



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년05월04일
A61K 31/56 (2006.01)	(11) 등록번호	10-0713311
	(24) 등록일자	2007년04월24일

(21) 출원번호	10-2000-7010698	(65) 공개번호	10-2001-0042205
(22) 출원일자	2000년09월26일	(43) 공개일자	2001년05월25일
심사청구일자	2004년03월09일		
번역문 제출일자	2000년09월26일		
(86) 국제출원번호	PCT/GB1999/000960	(87) 국제공개번호	WO 1999/48482
국제출원일자	1999년03월26일	국제공개일자	1999년09월30일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 남아프리카, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 짐바브웨, 그라나다,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 가나, 감비아, 짐바브웨, 시에라리온,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장	9806513.9	1998년03월26일	영국(GB)
	9905275.5	1999년03월08일	영국(GB)

(73) 특허권자

파이토팜 피엘씨
영국 헌팅돈 가드맨체스터 웨스트 스트리트 9 커퍼스 크리스티 하우스 (우: 피이29 2에이취와이)

(72) 발명자

지아,종킨
중국200025상하이지안-데로드1블록8플랫403

후,예어
중국200025상하이마-당로드레인357블록1플랫1209

루빈,이안

영국엘이742피피레스터캐슬도닝톤하이스트리트9홀팜하우스

브로스토프,조나단
영국엔더블유35엔비런던피치존애브뉴34

화이트,브라이언
영국에이치유181알제이이스트요크셔콘시홀로드미어클로우즈

왕,웨이준
영국피이188엑스엑스캄스헌팅돈헨칭브루크파크브레콘웨이10

건닝,필
영국씨비101이유에섹스새프론왈든킹스트리트37에이

(74) 대리인 남상선

(56) 선행기술조사문헌
CN 1096031 A. DE 4303214 A.

심사관 : 이미정

전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 알츠하이머병을 치료하기 위한 스밀라게닌 및 안주로게닌-D

(57) 요약

본 발명은 인지 기능 장애 및 유사한 질환의 치료에 스밀라게닌 및 안주로게닌-D를 사용하는 방법에 관한 것이다. 또한, 치료 방법, 및 약제 조성물에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1.

안주로게닌-D, 및 스밀라게닌과 안주로게닌-D의 배합물로부터 선택된 활성 성분을 포함하는, 인간 또는 인간 이외의 동물의 인지 기능 장애를 치료하기 위한 약제 조성물.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 활성 성분이 안주로게닌-D인 약제 조성물.

청구항 3.

제 1항에 있어서, 활성 성분이 스밀라게닌과 안주로게닌-D의 배합물인 약제 조성물.

청구항 4.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 알츠하이머병 또는 알츠하이머 유형의 노인성 치매 (SDAT)에 걸린 인간인 약제 조성물.

청구항 5.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 파킨슨병에 걸린 인간인 약제 조성물.

청구항 6.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 루이 소체 치매에 걸린 인간인 약제 조성물.

청구항 7.

제 1항 내지 제 3항 중의 어느 한 항에 있어서, 동물이 체위성 저혈압을 앓고 있는 인간인 약제 조성물.

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

삭제

청구항 14.

삭제

청구항 15.

삭제

청구항 16.

삭제

청구항 17.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 자폐증에 걸린 인간인 약제 조성물.

청구항 18.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 만성 피로 증후군에 걸린 인간인 약제 조성물.

청구항 19.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 중증 근무력증에 걸린 인간인 약제 조성물.

청구항 20.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 람베르트 이튼병에 걸린 인간인 약제 조성물.

청구항 21.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 유기인 화합물에 직업적으로 노출되는 인간인 약제 조성물.

청구항 22.

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 동물이 노인인 약제 조성물.

청구항 23.

안주로게닌-D, 및 스밀라게닌과 안주로게닌-D의 배합물로부터 선택된 활성 성분을 포함하는, 파킨슨병, 체위성 저혈압, 자폐증, 만성 피로 증후군, 중증 근무력증, 람베르트 이튼병 및 유기인 화합물에 대한 직업적 노출로부터 선택된 질병을 치료하기 위한 약제 조성물.

청구항 24.

제 23항에 있어서, 활성 성분이 안주로게닌-D인 약제 조성물.

청구항 25.

제 23항에 있어서, 활성 성분이 스밀라게닌과 안주로게닌-D의 배합물인 약제 조성물.

청구항 26.

안주로게닌-D, 및 스밀라게닌과 안주로게닌-D의 배합물로부터 선택된 활성 성분을 포함하는, 알츠하이머병, 알츠하이머 유형의 노인성 치매 (SDAT) 및 파킨슨병으로부터 선택된 질병을 치료하기 위한 약제 조성물.

청구항 27.

제 26항에 있어서, 질병이 알츠하이머병 또는 SDAT이고, 활성 성분이 안주로게닌-D인 약제 조성물.

청구항 28.

제 26항에 있어서, 질병이 알츠하이머병 또는 SDAT이고, 활성 성분이 스밀라게닌과 안주로게닌-D의 배합물인 약제 조성물.

청구항 29.

제 26항에 있어서, 질병이 파킨슨병이고, 활성 성분이 안주로게닌-D인 약제 조성물.

청구항 30.

제 26항에 있어서, 질병이 파킨슨병이고, 활성 성분이 스밀라게닌과 안주로게닌-D의 배합물인 약제 조성물.

명세서

기술분야

본 발명은 스밀라게닌 및 안주로게닌-D 및 인지 기능 장애 및 유사 질환을 치료에서의 용도 및 이러한 치료에 사용하기 위한 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 막 결합된 수용체의 수 또는 기능의 결핍에 의해 특징되는 질환의 치료에 관한 것이다. 하기에, 본 발명은 주로 수용체 유형의 수적 결핍이 입증된 알츠하이머병(AD) 및 알츠하이머 유형의 노인성 치매(SDAT)에 대해 기술될 것이다. 그러나, 본 발명은 일반적으로 본래 병리적 질환 및/또는 열악한 환경 조건으로의 노출로 인한 질환으로서, 막 결합된 수용체의 수 또는 기능의 결핍 또는 뉴우린 사이의 접합점 또는 뉴우린과 이펙터 세포의 접합점에서의 전달력 결핍에 의해 특징되는 질환들을 치료하는 것에 관한 것이다.

배경기술

상기 언급된 유형의 질환에는 파킨슨병, 루이 소체 치매(Lewy body dementia), 체위성 저혈압, 자폐증, 만성 피로 증후군, 중증 근무력증, 람베르트 이튼병(Lambert Eaton disease), 겔프 전쟁 증후군과 관련된 질병 및 문제, 유기인 화합물에 대한 직업적 노출 및 노화와 관련된 문제가 포함된다.

알츠하이머병(AD) 및 알츠하이머 유형 노인성 치매(SDAT)는 평균 수명의 증가 및 우발성 질환의 억제로 인해 인구 분포가 점차로 보다 노령의 인구로 점증적으로 확장되고 있기 때문에, 모든 사회에서 중요한 문제이다. AD/SDAT를 치료하기와 도움이 될 수 있는 제(agent)가 시급히 요구되고 있는 실정이다.

연령과 관련된 기억력 손상(AAMI)은 심리적 및 신체적으로는 정상이지만, 기억력 감소를 호소하는 노인 환자의 특징이다. 이것은 잘 정의되지 않은 증후군이나 AD/SDAT의 치료에 효과적인 제가 이들 환자에게도 가치가 있을 수 있다.

AD/SDAT에 대한 연구는 전통적이며 통상적인 의료 연구 방법 및 훈련에 의해 수행되고 있다. 통상적인 의학에서는 AD/SDAT의 치료에 대해 몇가지 접근 방법이 있다. 대뇌 피질의 기억력을 보조하는 생화학적 과정은 (적어도 부분적으로) 콜린에 의해 매개되는 것으로 공지되어 있다. 당해 기술자들은 "콜린에 의해 매개되는" 메카니즘이 직접적으로 수용체에 작용하는 아세틸콜린에 기인할 수 있으며, 이들은 직접적인 효과임을 알고 있을 것이다. 이외에, 임상적으로 유용한 효과가 또한 시냅스전 신경 말단으로부터의 아세틸콜린의 방출 조절 또는 아세틸콜린을 파괴하는 효소의 억제에 의해 유도될 수 있다. 이러한 조절 인자는 매개체가 비콜린성인 뉴우린을 통해 효력을 발휘할 수 있으며, 이들은 간접 효과로서 언급된다. 치료에 있어서 몇몇 시도는 중뇌 핵과 같은 뇌의 다른 영역에서 매개제인, 5-히드록시트립타민과 같은 다른 매개제의 역할에 초점을 맞추어 왔다. 그러나, 이러한 영역으로부터의 섬유소는 주요 전달제가 아세틸콜린인 대뇌 피질을 향해 돌출되어 있기 때문에, 적합한 치료제에 대한 연구는 이러한 매개제의 처리에 집중되었다.

AD/SDAT의 치료를 위한 콜린 방법은 방출된 아세틸콜린의 형성, 시냅스 방출 및 제거의 경로에 따라 몇몇 일면과 관련된다.

한 방법은 높은 투여량의 렉시틴과 아세틸콜린의 다른 전구체로 치료하는 것이 포함된다. 이는 인지 능력에서의 지속적인 향상에 제한적으로 사용된다.

또 다른 방법은 뇌에서의 신경 성장 인자(NGF) 분비 및 콜린-아세틸콜린 트랜스퍼라제(CAT) 활성을 증진시키는 것으로 나타난 폴리갈라에(Polygalae) 뿌리 추출물과 같은 식물성 약제의 사용을 포함한다. NGF의 경구 투여는, 이것이 혈액 장벽을 통과할 수 없는 고분자량 단백질이기 때문에 중추 신경계 뉴우런에 전혀 효과가 없다. 그러나, 혈액 장벽을 통과할 수 있고 중추 신경계의 NGF 합성을 촉진하는 효과가 있는 제는 기억 관련 작용의 개선을 위해 제안되었다.

타크린 히드로클로라이드와 같은 콜린스테라제 억제제를 사용하는 제 3의 임상 방법의 결과는 상기의 방법보다는 약간 더 긍정적이었다. 예를 들어, 후퍼진(huperzine), 갈란타민(galanthamine) 및 피소스티그민(physostigmine)과 같은 한방 및 양방에 사용되는 식물로부터 얻은 물질은 모두 어느 정도 임상 연구 및 실험적 모델에서 AD/SDAT의 치료에 제한적이긴 하나 어느 정도의 효과가 있는 것으로 나타났다. 상기 물질은 모두 아세틸콜린 에스테라제(AChE)의 억제제이다. AD/SDAT가 있는 환자들에게는 아세틸콜린(ACh) 합성의 감소, 시냅스전 저장물로부터의 ACh 방출 효율 감소 및 시냅스후(M_1) 수용체의 수 또는 기능에서의 감소가 있을 수 있다. 시냅스전 M_2 수용체의 감소도 또한 나타났다. AChE 억제제의 유리한 효과는 방출된 전달제의 파괴를 서서히 낮추므로써 뇌의 시냅스에서 아세틸콜린의 수준을 증진시키는 데 기인한다.

콜린 기능을 조절하는 조성물은 기억력 및 회상력에 영향을 미치는 것으로 공지되어 있다. 예를 들어, 니코틴은 니코틴 아세틸콜린 수용체를 자극하며, 흡연의 일시적인 기억력 증진 효과는 니코틴의 효과에 기인하는 것으로 여겨진다. 아세틸콜린의 길항제인 스코폴라민은 단순 반응 횟수의 연장으로서, 가능하게는 손상된 주의력의 결과로서, 정신 운동 시험으로 입증되는 건망증 및 손상된 인지 기능 장애를 일으킬 것이며, 보조적인 진통 치료제로서 상기 목적에 사용된다. 스코폴라민의 건망증 효과는 니코틴에 의해 길항될 수 있다.

니코틴 수용체 아류형은 두가지 류(α , β)가 있으며, 이들 각각은 리간드 특이성에서 상이한 4개의 아군을 포함한다. CNS에서 니코틴 수용체의 역할은 분자 수준에서는 잘 이해되지 않는다. 니코틴 수용체에 결합하는 제는 뇌의 무스카린 수용체 부위에서의 전환율을 변경시키는 것이 가능하다. 니코틴 수용체는 리간드 게이팅된 이온 채널이며, 이들의 활성화는 분극화, 여기화 및 Na^+ 및 Ca^{++} 로의 세포 투과성에서 신속한(밀리초) 증가를 초래한다.

콜린성 수용체의 또 다른 부류는 무스카린에 의해 자극될 수 있다. 이러한 무스카린(M) 수용체는 G 단백질 커플링된 수용체이다. 무스카린 수용체의 반응은 보다 느리고, 이들은 여기성 또는 억제성일 수 있다. 이들 수용체는 이온 투과성에서의 변화에 필수적으로 결부되어 있지는 않다. 5개 유형의 무스카린 수용체가 콜린성 수용체 클로닝에 의해 검출되었으며, m_1 - m_5 로 명명된다. 약물학적 효과는 4개의 클로닝된 수용체와 관련되며, 이들은 약물학적 특이성을 기초로 하여 M_1 - M_4 로서 명명된다.

특이적 수용체 단백질 및 단일클론성 항체를 사용하여, m_1 (시냅스후) 및 m_2 (시냅스전)로서 뇌에 무스카린 수용체를 추가로 편재시키는 것이 가능하였다. 심장에서, M_2 수용체는 시냅스후에 있다. 시냅스전 무스카린 수용체는 억제성인 것으로 여겨지고, ACh의 이들 수용체로의 결합은 추가의 ACh의 방출을 감소시켜 ACh 방출에 네가티브 피드백 메커니즘을 제공한다. 따라서, 우선적으로 뇌에 분배되는 선택적 M_2 수용체 길항제는 알츠하이머병을 치료하는데 유용할 수 있다.

AD/SDAT와 같은 질병에는 콜린성 신경 기능의 일반적인 뉴우런 손실 및 결함이 있음이 공지되어 있다. 남아있는 콜린 뉴우런에서 높은 친화도의 니코틴 결합 부위가 이러한 질병의 치료시에 낮은 친화도의 결합 부위로 전환되므로써 전달제 방출을 지속시킬 수 있는 것으로 추측되었다. 니코틴 결합 부위의 높은 친화도를 낮추므로써, 빠른 탈감 과정이 피해진다.

뇌내의 니코틴 수용체에서의 효능제 활성화는 신속한 개시(onset) 및 상쇄(offset)를 갖는다. 니코틴 수용체의 감소된 친화성은 탈감 과정을 감소시킬 것이다. 슈바르츠 알.디.(Schwarz R.D.)등은 문헌[J. Neuro Chem 42, (1984), 1495-8]에서 니코틴 결합 부위가 콜린성(및 또한 5-히드록시트립타민성 및 카테콜라민성) 액손(axon) 말단상에서 시냅스전에 위치함을 밝혀냈다. AD/SDAT상에서의 고친화성 결합 부위의 변화는 니코틴 결합 부위가 다른 전달물질 시스템에 대해 가질 수 있는 조절 효과의 변화를 또한 유도시킬 수 있다.

시냅스전 콜린성 메카니즘은 GABA성 뉴우런에 의해 억제 조절을 또한 받으며, 이러한 억제는 AD/SDAT에서 강화되는 것으로 생각된다. 이러한 억제가 제거되거나 감소되면 시냅스전 피질 콜린성 활성이 강화되어, 인지 과정이 향상된다.

니코틴에 의해 신경지배된 뉴우런 사이의 섬유의 상호작용(결합 친화성을 감소시킴), 및 GABA성 섬유의 일시적 작동중단 둘 모두는 시냅스전 위치를 갖는다.

이것은 중추신경 전달의 극히 단순한 모델이지만, 중추신경 시냅스내의 아세틸콜린의 유효 농도를 증가시키려고 해왔던 실험을 이해하기 위한 구성을 제공한다. 이것은 직접 작용과 간접 작용의 개념을 추가로 예시한다. 상기 언급된 AD/SDAT 치료에 관한 종래의 세 가지 치료법, 즉, ACh 전구물질 보충법, 효능제 치환법 및 아세틸콜린 에스테라제 억제법은 단점을 수반한다. 이러한 치료는 시냅스후 수용체를 탈감시키는 피드백 메카니즘을 활성화시킬 수 있는 ACh의 유용성의 단기적 증가를 일으킬 수 있다. 이론적 이유로, 장기적 이점은 기대되지 않으며, 치료가 중단되는 경우, AD/SDAT 및 AAMI의 처리에서의 어떠한 이점도 사라져서 질환이 더욱 악화될 수 있다.

M₁ 효능제 및 M₂/M₃ 길항제 활성을 갖는 화합물은 SDAT 환자에게서 인지 능력을 개선시키는 것으로 밝혀졌다 [참조: Sramak et al, Life Sciences vol. 2, No. 3, 195-202, 1997]. 그러나, 이러한 화합물은 피로, 설사 및 욕지기와 같은 부적절한 부작용을 일으킨다.

AD/SDAT 및 AAMI에 대한 보다 근본적인 방법은 뇌내에서 시냅스후(M₁) 수용체의 수를 증가시키는 것이다. 사르사사포게닌(sarsasapogenin)(SaG)이 M₁ 콜린성 수용체를 상향 조절하고, 또한 β -아드레날린성 수용체를 하향 조절(즉, 정상 수준쪽으로 이동시킴)할 수 있으며, 이의 갯수는 AD/SDAT에서 병리학적으로 상승될 수 있는 것으로 중국 특허 제 CN1096031A로부터 공지되어 있다.

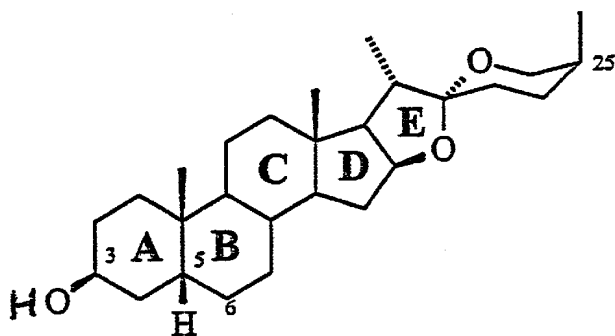
발명의 상세한 설명

SDAT를 포함한 질환의 치료에 있어서 스피로스탄, 푸로-스피로스탄, 스피로솔란 또는 솔라니딘 구조를 갖는 많은 스테로이드 사포게닌의 유용성을 청구하는 특허 출원이 공개되어 있다. 2개의 특허 공보가 본원과 특히 관련이 있다: 중국 특허 공개 제 CN 1096031A호는 SDAT의 치료에 있어서 스피로스탄 사포게닌인 사르사사포게닌의 용도를 청구한다. 그러나, 이 문헌에 개시된 내용은 간단하다. 관련된 다른 문헌인 특허 공개 제 DE 4303214A1호에는 발명자들이 바이러스 기원이라고 간주한 모든 범위의 질환의 치료에서 매우 광범위한 사포닌 및 사포게닌의 용도가 청구되어 있다. 그러나, 상기 문헌은 불충분한 시냅스 전달을 특징으로 하는 매우 많은 질환에 감염적인 요소가 없는 것으로 널리 인지되어 있으며, 이로써 주장된 발명의 기본 전제에 흠결이 있다는 점에서 그 가치가 의심스럽다. 또한, 이들 문헌에는 당업자가 청구된 다수의 화합물로부터 바람직한 화합물을 선택할 수 있게 하는 어떠한 종류의 데이터도 제시하지 못한다.

본 발명자들은 수용체를 조절할 수 있는 능력을 나타내는 스밀라게닌(SMI) 및 안주로게닌-D(AZD)를 밝혀냈다. 특히, 이들 화합물, 특히 SMI는 뇌의 M2 수용체의 수를 증가시키는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 본 발명의 한 가지 일면에 따르면, 시냅스후 막 결합된 수용체의 수 또는 기능의 결핍을 특징으로 하는 질환을 치료하기 위한 약제를 제조하는데 사용되는 스밀라게닌 및/또는 안주로게닌-D의 용도가 제공된다.

당업자는 사포닌과 이들의 사포게닌 사이의 관계를 인지할 것이며, 사포게닌의 원하는 효과가 상응하는 사포닌 또는 이들의 혼합물을 투여함으로써 환자에게서 나타날 수 있음을 인지할 것이다. 사포닌의 일부 이상의 가수분해가 위장관에서 일어난다. 당업자는 산 가수분해의 조건하에서 특정한 사포게닌의 에피머화를 또한 인지할 것이다.

본 발명에서 가치가 있는 사포게닌은 하기 일반식을 갖는다:



상기 일반식을 참조하면, SMI 및 AZD의 구조는 하기 표에 나타난 바와 같다:

화합물	A/B 고리 Cis/Trans 불포화	C25 메틸 입체화학 (R 또는 S)	스피로스탄 고리상의 히드록실 기(들)
스밀라게닌	Cis	R	3 β -OH
안주로게닌-D	Trans	R	3 β -OH, 5 α -OH, 6 β -OH

본 발명의 가치가 있는 사포닌 및 사포게닌은 일정한 범위의 식물 중, 특히, 스밀락스(Smilax), 아스파라거스, 아네마레나(Anemarrhena), 유카(Yucca) 및 아가브(Agave) 속으로부터 자연 발생한다. 현재 가장 중요한 종으로는 스밀락스 레젤리 킬립 & 모르톤(Smilax regelii Kilip & Morton) (온두란 사르사파릴라(Honduran sarsaparilla)로서 일반적으로 공지되어 있음); 스밀락스 아리스톨로키아폴리아 밀러(Smilax aristolochiaefolia Miller) (멕시코 사르사파릴라(Mexican sarsaparilla)로서 일반적으로 공지되어 있음); 스밀락스 오르나타 후커(Smilax ornata Hooker) (자마이칸 사르사파릴라(Jamaican sarsaparilla)로서 일반적으로 공지되어 있음); 스밀락스 아스페라(Smilax aspera) (스페인 사르사파릴라(Spanish sarsaparilla)로서 일반적으로 공지되어 있음); 스밀락스 글라브라 록스버로우(Smilax glabra Roxburgh); 스밀락스 페브리푸가-쿤트(Smilax febrifuga-Kunth) (에쿠아도리안(Ecuadorian) 또는 페루비안(Peruvian) 사르사파릴라로서 일반적으로 공지되어 있음); 아네마레나 아스포델로이즈 번지(Anemarrhena asphodeloides Bunge); 유카 스킨디제라 로에즐 엑스 오르티그스(Yucca schidigera Roezl ex Ortgies); 및 유카 브레비폴리아 엔젤름(Yucca brevifolia Engelm) 이 있다.

본 발명의 또 다른 일면에 따르면, 유효량의 스밀라게닌 및/또는 안주로게닌-D를 포함하는, 인지 기능 향상 특성을 갖는 약제 조성물이 제공된다.

또 다른 일면에서, 본 발명은 유효량의 스밀라게닌 및/또는 안주로게닌-D를 스밀락스(Smilax), 아스파라거스(Asparagus), 아네마레나(Anemarrhena), 유카(Yucca) 또는 아가브(Agave) 속의 식물로부터 유도된 추출물의 형태로 포함하는, 인지 기능 향상 특성을 갖는 약제 조성물이 제공된다.

본 발명의 범위내에 상기한 조성물의 용도가 포함되는 것으로 이해된다. 이와 같이, 본 발명의 제 5면에 따르면, 본 발명은 인간 또는 동물에 본 발명의 유효량의 조성물을 투여하는 것을 포함하여 인지 기능을 강화시키기 위한 방법을 제공한다.

본 발명은 또한 유효량의 스밀라게닌 및/또는 안주로게닌-D를 투여하는 것을 포함하여, 인간 또는 인간을 제외한 동물에서 인지 기능을 향상시키는 방법을 제공한다.

본원에서, "인지 기능"은 예를 들어, 사고, 추리, 기억, 상상, 및 학습 기능을 의미한다.

SDAT 및 수용체 수 또는 시냅스 전달의 감소를 특징으로 하는 기타 질환의 치료에 사용되는 화합물의 동정에서, 본 발명자들은 목적하는 효과를 가지지만, 에스트로겐 효과는 특히 남성 환자에서 부적합하기 때문에 어떠한 에스트로겐 효과도 가지지 않는 화합물을 동정할 필요에 대하여 고려하였다. 특허 출원 제 DE 4303214A1호에서 활성을 갖는 것으로 청구된 많은 화합물은 에스트로겐 활성을 나타냈으므로 부적합하였다. 그러나, 스밀라게닌 및 안주로게닌-D는 에스트로겐 활성을 나타내지 않는다. 또한, 이들 두 화합물을 다른 스테로이드 수용체에서 시험하였으나, 어느 것도 하기 수용체에서 어떠한 활성도 가지지 않는 것으로 밝혀졌다:

프로게스테론

글루코코르티코이드

테스토스테론

상기 선택된 화합물을 또한 많은 시험관내 검정에서 그들의 활성에 대하여 시험하였다. 막 결합된 수용체 수의 증가에 있어서 가능한 활성을 측정하는데 중요한 것으로 간주되는 검정/실험은 다음과 같다:

1. 무스카린 수용체를 코딩하는 DNA 단편으로 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포를 트랜스펙션시켰다. 대다수의 실험에서 사용된 세포주는 m2 수용체를 발현시키는 세포주였다.
2. 뉴우런 기원의 배양 세포주에서 무스카린 수용체 발현의 효과를 조사하였다.
3. 배양된 심근 세포는 신생 스프라그 돌리(Sprague Dawley) 래트로부터 얻었다. 심근 세포는 무스카린 수용체, 전형적으로 m2를 발현시킨다. 이러한 수용체의 수준은 장기간 배양에서 감소하며 수용체 수의 감소를 방지하는 데에 있어서 관심 대상의 화합물의 효과를 조사하였다.

이러한 실험의 방법 및 결과를 하기에 기술한다.

1. CHO 세포주 실험

m2 수용체에 대한 DNA로 트랜스펙션시킨 CHO 세포에서 m2 수용체의 발현에 대한 여러 화합물의 효과를 조사하였다. 삼중수소화된 QNB 결합을 사용하고 비특이적 결합을 공제함으로써 수용체 수를 분석하였다. 화합물을 DMSO에 용해시키고 DMSO를 대조표준으로서 사용하였다. 화합물을 최종 농도의 범위에서 시험하였다. 또한 에스트로겐 수용체 매개된 메카니즘과 구별하기 위하여 화합물을 타목시펜의 존재 하에, 그리고 부재 하에 시험하였다. 결과를 하기 표 2에 요약되며, 여기서 본 발명에 사용된 화합물은 진하게 표시하였으며, 다른 사포게닌에 대한 데이터는 비교의 목적으로 제공된다:

표 2: CHO 세포상에서의 m₂ 수용체의 발현에 대한 화합물의 영향

화합물	화합물의 몰농도	수용체 발현에 대한 영향 - 대조군과 비교한 % 증가율로 제시됨(음값은 괄호로 표시)
사르사사포게닌	10 ⁻⁵	34
	10 ⁻⁶	(14)
안주로게닌-D	10 ⁻⁵	22
	10 ⁻⁶	(26)
시살게닌	10 ⁻⁵	NS
	10 ⁻⁶	NS
스밀라게닌	10 ⁻⁵	57
	10 ⁻⁶	18
디오스게닌	10 ⁻⁵	NS
	10 ⁻⁶	NS
루스코게닌	10 ⁻⁵	(22)
	10 ⁻⁶	NS
티고게닌	10 ⁻⁵	NS
	10 ⁻⁶	NS

NS = 현저한 영향을 미치지 않음(No significant effect)

이와 같이, 실험은 여러 종의 화합물이 시험관내에서 배양된 CHO 세포의 표면상에서 발현된 무스카린 수용체의 수를 증가시킬 수 있었음을 나타낸다. 그 효과는 타목시펜(tamoxifen)에 의해 상쇄되지 않았는데, 이는 관련된 메커니즘이 에스트로겐 수용체를 포함하지 않았음을 나타낸다.

2. 세포 생존에 대한 화합물의 영향

그 밖의 시험관내 검정은 활성 화합물과 비활성 화합물을 구별하는데 사용되었다. 특히, 파에크로모아시토마 (phaeochromocytoma) 세포주 뿐만 아니라 SKN-SN 및 SH-SY5Y 세포를 나타내는 특성의 다양한 신경모세포종 세포주가 β -아밀로이드 단편의 존재하에 또는 혈청 고갈 상태에서 배양되었다. 배양된 세포를 보호하는데 있어 상기 화합물의 유효성을 입증하기 위해 다수의 기술을 사용하였다. 이들 기술은 트리판 청색 배제법, 화학발광법 및 락테이트 디히드로게나아제 방출법을 포함하였다. 가장 관심을 끄는 관찰 결과는 β -아밀로이드에 의한 세포, 특히 PC12 세포의 인큐베이션이 방사 표지된 리간드 결합 기술을 사용하여 측정된 무스카린 수용체의 수를 감소시켰다는 것이다. 이러한 수용체의 수적인 감소는 스밀라젠 및 안주로게닌-D에 의해 개선되었음을 입증하는 것이다.

3. 배양된 심근 세포에 대한 화합물의 영향

갓 태어난 스프라그 돌리 래트의 심실 근육으로부터 표준 기술을 사용하여 심근 세포를 분리해냈다. 세포를 시험관내에서 배양시키고, 다양한 시점에서 채취한 세포의 균질화후에 세포 표면 막 단편상에서 발현된 무스카린 수용체의 수를 삼중수소화된 QNB의 특이적 결합을 사용하여 추산하였다. 예비 실험을 통해, 발현된 수용체의 수가 배양 10일 후에 감소하는 경향이 있음이 입증되었다. 따라서, 실험은 수용체 수의 이러한 감소를 제지하는데 있어 여러 화합물의 효과를 조사하도록 설계되었다.

이들 실험 결과는 표 3에 요약되어 있으며, 여기서 본 발명에 사용된 화합물은 진하게 표시하였으며, 다른 사포게닌에 대한 데이터는 비교의 목적으로 제공된다.

표 3: 배양된 심근 세포상에서의 무스카린 수용체 발현에 대한 여러 화합물의 영향

화합물	시험관내 배양 10일 후에 갓 태어난 래트의 심근상에서 발현된 수용체의 수를 현저하게 증가시키는 화합물의 농도
디오스게닌	NS
안주로게닌-D	$10^{-6}M$
루스코게닌	NS
사르사사포게닌	$10^{-5}M$
티고게닌	NS
아스트라갈로시드	$10^{-5}M$
스밀라게닌	$10^{-6}M$

NS = 현저한 영향을 미치지 않음

여기에서는 본 발명에 청구된 활성 화합물의 효과가 G 단백질에 대한 효과에 따라 달라질 수 있으며 수용체의 수에 대한 효과가 G 단백질에 대한 효과에 대하여 부차적이라는 것이 고려된다. 막 결합된 G 단백질 결합된 수용체가 자극되는 경우, 두 가지 기본적인 사건, 즉, 이펙터 반응 및 수용체의 내재화가 개시된다. 또 다른 수용체 리간드와 상호작용할 수 있는 세포 표면 또는 다른 막 표면상에서 다시 일정하게 있게 되는 상태로 수용체를 후속 처리하는 것은 다수의 인자에 영향을 받기 쉬운 것으로 여겨진다. 다수의 이들 인자 또는 메커니즘은 G 단백질과 연계되어 있는 것으로 보인다. m_3 수용체의 활성화가 G 단백질 발현 또는 수준에 영향을 미칠 수 있다는 것은 어느 정도 입증되어 있다. 본원에 기술된 화합물의 작용이 수용체 재생, G 단백질 연계 또는 G 단백질 항상성 과정에서의 상호작용에 기인될 수 있음이 고려된다.

대안적인 가설은 이들 화합물이 뇌 유도된 성장 인자와 같은 신경 영양 인자 및/또는 신경 성장 인자의 합성 또는 방출 또는 감소된 분해 속도를 증가시킬 것이라는 것이다. 성장 인자들에 대한 이들 효과는 화합물이 시토줄 또는 핵 수용체에 영

향을 미치거나 프로모터 영역에 화합물이 결합한 결과로서 성장 인자에 대한 mRNA의 생성 속도에 직접적으로 영향을 미치는 것으로 인해 기인될 수 있거나 G 단백질과 같은 또 다른 물질 인자의 생성을 증가시키는 결과로서 기인될 수 있거나, 최종적으로 이들 효과는 수용체 또는 G 단백질 프로세션에 대한 효과에 이차적일 수 있다.