M. Wuts in *"Protective Groups in Organic Chemistry"*, John Wiley and Sons, 1991; J. F. W. McOmie in *"Protective Groups in Organic Chemistry"*, Plenum Press, 1973.

[0044] Die so hergestellte Verbindung kann aus der Reaktionsmischung mit üblichen Mitteln gewonnen werden. Z.B. können die Verbindungen gewonnen werden, indem das Lösungsmittel aus der Reaktionsmischung abdestilliert wird oder, falls notwendig, indem nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels aus der Reaktionsmischung der Rückstand in Wasser gegossen wird und anschließend mit einem mit Wasser nicht mischbaren organischen Lösungsmittel extrahiert wird und das Lösungsmittel aus dem Extrakt abdestilliert wird. Zusätzlich kann das Produkt, falls erwünscht, weiter mit verschiedenen wohl bekannten Techniken, wie Umkristallisation, erneute Ausfällung oder verschiedene chromatographische Techniken, insbesondere Säulenchromatographie oder präparative Dünnschichtchromatographie, gereinigt werden.

[0045] Die vorliegende Erfindung kann ihre Wirkung entfalten unter Verwendung einer pharmazeutischen Zu-

sammensetzung mit die kognitive Funktion verbessernden Eigenschaften, die eine wirksame Menge eines Sapogeninderivats der Erfindung enthält.

[0046] Die Sapogeninderivate, die erfindungsgemäß verwendet werden, sind steroidal; sie sind bevorzugt nicht-östrogen in der Wirkung.

[0047] Gemäß einem weiteren Aspekt kann die Erfindung ihre Wirkung entfalten unter Verwendung einer pharmazeutischen Zusammensetzung mit die kognitive Funktion verbessernden Eigenschaften, die eine wirksame Menge eines Sapogeninderivats der Erfindung in Form eines Extrakts enthält, der aus einer Pflanze der Gattung Smilax, Asparagus, Anemarrhena, Yucca oder Agave stammt.

[0048] Es ist offensichtlich, dass die Erfindung eine Methode ermöglicht, um die kognitive Funktion zu verbessern, was beinhaltet, dass einem Menschen oder Tier eine wirksame Dosierung einer Zusammensetzung, die erfindungsgemäß hergestellt wurde, verabreicht wird.

[0049] Die Erfindung ermöglicht auch ein Verfahren, um eine kognitive Funktion bei einem Menschen oder nicht menschlichen Tier zu verbessern, das beinhaltet, dass eine wirksame Dosis der Sapogeninderivate mit einer Zusammensetzung, die erfindungsgemäß hergestellt wurde, verabreicht wird. Sie ermöglicht auch die Verwendung der Sapogeninderivate in Lebensmittelprodukten oder Getränken, um die kognitive Funktion zu verbessern.

[0050] Der Ausdruck "kognitive Funktion", wie er hier verwendet wird, bezieht sich auf Funktionen wie Denken, Erwägen, Erinnern, sich Vorstellen, und Lernen.

[0051] Die Erfindung kann ihre Wirkung entfalten unter Verwendung einer Zusammensetzung mit die kognitive Funktion verbessernden Eigenschaften, die mindestens zwei, bevorzugt zwei, Sapogeninderivate der Erfindung enthält.

[0052] Um Erfindungen zu finden, die von Nutzen wären bei der Behandlung von SDAT und anderen Krankheiten, die durch Reduktionen in der Rezeptoranzahl oder der synaptischen Übertragung gekennzeichnet sind, haben die Erfinder sich mit der Notwendigkeit befasst, Verbindungen zu finden, die die gewünschte Wirkung haben, aber keine östrogenen Wirkungen aufweisen, da diese unannehmbar wären, insbesondere bei männlichen Patienten. Eine Anzahl der Verbindungen, von denen in der Patentanmeldung DE 4303214A1 beansprucht wird, dass sie Aktivität haben, hat eine bemerkenswerte östrogene Aktivität und ist daher unannehmbar. Bevorzugt haben die Sapogeninderivate zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung jedoch keine östrogene Aktivität. Außerdem wurden diese Verbindungen an anderen Steroidrezeptoren getestet und es wurde gefunden, dass sie keine Aktivität an einem der folgenden Rezeptoren haben:

Progesteron
Glucocorticoid
Testosteron.

[0053] Sapogeninderivate zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung wurden auch in einer Anzahl von in-vitro-Assays auf ihre Aktivität getestet. Die Tests/Versuche, von denen angenommen wird, dass sie eine Schlüsselrolle bei der Bestimmung der möglichen Aktivität bei der Erhöhung der Anzahl der membrangebundenen Rezeptoren haben, waren die folgenden:

Zellen aus dem Eierstock des Chinesischen Hamsters (CHO), die mit einem DNA-Fragment transfiziert sind, das einen Muscarinrezeptor codiert. Die für die Mehrzahl der Versuche verwendete Zelllinie war eine Zelllinie, die den m2-Rezeptor exprimiert.

[0054] Die Methoden und die Ergebnisse dieser Versuche werden im Folgenden beschrieben.

Versuche mit der CHO-Zelllinie

[0055] Die Wirkungen verschiedener Verbindungen auf die Expression von m2-Rezeptoren auf CHO-Zellen, die mit DNA für den m2-Rezeptor transfiziert sind, wurden untersucht. Die Rezeptorzahlen wurden untersucht unter Verwendung der Bindung von tritiertem QNB und durch Subtraktion nicht spezifischer Bindung. Verbindungen wurden in DMSO gelöst und DMSO wurde als Kontrolle verwendet. Die Verbindungen wurden in einer Reihe von Endkonzentrationen getestet. Die Verbindungen wurden auch in Gegenwart und Abwesenheit von Tamoxifen getestet, in dem Versuch, von einem durch Östrogenrezeptor vermittelten Mechanismus zu unterscheiden.

[0056] Die Verbindungen sind aktiv, wenn die Wirkung auf die Rezeptorexpression, angegeben als Anstieg des Prozentanteils verglichen zur Kontrolle, mehr als 15% ist.

[0057] Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 unten zusammengefasst.

Tabelle 1: Wirkungen von Sapogeninderivaten auf die Expression von m_2 -Rezeptoren auf CHO-Zellen

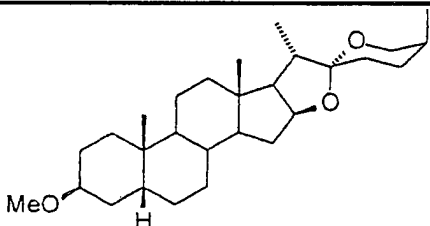
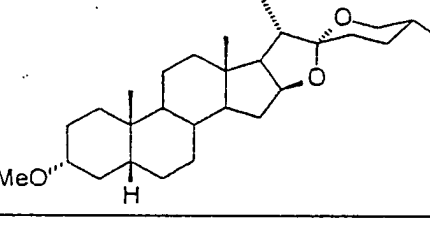
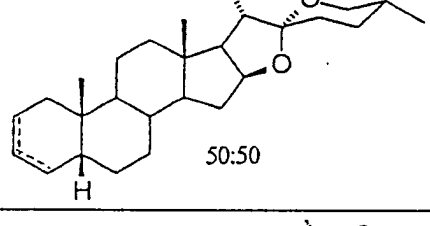
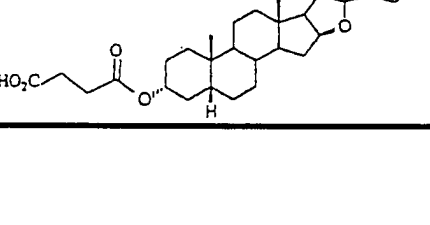
Verbindung	Molare Konzentration	Aktivität
	10^{-5}	aktiv
	10^{-5}	aktiv
	10^{-5}	aktiv
	10^{-5}	aktiv

Tabelle 1 (Fortsetzung)

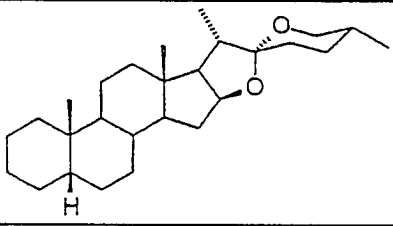
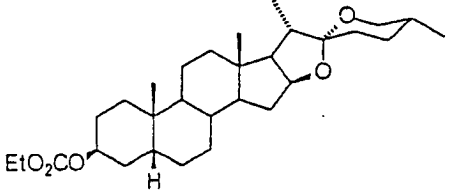
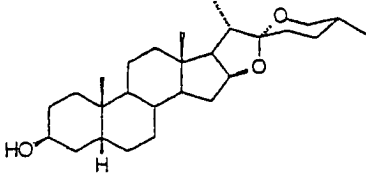
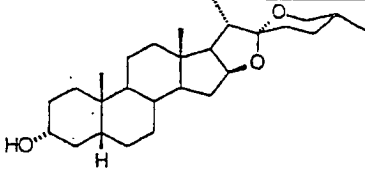
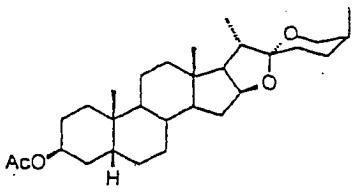
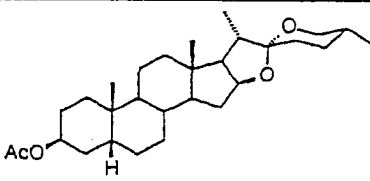
Verbindung	Molare Konzentration	Aktivität
	10^{-5}	aktiv
	10^{-5}	aktiv
 Smilagenin	10^{-5}	aktiv
 Epismilagenin	10^{-5}	aktiv
 Sarsasapogeninacetat	10^{-5}	aktiv
 Smilageninacetat	10^{-5}	aktiv

Tabelle 1 (Fortsetzung)

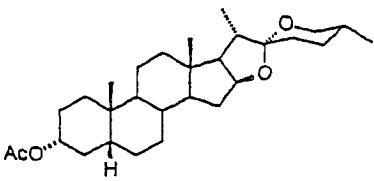
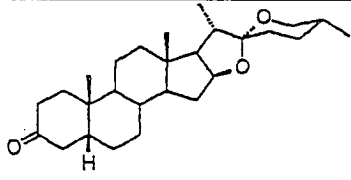
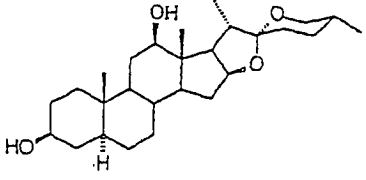
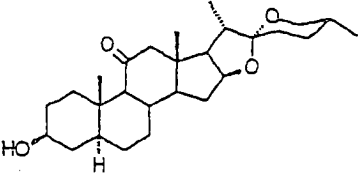
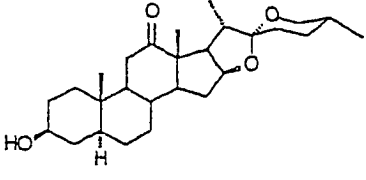
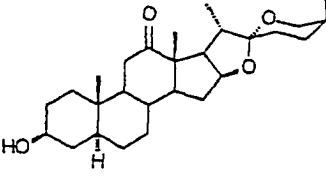
Verbindung	Molare Konzentration	Aktivität
 Epismilageninacetat	10^{-5}	aktiv
 Smilagenon	10^{-5}	aktiv
 Rockogenin	10^{-5}	nicht aktiv
 11-Ketotigogenin	10^{-5}	nicht aktiv
 Hecogenin	10^{-5}	nicht aktiv
 Sisalagenin	10^{-5}	nicht aktiv
	10^{-6}	nicht aktiv

Tabelle 1 (Fortsetzung)

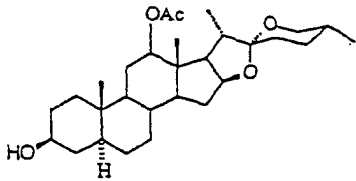
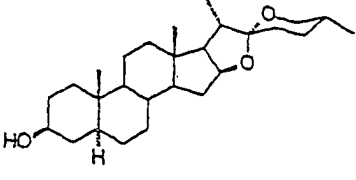
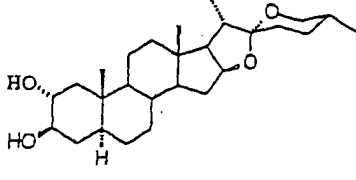
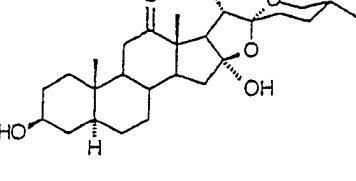
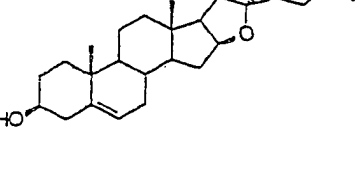
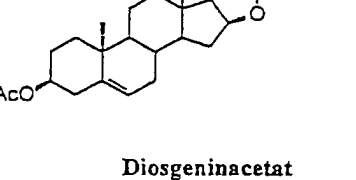
Verbindung	Molare Konzentration	Aktivität
 12-Acetoxytigogenin	10^{-5}	nicht aktiv
 Tigogenin	10^{-5}	nicht aktiv
	10^{-6}	nicht aktiv
 Gitogenin	10^{-5}	nicht aktiv
 16α-Hydroxyhecogenin	10^{-5}	nicht aktiv
 Diosgenin	10^{-5}	nicht aktiv
	10^{-6}	nicht aktiv
 Diosgeninacetat	10^{-5}	nicht aktiv

Tabelle 1 (Fortsetzung)

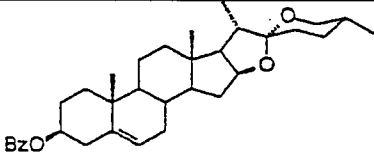
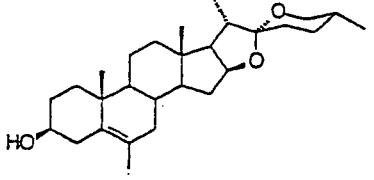
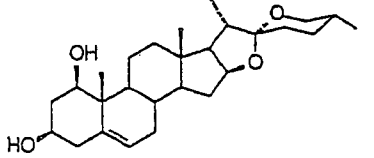
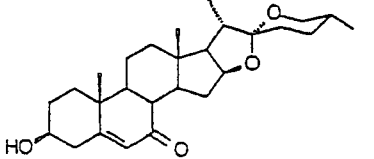
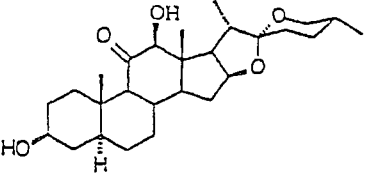
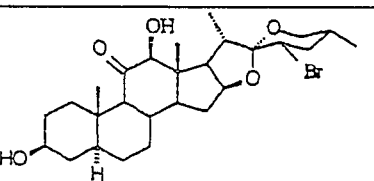
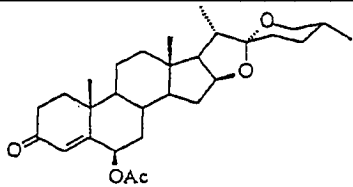
Verbindung	Molare Konzentration	Aktivität
 Diosgeninbenzoat	10^{-5}	nicht aktiv
 6-Methyldiosgenin	10^{-5}	nicht aktiv
 Ruscogenin	10^{-5}	nicht aktiv
	10^{-6}	nicht aktiv
 7-Ketodiosgenin	10^{-5}	nicht aktiv
 11-Ketorockogenin	10^{-5}	nicht aktiv
 23-Bromo-11-ketorockogenin	10^{-5}	nicht aktiv

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Verbindung	Molare Konzentration	Aktivität
 6β-Acetoxytigogenon	10^{-5}	nicht aktiv

[0058] Somit zeigen die Versuche, dass die Sapogeninderivate zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung die Anzahl von Muscarinrezeptoren, die auf der Oberfläche von in vitro gezüchteten CHO-Zellen exprimiert werden, erhöht. Die Wirkung wurde durch Tamoxifen nicht antagonisiert, was darauf hindeutet, dass der beteiligte Mechanismus nicht den Östrogenrezeptor betrifft.

[0059] Aus der experimentellen Arbeit ergibt sich, dass die Verbindungen zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung die Anzahl der Muscarinrezeptoren normalisieren – d.h. sie neigen dazu, einen Abfall der Rezeptorzahl mit der Zeit zu verhindern und neigen auch dazu, die Rezeptorzahl auf das normale Ausmaß zurückzubringen, wenn sie an Zellen verabreicht werden, bei denen die Rezeptorzahl abgesenkt ist.

[0060] Es wird hier spekuliert, dass die Wirkung der aktiven Verbindung, die in diesem Patent angegeben ist, über eine Wirkung auf das G-Protein wirken kann und dass die Wirkungen auf die Rezeptorzahlen sekundär sind für eine Wirkung auf das G-Protein. Wenn ein membrangebundener G-Protein-verknüpfter Rezeptor stimuliert wird, werden zwei Gruppen von Ereignissen gestartet: die Effektorantwort und die Internalisierung des Rezeptors. Die nachfolgende Prozessierung des Rezeptors in den Zustand, in dem er wieder in einer Form auf der Zelloberfläche oder einer anderen Membranoberfläche ist, wo er mit einem anderen Rezeptorliganden wechselwirken kann, scheint Gegenstand einer Anzahl von Faktoren zu sein. Eine Anzahl dieser Faktoren oder Mechanismen scheint G-Proteinverknüpft zu sein. Es gibt Hinweise, dass die Aktivierung von m_3 -Rezeptoren eine Wirkung auf die G-Proteinexpression oder die Pegel haben kann. Es wird spekuliert, dass die Wirkungen der in diesem Patent beschriebenen Verbindungen auf einer Wechselwirkung der Prozesse der Rezeptorregeneration, G-Proteinbindung oder G-Proteinhomöostasis beruhen könnten.

[0061] Eine alternative Hypothese besteht darin, dass die Verbindungen die Synthese oder Freisetzung erhöhen oder die Rate des Abbaus von neurotrophen Faktoren, wie dem aus dem Gehirn stammenden Wachstumsfaktor und/oder Nervenwachstumsfaktor senken. Diese Wirkungen auf Wachstumsfaktoren könnten auf einer Wirkung der Verbindung an einem cytosolischen oder Kernrezeptor oder der Bindung einer Verbindung an eine Promotorregion mit nachfolgender Wirkung direkt auf die Produktionsrate von mRNA für den Wachstumsfaktor oder als Konsequenz Erhöhung der Produktion eines anderen Materialfaktors, wie G-Protein haben oder schließlich könnten die Wirkungen sekundär eine Wirkung auf den Rezeptor oder die G-Proteinprozessierung haben.

[0062] Die erhöhte Expression und/oder anormale Prozessierung des Amyloidvorläuferproteins (APP) ist mit der Bildung von Amyloidplaques und cerebrovaskulären Amyloidabscheidungen assoziiert, die die hauptsächlichsten morphologischen Kennzeichen der Alzheimer-Krankheit sind. Von besonderem Interesse sind Prozesse, die die proteolytische Spaltung von APP in amyloidogene und nicht amyloidogene Fragmente regulieren. Die Spaltung von APP durch das Enzym α -Secretase innerhalb der β -Amyloidsequenz des Proteins führt zur Bildung eines nicht amyloidogenen C-terminalen Fragments und des löslichen APPs α -Fragments; von letzterem Fragment wurde gezeigt, dass es eine neurotrope und neuroprotektive Aktivität hat und auch das Gedächtnis verbessert bei Mäusen, wenn es intracerebroventrikal (ICV) injiziert wird. Im Gegensatz dazu setzt die Prozessierung von APP durch β -Secretase das N-Ende des β -Amyloids frei, das durch γ -Secretasespaltung am variablen C-Ende freigesetzt wird. Es wurde gezeigt, dass die entstehenden β -Amyloidpeptide, die 39 bis 43 Aminosäuren enthalten, neurotoxisch sind und sich in Plaques ansammeln, die Interneuronverbindungen stören.

[0063] Eine Anzahl von Untersuchungen hat gezeigt, dass die Stimulierung der mit Proteinkinase (PKC) verbundenen Muscarin- M_1 - und M_3 -Rezeptoren zu einem Anstieg der α -Secretaseaktivität führt. Als Konsequenz wird die Prozessierung von APP zu APPs α mit seinen neuroprotektiven Wirkungen erhöht. Parallel nimmt die

Prozessierung von APP durch β - und γ -Secretase ab und es gibt eine entsprechende Reduktion von β -Amyloid. Andere Transmitter, wie Nervenwachstumsfaktor (NGF) und aus dem Gehirn stammender neurotroper Faktor (BDNF) ebenso wie Bradykinin und Vasopressin haben ähnliche Effekte bei der Erhöhung des Anteils an APP, das zu APPs α prozessiert wird. Es kann eine Anzahl von Faktoren geben, die an den Wirkungen von NGF beteiligt sind, was die Bindung des Faktors an den Tyrosinkinase-Rezeptor (TrkA) und die Stimulierung von Phospholipase C γ mit nachfolgender Phosphorylierung und Aktivierung von Proteinkinase C (PKC) und einen Anstieg der relativen Aktivität von α -Secretase einschließen kann.

[0064] Von jeder Behandlung, die die Aktivität der Proteinkinase C selektiv im Hirn erhöht, könnte daher erwartet werden, dass sie von Nutzen ist beim Umgang mit der Alzheimer-Krankheit. Bis in letzter Zeit waren Agonisten, die am M₁-Rezeptor selektiv waren, nicht verfügbar. Von nicht selektiven Agonisten würde erwartet, dass sie präsynaptische M₂-Rezeptoren stimulieren, was ein negatives Feedback verursacht und somit die Muscarintransmission weiterhin schwer beeinträchtigen würde. Selektive Agonisten am M₁-Rezeptor werden nun verfügbar (Talsaclidine) und solche Mittel werden derzeit zur Behandlung von AD untersucht. Es gibt jedoch ein erhebliches Risiko, dass, wie bei der chronischen Verabreichung jedes Rezeptoragonisten, der klinische Nutzen stark begrenzt wird im Hinblick auf die Größe des Nutzens der Reduktion von Rezeptorzahlen oder der Reduktion der Empfindlichkeit und im Hinblick auf Nebenwirkungen aufgrund des Mangels an Rezeptorspezifität. Solche Verbindungen, wie sie erfindungsgemäß beschrieben werden, die selektiv die Muscarinrezeptorzahl oder -funktion regulieren, hätten erwartungsgemäß diese Probleme nicht, die für einen Muscarinagonisten gesehen werden und haben daher besondere Nützlichkeit. Tatsächlich können die Vorteile in dreifacher Hinsicht erwartet werden, wie folgt:

1. Ein selektiver Anstieg der M₁-Rezeptorzahlen, der zu einer erhöhten synaptischen Übertragung führt. Eine chronische Verabreichung eines selektiven Agonisten hat bestenfalls keine negative Wirkung auf die Übertragung;
2. Sekundär zu den erhöhten Rezeptorzahlen ein Anstieg der Stimulation von PKC mit einem folgenden Anstieg der α -Secretaseaktivität, was zu:
 - 2.1 Einer verminderten Produktion von β -Amyloid und nachfolgenden Reduktion der Plaquebildung und des Neuronalverlustes führt;
 - 2.2 Einem Anstieg an APPs α und nachfolgend einer Verbesserung der Gehirnfunktion führt, was durch eine Verbesserung des Kurzzeit- und Langzeitgedächtnisses gezeigt wird.

[0065] Um die Erfindung weiter durch nicht beschränkende Beispiele zu erläutern, wird nun auf die beigegeführten Zeichnungen und das folgende Beispiel Bezug genommen, wobei in den Zeichnungen:

[0066] Die [Fig. 1](#), [Fig. 2](#), [Fig. 3](#) die Ergebnisse darstellen, die in Beispiel 1 unten erhalten wurden;

[0067] [Fig. 4](#) eine hypothetische Wirkungsart der Sapogeninderivate zeigt.

[0068] Bezug nehmend auf [Fig. 4](#) wird eine schematische Darstellung der Funktion der Sapogeninderivate zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung gezeigt. Es wird angenommen, dass Sapogeninderivate hauptsächlich auf die Zellkerne wirken; die Erfindung ist jedoch nicht auf irgendeine spezielle Wirkungsart beschränkt. Der beobachtete Anstieg der Muscarinrezeptorzahl nach Verabreichung von Sapogeninderivaten wird so interpretiert, dass er zu einer erhöhten Expression von Muscarinrezeptorprotein führt. Die mögliche Verbindung zwischen den Secretasen und der Bildung von β -Amyloidprotein (oben diskutiert) ist in der Zeichnung angegeben.

[0069] Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung in einer nicht beschränkenden Weise erläutern.

Beispiel 1

[0070] In einer CHO-Zelllinie, die rekombinante Humanmuscarinrezeptoren in vitro exprimiert, nimmt die Anzahl von Muscarinrezeptoren mit der Zeit eher ab. Sapogeninderivate der Erfindung (1 bis 10 μ M), die 72 h inkubiert werden, erhöhen die Dichte der Muscarinrezeptoren.

Methoden:

[0071] Die Wirkung von Sapogeninderivaten der Erfindung auf die Muscarinrezeptordichte in CHO-Zellen, die rekombinante Humanmuscarinrezeptoren exprimieren.

[0072] Zellen aus dem Eierstock des Chinesischen Hamsters (CHO), die hohe Anteile von Rezeptor (~2,2

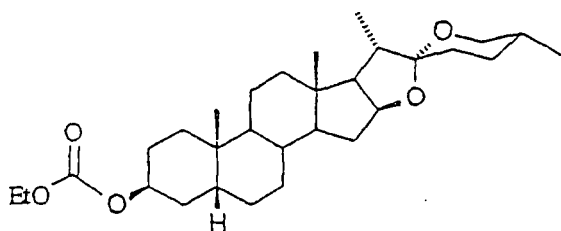
pmol Rezeptor/mg Protein) exprimieren, wurden in Kolben (150 ml) 24 h vor dem Start des Versuchs kultiviert. Träger (DMSO) und Sapogeninderivate (mit 1 und 10 μM) wurden dem Medium 48 h lang zugefügt. Das Kulturmedium wurde verworfen, die Zellen abgekratzt und wieder in Hanks-Lösung suspendiert, zentrifugiert und die m-Rezeptorpegel bestimmt, indem mit [^3H]-QNB 30 min lang inkubiert wurde und anschließend eine Flüssigszintillationszählung durchgeführt wurde. Die Proteingehalte wurden mit einer Mikro-Lowry-Methode bestimmt.

Ergebnisse:

[0073] Diese werden in den [Fig. 1](#) bis [Fig. 3](#) erläutert. Während des Kulturzeitraums verhindert die Behandlung mit Sapogeninderivaten der Erfindung die Abnahme der Anzahl der Muscarinrezeptoren in einer konzentrationsabhängigen Art und Weise.

Beispiel 2

3-O-Ethoxycarbonyl-5 β ,20 α ,22 α ,25R-spirostan-3 β -ol



[0074] Ethylchlorformiat (1,40 g, 12,9 mmol) wurde tropfenweise zu einer gerührten Lösung von Smilagenin (2,08 g, 5,0 mmol) in wasserfreiem Dichlormethan (15 ml) und wasserfreiem Pyridin (1,02 g, 12,9 mmol) zugegeben. Die Mischung wurde 18 h lang bei Raumtemperatur gerührt und dann zwischen Wasser (30 ml) und Dichlormethan aufgetrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen und dann über MgSO_4 (wasserfrei) getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, was ein Öl (2,1 g) ergab, das schnell kristallisierte. Dieses Material wurde auf Silica (ca. 70 g) chromatographiert. Die Elution mit Ethylacetat-Hexan (1:9) und die Umkristallisation aus Methanol lieferten weiße Kristalle von 3-O-Ethoxycarbonyl-5 β ,20 α ,22 α ,25R-spirostan-3 β -ol (1,08 g).

Schmelzpunkt 154–156°C;

m/z 488 (M^+ für $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$),

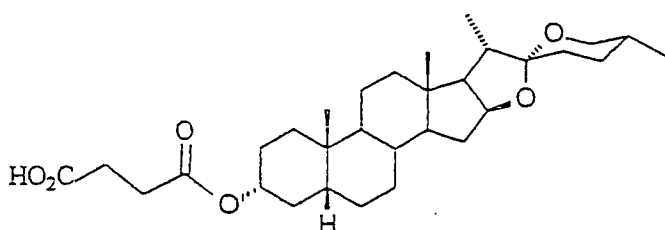
$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3) δ 0,76 (3H, s, 18- CH_3), 0,78 (3H, s, 27- CH_3), 0,95 (3H, s, 21- CH_3), 0,98 (3H, s, 19- CH_3), 1,0–2,05 (27H, komplex m, aliphatisch), 1,31 (3H, t, $J = 7$ Hz, $\text{CO}_2\text{-C-CH}_3$), 3,33–3,46 (2H, m, 26- OCH_2), 4,18 (2H, q, $J = 7$ Hz, CO_2CH_2), 4,40 (1H, m, 16- OCH), 4,95 (1H, m, H-3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3) δ 14,3 (C-C- O_2C), 14,5, 16,5, 17,1, 20,9, 23,7, 25,0, 26,4, 28,8, 30,3, 30,6, 31,4, 31,8, 35,0, 35,3, 37,0, 40,0, 40,3, 40,7, 41,6, 56,4 (C-14), 62,3 (C-17), 63,6 (C- O_2C), 66,9 (C-26), 74,8 (C-3), 80,9 (C-16), 109,2 (C-22), 154,8 (Carbonyl) ppm;

R_f 0,65 (Silica, Ethylacetat-Hexan, 1:9).

Beispiel 3

Epismilageninsuccinat



[0075] Eine Lösung von Epismilagenin (200 mg, 0,48 mmol) und Bernsteinsäureanhydrid (60 mg, 0,59 mmol) in wasserfreiem Pyridin wurde bei Raumtemperatur unter Stickstoff über Nacht gerührt. Ein weiterer Anteil Bernsteinsäureanhydrid (120 mg, 1,18 mmol) wurde zugegeben und der Ansatz weitere 24 h lang gerührt. Nach Zugabe eines weiteren Anteils Bernsteinsäureanhydrid (120 mg, 1,18 mmol) wurde der Ansatz unter Rühren weitere 24 h lang auf 50°C erhitzt. Nachdem der Ansatz abgekühlt war, wurde Wasser (10 ml) zuge-

geben und die wässrige Lösung mit Diethylether (4 × 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Wasser (3 × 20 ml) gewaschen, getrocknet (MgSO₄ wasserfrei) und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum eingedampft, was ein oranges Öl (1,8 g) ergab, das auf Silicagel chromatographiert wurde unter Verwendung von Ethylacetat/Petrolether (1:4) als Elutionsmittel. Die Umkristallisation des Produkts aus Aceton lieferte weiße Kristalle von Epismilageninsuccinat (87 mg);

Schmelzpunkt 180–182°C;

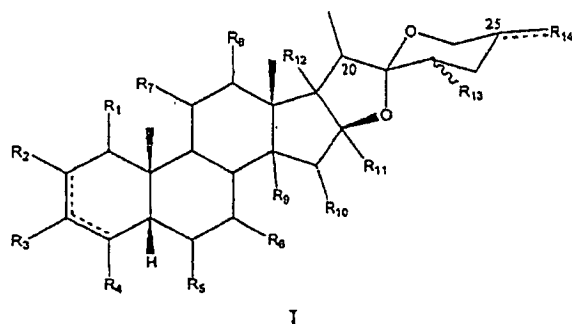
¹H-NMR (CDCl₃, 270 MHz): partielle Daten δ 4,75 (1H, m), 4,6 (1H, m), 3,50 (1H, dd), 3,40 (1H, t), 2,6 (4H, br dd), 0,98 (3H, d), 0,95 (3H, s), 0,80 (3H, d), 0,75 (3H, s) ppm;

¹³C-NMR (CDCl₃, 68 MHz) δ 171,81, 109,27, 80,91, 74,90, 66,85, 62,25, 56,29, 41,84, 41,62, 40,65, 40,51, 40,18, 35,44, 35,01, 34,72, 32,17, 31,77, 31,38, 30,25, 29,33, 28,79, 26,93, 26,55, 23,58, 20,58, 17,11, 16,43, 14,48 ppm;

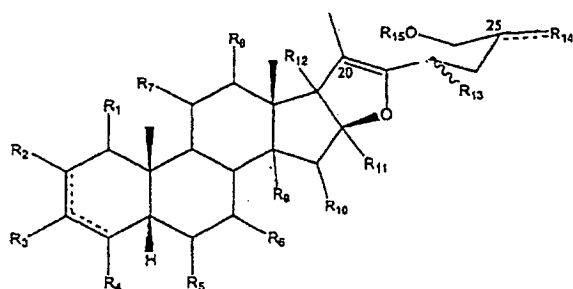
R_f 0,11 (Silica, Ethylacetat-Petrolether, 3:7).

Patentansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I oder II:



I



II

und von deren pharmazeutisch annehmbaren Salzen,

wobei in der allgemeinen Formel (I):

-R₁, R₂, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₁₀ unabhängig voneinander entweder H, OH, =O oder OR bedeuten, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxycarbonyl;

-R₃ entweder H, =O oder OR ist, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxycarbonyl;

-R₉, R₁₂, R₁₁, R₁₃ entweder H, OH oder OR sein können, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxycarbonyl;

-R₁₄ = eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;

..... eine fakultative Doppelbindung bedeutet;

und worin in Formel (II):

-R₁, R₂, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₁₀ unabhängig voneinander entweder H, OH, =O oder OR bedeuten, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxycarbonyl;

-R₃ entweder H, =O oder OR ist, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxycarbonyl;

-R₉, R₁₂, R₁₁, R₁₃ entweder H, =O oder OR sind, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxycarbonyl;

-R₁₄ = eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;

-R₁₅ = H, gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl oder Glucosyl;

..... eine fakultative Doppelbindung bedeutet;

zur Herstellung eines Arzneimittels, um die kognitive Funktion zu verbessern oder um eine kognitive Funktionsstörung zu behandeln.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei in der allgemeinen Formel (I):

-R₄, R₉, R₁₂, R₁₃ = H;

-R₁, R₂, R₅, R₆, R₇, R₈, R₁₀ unabhängig voneinander jeweils H, OH, =O oder OR sind, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

-R₃ entweder H, =O oder OR ist, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

-R₁₁ = H, OH, OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

-R₁₄ = eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;

und eine fakultative Doppelbindung bedeutet.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei in der allgemeinen Formel (I):

-R₁ = R₂ = R₄ = R₅ = R₆ = R₇ = R₈ = R₁₀ = R₁₁ = R₉ = R₁₂ = R₁₃ = H,

-R₃ = H, -OMe, -OCOCH₃, =O, -O-CO₂Et, -O-CO-(CH₂)₂-CO₂H;

-R₁₄ = CH₃.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei in der allgemeinen Formel (II):

-R₄, R₉, R₁₂, R₁₃ = H;

-R₁, R₂, R₅, R₆, R₇, R₈, R₁₀ unabhängig voneinander jeweils H, OH, =O oder OR sind, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

-R₃ entweder H, =O oder OR ist, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, gegebenenfalls substituiertes Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

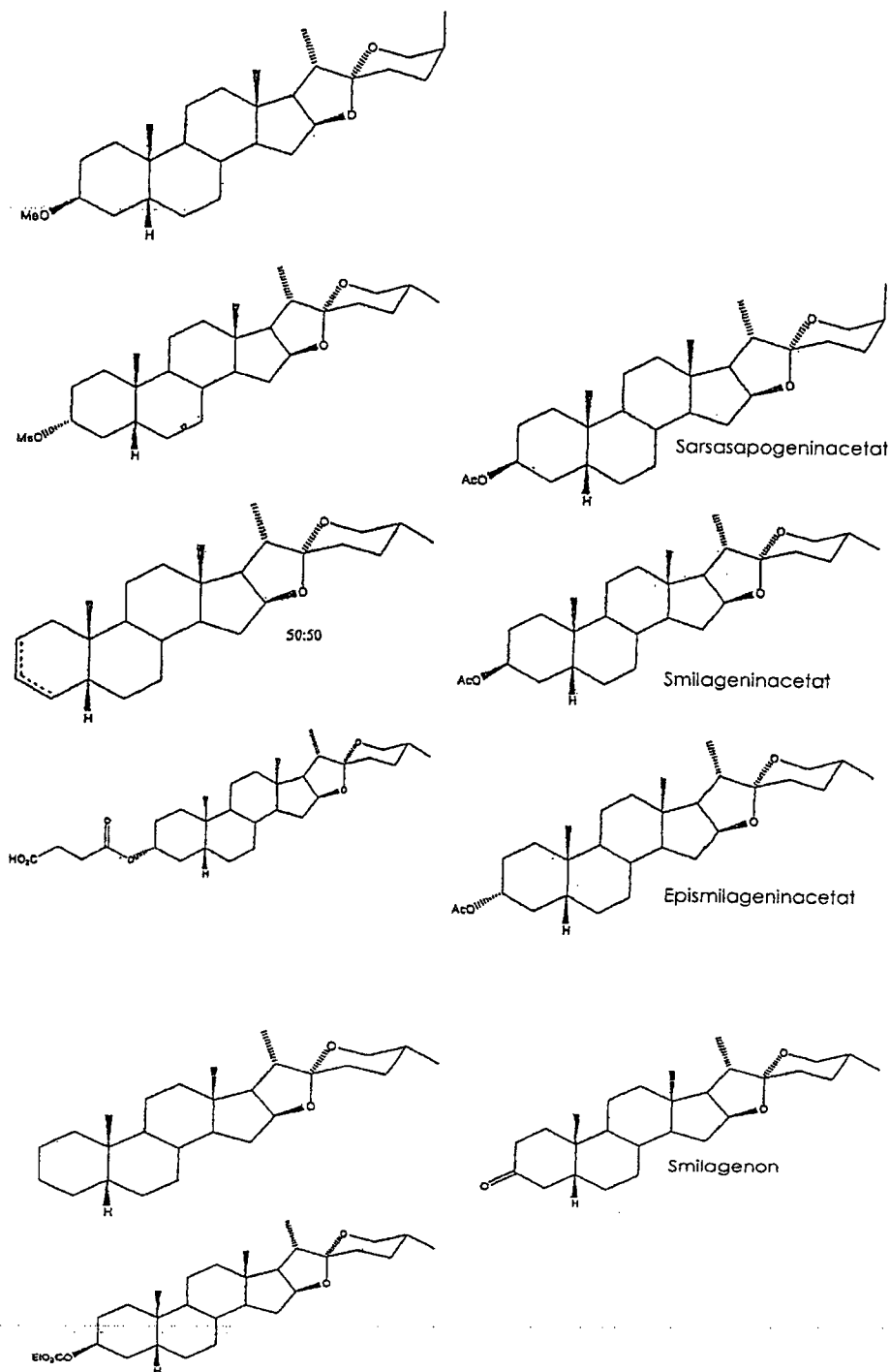
-R₁₁ = H, OH, OR, wobei R = gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl, Carbamoyl, Alkoxy-carbonyl;

-R₁₄ = eine gegebenenfalls substituierte Alkylgruppe;

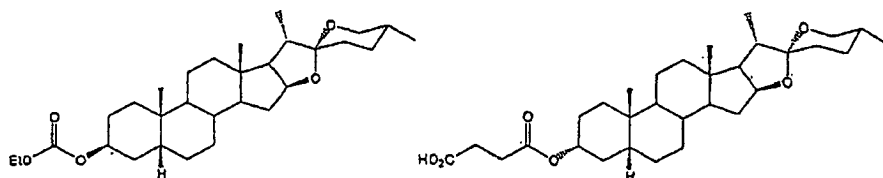
-R₁₅ = H, gegebenenfalls substituiertes Alkyl, gegebenenfalls substituiertes Acyl oder Glucosyl;

und eine fakultative Doppelbindung bedeutet.

5. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung aus den Folgenden ausgewählt ist:



6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindung aus den Folgenden ausgewählt ist:



7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Arzneimittel zur Verbesserung der kognitiven Funktion bei einem menschlichen Patienten dient, der unter einer altersbezogenen kognitiven Funktionsstörung leidet.

8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Arzneimittel zur Behandlung einer Krankheit dient, die ausgewählt ist aus: Alzheimer Krankheit, seniler Demenz vom Typ Alzheimer, Parkinson

Krankheit, Demenz aufgrund von Lewy-Körperchen, orthostatischer Hypotonie, Autismus, chronischem Ermüdungssyndrom, Myasthenia Gravis, Lambert Eaton-Krankheit, Krankheiten und Probleme, die mit dem Golfkriegssyndrom verbunden sind, berufsbedingtem Kontakt mit Organophosphorverbindungen und Problemen, die mit dem Altern verbunden sind.

9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei das Arzneimittel zur Behandlung einer Krankheit dient, die ausgewählt ist aus Alzheimer Krankheit oder seniler Demenz vom Typ Alzheimer.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

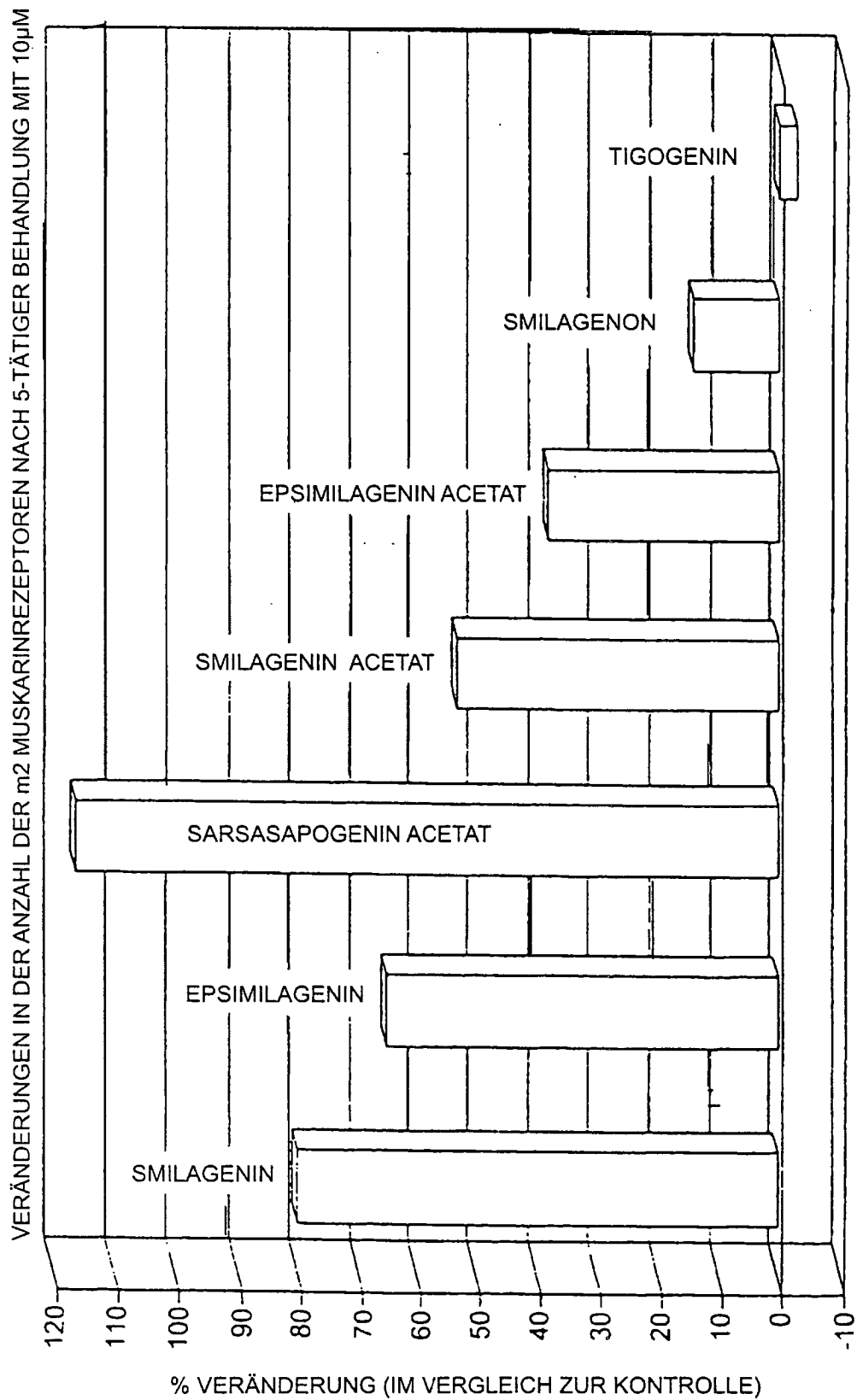


FIG. 1

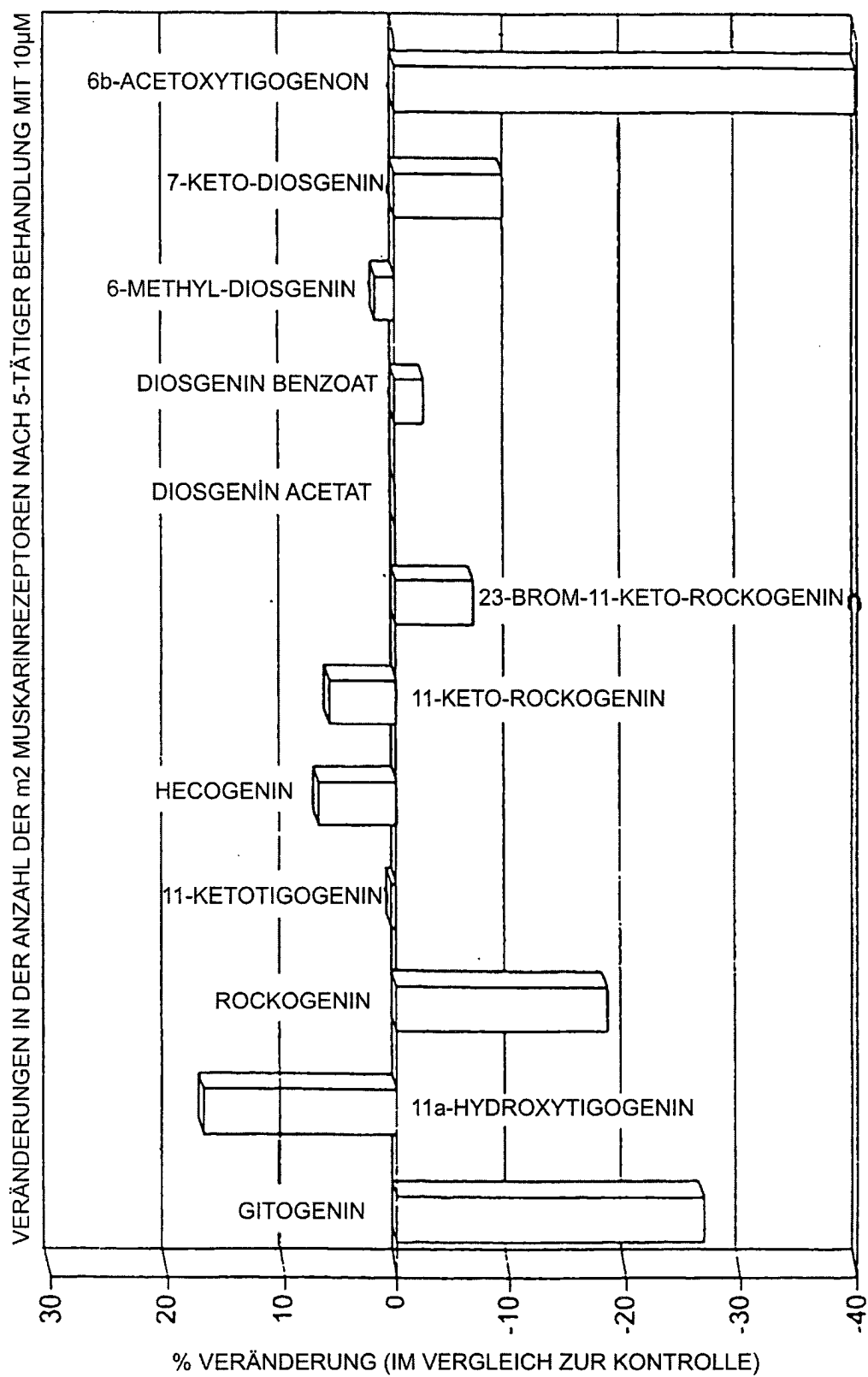


FIG. 2

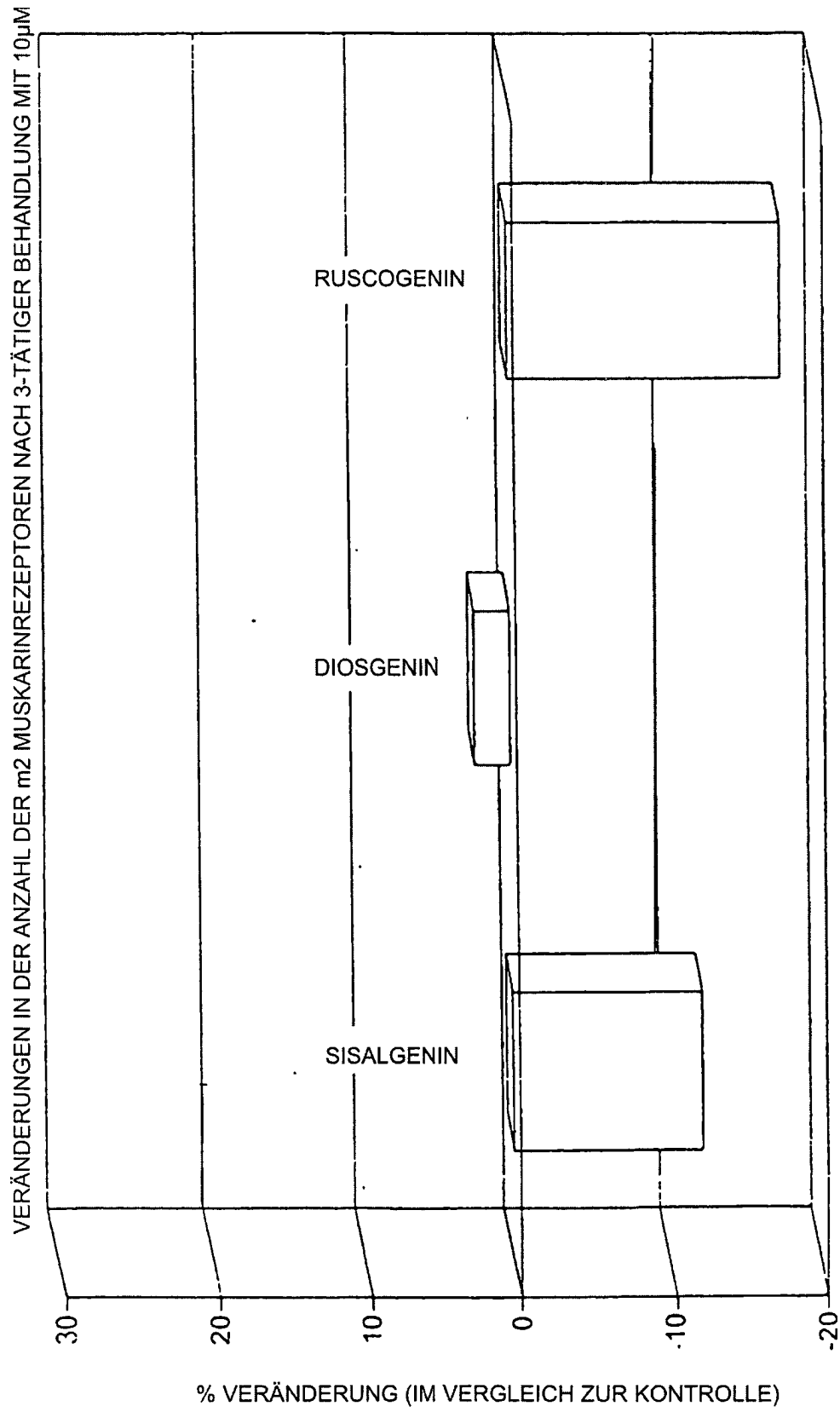


FIG. 3

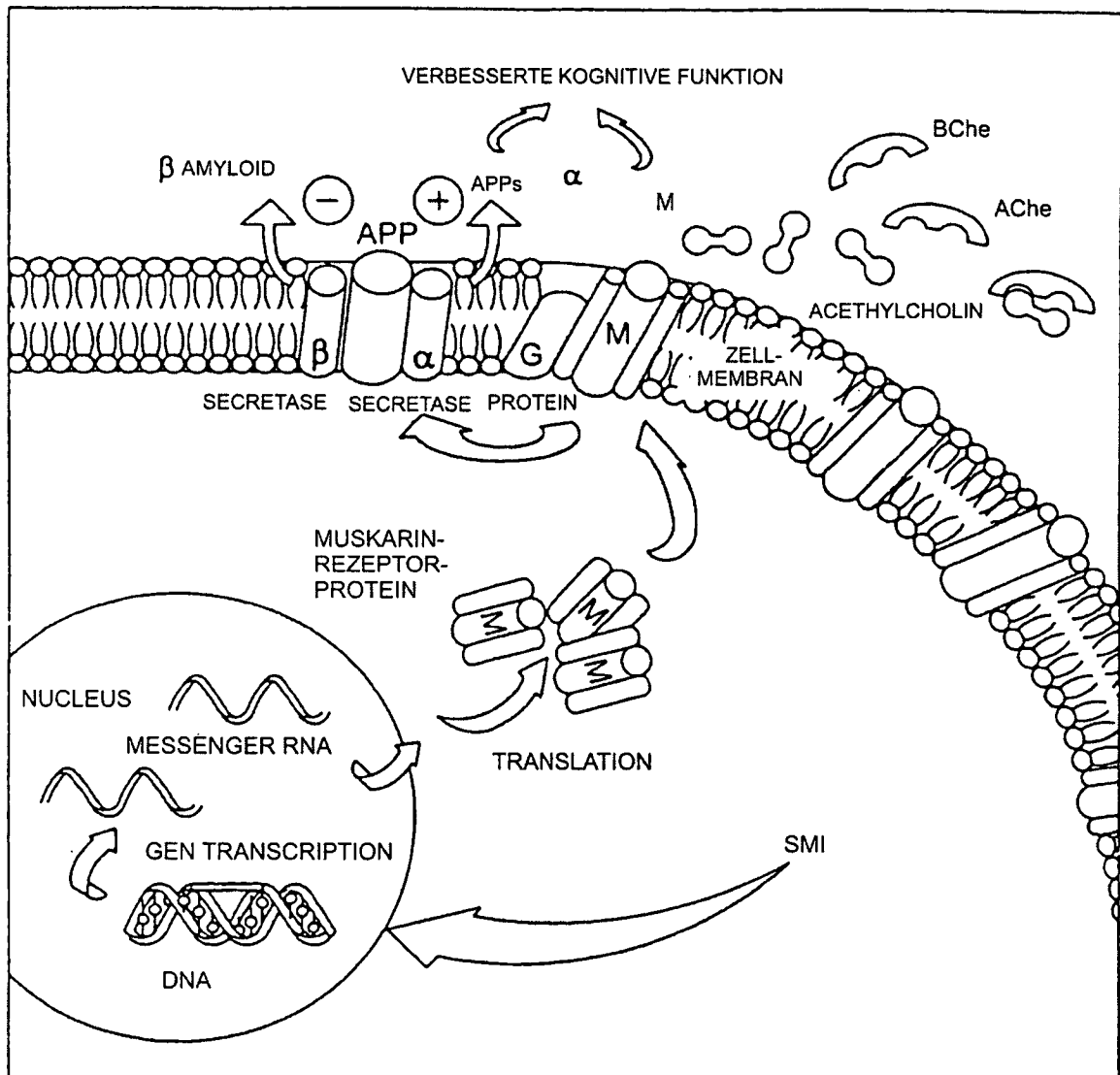


FIG. 4